



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Emanuel Henrique da Costa Gonçalves

**Estudo numérico do escoamento de
biofluidos em microcanais por Dinâmica
Molecular**

dezembro de 2021



Universidade do Minho
Escola de Engenharia

Emanuel Henrique da Costa Gonçalves

**Estudo numérico do escoamento de
biofluidos em microcanais por Dinâmica
Molecular**

Dissertação de Mestrado

Mestrado Integrado em Engenharia Mecânica
Sistemas Mecatrónicos

Trabalho efetuado sob a orientação dos

**Professor Doutor Rui Alberto Madeira Macedo
de Lima**

Professor Doutor Cristiano Simões de Abreu

dezembro de 2021

DIREITOS DE AUTOR E CONDIÇÕES DE UTILIZAÇÃO DO TRABALHO POR TERCEIROS

Este é um trabalho académico que pode ser utilizado por terceiros desde que respeitadas as regras e boas práticas internacionalmente aceites, no que concerne aos direitos de autor e direitos conexos.

Assim, o presente trabalho pode ser utilizado nos termos previstos na licença abaixo indicada. Caso o utilizador necessite de permissão para poder fazer um uso do trabalho em condições não previstas no licenciamento indicado, deverá contactar o autor, através do RepositóriUM da Universidade do Minho.

Licença concedida aos utilizadores deste trabalho



Atribuição

CC BY

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

AGRADECIMENTOS

Gostaria primeiramente de agradecer a um conjunto de pessoas sem as quais a realização da minha dissertação de mestrado não seria possível.

Ao professor Doutor Rui Lima, pela sua orientação, disponibilidade e simpatia durante a realização deste trabalho. Agradeço também toda a ajuda durante o meu percurso académico, no esclarecimento de dúvidas e na resolução de problemas nas unidades curriculares que lecionou.

Ao professor Doutor Cristiano Abreu por toda a cooperação na realização de simulações computacionais realizadas. Mostrou-se sempre disponível para ajudar e para retirar dúvidas durante a realização da dissertação.

Ao Jorge Silva pela sua ajuda e transmissão de conhecimentos na realização do código em linguagem *Python*.

A todos os meus colegas de curso, principalmente os meus amigos mais chegados.

Aos meus pais por me apoiarem não só financeiramente, mas também dando motivação para eu alcançar os meus objetivos.

A Deus, por me ter acompanhado todos os dias, abençoando-me com a Sua graça.

DECLARAÇÃO DE INTEGRIDADE

Declaro ter atuado com integridade na elaboração do presente trabalho académico e confirmo que não recorri à prática de plágio nem a qualquer forma de utilização indevida ou falsificação de informações ou resultados em nenhuma das etapas conducente à sua elaboração.

Mais declaro que conheço e que respeitei o Código de Conduta Ética da Universidade do Minho.

RESUMO

A deformabilidade dos glóbulos vermelhos tem sido muito estudada por cientistas, uma vez que é possível concluir se estes se encontram saudáveis analisando o seu comportamento mecânico quando sujeito a solicitações externas. Normalmente, os glóbulos vermelhos conseguem deformar-se consideravelmente sem comprometer a sua integridade. No entanto, quando os glóbulos vermelhos não se encontram saudáveis, têm tendência a apresentarem maior rigidez, não apresentando um comportamento à deformação normal. Tal poderá originar a obstrução de um capilar sanguíneo, podendo levar a complicações de saúde.

Assim, este trabalho consiste na simulação por dinâmica molecular de um escoamento de glóbulos vermelhos através de um microcanal e no desenvolvimento de um programa em *Python* para calcular índices de deformação a partir de resultados de simulações de um escoamento de glóbulos vermelhos. Uma vez obtidos os valores do índice de deformação, é possível retirar conclusões sobre o estado dos glóbulos vermelhos, comparando com valores normais para estes quando sujeitos a deformações.

Posteriormente, é apresentado o código elaborado em linguagem *Python* responsável pela obtenção dos índices de deformação do glóbulo vermelho ao longo da simulação. Neste trabalho, também é apresentada toda a estrutura deste código tendo como base o processamento de imagem para a obtenção dos resultados.

A seguir, foram retiradas as principais conclusões sobre os resultados de simulação, comparando estes com valores obtidos em ensaios experimentais já realizados. Pode-se concluir que o software elaborado permite obter valores do índice de deformação bastante coerentes, comparando com os obtidos experimentalmente.

Numa parte final, foi feita uma retrospectiva sobre o trabalho realizado, bem como uma possível continuação deste trabalho em termos futuros.

PALAVRAS CHAVE

Deformação, escoamento, glóbulo vermelho, microcanal, dinâmica molecular.

ABSTRACT

The deformability of red blood cells has been widely studied by scientists, since it is possible to conclude whether they are healthy by analyzing their mechanical behavior when subjected to external demands. Normally, red blood cells can deform considerably without compromising their integrity. However, when red blood cells are not healthy, they tend to be more rigid, not showing a normal deformation behavior. This can cause a blood capillary to blockage, which can lead to health complications.

Thus, this work consists of the molecular dynamics simulation of a red blood cell flow through a microchannel and the development of a Python program to calculate strain indices from simulation results of a red blood cell flow. Once the deformation index values are obtained, it is possible to draw conclusions about the status of red blood cells, comparing them with normal values for these when subjected to deformations.

Subsequently, the code developed in Python language responsible for obtaining the red blood cell deformation indexes throughout the simulation is presented. In this work, the entire structure of this code is also presented, based on the image processing to obtain the results.

Then, the main conclusions about the simulation results were drawn, comparing these with values obtained in experimental tests already carried out. It can be concluded that the developed software allows to obtain very coherent deformation index values, comparing with those obtained experimentally.

In a final part, there was a retrospective on the work carried out, as well as a possible continuation of this work in future terms.

KEYWORDS

Deformation, flow, red blood cell, microchannel, molecular dynamics.

ÍNDICE

1. Introdução.....	1
1.1 Motivação	1
1.2 Estrutura do relatório	2
2. Estado de Arte	3
2.1 Constituintes do sangue.....	3
2.2 Índice de deformação e razão de deformação	5
2.3 Escoamento de glóbulos vermelhos	7
2.4 Mecânica Lagrangiana.....	11
2.4.1 Coordenadas generalizadas	11
2.4.2 Lagrangiano de um sistema de partículas	12
2.4.3 Equações de Lagrange	12
2.4.4 A aproximação SPH na formulação Lagrangiano total	14
2.5 Teoria Geral de Fluxo Monofásico.....	15
2.6 Lei de Hooke	16
2.7 Tensor tensão de Cauchy	17
3. Simulação de escoamento num microcanal	18
3.1 Descrição do código SMD.....	19
3.2 Configurações do glóbulo vermelho nas simulações por MD	30
4. Simulação em <i>COMSOL</i>	33
4.1 Escoamento Laminar	34
4.2 Malha utilizada	35
5. Processamento de imagem e Índice de deformação.....	36
6. Resultados Obtidos e Discussão.....	43
6.1 Resultados de simulações em <i>COMSOL</i>	43
6.2 Resultados das simulações de dinâmica molecular	49
7. Conclusões.....	59
7.1 Trabalhos Futuros	60

8. Referências Bibliográficas	61
Anexo 1 – Desenhos técnicos dos microcanais.....	I
Anexo 2 - Estudo de convergência de malha	III
Anexo 3 – Código <i>Python</i> de processamento de imagem.....	VII
Anexo 4 – Script <i>LAMMPS/SMD</i>	IX

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Constituintes do sangue [1].	3
Figura 2 - Dimensões dos glóbulos vermelhos [2].....	4
Figura 3 - Comparação entre glóbulos vermelhos e glóbulos brancos [4].....	4
Figura 4 - Comparação entre plaquetas e glóbulos vermelhos [6].....	5
Figura 5 - Índice de deformação e razão de deformação [8].....	6
Figura 6 - Ensaio experimental com imagens sobrepostas de <i>time-lapse</i> obtidas de uma câmara de alta velocidade, onde é possível verificar o deslocamento do GV [9].....	6
Figura 7 - Razão entre o comprimento da célula L e o comprimento inicial L_0 [9].	6
Figura 8 - Esquema de separação do caudal inicial Q_0 , onde Q_1 e Q_2 representam os caudais nos ramos filho [21].	7
Figura 9 - Representação dos perfis de velocidades para Hct <1% (azul) e Hct superior (vermelho) [3,11].	11
Figura 10 - Posição de um sólido no espaço [12].	12
Figura 11 - Diagrama Tensão-Deformação, com os respetivos regimes elástico e plástico [16].	17
Figura 12 - Componentes do Tensor de tensão de Cauchy [17].	18
Figura 13 - Definição dos parâmetros físicos usados na caracterização dos materiais simulados.....	20
Figura 14 - Fragmento de código exemplificando alguns parâmetros de inicialização do código <i>LAMMPS</i>	21
Figura 15 - Comandos <i>LAMMPS</i> responsáveis pela definição das geometrias utilizadas nas simulações.	22
Figura 16 - Discretização de parâmetros de discretização utilizados nas simulações pelo código <i>SMD</i> , relativo aos diferentes materiais.	22
Figura 17 - Fragmento de código <i>LAMMPS</i> usado na simulação do escoamento do fluido, por forma a arrastar o GV no microcanal.....	23
Figura 18 - Secção responsável pelo estabelecimento das interações entre os diferentes tipos de partículas.....	26
Figura 19 - Comandos responsáveis pela importação das geometrias do microcanal e do pistão.	26
Figura 20 - Comandos responsáveis pela definição do tipo de integração utilizado.	27

Figura 21 - Fragmento de código onde são definidos os comandos <i>LAMMPS</i> para o output da simulação.....	28
Figura 22 - Comandos responsáveis pela definição de alguns parâmetros de visualização.....	29
Figura 23 - Fragmento de código <i>LAMMPS</i> responsável pela correção dinâmica do custo computacional e ciclos a executar na fase dinâmica.	30
Figura 24 - <i>Snapshots</i> exemplificativos das várias configurações do GV na entrada da contração do microcanal.....	30
Figura 25 - <i>Snapshot</i> exemplificativo de uma simulação com o GV na posição vertical. O pistão (amarelo) empurra as partículas de fluido e, por consequente, o GV de encontro à contração.	31
Figura 26 - <i>Snapshot</i> da simulação da simulação do GV à entrada da contração.....	32
Figura 27 - Dimensões da secção do microcanal usadas na simulação com o GV na vertical.....	32
Figura 28 - Dimensões da secção do microcanal usadas na simulação com o eixo do GV na horizontal.....	32
Figura 29 - Dimensões do microcanal.	33
Figura 30 - Árvore de parâmetros no estudo do escoamento laminar.....	34
Figura 31 - Propriedades do fluido utilizado.....	35
Figura 32 - Geometria da malha utilizada nas simulações com recurso ao programa <i>COMSOL</i>	35
Figura 33 - Bibliotecas de <i>Python</i> necessárias à execução do script de processamento de imagem.....	36
Figura 34 - Representação esquemática do sistema de cores HSV.....	37
Figura 35 - Exemplo de aplicação da máscara responsável por filtrar o vermelho. À esquerda, a imagem sem a máscara aplicada, e na imagem da direita o resultado de aplicação da máscara de filtragem.....	37
Figura 36 - Linhas de código <i>Python</i> implementadas no ciclo <i>while</i> , responsáveis pela segmentação e filtragem dos GVs.....	38
Figura 37 - Código <i>Python</i> responsável pela representação da imagem de contorno dos GVs e representação gráfica das curvas de evolução do índice de deformação.....	39
Figura 38 - Gráfico representativo da evolução do índice de deformação (<i>deformation index</i>) para simulações segundo uma orientação horizontal inicial para os GVs.	40

Figura 39 - Valores de índice de deformação obtidos recorrendo ao rastreamento das coordenadas no <i>OVITO</i>	40
Figura 40 - Gráfico representativo da evolução da razão de deformação (<i>deformation ratio</i>) para simulações segundo uma orientação horizontal inicial para os GVs.	41
Figura 41 - Geometrias do GV no estudo com a orientação vertical, numa vista de topo: à esquerda, o GV ainda não entrou na contração; à direita, o GV já entrou completamente na contração.	42
Figura 42 - Gráfico representativo da evolução do índice de deformação (<i>deformation index</i>) para simulações segundo uma orientação vertical inicial para os GVs.....	42
Figura 43 - Gráfico representativo da evolução da razão de deformação (<i>deformation ratio</i>) para simulações segundo uma orientação vertical inicial para os GVs.....	42
Figura 44 - Distribuição das velocidades do fluido no microcanal obtidas no <i>COMSOL</i> , para uma velocidade inicial à entrada igual a 1 m/s.....	43
Figura 45 - Perfil de velocidades obtido pelo fluido no escoamento.	44
Figura 46 - Velocidade no seio do fluido ao percorrer o microcanal.....	44
Figura 47 - Perfil de velocidades num plano perpendicular ao escoamento.	45
Figura 48 - Razão entre a velocidade máxima atingida no escoamento e velocidades impostas no <i>inlet</i>	46
Figura 49 - Formação do jato de água à saída da secção estreita do microcanal: na imagem da esquerda, a velocidade no <i>inlet</i> é de 0.01 m/s; na imagem da direita a velocidade no <i>inlet</i> é de 0.1 m/s.	46
Figura 50 - Velocidades atingidas pelo água no microcanal para uma velocidade imposta de 10 m/s no <i>inlet</i>	47
Figura 51 - Velocidade registada no seio do escoamento do fluido no microcanal para uma velocidade inicial de 10 m/s.	48
Figura 52 - Perfil de velocidades obtido pelo fluido no escoamento.	48
Figura 53 - <i>Snapshot</i> de uma simulação no <i>LAMMPS/SMD</i> com indicação das velocidades do GV à entrada da contração, obtidas para velocidades do fluido no <i>inlet</i> de 1 m/s.....	50
Figura 54 - <i>Snapshot</i> de uma simulação no <i>LAMMPS/SMD</i> com indicação das velocidades do GV à saída da contração, obtidas para velocidades do fluido no <i>inlet</i> de 1 m/s.	51
Figura 55 - <i>Snapshot</i> de simulação por <i>LAMMPS/SMD</i> com representação das velocidades do fluido	51

Figura 56 - <i>Snapshot</i> de simulação por <i>LAMMPS/SMD</i> com representação das velocidades do fluido	52
Figura 57 - Gráfico representativo da velocidade (m/s) das partículas de fluido ao longo do microcanal no final da simulação, para uma velocidade no <i>inlet</i> de 1 m/s.....	52
Figura 58 - <i>Snapshot</i> de uma simulação por <i>LAMMPS/SMD</i> com representação da velocidade das partículas de água na secção correspondente à contração, para uma velocidade no <i>inlet</i> de 1 m/s.	53
Figura 59 - Imagem representativa das deformações simuladas por dinâmica molecular, observadas para os GVs ao entrar na contração do microcanal.	53
Figura 60 - Componente <i>xy</i> do tensor tensão de Cauchy na deformação do GV obtido por dinâmica molecular.	54
Figura 61 - Perfil de velocidades obtido à entrada da contração obtido em <i>Matlab</i> (obs.: posições indicadas em unidades de μm).	55
Figura 62 - Perfil de velocidades obtido à entrada da contração obtido em <i>Matlab</i>	56
Figura 63 - <i>Snapshot</i> de vista de topo de uma simulação por <i>LAMMPS/SMD</i> com representação da velocidade das partículas de fluido correspondente ao momento de entrada do GV na contração.....	56
Figura 64 - Perfil de velocidades obtido à saída da contração obtido em <i>Matlab</i>	57
Figura 65 - <i>Snapshot</i> de vista de topo de uma simulação por <i>LAMMPS/SMD</i> com representação da velocidade das partículas de fluido correspondente ao momento de saída do GV na contração.....	57
Figura 66 - Mapa de cor da distribuição da componente <i>xz</i> do tensor tensão obtido por dinâmica molecular (valores em N/m^2).....	58
Figura 67 - Imagem representativa das deformações observadas nos GVs obtidas por dinâmica molecular na fase de entrada na contração, para a situação de orientação inicial vertical do GV e baixas velocidades de escoamento.....	58
Figura 68 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "grosseiro", demorando 1 minuto de simulação até à obtenção de resultados. ...	III
Figura 69 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "normal", demorando pouco mais de 1 minuto de simulação até à obtenção de resultados.....	IV
Figura 70 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "fino", demorando 3 minutos de simulação até à obtenção de resultados.	V

Figura 71 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "mais fino", demorando 10 minutos de simulação até à obtenção de resultados. VI	
Figura 72 - Código utilizado no processamento de imagem (parte 1).VII	VII
Figura 73 - Código utilizado no processamento de imagem (parte 2). VIII	VIII
Figura 74 - Script <i>LAMMPS/SMD</i> usado nas simulações por dinâmica molecular.XI	XI

1. INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

Ao nível macroscópico, o sangue pode ser considerado um fluido homogêneo e, consequentemente, técnicas numéricas estabelecidas com base na mecânica contínua, como o método das diferenças finitas (FDM), o método dos volumes finitos (FVM) e o método dos elementos finitos (FEM), têm sido usados para analisar o fluxo sanguíneo levando em consideração essa natureza homogênea. No entanto, ao nível microscópico, o sangue é considerado uma suspensão de células, como hemácias (glóbulos vermelhos), leucócitos (glóbulos brancos) e plaquetas, que se encontram suspensas no fluido base, o plasma.

Assim, métodos atomísticos como a técnica de Dinâmica Molecular (MD) constituem um método natural de simulação do fluxo sanguíneo na escala celular, em que cada componente sanguíneo é modelado por um conjunto de partículas discretas.

A descrição experimental do fluxo sanguíneo *in vitro* da microcirculação progrediu muito, em grande parte devido aos desenvolvimentos na microfabricação, tecnologia de microscopia de alta velocidade e análise de imagens. Como metodologias para estudos diretos no progresso da microcirculação, as comparações entre modelos *in vitro* e computacionais da mecânica unicelular devem fornecer novos conhecimentos sobre as características únicas da microcirculação.

A análise do comportamento dos glóbulos vermelhos a percorrerem microcanais permite tirar muitas vezes conclusões sobre o estado das hemácias. A forma como estas se deformam ao percorrerem microcanais permite diagnosticar várias patologias, sendo o estudo desta uma maneira de detetar possíveis anomalias no comportamento mecânico das hemácias. Uma vez que a deteção mais precoce destas patologias pode impedir uma possível obstrução de um canal sanguíneo, é possível dizer que este estudo que pode vir a salvar vidas humanas. Esta é a razão pela qual decidi realizar este trabalho.

Este trabalho tem vários objetivos. O primeiro consiste na simulação do escoamento de GVs em diferentes orientações num microcanal recorrendo à dinâmica molecular. De modo a validar os resultados obtidos por dinâmica molecular, recorreu-se posteriormente ao *software* de simulação numérica *COMSOL* para permitir a comparação de resultados. O objetivo

seguinte consiste no desenvolvimento de um código *Python* capaz de obter índices de deformação através de processamento de imagens provenientes das simulações por dinâmica molecular. O último objetivo definido é a obtenção de valores de índice de deformação coerentes com resultados experimentais existentes.

1.2 Estrutura do relatório

Este relatório encontra-se dividido em vários capítulos, sendo que no Capítulo 1 se refere à introdução a este trabalho, onde são apresentadas a motivação e a estrutura deste.

No Capítulo 2, foi realizado um estado de arte onde se recolheram alguns fundamentos teóricos necessários à compreensão do trabalho realizado. Estes fundamentos vão desde as características dos glóbulos vermelhos e dos restantes componentes do sangue, modelos matemáticos utilizados em simulação, entre outros.

O Capítulo 3 é dedicado à simulação do escoamento do glóbulo vermelho ao longo de um microcanal no software *LAMMPS*. Neste capítulo, é apresentado o código por detrás da “caixa negra” responsável pela obtenção de resultados. Aqui é possível perceber qual o comportamento do glóbulo vermelho aquando sujeito a forças que o obriguem a deformar-se.

O Capítulo 4 é dedicado ao estudo do escoamento do fluido no software *COMSOL* sem o glóbulo vermelho, de modo a analisar se o comportamento do fluido obtido no Capítulo 3 é coerente com os obtidos neste capítulo.

No Capítulo 5 é apresentado e explicado o código utilizado no processamento de imagem responsável pela obtenção dos valores de índice de deformação ao longo do escoamento do glóbulo vermelho pelo microcanal.

No Capítulo 6 são apresentados os resultados obtidos no software *COMSOL* e *LAMMPS*, respetivamente, e é feita a análise, discussão e comparação dos mesmos com resultados de experiências semelhantes.

No Capítulo 7 são apresentadas as conclusões deste trabalho, bem como as perspetivas de trabalhos futuros.

2. ESTADO DE ARTE

Neste capítulo são abordados os principais fundamentos teóricos necessários para uma melhor compreensão do conteúdo abordado e do trabalho realizado.

2.1 Constituintes do sangue

O sangue é composto principalmente por partículas a nível microscópico, tais como os glóbulos vermelhos (designados de GV), os glóbulos brancos (designados de GB), e plaquetas. Estas partículas encontram-se suspensas em um fluido no sangue denominado de plasma. Este fluido é constituído por água, proteínas, glucose, iões minerais e dióxido de carbono. O tipo de células mais abundantes no sangue de um vertebrado são os glóbulos vermelhos.

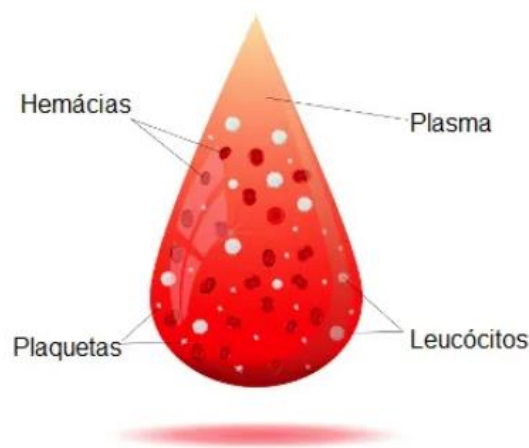


Figura 1 - Constituintes do sangue [1].

Os glóbulos vermelhos são células sem núcleo, pelo que possuem uma forma achatada no centro da célula, sendo estes essencialmente formados por uma solução de hemoglobina encapsulada através de uma membrana. Devido às características elásticas da membrana dos glóbulos vermelhos e às características fluídicas da hemoglobina, os glóbulos vermelhos são capazes de sofrer deformações muito exageradas, enquanto o volume e a área superficial da membrana se mantêm iguais [3,5]. A deformabilidade dos glóbulos vermelhos é determinada pela sua geometria, elasticidade e viscosidade da sua membrana. Um glóbulo vermelho considerado saudável possui uma forma bicôncava quando não está sujeito a nenhuma tensão externa. Nestas condições, o glóbulo possui um diâmetro de 8.0 μm e uma espessura de 2.0 μm [18,19].

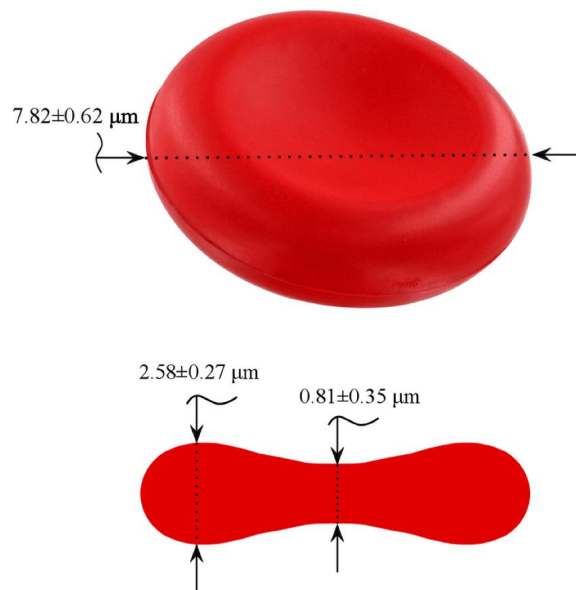


Figura 2 - Dimensões dos glóbulos vermelhos [2].

Os glóbulos brancos (leucócitos) são células com núcleo que funcionam como mecanismo de defesa do corpo humano, sendo responsáveis pela resposta imunitária no organismo. Estas células são divididas em células granudas constituídas pelos neutrófilos, eosinófilos e basófilos; e em células agranuladas, constituídas pelos linfócitos e monócitos [3]. O diâmetro dos glóbulos brancos pode variar entre os 7-22 μm, dependendo do tipo de glóbulo branco. Estas células constituem menos de 1% do total de células sanguíneas [5].

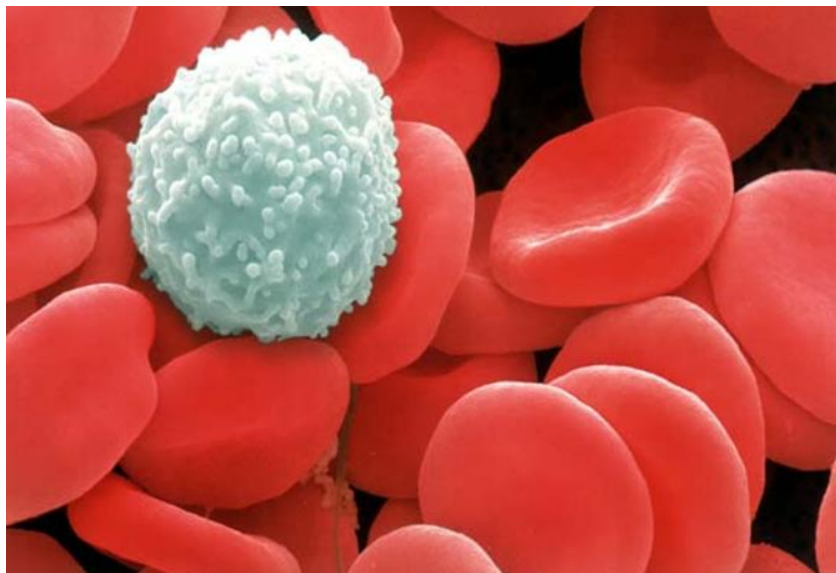


Figura 3 - Comparação entre glóbulos vermelhos e glóbulos brancos [4].

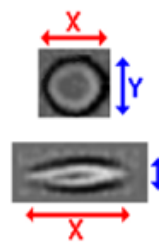
As plaquetas (trombócitos) são células sem núcleo com forma arredondada ou oval com diâmetro entre 1-2 μm . As plaquetas são responsáveis pela aglutinação, que lhes permite reunirem-se em agregações. São também responsáveis pela adesão, que consiste em fixarem-se à superfície de corpos estranhos, desempenhando um importante papel no processo de coagulação do sangue [5].



Figura 4 - Comparação entre plaquetas e glóbulos vermelhos [6].

2.2 Índice de deformação e razão de deformação

O método clássico para quantificar o grau de deformabilidade de um glóbulo vermelho é por intermédio do índice de deformação. O índice de deformação, também conhecido como índice de alongamento, na maioria das vezes é calculado por $(X - Y) / (X + Y)$ onde X e Y representam os comprimentos maior e menor da elipse, respetivamente. No entanto, em capilares, onde as dimensões dos canais são menores do que os diâmetros das células, o grau de deformabilidade deve ser medido como a razão entre o comprimento do eixo maior e o comprimento do eixo menor, pois o GV tende a se deformar em forma de paraquedas, conforme mostrado na Figura 5. Esta última definição é designada como razão de deformação [8].

$$\text{Índice de deformação} = \frac{X-Y}{X+Y} \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{DI} \sim 0.15 \\ \text{DI} \sim 0.5 \end{array} \right.$$


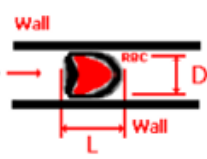
$$\text{Razão de deformação} = \frac{L}{D}$$


Figura 5 - Índice de deformação e razão de deformação [8].

Num estudo recente, verificou-se que um GV, sujeito a alongamento ao escoar através de um microcanal, é capaz de se deformar consideravelmente. Para uma contração de 20 μm , a razão entre o comprimento da célula L e o comprimento inicial L_0 , é possível verificar que o GV conseguiu alongar 10% na direção do escoamento [9]. Um exemplo ilustrativo de um ensaio experimental encontra-se representado na Figura 6.

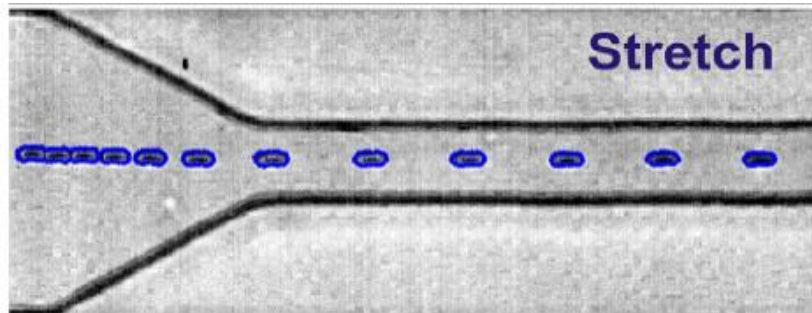


Figura 6 - Ensaio experimental com imagens sobrepostas de *time-lapse* obtidas de uma câmara de alta velocidade, onde é possível verificar o deslocamento do GV [9].

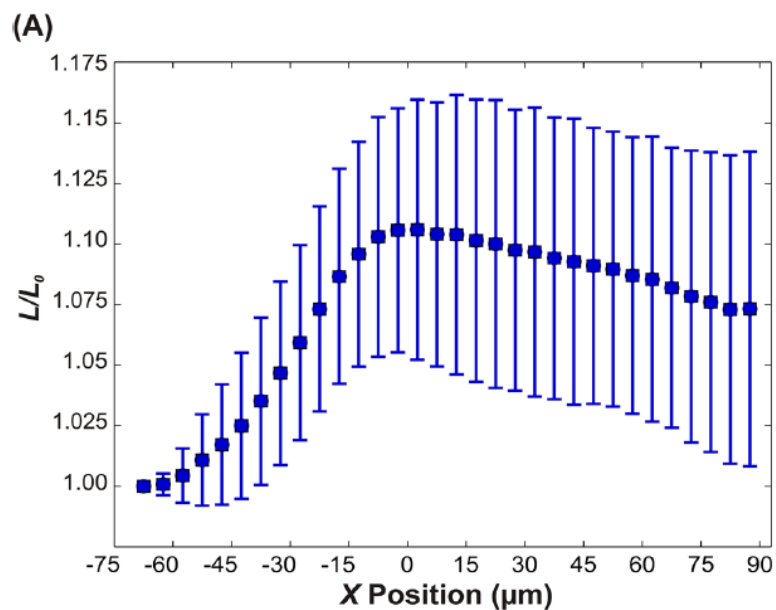


Figura 7 - Razão entre o comprimento da célula L e o comprimento inicial L_0 [9].

De salientar que no início da contração, ou seja, na posição $X=0$, o GV tem uma deformação máxima, tendo tendência a descer à medida que o GV vai percorrendo a contração. Na posição mais à esquerda, o GV tem uma taxa de deformação mínima pelo que a razão L/L_0 é 1, tendo tendência a subir à medida que se aproxima da contração.

2.3 Escoamento de glóbulos vermelhos

A migração lateral de GVs ocorre em fluxo sanguíneos com baixos números de Reynolds, levando à formação de duas fases: uma zona central com elevada concentração de GVs e uma camada livre de células (CLC) adjacente à parede do canal sem GVs. A maior parte das análises de sangue em laboratórios médicos são frequentemente realizadas em amostras livres de células, que requerem a separação de GVs de todo o sangue. Assim, torna-se necessário realizar a separação das células sanguíneas do plasma. No entanto, a espessura de uma CLC é muito pequena para extrair plasma livre de células da amostra de sangue. Uma possível solução é a utilização de um dispositivo constituído por microcanais divergentes e convergentes [21]. Nas últimas décadas, vários estudos têm se focado em modelos detalhados e precisos para descrever o escoamento sanguíneo em tubagens e microcanais bifurcados [23]. Para uma suspensão de GVs a escoar por uma bifurcação assimétrica, as frações de volume nas duas ramificações filhas não são iguais; a fração de volume de GVs aumenta no ramo filho com uma taxa de fluxo mais alta, enquanto a fração de volume de GVs diminui (mesmo chegando a zero) no ramo filho com uma taxa de fluxo mais baixa. Este fenómeno é conhecido como lei da bifurcação ou efeito de Zweifach-Fung. Considerando as forças atuantes nos GVs situadas centralmente no ponto de ramificação de um vaso sanguíneo capilar, tanto a pressão como as tensões de corte proporcionam um deslocamento dos GVs para o ramo com mais elevado caudal [24].

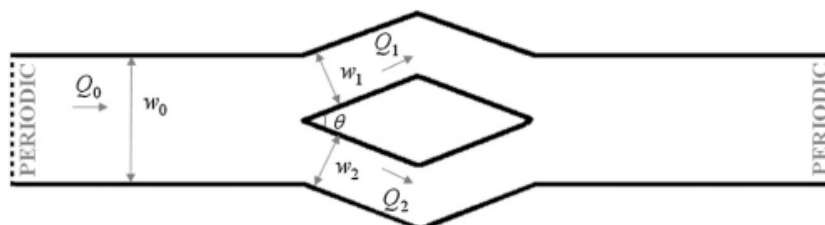


Figura 8 - Esquema de separação do caudal inicial Q_0 , onde Q_1 e Q_2 representam os caudais nos ramos filho [21].

A razão teórica da taxa de escoamento crítico entre as duas ramificações filhas para a separação dos GVs completa do sangue total (fenômeno tudo ou nada) é aproximadamente 2,5 quando a largura do canal é do mesmo tamanho que o diâmetro do GV [24]. No entanto, resultados experimentais da separação sangue-plasma demonstraram que para a razão de taxa de fluxo de 2,5 entre as duas ramificações filhas, apenas 88,7% das células escoam para o ramo filho de maior taxa de fluxo.

Na realidade, num ponto de ramificação da bifurcação, os GVs são distribuídos em diferentes ramos, dependendo de vários fatores, como o tamanho do canal pai, a razão da taxa de fluxo das ramificações filhas, a alimentação de distribuição de hematócrito, a viscosidade do plasma e as propriedades GV incluindo deformabilidade e agregação dos GVs [21]. Quando o sangue escoar numa bifurcação, os GVs deslocam-se para diferentes ramos filhos com diferentes níveis de hematócrito. A separação sangue-plasma pode ser explicada qualitativamente considerando a distribuição não uniforme de GV no canal pai, o desvio de trajetórias dos GVs do fluxo das linhas de fluxo na região de bifurcação, as interações hidrodinâmicas entre o GV e a parede interna do canal, etc. [21].

A membrana dos glóbulos vermelhos consiste numa bicamada lipídica suportada por um citoesqueleto aglomerado à base de espectrina. A resistência da bicamada lipídica a fletir elasticamente é controlada através da rigidez à flexão, k_c , enquanto a resistência da rede de espectrina ao esforço de corte é caracterizada pelo módulo de corte no plano, μ_s . Várias propriedades dos glóbulos vermelhos têm sido medidas experimentalmente. Dos métodos experimentais utilizados, destacam-se a aspiração por micropipeta, pinças óticas, citometria ótica de torção magnética, flutuações térmicas da membrana, microscopia por força atômica, fluxo de corte e esticador ótico [20].

Os dois primeiros métodos experimentais submetem os glóbulos vermelhos diretamente a deformações mecânicas e consegue-se prever que o módulo interfacial de corte microscópico de um glóbulo vermelho saudável se encontra próximo do valor de $2-12 \mu\text{Nm}^{-1}$ [20]. Através da citometria ótica de torção magnética e de flutuações térmicas de membrana, é possível obter medições de propriedades reológicas da membrana e caracterizar a resposta microelástica da membrana dos glóbulos vermelhos.

Observações experimentais de comportamentos dos glóbulos vermelhos em fluxos que imitam a microcirculação revelam elevadas deformações e uma dinâmica peculiar. A extrema

deformabilidade permite que o GV comprima sem sofrer qualquer dano ao passar por capilares estreitos existentes na microcirculação. Quando aplicada uma tensão de corte constante, um GV exibe comportamentos dinâmicos complexos [26-28]. Um GV sob a ação de uma tensão de corte exibe dois tipos de movimentos dinâmicos: um movimento de “tumbling” que é caracterizado pela inversão da célula que se assemelha a um movimento de um corpo rígido, e um movimento de “tank treading”, movimento este em que a membrana celular e o líquido interior seguem um movimento de rotação, enquanto o alinhamento da célula em um ângulo em relação à direção do fluxo permanece quase estável.

A simulação dinâmica e a modelação em várias escalas ajudam a prever como os GVs se comportam em tensões de corte e a fornecer conhecimentos sobre como o escoamento viscoso transforma as formas de GVs e como o GV deformável distorce o escoamento circundante. Vários modelos computacionais, incluindo modelos de nível de espectrina e MS-GV [29,30], foram recentemente desenvolvidos e aplicados a simulações de glóbulos vermelhos em diferentes escalas. Nestes modelos, a membrana é geralmente considerada como uma casca de um único componente com propriedades eficazes que buscam estimar os efeitos combinados da bicamada lipídica e do citoesqueleto. Em condições normais, o citoesqueleto está ligado à bicamada lipídica do lado citoplasmático. No entanto, sob certas condições, como quando os GVs assumem uma forma crescente na doença falciforme, o citoesqueleto pode se dissociar da bicamada lipídica [31]. As propriedades mecânicas associadas às interações da bicamada-citoesqueleto influenciam fortemente a bio-reologia, a função eritrocitária e o início e progressão de doenças que afetem os glóbulos vermelhos. Assim, é desejável desenvolver um modelo de uma nova célula inteira de dois componentes baseada em partículas para estudar a biofísica dos GVs decorrentes das interações entre a bicamada lipídica e o citoesqueleto.

Apesar do fato de que o fenômeno do fluxo sanguíneo na microcirculação ter sido estudado por muitos anos, vários aspectos importantes do fluxo sanguíneo hidrodinâmico em vasos sanguíneos divergentes permanecem inexplorados [32-34], exigindo mais estudos sobre o movimento de GVs e de bifurcações em canais microfluídicos. Esses estudos podem levar a uma melhor compreensão do transporte microvascular de hemácias em estados saudáveis bem como em situações de doença. A simulação dinâmica pode prever como o escoamento sanguíneo se comporta não só em canais microfluídicos como também em redes

microvasculares. Investigações *in vitro* do comportamento do fluxo sanguíneo que ocorrem em microcanais é útil para compreender o papel dos eritrócitos no processo de entrega de oxigênio. Além disso, um olhar mais atento nos detalhes de comportamento de fluxo de GVs individuais ocorrendo em microcanais complexos são necessários para desenvolver conhecimento no que toca a projetar dispositivos microfluídicos para separação das células sanguíneas do plasma, e é necessário para compreender a assimetria nas trajetórias dos GVs entre a bifurcação e a confluência [33]. No entanto, a modelação quantitativa do fluxo sanguíneo na microcirculação é difícil devido ao grande número de graus de liberdade na modelação do GV e por causa de milhões de partículas para representar o fluxo sanguíneo. Várias abordagens computacionais, incluindo modelos numéricos contínuos e baseados em partículas [35, 36], foram recentemente desenvolvidas e aplicadas a simulações de GVs.

É possível capturar qualitativamente as propriedades mecânicas de um GV individual. No entanto, ainda é difícil realizar simulações de fluxo sanguíneo devido ao custo demasiado elevado dessas simulações. Um procedimento sistemático de grão grosseiro que reduz o número de graus de liberdade no modelo GV, foi apresentado em [37-39]. Dois modelos GV diferentes, o GV multi-escala (MS-GV) e o modelo de baixa dimensão do GV (LD-GV), foram desenvolvidos e empregados para realizar simulações eficientes de GVs na microcirculação. Em particular, o modelo LD-GV, que modela um GV como um anel tipo toro fechado de dez partículas coloidais, permite a simulação do fluxo sanguíneo ao longo uma ampla gama de níveis de hematócrito (Hct) a custos computacionais que são consideravelmente inferiores aos do modelo MS-GV. O modelo LD-GV oferece um bom método na simulação do comportamento *in vitro* do escoamento sanguíneo em canais microfluídicos [37-40].

Ao longo dos anos têm sido feitos vários estudos acerca da velocidade de escoamento do sangue que têm revelado resultados dispersos, refletindo a complexidade dos fenómenos que ocorrem na microcirculação. A dispersão dos resultados deve-se ao facto de a velocidade de escoamento ser afetada por vários parâmetros combinados, tais como o Hct (percentagem de volume ocupada pelos glóbulos vermelhos ou hemácias no volume total de sangue), o diâmetro do microcanal, a taxa de deformação, o fluido em suspensão (plasma, soro fisiológico ou dextrano), erros experimentais, entre outros [26]. Foi proposto por Goldsmith [11] um perfil de velocidades que sugere que para soluções diluídas, com um Hct de cerca de 1%, este perfil se aproxima a uma parábola. Para Hcts superiores, o perfil de velocidades

assemelha-se à forma de um pistão (perfil horizontal perpendicular às paredes do microcanal), como pode ser observado na Figura 9.

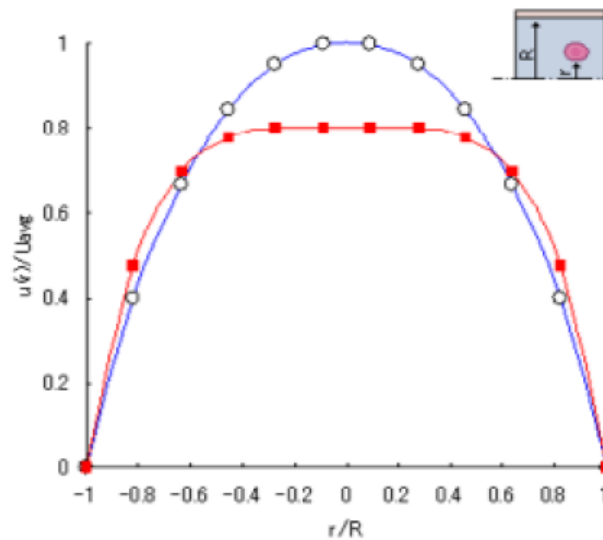


Figura 9 - Representação dos perfis de velocidades para $Hct < 1\%$ (azul) e Hct superior (vermelho) [3,11].

2.4 Mecânica Lagrangiana

O formalismo lagrangiano permite obter as equações de movimento de um sistema de um modo elegante e sistemático. Contrariamente aos métodos baseados nas leis de Newton do movimento, este formalismo não exige a identificação das forças envolvidas, o que torna a análise mais abstrata. Contudo, é assim possível simplificar o tratamento de sistemas de maior complexidade, especialmente quando não é relevante a determinação das forças associadas às restrições ao movimento das suas partículas [12].

2.4.1 Coordenadas generalizadas

A posição de uma partícula fica definida pelo seu vetor de posição \vec{r} , cujas componentes são as suas coordenadas cartesianas x , y , e z . Para especificar completamente a posição de um sistema de N partículas, serão necessários N raios vetores de posição, ou seja, $3N$ coordenadas. No entanto, é possível conhecer a posição de determinados sistemas a partir de um número de variáveis inferior a $3N$. Designa-se por número de graus de liberdade a quantidade de variáveis independentes que é necessário especificar para conhecer completamente a posição de um dado sistema.

As posições no espaço de todas as partículas de um corpo rígido ficam completamente definidas pela posição de um ponto do corpo (por exemplo, o seu centro de massa) e pela orientação do corpo, isto é, por apenas 6 variáveis.

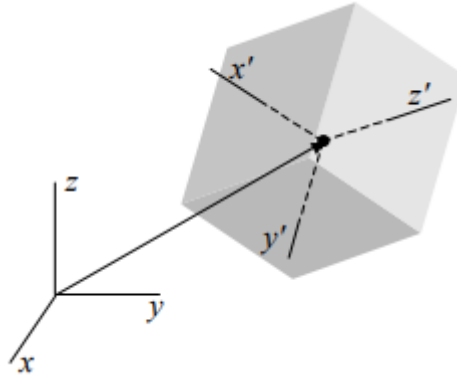


Figura 10 - Posição de um sólido no espaço [12].

2.4.2 Lagrangiano de um sistema de partículas

Na formulação da mecânica lagrangiana, cada sistema mecânico é caracterizado por uma determinada função. No caso geral, esta função depende das coordenadas generalizadas (q), das suas derivadas temporais (\dot{q}) e também do tempo (t). Esta função designa-se Lagrangiano do sistema, sendo representada habitualmente por $L(q, \dot{q}, t)$. O Lagrangiano pode ser escrita na forma:

$$L = T - U \quad (1)$$

onde T é a soma das energias cinéticas das partículas do sistema e U é a sua energia potencial, onde se incluem os efeitos de todas as forças conservativas [12].

2.4.3 Equações de Lagrange

É possível demonstrar que a minimização da funcional ação conduz a um conjunto de equações diferenciais conhecidas por equações de Euler-Lagrange. Para um sistema com s graus de liberdade e coordenadas generalizadas q_1, q_2, \dots, q_s , estas equações são:

$$\frac{d}{dt} \left(\frac{\partial L}{\partial \dot{q}_i} \right) - \left(\frac{\partial L}{\partial q_i} \right) = 0, \quad i = 1, 2, \dots, s \quad (2)$$

Este é um sistema de s equações diferenciais parciais de segunda ordem em t . A resolução destas equações permite determinar $q(t)$, ou seja, as equações da trajetória do sistema, sendo para tal necessário indicar $2s$ condições de fronteira. Estas equações são aplicáveis quando no sistema apenas atuam forças conservativas [12].

Na formulação Lagrangiana total, as equações de conservação e equações constitutivas são expressas em termos das coordenadas de referência X , que são consideradas as coordenadas da configuração de referência inicial não-deformada. Esta formulação é utilizada para simular o comportamento de corpos no estado sólido. Um mapeamento φ entre as coordenadas atuais e as coordenadas de referência descreve o movimento do corpo no tempo t [13]:

$$\mathbf{x} = \varphi(\mathbf{X}, t) \quad (3)$$

Aqui, \mathbf{x} são as coordenadas atuais deformadas e \mathbf{X} as coordenadas de referência (Lagrangianos). O deslocamento \mathbf{b} é dado pela expressão:

$$\mathbf{b} = \mathbf{x} - \mathbf{X} \quad (4)$$

Observar que os símbolos matemáticos em negrito como os anteriores denotam vetores ou tensores, enquanto o mesmo símbolo matemático em fonte não negrito refere-se à sua respectiva norma euclidiana, por ex. $x = |\mathbf{x}|$.

As equações de conservação para a massa, impulso (integral da força em ordem ao tempo) e energia na formulação Lagrangiana total são dados por:

$$\rho J = \rho_0 \quad (5)$$

$$\ddot{\mathbf{b}} = \frac{1}{\rho_0} \nabla_0 \cdot \mathbf{P}^T \quad (6)$$

$$\dot{\epsilon} = \frac{1}{\rho_0} \dot{\mathbf{F}} : \mathbf{P}, \quad (7)$$

onde ρ é a densidade de massa, \mathbf{P} é o primeiro tensor tensão de Piola-Kirchhoff, ϵ a energia interna, e ∇ é o operador nabla. O índice 0 indica que uma quantidade é avaliada na configuração de referência, enquanto a ausência deste índice significa que a configuração atual está a ser usada. J é o determinante do gradiente de deformação \mathbf{F} ,

$$\mathbf{F} = \frac{dx}{dX} = \frac{db}{dX} + \mathbf{I}, \quad (8)$$

que pode ser interpretada como a matriz de transformação que descreve a rotação e o alongamento de um elemento linha da configuração de referência para a configuração atual [13].

2.4.4 A aproximação SPH na formulação Lagrangiano total

A aproximação SPH (*Smooth-Particle Hydrodynamics*) para uma função escalar em termos das coordenadas de referência pode ser escrita da seguinte forma:

$$f(\mathbf{X}_i) = \sum_{j \in \mathcal{S}} V_j^0 f(\mathbf{X}_j) W_i(\mathbf{X}_{ij}) \quad (9)$$

O somatório estende-se por todas as partículas dentro do intervalo de uma função de peso escalar W_i , que é centrada na posição \mathbf{X}_i e depende apenas da distância vetorial entre as coordenadas \mathbf{X}_i e \mathbf{X}_j . Aqui, exclusivamente os núcleos radialmente simétricos são considerados, ou seja, $W_i(\mathbf{X}_{ij}) = W_i(X_{ij})$ cujos valores dependem apenas da distância escalar entre as partículas i e j . V^0 é o volume associado a uma partícula na configuração de referência. A função de peso é escolhida de modo a satisfazer um suporte compacto, ou seja, inclui apenas vizinhos dentro de uma certa distância radial. Este domínio de influência é

denominado por S . A aproximação SPH de uma derivada de f e é obtida operando diretamente com o operador de gradiente nas funções *kernel*,

$$\nabla_0 f(\mathbf{X}_i) = \sum_{j \in S} V_j^0 f(\mathbf{X}_j) \nabla W_i(\mathbf{X}_{ij}) \quad (10)$$

Onde o gradiente da função *kernel* é dada por:

$$\nabla W_i(\mathbf{X}_{ij}) = \left(\frac{dW(X_{ij})}{dX_{ij}} \right) \frac{\mathbf{X}_j - \mathbf{X}_i}{X_{ij}} \quad (11)$$

A aproximação SPH na formulação Lagrangeana é uma adaptação usada para simular o comportamento à deformação de sólidos em interação com líquidos.

2.5 Teoria Geral de Fluxo Monofásico

As interfaces de fluxo de fluido monofásico são baseadas nas equações de Navier-Stokes, que na sua forma mais geral, são dadas por:

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (12)$$

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \rho (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = \nabla \cdot [-p \mathbf{I} + \boldsymbol{\tau}] + \mathbf{F} \quad (13)$$

$$\rho C_p \left(\frac{\partial T}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) T \right) = -(\nabla \cdot \mathbf{q}) + \boldsymbol{\tau} : \mathbf{S} - \frac{T}{\rho} \frac{\partial \rho}{\partial x} \bigg|_p \left(\frac{\partial p}{\partial t} + (\mathbf{u} \cdot \nabla) p \right) + Q \quad (14)$$

Onde,

ρ é a densidade (kg/m^3);

\mathbf{u} é o vetor velocidade (m/s);

p é a pressão (Pa);

τ é o tensor tensão de viscosidade (Pa);

\mathbf{F} é o vetor de força por unidade de volume (N/m^3);

C_p é o calor específico a pressão constante ($\text{J}/(\text{kg}\cdot\text{K})$);

T é a temperatura absoluta (K);

\mathbf{q} é o vetor de fluxo de calor (W/m^2);

Q são as fontes de calor (W/m^3);

\mathbf{S} é o tensor da razão de deformação.

Quando as variações de temperatura no fluxo são pequenas, um fluido monofásico pode muitas vezes ser representado como incompressível; ou seja, ρ é constante ou quase constante. Este é o caso de todos os líquidos em condições normais e também para gases com baixas velocidades. Para ρ constante, tem-se:

$$\rho \nabla \cdot \mathbf{u} = 0 \quad [\text{Equação da continuidade}] \quad (15)$$

$$\rho \frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \rho (\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = \nabla \cdot [-p \mathbf{I} + \mu (\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T)] + \mathbf{F} \quad [\text{Equação de momento}] \quad (16)$$

onde μ é a viscosidade dinâmica (Pa.s) [15].

2.6 Lei de Hooke

A lei de Hooke é a relação linear (diretamente proporcional) entre tensão e deformação na região elástica. Foi descoberta por Robert Hooke, em 1676, com o auxílio de molas. A lei é descrita pela seguinte equação:

$$\sigma = E \varepsilon \quad (17)$$

onde E é uma constante de proporcionalidade, designada por módulo de elasticidade ou módulo de Young, nome derivado de Thomas Young que explicou a Lei em 1807. Um material é designado de linear-elástico se a tensão for proporcional à deformação dentro da região elástica. Essa condição é denominada por Lei de Hooke e o declive da curva representa o módulo de elasticidade E [16].

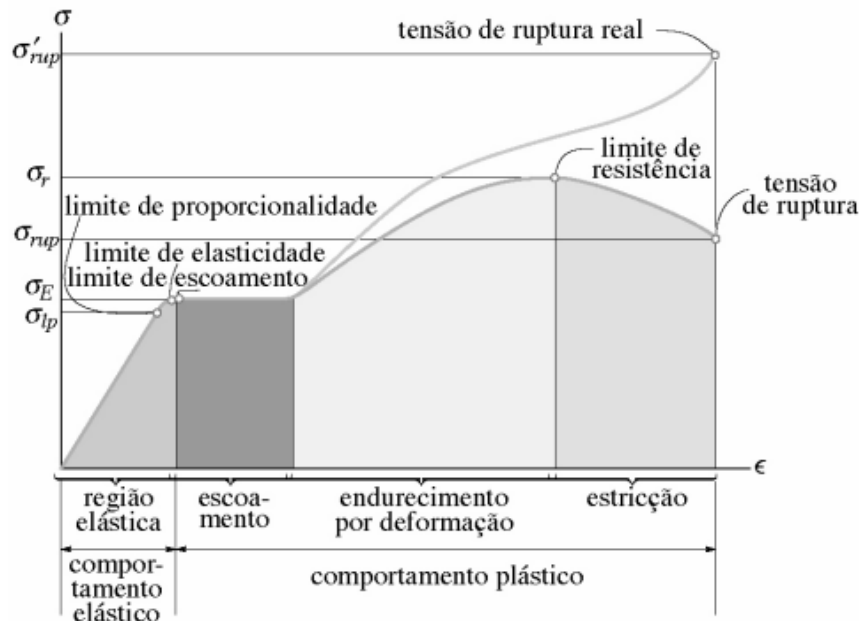


Figura 11 - Diagrama Tensão-Deformação, com os respectivos regimes elástico e plástico [16].

2.7 Tensor tensão de Cauchy

O tensor tensão de Cauchy é usado para a análise de tensões de corpos materiais submetidos a pequenas deformações. Considerando um sistema triortogonal de eixos coordenados como referência para os pontos do sólido deformável, o tensor T é dado pela matriz:

$$T = \begin{bmatrix} T_{11} & T_{12} & T_{13} \\ T_{21} & T_{22} & T_{23} \\ T_{31} & T_{32} & T_{33} \end{bmatrix} \quad (18)$$

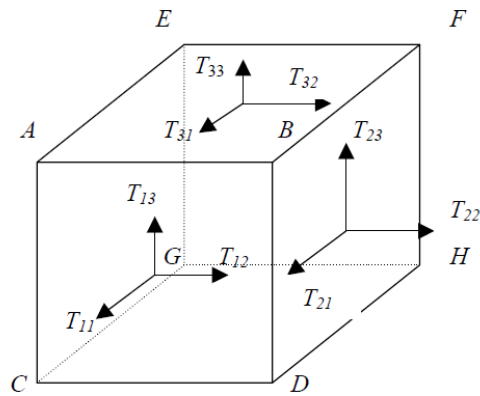


Figura 12 - Componentes do Tensor de tensão de Cauchy [17].

Para um dado estado de carga, e de restrições ao deslocamento do sólido, há um só valor do tensor de tensão \mathbf{T} , associado a um dado ponto P do sólido. Dado um sistema cartesiano de eixos, \mathbf{T} é representado por uma matriz, cujas componentes têm dimensão de pressão [17].

3. SIMULAÇÃO DE ESCOAMENTO NUM MICROCANAL

De forma a poder observar o comportamento mecânico de glóbulos vermelhos a percorrer individualmente microcanais, recorreu-se ao código de dinâmica molecular clássica *LAMMPS*. Este código apresenta o seu enfoque na modelação de materiais e foi concebido para correr de forma eficiente em sistemas paralelizáveis. *LAMMPS* é um acrónimo de *Large-scale Atomic/Molecular Massively Parallel Simulator*. O *LAMMPS* tem capacidade para modelar materiais no estado sólido (metais, semicondutores), materiais moles (biomoléculas, polímeros) e sistemas granulares ou mesoscópica. Ele pode ser usado para modelar átomos ou, mais genericamente, como um simulador de partículas à escala atómica.

Este *software* possui diversos pacotes disponíveis para serem descarregados, pacotes estes que podem simular sistemas de partículas e interações, que não os convencionais. Para este trabalho, foi utilizado o pacote *SMD (Smooth Mach Dynamics)*, que consiste na implementação da aproximação *SPH* no código *LAMMPS* [13]. Este é um pacote de simulação sem malha utilizado para resolver problemas de mecânica do contínuo.

3.1 Descrição do código SMD

O executável associado ao código *LAMMPS*, durante o seu funcionamento, faz correr um *input script* contendo um conjunto de comandos e parâmetros definidos pelo utilizador. Dentro deste *input script* são estabelecidos os mais diversos aspetos da simulação. Nomeadamente, parâmetros de materiais, sistema de unidades, tipo de partículas, tempos de simulação, entre outros. Neste código, o desenvolvedor do *input script* é o responsável pela escrita do código que irá transformar o *input script* em resultados finais. Nos *softwares* mais comuns, o utilizador apenas insere alguns parâmetros iniciais, e não se preocupa muito com qual o princípio matemático que está por detrás dos cálculos das simulações. No *LAMMPS*, temos uma melhor perceção de como os *inputs* são convertidos em resultados, uma vez que é o utilizador que define a parametrização dos dados a serem processados.

No início do *input script*, são definidas as principais variáveis físicas necessárias para caracterizar os materiais utilizados, através do comando *variable*. É necessário salientar que o parâmetro do patamar de cedência (*yield strength*), a partir do qual o GV começa a deformar plasticamente, foi ajustado de forma que possibilitasse a deformação do GV após a sua passagem pela contração no microcanal. Definiu-se que a tensão correspondente para este patamar é obtida para uma deformação percentual de 0.1% do módulo de Young. Este valor foi ajustado com base nas diversas simulações realizadas neste trabalho, de modo a que o GV não perdesse partículas, e de maneira a permitir a deformação do mesmo. Outros parâmetros foram definidos para o GV, desde o coeficiente de Poisson, densidade, módulo de Young, como descrito no fragmento de código da Figura 13. Os valores dos diversos parâmetros utilizados têm por base outros *input scripts* de simulações *LAMMPS* envolvendo GVs.

```
#####
# MATERIAL PARAMETERS
#####
variable      c0 equal 10.0 # speed of sound for fluid
variable      rho_water equal 1.0e-6 # initial mass density
variable      E equal 5*${c0}*${c0}*${rho_water} # Young's modulus for solid objects
variable      nu equal 0.3 # Poisson ratio for solid objects
variable      l0 equal 0.25 # lattice spacing for creating particles
variable      K equal ${c0}^2*${rho_water} # Bulk modulus of liquid
variable      contact_stiffness equal 0.1*${K} # Normal values in range 0.1-0.5 of bulk modulus of liquid
variable      q1 equal 0.06 # standard artificial viscosity linear coefficient
variable      q2 equal 0.0 # standard artificial viscosity quadratic coefficient
variable      hg equal 10.0 # hourglass control coefficient
variable      Cp equal 1.0 # heat capacity of material -- not used here
variable      rho_rbc equal 1.11e-6 # mass density of RBC
variable      sigma_yield equal 0.001*${E} # plastic yield stress for solid objects
variable      hardening_parameter equal 0 # plastic hardening parameter for solid objects
variable      h equal 2.01*${l0} # SPH smoothing kernel radius
variable      vol_one equal ${l0}^3 # volume of one particle -- assuming unit thickness
variable      skin equal 0.1*${h} # Verlet list range
variable      cr equal ${l0}/2
#####
```

Figura 13 - Definição dos parâmetros físicos usados na caracterização dos materiais simulados.

Posteriormente, procedeu-se à implementação das características da simulação. Definiu-se através do comando *dimension* que a simulação será feita a três dimensões. As unidades adotadas para as várias grandezas terão por base o sistema internacional (SI) de unidades, pelo que foi utilizado o argumento “*si*” no comando *units*. Através do comando *bondary*, define-se o tipo de condições de fronteira para o domínio computacional em cada dimensão. Definiu-se que as fronteiras nas faces da caixa da simulação seriam do tipo f,p e f nas direções x,y e z, respetivamente. Para o estilo “*f*”, a posição da face é fixa e se um átomo se mover para fora desta, ele será excluído na próxima etapa em que ocorrer uma nova vizinhança. Neste estilo, a caixa não é periódica, de modo que as partículas não interajam além do limite e que não se movam de um lado da caixa para o outro. Para o estilo “*p*” a caixa é periódica, de modo que as partículas interajam além do limite e estas podem sair de uma extremidade da caixa e entrar novamente na outra extremidade, por forma a simular um sistema contínuo. Através do comando *atom_style*, definiu-se o tipo de átomos a utilizar. Utilizou-se o estilo *smd* por forma a simular partículas que irão interagir segundo a aproximação SPH. Um exemplo de implementação dos parâmetros indicados acima, podem ser observados no fragmento de código da Figura 14.

```
#####
# INITIALIZE LAMMPS
#####
dimension      3
units          si
boundary       f p f # simulation box boundaries
atom_style     smd
atom_modify    map array
comm_modify    vel yes
comm_style     tiled

neigh_modify   every 10 delay 0 check yes exclude type 2 2 page 3000000 one 300000
neigh_modify   exclude type 4 4

newton         off

#####
```

Figura 14 - Fragmento de código exemplificando alguns parâmetros de inicialização do código *LAMMPS*.

Uma vez definidas as características iniciais da simulação, são descritas as geometrias dos diferentes materiais utilizados. Primeiramente, estabeleceu-se a distância entre átomos através do comando *lattice*, de modo a criar a configuração inicial das posições ocupadas pelas partículas do fluido.

No *LAMMPS*, *lattice* é simplesmente um conjunto de posições no espaço, determinado por uma célula unitária onde serão posteriormente alocadas partículas, que é replicado infinitamente em todas as dimensões. O comando *region* serve para definir uma região geométrica no espaço, podendo este espaço pode ser preenchido por partículas. Utilizou-se o argumento “*box block -40 45 -65 95 -5 5 units box*” de maneira a definir o domínio computacional, com comprimento definido através das coordenadas *xlo*, *xhi*, *ylo*, *yhi*, *zlo*, *zhi* enumeradas a seguir à “*keyword*” *block*. De seguida, definem-se diversas regiões, em zonas distintas do microcanal, e depois são criadas partículas correspondendo ao fluido, através do comando *create_atoms*. Aqui é também atribuído um identificador único (ID) que atribui um número a cada tipo de partícula.

O comando *read_data* foi utilizado de forma a importar um ficheiro com coordenadas que definem a geometria e coordenadas das partículas que irão definir o GV. As coordenadas são posteriormente preenchidas por átomos formando um GV. O comando *group* define um grupo específico para certos tipos de partículas, de modo a se poder aplicar posteriormente condicionantes ou outro tipo de operações visando certas partículas. Para o fluido, existe um grupo de partículas e para o GV existe outro grupo com as suas respetivas partículas. A Figura

15 apresenta a parte do código correspondente às geometrias dos diferentes materiais utilizados.

```
#####
# CREATE INITIAL GEOMETRY
#####
lattice      sc ${10}
region      box block -40 45 -65 95 -5 5 units box
create_box  4 box

region      h2o_upstream block -25 32 -36 -10 -1 1 units box
region      h2o_downstream block -25 32 24.5 51 -1 1 units box
region      h2o_channel block 2.75 4 -8 24 -0.7 0.7 units box

create_atoms 1 region h2o_upstream
create_atoms 1 region h2o_downstream
create_atoms 1 region h2o_channel

read_data rbc.xyz add append

group       water type 1
group       water_push region h2o_upstream      # define group to push only on upstream particles
group       rbc type 3
group       t1sph type 3

# Change RBC orientation and align w/ microchannel axis
displace_atoms rbc rotate 0 0 0 1 0 0 90
displace_atoms rbc move 13.5 -34 0
```

Figura 15 - Comandos *LAMMPS* responsáveis pela definição das geometrias utilizadas nas simulações.

Posteriormente, definiram-se os parâmetros de discretização necessários à aproximação pelo método SPH, como mostrado na Figura 16. Através do comando *set* é possível atribuir uma ou mais propriedades a uma ou mais partículas. Na segunda linha desta secção, define-se que todos os grupos de partículas possuem o mesmo raio, recorrendo ao argumento *group all smd/contact/radius* $\{cr\}$. Na quarta linha, atribui-se o valor da densidade apenas às partículas do fluido, sendo que o mesmo procedimento é depois realizado também para as partículas que constituem o GV, na linha 6. Na linha 5, definiu-se o diâmetro de suavização do *kernel* SPH.

```
#####
# DISCRETIZATION PARAMETERS
#####
neighbor     ${skin} bin
set          group all smd/contact/radius ${cr}
set          group all volume ${vol_one}
set          group water smd/mass/density ${rho_water}
set          group all diameter ${h} # set SPH kernel radius
set          group rbc smd/mass/density ${rho_rbc}
variable     contact_scale equal 1.5 # scale factor to increase contact gap between bodies
#####
```

Figura 16 - Discretização de parâmetros de discretização utilizados nas simulações pelo código SMD, relativo aos diferentes materiais.

Na secção seguinte, é necessário impor uma força responsável pela modelação do escoamento das partículas. As partículas de fluido por sua vez exercem forças sobre as partículas constituintes do GV, pressionando-o para o interior da contração do microcanal, fazendo com que este sofra deformação. Para simular o processo de escoamento de fluido, recorreu-se ao comando *LAMMPS fix_addforce*. Este comando irá adicionar uma força externa às partículas de água que se encontram a montante do GV, partículas estas que estão associadas ao grupo ID *water_push*. A força é definida por um vetor nas três direções, mas neste caso como o escoamento apenas deve ocorrer segundo o eixo principal do microcanal (direção y), apenas se atribuiu um valor nesta direção, mantendo as restantes componentes com valor nulo. O valor da força foi ajustado de maneira que o GV conseguisse entrar na contração do microcanal, e de maneira que este conseguisse percorrer a contração em toda a sua extensão, tendo em consideração a parametrização do comportamento elástico-plástico do GV. A imposição da força é realizada através da secção apresentada na Figura 17.

```
#####
# DEFINE PUSHING FORCE AND GRAVITY BOUNDARY CONDITION
#####

# push liquid particles for blood flow

fix          push water_push addforce 0.0 9.424e-8 0.0      # push only upstream water particles
#####
```

Figura 17 - Fragmento de código *LAMMPS* usado na simulação do escoamento do fluido, por forma a arrastar o GV no microcanal.

Na secção seguinte, são definidas as interações entre as diferentes partículas constituintes das simulações, o tipo de interação com as paredes do microcanal, bem como o modelo material para modelar o GV e fluido. Através do comando *pair_style*, definem-se as diferentes expressões ou modelos que o *LAMMPS* usa para modelar as interações entre pares de partículas. No *LAMMPS*, os potenciais de par são definidos entre pares de partículas que estão dentro de uma distância “*cutoff*” e o conjunto de interações ativas normalmente muda ao longo do tempo. Utilizou-se o estilo *hybrid/overlay* de modo que vários estilos de interações emparelhadas sobrepostas possam ser aplicados.

O estilo *smd/tri_surface* calcula as forças de contato entre as partículas SPH (*Smooth-Particle Hydrodynamics*) e um limite de parede rígido definido por meio do comando *fix smd / wall_surface* indicado mais à frente no código. O argumento *smd/ulsph* permite calcular as

interações das partículas do fluido de acordo com as leis da mecânica do contínuo e com o algoritmo Lagrangiano SPH. Este argumento deve ser acompanhado de 3 componentes, sendo que para esta simulação utilizou-se: **DENSITY_CONTINUITY* para que seja integrada no tempo a densidade usando o tensor da taxa de deformação; **VELOCITY_GRADIENT* para que seja possível calcular do gradiente das velocidades, sendo este argumento necessário quando se usa **DENSITY_CONTINUITY*, modelos constitutivos de viscosidade e modelos constitutivos de força; **NO_GRADIENT_CORRECTION* faz com que não sejam calculadas derivadas corrigidas de primeira ordem. Seguidamente, temos o argumento *smd/tlsph* que é responsável pelo cálculo das interações das partículas de fase sólida, isto é, o GV, de acordo com as leis da mecânica do contínuo e o algoritmo de Lagrangiano Total SPH. Por fim, temos *smd/hertz* $\{contact_scale\}$, que é responsável pelo cálculo das forças de contacto entre as partículas SPH pertencendo a diferentes corpos físicos.

O comando *pair_coeff* especifica a parametrização dos coeficientes dos vários campos de força usados na modelação dos vários tipos de interações. O número e o significado dos coeficientes dependem do estilo do potencial de par. Na linha 4 do fragmento do código da Figura 18, define-se como interagem as partículas de água entre si, sendo utilizado o argumento 1 1 para especificar que esta interação apenas diz respeito às partículas do tipo 1 (fluido). Utiliza-se também os argumentos **COMMON* $\{\rho_water\}$ $\{c0\}$ $\{q1\}$ $\{Cp\}$ $\{hg\}$ para se simular o fluido, com as correspondentes densidade, velocidade de propagação som no fluido, coeficiente artificial de viscosidade linear, calor específico e coeficiente de controlo do artefacto de ampulheta. Utiliza-se também o argumento **EOS_TAIT* 2 de maneira a implementar uma equação de estado (EOS) que não contabiliza efeitos da temperatura. Visto que a nossa simulação se pretende a temperatura constante, concluiu-se que esta seria a equação de estado que mais se adequaria. A equação de estado utilizada é representada pela equação:

$$p = K \left[\left(\frac{\rho}{\rho_0} \right)^n - 1 \right] \quad (19)$$

Onde p é a pressão, ρ é a densidade da massa, K é o módulo de elasticidade do fluido. O expoente n é um expoente que assume valor 7 para simulações hidráulicas de água. O comando *pair_coeff* deve ser finalizado com a *keyword* *END, para este estilo de *pair_style*.

Dado que as paredes do microcanal não interagem entre si, a 7ª linha define isso mesmo. Os dois comandos *pair_coeff* seguintes definem a interação líquido-microcanal e o GV-microcanal respetivamente. Para ambas as interações utiliza-se a fórmula de cálculo *smd/tri_surface*, recorrendo ao mesmo valor de rigidez de contacto.

De seguida, é definida o tipo de interação entre as diferentes partículas que constituem o glóbulo vermelho. Utiliza-se estilo e argumentos *smd/tlsph *COMMON* $\{\rho_{rbc}\}$ $\{E\}$ $\{nu\}$ $\{q1\}$ $\{q2\}$ $\{hg\}$ $\{Cp\}$ por forma a implementar o modelo de aproximação TLSPH. Utilizou-se aqui também o modelo material **STRENGTH_LINEAR_PLASTIC*, modelo este que simula o comportamento linear elástico/plástico ideal, sendo que a este modelo estão associados a tensão de cedência e encruamento do material. O modelo de equação de estado **EOS_LINEAR* calcula a pressão de acordo com as equações:

$$\mu = \frac{\rho}{\rho_0} - 1 \quad (20)$$

$$p = K\mu \quad (21)$$

Onde μ representa a relação entre a mudança de volume das quantidades escalares. Posteriormente, temos a interação entre o fluido e o GV, que é dada pelo argumento *smd/hertz*, que está associado à rigidez de contacto e define o contacto segundo o modelo. Por fim, tem-se a interação entre o pistão e os diferentes tipos de partículas existentes na simulação. Existe apenas as interações pistão-fluido e pistão-GV sendo usado o estilo *smd/tri_surface* associados novamente à mesma rigidez de contacto.

```
#####
# INTERACTION PHYSICS / MATERIAL MODEL
# We use polynomial EOS for the pressure and the Johnson Cook strength model
# An integration point fails (cannot support tension anymore) if the plastic strain exceeds 0.5.
#####
pair_style      hybrid/overlay smd/tri_surface 1.0 &
                smd/ulsph *DENSITY_CONTINUITY *VELOCITY_GRADIENT *NO_GRADIENT_CORRECTION &
                smd/tlsph smd/hertz ${contact_scale}|
pair_coeff      1 1 smd/ulsph *COMMON ${rho_water} ${c0} ${q1} ${Cp} ${hg} &
                *EOS_TAIT 2 &
                *END
pair_coeff      2 2 none
pair_coeff      1 2 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction liquid/walls

pair_coeff      2 3 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction RBC/walls

pair_coeff      3 3 smd/tlsph *COMMON ${rho_rbc} ${E} ${nu} ${q1} ${q2} ${hg} ${Cp} &
                *STRENGTH_LINEAR_PLASTIC ${sigma_yield} ${hardening_parameter} &
                *EOS_LINEAR &
                *END

pair_coeff      1 3 smd/hertz ${contact_stiffness}            # contact force water/RBC

pair_coeff      4 4 none
pair_coeff      1 4 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction liquid/piston
pair_coeff      3 4 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction RBC/piston
pair_coeff      2 4 none

#####
```

Figura 18 - Secção responsável pelo estabelecimento das interações entre os diferentes tipos de partículas.

É necessário agora importar a geometria do microcanal utilizado na simulação. Para isso, utilizou-se o comando *smd/wall_surface* para importar a geometria em formato STL para a simulação. Aqui o comando *fix* indicado é responsável por criar uma malha com elemento triangular que ocupa as superfícies do ficheiro STL, como indicado na Figura 19. O mesmo procedimento foi realizado na linha seguinte, para importar a parede que irá servir de pistão para empurrar as partículas de fluido, no caso da simulação em que o eixo do GV se encontra paralelo ao escoamento. Na última linha desta secção do código, define-se que o pistão irá mover-se segundo a direção do eixo y com uma velocidade constante de valor igual a 10 m/s, através do comando *fix move_piston piston smd/move_tri_surf *LINEAR 0 10 0*.

```
#####
# LOAD STL SURFACE
#####
fix            stl_surface_fix all smd/wall_surface rbc_microcanal_quadrado_open.stl 2 65535      # load
rigid walls for open capillary
fix            stl_surface_piston all smd/wall_surface piston.stl 4 65535      # load rigid plate for piston
run           0 # This is important! Always run for 0 timesteps directly after loading STL file!
group         surface type 2
group         piston type 4
fix           move_piston piston smd/move_tri_surf *LINEAR 0 10 0      # move linearly piston to push liquid

#####
```

Figura 19 - Comandos responsáveis pela importação das geometrias do microcanal e do pistão.

Como observado na Figura 20, uma secção associada ao esquema de integração temporal, permite definir um conjunto de parâmetros para o efeito. Na terceira linha de código é definido que o incremento dinâmico entre instantes consecutivos da simulação é de 0.005 segundos, através do comando *fix dtfix all smd/adjust_dt 0.0005*. Na linha seguinte, é definido o tipo de integração para o fluido, sendo utilizado um lagrangiano adaptado para este tipo de materiais, pelo que é utilizado o argumento *smd/integrate_ulsph*. Para as partículas constituintes do GV, é utilizada a integração tendo por base o Lagrangiano Total, pelo que é utilizado o argumento *smd/integrate_tlsph*.

```
#####
# TIME INTEGRATION
#####
fix          force_fix surface setforce 0 0 0
fix          force_fix_piston piston setforce 0 0 0
fix          dtfix all smd/adjust_dt 0.0005 # dynamically adjust time increment every step
fix          integration_fix_water water smd/integrate_ulsph adjust_radius 1.02 20 25
fix          integration_fix_rbc rbc smd/integrate_tlsph
#####
```

Figura 20 - Comandos responsáveis pela definição do tipo de integração utilizado.

A secção que se segue é responsável por especificar aquilo que se pretende que o *LAMMPS* nos forneça em termos de resultados ou dados para pós-processamento. O comando *compute* define uma computação que irá ser realizada num grupo de partículas. Vários *computes* foram introduzidos por forma a obter-se dados relevantes nas simulações, nomeadamente coordenadas, vizinhanças de cada partícula de fluido e dos GVs, entre outros. O comando *dump* permite obter um registo instantâneo das trajetórias das partículas e quantidades atómicas num ou mais arquivos a cada *n* passos de tempo em um de vários estilos. Basicamente permite a obtenção de imagens da simulação a cada passo de tempo, sendo os vários passos de tempo gravados num ficheiro *dump*, ficheiro este que depois é visualizado por um software de visualização das trajetórias das partículas obtidas numa simulação por dinâmica molecular, que no caso deste trabalho foi o *OVITO*. O *OVITO* é um software de visualização e análise científica para dados de simulação atomística e de partículas. Ajuda os cientistas a obter melhores conhecimentos sobre fenómenos materiais e processos físicos [14].

Foram criados 3 ficheiros *dump*, um para o fluido, um para o GV e outro para o pistão. Como o microcanal permanece imóvel durante toda a simulação, não é necessário criar um

ficheiro *dump*, sendo apenas necessário importar o ficheiro STL no *OVITO* para o inserir na visualização dos resultados da simulação. No caso do *dump* para o fluido, queremos que possam ser apresentadas as posições das partículas de fluido (x,y,z), as várias componentes da velocidade em todas as direções (v_x,v_y,v_z), a densidade (c_rho), o número de primeiros vizinhos (c_nnw), e o raio de contacto ($c_contact_radius$).

Utiliza-se o prefixo $c_$ nestes últimos valores de modo que estes sejam referenciados relativamente ao último valor calculado na execução do código. No caso do pistão, apenas nos interessa as coordenadas das partículas no pistão. No caso do ficheiro *dump* para o GV, queremos saber as mesmas grandezas relativas ao fluido, acrescida da deformação plástica equivalente (c_epi) e o tensor tensão de Cauchy ($c_cauchy[]$). Em cada um destes *dumps*, é utilizado o argumento *first yes* do comando *dump_modify* de modo que o primeiro instante da simulação seja guardado no ficheiro *dump*.

```
#####
# SPECIFY TRAJECTORY OUTPUT
#####
variable      dumpFreq equal 30000
compute       rho all smd/rho
compute       nnw water smd/ulsph/num/neighs # number of neighbors for each water particle
compute       nnr rbc smd/tlsph/num/neighs # number of neighbors for each RBC particle
compute       contact_radius all smd/contact/radius
compute       surface_piston piston smd/triangle/vertices # compute coordinates of particle in piston
compute       epl rbc smd/plastic/strain # compute equivalent plastic strain for RBC
compute       cauchy rbc smd/tlsph/stress # compute Cauchy stress tensor for RBC

# Water dump file
dump          dump_water water custom ${dumpFreq} dump.LAMMPS id type x y z vx vy vz &
              c_rho c_nnw c_contact_radius proc
dump_modify   dump_water first yes

# Capillary dump file

# Piston dump file
dump          surf_dump_piston piston custom 999999999 piston.LAMMPS id type mol x y z vx vy vz &
              c_surface_piston[1] c_surface_piston[2] c_surface_piston[3] &
              c_surface_piston[4] c_surface_piston[5] c_surface_piston[6] &
              c_surface_piston[7] c_surface_piston[8] c_surface_piston[9]
dump_modify   surf_dump_piston first yes

# RBC dump file
dump          dump_rbc rbc custom ${dumpFreq} dump_RBC.LAMMPS id type x y z vx vy vz &
              c_rho c_nnr c_contact_radius c_epl c_cauchy[1] c_cauchy[2] c_cauchy[3] &
              c_cauchy[4] c_cauchy[5] c_cauchy[6] c_cauchy[7] proc
dump_modify   dump_rbc first yes

#####
```

Figura 21 - Fragmento de código onde são definidos os comandos *LAMMPS* para o output da simulação.

Na secção seguinte (Figura 22) podem ser observados os comandos responsáveis pelo output dos dados das simulações na consola, enquanto a mesma decorre. Primeiramente, fez-se um *compute* da energia interna de todas as partículas envolvidas na simulação, através do

argumento *all/smd/internal/energy*. No comando seguinte, é realizado o somatório de todas as energias internas ao longo da simulação, através do argumento *all reduce sum c_eint*. O comando *thermo* é utilizado para mostrar na consola, e tempo real, as informações termodinâmicas (tais como temperatura, energia ou pressão). Aqui definiu-se que estas informações termodinâmicas são calculadas a cada 100 ciclos. O comando *thermo_style* define o estilo e o conteúdo da informação termodinâmica a ser apresentada no ecrã. No argumento, definiram-se quais as variáveis a ser apresentadas. Neste caso, queremos que sejam mostrados os valores para: número de ciclos realizados, *timestep*, ajuste dinâmico do *timestep*, energia potencial, energia cinética e energia total do sistema simulado, por essa ordem.

```
#####
# STATUS OUTPUT
#####
compute      eint all smd/internal/energy
compute      alleint all reduce sum c_eint
variable     etot equal pe+ke+c_alleint # total energy of the system
thermo       100
thermo_style custom step dt f_dtfix pe ke v_etot
#####
```

Figura 22 - Comandos responsáveis pela definição de alguns parâmetros de visualização.

A última secção do código *LAMMPS*, apresentado na Figura 23, é responsável pela definição de parâmetros relativos com a visualização dos resultados da simulação. O comando *balance* realiza o ajuste dinâmico da decomposição espacial no tamanho e a forma dos subdomínios do processador dentro do domínio computacional, para tentar equilibrar o número de átomos ou partículas e, assim, indiretamente, o custo computacional (carga) de maneira mais uniforme entre os processadores. O comando *fix* seguinte tem um objetivo semelhante, sendo ambos os comandos relevantes para um balanço dinâmico do esforço computacional. Sem o recurso a este expediente, as simulações tornar-se-iam demasiado lentas em situações de desequilíbrio ("imbalance") podendo inclusive estagnar ("stale"). O comando *run* define o número de ciclos a executar numa dada secção do script *LAMMPS*.

```
#####
# RUN SIMULATION
#####
balance      1.1 rcb
fix          balance_fix all balance 200 1.1 rcb
run          20000

unfix        push          # remove fix for initial inlet liquid motion

run          2000000
```

Figura 23 - Fragmento de código *LAMMPS* responsável pela correção dinâmica do custo computacional e ciclos a executar na fase dinâmica.

3.2 Configurações do glóbulo vermelho nas simulações por MD

As trajetórias das partículas podem ser observadas na fase de pós-processamento, recorrendo a softwares dedicados à visualização de simulações obtidas por dinâmica molecular. Neste trabalho, foi utilizado o *OVITO*, devido à sua interface muito interativa e amigável, de relativa fácil utilização.

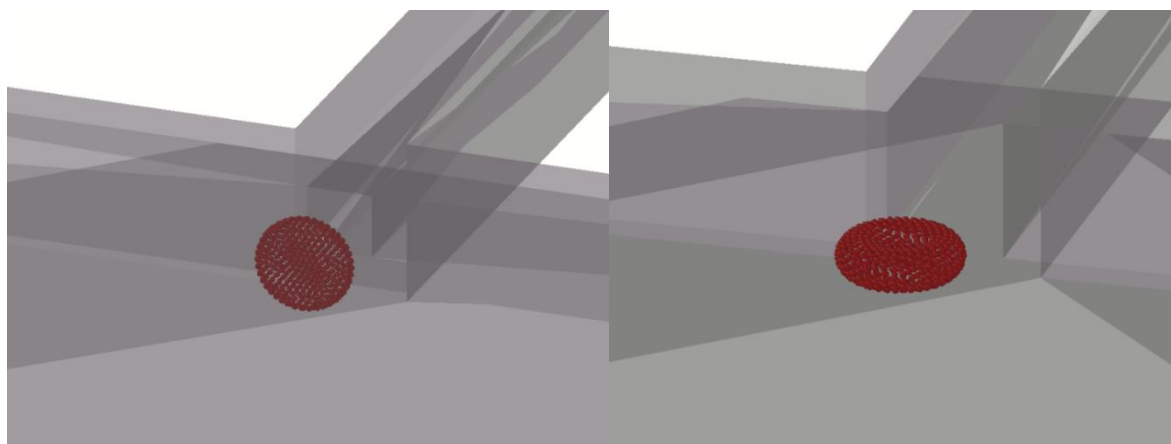


Figura 24 - *Snapshots* exemplificativos das várias configurações do GV na entrada da contração do microcanal.

No presente estudo, foram realizados essencialmente dois esquemas de simulação por dinâmica molecular. Em ambas, existe um glóbulo vermelho que vai ser arrastado pelo movimento das partículas de fluido, fazendo com que este se deforme e percorra o microcanal. O principal carácter diferenciador entre as duas variantes das simulações consiste numa orientação inicial distinta para o GV: numa o GV possui uma orientação horizontal e na outra possui uma orientação vertical. De salientar que na simulação com o GV na vertical a secção da contração é um pouco mais pequena de modo que o GV não rodasse enquanto

percorria toda a contração. Nesta última configuração, temos também uma forma diferente de empurrar as moléculas de água. Recorreu-se a um pistão que movimenta as partículas do fluido, como é mostrado no *snapshot* da Figura 25. Este pistão (paralelepípedo a amarelo) irá empurrar as partículas de fluido e o GV em direção à contração. Não existem folgas entre o pistão e o microcanal. Os microcanais são ocos por dentro, com uma parede de 2 μm . Durante as simulações, as paredes dos microcanais foram definidas como indeformáveis. Os desenhos técnicos dos microcanais encontram-se no Anexo 1.

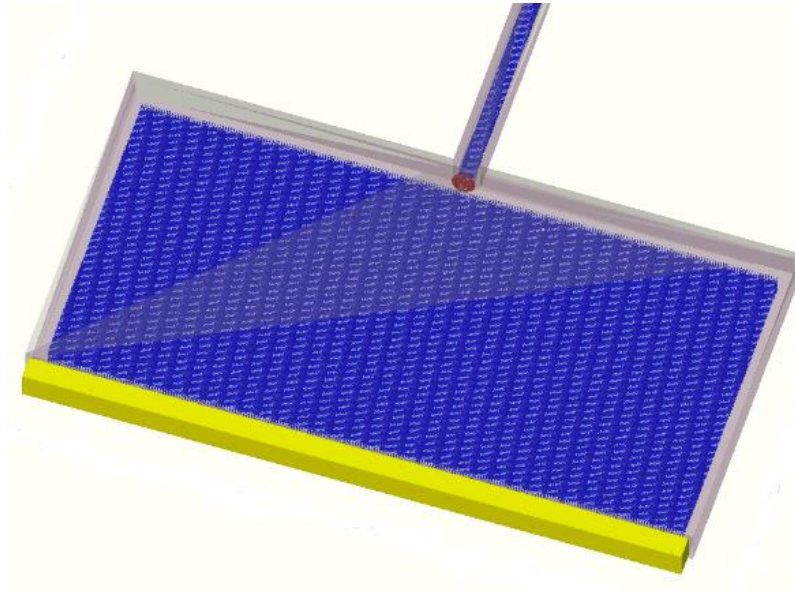


Figura 25 - *Snapshot* exemplificativo de uma simulação com o GV na posição vertical. O pistão (amarelo) empurra as partículas de fluido e, por consequente, o GV de encontro à contração.

O microcanal é constituído por três zonas distintas: uma primeira zona onde o GV se situa junta à entrada do microcanal, onde vai ser deformado; uma zona intermédia denominada de contração, onde o GV se vai deformar; uma última zona a jusante onde o GV deixa de estar sujeito a forças compressivas exercidas pelas paredes da contração e onde este tem a tendência a voltar à sua geometria inicial.

Na Figura 26 pode ser observado de forma esquemática os elementos presentes nesta simulação, que são o microcanal (cinzento) o GV (partículas a vermelho, apresentando neste caso uma orientação horizontal) e as partículas de fluido (azul).

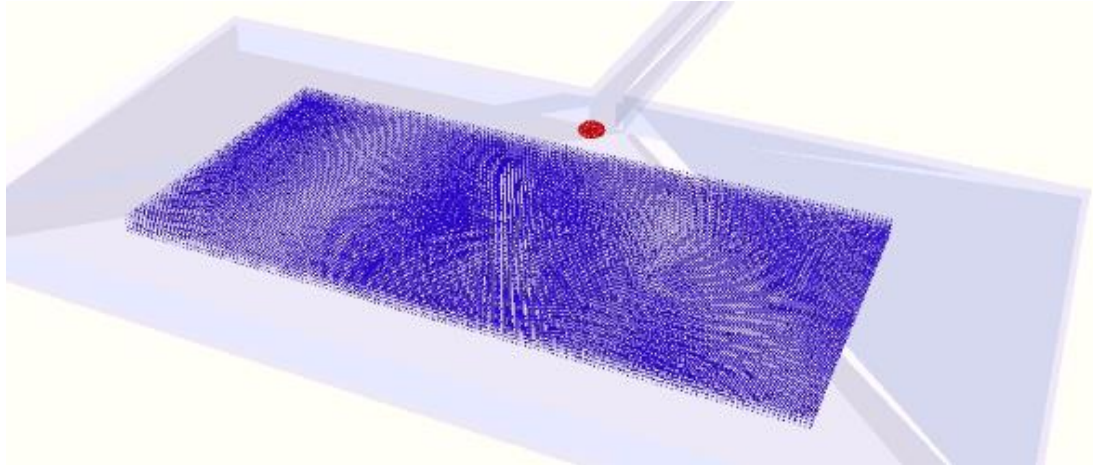


Figura 26 - *Snapshot* da simulação da simulação do GV à entrada da contração.

O microcanal possui uma zona intermédia (contração) com $112\ \mu\text{m}$ de comprimento, $6\ \mu\text{m}$ de altura e $6\ \mu\text{m}$ de largura, no caso da simulação com o GV na vertical.

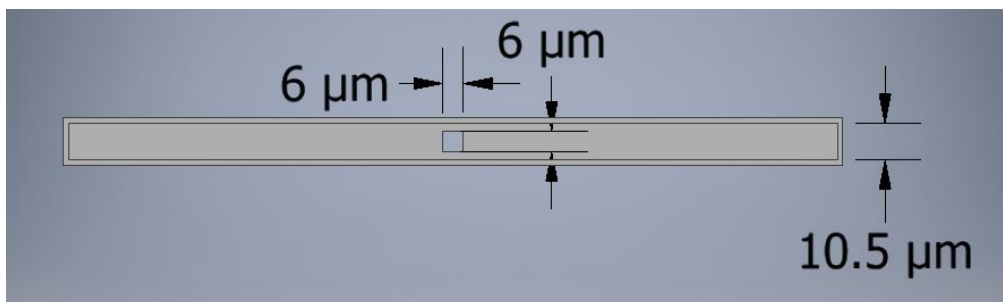


Figura 27 - Dimensões da secção do microcanal usadas na simulação com o GV na vertical.

No caso da simulação com o GV na horizontal, a secção possui $10.5\ \mu\text{m}$ de altura e $8\ \mu\text{m}$ de largura.

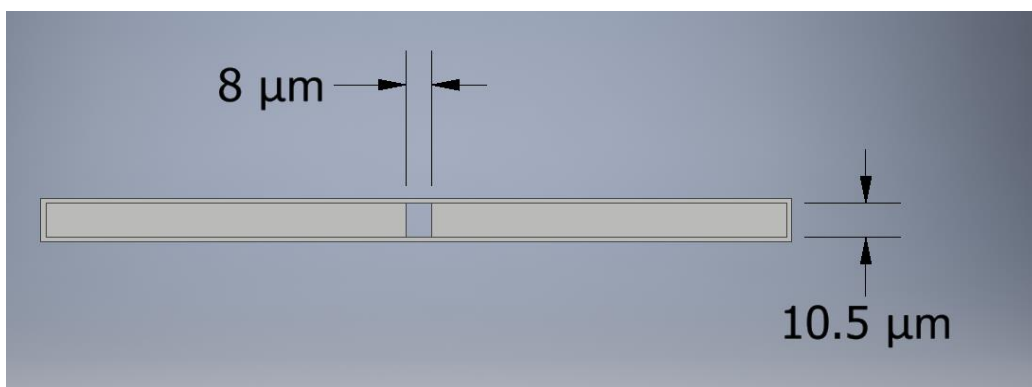


Figura 28 - Dimensões da secção do microcanal usadas na simulação com o eixo do GV na horizontal.

A Figura 29 apresenta as dimensões externas do *inlet* e *outlet* do microcanal.

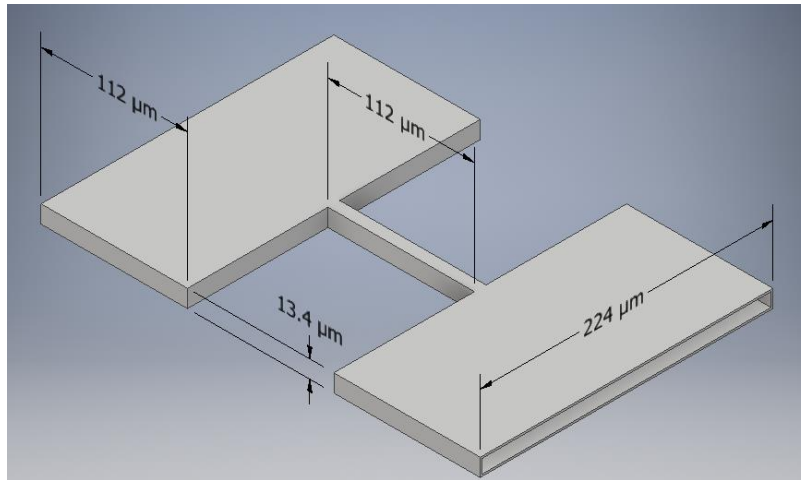


Figura 29 - Dimensões do microcanal.

4. SIMULAÇÃO EM *COMSOL*

De forma a verificar e validar qual seria o comportamento do fluido num escoamento com as características descritas no capítulo acima descrito, recorreu-se ao software *COMSOL* para estudar o escoamento.

Foi necessário calcular-se qual o número de Reynolds para se perceber se o estudo se encontra dentro do domínio laminar ou turbulento [15].

$$Re = \frac{\rho U D}{\mu} \quad (22)$$

Para o valor da densidade ρ foi considerado o valor tabelado para a água, que é 1000kg/m³, e a sua viscosidade μ é de 1.0016×10^{-3} Pa.s. O valor da velocidade U do fluido é de 1 m/s na primeira configuração. Como estamos na presença de uma secção quadrada, temos de utilizar o diâmetro hidráulico para obter o valor de D . Os valores de A e P são os valores da área e do perímetro da contração, respetivamente.

$$D = D_h = 4 \times \frac{A}{P} = 4 \times \frac{(6 \times 10^{-6})^2}{4 \times 6 \times 10^{-6}} = 6 \mu m \quad (23)$$

obtendo-se, neste caso, um valor para o número de Re :

$$Re = \frac{1000 \times 1 \times 6 \times 10^{-6}}{1.0016 \times 10^{-3}} = 5.99 \quad (24)$$

Dado que o valor do número de Reynolds é inferior a 2000, estamos situados no regime laminar. Na segunda configuração, a velocidade é 10 vezes superior, logo $Re = 59.9$.

4.1 Escoamento Laminar

Uma vez definido qual o regime de escoamento, procedeu-se ao estudo do escoamento laminar do fluido ao longo do microcanal. Considerou-se que estamos em estado estacionário, pois o perfil de velocidades estabiliza após algum tempo de escoamento. Uma vez que as variações de temperatura são desprezáveis, é possível assumir-se que se está perante um escoamento incompressível, sendo as equações que suportam os cálculos da simulação:

$$\nabla \cdot (\rho \mathbf{u}) = 0 \quad (25)$$

$$\rho(\mathbf{u} \cdot \nabla) \mathbf{u} = \nabla \cdot \left[-p\mathbf{l} + \mu(\nabla \mathbf{u} + (\nabla \mathbf{u})^T) - \frac{2}{3}\mu(\nabla \cdot \mathbf{u})\mathbf{l} \right] + \mathbf{F} \quad (26)$$

Torna-se necessário em primeiro lugar atribuir os parâmetros de entrada e de saída, as propriedades dos fluidos e as condições de fronteira.

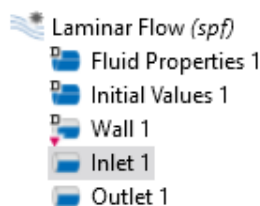


Figura 30 - Árvore de parâmetros no estudo do escoamento laminar.

No respeitante ao *inlet*, definiu-se a velocidade inicial do fluido, que é igual a 1 m/s numa simulação e 10 m/s noutra simulação. Em relação ao *outlet*, definiu-se a pressão à saída do tubo, cujo valor é a pressão atmosférica (0 Pa). O parâmetro *wall* define a condição de

fronteira entre o fluido e o microcanal onde se dá o escoamento. Considerou-se que não há escorregamento, pelo que se utilizou a opção *no slip*. As propriedades do fluido foram por sua vez definidas no item *fluid properties*, que neste caso é água. Os valores das grandezas utilizados na água provêm diretamente da biblioteca do *COMSOL*, como é apresentado na Figura 31.

Property	Name	Value	Unit
<input checked="" type="checkbox"/> Density	rho	rho_liqu...	kg/m ³
<input checked="" type="checkbox"/> Dynamic viscosity	mu	eta_liqui...	Pa·s

Figura 31 - Propriedades do fluido utilizado.

4.2 Malha utilizada

Para realizar as simulações, torna-se necessário definir a malha do sistema. Para tal, utilizou-se uma malha fina. A malha utilizada é gerada consoante o tipo de material associado a cada geometria, bem como do tipo de estudo que é efetuado nas simulações. Utilizou-se uma malha fina pois os resultados obtidos usando uma malha ainda mais fina não variam de forma significativa para se utilizar uma malha refinada, uma vez que quanto mais fina for a malha, mais demorada será a simulação e a obtenção de resultados.

No Anexo 2 são apresentados alguns resultados da convergência da malha, bem como uma justificação do uso de malhas com tamanho de elemento “*fine*”.

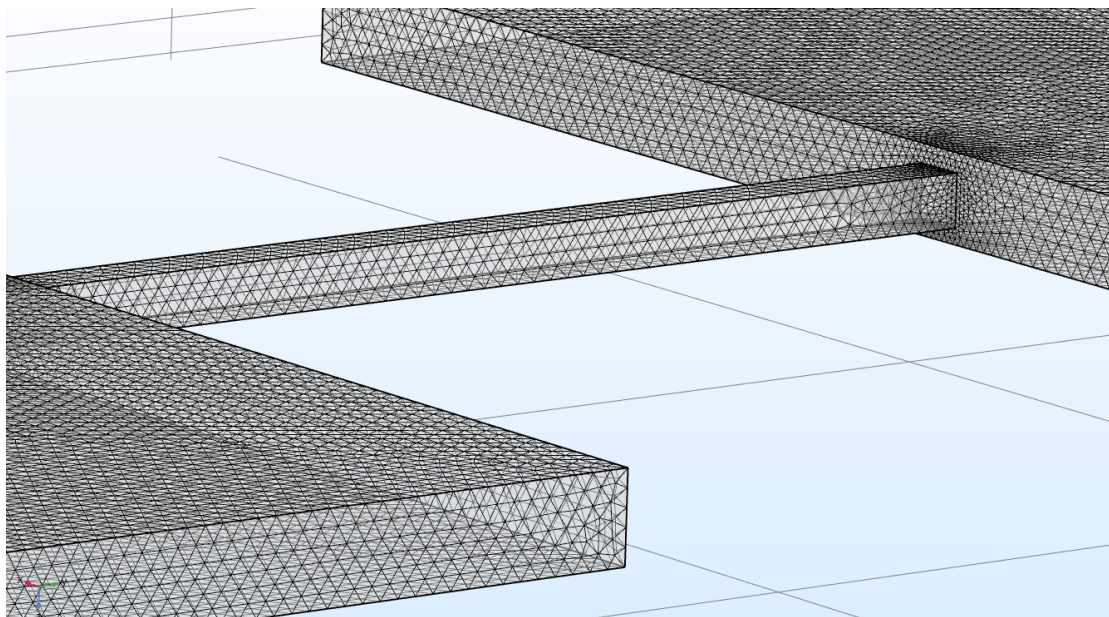


Figura 32 - Geometria da malha utilizada nas simulações com recurso ao programa *COMSOL*.

5. PROCESSAMENTO DE IMAGEM E ÍNDICE DE DEFORMAÇÃO

Uma vez realizadas as simulações de dinâmica molecular e pelo método SMD, foi necessário criar um programa de processamento de imagem capaz de obter índices de deformação dos GVs de forma automática. Recorrendo aos filmes das simulações no *LAMMPS*, gerados no programa *OVITO*, os mesmos serão posteriormente analisados num programa de processamento de imagem.

No presente trabalho, o script de processamento de imagem e segmentação dos GVs foi implementado na linguagem *Python*, utilizando as bibliotecas *Open CV*, *Numpy*, *Imutils* e *Matplotlib.pyplot*. Inicialmente é feita a leitura do ficheiro de vídeo, contendo as trajetórias das partículas que formam o GV, durante o seu trajeto no microcanal, e o programa vai ler o ficheiro de vídeo contendo a deformação do GV ao escoar no microcanal, através do comando *cv2.VideoCapture*.

```
import cv2
import numpy as np
import imutils
import matplotlib.pyplot as plt

cap = cv2.VideoCapture("rbc.mp4")
l=[]
```

Figura 33 - Bibliotecas de *Python* necessárias à execução do script de processamento de imagem.

Posto isto, criou-se um ciclo *while*, onde se vai processar o vídeo *frame a frame*, através do comando *cap.read*. De seguida, foi aplicado um filtro do tipo *Gaussian Blur*, de modo a eliminar qualquer tipo de ruído que a imagem possa ter.

Relativamente ao sistema de cores, passou-se a utilizar HSV (*hue, saturation e value*) ao invés do sistema de cores RGB. No HSV, existem também três parâmetros a caracterizar, tal como no RGB. No modelo de cores aditivo RGB os três parâmetros representam os valores associados às cores primárias *Red, Green e Blue*, numa escala de níveis no intervalo 0-255, através da qual a mistura das três cores resulta numa cor final. No sistema de cores HSV, o *Hue* constitui uma dimensão angular, através da qual é possível escolher uma diversa gama de cores. Escolhido o ajuste do valor de *Hue*, a Saturação (*Saturation*) representa o parâmetro

que define a quantidade de cinzento que a cor vai ter. O *Value* trabalha em conjunto com a Saturação, e juntos são responsáveis pelo brilho e intensidade da cor.

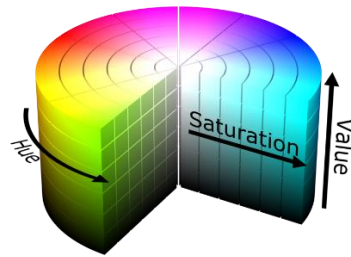


Figura 34 - Representação esquemática do sistema de cores HSV.

Este espaço de cores é mais indicado para a análise dinâmica de objetos. A mudança do espaço de cores original RGB para HSV foi realizada recorrendo ao comando `cv2.cvtColor`. No seguimento, foram definidas duas máscaras tendo em vista a filtragem apenas os elementos a vermelho no vídeo a ser analisado, uma vez que na simulação apenas se vai estudar os glóbulos vermelhos. Estas máscaras possuem valores de HSV que traduzem em cores de vermelho-claro e de vermelho-escuro, como se de um intervalo de cores se tratasse.



Figura 35 - Exemplo de aplicação da máscara responsável por filtrar o vermelho. À esquerda, a imagem sem a máscara aplicada, e na imagem da direita o resultado de aplicação da máscara de filtragem.

Seguidamente, foi necessário definir os contornos do glóbulo vermelho. Desta maneira, será possível calcular qual o índice de deformação do glóbulo vermelho ao percorrer o microcanal. Para definir-se os contornos do GV, utilizaram-se os métodos *cv2.findContours* e *imutils.grab_contours*, como indicado no script *Python* da Figura 36.

```

try:
    while True:
        _, frame = cap.read()
        blurred_frame = cv2.GaussianBlur(frame, (5, 5), 0)
        hsv = cv2.cvtColor(blurred_frame, cv2.COLOR_BGR2HSV)
        # lower mask (0-10)
        lower_red = np.array([0, 50, 50])
        upper_red = np.array([10, 255, 255])
        mask0 = cv2.inRange(hsv, lower_red, upper_red)

        # upper mask (170-180)
        lower_red = np.array([170, 50, 50])
        upper_red = np.array([180, 255, 255])
        mask1 = cv2.inRange(hsv, lower_red, upper_red)

        # join my masks
        mask = mask0 + mask1
        contours = cv2.findContours(mask, cv2.RETR_TREE, cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE)
        cnts = imutils.grab_contours(contours)
        c = max(cnts, key=cv2.contourArea)

        #Top, Right, Left and bottom
        extLeft = tuple(c[c[:, :, 0].argmin()][0])
        extRight = tuple(c[c[:, :, 0].argmax()][0])
        extTop = tuple(c[c[:, :, 1].argmin()][0])
        extBot = tuple(c[c[:, :, 1].argmax()][0])

        # print (contours)
        contours, _ = cv2.findContours(mask, cv2.RETR_TREE, cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE)
        print(extLeft, " ", extRight, " ", extTop, " ", extBot)
        DI = ((extBot[1]-extTop[1])-(extRight[0]-extLeft[0]))/(((extRight[0]-extLeft[0])+(extBot[1]-extTop[1]))
        DR = (extBot[1]-extTop[1])/(extRight[0]-extLeft[0])
        print("DI=", DI)
        print("DR=", DR)
        l.append(DI)

```

Figura 36 - Linhas de código *Python* implementadas no ciclo *while*, responsáveis pela segmentação e filtragem dos GVs.

Uma vez que o índice de deformação é calculado tendo em conta os extremos do GV, foi necessário obter os extremos dos contornos do GV. Para isso, utilizou-se a estrutura de dados *tuple*, onde serão armazenadas as coordenadas dos extremos superior, inferior e laterais do GV. Com essa informação será possível obter o valor do índice de deformação para cada instante da simulação, uma vez que estas instruções se encontram dentro de um ciclo *while*. Os valores de índice de deformação são guardados através do método *l.append*. A expressão usada no cálculo do índice de deformação está de acordo com o que foi abordado anteriormente neste documento, apresentado na Figura 5. O valor do índice de deformação

tomará negativo caso o GV se deforme na direção horizontal, e será positivo caso o GV se deforme na vertical.

De seguida, será realizada a apresentação dos contornos através do método `cv2.drawContours`, sendo depois apresentados também o *frame* do vídeo com os contornos (através do método `cv2.imshow`) e o *frame* do vídeo depois de ser aplicada a máscara de vermelhos, como por ser observado na imagem da Figura 37.

```
        for contour in contours:
            cv2.drawContours(frame, contour, -1, (0, 255, 0), 6)
            cv2.imshow("Frame", frame)
            cv2.imshow("Mask", mask)
            key = cv2.waitKey(30)
            if key == 27:
                break
    cap.release()
    cv2.destroyAllWindows()
except:
    pass
plt.plot(L)
plt.xlabel("Frame")
plt.ylabel("Deformation Index")
plt.show()

plt.plot(K)
plt.xlabel("Frame")
plt.ylabel("Deformation Ratio")
plt.show()
```

Figura 37 - Código *Python* responsável pela representação da imagem de contorno dos GVs e representação gráfica das curvas de evolução do índice de deformação.

A estrutura de controlo de fluxo *while* termina a sua execução após processamento de todos *frames* de vídeo. A representação gráfica da evolução do índice de deformação obtidos durante a simulação será executada recorrendo ao método `plt.plot`. Para as simulações onde o GV se encontra na horizontal, os valores representativos do índice de deformação obtidos pelo programa encontram-se apresentados na Figura 38.

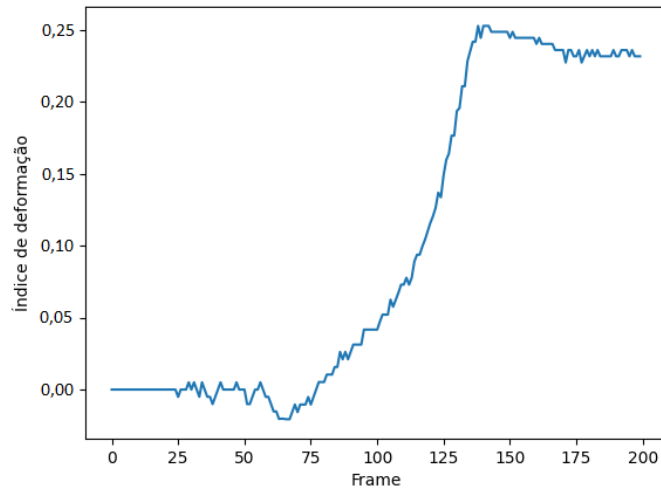


Figura 38 - Gráfico representativo da evolução do índice de deformação (*deformation index*) para simulações segundo uma orientação horizontal inicial para os GVs.

De forma a validar os valores de índice de deformação obtidos pelo programa em *Python*, recorreu-se ao *OVITO*. Neste software é possível visualizar a trajetória das partículas constituintes do GV ao longo de toda a simulação. Através de leituras das coordenadas dos pontos mais extremos do GV (superior, inferior e laterais) e respetivo seguimento da sua trajetória, foi efetuado o cálculo do índice de deformação, sendo apresentada a sua evolução no gráfico da Figura 39.

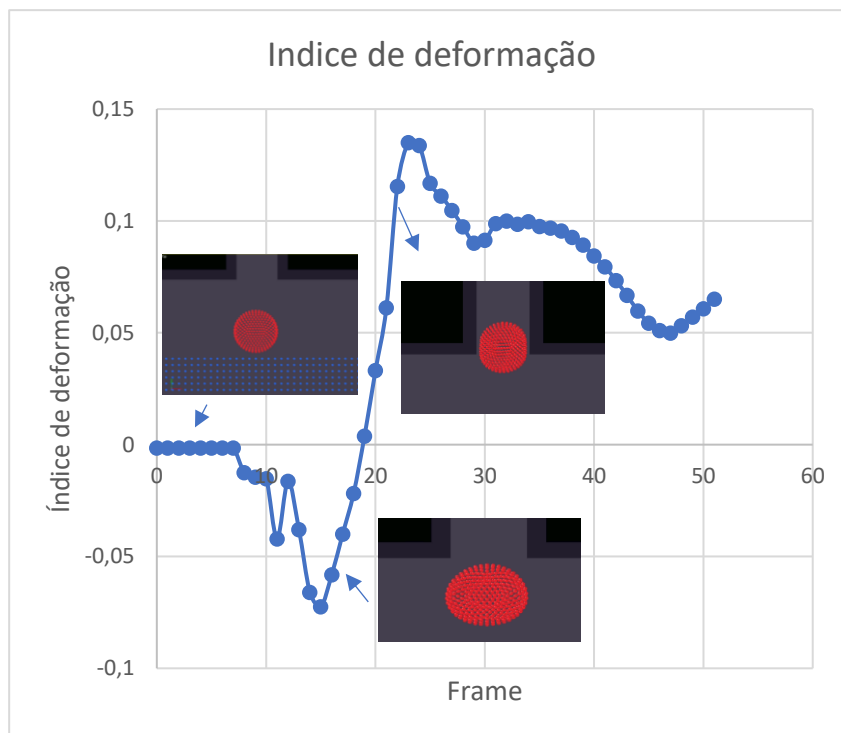


Figura 39 - Valores de índice de deformação obtidos recorrendo ao rastreamento das coordenadas no *OVITO*.

Comparando os resultados dos gráficos da Figura 38 e da Figura 39, pode-se concluir que os mesmos apresentam uma tendência de evolução semelhante, pese embora as diferenças em termos de valores absolutos.

Os resultados da razão de deformação são apresentados na Figura 40. Como seria de esperar, os valores de razão de deformação aumentam à medida que o GV entra na contração do microcanal (a partir do *frame* 75). É possível verificar que a partir do *frame* 130, a razão de deformação tem tendência a estabilizar. Neste tempo, todo o GV acaba de entrar na contração.

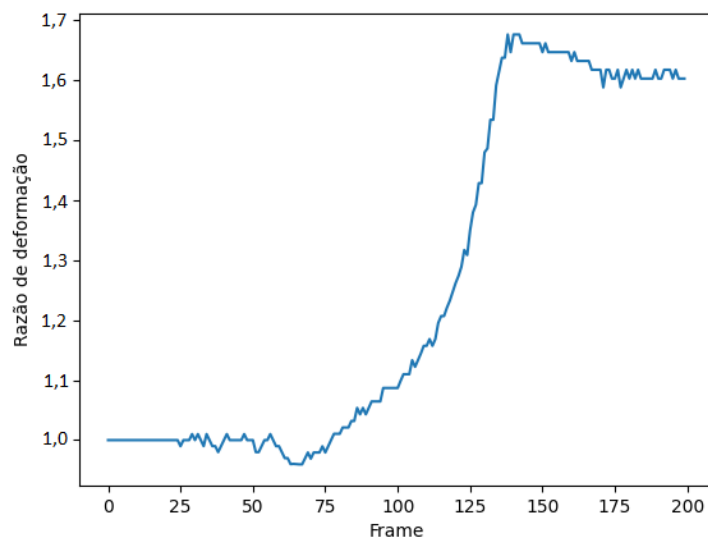


Figura 40 - Gráfico representativo da evolução da razão de deformação (*deformation ratio*) para simulações segundo uma orientação horizontal inicial para os GVs.

Para a simulação onde o GV se encontra orientado na vertical, os valores de índice de deformação e de razão de deformação estão apresentados na Figura 42 e Figura 43, respetivamente. Tal como acontece na simulação com o GV na horizontal, ambos os índices têm tendência a aumentar à medida que o GV entra na contração do microcanal, estabilizando à medida que o GV vai percorrendo o microcanal. Através da análise do gráfico da Figura 42, é possível observar-se que os valores de índice de deformação partem de um valor negativo. Uma vez que o GV, à entrada da contração e numa vista de topo, possui uma geometria muito alongada na direção horizontal (ver Figura 41), o seu valor de índice de deformação toma valor negativo. Quando o GV começa a entrar na contração, este deforma-se na direção vertical, resultando na obtenção de um valor de índice de deformação de valor positivo. O valor máximo de índice de deformação calculado para esta orientação é de 0.2.

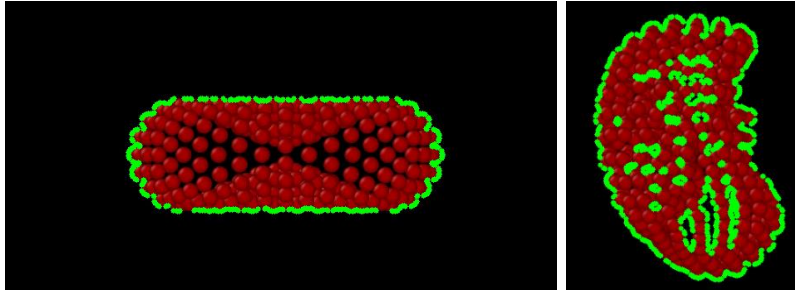


Figura 41 - Geometrias do GV no estudo com a orientação vertical, numa vista de topo: à esquerda, o GV ainda não entrou na contração; à direita, o GV já entrou completamente na contração.

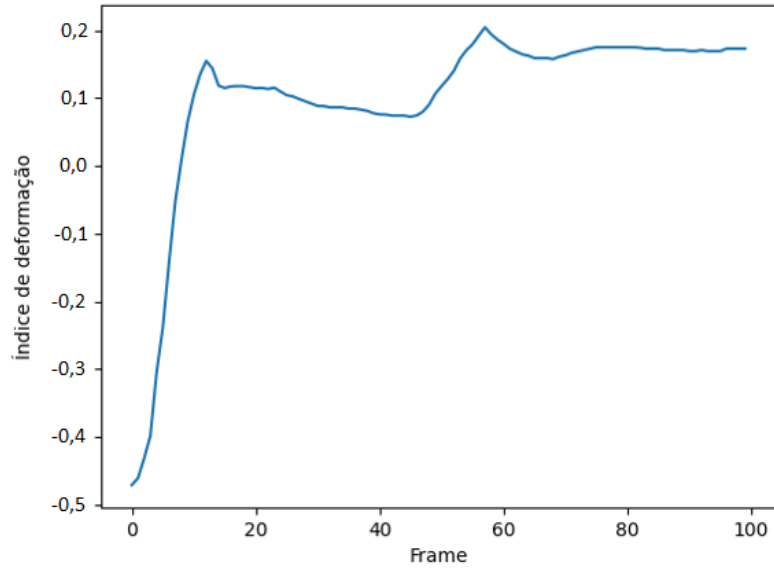


Figura 42 - Gráfico representativo da evolução do índice de deformação (*deformation index*) para simulações segundo uma orientação vertical inicial para os GVs.

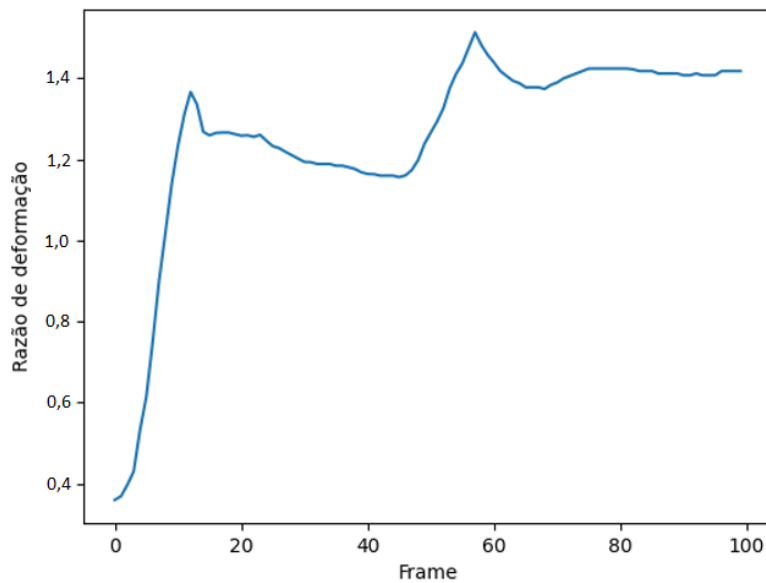


Figura 43 - Gráfico representativo da evolução da razão de deformação (*deformation ratio*) para simulações segundo uma orientação vertical inicial para os GVs.

6. RESULTADOS OBTIDOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo serão apresentados primeiramente os resultados e analisados os dados das simulações recorrendo ao *COMSOL* e dinâmica molecular. Comparando os resultados obtidos em ambas as metodologias, será possível tirar conclusões quanto à validação dos resultados obtidos em ambos.

6.1 Resultados de simulações em *COMSOL*

Em termos de velocidades obtidas no escoamento, seria de esperar que as velocidades máximas se atingissem na secção mais pequena do microcanal. Os resultados obtidos na simulação em *COMSOL* comprovam isso mesmo. Na Figura 44 é apresentado um *snapshot* de uma simulação de escoamento do fluido, com representação da distribuição do campo de velocidades recorrendo a escala de cores.

Na região superior do microcanal encontra-se a entrada do mesmo, onde se definiu uma velocidade imposta de 1 m/s. Na região inferior, foi imposta uma pressão de saída de 0 Pa. A O tempo de simulação foi de aproximadamente de 11 minutos.

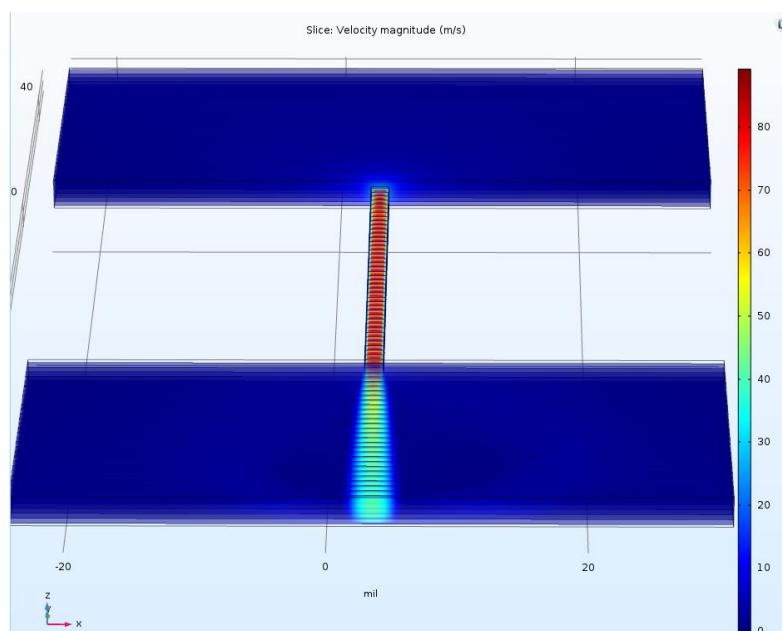


Figura 44 - Distribuição das velocidades do fluido no microcanal obtidas no *COMSOL*, para uma velocidade inicial à entrada igual a 1 m/s.

Na Figura 45 encontra-se representado o perfil de velocidades obtido num plano paralelo ao plano yz, passando pelo centro geométrico do microcanal. Por sua vez, no gráfico da Figura 46 pode-se observar a curva das velocidades registadas ao longo de uma linha de prova definida ao longo do microcanal, localizando-se no seio do fluido.

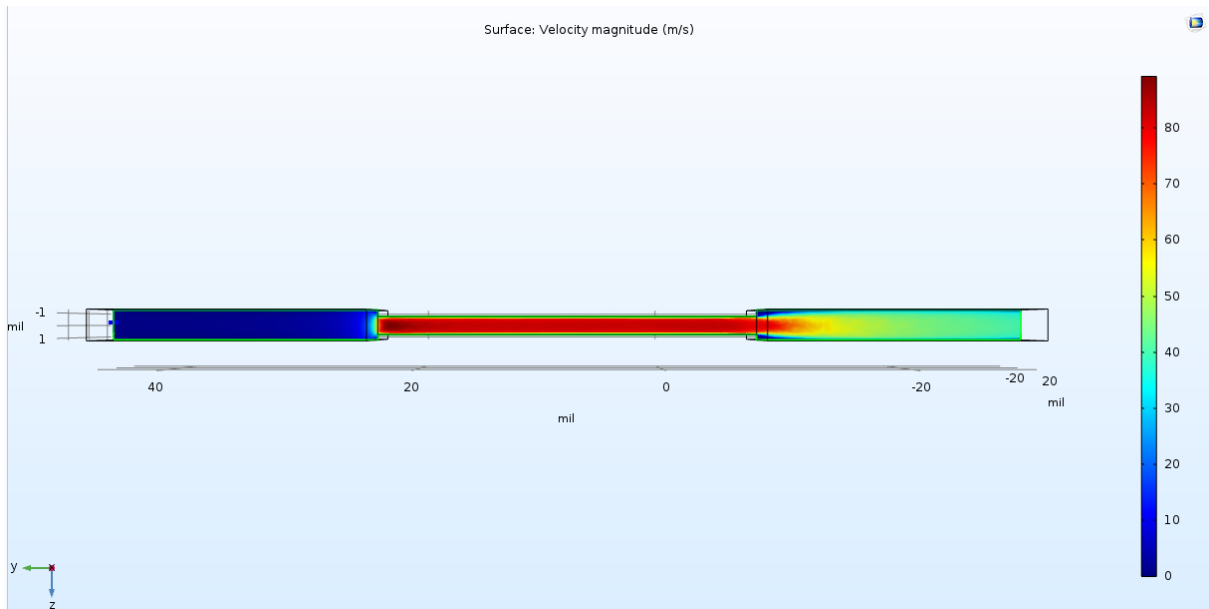


Figura 45 - Perfil de velocidades obtido pelo fluido no escoamento.

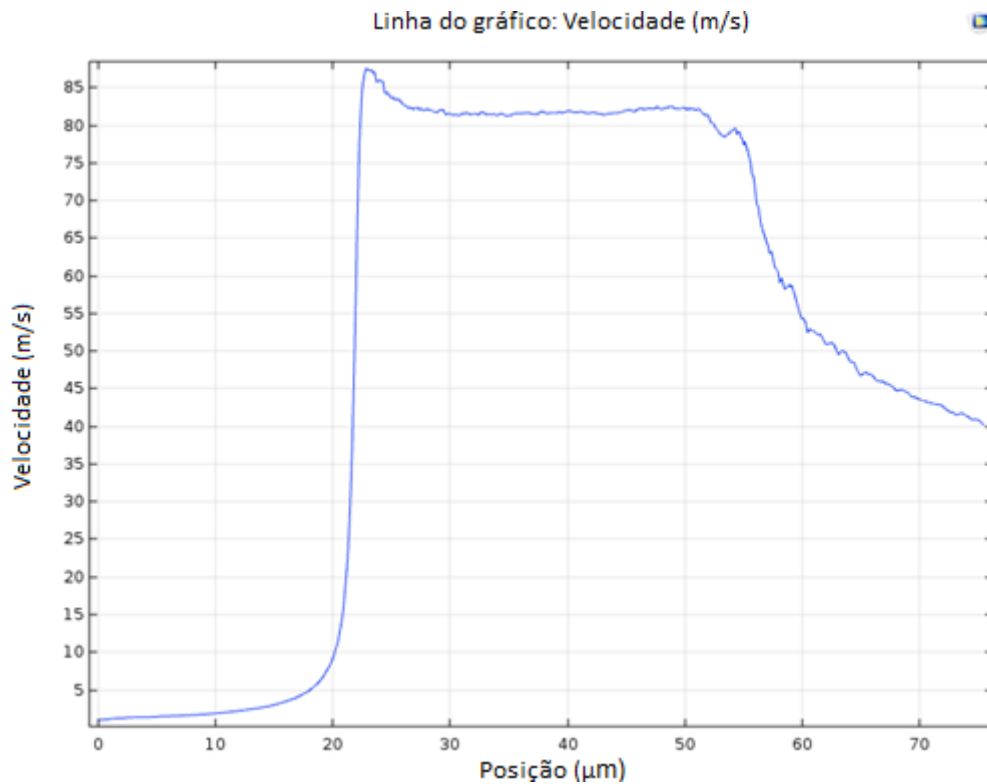


Figura 46 - Velocidade no seio do fluido ao percorrer o microcanal.

Através da análise do gráfico da Figura 46 pode-se verificar que a velocidade do fluido na parte inicial é de 1 m/s, velocidade esta que foi definida como *inlet*. À medida que nos aproximamos da secção mais estreita do microcanal a velocidade sobe acentuadamente, atingindo uma velocidade máxima de 88 m/s. Posteriormente, a velocidade baixa gradualmente e apresenta uma tendência de estabilização para valores na ordem dos 82 m/s, mantendo-se constante ao longo da secção mais estreita do microcanal. Na saída da secção estreita, a velocidade tem tendência a baixar, como expectável, observando valores de velocidade da ordem dos 40 m/s no *outlet*.

Por se ter considerado que não existe escorregamento nas paredes de fronteira, é possível verificar que junto a estas a velocidade é muito baixa, sendo muito mais alta no seio do escoamento, como observado na imagem da Figura 47.

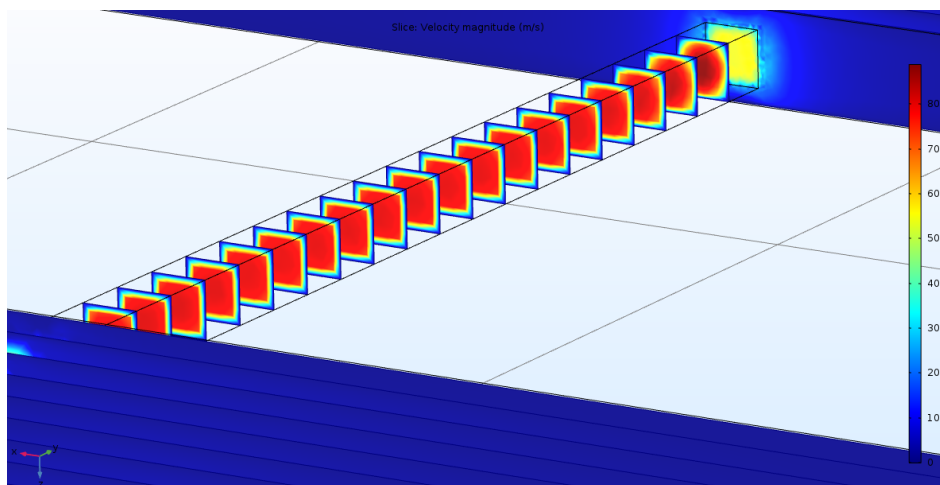


Figura 47 - Perfil de velocidades num plano perpendicular ao escoamento.

Realizaram-se diversas simulações para perceber a influência do caudal nos resultados obtidos. Foram feitas seis simulações distintas, com velocidades impostas no *inlet* a variar desde 0.01 até 3 m/s. Os resultados dessas simulações demonstram que a velocidade máxima atingida é diretamente proporcional à velocidade definida no *inlet*, como pode ser observado no gráfico da Figura 48.

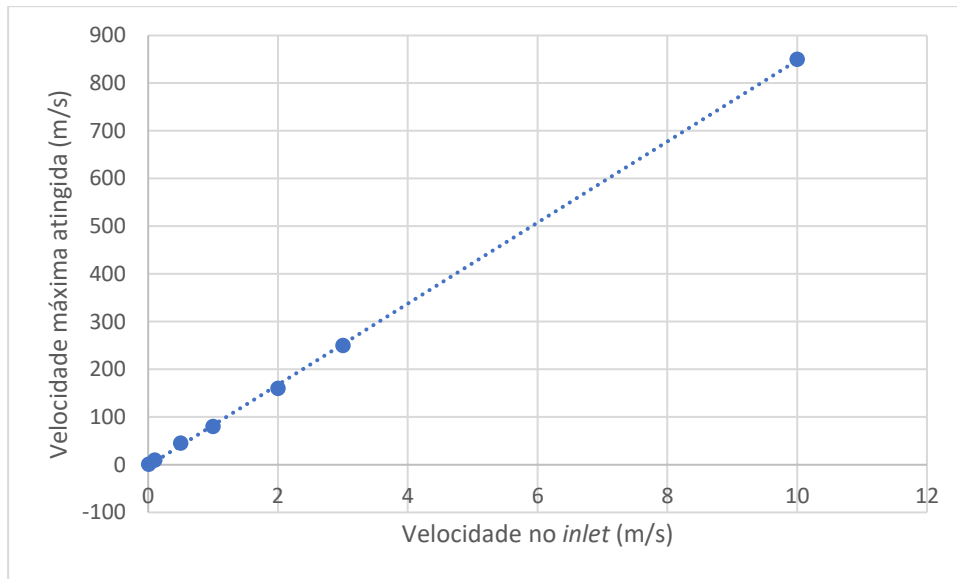


Figura 48 - Razão entre a velocidade máxima atingida no escoamento e velocidades impostas no *inlet*.

Contudo, para magnitudes muito baixas, a velocidade à saída do microcanal tende a descer, alcançando a velocidade imposta no *inlet*. A partir da velocidade imposta de 0.1 m/s, tal não é observado, sendo que a velocidade alcançada no *outlet* é bastante superior à imposta no *inlet*. A partir de velocidades com magnitude igual ou superior a 0.1 m/s, já é possível observar um “jato” formado à saída da secção estreita, jato este que se estende em toda a extensão do *outlet*. Este fenómeno está representado na Figura 49. Na imagem da esquerda, correspondendo à simulação com 0.01 m/s, o jato formado não alcança a região limítrofe do *outlet*, enquanto para a simulação de 0.1 m/s, o jato abrange toda a região do *outlet*.

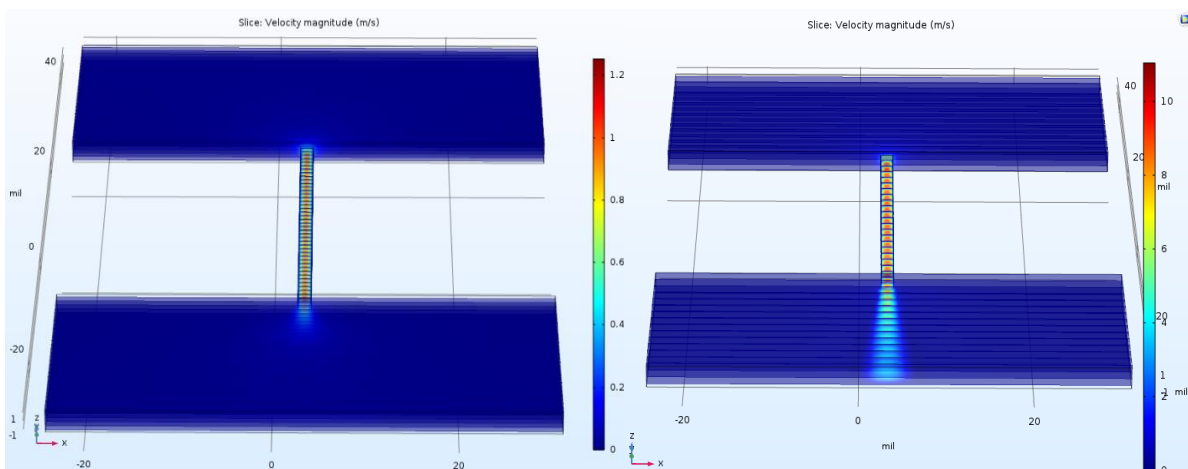


Figura 49 - Formação do jato de água à saída da secção estreita do microcanal: na imagem da esquerda, a velocidade no *inlet* é de 0.01 m/s; na imagem da direita a velocidade no *inlet* é de 0.1 m/s.

Considerando que nas simulações de dinâmica molecular efetuadas com o GV orientado inicialmente na horizontal a velocidade inicial necessária para que o GV entrasse na contração foi de 10 m/s numa fase inicial, resolveu-se fazer uma simulação em *COMSOL* com este valor inicial para a velocidade do fluido. Basicamente, observou-se que as velocidades alcançadas pelo fluido ao longo de todo o microcanal variam. As velocidades alcançadas nessa simulação encontram-se representadas na Figura 50.

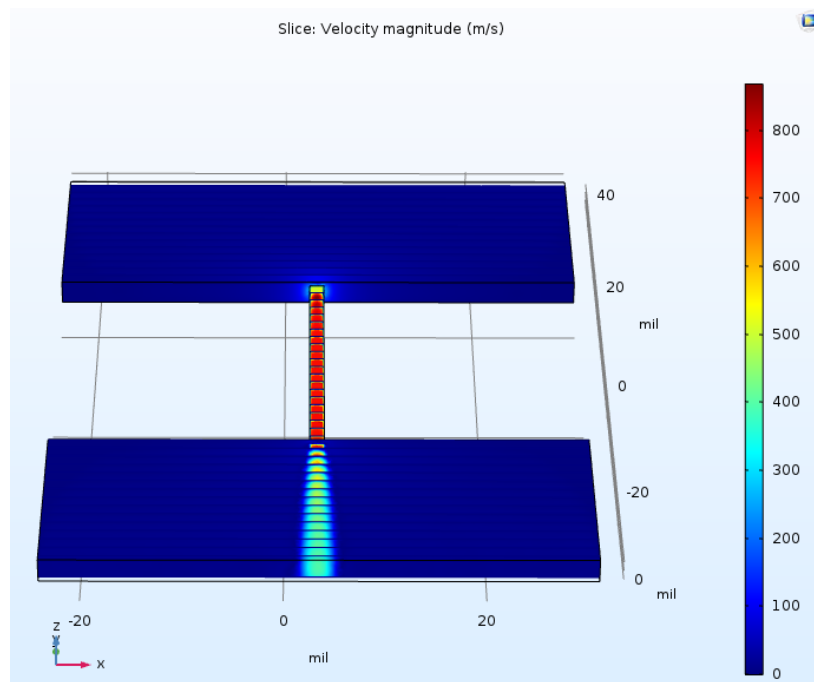


Figura 50 - Velocidades atingidas pelo água no microcanal para uma velocidade imposta de 10 m/s no *inlet*.

Tal como reportado para as simulações com 1 m/s, a velocidade verificada no seio do escoamento encontra-se representada na Figura 51. Pela análise do gráfico, verifica-se que a velocidade sobe drasticamente à entrada da contração, alcançando um valor máximo de 870 m/s.

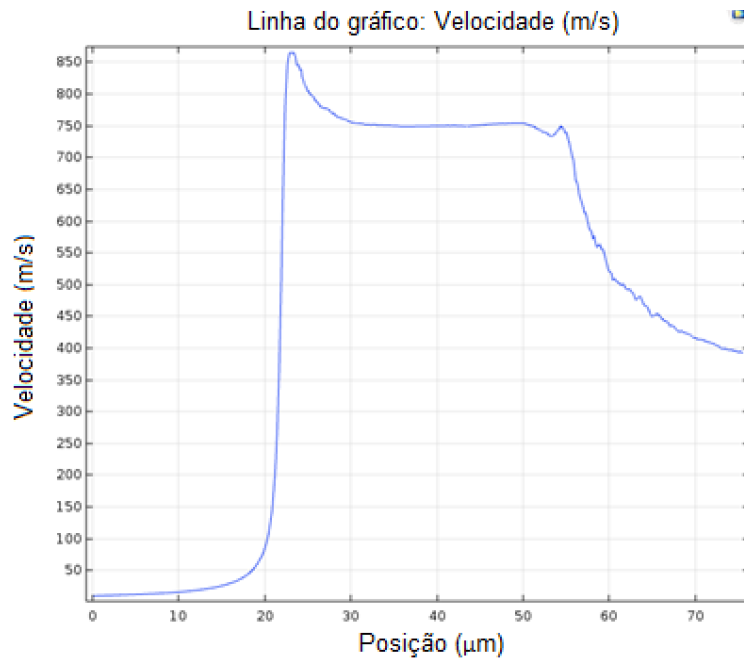


Figura 51 - Velocidade registada no seio do escoamento do fluido no microcanal para uma velocidade inicial de 10 m/s.

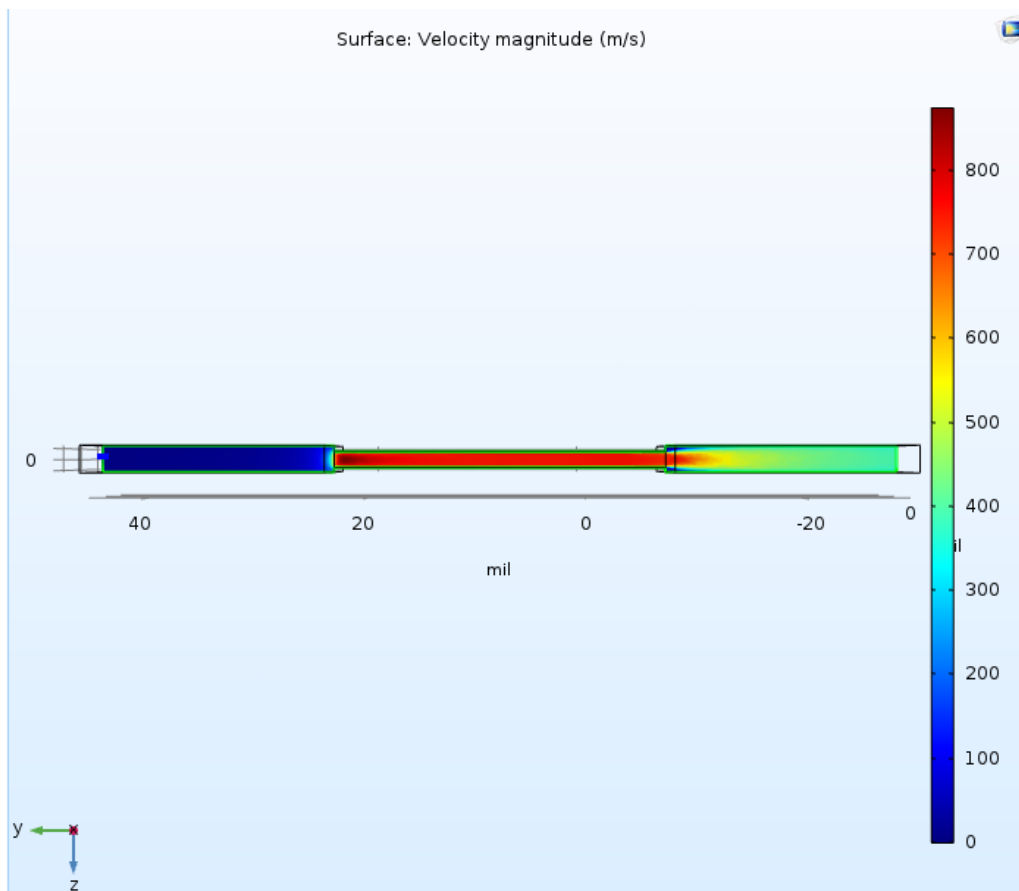


Figura 52 - Perfil de velocidades obtido pelo fluido no escoamento.

Esta última simulação, por ter sido usada uma velocidade definida no *inlet* mais elevada, demorou mais tempo a convergir, levando a um total de 31 minutos para a sua conclusão.

6.2 Resultados das simulações de dinâmica molecular

No que diz respeito resultados obtidos na simulação em que o GV está orientado na horizontal, observou-se que o GV obteve um índice de deformação máximo de valor igual a 0.25. A Tabela 1 refere que o índice de deformação máximo de um GV saudável é de 0.479 [41].

Tabela 1 - Valores de índice de deformação para GVs [41].

Amostra	Concentração (%)	ΔID
GVs saudáveis	0	0.479
GVs + Glucose	2	0.463
	5	0.410
	10	0.139
	20	0.041
	0.00625	0.196
GVs + Glutaraldeído	0.0125	0.074
	0.025	0.034
	0.08	X
	0.00625	0.493
GVs + Diamida	0.0125	0.482
	0.025	0.464
	0.08	0.396
	0.32	0.267
	1	0.068

Para esta orientação do GV, as velocidades obtidas à entrada e à saída da contração do microcanal podem ser observadas na Figura 53 e na Figura 54, respetivamente. É possível verificar que a velocidade tem tendência a aumentar à medida que o GV entra na contração, alcançado a velocidade máxima de 14,2 m/s junto à saída da contração. É necessário salientar que as velocidades que estão a ser aplicadas deveriam ser muito menores, uma vez que as velocidades tipicamente observadas para o fluxo de GV *in vivo* são da ordem de 1 cm/s [42]. Contudo, simulações com estas velocidades obrigam a tempos de processamento consideravelmente superiores e modificação das propriedades mecânicas dos GV, para permitir a sua entrada no microcanal, visto que a força exercida pelas partículas do fluido no

escoamento sobre a estrutura sólida será bastante mais baixa. Uma abordagem alternativa, consistiria no uso de uma maior capacidade de processamento de modo a encurtar consideravelmente os tempos de simulação, condições que não estão disponíveis no *cluster* usado neste trabalho. Esta simulação por dinâmica molecular demorou cerca de 4 horas a ser finalizada.

Face ao exposto, foram utilizadas velocidades com ordem de grandeza superior.

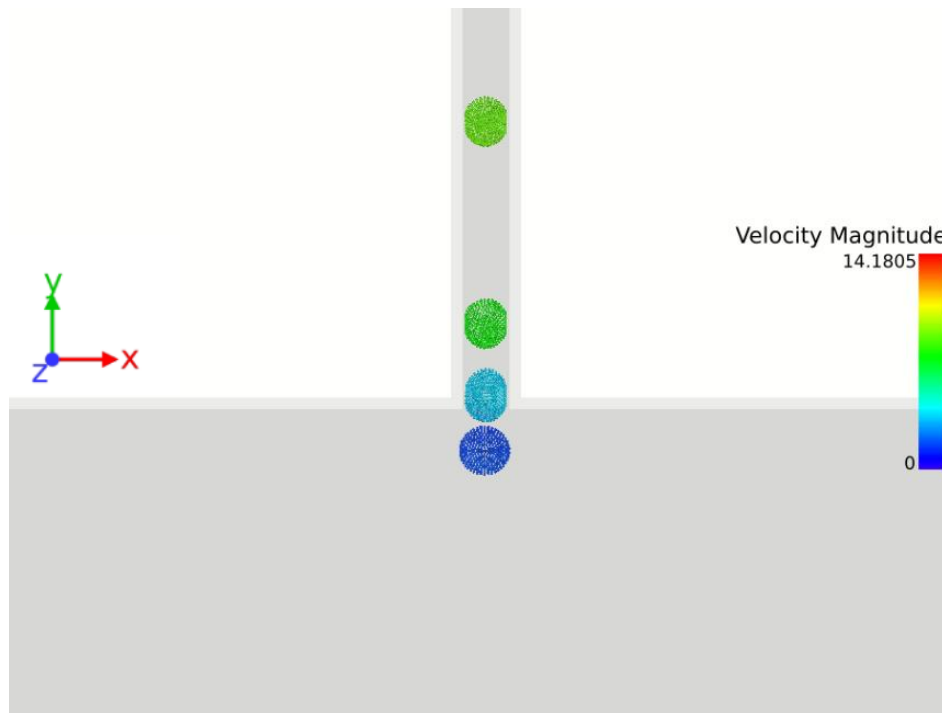


Figura 53 - *Snapshot* de uma simulação no *LAMMPS/SMD* com indicação das velocidades do GV à entrada da contração, obtidas para velocidades do fluido no *inlet* de 1 m/s.

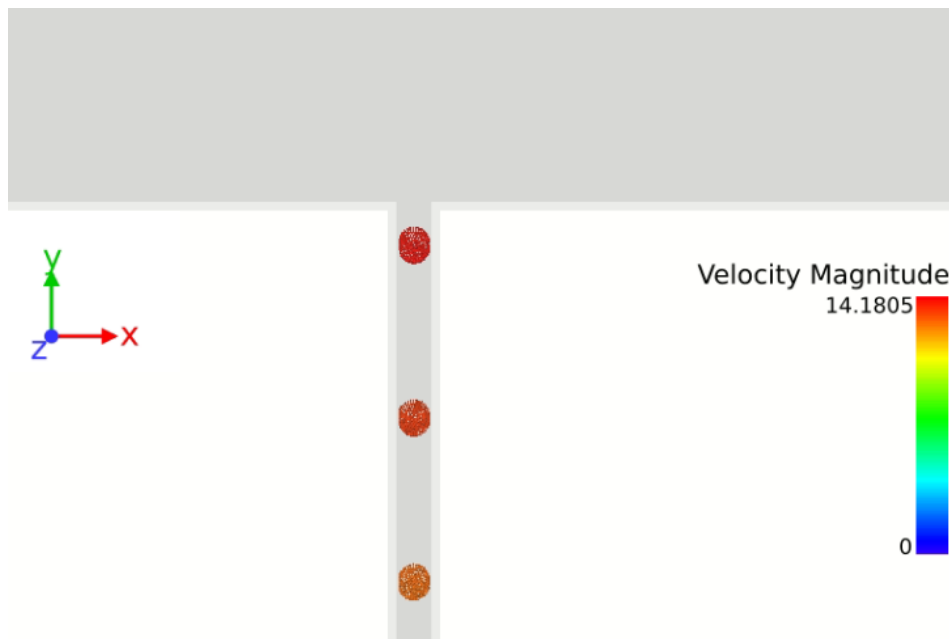


Figura 54 - *Snapshot* de uma simulação no *LAMMPS/SMD* com indicação das velocidades do GV à saída da contração, obtidas para velocidades do fluido no *inlet* de 1 m/s.

Relativamente à velocidade do fluido, este possui valores superiores (a rondar máximos de 33 m/s). Uma vez o GV não preenche totalmente a secção da contração do microcanal, o fluido pode progredir com o escoamento. Tal como nos resultados obtidos em *COMSOL*, existe a formação de um jato à saída da contração, como se pode observar na Figura 56.

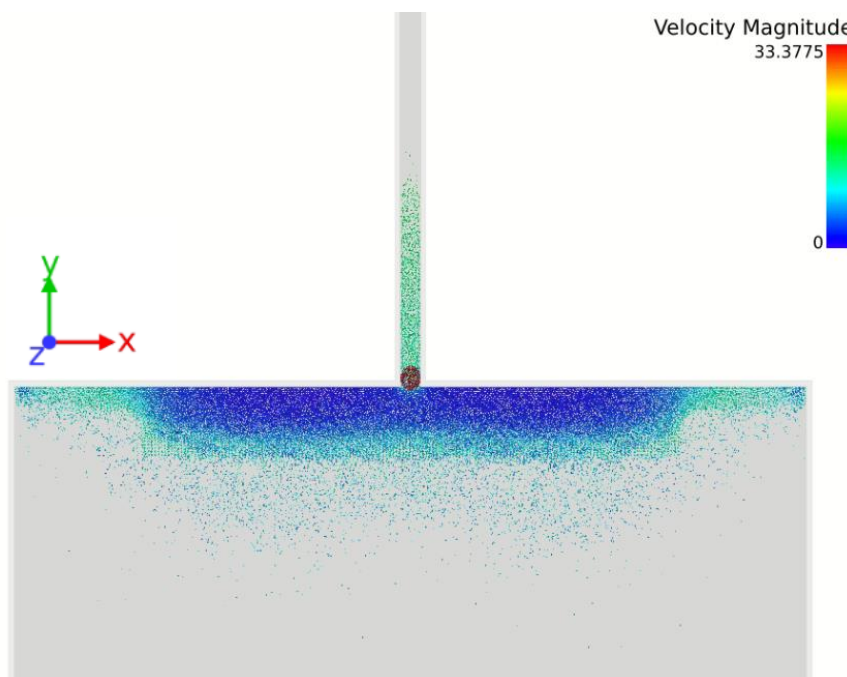


Figura 55 - *Snapshot* de simulação por *LAMMPS/SMD* com representação das velocidades do fluido circulante, à entrada da contração do microcanal. O GV não se encontra englobado na escala de cores para as velocidades.

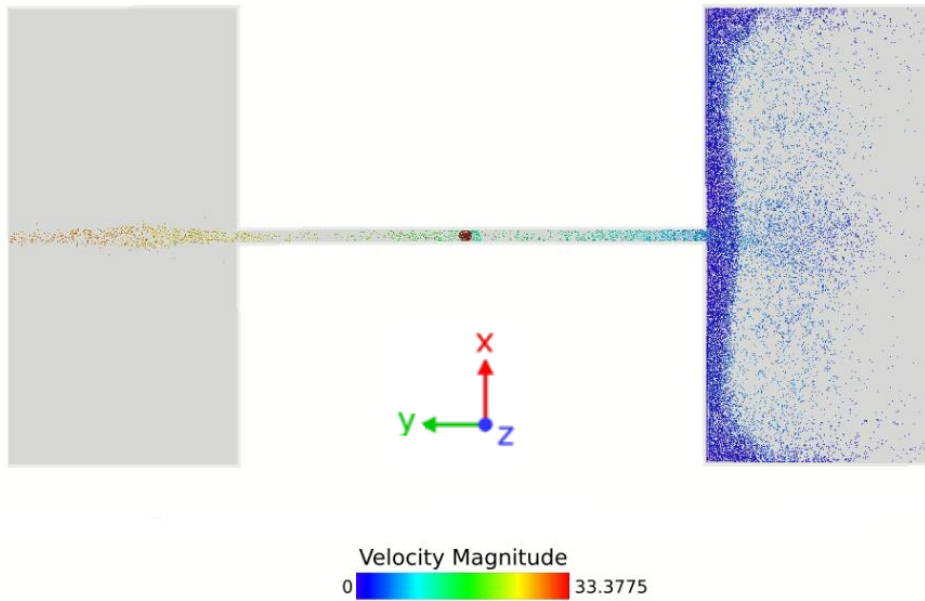


Figura 56 - *Snapshot* de simulação por *LAMMPS/SMD* com representação das velocidades do fluido circulante ao longo do microcanal. O GV não se encontra englobado na escala de cores para as velocidades. A velocidade imposta no *inlet* é de 1 m/s.

O gráfico da Figura 57 apresenta a velocidade das partículas de fluido ao longo do eixo principal do microcanal na fase final da simulação. É possível verificar que a velocidade das partículas de água tem tendência a subir à medida que estas percorrem o microcanal, havendo uma pequena descida à entrada e à saída da contração.

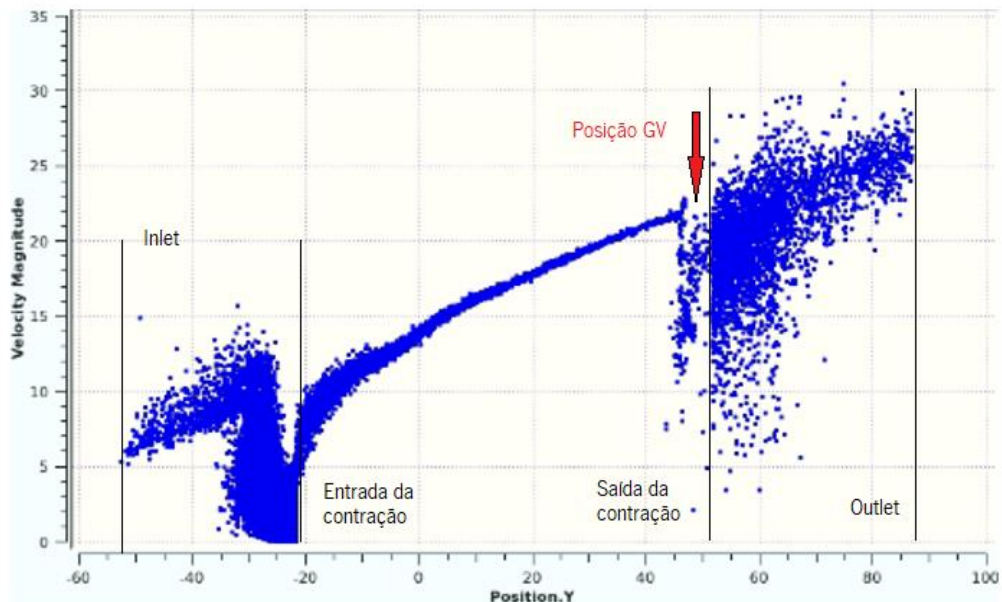


Figura 57 - Gráfico representativo da velocidade (m/s) das partículas de fluido ao longo do microcanal no final da simulação, para uma velocidade no *inlet* de 1 m/s.

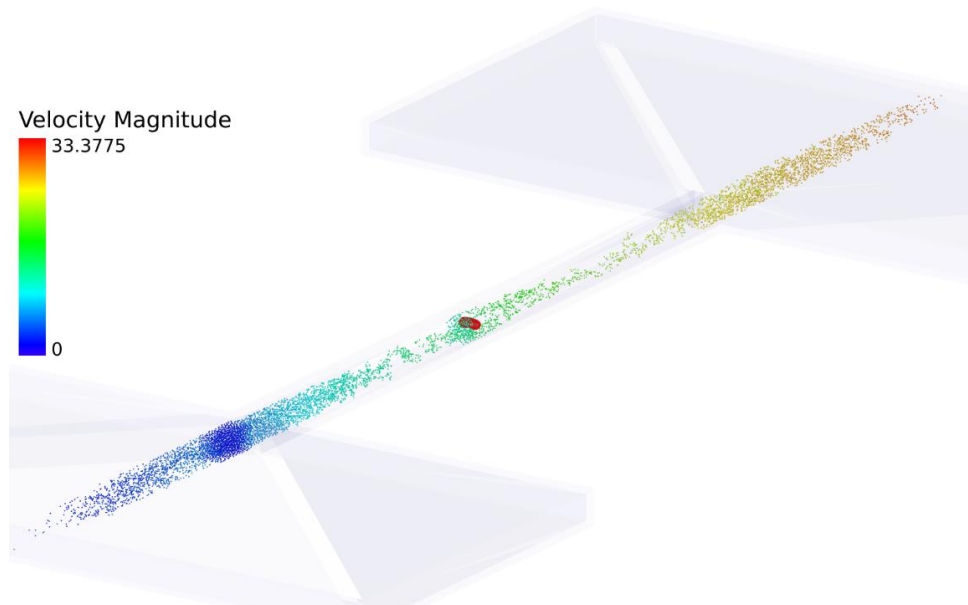


Figura 58 - *Snapshot* de uma simulação por *LAMMPS/SMD* com representação da velocidade das partículas de água na secção correspondente à contração, para uma velocidade no *inlet* de 1 m/s.

No respeitante às deformações observadas pelos GVs aquando da entrada na contração, é possível verificar que a maior deformação ocorre junto da periferia da mesma, na interface de contacto entre o GV e as paredes do microcanal. O maior valor de deformação observado nas simulações efetuadas por dinâmica molecular foi de 1.49 μm . Considerando que o GV possui um diâmetro de 8 μm , foi observada uma deformação apreciável, de valor igual a 19%.

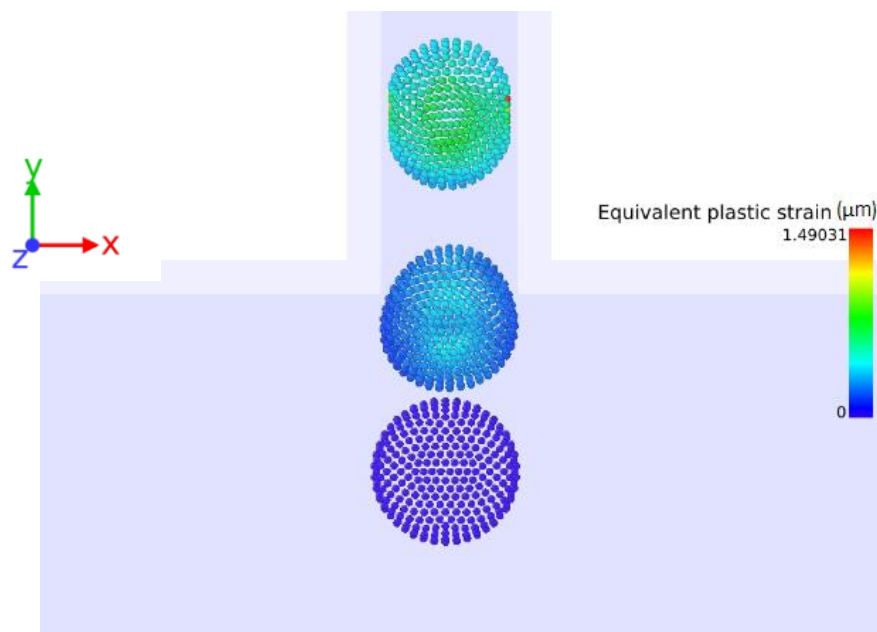


Figura 59 - Imagem representativa das deformações simuladas por dinâmica molecular, observadas para os GVs ao entrar na contração do microcanal.

Na análise das tensões aplicadas aos GVs, utilizou-se o conceito do tensor tensão de Cauchy. Considerando a componente do tensor que mais relevante (xy), é possível observar na imagem da Figura 60 que o máximo valor de tensão registrado se dá à entrada da contração, no contacto entre as partículas do GV e as paredes da contração do microcanal. Uma vez que a contração constitui uma obstrução ao movimento do GV, a tensão máxima obtida possui sinal negativo, visto apresentar um sentido contrário ao escoamento.

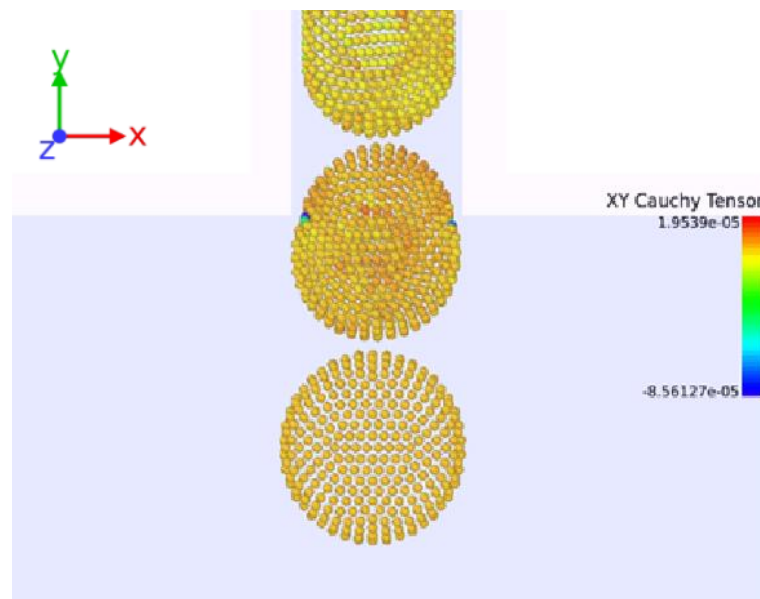


Figura 60 - Componente xy do tensor tensão de Cauchy na deformação do GV obtido por dinâmica molecular.

Relativamente ao perfil de velocidades obtidos pelo fluido nas simulações por dinâmica molecular, é possível observar um perfil idêntico ao obtido no *COMSOL* (ver Figura 47). Contudo, essa similitude é apenas observada na entrada da contração. À medida que o escoamento ocorre, o perfil de velocidades tem tendência a perder a forma parabólica, uma vez que as velocidades das partículas são semelhantes em praticamente toda a secção. Este fenómeno resultará das maiores velocidades simuladas, impostas nos testes com velocidades no *inlet* de 1 m/s.

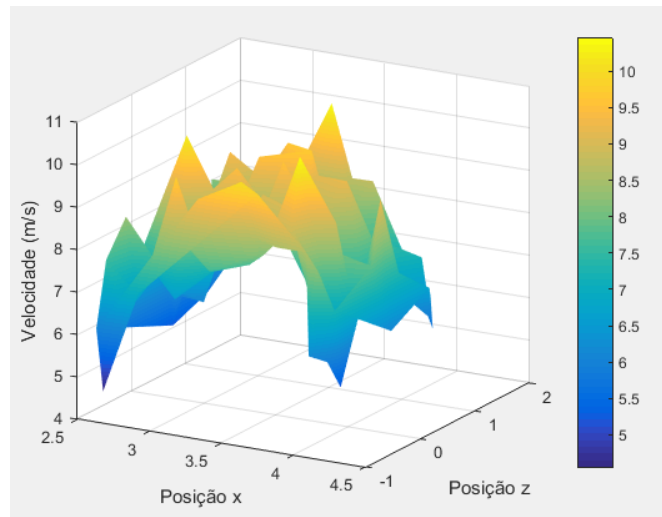


Figura 61 - Perfil de velocidades obtido à entrada da contração obtido em *Matlab* (obs.: posições indicadas em unidades de μm).

Relativamente às simulações em que a orientação do GV é vertical, tornou-se necessário modificar alguns parâmetros relativos à simulação por dinâmica molecular. O valor do parâmetro do patamar de cedência (*yield strength*) passou a ser de 0.05% de modo a possibilitar a entrada do GV na secção da contração, em resultado das menores velocidades das partículas do fluido e, conseqüentemente, a menor pressão exercida sobre o GV de modo a que este se deforme. O valor da força responsável pelo movimento das partículas de fluido foi alterado, de modo a ser possível a obtenção de valores de velocidade de escoamento do fluido com ordem de grandeza mais próxima aos observados *in vivo* [42]. Foi necessário também alterar o valor de incremento de tempo (*timestep*) entre *steps* consecutivos para 0.002, de maneira a permitir a convergência para soluções fisicamente válidas e garantir a estabilidade das simulações por dinâmica molecular. Na Figura 62 apresenta-se o perfil de velocidades para as partículas do fluido, na vizinhança do eixo principal do microcanal, e na Figura 63 um *snapshot* da configuração correspondente à entrada do GV na contração.

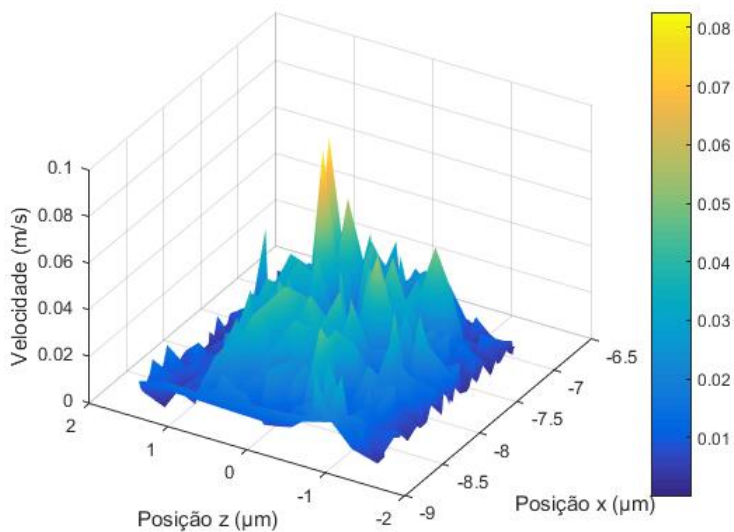


Figura 62 - Perfil de velocidades obtido à entrada da contração obtido em *Matlab*.

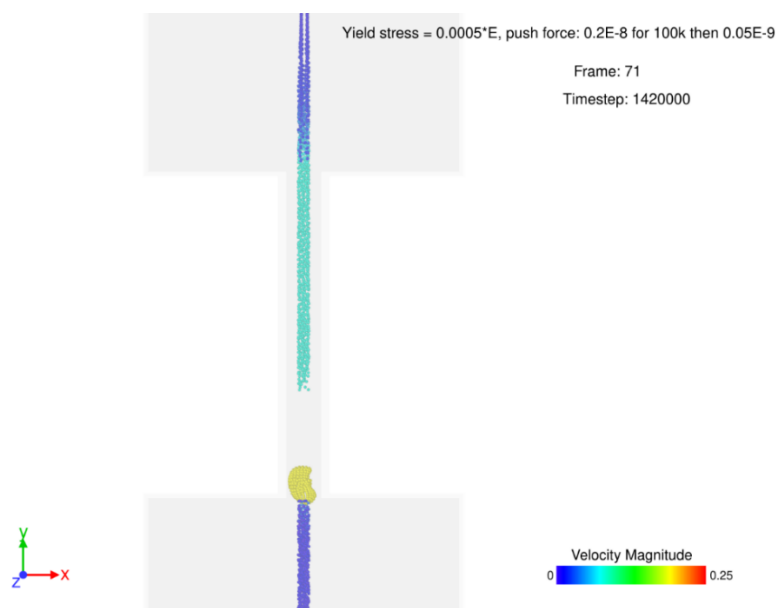


Figura 63 - *Snapshot* de vista de topo de uma simulação por *LAMMPS/SMD* com representação da velocidade das partículas de fluido correspondente ao momento de entrada do GV na contração.

No momento correspondente à saída da contração, a Figura 64 apresenta-se o perfil de velocidades para as partículas do fluido à saída da contração, e a Figura 65 apresenta a distribuição de velocidades do fluido simuladas no *LAMMPS/SMD*. É possível observar que a velocidade máxima atingida foi de 0.25 m/s. Estes valores de velocidade situam-se sensivelmente uma ordem de grandeza acima dos valores normalmente observados *in vivo* [42].

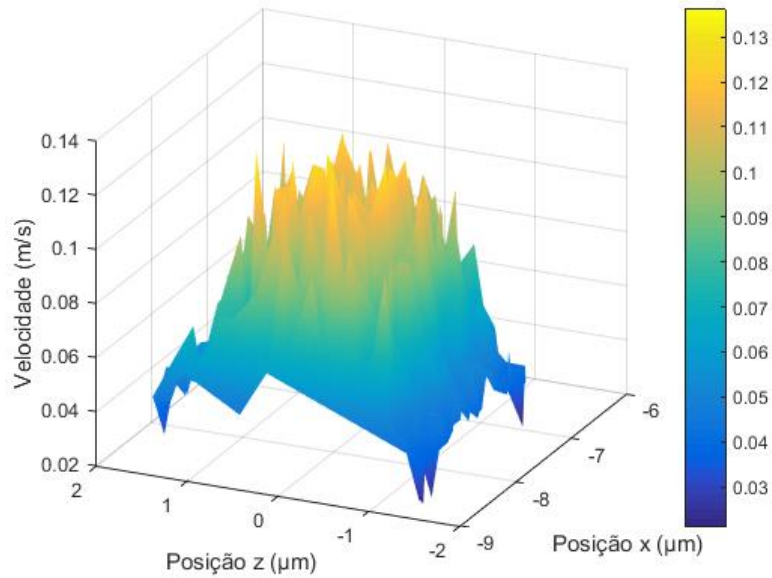


Figura 64 - Perfil de velocidades obtido à saída da contração obtido em *Matlab*.

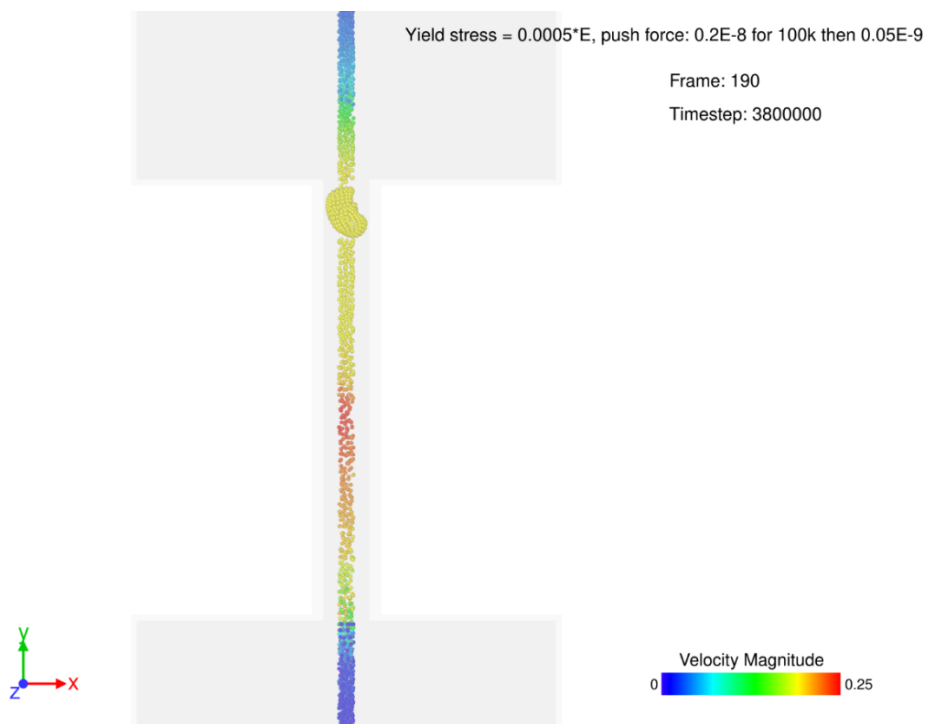


Figura 65 - *Snapshot* de vista de topo de uma simulação por *LAMMPS/SMD* com representação da velocidade das partículas de fluido correspondente ao momento de saída do GV na contração.

Para as simulações com velocidades de escoamento mais baixas, no que respeita à análise das tensões aplicadas aos GVs, considerou-se desta vez a componente do tensor *xz* visto esta ser mais adequada. Como é possível observar no *snapshot* da Figura 66, um máximo valor de

$2.5 \times 10^{-7} \text{ N/m}^2$ para a componente xz do tensor tensão de Cauchy ocorre essencialmente para as partículas do GV em contacto mais direto com as paredes do microcanal.

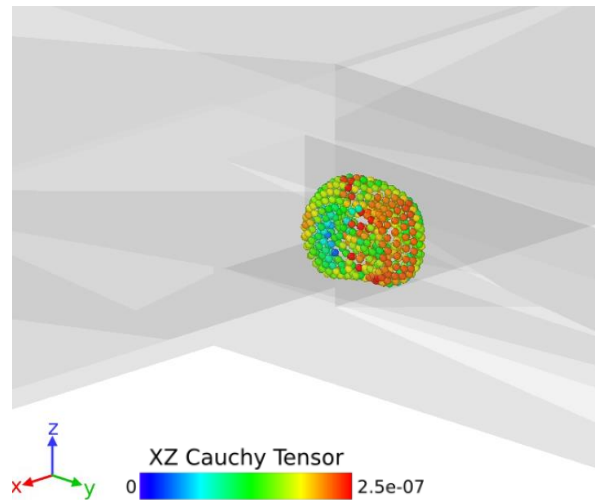


Figura 66 - Mapa de cor da distribuição da componente xz do tensor tensão obtido por dinâmica molecular (valores em N/m^2).

No que diz respeito às deformações observadas pelos GVs aquando da sua entrada na contração, na configuração inicial de orientação vertical do GV, é possível verificar que o maior valor de deformação ocorre na vizinhança da periferia da célula. O maior valor de deformação plástica (*equivalente plastic strain*) observado nas simulações efetuadas por dinâmica molecular a velocidades mais baixas de escoamento foi de $1.91 \mu\text{m}$, como pode ser observado na Figura 67, o que equivale a uma deformação percentual de 24%.

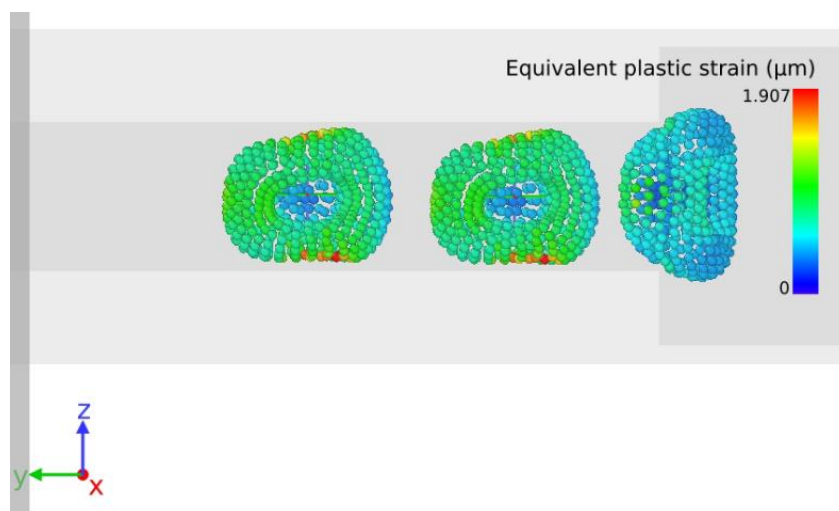


Figura 67 - Imagem representativa das deformações observadas nos GVs obtidas por dinâmica molecular na fase de entrada na contração, para a situação de orientação inicial vertical do GV e baixas velocidades de escoamento.

7. CONCLUSÕES

A utilização de técnicas de processamento de imagem na análise do comportamento de GVs quando sujeitos a solicitações, como por exemplo, ao circular num capilar mais estreito, permite retirar conclusões acerca do estado saudável ou patológico dos GVs. Desta forma, é possível prevenir futuras complicações de saúde de doentes com patologias associadas à obstrução de vasos sanguíneos.

No respeitante às simulações por dinâmica molecular, pode-se afirmar que estas apresentam geralmente alguma complexidade e exigem um grande poder de computação para sistemas de maior dimensão ou envolvendo um grande número de partículas. Acresce que a necessidade de reajuste da parametrização das grandezas físicas tendo em vista a convergência das simulações para soluções fisicamente válidas e/ou em consonância com observações experimentais, podem tornar os estudos de dinâmica molecular demorados. Contudo, as simulações por dinâmica molecular constituem uma ferramenta valiosa e de grande rigor na simulação de fenómenos ou estudo de propriedades dos materiais recorrendo a métodos discretos à escala microscópica.

Relativamente aos principais resultados obtidos neste estudo, os valores do índice de deformação calculados através do processamento de imagem de *snapshots* de resultados de dinâmica molecular encontram-se na gama dos valores obtidos experimentalmente (entre 0.479 e 0.034) [41]. Nos resultados obtidos por dinâmica molecular, os índices de deformação calculados são da ordem de 0.20, com valores máximos de 0.25. Visto que uma célula de GV *in vitro* consegue deformar-se de forma ainda mais significativa, o valor obtido neste estudo está localizado na gama de valores expectáveis. Ademais, a evolução dos índices de deformação ao longo do microcanal encontram-se em conformidade com os observados *in vivo*, uma vez que os GVs se deformam progressivamente aquando da sua entrada na contração do microcanal, aumentando o seu valor de índice de deformação. Após os GVs entrarem completamente na contração do microcanal, estes mantêm a sua geometria, mantendo assim o seu índice de deformação.

No respeitante ao escoamento do fluido circundante ao GV num microcanal, a obstrução ao escoamento provocado pelo GV diminui de forma bastante significativa as velocidades alcançadas. As comparações dos resultados entre as simulações em *COMSOL*, sem a presença

de GVs, e as simulações de dinâmica molecular realizadas no código *LAMMPS* e *SMD* permitem conferir as diferenças de velocidades de escoamento, sendo este fenómeno expectável.

Para a configuração do microcanal utilizado, as velocidades observadas no escoamento do fluido ao longo deste são qualitativamente semelhantes, quer nos resultados das simulações por dinâmica molecular *LAMMPS*, quer nas simulações numéricas obtidas no *COMSOL*.

7.1 Trabalhos Futuros

Por forma a complementar os estudos realizados no presente trabalho de dissertação, existem algumas tarefas que poderão ser realizadas futuramente. Uma das primeiras tarefas passaria pela realização de uma simulação de dinâmica molecular recorrendo ao *LAMMPS* para a orientação horizontal do GV, na qual as velocidades obtidas pelo fluido no escoamento do microcanal estejam mais próximas dos valores obtidos na realidade, que rondam o valor de 1 cm/s. A realização de futuros estudos com diferentes orientações iniciais dos GVs, permitirá também aferir a influência desse parâmetro no escoamento do fluido e estados de deformação dos GVs na contração.

Outra sugestão será a realização de ensaios experimentais que complementem os resultados obtidos no estudo numérico realizado. A validação destes resultados com valores experimentais será uma mais-valia na validação dos resultados obtidos neste trabalho.

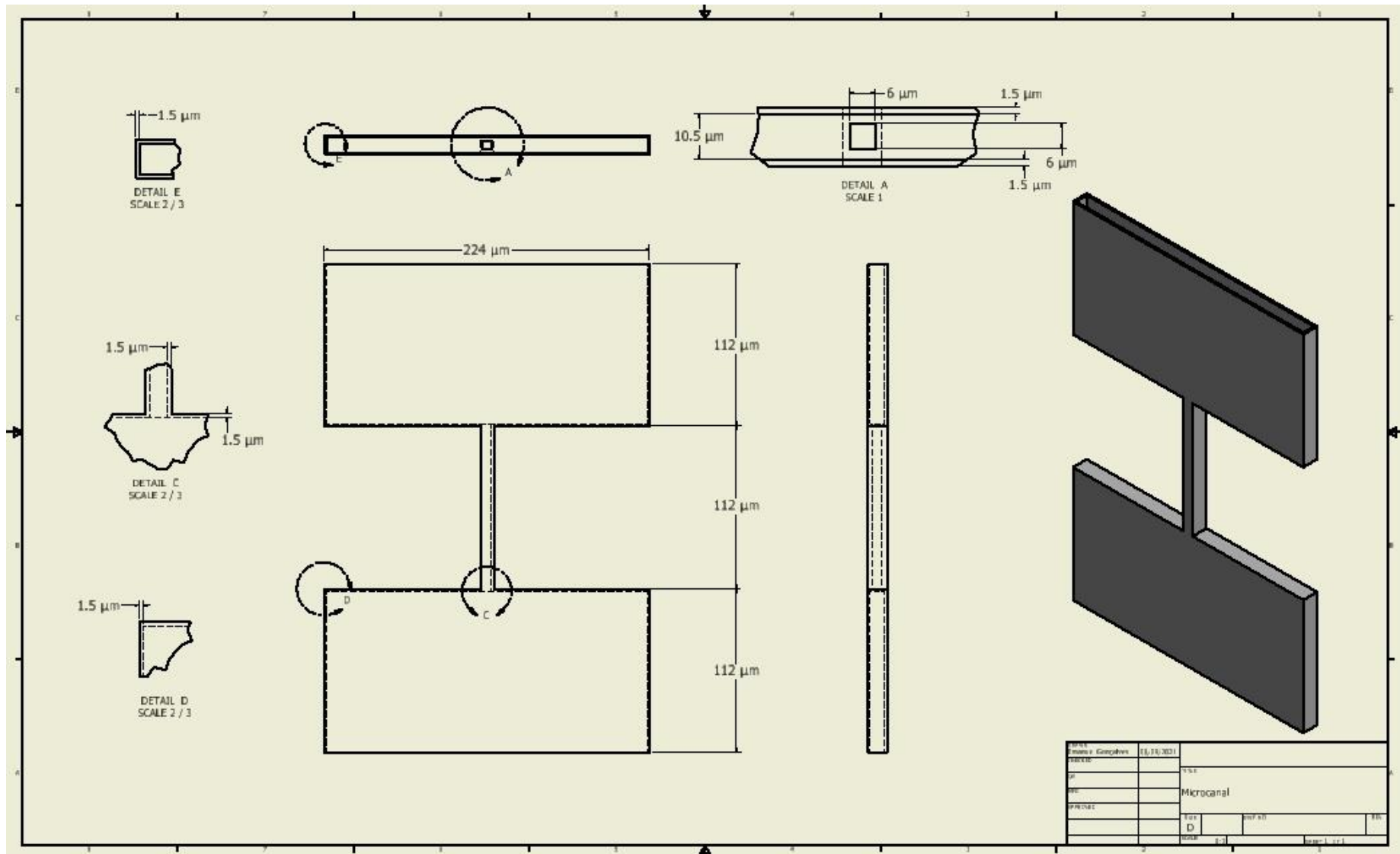
De modo a determinar a influência da geometria do microcanal sobre os resultados das simulações por dinâmica molecular, outra possibilidade de trabalho consistiria no uso de contrações não-retilíneas e de maior complexidade. Existe na literatura sobre o escoamento de GVs em microcanais com uma contração em forma parabólica, pelo que simulações com esta geometria de microcanal seria interessante.

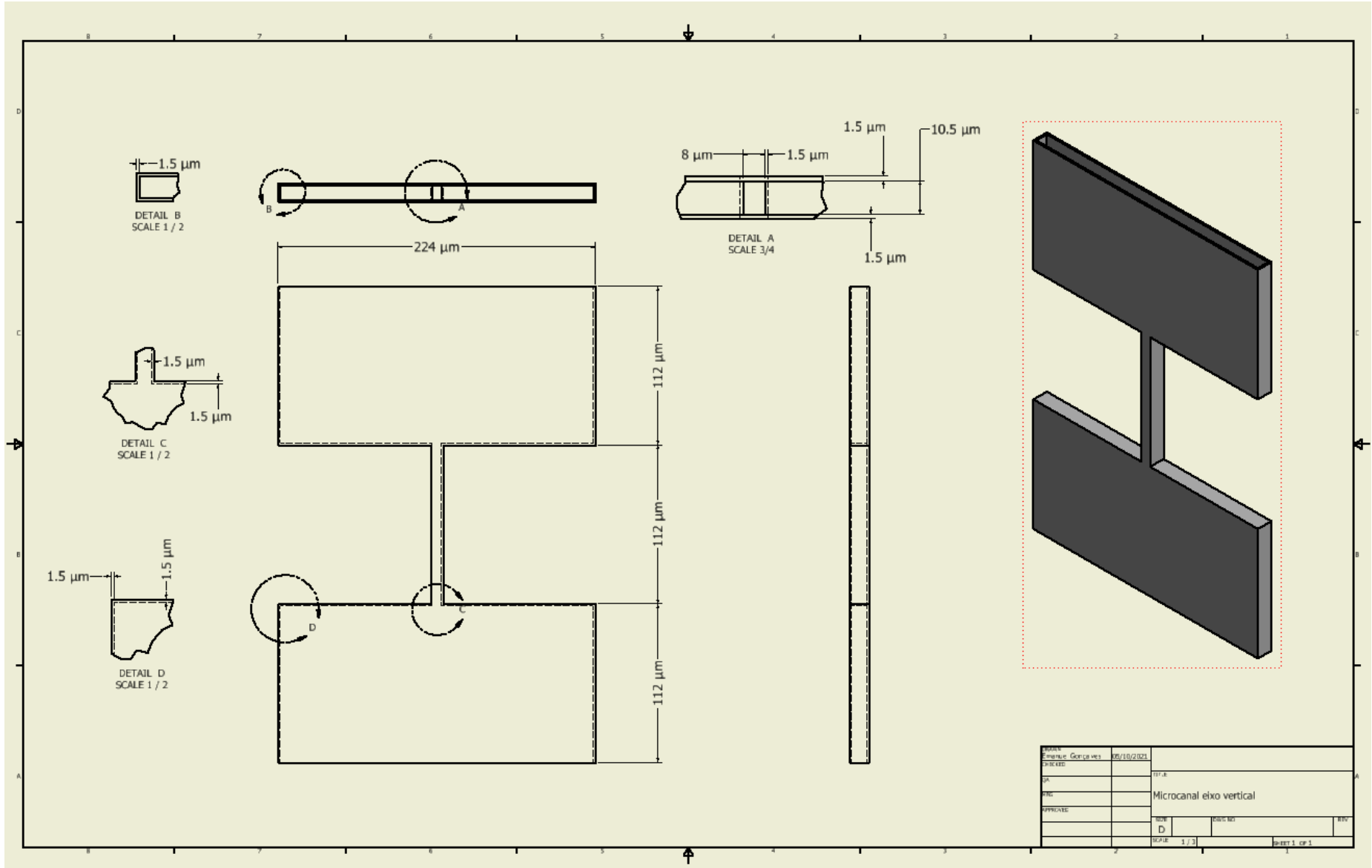
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ma. Vanessa dos Santos, “Plaquetas”.
2. Mohammad M. Faghieh & M. Keith Sharp, Modeling and prediction of flow-induced hemolysis: a review, 7 março 2019.
3. Taboada, Bruna Rafaela Pereira. Seguimento de Células e Cálculo da sua Deformação em Microcanais: Um Método Automático, IPB, Bragança, Dezembro 2013.
4. <https://clikaki.com.br/como-os-globulos-brancos-e-vermelhos-funcionam-no-organismo/>
5. Lima R, Ishikawa, T., Imai, Y., Yamaguchi, T., Blood Flow Behavior in Microchannels: Past, Current and Future Trends. In: Dias et al., Single and two-Phase Flows on Chemical and Biomedical Engineering. Bentham Science; pp.513-547, 2012. 24 Setembro 2013.
6. Soares, Maureen, “Damos o devido valor às plaquetas?” Agosto 2020.
7. T. Yaginuma, M. S. N. Oliveira, R. Lima, T. Ishikawa, and T. Yamaguchi Human red blood cell behavior under homogeneous extensional flow in a hyperbolic-shaped microchannel T 7, 054110 (2013); doi: 10.1063/1.4820414.
8. Bento, D., Rodrigues, R., Faustino, V., Pinho, D., Fernandes, C., Pereira, A., Garcia, V., Miranda, J., and Lima, R., Deformation of Red Blood Cells, Air Bubbles, and Droplets in Microfluidic Devices: Flow Visualizations and Measurements. *Micromachines* 9, 151, 2018.
9. Zeng, Nancy F., Ristenpart, William D., Mechanical response of red blood cells entering a constriction, University of California Davis.
10. Noguchi H, Gompper G., Shape transitions of fluid vesicles and red blood cells in capillary flows. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 2005 102, 14 159–14 164. (doi:10.1073/pnas.0504243102).
11. GOLDSMITH, H. TURITTO, V., Rheological aspects of thrombosis and haemostasis: basic and applications, ICTH-Report-Subcommittee on Rheology of the International Committee on Thrombosis and Hemostasis, vol. 55 (3).
12. Carvalho, M., Matos, A., *Mecânica Lagrangeana*, 2001.
13. Georg C. Ganzenmueller, Smooth Mach Dynamics, Fraunhofer Ernst-Mach Institute for High-Speed Dynamics, EMI.
14. A. Stukowski, Visualization and analysis of atomistic simulation data with OVITO – the Open Visualization Tool Modelling Simul. Mater. Sci. Eng. 18 (2010), 015012.
15. COMSOL, CFD Module User’s Guide, 2018.
16. Buffoni, Salete Souza de Oliveira, *Propriedades Mecânicas dos Materiais*, Escola de Engenharia Industrial Metalúrgica de Volta Redonda.
17. Rocha, João Augusto de Lima, *O Tensor Tensão de Cauchy*, Universidade Federal da Bahia, 2002.
18. Popel A.S, Johnson P.C., Microcirculation and hemorheology. *Annu. Rev. Fluid Mech.* 37,43–69, 2005 doi:10.1146/annurev.fluid.37.042604.133933.
19. Li X.J., Vlahovska P.V., Karniadakis G.E., Continuum- and particle-based modeling of shapes and dynamics of red blood cells in health and disease. *Soft Matter* 9, 28–37, 2013 doi:10.1039/C2SM26891D.
20. Li X., Peng Z., Lei H., Dao M., Karniadakis G.E., Probing red blood cell mechanics, rheology and dynamics with a two-component multi-scale model. *Phil. Trans. R. Soc. A* 372: 20130389. <http://dx.doi.org/10.1098/rsta.2013.0389> 2014.
21. Xuejin Li, Aleksander S. Popel, George Em Karniadakis, Blood-plasma separation in Y-shaped bifurcating microfluidic channels: A dissipative particle dynamics simulation study. 2012
22. Svanes K., Zweifach B. W., Variations in small blood vessel hematocrits produced in hypothermic rats by micro-occlusion *Microvasc. Res.* 1 210–20 1968.

23. Doyeux V., Podgorski T., Peponas S., Ismail M., Coupier G., Spheres in the vicinity of a bifurcation: elucidating the Zweifach–Fung effect *J. Fluid Mech.* 674 359–88 2011.
24. Fung Y. C., Stochastic flow in capillary blood vessels *Microvasc. Res.* 5 34–48 1973.
25. Barber J. O., Alberding J. P., Restrepo J. M., Secomb T. W., Simulated two-dimensional red blood cell motion, deformation, and partitioning in microvessel bifurcations *Ann. Biomed. Eng.* 36 1690–8 2008.
26. Dupire J., Socol M., Viallat A., Full dynamics of a red blood cell in shear flow. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 109, 20 808–20 813. (doi:10.1073/pnas.1210236109) 2013.
27. Abkarian M., Viallat A., Vesicles and red blood cells in shear flow. *Soft Matter* 4, 653–657. (doi:10.1039/B716612E) 2008.
28. McWhirter J.L., Noguchi H., Gompper G., Deformation and clustering of red blood cells in microcapillary flows. *Soft Matter* 7, 10 967–10 977. (doi:10.1039/C1SM05794D) 2011.
29. Li J., Dao M., Lim C.T., Suresh S., Spectrin-level modeling of the cytoskeleton and optical tweezers stretching of the erythrocyte. *Biophys. J.* 88, 3707–3719. (doi:10.1529/biophysj.104.047332) 2005.
30. Fedosov D.A., Caswell B., Karniadakis G.E., A multiscale red blood cell model with accurate mechanics, rheology, and dynamics. *Biophys. J.* 98, 2215–2225. (doi:10.1016/j.bpj.2010.02.002) 2010.
31. Liu S.C., Derick L.H., Zhai S., Palek J., Uncoupling of the spectrin-based skeleton from the lipid bilayer in sickled red cells. *Science* 252, 574–576. (doi:10.1126/science.2020854) 1991.
32. Popel A. S., Johnson P. C., Microcirculation and hemorrheology *Annu. Rev. Fluid Mech.* 37 43–69 2005.
33. Ishikawa T., Fujiwara H., Matsuki N., Yoshimoto T., Imai Y., Cueno H., Yamaguchi T., Asymmetry of blood flow and cancer cell adhesion in a microchannel with symmetric bifurcation and confluence *Biomed. Microdevices* 13 159–67 2011.
34. Secomb T. W., *Mechanics of blood flow in the microcirculation* Biological Fluid Dynamics ed C P Ellington and T J Pedley (Cambridge: Cambridge University Press) 305–21 1995.
35. Boal D. H., Seifert U., Zilker A., Dual network model for red blood cell membranes *Phys. Rev. Lett.* 69 3405–8 1992.
36. Li J., Lykotrafitis G., Dao M., Suresh S., Cytoskeletal dynamics of human erythrocyte. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 104 4937–42 2007.
37. Pivkin I. V., Karniadakis G. E., Accurate coarse-grained modeling of red blood cells *Phys. Rev. Lett.* 101 118105 2008.
38. Fedosov D. A., Caswell B., Karniadakis G. E., A multiscale red blood cell model with accurate mechanics, rheology and dynamics *Biophys. J.* 98 2215–25 2010.
39. Pan W. X., Caswell B., Karniadakis G. E., A low-dimensional model for the red blood cell, *Soft Matter* 6 4366–76 2010.
40. Fedosov D. A., Pan W. X., Caswell B., Gompper G., Karniadakis G. E., Predicting human blood viscosity in silico. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 108 11772–7 2011.
41. Boas, L.V.; Faustino, V.; Lima, R.; Miranda, J.M.; Minas, G.; Fernandes, C.S.V.; Catarino, S.O. Assessment of the Deformability and Velocity of Healthy and Artificially Impaired Red Blood Cells in Narrow Polydimethylsiloxane (PDMS) Microchannels. *Micromachines* 2018, 9, 384.
42. Caro C, Pedley T, Schroter R, Seed W. *The mechanics of the circulation*. 2nd ed., New York, Cambridge University Press, 2012.

ANEXO 1 – DESENHOS TÉCNICOS DOS MICROCANAIS





DATE	25/10/2023	TITLE	
DESIGNED		Microcanal exo vertical	
QA		REV	
APPROVED		REV D	
		SCALE	1 / 3
		SHEET 1 OF 1	

ANEXO 2 - ESTUDO DE CONVERGÊNCIA DE MALHA

Relativamente à convergência da malha utilizada na simulação, apresenta-se os resultados obtidos para 4 tamanhos de elementos das malhas diferentes. Este estudo serviu para verificar qual seria o tamanho de elemento maior a partir do qual os resultados da simulação não variam.

Os resultados apresentados nas imagens seguintes mostram a variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma velocidade inicial da água de 0.01 m/s.

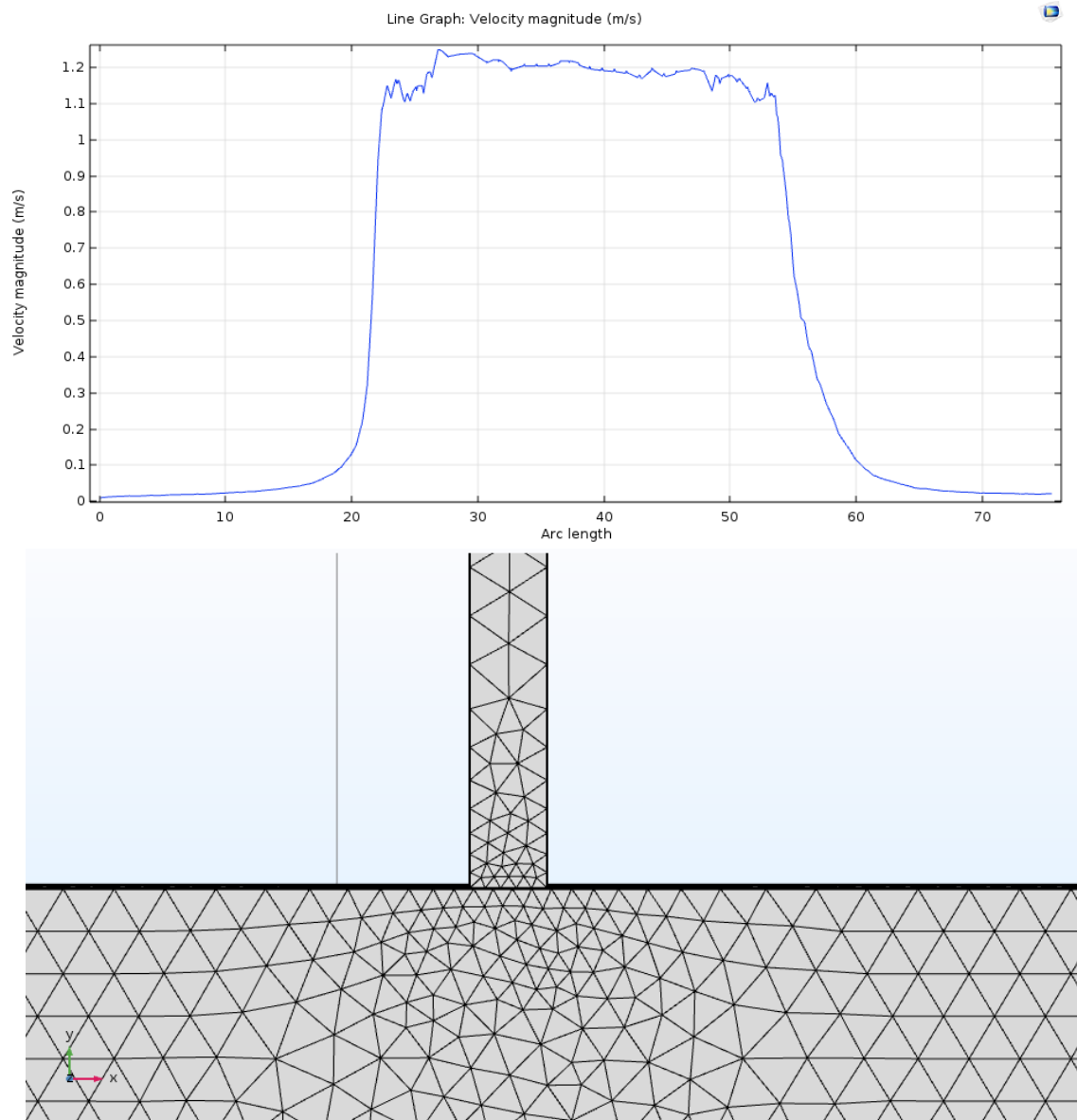


Figura 68 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "grosso", demorando 1 minuto de simulação até à obtenção de resultados.

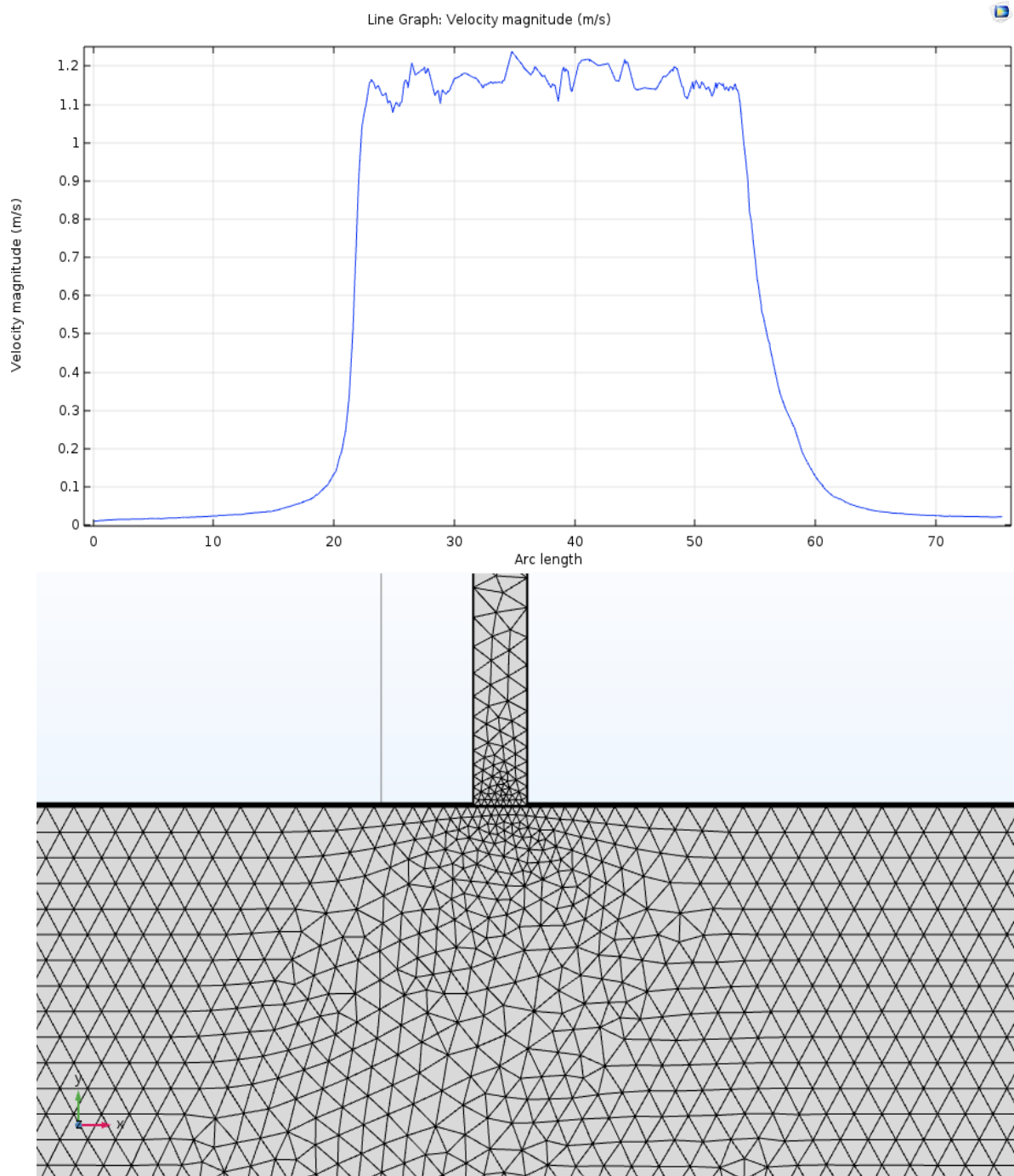


Figura 69 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "normal", demorando pouco mais de 1 minuto de simulação até à obtenção de resultados.

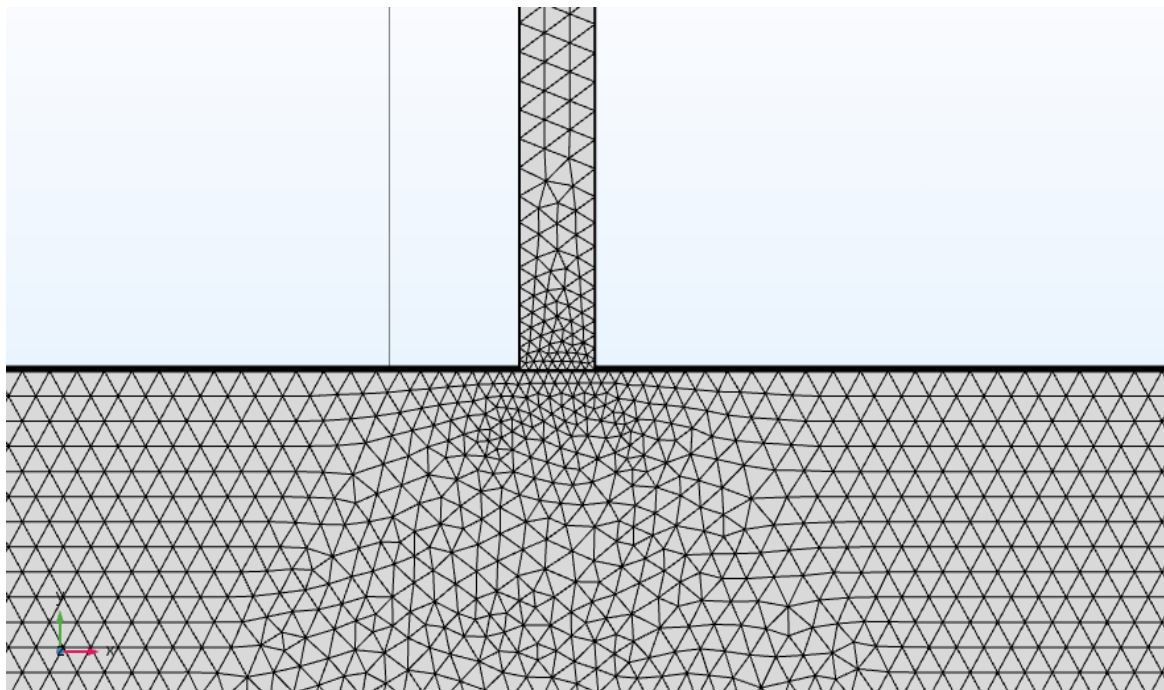
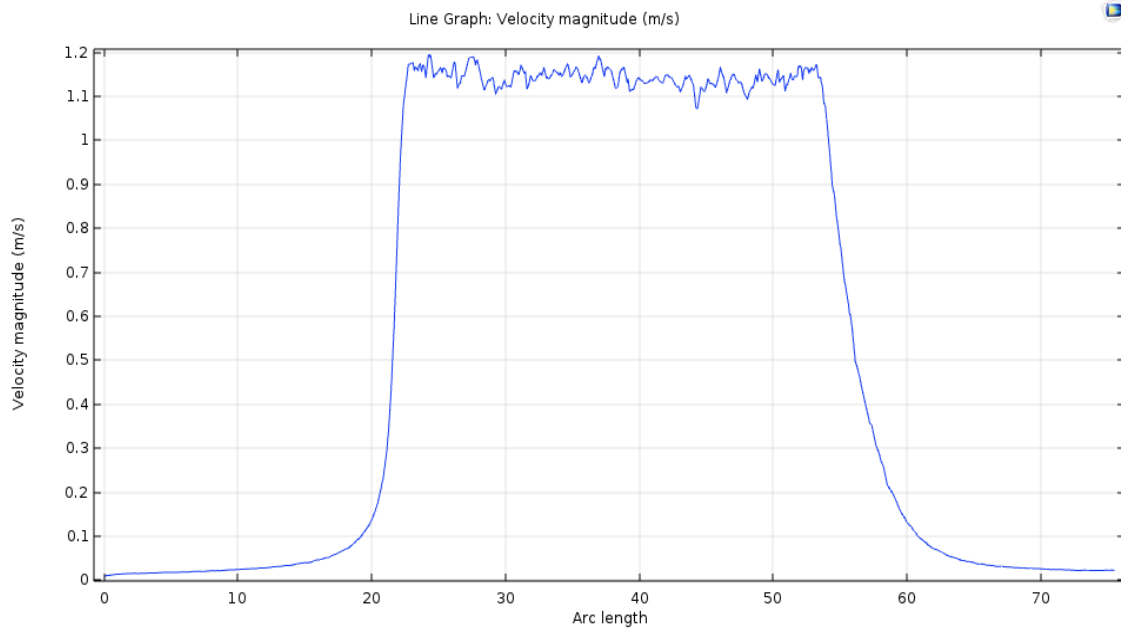


Figura 70 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "fino", demorando 3 minutos de simulação até à obtenção de resultados.

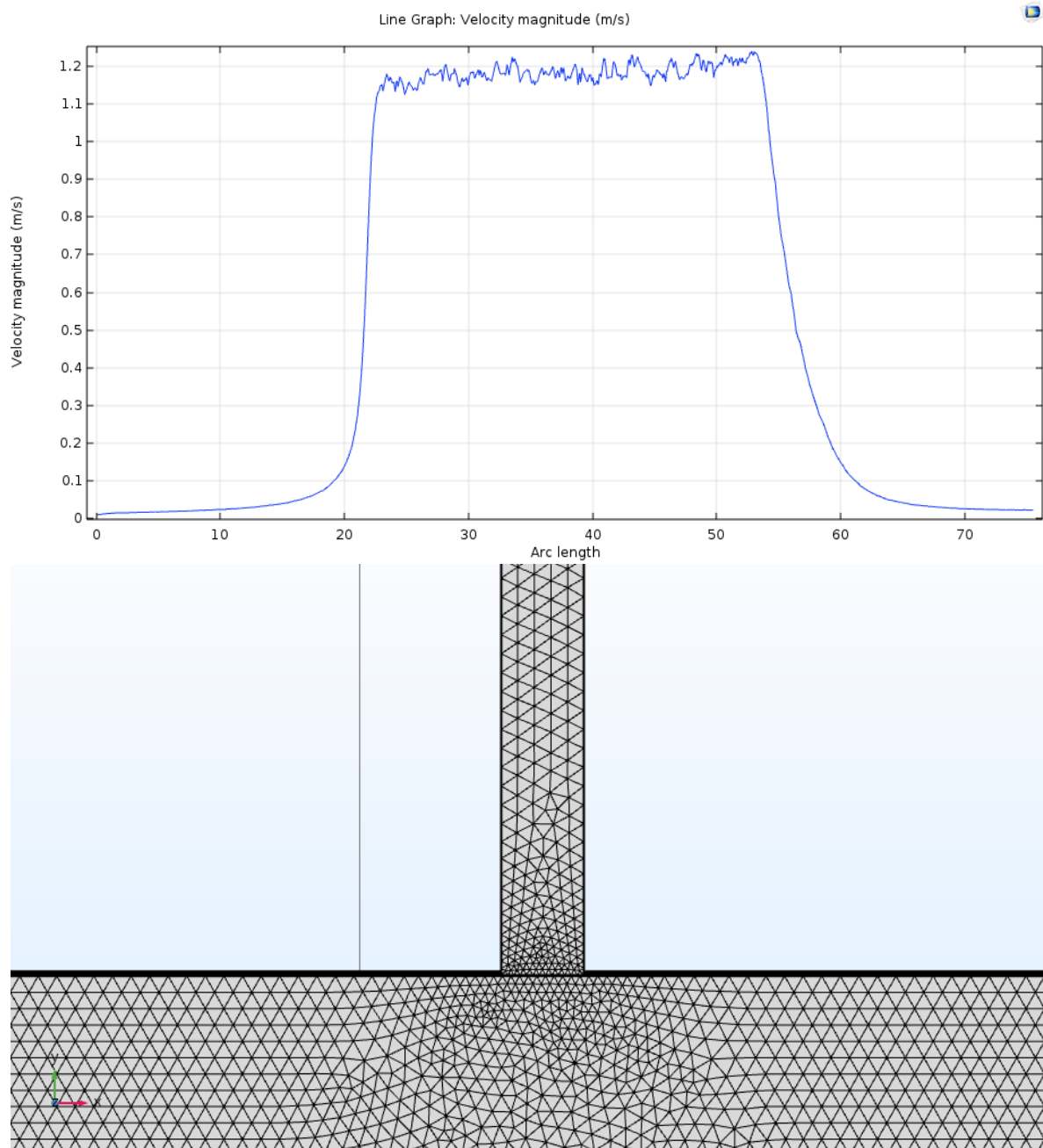


Figura 71 - Variação da velocidade ao longo do microcanal, para uma malha com tamanho de elemento "mais fino", demorando 10 minutos de simulação até à obtenção de resultados.

Uma vez que os resultados obtidos com os diferentes tamanhos de malha são muito próximos, optou-se por usar o tamanho de elemento "fine" uma vez que o tempo de simulação usando o tamanho "finer" representaria mais do que a triplicação do tempo total de simulação. Não foi possível utilizar tamanhos de malha superiores aos aqui apresentados uma vez que as dimensões da parede do tubo são bastante reduzidas.

ANEXO 3 – CÓDIGO *PYTHON* DE PROCESSAMENTO DE IMAGEM

```
1 import cv2
2 import numpy as np
3 import imutils
4 import matplotlib.pyplot as plt
5
6 cap = cv2.VideoCapture("rbc.mp4")
7 l=[]
8 K=[]
9 try:
10     while True:
11         _, frame = cap.read()
12         blurred_frame = cv2.GaussianBlur(frame, (5, 5), 0)
13         hsv = cv2.cvtColor(blurred_frame, cv2.COLOR_BGR2HSV)
14         # lower mask (0-10)
15         lower_red = np.array([0, 50, 50])
16         upper_red = np.array([10, 255, 255])
17         mask0 = cv2.inRange(hsv, lower_red, upper_red)
18
19         # upper mask (170-180)
20         lower_red = np.array([170, 50, 50])
21         upper_red = np.array([180, 255, 255])
22         mask1 = cv2.inRange(hsv, lower_red, upper_red)
23
24         # join my masks
25         mask = mask0 + mask1
26         contours = cv2.findContours(mask, cv2.RETR_TREE, cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE)
27         cnts = imutils.grab_contours(contours)
28         c = max(cnts, key=cv2.contourArea)
29
30         #Top, Right, Left and bottom
31         extLeft = tuple(c[c[:, :, 0].argmin()][0])
32         extRight = tuple(c[c[:, :, 0].argmax()][0])
33         extTop = tuple(c[c[:, :, 1].argmin()][0])
34         extBot = tuple(c[c[:, :, 1].argmax()][0])
35
36         # print (contours)
37         contours, _ = cv2.findContours(mask, cv2.RETR_TREE, cv2.CHAIN_APPROX_SIMPLE)
38         print(extLeft, " ", extRight, " ", extTop, " ", extBot)
39         DI = ((extBot[1]-extTop[1])-(extRight[0]-extLeft[0]))/((extRight[0]-extLeft[0])+(extBot[1]-extTop[1]))
40         DR = (extBot[1]-extTop[1])/(extRight[0]-extLeft[0])
41         print("DI=", DI)
42         print("DR=", DR)
```

Figura 72 - Código utilizado no processamento de imagem (parte 1).

```

43     l.append(DI)
44     K.append(DR)
45     for contour in contours:
46         cv2.drawContours(frame, contour, -1, (0, 255, 0), 6)
47         cv2.imshow("Frame", frame)
48         cv2.imshow("Mask", mask)
49         key = cv2.waitKey(30)
50         if key == 27:
51             break
52     cap.release()
53     cv2.destroyAllWindows()
54     except:
55         pass
56     plt.plot(l)
57     plt.xlabel("Frame")
58     plt.ylabel("Deformation Index")
59     plt.show()
60
61     plt.plot(K)
62     plt.xlabel("Frame")
63     plt.ylabel("Deformation Ratio")
64     plt.show()

```

Figura 73 - Código utilizado no processamento de imagem (parte 2).

ANEXO 4 – SCRIPT LAMMPS/SMD

```
#####
# MATERIAL PARAMETERS
#####
variable      c0 equal 10.0 # speed of sound for fluid
variable      rho_water equal 1.0e-6 # initial mass density
variable      E equal 5*{c0}*{c0}*{rho_water} # Young's modulus for solid objects
variable      nu equal 0.3 # Poisson ratio for solid objects
variable      l0 equal 0.25 # lattice spacing for creating particles
variable      K equal {c0}^2*{rho_water} # Bulk modulus of liquid
variable      contact_stiffness equal 0.1*{K} # Normal values in range 0.1-0.5 of bulk modulus of liquid
variable      q1 equal 0.06 # standard artificial viscosity linear coefficient
variable      q2 equal 0.0 # standard artificial viscosity quadratic coefficient
variable      hg equal 10.0 # hourglass control coefficient
variable      Cp equal 1.0 # heat capacity of material -- not used here
variable      rho_rbc equal 1.11e-6 # mass density of RBC
variable      sigma_yield equal 0.001*{E} # plastic yield stress for solid objects
variable      hardening_parameter equal 0 # plastic hardening parameter for solid objects
variable      h equal 2.01*{l0} # SPH smoothing kernel radius
variable      vol_one equal {l0}^3 # volume of one particle -- assuming unit thickness
variable      skin equal 0.1*{h} # Verlet list range
variable      cr equal {l0}/2

#####
# INITIALIZE LAMMPS
#####
dimension      3
units          si
boundary       f p f # simulation box boundaries
atom_style     smd
atom_modify    map array
comm_modify    vel yes
comm_style     tiled

neigh_modify   every 10 delay 0 check yes exclude type 2 2 page 3000000 one 300000
neigh_modify   exclude type 4 4

newton         off

#####
# CREATE INITIAL GEOMETRY
#####
lattice        sc {l0}
region         box block -40 45 -65 95 -5 5 units box
create_box     4 box

region         h2o_upstream block -25 32 -36 -10 -1 1 units box
region         h2o_downstream block -25 32 24.5 51 -1 1 units box
region         h2o_channel block 2.75 4 -8 24 -0.7 0.7 units box

create_atoms   1 region h2o_upstream
create_atoms   1 region h2o_downstream
create_atoms   1 region h2o_channel

read_data      rbc.xyz add append

group          water type 1
group          water_push region h2o_upstream # define group to push only on upstream particles
group          rbc type 3
group          t1sph type 3

# Change RBC orientation and align w/ microchannel axis
displace_atoms rbc rotate 0 0 0 1 0 0 90
displace_atoms rbc move 13.5 -34 0

#####
# DISCRETIZATION PARAMETERS
#####
```

```

neighbor      ${skin} bin
set           group all smd/contact/radius ${cr}
set           group all volume ${vol_one}
set           group water smd/mass/density ${rho_water}
set           group all diameter ${h} # set SPH kernel radius
set           group rbc smd/mass/density ${rho_rbc}
variable     contact_scale equal 1.5 # scale factor to increase contact gap between bodies

#####
# DEFINE PUSHING FORCE AND GRAVITY BOUNDARY CONDITION
#####

# push liquid particles for blood flow

fix          push water_push addforce 0.0 9.424e-8 0.0      # push only upstream water particles

#####
# INTERACTION PHYSICS / MATERIAL MODEL
# We use polynomial EOS for the pressure and the Johnson Cook strength model
# An integration point fails (cannot support tension anymore) if the plastic strain exceeds 0.5.
#####
pair_style   hybrid/overlay smd/tri_surface 1.0 &
            smd/ulsph *DENSITY_CONTINUITY *VELOCITY_GRADIENT *NO_GRADIENT_CORRECTION &
            smd/tlsph smd/hertz ${contact_scale}
pair_coeff   1 1 smd/ulsph *COMMON ${rho_water} ${c0} ${q1} ${Cp} ${hg} &
            *EOS_TAIT 2 &
            *END
pair_coeff   2 2 none
pair_coeff   1 2 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction liquid/walls
pair_coeff   2 3 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction RBC/walls
pair_coeff   3 3 smd/tlsph *COMMON ${rho_rbc} ${E} ${nu} ${q1} ${q2} ${hg} ${Cp} &
            *STRENGTH_LINEAR_PLASTIC ${sigma_yield} ${hardening_parameter} &
            *EOS_LINEAR &
            *END
pair_coeff   1 3 smd/hertz ${contact_stiffness}            # contact force water/RBC
pair_coeff   4 4 none
pair_coeff   1 4 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction liquid/piston
pair_coeff   3 4 smd/tri_surface ${contact_stiffness}      # interaction RBC/piston
pair_coeff   2 4 none

#####
# LOAD STL SURFACE
#####
fix          stl_surface_fix all smd/wall_surface rbc_microcanal_quadrado_open.stl 2 65535 # load rigid walls
fix          stl_surface_piston all smd/wall_surface piston.stl 4 65535 # load rigid plate for piston
run          0 # This is important! Always run for 0 timesteps directly after loading STL file!
group       surface type 2
group       piston type 4
fix         move_piston piston smd/move_tri_surf *LINEAR 0 10 0 # move linearly piston to push liquid

#####
# TIME INTEGRATION
#####
fix         force_fix surface setforce 0 0 0
fix         force_fix_piston piston setforce 0 0 0
fix         dtfix all smd/adjust_dt 0.0005 # dynamically adjust time increment every step
fix         integration_fix_water water smd/integrate_ulsph adjust_radius 1.02 20 25
fix         integration_fix_rbc rbc smd/integrate_tlsph

#####
# SPECIFY TRAJECTORY OUTPUT
#####
variable   dumpFreq equal 30000
compute   rho all smd/rho
compute   nnw water smd/ulsph/num/neighs # number of neighbors for each water particle

```

```

compute      nnr rbc smd/tlsph/num/neighs # number of neighbors for each RBC particle
compute      contact_radius all smd/contact/radius
compute      surface_piston piston smd/triangle/vertices # compute coordinates of particle in piston
compute      epl rbc smd/plastic/strain          # compute equivalent plastic strain for RBC
compute      cauchy rbc smd/tlsph/stress         # compute Cauchy stress tensor for RBC

# Water dump file
dump         dump_water water custom ${dumpFreq} dump.LAMMPS id type x y z vx vy vz &
            c_rho c_nnw c_contact_radius proc
dump_modify  dump_water first yes

# Capillary dump file

# Piston dump file
dump         surf_dump_piston piston custom 999999999 piston.LAMMPS id type mol x y z vx vy vz &
            c_surface_piston[1] c_surface_piston[2] c_surface_piston[3]          &
            c_surface_piston[4] c_surface_piston[5] c_surface_piston[6]          &
            c_surface_piston[7] c_surface_piston[8] c_surface_piston[9]
dump_modify  surf_dump_piston first yes

# RBC dump file
dump         dump_rbc rbc custom ${dumpFreq} dump_RBC.LAMMPS id type x y z vx vy vz &
            c_rho c_nnr c_contact_radius c_epl c_cauchy[1] c_cauchy[2] c_cauchy[3] &
            c_cauchy[4] c_cauchy[5] c_cauchy[6] c_cauchy[7] proc
dump_modify  dump_rbc first yes

#####
# STATUS OUTPUT
#####
compute      eint all smd/internal/energy
compute      alleint all reduce sum c_eint
variable     etot equal pe+ke+c_alleint # total energy of the system
thermo       100
thermo_style custom step dt f_dtfix pe ke v_etot

#####
# RUN SIMULATION
#####
balance      1.1 rcb
fix          balance_fix all balance 200 1.1 rcb
run          20000

unfix        push          # remove fix for initial inlet liquid motion

run          2000000

write_restart restart.RBC_vertical_Elastoplastic_piston

```

Figura 74 - Script LAMMPS/SMD usado nas simulações por dinâmica molecular.