



ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Alberto
Otero Cacho

Tesis doctoral

Modelización y Simulación de la
Dinámica de Fluidos Biológicos
y Estudio de su Relación con
Diferentes Patologías

Santiago de Compostela, 2021

Programa de doctorado en Ciencia de Materiales

D./Dña. **Alberto Otero Cacho**

Título da tese: **Modelización y simulación de la dinámica de fluidos biológicos y estudio de su relación con diferentes patologías**

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
- 2) De ser el caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
- 3) Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.
- 4) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide la versión impresa con la presentada en formato electrónico.

Y me comprometo a presentar el Compromiso Documental de Supervisión en el caso que el original no esté depositado en la Escuela.

En Santiago de Compostela, 28 de diciembre de 2021.

Firma electrónica

AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR / TUTOR DE LA TESIS

Modelización y simulación de la dinámica de fluidos biológicos y estudio de su relación con diferentes patologías

D./D^a. Alberto Pérez Muñuzuri

D./D^a. Vicente Pérez Muñuzuri

INFORMA/N:

Que la presente tesis, se corresponde con el trabajo realizado por D/D^a. Alberto Otero Cacho, bajo mi dirección/tutorización, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de esta no incurre en las causas de abstención establecidas en la Ley 40/2015.

De acuerdo con lo indicado en el Reglamento de Estudios de Doctorado, declara también que la presente tesis doctoral es idónea para ser defendida en base a la modalidad de Monográfica con reproducción de publicaciones, en los que la participación del doctorando fue decisiva para su elaboración y las publicaciones se ajustan al Plan de Investigación.

En Santiago de Compostela, 27 de diciembre de 2021

*Á miña Familia e
Amigos, piales de
todo*

Todos somos unos genios, pero si juzgas a un pez por su habilidad para escalar un árbol, vivirá toda su vida creyendo que es un estúpido.

Albert Einstein

Agradecimientos

Es bien sabido que la consecución de una Tesis Doctoral supone un importante complemento en toda formación y la puerta de entrada al mundo científico. Sin embargo, ahora que concluye esta etapa, el foco lo dirijo a todo aquello que se sitúa en la periferia de lo académico y que está formado principalmente por las experiencias y por las personas que me han ayudado a recorrer este camino.

En primer lugar, me gustaría agradecer a mis directores de Tesis, Alberto Pérez Muñuzuri y Vicente Pérez Muñuzuri por haberme dado la oportunidad de realizar esta Tesis y por su apoyo constante a lo largo de todo el camino, con pandemias y simulaciones interminables incluidas.

Gracias a mis compañeros de laboratorio: Irma, David, Ismael, Alejandro, Juanma, Mariamo y especialmente a Darío por ser un gran compañero y por estar siempre dispuesto a ayudar. No me olvido tampoco de la parte ‘Meteo’ de GFNL: Gonzalo Míguez, Dani, J. Eiras, Miguel, Sabela, Ana, Sara, Martín, Damián y Carlos por su pronóstico siempre acertado y por las molestias en mis innumerables visitas a la máquina de café.

Agradecimiento bien merecido también a personas de fuera de GFNL con las que he colaborado a lo largo de este tiempo y que me han ayudado a entender y a emplear otro tipo lenguaje, en ocasiones bastante alejado del que solemos manejar en los laboratorios 029 y 031. En especial agradecer a Maite Flores, Ezequiel Álvarez y Miguel Abal por las ganas en cada proyecto que hemos tenido en común.

Gracias a los compañeros de FlowReserve Labs: Diego, José Ramón, María S., María B. y, en esta última etapa, a Belén y a Manuel por su trabajo y ganas de aprender en el seno de un proyecto tan exigente como este.

Agradecer también a Pablo Taboada y Silvia (por el apoyo y el interés mostrado cada vez que conversábamos) y a Elena Vázquez (con el M2i empezó todo).

Finalmente, o agradecemento infinito á miña familia e amigos. A meus pais, MariCarmen e Hipólito, polo apoio e por transmitirme sempre o espírito de loita constante; ao meu irmán, Miguel, por estar sempre aí e contribuir ao divertimento do persoal (e polas increíbles vacacións de verán en Mallorca); e a Laura, polo seu apoio, enerxía e por ser a mellor compañeira de viaxe.

Non me quero esquecer dos que xa non están. Eles seguro que tamén desfrutarían moito disto.

A todos vós, GRAZAS!!

Alberto Otero Cacho
Decembro 2021

Índice general

<i>Resumen</i>	<i>V</i>
<i>Resumo</i>	<i>IX</i>
<i>Objetivos</i>	<i>XIII</i>
<i>Índice de Figuras</i>	<i>XV</i>
<i>Índice de tablas</i>	<i>XXV</i>
<i>Abreviaturas</i>	<i>XXVII</i>
<i>Listado de Publicaciones y Patentes</i>	<i>XXIX</i>
<i>Contribuciones a Congresos</i>	<i>1</i>
<i>Capítulo 1. Introducción</i>	<i>1</i>
1.1. Motivación	<i>1</i>
1.2. Análisis del flujo sanguíneo	<i>4</i>
1.3. Circulación de partículas en el seno de un fluido	<i>12</i>
1.3.1. Células tumorales circulantes (CTCs)	<i>13</i>
1.3.2. Partículas portadoras de medicamento	<i>14</i>
<i>Capítulo 2. Metodología</i>	<i>17</i>
2.1. Definición del dominio computacional	<i>17</i>
2.1.1. Obtención de la geometría a partir de programas CAD	<i>18</i>
2.1.2. Obtención de la geometría a partir de imagen médica (TAC) del paciente	<i>19</i>
2.2. Construcción de la malla	<i>22</i>

2.3. Ecuaciones gobernantes del flujo y del comportamiento de las partículas	23
2.3.1. Flujo sanguíneo	23
2.3.2. Partículas en el seno de un fluido	25

Capítulo 3. Formación de Placa en Bifurcaciones de Arterias Coronarias **33**

3.1. Introducción	33
3.2. Metodología	34
3.2.1. Simulación Numérica.....	34
3.2.2. Diseño de los experimentos	41
3.3. Resultados	46
3.3.1. Régimen estacionario	46
3.3.2. Régimen transitorio.....	52
3.4. Discusión y conclusiones	53

Capítulo 4. Influencia de la Geometría de las Bifurcaciones Coronarias en la Formación de Placa **57**

4.1. Introducción	57
4.2. Materiales y métodos.....	58
4.2.1. Geometría	58
4.2.1.1. Bifurcaciones arteriales simétricas	58
4.2.1.2. Bifurcaciones arteriales asimétricas	59
4.2.2. Malla.....	61
4.2.3. Modelo numérico	62
4.3. Resultados	63
4.3.1. Geometría simétrica. Efecto de la topología del vértice	63
4.3.2. Geometría asimétrica con $D_1 = D_3$	69
4.3.3. Geometría asimétrica siguiendo la ley de Finet	71
4.3.4. Geometría asimétrica. Efecto de la topología del vértice	73
4.4. Discusión y conclusiones	75

Capítulo 5. Determinación de Indicadores Cardiológicos por Métodos No Invasivos **77**

5.1. Introducción.....	77
5.2. Materiales y métodos.....	78



5.2.1. Población objeto de estudio	78
5.2.2. Simulaciones numéricas.....	79
5.2.2.1. Reconstrucción del modelo coronario del paciente.....	79
5.2.2.2. Malla.....	80
5.2.2.3. Condiciones de frontera	81
5.2.2.4. Simulación numérica	85
5.3. Resultados.....	85
5.3.1. FFRct.....	87
5.3.2. Otros parámetros cardiológicos de relevancia clínica	90
5.4. Discusión y Conclusiones.....	95
<i>Capítulo 6. Influencia del Flujo en la Deposición de Células Tumorales en Bifurcaciones del Sistema Circulatorio</i>	<i>97</i>
6.1. Introducción	97
6.2. Materiales y Métodos	98
6.2.1. Métodos numéricos	98
6.2.2. Métodos experimentales	101
6.3. Resultados.....	102
6.4. Conclusiones	112
<i>Capítulo 7. Diseño y Comportamiento de Partículas Portadoras de Medicamento en el Seno de un Fluido.....</i>	<i>113</i>
7.1. Introducción	113
7.2. Materiales y métodos	114
7.2.1. Geometría	114
7.2.2. Malla	116
7.2.3. Propiedades del fluido y condiciones de flujo	117
7.2.4. Propiedades de las micro y nanopartículas	117
7.3. Resultados.....	120
7.3.1. Estudio de la migración en un vaso sanguíneo con estenosis	120
7.3.2. Estudio de la migración de micropartículas en una bifurcación del sistema circulatorio.....	125
7.4. Conclusiones	127
<i>Conclusiones</i>	<i>129</i>

Anexo 133
Bibliografía 137

Resumen

El desarrollo de la presente memoria de Tesis Doctoral se centra en la investigación de las causas del desarrollo de diferentes patologías (cardíacas y tumorales) y en el estudio de la eficiencia de medicamentos encapsulados que circulan por el torrente sanguíneo y que pueden ser de ayuda a la hora de minimizar o eliminar los efectos perjudiciales de las enfermedades anteriormente citadas. Toda esta investigación se lleva a cabo mediante la aplicación de métodos computacionales y, por lo tanto, no invasivos, gracias a los cuales es posible simular el flujo sanguíneo y analizar un gran número de variables de interés clínico en diferentes áreas del árbol arterial sin ocasionar molestia alguna al paciente y evitando, en muchos casos, la necesidad de realización de experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Así pues, la presente memoria se estructura como sigue: en el **Capítulo 1**, de carácter introductorio, se describen las características de las diferentes enfermedades que se van a estudiar a lo largo del documento. Estas enfermedades van a ser, fundamentalmente, de dos tipos: en primer lugar, enfermedades relacionadas con el sistema circulatorio y, más concretamente, con la circulación en las arterias coronarias como son la aterosclerosis y la cardiopatía isquémica. En segundo lugar, se estudian mecanismos de desarrollo de las enfermedades cancerígenas. Concretamente, el estudio que se propone en este documento se centrará en el análisis de las trayectorias de las células tumorales circulantes (CTCs) y en la determinación de aquellas zonas en las que es más probable que se produzca su interacción con el endotelio pudiendo llegar a formar un nuevo tumor. A su vez, se introducen también los avances en materia de partículas portadoras de medicamento y las características que definen su eficiencia a la hora de combatir enfermedades como las descritas anteriormente.

El **Capítulo 2** está dedicado en su totalidad a la descripción de la metodología que nos va a permitir simular el flujo sanguíneo en determinados segmentos del árbol arterial. El capítulo se estructura en dos grandes bloques: en el primero de ellos se describen las diferentes técnicas empleadas para construir la geometría que se va a emplear como dominio computacional para simular la circulación del flujo sanguíneo. Así, se utilizarán técnicas de diseño asistido por ordenador o CAD para construir geometrías idealizadas y técnicas de segmentación de imagen médica para la reconstrucción precisa del árbol arterial coronario de pacientes reales. En la segunda parte del capítulo, se describen las ecuaciones gobernantes del flujo y las fuerzas actuantes sobre las partículas (células tumorales, glóbulos rojos y partículas portadoras de medicamento) que circulan en el seno del fluido.

En el **Capítulo 3** se realizan simulaciones numéricas del flujo sanguíneo en el interior de una bifurcación arterial coronaria con el objetivo de determinar qué zonas de la geometría son más propensas a la formación de placa aterosclerótica. Para ello, se estudian variables como el *wall shear stress* (WSS) o las áreas de recirculación y se analiza la influencia que tienen el ángulo de apertura de la bifurcación y el número de Reynolds en la aparición de zonas propensas a la deposición de placa. A su vez, se realizan experimentos *in vitro* para dar más robustez al estudio.

El **Capítulo 4** supone una continuación del Capítulo 3. En él se analiza la influencia que tienen determinadas características geométricas de las bifurcaciones, como la morfología del vértice, en la distribución del flujo y en la formación de zonas con bajo *wall shear stress* o tensión de cizallamiento (WSS) que pueden promover la deposición de placa aterosclerótica.

Una vez analizado el comportamiento de variables como el WSS o la velocidad en geometrías idealizadas, en el **Capítulo 5** se propone un estudio personalizado del flujo sanguíneo en el árbol coronario con el objetivo de evaluar el riesgo de cardiopatía isquémica o enfermedad coronaria. Este se trata de un estudio más complejo, no solo por la dificultad a la hora de extraer la geometría precisa en 3D del árbol coronario de cada paciente, sino porque requiere de la aplicación de

condiciones de contorno avanzadas para poder reproducir fielmente las condiciones de flujo real de la sangre. El parámetro que se va a emplear para determinar la severidad de la lesión va a ser la Reserva Fraccional de Flujo o FFR que es considerada hoy en día como el *gold standard*.

Las diferentes investigaciones llevadas a cabo en los Capítulos 3, 4 y 5 consideran la sangre como un fluido continuo. En este sentido, el **Capítulo 6** supone un cambio de enfoque ya que en él se estudia, además del comportamiento del fluido (plasma), la trayectoria de las diferentes partículas (fase discreta) que representan a las células tumorales circulantes (CTCs) que parten de un tumor primario y buscan regiones con unas condiciones físicas determinadas que les permitan poder interactuar con el endotelio, extravasar y desarrollar un nuevo tumor. La particularidad de la investigación llevada a cabo en este capítulo es que se estudia el comportamiento de las células tumorales en vasos de gran diámetro mientras que, en la literatura, el anidamiento de este tipo de células suele evaluarse en vasos con diámetro más cercano al de los capilares.

Finalmente, en el **Capítulo 7** se estudia la influencia que tiene la morfología y tamaño de las partículas portadoras de medicamento a la hora de que éstas alcancen de forma eficiente la zona objetivo sobre la que ha de actuar el fármaco. Para ello, se diseñan partículas de diferente morfología (esferas y cilindros con diferente *aspect ratio*) en escala micro y nano y se analiza su capacidad para alcanzar el endotelio (capacidad de migración). Es importante destacar que, en este capítulo, se considera la sangre como un sistema discreto, es decir, formada por un conjunto de glóbulos rojos que fluyen en el interior de un fluido (plasma) e interaccionan con las partículas portadoras de medicamento cuyo comportamiento se desea analizar.

La memoria concluye con las **Conclusiones** específicas de cada capítulo y con las conclusiones generales del presente trabajo.

Resumo

O desenvolvemento da presente memoria de Tese de Doutoramento céntrase na investigación das causas do desenvolvemento de diferentes patoloxías (cardíacas e tumorais) e no estudo da eficiencia de medicamentos encapsulados que circulan polo torrente sanguíneo e que poden ser de axuda á hora de minimizar ou eliminar os efectos perxudiciais das enfermidades anteriormente citadas. Toda esta investigación lévase a cabo mediante a aplicación de métodos computacionais e, polo tanto, non invasivos, grazas aos que é posible simular o fluxo sanguíneo e analizar un gran número de variables de interés clínico en diferentes áreas da árbore arterial sen ocasionar molestia algunha ao paciente e evitando, en moitos casos, a necesidade da realización de experimentos *in vitro* e *in vivo*.

Así pois, a presente memoria estrutúrase como segue: no **Capítulo 1**, de carácter introductorio, descríbense as características das diferentes enfermidades que se van a estudar ao longo do documento. Estas enfermidades van ser, fundamentalmente, de dous tipos: en primeiro lugar, enfermidades relacionadas co sistema circulatorio e, máis concretamente, coa circulación nas arterias coronarias como son a aterosclerose e a cardiopatía isquémica. En segundo lugar, estúdanse os mecanismos de desenvolvemento das enfermidades canceríxenas. Concretamente, o estudo que se propón neste documento centrarase na análise das traxectorias das células tumorais circulantes (CTCs) e na determinación daquelas zonas nas que é máis probable que se produza a súa interacción co endotelio podendo chegar a formar un novo tumor. Á súa vez, introdúcense tamén os avances en materia de partículas portadoras de medicamento e as características que definen a súa eficiencia á hora de combater enfermidades como as descritas anteriormente.

O **Capítulo 2** está adicado na súa totalidade á descrición da metodoloxía que nos vai permitir simular o fluxo sanguíneo en determinados segmentos da árbore arterial. O capítulo estrutúrase en dous grandes bloques: no primeiro deles, descríbense as diferentes técnicas empregadas para construír a xeometría que se vai empregar como dominio computacional para simular a circulación do fluxo sanguíneo. Así, empregáronse técnicas de deseño asistido por ordenador ou CAD para construír xeometrías idealizadas e técnicas de segmentación de imaxe médica para a reconstrución precisa da árbore arterial coronaria de pacientes reais. Na segunda parte do capítulo, descríbense as ecuacións gobernantes do fluxo e as forzas actuantes sobre as partículas (células tumorais, glóbulos vermellos e partículas portadoras de medicamento) que circulan no seo do fluído.

No **Capítulo 3** realízanse simulacións numéricas do fluxo sanguíneo no interior dunha bifurcación arterial coronaria co obxectivo de determinar que zonas da xeometría son máis propensas á formación de placa aterosclerótica. Para iso, estúdanse variables como o *wall shear stress* ou as áreas de recirculación e analízase a influencia que teñen o ángulo de apertura da bifurcación e o número de Reynolds na aparición de zonas propensas á deposición de placa. Á súa vez, realízanse experimentos *in vitro* para dar unha maior robustez ao estudo.

O **Capítulo 4** supón unha continuación do Capítulo 3. Nel analízase a influencia que teñen determinadas características xeométricas das bifurcacións, como a morfoloxía do vértice, na distribución do fluxo e na formación de zonas con baixo *wall shear stress* ou tensión de cizalla (WSS) que poden promover a deposición de placa aterosclerótica.

Unha vez analizado o comportamento de variables como o WSS ou a velocidade en xeometrías idealizadas, no **Capítulo 5** propónse un estudo personalizado do fluxo sanguíneo na árbore coronaria co obxectivo de avaliar o risco de cardiopatía isquémica ou enfermidade coronaria. Trátase este dun estudo máis complexo, non só pola dificultade á hora de extraer a xeometría precisa en 3D da árbore coronaria de cada paciente, senón porque require da aplicación de condicións de contorno avanzadas para poder reproducir fielmente as

condicións de fluxo reais do sangue. O parámetro que se vai empregar para determinar a severidade da lesión vai ser a Reserva Fraccional de Fluxo ou FFR que é considerada hoxe en día como o *gold standard*.

As diferentes investigacións levadas a cabo nos Capítulos 3, 4 e 5 consideran o sangue como un fluído continuo. Neste sentido, o **Capítulo 6** supón un cambio de enfoque xa que nel estúdase, ademáis do comportamento do fluído (plasma), a traxectoria das diferentes partículas (fase discreta) que representan ás células tumorais circulantes (CTCs) que parten dun tumor primario e buscan rexións cunhas condicións físicas determinadas que lles permitan poder interactuar co endotelio, extravasar e desenvolver un novo tumor. A particularidade da investigación levada a cabo neste capítulo é que se estuda o comportamento das células tumorais en vasos de gran diámetro mentras que, na literatura, a detención e adhesión deste tipo de células adoita avaliarse en vasos con diámetro máis cercano ao dos capilares.

Finalmente, no **Capítulo 7** estúdase a influencia que ten a morfoloxía e tamaño das partículas portadoras de medicamento á hora de que estas alcancen de forma eficiente a zona obxectivo sobre a que debe actuar o fármaco. Para iso, deséñanse partículas de diferente morfoloxía (esferas e cilindros con diferente *aspect ratio*) en escala micro e nano e analízase a súa capacidade para alcanzar o endotelio (capacidade de migración). É importante destacar que, neste capítulo, considérase o sangue como un sistema discreto, é dicir, formado por un conxunto de glóbulos vermellos que flúen no interior dun fluído (plasma) e interaccionan coas partículas portadoras de medicamento cuxo comportamento se desexa analizar.

A memoria conclúe coas **Conclusións** específicas de cada capítulo e coas conclusións xerais do presente traballo.

Objetivos

La aplicación de técnicas de dinámica de fluidos computacional (CFD) a la resolución de problemas físicos ha experimentado un gran crecimiento en los últimos años debido a las mejoras en la eficiencia de los equipos de computación y a las enormes posibilidades que ofrecen este tipo de metodologías. Concretamente, la medicina se presenta como uno de los campos que puede beneficiarse de manera más evidente de estos desarrollos dado que una gran parte de los procedimientos que se utilizan para diagnosticar enfermedades o conocer con detalle determinados procesos fisiológicos tienen carácter invasivo. Además, incluso aunque se trate de investigaciones *in vitro*, estas suelen ser más costosas y menos controlables que un proceso computacional. Por todo ello, el objetivo principal de la presente Tesis es la aplicación de técnicas CFD que permitan conocer en detalle los procesos físicos que condicionan el desarrollo de determinadas patologías, así como el estudio de la eficiencia de partículas portadoras de medicamento que pueden ayudar a tratar o minimizar sus efectos.

Así, el objetivo principal puede concretarse en los siguientes subobjetivos:

- Identificar las zonas del árbol coronario más propensas a la formación de placa aterosclerótica con el objetivo de facilitar la evaluación del riesgo coronario y ayudar en la toma de decisiones clínicas
- Definir una metodología no invasiva que permita el cálculo preciso de la reserva fraccional de flujo, considerado *gold standard* para el diagnóstico de la cardiopatía isquémica

- Analizar la hemodinámica particular de las bifurcaciones del árbol arterial que pueden favorecer la deposición y anidamiento de células tumorales
- Evaluar la eficiencia de micro y nanopartículas como portadores de medicamento en función de sus características físicas

En definitiva, realizar una validación exhaustiva de la adecuación de modelos matemáticos y métodos CFD para hacer predicciones relevantes en el ámbito médico.

Índice de Figuras

Figura 1.1. Estadísticas de mortalidad en los años 2019 y 2020. [INE]	1
Figura 1.2. A. División controlada de células normales. Para controlar su desarrollo y crecimiento desarrollan su propio programa de muerte celular (apoptosis). B. Reproducción descontrolada de las células tumorales Fuente: [Sociedad Española de Oncología Médica]	2
Figura 1.3. Formación y progresión del ateroma. En las fases iniciales (A-B) hay un aumento del tamaño de la arteria y en las fases finales (C-D) se produce la estenosis de la arteria.	4
Figura 2.1. Proceso de obtención de la geometría 3D utilizando un software de diseño CAD. A) Parametrización del círculo generador y de la línea que define una de las ramas de la bifurcación. B) Ejecución del barrido del círculo generador a lo largo de una de las trayectorias definidas en A.	18
Figura 2.2. Descripción del proceso de obtención de la geometría del paciente en 3D. El proceso comienza con la obtención de la imagen médica haciendo uso de un equipo de TAC para posteriormente establecer un nivel de umbral que permita reconocer las estructuras coronarias de interés. Finalmente, se obtiene la representación 3D de la geometría que será utilizada como dominio computacional.	19

Figura 2.3. A) Contorno del vaso sanguíneo en 2D. Se puede observar como el área ocupada por las calcificaciones queda excluida del dominio del vaso siendo el área encerrada por la curva la que se utilizará para la obtención de la geometría en 3D. B) Representación en 3D del segmento coronario delimitado en A).....20

Figura 2.4. Geometría 3D del árbol coronario después de realizar el proceso de suavizado.....21

Figura 2.5. Distribución de las distintas tipologías de elementos de malla en una sección transversal del dominio. Los elementos tetraédricos ocupan el centro de la geometría mientras que los hexaédricos se sitúan en las inmediaciones de las paredes ..22

Figura 2.6. A. CAD original del glóbulo rojo con forma bicóncava y B. CAD relleno con 200 esferas28

Figura 2.7. Modelización de la interacción entre partículas y de éstas con la pared arterial mediante un sistema que combina la acción de resortes y amortiguadores [*StarCCM+*].....29

Figura 3.1. Esquema general de la bifurcación analizada. El vaso madre da lugar a dos vasos hijo de igual diámetro. La región delimitada con rayas define el área de análisis de las variables35

Figura 3.2. Configuración típica de la malla utilizada en uno de los casos de estudio. Los elementos tetraédricos ocupan la parte central del vaso mientras que los hexaédricos se sitúan formando capas en las inmediaciones de las paredes.....36

Figura 3.3. Geometría de un pulso cardíaco en el cual se marcan las dos zonas de análisis.....38

- Figura 3.4.** Representación del módulo de la velocidad en la geometría (plano $z=0$). Se pueden observar claramente que las zonas de baja velocidad se dan en las paredes exteriores de la bifurcación. 39
- Figura 3.5.** Representación de las líneas de corriente en el interior de la bifurcación y del comportamiento del flujo en diferentes secciones transversales. **A.** Secciones transversales en la pared exterior de uno de los vasos hijo. **B.** Sección transversal en el tramo recto de a bifurcación en el que se observa una distribución de velocidades siguiendo la ley de Poiseuille.. 40
- Figura 3.6.** Canal embebido en una estructura de PDMS..... 41
- Figura 3.7.** Esquema general del setup experimental. Las dos bombas peristálticas se usan para bombear la ferroína y la solución de sacarosa desde sus respectivos reservorios. La mezcla de ambos fluidos tiene lugar en un adaptador en forma de Y que une los tubos que nacen en ambos reservorios y, después de eso, la mezcla entra en la geometría de PDMS que es iluminada por un LED. Es en ese punto donde el flujo es captado por la cámara. Finalmente la mezcla sale a un tercer reservorio. [1] Cámara CCD [2] Geometría de PDMS [3] LED [4] Reservorio (solución de sacarosa) [5] Bomba peristáltica [6] Reservorio (ferroína) [7] Reservorio (sacarosa + ferroína) 42
- Figura 3.8.** Evolución del colorante en el interior de la geometría. Se representa el valor medio de los grises en cada imagen considerada según la evolución del tiempo. 44
- Figura 3.9.** Evolución de la concentración del colorante (ferroína) en el canal desde su entrada (1) hasta el vaciado de la geometría (6) y representación del valor de gris en cada segundo del experimento 45

Figura 3.10. (A) Se representa en escala de color la distribución espacial de la solución de ferroína durante el período de descarga en el canal con ángulo de apertura de 25°. (B) Representación de los contornos de la pared (en rojo) y del área de recirculación (azul). El área dentro de la línea azul será el área usada para caracterizar la zona de baja velocidad. ...46

Figura 3.11. Comparación entre los datos obtenidos en la parte experimental y numérica para tres ángulos diferentes de bifurcación (25°, 90° y 120°). La primera columna (a, b, c) presenta mediante rango de colores la distribución espacial de la velocidad del flujo cuando la solución de sacarosa circula por el dispositivo a 27ml/min. La columna de la derecha (e, f, g) muestra el módulo de la velocidad del flujo considerando una velocidad de entrada de 0.2 m/s. Los paneles d y h representan las áreas de baja velocidad de todas las geometrías en los ensayos experimentales y numéricos respectivamente.48

Figura 3.12. (a) Evolución de la tensión de cizallamiento (WSS) a lo largo de la pared exterior de la bifurcación para diferentes ángulos de apertura. $\sigma_{\infty}=1.55$ Pa. (b) Mínimo valor de WSS en función del ángulo de apertura α . (c) Evolución del ángulo crítico en función del número de Reynolds (Re).....50

Figura 3.13. Representación los vectores de velocidad con dirección positiva51

Figura 3.14. Máximo valor de velocidad negativa para diferentes valores α de ángulos de apertura y para diferentes valores de velocidad de entrada (0.1m/s, 0.2m/s, 0.3m/s).....51

Figura 3.15. Mínimo valor de WSS en función del ángulo de bifurcación para dos instantes del pulso. La línea continua muestra el comportamiento de σ_{\min} en el instante P1 (sístole) mientras que su valor para cada ángulo en P2 se representa mediante una línea discontinua53

- Figura 4.1.** Esquema general de una bifurcación simétrica. Los valores mínimos de *wall shear stress* se localizan justo después de que el vaso principal se bifurque en dos. R_o es el radio de curvatura de la pared exterior y R_v es el radio de curvatura del vértice o de la pared que conecta los dos vasos hijo..... 59
- Figura 4.2.** Esquema general de las bifurcaciones asimétricas. Valores mínimos de *wall shear stress* (WSS) se localizan típicamente en la pared exterior del vaso lateral y en el vaso principal justo después de la bifurcación (áreas marcadas con líneas discontinuas) Los parámetros de control son el ángulo (α) y los diferentes diámetros de los vasos considerados 60
- Figura 4.3. a)** Malla en la geometría con ángulo de apertura $\alpha = 60^\circ$ **b)** Detalle de la distribución de los elementos de la malla en el interior de la geometría. Los elementos poliédricos conforman la parte central de la geometría mientras que el refinamiento se aplica cerca de la pared..... 61
- Figura 4.4.** Efecto del radio de curvatura (R_v y R_o) en la distribución del WSS en una bifurcación simétrica. (a) $R_v=2$ y $R_o=0$ mm. (b) $R_v=6$ mm and $R_o=0$ mm. (c) $R_v=10$ mm and $R_o=0$ mm. (d) Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_v ($R_o=0$ mm). (e) $R_v=0$ mm y $R_o=2$ mm. (f) $R_v=0$ mm and $R_o=6$ mm. (g) $R_v=0$ mm y $R_o=10$ mm. (h) Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_o ($R_v=0$ mm) 64
- Figura 4.5.** Perfil de velocidad de un pulso cardíaco de 0.81 segundos de período 65
- Figura 4.6.** Área con bajo WSS (menos de 1Pa) en función del radio de curvatura en la pared exterior y en el vértice 66
- Figura 4.7.** Área de deposición (A_{depos}) frente a **A.** Radio de curvatura R_v (con $R_o=0$ mm) y **B.** Radio de curvatura R_o (con $R_v=0$ mm) para diferentes valores del número de Reynolds (Re). El resto

de los parámetros del modelo se mantienen como en las simulaciones previas.....67

Figura 4.8. Variación del área de deposición (A_{depos}) con los dos radios de curvatura en la bifurcación (R_v y R_o) para tres valores diferentes de número de Reynolds; A. $Re=106$, B. $Re=265$ y C. $Re=371$68

Figura 4.9. Variaciones de los valores mínimos de WSS en A. tramo distal del vaso y B. vaso lateral considerando diferentes ángulos y diámetros (D_2). Las geometrías cuyos valores mínimos de WSS están en la región coloreada de marrón son más propensos a la formación de placa70

Figura 4.10. Variación de los valores mínimos de WSS **A.** en el tramo distal del vaso principal o vaso madre y **B.** en el vaso lateral considerando diferentes ángulos y diámetros. Las geometrías cuyos valores mínimos de WSS están coloreados en marrón son más propensos a la formación de placa.72

Figura 4.11. Efecto del radio de curvatura (R_v y R_o) en la distribución del WSS en una bifurcación asimétrica. **(a)** $R_v=2$ y $R_o=0$ mm. **(b)** $R_v=6$ mm and $R_o=0$ mm. **(c)** $R_v=10$ mm and $R_o=0$ mm. **(d)** Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_v ($R_o=0$ mm). **(e)** $R_v=0$ mm y $R_o=2$ mm. **(f)** $R_v=0$ mm and $R_o=6$ mm. **(g)** $R_v=0$ mm y $R_o=10$ mm. **(h)** Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_o ($R_v=0$ mm).....74

Figura 5.1. Configuración de malla para el árbol coronario y detalle para la aorta y una de las arterias81

Figura 5.2. Pulso de presión utilizado como condición de entrada en la aorta.....82

- Figura 5.3.** Analogía eléctrica para el modelo de Windkessel de tres parámetros. $P(t)$ es la presión dependiente del tiempo, $Q(t)$ es el caudal dependiente del tiempo, C es la capacitancia y R_p y R_d son las resistencias proximal y distal respectivamente. ... 84
- Figura 5.4.** Representación de las líneas de corriente en una geometría coronaria. **A.** Recirculación generada aguas abajo de una estenosis en la arteria LAD. **B.** Recirculación originada en el ostium, unión entre las arterias LMS y aorta. 86
- Figura 5.5.** Representación del FFRct calculado para el árbol coronario de dos pacientes en condiciones de hipermia y en régimen estacionario. La columna de la izquierda muestra el FFRct para todo el árbol coronario donde se indican algunos valores representativos. La columna de la derecha se centra en estudiar la distribución de los diferentes valores de FFRct en la rama donde se ubica la lesión 88
- Figura 5.6.** Correlación entre el FFR medido de forma invasiva y el FFR calculado utilizando métodos computacionales (FFRct) 89
- Figura 5.7.** Error entre las mediciones invasivas y computacionales. 90
- Figura 5.8.** Zona de cálculo de $\Delta FFRct$ para uno de los pacientes analizados..... 92
- Figura 6.1.** Esquema general de la bifurcación en forma de Y 99
- Figura 6.2.** Medidas experimentales de la viscosidad de los fluidos en función del shear rate. Estas viscosidades se miden utilizando un reómetro Anton Paar MCR 102. 102
- Figura 6.3.** A) Distribución espacial de las partículas en la sección transversal del vaso principal. Las partículas con mayor

velocidad se ubican en el centro del canal mientras que las que circulan cerca de la pared lo hacen con velocidades menores.

B) Descripción de las líneas de corriente en la bifurcación103

Figura 6.4. Deposición y anidamiento de las células tumorales en zonas próximas al vértice de la bifurcación observadas en un canal de PDMS105

Figura 6.5. A. Mapa de color de la distribución de áreas de baja velocidad alrededor del vértice en función del ángulo de la bifurcación. **B.** Imagen tomada con un microscopio de fluorescencia en el cual se observa la deposición de CTCs en la zona de la carina y la morfología del vértice.....106

Figura 6.6. Representación numérica de las áreas de baja velocidad en la carina de bifurcaciones de con vasos de gran diámetro en función del flujo y considerando FBS como fluido en circulación. La escala de colores representa la velocidad del flujo en mm/s en las diferentes áreas de la bifurcación; la línea negra punteada marca el límite del área de baja velocidad alcanzada considerando la condición de flujo estándar (3 ml/min). Se observan resultados similares cuando se utilizan como medio otros fluidos como medio de cultivo sin FBS y metilcelulosa.....107

Figura 6.7. Representación del valor medio del *wall shear stress* (WSS) analizado en la carina de la bifurcación en función del caudal. El *wall shear stress* es una fuerza que actúa tangencialmente a la superficie de los microcanales y que, como puede observarse, se incrementa con el caudal introducido en la geometría.....107

Figura 6.8. A. Células tumorales circulantes (en rojo) adheridas a la monocapa de células endoteliales (en verde) en las inmediaciones de la carina. **B.** CTCs (marcadas en verde) profundidas en la vasculatura del ratón (los vasos sanguíneos

se marcan en color rojo) que ilustra la detención de las CTCs en la carina de las bifurcaciones de los vasos sanguíneos (ver punta de la flecha) en un modelo preclínico *in vivo* 109

Figura 6.9. Células MDA-MB-231 marcadas con GFP embebidas en tres tipos diferentes de fluidos: medio de cultivo (paneles superiores), 0.5% Methylcellulose (paneles intermedios) FBS (suero fetal bovino) (paneles inferiores). A medida que la viscosidad del medio aumenta, se incrementa el anidamiento de las células en las zonas de baja velocidad..... 110

Figura 6.10. Representación numérica de las áreas de baja velocidad en la carina de las bifurcaciones en función de la viscosidad del medio. Los recuadros corresponden a la representación gráfica de las áreas de baja velocidad a diferentes valores de viscosidad que muestran que el área de baja velocidad aumenta a medida que aumenta la viscosidad de los tres medios (1* medio de cultivo, 2*FBS, 3*metilcelulosa 0.5%). 111

Figura 7.1. Esquema general de vaso sanguíneo. Las partículas se inyectan en la misma dirección del flujo de derecha a izquierda. La placa reduce el 50% del calibre del vaso, lo que causa un incremento de la velocidad del flujo en el estrechamiento. 115

Figura 7.2. Esquema de la bifurcación arterial. La bifurcación arterial fue modelada como un vaso madre de 50 μ m de diámetro y un vaso hijo de 20 μ m de diámetro. En ángulo es igual a 60°. 116

Figura 7.3. Composición de la sangre en la que los glóbulos rojos suponen entre el 35%-50% de su volumen 118

Figura 7.4. Forma y parámetro de forma (*aspect ratio*) de las partículas utilizadas como portadoras de medicamento 119

- Figura 7.5.** Representación de las trayectorias de partículas portadoras de medicamento. **A.** Dirección de migración de las partículas una vez cruzan la estenosis. **B.** Región central del canal ocupada por las partículas que cruzan la estenosis por la sección central. ‘d’ es la distancia a la estenosis a la cual chocan las partículas con el endotelio 121
- Figura 7.6.** Glóbulos rojos y micropartículas (forma discoidal) fluyendo a través de una estenosis. Se puede observar la migración lateral de las partículas (en amarillo) 121
- Figura 7.7.** Las nanopartículas con forma de disco, con un *aspect ratio* bajo, llegan antes a la pared mientras que las nanopartículas con forma esférica no llegan a tocarla, mostrando una menor eficacia como portador de fármacos para el caso estudiado. En general, las micropartículas migran de manera más eficiente que las nanopartículas. 122
- Figura 7.8.** Trayectorias (en color rosa) de las partículas portadoras de medicamento (esferas y cilindros 3/2). En azul se representan los eritrocitos. Mientras los cilindros 3/2 muestran un comportamiento similar en escala nano y micro, las esferas se comportan de manera muy diferente manteniéndose en el centro del canal en el caso nano y aumentando su capacidad de migración a medida que aumenta su tamaño 123
- Figura 7.9.** Distribución en la pared aguas abajo de la estenosis de cilindros con relación de aspecto 3/2 (en escala micro y nano) considerando tres niveles diferentes de hematocrito. a) Bajo hematocrito (5%Hc) b) Hematocrito normal (30%Hc) c) Alto hematocrito (65%) 125
- Figura 7.10.** Se muestra el % de micropartículas que salen de la geometría por el brazo lateral o vaso secundario de acuerdo con el tipo de partícula. 126

Índice de tablas

Tabla 3.1. Análisis de diferentes mallas (M1, M2, M3) en la geometría con ángulo de apertura 60° considerando como variables las zonas de baja velocidad y el valor máximo de la velocidad en la geometría.....	37
Tabla 3.2. Características de los fluidos empleados para realizar el análisis experimental y numérico y los valores para la sangre real.	43
Tabla 4.1. Análisis de independencia de malla. Las variables de control son la velocidad y los valores de WSS para diferentes configuraciones de malla en el caso asimétrico ($D_1 = D_3 = 2\text{mm}$; $D_2 = 1\text{mm}$, $\alpha = 20^\circ$). Se realiza un análisis equivalente para todas las otras configuraciones consideradas con resultados similares (error inferior al 5% en todos los casos)	62
Tabla 5.1. Características de los pacientes y enfermedades previas: HT (hipertensión), DM (diabetes mellitus), DLP (dislipidemia), PAD (enfermedad arterial periférica).	79
Tabla 5.2. Se calculan los valores de FFRct para diferentes mallas (M1, M2, M3) y los errores cometidos para cada una de ellas con respecto a una de referencia	80

Tabla 5.3. Medición del FFR de forma invasiva para 18 pacientes y 24 lesiones diferentes. Los resultados se comparan con el FFRct obtenido siguiendo dos esquemas de simulación diferentes (estacionario y transitorio) y el error se calcula entre el FFRct en condiciones de hiperemia y el FFR invasivo. Otros valores de interés clínico como el WSS, HSR, BSR y ΔFFRct se analizan también para cada paciente94

Tabla 5.4. Coeficientes de correlación de Spearman (ρ) y R2 para los 5 parámetros calculados en comparación con el FFR invasivo95

Tabla 6.1. Detalles de diferentes mallas usadas para discretizar el dominio físico de una bifurcación de 90° con vértice en forma de pico. Los valores obtenidos para las variables en las mallas 2 y 3 (M2 y M3) se comparan con aquellos obtenidos para la malla 1 (M1) con el objetivo de estimar el porcentaje de variación en caso de considerar una u otra malla.99

Tabla 6.2. Detalles de las diferentes mallas usadas para discretizar el dominio físico de la bifurcación con un ángulo de apertura de 90° y vértice redondeado 100

Tabla 6.3. Valores de densidad y viscosidad de los diferentes medios utilizados en los experimentos y en las simulaciones numéricas.....102

Abreviaturas

CAD	Computer Aided Design
CFD	Computer Fluid Dynamics
CTC	Circulating Tumour Cell
CTCA	Computed Tomography Coronary Angiography
DBP	Diastolic Blood Pressure
DEM	Discrete Element Method
DLP	Dislipidemia
DM	Diabetes Mellitus
GFP	Green Fluorescent Protein
FBS	Foetal Bovine Serum
FDA	Food and Drug Administration
FFR	Fractional Flow Reserve
FFRct	Computational Fractional Flow Reserve
Hc	Hematocrito
HT	Hipertensión
ICA	Internal Coronary Angiography
IVUS	IntraVascular UltraSound
LAD	Left Anterior Descending artery
LCx	Left Circumflex artery
LDL	Low-Density Lipoprotein
LMS	Left Main Stem
MAP	Mean Arterial Pressure
OSI	Oscillatory Shear Index
PAD	Enfermedad Arterial Periférica
PET	Positron Emission Tomography
RBC	Red Blood Cell
RCA	Right Coronary Artery
R _d	Resistencia distal

Abreviaturas

R_o	Radio de las paredes exteriores
R_p	Resistencia Proximal
R_v	Radio del vértice
SBP	Systolic Blood Pressure
SPECT	Single-Photon Emission Computerized Tomography
SR	Stenoses Resistance
TAC	Tomografía Axial Computarizada
TAWSS	Time-Averaged Wall Shear Stress
WSS	Wall Shear Stress

Listado de Publicaciones y Patentes

Para la elaboración de esta Tesis se ha utilizado contenido que forma parte de los siguientes artículos en los que he participado como autor o coautor:

- *Otero-Cacho, A., Aymerich, M., Flores-Arias, M. T., Abal, M., Álvarez, E., Pérez-Muñuzuri, V., & Muñuzuri, A. P. (2018). Determination of hemodynamic risk for vascular disease in planar artery bifurcations. Scientific reports, 8(1), 1-7.*

Impact Factor: 4.239 (2018)

Quartile: Q1

Contribución: Diseño y ejecución de las simulaciones numéricas, diseño de los experimentos, discusión y redacción del documento.

- *Casas-Arozamena, C., Otero-Cacho, A., Carnero, B. et al. Haemodynamic-dependent arrest of circulating tumour cells at large blood vessel bifurcations as new model for metastasis. Sci Rep 11, 23231 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02482-x>*

Impact Factor: 4.13 (2020)

Quartile: Q1

Contribución: Conceptualización, diseño de los experimentos, definición del modelo matemático y simulación numérica y adquisición y análisis de datos, discusión y redacción del documento.

- *Otero-Cacho, A., Muñuzuri, A.P. The geometry of coronary artery bifurcations and its role in plaque formation. Status: Accepted (2021)*
- *Otero-Cacho, A., López-Otero, D., García-Campos, A., Pérez-Muñuzuri, V., Muñuzuri, A.P., and González-Juanatey, R. Non-invasive assessment of coronary lesions by computer tomography fractional Flow reserve compared to the invasive technique under hyperaemic and basal conditions. Status: Submitted (2021)*

Declaro ser autor o coautor de los dos artículos anteriormente mencionados y ciertas las contribuciones asociadas a cada publicación.

Declaro estar autorizado a utilizar su contenido por ser una publicación de acceso abierto como se puede comprobar en los siguientes enlaces (ver Anexo):

- <https://www.nature.com/articles/s41598-018-21126-1>
- <https://www.nature.com/articles/s41598-021-02482-x>

El siguiente artículo se deriva de la investigación de la presente Tesis pero no se incluye como parte del manuscrito:

- *Muñuzuri, A.P., Otero-Cacho, A., Mira, J. Ventilation time recommendation system incorporating local meteorological data Status: Submitted (2021)*

El proyecto de investigación contenido en esta tesis ha dado lugar a la solicitud de la siguiente patente:

- *EP20383157.3 “Método no invasivo para determinar un indicador de daño vascular” [FlowReserve Labs S.L., Universidade de Santiago, Servizo Galego de Saúde (SERGAS)]. Autores: Otero-Cacho, A., López-Otero, D., García-Campos, A., Pérez-Muñuzuri, V., P. Muñuzuri, A., González-Juanatey*

Contribuciones a Congresos

- A. Otero-Cacho, M. Aymerich, M. Abal, C. Bao-Varela, E. Álvarez, M. T. Flores-Arias, J. Guiu-Souto, A. P. Muñuzuri, and V. Pérez-Muñuzuri, Prediction of atherosclerosis risk from a numerical investigation of blood flow in models of coronary artery bifurcations, *Global Engage 2nd Microfluidic Congress*, 20-21 Octubre 2016, Londres (Reino Unido).
- A. Otero-Cacho, M. Aymerich, M. T. Flores-Arias, E. Álvarez, A. P. Muñuzuri, and V. Pérez-Muñuzuri, Experimental validation of numerical models for atherosclerosis risk prediction using preclinical devices fabricated with laser, *X Reunión Nacional de Optoelectrónica (OPTOEL17)*, 12-14 Julio 2017, Santiago de Compostela (España).
- A. Otero-Cacho, P. Taboada, Alberto P. Muñuzuri y Vicente Pérez-Muñuzuri, Hemodynamics guided microparticles for drug delivery in atherosclerosis lesions, 15th Experimental Chaos and Complexity Conference, 4-7 Junio 2018, Madrid (España)
- A. Otero-Cacho, M. Aymerich, M. T. Flores-Arias, M. Abal, E. Álvarez, P. Taboada, A. P. Muñuzuri, and V. Pérez-Muñuzuri, Experimental and CFD numerical simulations of stenosis and atherosclerosis occurring in vessel branches, *SelectBio Lab-on-a-chip and Microfluidics Europe*, 5-6 Junio 2018, Rotterdam (Holanda).

- A. Otero-Cacho, M. Aymerich, M. T. Flores-Arias, M. Abal, E. Álvarez, P. Taboada, A. P. Muñuzuri, and V. Pérez- Muñuzuri, Experimental and CFD numerical simulations of stenosis and atherosclerosis occurring in vessel branches, *11th European Conference on Mathematical and Theoretical Biology*, 23-27 Julio 2018, Lisboa (Portugal).
- Alberto P. Munuzuri, A Otero-Cacho, M. Aymerich, M.T. Flores-Arias, M. Abal, E. Alvarez, V. Perez-Munuzuri. In-vitro and in-silica determination of hemodynamic properties and their influence in cardiovascular pathologies, *Conference on Complex Systems* 23-28 Septiembre 2018, Tesalónica (Grecia)
- A. Otero-Cacho, María Aymerich, M. Teresa Flores-Arias, Ezequiel Álvarez, Vicente Pérez-Muñuzuri y Alberto P. Muñuzuri, Prediction of atherosclerosis risk from a numerical and experimental investigation of blood Flow in vessel branches, XXII Congreso de Fídica Estadística (FisEs'18), 18-20 Octubre 2018, Madrid (España)

Capítulo 1

INTRODUCCIÓN

1.1. MOTIVACIÓN

Según los datos del Instituto Nacional de Estadística de 2020, la principal causa de muerte en España está vinculada con enfermedades relacionadas con el sistema circulatorio, cardiopatía isquémica y enfermedades cerebrovasculares siendo seguida muy de cerca por las enfermedades tumorales.

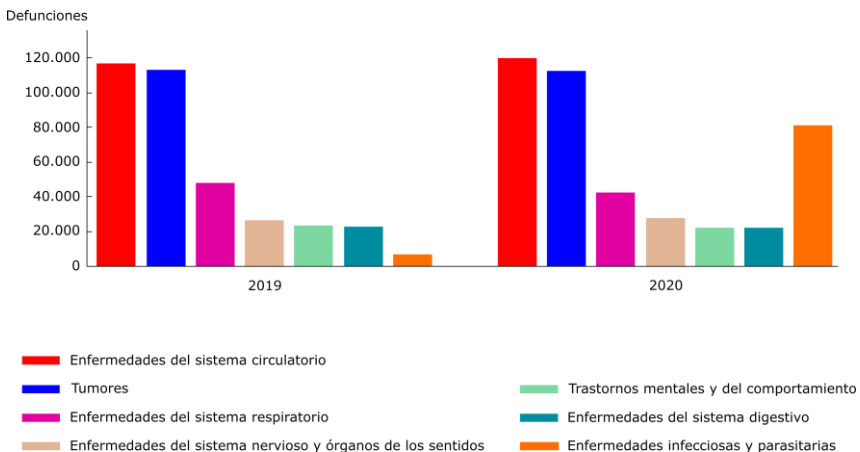


Figura 1.1. Estadísticas de mortalidad en los años 2019 y 2020. [INE]

De entre las enfermedades cardiovasculares destaca la aterosclerosis, que es una enfermedad sistémica y progresiva que afecta sobre todo a arterias de mediano y gran calibre. Esta enfermedad tiene una distribución desigual a lo largo del árbol coronario y un grado de progresión diferente en función de su localización. Se trata de un proceso inflamatorio crónico que afecta a las arterias y que se caracteriza por el engrosamiento de la capa íntima y media con pérdida de elasticidad y provocando, en estados avanzados, una reducción en el calibre interno del vaso sanguíneo afectado [Lahoz *et al*, 2007]. Sus manifestaciones clínicas dependen del lecho vascular afectado. Así, en el cerebro aparece clínicamente como un accidente coronario agudo mientras que en el corazón se manifiesta por la aparición del síndrome coronario agudo, infarto agudo de miocardio o muerte súbita.

Como se mencionaba con anterioridad, las enfermedades tumorales son la segunda causa de muerte en nuestro país acercándose en incidencia, en los últimos años, a las enfermedades del sistema circulatorio.

Las enfermedades tumorales tienen su origen en la división anómala de determinadas células del organismo. Mientras las células normales se dividen y mueren en un determinado período de tiempo, las células tumorales pierden la capacidad de morir y continúan su división sin control pudiendo llegar a formar unas masas denominadas tumores, cuya expansión puede llegar a eliminar tejidos normales.

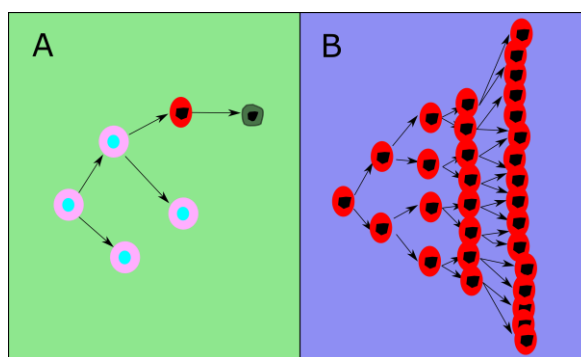


Figura 1.2. A. División controlada de células normales. Para controlar su desarrollo y crecimiento desarrollan su propio programa de muerte celular (apoptosis). B. Reproducción descontrolada de las células tumorales Fuente: [Sociedad Española de Oncología Médica]

Cuando las células tumorales se separan del tumor primario son capaces de viajar a través del torrente sanguíneo formando nuevos tumores en segmentos distales del sistema circulatorio. Estos nuevos tumores, denominados metastásicos, se forman cuando las células tumorales circulantes alcanzan una estructura singular en el torrente sanguíneo y se detienen. Dicha detención se traduce en un mayor tiempo de residencia en la zona afectada lo que favorece la extravasación y la formación de un nuevo tumor.

Es habitual, en la práctica clínica, que los procesos de detección de enfermedades cardíacas y cancerígenas y el ensayo de posibles tratamientos se realice de forma invasiva, con la consiguiente molestia para el paciente y los riesgos y costes asociados a este tipo de procedimientos. En los últimos años, gracias a la mejora y desarrollo de equipos de supercomputación, es posible realizar un análisis de flujo utilizando métodos computacionales con los que se puede extraer una gran cantidad de información ocasionando una mínima molestia al paciente. Es en estos procesos numéricos y en su aplicación directa a patologías de pacientes donde se centra el desarrollo de la presente Tesis. Así, el objetivo principal de la misma es la investigación de las causas del desarrollo de estas patologías y el estudio de la eficiencia de medicamentos que puedan minimizar o eliminar los efectos perjudiciales sobre el organismo, buscando alternativas no invasivas que permitan evaluar el estadio de la enfermedad de forma singularizada causando la menor afectación posible al paciente. Para alcanzar este objetivo, la Tesis se estructura como sigue: en una primera parte, se considera la sangre como un fluido continuo y, empezando por estructuras coronarias sencillas, se va aumentando la complejidad hasta llegar a modelos realistas de aplicación en medicina personalizada. A continuación, se introduce un mayor grado de complejidad en el sistema considerando, por un lado, el transporte de partículas y su aplicación al transporte y anidamiento de células cancerígenas y, por otro, el transporte de partículas con medicamento dirigidas a zonas específicas del árbol coronario aprovechando sus propiedades aerodinámicas.

1.2. ANÁLISIS DEL FLUJO SANGUÍNEO

Las enfermedades cardiovasculares, especialmente las de etiología isquémica, son las principales causas de muerte en humanos [Murray *et al.*, (2016)]. La aterosclerosis es una enfermedad inflamatoria crónica y sistémica de los vasos arteriales caracterizada por la formación de lesiones de la capa íntima de los vasos sanguíneos (placas ateroscleróticas). La progresión de estas lesiones provoca, en su fase final, un estrechamiento o reducción del calibre de la arteria provocando cambios en el comportamiento del flujo sanguíneo (Figura 1.3).

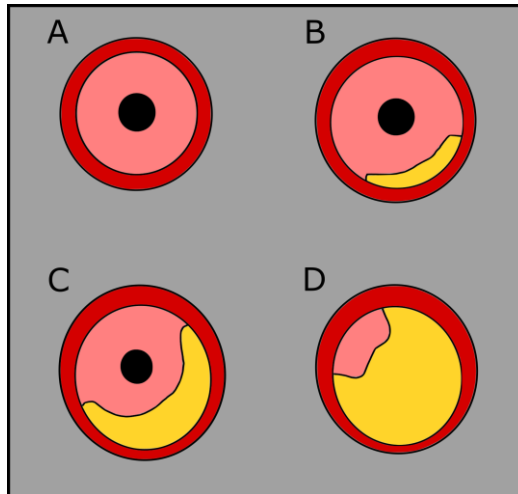


Figura 1.3. Formación y progresión del ateroma. En las fases iniciales (A-B) hay un aumento del tamaño de la arteria y en las fases finales (C-D) se produce la estenosis de la arteria.

Los principales factores que intervienen en la formación de placa son factores hemodinámicos, factores biológicos y factores sistémicos de riesgo. A pesar de que todo el árbol arterial está expuesto a factores de riesgo sistémicos conocidos como, por ejemplo, la hipercolesterolemia, hipertensión o diabetes, el desarrollo de placas ateroscleróticas se produce en áreas geoméricamente predisuestas, como en las proximidades en la pared exterior de las bifurcaciones y la pared interior de zonas de curvatura pronunciada, que se caracterizan

por ser zonas de bajo esfuerzo cortante (WSS), turbulencia y/o flujo oscilante [Oviedo *et al.*, (2010); Estehardi *et al.*, (2012); Asakura *et al.*, (1990)].

Los factores hemodinámicos regulan múltiples aspectos de la biología y fisiología vascular [Ku *et al.* (1985); Langille and O'Donell (1986)], juegan un papel clave en la homeostasis vascular y, como consecuencia, en el desarrollo de problemas vasculares como la aterosclerosis, aneurismas [Cebal *et al.*, (2015)] o estenosis [Zhang *et al.*, (2012)].

Las bifurcaciones arteriales exhiben un microentorno hemodinámico local intrínsecamente complejo, que posteriormente impacta en la localización, progresión y resultados clínicos de la formación de placa y sedimentación de partículas [Asakura *et al.* (1990); Tropea (1997)]. Después de la bifurcación, el perfil de velocidad cambia y se produce una separación del flujo al entrar en el vaso secundario desprendiéndose de la superficie del vaso sanguíneo. Es difícil decir si los parámetros hemodinámicos son en sí mismos causantes de la enfermedad, pero sí contribuyen al desarrollo de las lesiones, interactuando con los otros factores involucrados [Vanderlaan *et al.*, (2004)]. Además, una determinada bifurcación puede variar su morfología debido a una intervención, por ejemplo, después del implante de un stent [Ungvári *et al.*, (2009), Eom *et al.*, (2016)] lo que aumenta la casuística en el análisis de aquellas zonas más propensas a la formación de placa.

Es bien sabido que la circulación coronaria consta de dos o tres ramas principales. El lado derecho del corazón es alimentado por la arteria coronaria derecha (RCA) mientras que el lado izquierdo es alimentado por (1) la arteria coronaria principal izquierda (LMS), que se bifurca en la arteria descendente anterior izquierda (LAD) y en la circunfleja izquierda (LCx) o (2) la LAD y LCx cuando provienen directamente de la aorta. De todas las bifurcaciones en la circulación coronaria, las bifurcaciones LMS-LAD-LCx son las más afectadas por la enfermedad [Morbiducci *et al.*, (2016)] y la mayoría de las intervenciones coronarias percutáneas afectan a esta bifurcación del LMS en las dos ramas (LCx y LAD). De hecho, existe una gran variedad de ángulos que caracterizan esta bifurcación y su importancia

ha sido analizada en trabajos anteriores [*Chaichana et al., (2011)*; *Dong et al., (2015)*]. Dada su importancia, el estudio de esta bifurcación va a ser una parte importante de la presente Tesis.

De todas las fuerzas hemodinámicas locales, el *wall shear stress* o esfuerzo cortante (WSS) en el endotelio es la más ampliamente reconocida por su papel fundamental en la aterosclerosis [*Vergallo et al., (2014)*; *Koskinas et al., (2010)*, *LaBarbera (1990)*; *Malek et al. (1999)*]. El WSS se define como la fuerza de fricción ejercida en la pared del vaso por el flujo de sangre y es bien sabido que las zonas con bajo WSS son más propensas a la formación de placa [*Okano and Yoshida, (1994)*; *Shaaban and Duerinckx, (2000)*]. De hecho, uno de los datos más interesantes que relacionan un valor bajo de esfuerzo cortante con la ubicación de las lesiones vasculares, es la observación de que, dentro de una sección transversal determinada de un sitio susceptible de desarrollar aterosclerosis, la lesión inicial casi siempre se distribuye de forma excéntrica de acuerdo con el esfuerzo cortante predicho.

Existen diferentes formas de medir el WSS y diferentes criterios a la hora de caracterizar esas áreas que potencialmente pueden estar afectadas por aterosclerosis. Uno de esos métodos se basa en el cálculo del valor mínimo de WSS [*Otero-Cacho et al., (2018)*; *Bonert et al., (2003)*]. Otra forma de identificar esas áreas de mayor probabilidad de desarrollo de aterosclerosis es fijando un valor de WSS por debajo del cual se considera que la deposición de partículas que dan lugar a la placa aterosclerótica es más probable, siendo este valor bastante variable. Mientras algunos estudios lo fijan en 0.4 Pa [*Malek et al. (1999)*], otros consideran que la deposición tiene lugar cuando el valor de WSS no excede de 1 Pa [*Bajraktari et al., (2020)*] o 1.26 Pa [*Mongrain and Rodés-Cabau, (2006)*].

Debido al gran desarrollo que se ha producido en las técnicas de computación en las últimas dos décadas y a la dificultad de evaluar aspectos relativos al flujo coronario *in vivo* como, por ejemplo, la formación de placa o el correcto funcionamiento de stents, han aparecido diversos estudios que analizan estos parámetros con la ayuda de métodos computacionales [*Ladisa et al., (2003)*; *Rajamohan, et al., (2006)*]. La mayor parte de estos estudios, con el objetivo de facilitar el

cálculo y evitar artefactos que puedan hacer divergir la simulación, tienen dos aspectos en común: (1) se realizan considerando un vaso de paredes rígidas con lo que aspectos físicos y mecánicos del vaso (como la elasticidad o el espesor de pared) no son tenidos en cuenta a la hora de realizar la simulación numérica y (2) se consideran geometrías idealizadas del segmento coronario a analizar por lo que no se tiene en cuenta la componente geométrica particular de cada paciente. A pesar de que este tipo de estudios simplifican la geometría y obvian, en parte, la componente geométrica y fisiológica de cada paciente, siguen siendo de gran interés ya que permiten analizar con gran rapidez y precisión el comportamiento y distribución general de parámetros de interés clínico, así como sacar conclusiones generales al respecto. Otros trabajos, sin embargo, van un paso más allá y hacen simulación numérica del flujo coronario a partir de geometrías reales del paciente (a partir de imágenes obtenidas mediante aparatos de Tomografía Axial Computarizada o TAC). En estos trabajos se analizan con frecuencia parámetros clínicos como el ya mencionado esfuerzo cortante en la pared (WSS) o la reserva fraccional de flujo (FFR) pudiendo, de este modo, sacar conclusiones y realizar un diagnóstico personalizado para cada paciente [Nørgaard *et al.*, (2014)]. Este diagnóstico personalizado es de especial interés en el caso de la cardiopatía isquémica.

La cardiopatía isquémica es una afección prevalente que causa una morbilidad y mortalidad significativas en los países desarrollados. Según las guías clínicas, las estenosis de las arterias coronarias epicárdicas son lesiones susceptibles de ser revascularizadas cuando causan isquemia significativa o síntomas intratables [Windecker *et al.*, (2019)]. La estenosis de la arteria coronaria puede evaluarse anatómica o funcionalmente. La angiografía coronaria por tomografía computarizada (CTCA) y la angiografía coronaria invasiva (ICA) proporcionan información anatómica pero no proporcionan una evaluación funcional sobre el efecto de la estenosis en el suministro de oxígeno al miocardio. Esta información puede evaluarse mediante pruebas de esfuerzo funcionales no invasivas o durante la ICA (*Invasive Coronary Angiography*) mediante la evaluación de la reserva fraccional de flujo coronario (FFR), considerada hoy en día como *gold standard*. En el contexto del síndrome coronario agudo de alto riesgo se debe

realizar una valoración invasiva para proceder al tratamiento intervencionista lo antes posible [Baluja et al., (2020)]. Por otro lado, en el contexto de los síndromes coronarios crónicos, se aconseja una evaluación adicional antes de solicitar un procedimiento invasivo [Alvarez-Alvarez et al., (2020)], colocación de un stent o un bypass. La información funcional ha ido ganando importancia a medida que obtenemos evidencia de mejores resultados de la revascularización guiada por pruebas funcionales y, en particular, por el FFR [Bermejo et al., (2018); Pijls et al., (1996)].

A pesar de la utilidad de la evaluación de la lesión coronaria por técnica de FFR, este método tiene grandes desventajas. Entre estas desventajas, destacan la necesidad de administrar medicación al paciente, el uso de quirófano, la hospitalización del paciente, el riesgo de ictus por desprendimiento de placa y los recursos de personal clínico especializado necesarios para llevar a cabo el proceso. Además del FFR, se pueden utilizar otro tipo de variables para evaluar el riesgo coronario. El *wall shear stress* promediado en el tiempo (TAWSS) y el índice de esfuerzo cortante oscilatorio (OSI) son bien conocidos como parámetros de riesgo primarios para la caracterización del desarrollo y progresión de la aterosclerosis [Fung., (1997); Caro et al., (1971), Ku et al. (1985)] que puede conducir a varios tipos de estenosis coronaria [Lefèvre et al., (2000)]. Estudios recientes han descubierto que un TAWSS bajo (≤ 4 dinas/cm²) y un OSI alto ($\geq 0,15$) son factores de riesgo para el fenotipo propenso a la rotura, que puede estar relacionado con la acumulación de lípidos y la infiltración de células inflamatorias en la íntima [Koskinas et al., (2009); Zhang et al., (2017)]. Por lo tanto, se pone de manifiesto la necesidad de evaluación de los parámetros hemodinámicos en el árbol arterial coronario para comprender la progresión de la aterosclerosis, así como las áreas de alto riesgo para la formación de placa.

La modelización matemática del sistema circulatorio y de sus procesos es un campo con más de cien años de trayectoria. Algunos ejemplos tempranos son el principio de Fick para estimar el gasto cardíaco, formulado en 1885 o la formulación de la ley de Murray en 1926, que estima el radio de los vasos sanguíneos de las ramas vasculares. Sin embargo, no fue hasta la década de 1930 cuando fue

posible hacer una validación experimental de tales leyes teóricas derivadas de argumentos físicos y fisiológicos. Más recientemente, ha sido el desarrollo de la informática y la posibilidad de su implementación en la práctica médica diaria lo que realmente ha llevado la modelización matemática de los sistemas fisiológicos al siguiente nivel. La gran variedad de procesos fisiológicos que se pueden modelar y la mejora constante del rendimiento computacional hace que este campo sea muy activo y con muchas posibilidades. Gracias a la simplicidad de su formulación teórica (es un cociente de presiones), uno de los parámetros de interés clínico que se pueden calcular empleando estos métodos computacionales es el FFR.

La investigación en torno a esta medición computacional de FFR (FFR_{ct}) es un campo muy activo y competitivo en la actualidad [Tonino *et al.*, (2009)]. Aunque su desarrollo comenzó antes, la demostración de su validez llegó en 2011 con la publicación del gran estudio multicéntrico DISCOVER-FLOW [Koo *et al.*, (2011)]. Desde entonces, se han realizado más estudios multicéntricos como DeFACTO en 2013 [Nakazato *et al.*, (2013)], NXT en 2014 [Nørgaard *et al.*, (2014)] o el reciente registro ADVANCED en 2018 [Fairbairn *et al.*, (2018)], además de varios estudios más pequeños realizados en un solo centro como VIRTU-1 en 2013 [Morris *et al.*, (2013)], Coenen *et al.*, (2015) en 2015, Yang *et al.*, (2017) en 2017 o Tang *et al.*, (2020). Todos estos estudios, junto con otros que no aparecen citados en este documento, respaldan la capacidad de diagnóstico del FFR_{ct} en comparación con las medidas tradicionales utilizando técnicas invasivas. Los métodos de dinámica de fluidos computacional también se han utilizado ampliamente para predecir alteraciones del flujo sanguíneo (áreas de baja velocidad, turbulencia, etc.) usando TAWSS, OSI y otro coeficiente como el WSS [Kleinstreuer., (2001); Zhang *et al.*, (2017); Otero-Cacho *et al.*, (2018); Xu *et al.*, (2020)].

Debido a la complejidad del problema (predecir los efectos de la hemodinámica en las arterias coronarias) se han propuesto diferentes enfoques que podríamos dividir en tres paradigmas: modelos de orden reducido, simulación basada en técnicas de dinámica de fluidos computacional (CFD) en 3D (modelos de orden completo) y modelos de aprendizaje automático [Tesche *et al.*, (2017)]. Aunque los modelos

de orden completo están actualmente en posición de cabeza, con opciones ya validadas por la FDA (Food and Drug Administration (EEUU)) y comercializadas por HeartFlow [Nakazato et al., (2013); HeartFlow (2018)], los otros dos tipos de métodos muestran resultados similares cuando nos enfocamos en la capacidad de diagnóstico [Carson et al., (2019); Tesche et al., (2018)]. Por ello, algunas grandes empresas como Toshiba y Siemens están desarrollando soluciones basadas en estos métodos [Nakazato et al., (2013); Carson et al., (2019)]. Este modelo es el desarrollado también por FlowReserve Labs S.L., *spin-off* de la Universidad de Santiago de Compostela constituida en el año 2020 y cuyo desarrollo tecnológico inicial tiene su base en la presente Tesis.

Una vez confirmada la viabilidad de los tres paradigmas, la razón por la que ninguno se ha impuesto sobre los otros dos se debe a las diferentes fortalezas de cada método. Por un lado, los modelos de orden completo permiten una caracterización completa del flujo sanguíneo, por lo que proporcionan una representación más realista de los vasos coronarios y tienen el potencial de lograr un análisis más profundo al incluir el cálculo de otros parámetros de riesgo como el *wall shear stress*. Por otro lado, los modelos de orden reducido destacan por su sencillez, permitiendo exámenes en minutos por parte de los técnicos del hospital empleando ordenadores convencionales. Finalmente, los métodos de aprendizaje automático ofrecen evaluaciones más rápidas que los modelos de orden completo, además de la posibilidad de utilizar bases de datos médicas para mejorar su rendimiento, aunque fallan en casos no estándar.

Además de las diferencias existentes entre los paradigmas, existen otras partes del proceso que presentan distintas alternativas con sus propias ventajas. A la hora de generar los modelos 3D del árbol coronario de los pacientes, el método dominante en la actualidad es el uso de imágenes CTCA, aunque están apareciendo nuevas alternativas basadas en la reconstrucción mediante ICA (en ocasiones además con IVUS -IntraVascular UltraSound-) [Tesche et al., (2018)]. Se trata de alternativas invasivas ya que se necesita un angiograma convencional y su mayor ventaja radica en que no necesitan hiperemia inducida por

fármacos pudiendo implementarse modelos más complejos basados en imágenes reales de flujo sanguíneo [Itu et al., (2016)].

El último punto que realmente marca la diferencia entre las soluciones es el modelo matemático y su implementación. Su heterogeneidad hace que existan modelos cuya entrada de flujo se basa en un promedio teórico del flujo del paciente y otros que se basan en el caudal real del paciente. Además, podemos encontrar modelos que realicen las consideraciones habituales de presión y frecuencia cardíaca hasta el uso de densidades y viscosidades sanguíneas específicas [Itu et al., (2016)] así como estudios en régimen estacionario y transitorio (dependiente del tiempo). Debido al potencial económico de estas herramientas, los detalles técnicos o incluso los modelos utilizados rara vez se explican en los documentos bibliográficos. Si bien este tipo de modelos ya han sido validados, la discrepancia numérica existente entre los valores físicos y computacionales de FFR muestra que esta técnica requiere de mejoras adicionales. El desarrollo de tecnologías como la inteligencia artificial o las mejoras en las técnicas de imagen médica permitirán perfeccionar los modelos existentes.

Con toda esta información disponible, la opción más prometedora y en la que se enfocará nuestro estudio es un modelo 3D de orden completo [Otero-Cacho et al., (2018)] con simulaciones de fluidos por métodos computacionales (CFD) y reconstrucción del modelo por imágenes CTCA. Un modelo matemático de orden completo con estas características será lo suficientemente complejo como para caracterizar el flujo sanguíneo en las arterias coronarias, lo que nos permitirá realizar estudios más profundos en los que el riesgo de isquemia podría ser evaluado, no solo por el cálculo del FFR, sino también complementado con un estudio de esfuerzo cortante en la pared (WSS) y otros parámetros de interés clínico. Al mismo tiempo, las simulaciones estacionarias reducen la cantidad de tiempo necesario para la obtención de resultados, haciendo que estas simulaciones de orden completo sean competitivas frente a las de orden reducido en cuanto a rendimiento de tiempo y recursos. Finalmente, el uso de imágenes CTCA para realizar los modelos 3D tiene la ventaja de no ser un procedimiento invasivo y de poder reconstruir todo el árbol coronario (con sus arterias principales). Este tipo de método ha

demostrado su eficacia en estudios pequeños [Zhang *et al.*, (2016)], pero no existe ningún estudio más amplio que lo valide por completo. Esto abre la puerta para seguir explorando esta opción y continuar en la vanguardia del campo.

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, los Capítulos 3 y 4 de esta Tesis se basan en el estudio de parámetros de interés clínico y la evaluación del riesgo cardíaco en geometrías idealizadas con el objetivo de conocer cómo afectan la morfología y las condiciones de flujo al desarrollo de la enfermedad coronaria. En el Capítulo 5 se realiza un estudio más complejo y personalizado, empleando geometrías reales de pacientes obtenidas a partir de imagen médica de Tomografía Axial Computarizada (TAC) y aplicando condiciones de contorno avanzadas (que se describen en la sección de métodos) para recrear de forma precisa el comportamiento del flujo sanguíneo en el tronco aórtico y en las arterias coronarias.

1.3. CIRCULACIÓN DE PARTÍCULAS EN EL SENO DE UN FLUIDO

Como se ha visto en la sección anterior, las técnicas de dinámica de fluidos computacional se aplican con mucha frecuencia a la simulación del flujo sanguíneo. Con el objetivo de simplificar el análisis numérico y reducir el coste computacional, es frecuente encontrar estudios en los que la sangre se considera un fluido continuo, aun siendo bien sabido que la sangre es un sistema discreto formado por glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas junto con otras partículas de menor tamaño que se encuentran embebidas en un fluido denominado plasma. Aunque este enfoque, considerando la sangre como un fluido continuo, es válido para determinados estudios de dinámica general en el árbol coronario, cuando lo que se pretende es analizar el comportamiento individual o singular de las partículas que se encuentran en flujo, es necesario considerar la sangre como un sistema discreto (partículas) en el interior de un continuo (plasma) que fluye por los vasos arteriales.

En la presente Tesis, el análisis de partículas en flujo se realiza mediante dos estudios con diferentes enfoques: en primer lugar, en el

Capítulo 6 se modela y analiza el comportamiento de células tumorales circulantes y, por lo tanto, se analiza la posibilidad de ocurrencia de enfermedad. El segundo enfoque recogido en el Capítulo 7 consiste en la búsqueda de soluciones farmacológicas eficientes que permitan reducir o eliminar la placa aterosclerótica y el anidamiento de células tumorales en puntos distantes al tumor primario.

1.3.1. Células tumorales circulantes (CTCs)

La metástasis representa el evento clínico más relevante y desafiante en oncología, responsable de la gran mayoría de las muertes relacionadas con el cáncer [*Lambert et al., (2017)*]. La detección de metástasis determina un punto de inflexión en la evolución de la enfermedad y una toma de decisiones clínicas que implican una estrategia terapéutica generalmente basada en quimioterapia y/o terapias diana. Dentro de todo el proceso de metástasis, la localización de células tumorales circulantes (CTCs) en lugares distantes representa un paso limitante que determina la eficiencia de la colonización metastásica [*Klein, (2020)*, *Dasgupta et al., (2017)*]. Las CTCs pueden quedar atrapadas por oclusión física en pequeños capilares y proceder a invadir y colonizar ese lugar al adaptarse al nuevo entorno [*Follain et al., (2020)*]. Alternativamente, también pueden interactuar activamente con el endotelio a través de contactos ligando-receptor, incluido el rodamiento sobre la pared endotelial, la detención, deslizamiento, anclaje y la transmigración a través de la capa endotelial [*Rejniak, (2016)*]. Paralelamente, la creación de nichos premetastásicos previos a la recepción de las células tumorales puede mejorar la eficiencia de la adhesión de CTCs al remodelar el microambiente receptivo [*Peinado et al., (2017)*]. Desde una perspectiva clínica, esta fase crítica y compleja del proceso metastásico ofrece una oportunidad única para desarrollar estrategias terapéuticas específicas con el objetivo de perjudicar la adhesión de la población de CTCs.

En este sentido, es de gran interés el estudio de los factores mecánicos y geométricos resultantes de la estructura anatómica del sistema vascular y los flujos hemodinámicos asociados [*Brodland y*

Veldhuis, (2012), Font-Clos et al., (2020)]. El atrapamiento físico y la extravasación de CTCs en la microvasculatura, como mecanismo principal de la micro metástasis a distancia, es una consecuencia de las fuerzas de cizallamiento relativamente bajas combinadas con la comunicación basada en señales entre el tumor y las células endoteliales [*Kienast et al., (2010)*]. También son relevantes, aunque probablemente con un impacto menor en todo el proceso de metástasis, los factores hemo-hidrodinámicos inducidos por el flujo sanguíneo, como los valores del esfuerzo cortante y la recirculación, especialmente en las ramas y zonas de cambio de la microvasculatura, que podrían desempeñar un papel importante en la adhesión de células tumorales [*Fu, (2018)*]. Además, mientras que el atrapamiento mecánico en arteriolas y vénulas puede estar asociado con la rigidez de las CTCs, la flexibilidad y deformabilidad de las células metastásicas más agresivas les permite interactuar con las células endoteliales en respuesta al esfuerzo de cizallamiento, lo que da como resultado la adhesión a los microvasos [*Pepona et al., (2020)*]. De otro modo, la vorticidad generada en los puntos de inflexión de las ramas de los microvasos debería apoyar y aumentar la adhesión de las células tumorales en las intersecciones de las ramificaciones [*Guo et al., (2014)*]. En el Capítulo 6 de la presente Tesis se aborda el evento particular de detención de células tumorales en lugares poco estudiados hasta el momento como espacios propensos al anidamiento de células tumorales, como es el caso de las bifurcaciones arteriales de gran calibre.

1.3.2. Partículas portadoras de medicamento

En los últimos años se han desarrollado medicamentos que se encapsulan y que se introducen, a su vez, en el sistema circulatorio. De este modo, se pretende mejorar la eficiencia de determinados tratamientos y hacer que la aplicación del medicamento no sea a nivel sistémico, sino que se centre en la zona donde se ha desarrollado la enfermedad, protegiendo de este modo tejidos y estructuras periféricas sanas. Dos de las enfermedades objetivo de esta tecnología son la aterosclerosis (se pretende la reducción de la placa aterosclerótica y la

disminución del riesgo de cardiopatía isquémica) y la metástasis (se busca la reducción en la proliferación de tumores como resultado de la circulación y anidamiento de CTCs a partir de un tumor primario).

En lo referente a la aterosclerosis, aunque se dispone de tratamientos para sus manifestaciones clínicas, muchos productos farmacéuticos exhiben efectos no deseados y tienen una eficacia relativamente baja a dosis toleradas como consecuencia de su administración sistémica como, por ejemplo, estatinas y antioxidantes. Por otra parte, otros tratamientos más avanzados basados en inhibidores de la secreción de citocinas han mostrado un escaso éxito en los ensayos clínicos [*Klingenberg et al., (2009), Sheikine and Hansson, (2006)*].

Algunas investigaciones muestran que la eficacia de las partículas portadoras de medicamento depende de su capacidad para marginar (ubicarse y adherirse) a la pared afectada por la placa aterosclerótica. En este sentido, algunos estudios sugieren que, para partículas en flujo, la estrategia de usar partículas más grandes para que marginen más eficientemente puede ser más efectiva que el uso de partículas de menor tamaño [*Decuzzi et al., (2005)*]. De hecho, las partículas con diámetros por debajo de $1\mu\text{m}$ tienen menor capacidad para unirse al endotelio, posiblemente, porque se quedan atrapadas en el núcleo de la circulación de glóbulos rojos que ocupan preferentemente el centro del vaso sanguíneo [*Huang et al., (2005)*]. Además, investigaciones recientes muestran los beneficios de usar partículas no esféricas que pueden favorecer su marginación e interacción con el endotelio. Los modelos computacionales [*Decuzzi et al., (2005)*] sugieren que las partículas esféricas tienden a seguir las líneas de corriente. Por el contrario, las partículas no esféricas (discos, varillas, etc) pueden sufrir una deriva lateral significativa incluso en ausencia de fuerzas externas que favorezcan la migración [*Gentile et al., (2008)*].

La mayoría de los estudios desarrollados se han centrado en analizar la influencia de factores individuales en la capacidad de micro y nanopartículas portadoras de medicamento dirigidas y no dirigidas para interactuar con la pared vascular afectada por aterosclerosis. Así, serían necesarios estudios más sistemáticos y unificados considerando simultáneamente varios atributos físicos de las partículas [*Doshi et al., (2010)*], flujos biológicos complejos [*Namdee et al., (2013)*], flujos

altamente perturbados en las inmediaciones de lesiones ateroscleróticas [Charoenphol, et al., (2011)] y la influencia del diseño de partículas y el entorno hemodinámico aterosclerótico en la administración localizada de fármacos.

Los avances mostrados anteriormente, la aplicación de nano y micro tecnología y la intensa investigación en nuevos materiales biocompatibles permiten la posibilidad de explorar el enfoque biomecánico de las partículas portadoras de medicamento [Saxer et al., (2013)] explotando las condiciones particulares que se dan en las inmediaciones de las lesiones ateroscleróticas. Algunos tipos de partículas portadoras, sensibles a un determinado valor de esfuerzo cortante en la pared (WSS), están actualmente en investigación. En estos casos, la administración del fármaco se desencadenaría por cambios en el esfuerzo cortante local [Holme et al., (2012); Korin et al., (2012)].

El encapsulado de medicamentos dentro de micro y nanopartículas se ha convertido en una forma importante de administrar medicamentos en áreas intravasculares específicas. La mayoría de estas partículas son esferas y tienen un éxito de moderado a bajo en la liberación del fármaco en la zona objetivo. Simulaciones numéricas recientes y experimentos de microfluídica han demostrado que otros diseños de partículas son más adecuados en determinadas condiciones hemodinámicas y pueden dar como resultado una correcta administración del fármaco.

Este comportamiento diferente tiene implicaciones cuando estas partículas se utilizan en la administración de fármacos con el objetivo de reducir la placa aterosclerótica en ciertas áreas del árbol coronario. Además, la administración de fármacos mediante partículas tiene muchas aplicaciones. Uno de los campos en los que se está produciendo un gran avance es en oncología, siendo especialmente importante en este campo la forma y el tamaño de dichas partículas cuando pretendemos llevar el medicamento a zonas muy concretas del árbol arterial, donde los diámetros son muy reducidos.

Capítulo 2

METODOLOGÍA

En este capítulo se van a definir, de forma general, las diferentes técnicas y algoritmos necesarios para alcanzar los resultados que se exponen en la presente Tesis. La aplicación de dichas técnicas, así como aquellas que se empleen de forma específica en una determinada investigación, será descrita convenientemente en el capítulo correspondiente. Igualmente, las técnicas experimentales específicas que complementan algunos de los resultados presentados se explican en los capítulos pertinentes.

2.1. DEFINICIÓN DEL DOMINIO COMPUTACIONAL

En el presente trabajo de Tesis se realiza el análisis de las condiciones de flujo en determinadas ubicaciones del árbol coronario y de otros segmentos del árbol arterial, como bifurcaciones o vasos estenosados, que pueden ser susceptibles de acumulación de placa, desarrollo de enfermedad coronaria como la isquemia o depósito de células tumorales. Para poder realizar este análisis es necesario reconstruir el dominio 3D en el cual se va a realizar la simulación numérica del flujo sanguíneo. En este sentido, existen dos metodologías que destacan sobre las demás y que serán utilizadas en función del carácter de la investigación: (1) obtención de la geometría a partir de

programas de diseño asistido por ordenador (CAD) y (2) obtención de la geometría partir de la imagen médica del paciente.

2.1.1. Obtención de la geometría a partir de programas CAD

Esta metodología será empleada en aquellos estudios en los que se analice el comportamiento general de determinadas variables y de los que se desee extraer conclusiones extrapolables a toda la población. Las geometrías 3D obtenidas se diseñan y parametrizan utilizando programas de diseño asistido por ordenador (CAD) como FreeCAD o el propio editor 3D incluido en el paquete Simcenter StarCCM+ empleado para realizar las simulaciones numéricas. Con frecuencia, estas geometrías consistirán en una combinación de cilindros que representan el calibre interno del vaso sanguíneo y que se caracterizan por tener una superficie uniforme y suave que facilita su posterior discretización y estabiliza y acelera el proceso de simulación. En la Figura 2.1 se describe el proceso de construcción de la geometría:

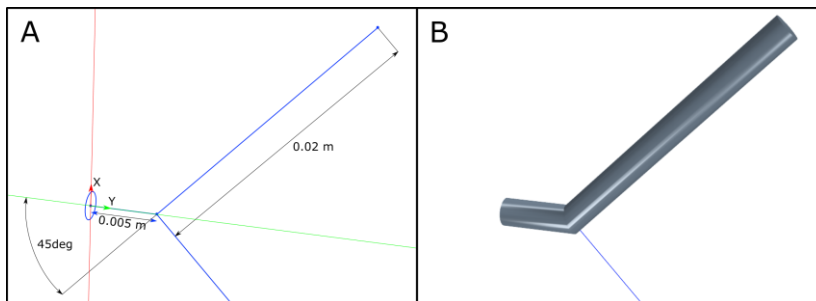


Figura 2.1. Proceso de obtención de la geometría 3D utilizando un software de diseño CAD. A) Parametrización del círculo generador y de la línea que define una de las ramas de la bifurcación. B) Ejecución del barrido del círculo generador a lo largo de una de las trayectorias definidas en A.

2.1.2. Obtención de la geometría a partir de imagen médica (TAC) del paciente

La obtención de una geometría realista del paciente objeto de estudio es la base de un estudio personalizado y constituye uno de los mayores retos de todo el proceso de simulación. Este proceso comienza con la obtención de la imagen médica haciendo uso de una máquina de TAC. Con el objetivo de mantener al paciente en un régimen bajo de pulsaciones y de que la adquisición de la imagen tenga una calidad suficiente para ser empleada en este tipo de estudios, se utilizan nitratos sublinguales. Posteriormente, una vez aplicado el contraste, se procede a la adquisición de la imagen médica que estará formada por un conjunto de imágenes o slides que permiten la reconstrucción en 3D del árbol coronario.

Esta geometría 3D va a constituir el dominio computacional en el cual se va a modelar el flujo sanguíneo y que será necesario para determinar los parámetros de interés clínico. La reconstrucción se realiza siguiendo el proceso que se describe en la Figura 2.2 y en el que se utiliza un paquete de software libre de segmentación de imagen médica denominado 3D Slicer.

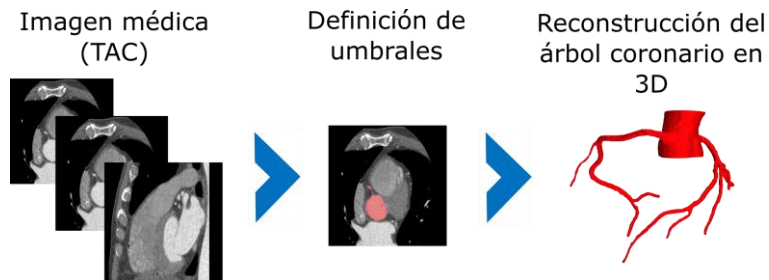


Figura 2.2. Descripción del proceso de obtención de la geometría del paciente en 3D. El proceso comienza con la obtención de la imagen médica haciendo uso de un equipo de TAC para posteriormente establecer un nivel de umbral que permita reconocer las estructuras coronarias de interés. Finalmente, se obtiene la representación 3D de la geometría que será utilizada como dominio computacional

Para la selección del área de interés (aorta y arterias coronarias) se opta por un módulo basado en la selección de umbrales que proporciona un buen resultado y en el que el umbral elegido dependerá de las

características de la imagen médica proporcionada. En primer lugar, se utiliza la herramienta 'Crop Volume' para reducir la distancia entre las diferentes imágenes y así ganar precisión en el proceso de segmentación. Con este módulo podemos definir una región de interés y modificar la imagen de tal manera que la imagen de salida tendrá un tamaño de vóxel más pequeño y un espaciado isotrópico. El vóxel se define como una de las unidades cúbicas que componen una estructura 3D (equivalente a un píxel en 2D) y para llegar a la configuración final utilizamos el interpolador B-spline que permite una transición suave entre los diferentes cortes. Es importante tener en cuenta que el objetivo principal del proceso de segmentación es obtener una geometría 3D del árbol coronario que representa el dominio del fluido dentro de los vasos sanguíneos. Para alcanzar esta configuración será necesario seleccionar un umbral adecuado que permita la eliminación del dominio de otro tipo de estructuras (como calcificaciones, stents u otro tipo de placa aterosclerótica) (Figura 2.3).

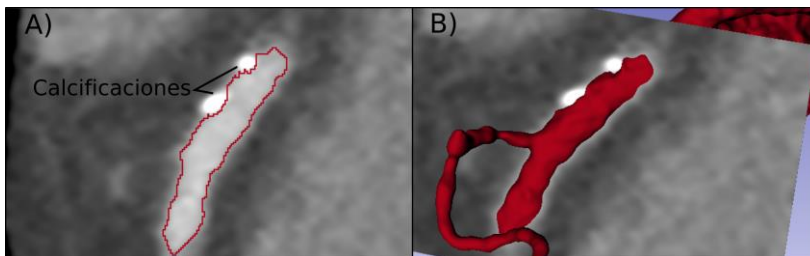


Figura 2.3. A) Contorno del vaso sanguíneo en 2D. Se puede observar como el área ocupada por las calcificaciones queda excluida del dominio del vaso siendo el área encerrada por la curva la que se utilizará para la obtención de la geometría en 3D.
B) Representación en 3D del segmento coronario delimitado en A).

Este tipo de estructuras provocan una disminución del calibre del vaso y tienen una gran influencia en el comportamiento del flujo sanguíneo. En el caso particular de los stents, es difícil determinar con precisión el calibre del vaso porque la malla (a menudo hecha de un material metálico) cubre toda la zona de pared del diámetro interno y dificulta la visión de la región interior. Por este motivo, el tratamiento de estas estructuras se realizará de dos formas distintas: (1) si el stent se coloca en la misma rama (RCA o LMS) en la que se calcula el FFR,

se considera que el caso no es válido para el análisis y se descarta mientras que (2) si el stent se coloca en la parte opuesta del árbol coronario donde se está realizando el cálculo del FFR, se considera que el vaso está sano (sin stent) y por tanto todo el diámetro se considera sección útil de vaso sanguíneo. Así, consideramos que el stent tiene una gran influencia en la distribución de flujos si se ubica en el mismo vaso en el que se calcula el FFR pero que esta influencia es menor cuando se ubica en una región alejada del área de cálculo.

La geometría 3D obtenida tras el proceso de segmentación se caracteriza por la presencia de irregularidades, así como por superficies con ángulos muy pronunciados que pueden ser perjudiciales para el proceso de construcción de la malla y para la convergencia de la simulación numérica. Para mejorar la geometría, se utilizan herramientas específicas CAD de suavizado dando como resultado una geometría de gran calidad, aspecto que facilitará el proceso de mallado y repercutirá en la estabilidad del proceso de simulación.

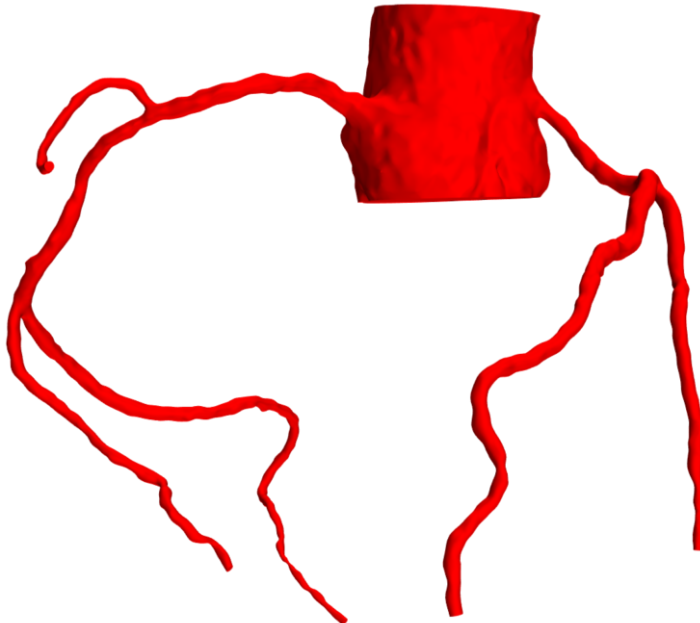


Figura 2.4. Geometría 3D del árbol coronario después de realizar el proceso de suavizado

2.2. CONSTRUCCIÓN DE LA MALLA

El dominio computacional obtenido mediante la aplicación de alguna de las técnicas descritas en el Apartado 2.1. se divide en un número finito de subdominios (elementos) con el objetivo de posibilitar la resolución de las ecuaciones gobernantes del flujo, quedando las incógnitas almacenadas en ubicaciones específicas de la malla (vértices, centroides de celdas, etc.). Habitualmente, estos elementos 3D en los cuales se divide el dominio computacional tienen forma de tetraedros, hexaedros o poliedros.

En el presente trabajo se utilizará una u otra tipología en función de la ubicación de la zona del dominio que se desea discretizar. Así, para la parte central de los dominios se utilizarán elementos poliédricos o tetraédricos mientras que, para las inmediaciones de las paredes, donde se necesita una mayor precisión para captar los fenómenos y esfuerzos, como las recirculaciones y el esfuerzo cortante, se emplearán elementos hexaédricos.

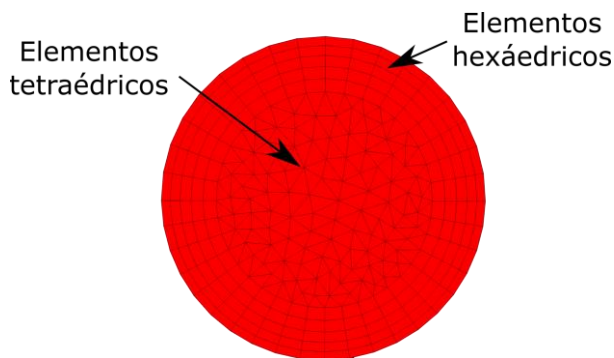


Figura 2.5. Distribución de las distintas tipologías de elementos de malla en una sección transversal del dominio. Los elementos tetraédricos ocupan el centro de la geometría mientras que los hexaédricos se sitúan en las inmediaciones de las paredes

La malla, que es el resultado de las subdivisiones mencionadas con anterioridad, tiene una gran influencia en el coste computacional, en la estabilidad de las simulaciones y en la precisión de los resultados numéricos. Por ello, es necesario realizar un estudio de independencia de malla con el objetivo de comprobar que los resultados obtenidos no

dependen de la discretización espacial por la que se opte. Se trata de un estudio que se lleva a cabo en todas las geometrías utilizadas y sus características se especifican en la sección correspondiente de cada capítulo.

2.3. ECUACIONES GOBERNANTES DEL FLUJO Y DEL COMPORTAMIENTO DE LAS PARTÍCULAS

2.3.1. Flujo sanguíneo

El comportamiento de la sangre en los vasos sanguíneos se describe mediante las ecuaciones de Navier-Stokes. La circulación (dependiente del tiempo) de un fluido viscoso incompresible está gobernada por las ecuaciones de conservación de masa (balance de masa a través de un volumen de control) y momento que se describen a continuación [*Selmi et al., (2019)*]:

$$\nabla \cdot v = 0 \quad (2.1)$$

$$\rho \left(\frac{\partial v}{\partial t} + v \cdot \nabla v \right) = \nabla \sigma \quad (2.2)$$

donde v es la velocidad, t el tiempo, ρ la densidad de la sangre y σ es el tensor de esfuerzos que habitualmente se expresa como:

$$\sigma = -pI + T \quad (2.3)$$

siendo p la presión, I el tensor identidad y T el tensor de esfuerzos viscosos.

Para convertir el sistema continuo de ecuaciones en un conjunto de ecuaciones algebraicas que puedan ser resueltas mediante técnicas computacionales, Simcenter StarCCM+ utiliza métodos de discretización de la geometría (explicado en el apartado anterior mediante la construcción de una malla) y de las ecuaciones, empleando

para este último cometido el método de volúmenes finitos [Nerem, (1992); Ferziger et al., (1996)].

En general, para modelar el flujo sanguíneo, se considera la sangre como un fluido Newtoniano e incompresible, asunciones ampliamente respaldadas por la literatura [Lo et al., (2019); Kim et al., (2009)]. A su vez, se aplican las condiciones de no deslizamiento a las paredes del dominio, imponiendo así una velocidad nula en la capa de fluido más próxima a las mencionadas paredes.

Para determinar el comportamiento del flujo en el interior de las arterias y, por lo tanto, el régimen que define este comportamiento, se utiliza el número adimensional de Reynolds que relaciona esfuerzos viscosos e inerciales [Shashi, (2015)]:

$$Re = \frac{\rho D v}{\mu} \quad (2.4)$$

donde v es la velocidad del flujo, ρ es la densidad, μ es la viscosidad dinámica y D es el diámetro del vaso. En todas las investigaciones realizadas en la presente Tesis, los valores del número de Reynolds obtenidos son bajos, indicativo de que el flujo es claramente laminar.

En lo referente a las condiciones de contorno, además de velocidad nula en las paredes de los vasos, hay que imponer condiciones en las entradas y salidas del dominio computacional. Mientras que en las entradas se opta por condiciones para la velocidad y presión, en las salidas se utilizan únicamente condiciones de presión que recrean las condiciones reales del árbol coronario o las condiciones de los experimentos, en aquellos casos en los que se realiza una validación experimental del modelo numérico. Dadas las particularidades que presentan estas condiciones de contorno, los detalles de su aplicación se describen en el capítulo correspondiente a cada investigación.

Por último, se utiliza el algoritmo SIMPLE [Patankar et al., (1983)] para el acoplamiento presión-velocidad y los esquemas de discretización *upwind* de segundo orden para la conservación de la masa (2.1) y el momento (2.2).

2.3.2. Partículas en el seno de un fluido

En el presente trabajo se consideran, fundamentalmente, dos tipologías de partículas en función de su comportamiento: partículas rígidas y glóbulos rojos deformables.

Partículas rígidas. Son aquellas partículas micro y nano que circulan por el torrente sanguíneo. En el presente trabajo, este tipo de partículas se emplean para modelar células tumorales circulantes (CTCs) y partículas portadoras de medicamento. Con carácter general, las fuerzas que actúan sobre estas partículas (arrastre (F_d), gravedad y fuerzas de elevación) se pueden definir como sigue [*StarCCM+*]:

$$F_d = \frac{1}{2} C_d \rho A_p |v_s| v_s \quad (2.5)$$

donde C_d es el coeficiente de arrastre de la partícula, ρ es la densidad de la fase continua, $v_s = v - v_p$ es la velocidad de deslizamiento de la partícula con v siendo la velocidad instantánea de la fase continua y A_p es el área proyectada de la partícula. Se ha escogido el método de Schiller-Naumann [*Schiller and Naumann, (1933)*] para definir el coeficiente de arrastre porque es el más adecuado para partículas esféricas sólidas. El número de Reynolds de las partículas es siempre menor que 1 por lo que el coeficiente de arrastre se define como sigue:

$$C_d = \frac{24}{Re_p} (1 + 0.15 Re_p^{0.687}) \quad (2.6)$$

donde:

$$Re_p = \frac{\rho |v_s| D_p}{\mu} \quad (2.7)$$

con D_p diámetro de la partícula y μ la viscosidad dinámica.

Las fuerzas de sustentación en las simulaciones DEM pueden surgir del giro de las partículas, del cizallamiento o de ambos. En este contexto, las fuerzas de sustentación se refieren a fuerzas normales a la velocidad de la partícula.

La fuerza de sustentación por giro de la partícula se define en la ecuación 2.8:

$$F_{LR} = \frac{\rho\pi}{8} D_p^2 C_{LR} |v_s| \frac{\Omega \times v_s}{|\Omega|} \quad (2.8)$$

donde D es el diámetro de la partícula, v_s es la velocidad de deslizamiento, C_{LR} es el coeficiente de sustentación por rotación o giro [Sommerfeld, (2000)] y Ω se define como la velocidad angular relativa de la partícula al fluido. Estos dos últimos coeficientes se definen en las ecuaciones 2.9 y 2.10 respectivamente:

$$\Omega = \frac{1}{2} \nabla \times v - \omega_p \quad (2.9)$$

donde v es la velocidad del fluido y ω_p es la velocidad angular de la partícula.

$$C_{LR} = 0.45 + \left(\frac{Re_R}{Re_p} - 0.45 \right) e^{-0.5684 Re_R^{0.4} Re_p^{0.3}} \quad (2.10)$$

La segunda de las fuerzas de sustentación actuantes (por cizallamiento) se aplica a la partícula cuando hay un gradiente de velocidad en el fluido ortogonal al movimiento relativo y se define en la Ecuación 2.11. [Saffman, (1968)]

$$F_{LS} = C_{LS} \frac{\rho\pi}{8} D_p^3 (v_s \times \omega) \quad (2.11)$$

donde D_p es el diámetro de la partícula, v_s la velocidad de deslizamiento C_{LS} el coeficiente de sustentación por cizallamiento y ω

es el rotacional de la velocidad del fluido. Estos dos coeficientes quedan definidos en las ecuaciones 2.12 y 2.13.

$$\omega = \nabla \times v \quad (2.12)$$

$$C_{LS} = \frac{4.1126}{Re_s^{0.5}} fRe_p, Re_s \quad (2.13)$$

donde

$$fRe_p, Re_s = \begin{cases} (1 - 0.3314\beta^{0.5})e^{-0.1Re_p} + 0.3314\beta^{0.5}, & (Re_p \leq 40) \\ 0.0524 (\beta Re_p)^{0.5}, & (Re_p > 40) \end{cases} \quad (2.14)$$

con:

$$\beta = 0.5 \frac{Re_s}{Re_p} \quad (2.15)$$

donde:

$$Re_s = \frac{\rho D_p^2 |\omega|}{\mu} \quad (2.16)$$

Glóbulos rojos. Los glóbulos rojos (RBCs) son estructuras bicóncavas de aproximadamente $7,8\mu\text{m}$ de diámetro cuya característica diferencial es su gran elasticidad y deformabilidad cuando se encuentran en flujo [Seifert *et al.*, (1991); Seifert (1997)]. Para ello, se procede como sigue: en primer lugar, un solo glóbulo se modela utilizando un programa de diseño asistido por ordenador (CAD) teniendo en cuenta la forma real y las medidas del eritrocito. Entonces, el prototipo de eritrocito es introducido en el software de simulación y llenado con 200 esferas (Figura 2.6). La elección del número de esferas utilizadas para rellenar la geometría 3D se establece bajo el criterio de utilizar el mínimo número de esferas que permitan reproducir de forma muy precisa la morfología del glóbulo rojo y, a su vez, reducir al máximo el tiempo de cómputo. En la Figura 2.6 podemos ver una

comparación entre la geometría del glóbulo rojo diseñada con el software CAD (Figura 2.6A) y la geometría generada tras ser rellenada con esferas utilizando la técnica descrita anteriormente (Figura 2.6B).

Con el objetivo de modelar los eritrocitos como estructuras deformables bajo la influencia del flujo, se utiliza el *Particle Clumps Model*, un módulo ya embebido en el software de simulación Simcenter StarCCM+. Este modelo utiliza múltiples esferas para representar partículas no esféricas (eritrocitos en nuestro caso) y la unión de estas esferas se establece utilizando el modelo de interacción denominado *Bonded Particles*. De este modo, se define la morfología de los eritrocitos y su comportamiento como ensamblajes de esferas que están conectadas a través de enlaces paralelos. Esta es, por supuesto, una aproximación gruesa a la situación real cuyo tratamiento adecuado puede implicar la resolución de las ecuaciones de la membrana en cada paso temporal, lo cual se aleja del alcance real de este estudio [Svetina, S., & Žekš, (1989); Siefert, (1997)].

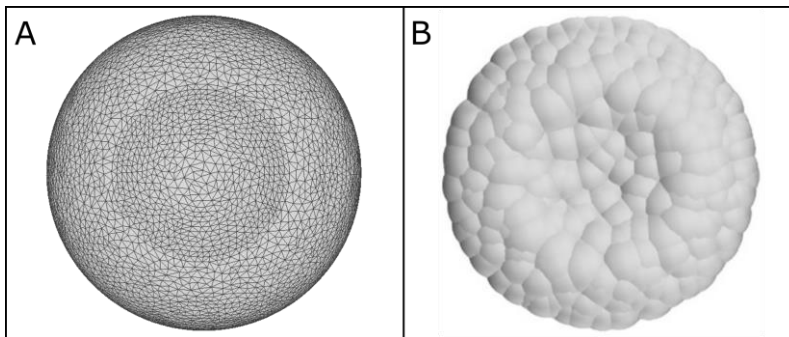


Figura 2.6. A. CAD original del glóbulo rojo con forma bicóncava y B. CAD rellenado con 200 esferas

Como se ha mencionado, el modelo *Particle Clumps* define los glóbulos rojos como conjuntos de esferas conectadas a través de enlaces que se forman inmediatamente después de la inyección. La configuración inicial del grupo de partículas que forman el glóbulo está en un estado de equilibrio; es decir, todas las fuerzas de contacto están equilibradas. El enlace que se establece entre ellas es una barra sin masa que conecta cada par de estas esferas y que puede transmitir fuerzas y par entre partículas, pero también puede romperse con una carga

suficiente. Cuando las esferas están unidas, el modelo de enlaces paralelos determina la conexión y las fuerzas entre ellas. Finalmente, la modelización de la interacción partícula-partícula viene determinado por el modelo de Hertz Mindlin.

Interacción partícula-partícula. Para modelar la interacción entre partículas se utiliza el método de elementos discretos (DEM).

Tradicionalmente, DEM se ha utilizado para modelar flujo de materiales granulares como, por ejemplo, arena, cápsulas, etc. Estos flujos se caracterizan por una alta densidad de partículas donde su interacción tiene importancia e influye en su comportamiento [Cundall *et al.*, (1979)]. El modelo DEM amplía la formulación Lagrangiana para ocuparse de la interacción entre partículas en las ecuaciones que definen su movimiento. Estas fuerzas no pueden ignorarse en flujos con muchas partículas que interactúan entre sí, como es el caso del flujo sanguíneo estudiado en esta Tesis.

El modelo de interacción entre partículas (RBCs y partículas nano y micro) y de interacción partículas-pared se describe en la Figura 2.7:

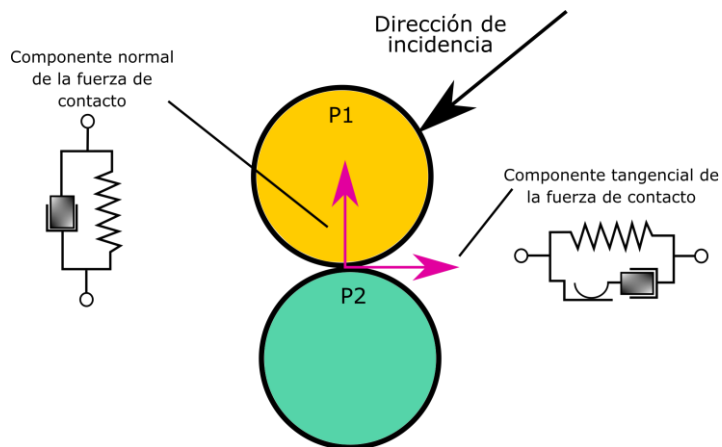


Figura 2.7. Modelización de la interacción entre partículas y de éstas con la pared arterial mediante un sistema que combina la acción de resortes y amortiguadores [StarCCM+]

La interacción se define de la siguiente forma: las fuerzas en el punto de contacto se modelan mediante el uso de un par de osciladores

resorte-amortiguador. El modelo paralelo representa la fuerza normal y el modelo paralelo con deslizador representa la fuerza en dirección tangencial con respecto al vector normal del plano de contacto. En ambos casos, el resorte tiene en cuenta la parte elástica de la respuesta y el amortiguador tiene en cuenta la energía de disipación durante la colisión.

El modelo de contacto de Hertz-Mindlin es una variante del modelo no-lineal de contacto resorte-amortiguador basado en la teoría de contacto de Hertz-Mindlin [*Johnson, (1987); Di Renzo et al., (2004)*]. Las fuerzas entre dos esferas, A y B, vienen descritas por las siguientes ecuaciones [*StarCCM+*]:

$$F_{contact} = F_n n + F_t t \quad (2.17)$$

donde F_n y F_t son las magnitudes de las componentes normal y tangencial, respectivamente. Las fuerzas en la dirección normal se encuentran definidas como sigue:

$$F_n = -K_n d_n - N_n v_n \quad (2.18)$$

$$K_n = \frac{4}{3} E_{eq} \sqrt{d_n R_{eq}} \quad (2.19)$$

$$N_n = \sqrt{(5K_n M_{eq})} N_n \text{ damp} \quad (2.20)$$

donde K_n es la rigidez normal del resorte y N_n la amortiguación normal.

En cuanto a la fuerza en dirección tangencial, las expresiones que definen sus componentes vienen dadas por:

$$F_t = -K_t d_t - N_t v_t \quad (2.21)$$

si $|K_t d_t| < |K_n d_n| C_{fs}$ donde C_{fs} es el coeficiente de fricción estática.

En otro caso:

$$F_t = \frac{|K_n d_n| C_{fs} d_t}{|d_t|} \quad (2.22)$$

La rigidez tangencial (K_t) y la amortiguación tangencial (N_t) quedan definidas como sigue:

$$K_t = 8G_{eq} \sqrt{d_t R_{eq}} \quad (2.23)$$

$$N_t = \sqrt{(5K_t M_{eq}) N_{t \text{ damp}}} \quad (2.24)$$

donde:

$$N_{n \text{ damp}} = \frac{-\ln(C_{n \text{ rest}})}{\sqrt{\pi^2 + \ln(C_{n \text{ rest}})^2}} \quad (2.25)$$

$$N_{t \text{ damp}} = \frac{-\ln(C_{t \text{ rest}})}{\sqrt{\pi^2 + \ln(C_{t \text{ rest}})^2}} \quad (2.26)$$

El radio equivalente (R_{eq}), la masa equivalente (M_{eq}), el módulo de Young equivalente (E_{eq}) y el módulo de cizalla equivalente (G_{eq}) se definen como sigue:

$$R_{eq} = \frac{1}{\frac{1}{R_A} + \frac{1}{R_B}} \quad (2.27)$$

$$M_{eq} = \frac{1}{\frac{1}{M_A} + \frac{1}{M_B}} \quad (2.28)$$

$$M_{eq} = \frac{1}{\frac{1 - \nu_A^2}{E_A} + \frac{1 - \nu_B^2}{E_B}} \quad (2.29)$$

$$G_{eq} = \frac{1}{\frac{2(2 - \nu_A)(1 + \nu_A)}{E_A} + \frac{2(2 - \nu_B)(1 + \nu_B)}{E_B}} \quad (2.30)$$

donde M_A y M_B son las masas para las esferas A y B , d_n y d_t son los solapamientos en la dirección normal y tangencial en el punto de contacto, R_A y R_B son el radio de las esferas, E_A y E_B son el módulo de Young de las esferas, ν_A y ν_B son los coeficientes de Poisson y v_n y v_t son las componentes normal y tangencial de la velocidad relativa de la superficie en el punto de contacto.

Interacción partícula-pared. Para las colisiones entre las partículas y la pared se usan las mismas ecuaciones que para modelar la interacción entre partículas, solo que en este caso se supone que el radio de la pared y su masa son infinitos ($R_{pared}=\infty$ y $M_{pared}=\infty$) por lo que el radio equivalente se reduce a $R_{eq}=R_{partícula}$ y la masa equivalente a $M_{pared}=M_{partícula}$.

Capítulo 3

FORMACIÓN DE PLACA EN BIFURCACIONES DE ARTERIAS CORONARIAS

Este capítulo incluye el contenido del siguiente artículo:

Otero-Cacho, A., Aymerich, M., Flores-Arias, M. T., Abal, M., Álvarez, E., Pérez-Muñuzuri, V., & Muñuzuri, A. P. (2018). Determination of hemodynamic risk for vascular disease in planar artery bifurcations. Scientific reports, 8(1), 1-7.

3.1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se realiza un análisis de flujo en una bifurcación coronaria idealizada. Este análisis se centra en el estudio de determinados parámetros físicos con el objetivo de caracterizar las áreas dentro del vaso que tienen más probabilidades de desarrollar patologías. Estas áreas suelen tener valores bajos de velocidad que aparecen por la combinación de parámetros de flujo y parámetros geométricos. Es en estas zonas de la bifurcación donde el flujo permanece durante períodos de tiempo más largos (mayor tiempo de residencia) y, por lo tanto, (1) las partículas tienen más tiempo para depositarse y unirse a la pared del

vaso, y (2) el bajo esfuerzo cortante en el endotelio de estas zonas hace que sean más propensas a la formación de placa.

A pesar del avance en la aplicación de métodos computacionales, en ocasiones el estudio del flujo en el sistema vascular requiere de una combinación de estudios numéricos, *in vivo* e *in vitro*. El hecho de que en este capítulo se realice una validación experimental del modelo numérico se debe a la importancia de la turbulencia, a los efectos no-newtonianos, a la naturaleza discreta de la sangre y a las simplificaciones que es necesario introducir en las simulaciones numéricas para que sean computacionalmente más asequibles. Por razones prácticas y éticas, los estudios *in vivo* son solo posibles en situaciones muy limitadas por lo que, en la mayoría de las situaciones, se opta por una validación *in vitro* empleando chips que reproducen el dominio computacional que se desea analizar. De hecho, la comparación de nuestras simulaciones con experimentos *in vitro*, sirven como validación del modelo empleado y nos dará garantías de aplicabilidad en los capítulos sucesivos.

3.2. METODOLOGÍA

3.2.1. Simulación Numérica

Para el diseño de las geometrías, la construcción de la malla y la realización de las simulaciones mediante el método de volúmenes finitos se utiliza el software Simcenter StarCCM+ [*StarCCM+*].

La geometría coronaria objeto de estudio será una bifurcación compuesta por un vaso principal o vaso madre que se bifurca en un determinado punto dando lugar a dos ramificaciones o vasos hijo de igual diámetro que el principal y cuyo esquema general se muestra en la Figura 3.1.

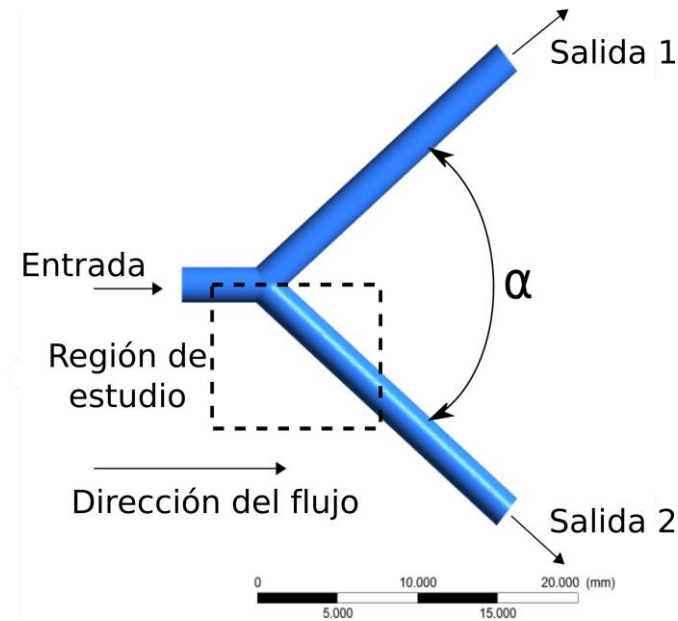


Figura 3.1. Esquema general de la bifurcación analizada. El vaso madre da lugar a dos vasos hijo de igual diámetro. La región delimitada con rayas define el área de análisis de las variables

Una vez diseñada la geometría, esta se divide en volúmenes más pequeños con el objetivo de resolver en cada uno de ellos las ecuaciones que rigen la dinámica del flujo en el interior del dominio.

La malla 3D se diseñó teniendo en cuenta que la mayoría de las zonas de recirculación importantes se encuentran cerca de las paredes exteriores del vaso de la bifurcación [Oviedo *et al.*, (2010)] y está compuesta por prismas tetraédricos y rectangulares cuyo tamaño se reduce en la proximidad de las paredes con el objetivo de estudiar las zonas de baja velocidad con más precisión (Figura 3.2)

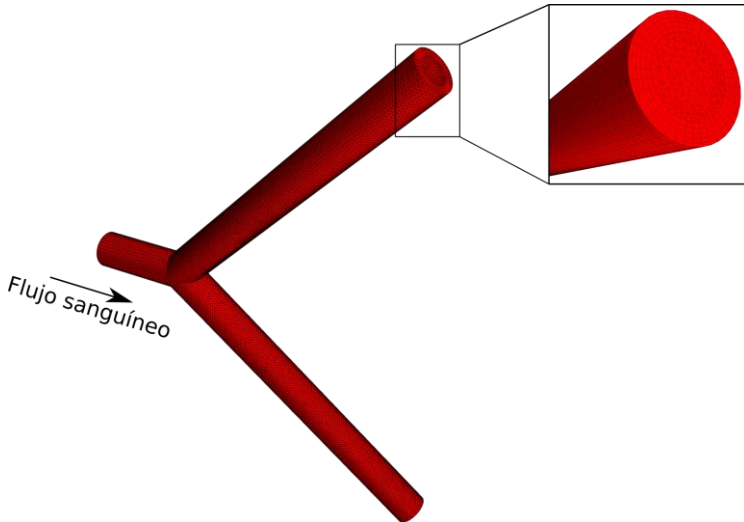


Figura 3.2. Configuración típica de la malla utilizada en uno de los casos de estudio. Los elementos tetraédricos ocupan la parte central del vaso mientras que los hexaédricos se sitúan formando capas en las inmediaciones de las paredes

Como se mencionaba anteriormente, con el objetivo de asegurar la independencia de los resultados se realizó cada simulación con tres configuraciones diferentes de malla. En el caso particular de la geometría de 60° , se construyeron mallas de 144269, 257733 y 529481 elementos. La máxima diferencia en los valores de la máxima velocidad y en las áreas con baja velocidad entre las diferentes mallas consideradas fue inferior al 5% tal y como se muestra en la Tabla 1:

Tabla 3.1. Análisis de diferentes mallas (M1, M2, M3) en la geometría con ángulo de apertura 60° considerando como variables las zonas de baja velocidad y el valor máximo de la velocidad en la geometría.

		a)	Parámetros		b)	Variaciones	
	Número de elementos		Máxima velocidad (m/s)	Área baja velocidad (mm ²)		Máxima velocidad	Área baja velocidad
M1	144269	M1	0.3431	12.022	M1	-	-
M2	257733	M2	0.346	12.225	M2	0.83%	1.66%
M3	529481	M3	0.3474	12.471	M3	1.24%	3.60%

Debido a la escasa diferencia observada en los valores obtenidos, se opta por ejecutar todas las simulaciones usando la malla 1 (M1) con el objetivo de optimizar el tiempo de cómputo sin pérdida de precisión.

Para simular la dinámica de la sangre se utilizan las ecuaciones de Navier-Stokes (descritas en el Capítulo 2) y para caracterizar el flujo se analiza el número de Reynolds. En el presente estudio, los números de Reynolds analizados en las diferentes configuraciones fueron, en todos los casos, inferiores a 200 por lo que se realiza la consideración de que el flujo es laminar.

Como criterio de parada, se utiliza el criterio de convergencia de reducción de residuos en cinco órdenes de magnitud. Este criterio de parada asegura que el valor de las variables analizadas se estabilice pudiendo realizar un análisis en completo estacionario evitando la fluctuación de los valores en las diferentes simulaciones.

En total se estudian ocho configuraciones diferentes de vasos con forma de Y con ángulos que van desde 25° hasta 180°. Para las simulaciones aquí presentadas, se considera una condición de velocidad de entrada consistente en un perfil plano de 0.2 m/s [Chodzyński et al., (2015)] en el vaso principal y una salida de presión atmosférica en ambas ramificaciones. Aunque es bien sabido que existen otras condiciones de flujo de salida más adecuadas para correlacionar simulaciones con el sistema circulatorio real (como las condiciones basadas en la ley de Murray o Windkessel que se emplearán más adelante en modelos más realistas), se utiliza una condición de presión atmosférica como una primera aproximación al problema para

comparar los resultados *in silico* con los resultados *in vitro*, que serán realizados bajo esta misma condición de presión, como se verá en el apartado 3.2.2 de este Capítulo.

Con respecto a la condición de entrada, se realizan también simulaciones con un flujo pulsátil con el objetivo de comprobar si el comportamiento del flujo experimenta alguna variación a la hora de hacer cambios en esta condición de contorno. La onda de flujo y las velocidades son estimadas a partir de datos presentes en la literatura [Chodzyński *et al.*, (2015)] y el período usado es de 0.81s correspondiente a un régimen de pulsaciones de 74 pulsaciones/minuto, como se puede observar en la Figura 3.3:

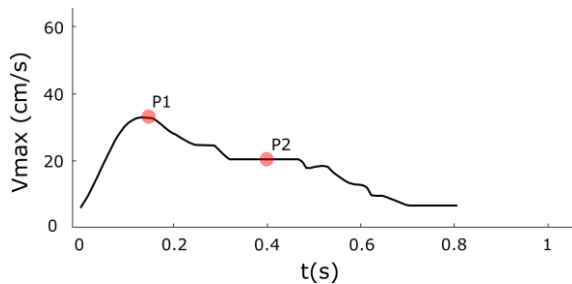


Figura 3.3. Geometría de un pulso cardíaco en el cual se marcan las dos zonas de análisis

Para caracterizar el flujo pulsátil en arterias se utiliza el número de Womersley que es el cociente entre las fuerzas inerciales y las fuerzas viscosas y su expresión viene dada por:

$$W_o = R \cdot \sqrt{\frac{2\pi f \rho}{\mu}} \quad (3.1)$$

donde R es el radio de la arteria, f es la frecuencia de pulsación, ρ es la densidad del fluido y μ es la viscosidad dinámica.

Para el pulso descrito anteriormente, donde el diámetro de la arteria es 2 mm, $W_o=1.434$.

Todos los vasos tienen igual área en su sección transversal con un diámetro $D = 2 \text{ mm}$. La densidad del fluido se fija en $\rho = 1060 \text{ kg/m}^3$ y la viscosidad $\mu = 0,004 \text{ kg/(m}\cdot\text{s)}$.

Cada simulación proporciona una descripción espacial completa de las velocidades del flujo. Para estudiar las zonas de baja velocidad es necesario establecer un valor de velocidad por debajo del cual una determinada zona se considera una zona de baja velocidad. El criterio utilizado establece que las zonas con valores de velocidad inferiores al 10% de la velocidad máxima registrada en el dominio se consideran áreas de baja velocidad. Para la realización del estudio se representa el módulo de velocidad para la sección del plano $z = 0$ (Figura 3.4)

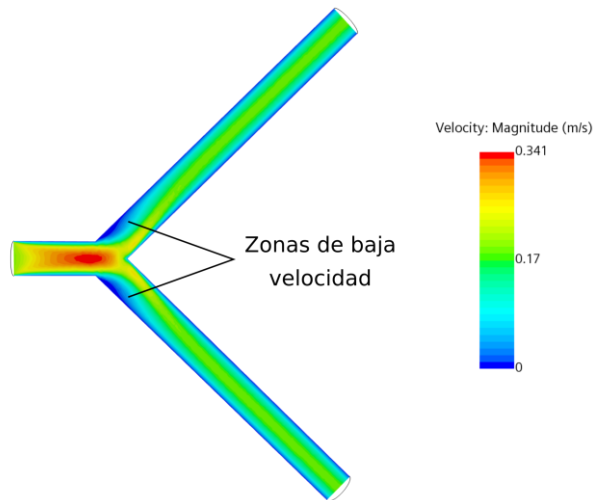


Figura 3.4. Representación del módulo de la velocidad en la geometría (plano $z=0$). Se pueden observar claramente que las zonas de baja velocidad se dan en las paredes exteriores de la bifurcación.

(Estas áreas de baja velocidad se midieron considerando una longitud de 5 mm en las paredes exteriores de las ramas desde el punto de bifurcación con el fin de eliminar de los cálculos, en la medida de lo posible, aquellas áreas con velocidades bajas cerca de la pared que no son de interés para nuestro análisis. Aunque el estudio de la magnitud de las recirculaciones se realiza en 2D con el objetivo de poder comparar los resultados con aquellos obtenidos en la parte

experimental, las zonas de recirculación afectan a la sección transversal del vaso tal y como se puede ver en la Figura 3.5.

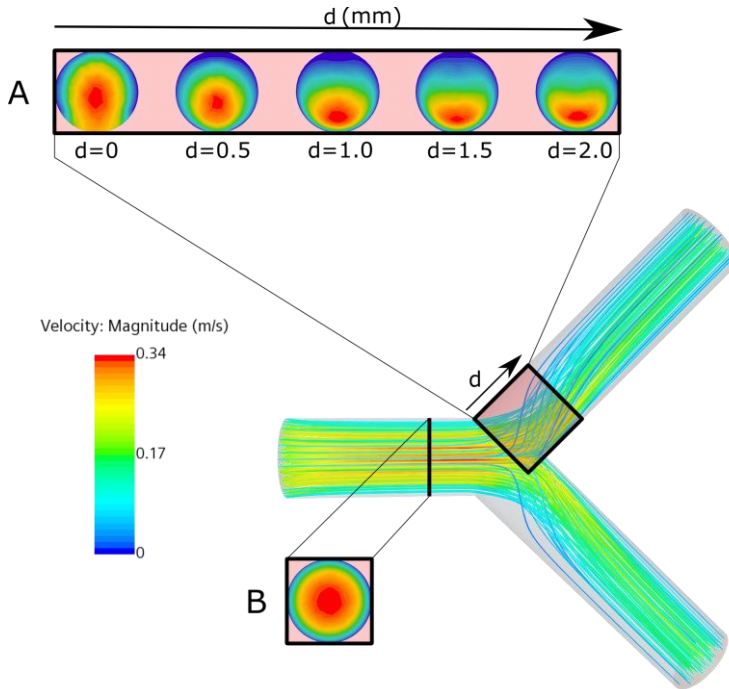


Figura 3.5. Representación de las líneas de corriente en el interior de la bifurcación y del comportamiento del flujo en diferentes secciones transversales. **A.** Secciones transversales en la pared exterior de uno de los vasos hijo. **B.** Sección transversal en el tramo recto de a bifurcación en el que se observa una distribución de velocidades siguiendo la ley de Poiseuille

Para darle más robustez al análisis anterior, se estudian también las zonas de recirculación considerando la velocidad de flujo negativa en relación con la dirección del flujo principal en la pared exterior del vaso. Así, la ocurrencia de esta velocidad negativa se relaciona directamente con la presencia de recirculaciones en el área de análisis.

3.2.2. Diseño de los experimentos

Con el objetivo de comparar y validar las simulaciones numéricas se construyen 6 geometrías de polydimethylsiloxane (PDMS) que replican en modelo físico la geometría diseñada para la realización de las simulaciones numéricas [Aymerich *et al.*, (2017)]. El PDMS es un material biocompatible ampliamente usado en la fabricación de dispositivos biológicos. Los dispositivos construidos con PDMS tienen una serie de características como su transparencia, permeabilidad a los gases, precisión a la hora de replicar geometrías de pequeñas dimensiones o su capacidad para ser químicamente inertes que los hacen adecuados para realizar ensayos como los que se llevan a cabo en el presente estudio. Es importante destacar que, a pesar de que las características del PDMS permiten crear dispositivos flexibles, los canales empleados pueden considerarse como rígidos al encontrarse embebidos en una estructura de PDMS que limita los movimientos de las paredes lo que, combinado con las bajas presiones que se alcanzan en el interior del canal, los hace adecuados para el diseño de experimentos bajo consideración de ‘paredes rígidas’.

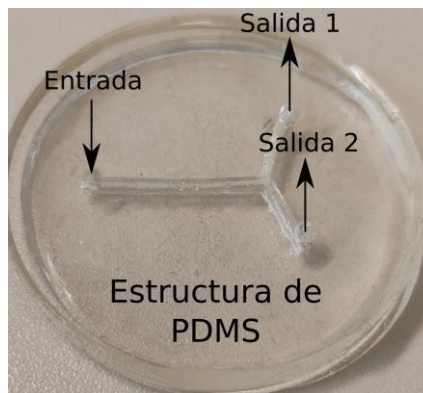


Figura 3.6. Canal embebido en una estructura de PDMS

El canal construido va a ser la parte central y más importante de un setup diseñado y montado para llevar a cabo los experimentos y cuyos elementos se disponen tal y como se muestra en la Figura 3.7:

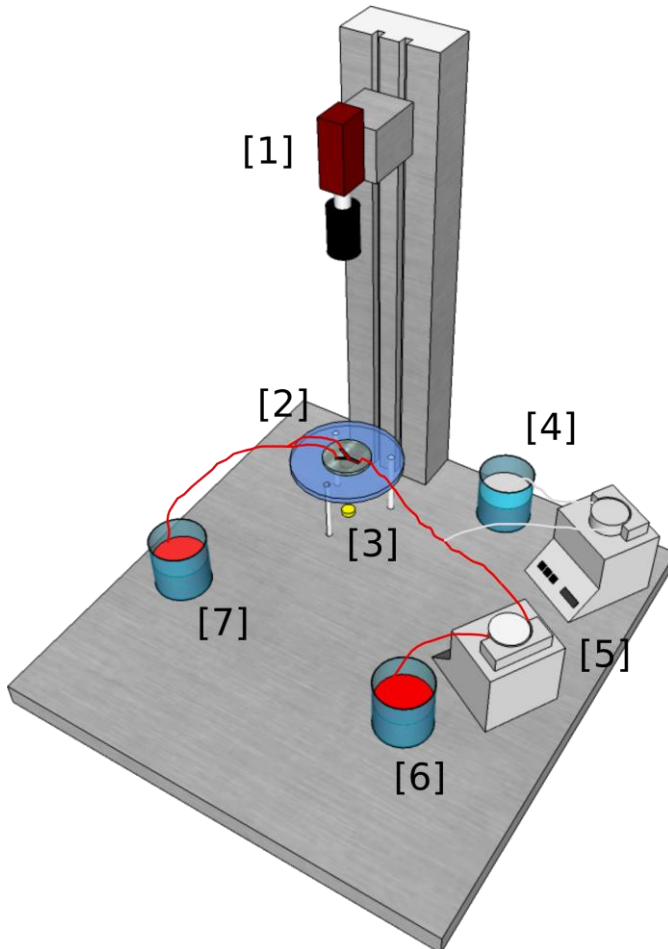


Figura 3.7. Esquema general del setup experimental. Las dos bombas peristálticas se usan para bombear la ferroína y la solución de sacarosa desde sus respectivos reservorios. La mezcla de ambos fluidos tiene lugar en un adaptador en forma de Y que une los tubos que nacen en ambos reservorios y, después de eso, la mezcla entra en la geometría de PDMS que es iluminada por un LED. Es en ese punto donde el flujo es captado por la cámara. Finalmente la mezcla sale a un tercer reservorio.

[1] Cámara CCD [2] Geometría de PDMS [3] LED [4] Reservorio (solución de sacarosa) [5] Bomba peristáltica [6] Reservorio (ferroína) [7] Reservorio (sacarosa + ferroína)

Con el objetivo de determinar las áreas de baja velocidad en el interior de la geometría se sigue el siguiente protocolo. Se bombean dos soluciones diferentes. La primera de ellas contiene una solución de

sacarosa al 35% que se bombea a un caudal constante de 27 ml/min. En la Tabla 3.2 se indica la viscosidad y densidad de la solución de sacarosa y del valor de estas magnitudes en los experimentos *in silico* y en la sangre real [Boehm, (2016); Lee et al., (2013)]:

Tabla 3.2. Características de los fluidos empleados para realizar el análisis experimental y numérico y los valores para la sangre real.

	Densidad (g/cm ³)	Viscosidad (mPa·s)
Solución de sacarosa	1.127	4.16
Simulación numérica	1.060	4.00
Sangre en el sistema circulatorio humano	1.060	4.00

Las imágenes que capta la cámara cuando esta solución circula por el canal son completamente transparentes y en ellas no es posible el análisis del comportamiento del flujo. Con el objetivo de determinar este comportamiento, se inyecta una segunda solución (durante 10 segundos a un caudal constante de 2.5ml/min) conteniendo ferroína (25mM). Cuando esta solución se introduce en el canal, este comienza a cambiar de color hasta alcanzar un color rojo uniforme (propio de la ferroína).

La evolución de la intensidad media con el tiempo se grafica (Figura 3.8) con el objetivo de diferenciar las diferentes zonas de carga y descarga de ferroína en el tiempo. Como se puede observar, son fácilmente distinguibles la zona de llenado de la geometría (carga), el período de tiempo en que la geometría está completamente llena y el período en el que la geometría comienza a vaciarse hasta quedar sin solución de ferroína en su interior (descarga).

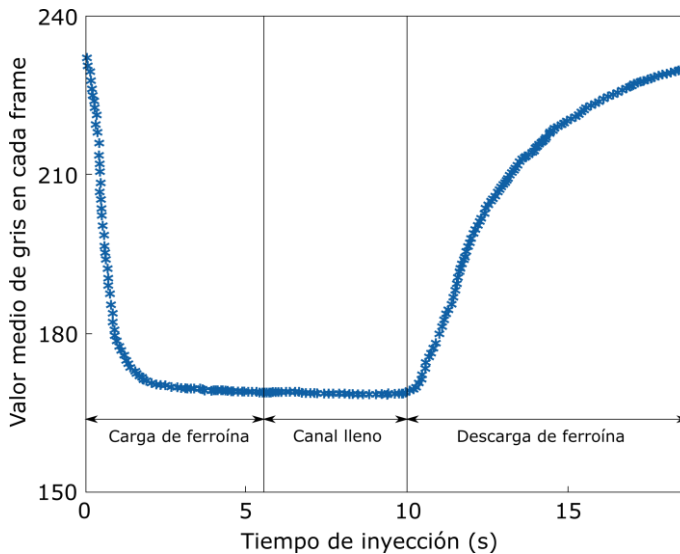


Figura 3.8. Evolución del colorante en el interior de la geometría. Se representa el valor medio de los grises en cada imagen considerada según la evolución del tiempo.

La secuencia de imágenes utilizadas para analizar las zonas de baja velocidad se inicia cuando el colorante comienza a entrar en el sistema, reduciéndose así la intensidad captada por la cámara. Una vez la concentración de ferroína en el interior del canal baja, la intensidad de luz captada por la cámara se incrementa hasta valores normales. Todas las imágenes ubicadas en la sección ‘Descarga de ferroína’ (Figura 3.8.) son sumadas pixel por pixel y se calcula la intensidad media en todos sus puntos. En la Figura 3.9 se muestra con detalle cómo se produce la entrada de ferroína y como esta influye en la detección de los valores de gris. En la imagen 1 de la Figura 3.9 se observa cómo, en los primeros instantes de inyección, el colorante se distribuye siguiendo las líneas de máxima corriente siendo las áreas de recirculación situadas en las paredes exteriores de la geometría las últimas en llenarse. Por el contrario, en la imagen 6 de la Figura 3.9 es fácilmente observable que estas áreas de recirculación son las últimas en vaciarse, indicativo del mayor tiempo de residencia de las partículas en esta zona.

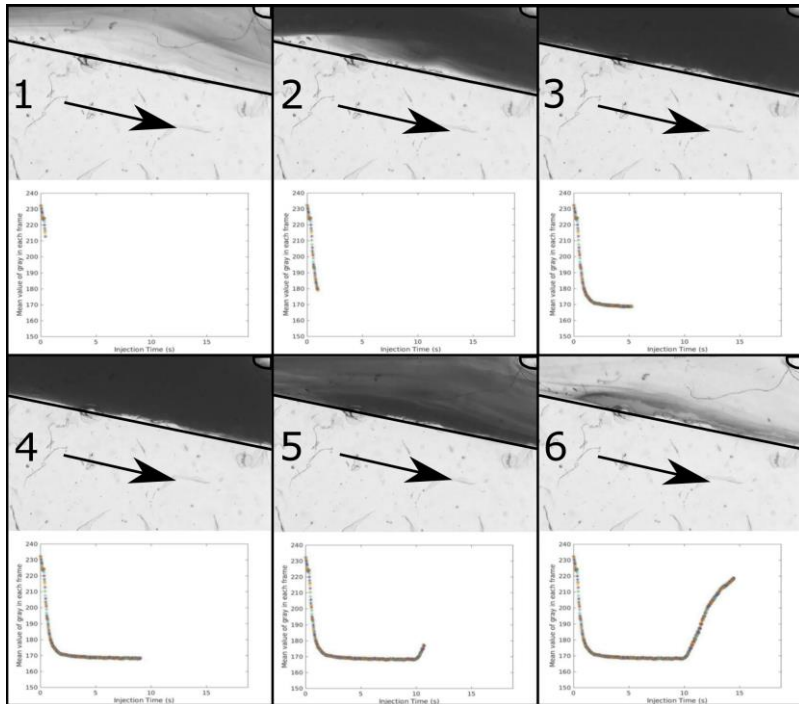


Figura 3.9. Evolución de la concentración del colorante (ferroína) en el canal desde su entrada (1) hasta el vaciado de la geometría (6) y representación del valor de gris en cada segundo del experimento

Siguiendo este proceso y dibujando el resultado de sumar todas las imágenes durante el proceso de descarga de ferroína, se obtiene una imagen de color que permite detectar aquellas zonas de baja velocidad (Figura 3.10). Este análisis es posible gracias a que, como se mencionaba anteriormente, el colorante que ocupa las áreas de baja velocidad es el último en salir de la geometría una vez se inicia el proceso de descarga.

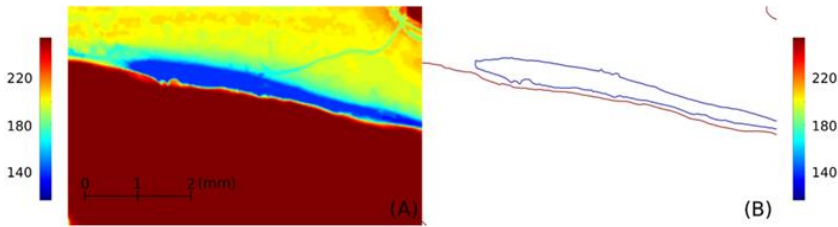


Figura 3.10. (A) Se representa en escala de color la distribución espacial de la solución de ferroína durante el período de descarga en el canal con ángulo de apertura de 25°. (B) Representación de los contornos de la pared (en rojo) y del área de recirculación (azul). El área dentro de la línea azul será el área usada para caracterizar la zona de baja velocidad.

De este modo, se define un método experimental para caracterizar las zonas de recirculación. Esta metodología, caracterizada por el uso de ferroína como marcador, no influye en las características del fluido ni en el comportamiento del flujo posibilitando así su análisis sin pérdida alguna de precisión.

3.3. RESULTADOS

3.3.1. Régimen estacionario

El comportamiento del flujo en el interior del canal se analiza desde un punto de vista computacional y experimental siguiendo los procedimientos explicados en el apartado 3.2. Así, se comparan las zonas de recirculación o baja velocidad, mostrándose los resultados en la Figura 3.11. En la columna de la izquierda (imágenes a, b y c) se muestra la distribución espacial de la solución de ferroína durante el período de descarga en cada zona del canal para tres ángulos diferentes de bifurcación. Las áreas representadas en color azul oscuro corresponden a zonas con una mayor concentración de colorante y están relacionadas con valores más bajos de velocidad y mayor tiempo de residencia y, por lo tanto, con zonas donde es más probable la deposición de partículas susceptibles de formar placa aterosclerótica. Las áreas representadas en rojo corresponden a las zonas exteriores al

canal (estructura de PDMS). El sentido del flujo es siempre de izquierda a derecha y solo se representa el brazo inferior de la bifurcación ya que el flujo en el brazo superior presenta un comportamiento similar debido a la condición de simetría entre existente entre ambos. Se puede observar como las regiones con velocidades más bajas se localizan siempre cerca de las paredes exteriores de la bifurcación. En estas regiones, el flujo se separa después de la bifurcación y el área de menor velocidad se crea en la zona de separación.

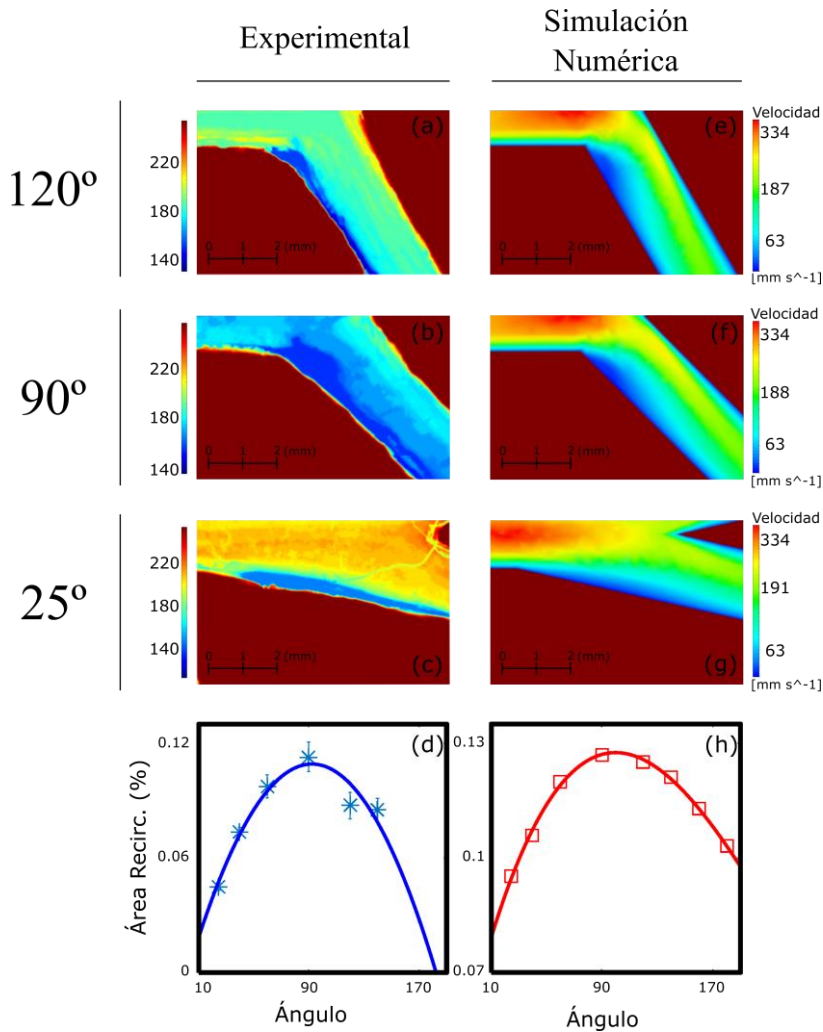


Figura 3.11. Comparación entre los datos obtenidos en la parte experimental y numérica para tres ángulos diferentes de bifurcación (25°, 90° y 120°). La primera columna (a, b, c) presenta mediante rango de colores la distribución espacial de la velocidad del flujo cuando la solución de sacarosa circula por el dispositivo a 27ml/min. La columna de la derecha (e, f, g) muestra el módulo de la velocidad del flujo considerando una velocidad de entrada de 0.2 m/s. Los paneles d y h representan las áreas de baja velocidad de todas las geometrías en los ensayos experimentales y numéricos respectivamente.

En la columna derecha (e, f, g) se realiza un análisis similar considerando los resultados obtenidos en las simulaciones numéricas. Cabe destacar que la región con mayor área de baja velocidad (en azul oscuro) ocurre para la geometría de 90° . En los dos gráficos situados en la parte inferior de la figura se representan los resultados para el resto de las geometrías analizadas. De este modo, se grafican el área de recirculación frente al ángulo de apertura. El área de baja velocidad se define como el área donde la velocidad de recirculación decae por debajo de un cierto valor umbral arbitrario y se normaliza por el área de observación. Se puede observar que existe un ángulo de apertura de aproximadamente 90° para el cual la región de baja velocidad de flujo alcanza un máximo. La región donde el flujo se ralentiza es significativamente más grande para este ángulo crítico lo que hace aumentar las posibilidades de que determinadas partículas (entre ellas las causantes de la formación de placa aterosclerótica como el LDL) se depositen en las inmediaciones de la pared del vaso sanguíneo (endotelio). Hay que tener en cuenta que los métodos para determinar la velocidad de recirculación en el caso experimental y numérico son diferentes por lo que los valores absolutos de ambos análisis no son iguales, aunque sí su comportamiento, que es el objeto del análisis propuesto.

Para dotar de mayor robustez al análisis de las zonas más propensas a la deposición de placa aterosclerótica, se analiza el comportamiento de la tensión de cizallamiento cerca del endotelio. La tensión de cizallamiento o *wall shear stress* (WSS) se representa habitualmente como σ y es una variable ampliamente utilizada para determinar aquellas zonas que son más propensas a la formación de placa. Esta magnitud tiene en cuenta la fuerza paralela que el movimiento del fluido ejerce sobre la pared del vaso sanguíneo, siendo $\sigma = 0$ cuando el fluido está en reposo o no existe circulación. Valores más bajos de WSS en la pared se relacionan con una mayor probabilidad de formación de placa y, por lo tanto, desarrollo de aterosclerosis [Vergallo *et al.*, (2014); Koskinas *et al.*, (2010)].

La Figura 3.12a muestra la variación del WSS en la pared exterior de la bifurcación coronaria medida como función de la distancia longitudinal al punto de bifurcación considerando las 8 geometrías

analizadas. Analizando esta evolución del WSS en cada geometría, se observa que el valor más bajo de WSS es obtenido para un ángulo de apertura de $\alpha=60^\circ$ (Figura 3.12b) teniendo en cuenta que la velocidad de entrada es de 0.2 m/s. Cambios en esta velocidad de entrada pueden provocar variaciones en el ángulo crítico en el cual se produce la deposición de partículas. Los resultados de este análisis se grafican en la Figura 3.12c donde es posible ver que, a medida que el número de Reynolds aumenta, el ángulo crítico se vuelve más pequeño por lo que se puede concluir que, para altas velocidades de flujo en arterias coronarias, los ángulos agudos son los más propensos a la formación de placa.

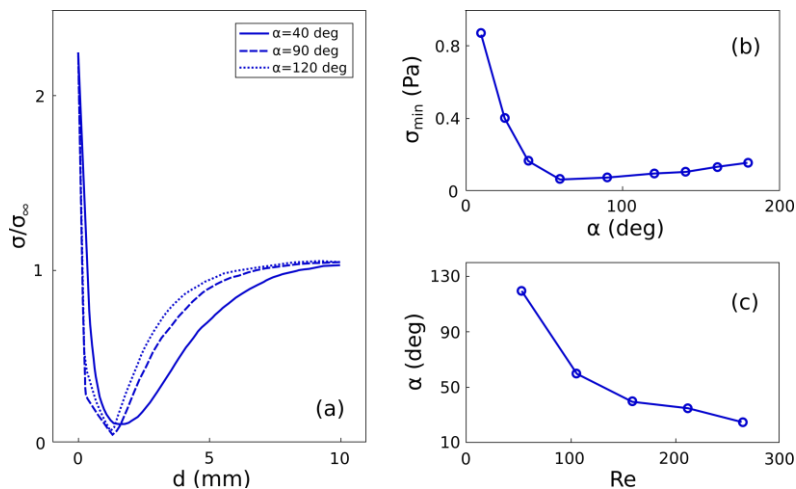


Figura 3.12. (a) Evolución de la tensión de cizallamiento (WSS) a lo largo de la pared exterior de la bifurcación para diferentes ángulos de apertura. $\sigma_\infty=1.55$ Pa. (b) Mínimo valor de WSS en función del ángulo de apertura α . (c) Evolución del ángulo crítico en función del número de Reynolds (Re)

Haciendo uso de un método similar al utilizado por *Martorell et al. (2014)* para determinar la presencia de las áreas de recirculación, se analiza la dirección de la velocidad y se compara con la dirección del vector que define el brazo de la bifurcación. (Figura 3.13.).

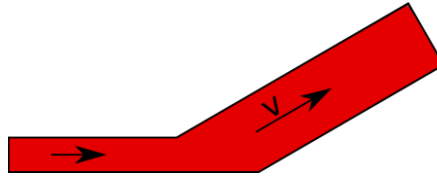


Figura 3.13. Representación los vectores de velocidad con dirección positiva

Así, si la velocidad es negativa, se considera que existe una zona de recirculación. Con estas consideraciones, se estudia la ocurrencia de recirculaciones para diferentes velocidades de entrada de flujo sanguíneo y se presentan los resultados obtenidos en la Figura 3.14.

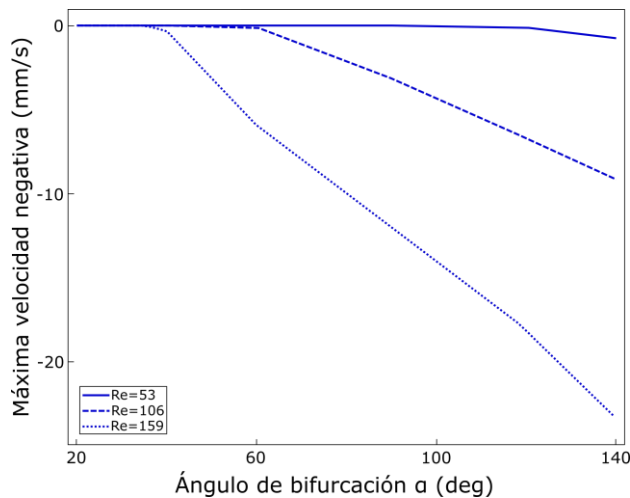


Figura 3.14. Máximo valor de velocidad negativa para diferentes valores α de ángulos de apertura y para diferentes valores de velocidad de entrada (0.1m/s, 0.2m/s, 0.3m/s)

El ángulo de ocurrencia de las zonas de recirculación (cuando aparece la velocidad negativa por primera vez) depende de la velocidad de entrada. Los resultados presentados son coherentes con el ángulo en el cual tiene lugar el menor valor de WSS. Cabe destacar que el ángulo de ocurrencia de la recirculación es menor a medida que se incrementa la velocidad de entrada en la geometría.

3.3.2. Régimen transitorio

Dado que el flujo sanguíneo se caracteriza por su dependencia temporal (flujo pulsátil) se realizan simulaciones numéricas considerando esta condición de entrada con el objetivo de verificar los resultados obtenidos en estado estacionario y comprobar si existe alguna variación en el comportamiento del flujo que pueda promover o mitigar la deposición de placa. Para ello, se utiliza un pulso basado en datos presentes en la literatura [*Chodzyński et al., (2015)*] y que se muestra en la Figura 3.15. Este pulso se caracteriza por un período de 0.81s que tiene su correspondencia en un pulso de 74 latidos por minuto. La evolución del WSS se mide en dos puntos concretos del pulso para todas las geometrías (el punto P1 se encuentra en la fase de sístole y el P2 en diástole) y los resultados obtenidos se pueden ver en la Figura 3.15 reflejando el mismo comportamiento que el obtenido mediante el análisis estacionario. Así, el valor mínimo de tensión se alcanza a un ángulo menor en el caso de la sístole (P1) y, a medida que baja la velocidad (diástole), el ángulo de apertura en el cual se produce un menor WSS aumenta hasta los 60°.

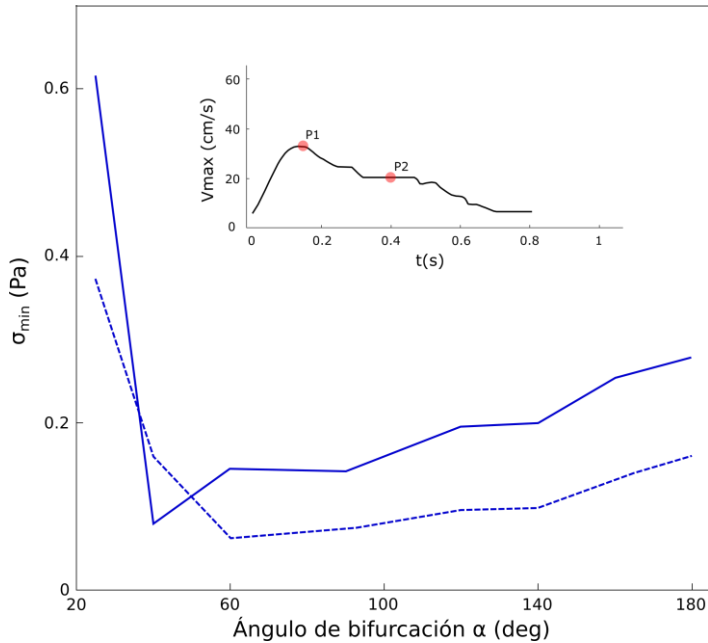


Figura 3.15. Mínimo valor de WSS en función del ángulo de bifurcación para dos instantes del pulso. La línea continua muestra el comportamiento de σ_{\min} en el instante P1 (sístole) mientras que su valor para cada ángulo en P2 se representa mediante una línea discontinua

3.4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A lo largo de este capítulo se ha descrito el comportamiento de la circulación sanguínea a través de bifurcaciones coronarias desde un punto de vista experimental (*in vitro*) y desde un punto de vista numérico (*in silico*). El estudio exhaustivo de ambos sistemas nos permite caracterizar las áreas de baja velocidad y, por lo tanto, aquellas zonas en las que es más probable la deposición de placa aterosclerótica. Los resultados obtenidos son equivalentes y demuestran que las zonas de baja velocidad y las zonas que alcanzan un menor valor de *wall shear stress* se localizan en las paredes exteriores de las bifurcaciones. Además, se ha detectado que existe un rango de ángulos críticos que podría hacer que determinadas bifurcaciones fueran más propensas a la deposición de partículas y, por lo tanto, a desarrollar enfermedades

coronarias. En algunos estudios, se ha analizado la incidencia que tiene el ángulo de la bifurcación en la formación de placa aterosclerótica obteniéndose resultados muy similares a los alcanzados en el presente estudio [Zhang *et al.*, (2016)]. Sin embargo, aunque existe un amplio consenso en situar la localización de las áreas con menor valor de *wall shear stress* en las inmediaciones de las paredes exteriores de las bifurcaciones, el efecto del ángulo de apertura no está todavía claro. Chiastra *et al.*, (2017) analizaron recientemente la influencia del ángulo de apertura y de la curvatura de modelos idealizados de bifurcaciones con y sin estenosis considerando para ello la bifurcación de la arteria coronaria izquierda (LAD) con la arteria diagonal. Las simulaciones numéricas que realizaron concluyen que el ángulo de bifurcación tiene un efecto menor en la hemodinámica local del vaso. Sin embargo, en este estudio se limita el análisis a un número pequeño de ángulos que caracterizan esta bifurcación (40° a 70°) cubriendo una parte muy pequeña del rango total de ángulos que se analizan en nuestro estudio. Otro estudio [Chaichana *et al.*, (2015)], que considera un mayor rango de ángulos (15° a 120°) y que establece modelos numéricos para la arteria coronaria izquierda, llega a la conclusión de que el patrón de flujo desordenado y los bajos valores de WSS se observan en modelos con ángulos comprendidos entre 110° y 120°, que difieren de los datos obtenidos en nuestro estudio donde el rango de ángulos más favorable al desarrollo de aterosclerosis es [60°, 90].

Dong *et al.*, (2015) analizaron la arteria principal izquierda (LMS) utilizando simulaciones numéricas bajo consideración de flujo pulsátil y concluyeron que los esfuerzos altos y valores bajos de *shear stress* oscilatorio ocurren de manera simultánea en la curvatura del brazo lateral de la bifurcación en modelos con ángulos de mayor amplitud. En régimen pulsátil, las medidas de estos parámetros pueden cambiar con el tiempo pero las áreas de baja velocidad siguen desarrollándose en las paredes exteriores de la bifurcación. La simulación de vasos sanguíneos elásticos, así como la consideración de fluido Newtoniano y no Newtoniano, parece que pueden ser importantes a la hora de estimar el tamaño e incluso la localización de áreas de bajo *wall shear stress* [Razavi *et al.*, (2014)].

En conclusión, nuestros resultados sugieren que las zonas de baja velocidad de flujo y bajo *wall shear stress* se localizan en las paredes exteriores de las bifurcaciones arteriales coronarias. Para el caso particular de un valor de velocidad igual a 0.2 m/s nos encontramos con que existe un ángulo crítico en las bifurcaciones cercano al rango [60°, 90°] que favorece la deposición y adhesión de partículas y, por lo tanto, es más propenso a la formación de placa aterosclerótica. Resultados complementarios a este estudio central que consideran flujo pulsátil y otras condiciones de entrada corroboran los resultados obtenidos y además aportan información adicional. Se muestra que el aumento de la velocidad en la entrada de la bifurcación cambia el rango del ángulo crítico a valores más pequeños y ángulos más agudos. Por otra parte, las conclusiones derivadas del presente trabajo pueden ser de ayuda a la hora de comprender la migración de células cancerígenas a través del torrente sanguíneo y el eventual desarrollo de metástasis.

Como resultado colateral, este estudio nos permitió validar el modelo numérico con medidas directas experimentales por lo que los estudios posteriores que emplean este modelo adquieren una mayor robustez y fiabilidad.

Capítulo 4

INFLUENCIA DE LA GEOMETRÍA DE LAS BIFURCACIONES CORONARIAS EN LA FORMACIÓN DE PLACA

Este capítulo incluye el contenido del siguiente artículo:

Otero-Cacho, A., Muñuzuri, A.P. The geometry of coronary artery bifurcations and its role in plaque formation. Status: Accepted (2021)

4.1. INTRODUCCIÓN

Las bifurcaciones arteriales coronarias presentes en el árbol arterial poseen habitualmente características singulares que afectan a diferentes ubicaciones dentro de la propia bifurcación. Dos de las áreas más afectadas por estas singularidades son el vértice de la bifurcación y la zona en la que se unen las paredes del vaso principal y las paredes de cada uno de los vasos hijo o secundarios. Esta transición entre el vaso

principal y los vasos hijo suele ser suave y su morfología, sobre todo la del vértice, puede cambiar con el tiempo por diferentes causas destacando, entre ellas, determinado tipo de intervenciones como el implante de stents.

Por ello, en el presente capítulo, que constituye una continuación al Capítulo 3 de la presente Tesis, se estudia la influencia de este tipo de singularidades geométricas considerando diferentes geometrías idealizadas de bifurcaciones, simétricas y asimétricas, cuyo diseño se basa en la bifurcación coronaria LMS-LAD-LCx y en otras bifurcaciones de morfología conocida. El estudio se centra en el análisis de variables de interés clínico y su variación en función de las características geométricas locales de las bifurcaciones ya que juegan un papel muy importante en el comportamiento del flujo sanguíneo y en la circulación de partículas.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Geometría

4.2.1.1. Bifurcaciones arteriales simétricas

En primer lugar, se diseña una bifurcación coronaria simétrica con el objetivo de analizar en ella las zonas más propensas a la deposición de placa. Concretamente, se va a realizar una evaluación de la influencia del radio de curvatura sobre el flujo en la unión del vaso madre y de los vasos hijo (paredes exteriores de la bifurcación) y entre los dos vasos hijo (vértice) para lo cual se considera una bifurcación arterial con los diámetros de todos sus vasos iguales, similar a la diseñada en el Capítulo 3. Así, la geometría estará formada por un vaso principal o madre de 2mm de diámetro (D_1) que se bifurca en dos vasos hijo o secundarios del mismo diámetro ($D_1 = D_2 = D_3 = 2\text{mm}$).

Con el objetivo de caracterizar la topología de la bifurcación, se introducen dos parámetros en el modelo. Uno de los parámetros describe el radio de curvatura de la pared exterior de la bifurcación (R_o), caracterizando así la morfología de la transición entre el vaso madre y

los vasos hijo. Por otra parte, también se considera la curvatura de la pared que define la transición de la pared entre los dos vasos hijo, quedando definida por el parámetro R_v . La Figura 4.1 presenta un esquema de una configuración simétrica en el que se detallan los parámetros R_o y R_v .

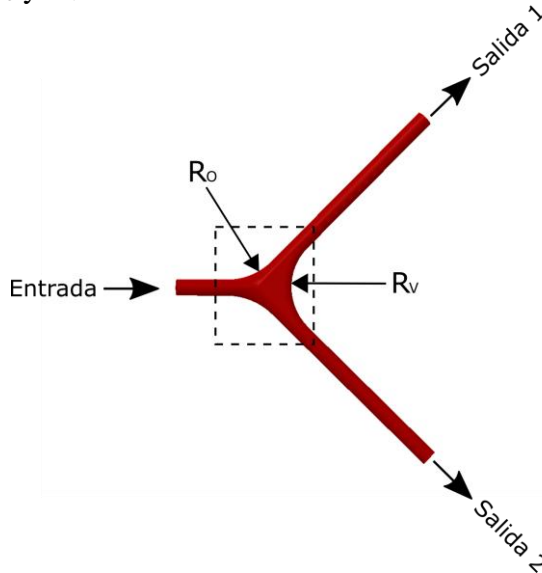


Figura 4.1. Esquema general de una bifurcación simétrica. Los valores mínimos de *wall shear stress* se localizan justo después de que el vaso principal se bifurque en dos. R_o es el radio de curvatura de la pared exterior y R_v es el radio de curvatura del vértice o de la pared que conecta los dos vasos hijo.

4.2.1.2. Bifurcaciones arteriales asimétricas

Para la realización de un segundo análisis, se construyen dos configuraciones idealizadas de bifurcaciones asimétricas. En la primera configuración, el diámetro proximal del vaso madre D_1 se mantiene constante con el correspondiente tramo distal D_3 ($D_1 = D_3 = 2\text{mm}$). El diámetro del vaso lateral D_2 varía desde 0.5 a 2 mm (Figura 4.2).

Por otra parte, se considera una aproximación de otra configuración observada en arterias coronarias que consiste en la disminución del diámetro del vaso una vez sobrepasada la bifurcación. Esta reducción

en los diámetros ha sido modelada por la ley de Finet [Finet *et al.*, (2008)] que es ampliamente usada en aplicaciones clínicas [Rigatelli *et al.*, (2018); Gwon, (2018)] y que se describe como sigue:

$$D_1 = 0.678 \cdot (D_2 + D_3) \quad (4.1)$$

El diámetro de entrada del segmento proximal del vaso principal se considera siempre igual a $D_1 = 2\text{mm}$ para todas las simulaciones. A su vez, se consideran tres diámetros diferentes (1.0, 1.5 y 2.0 mm) para el vaso lateral y la parte distal del vaso principal se calcula haciendo uso de la fórmula de Finet. Con el objetivo de mantener la consistencia con la evidencia fisiológica, el segmento distal del vaso principal se considera siempre más pequeño que el diámetro del segmento proximal [Hoye (2017)].

Además de fijar los diámetros de la entrada y de cada una de las salidas, es necesario definir los ángulos de apertura del vaso hijo con respecto al vaso principal. En este estudio se consideran cuatro ángulos diferentes de apertura para ambas configuraciones (20°, 40°, 60°, 90°). En la Figura 4.2. puede observarse un esquema con los principales parámetros de control, así como la notación usada.

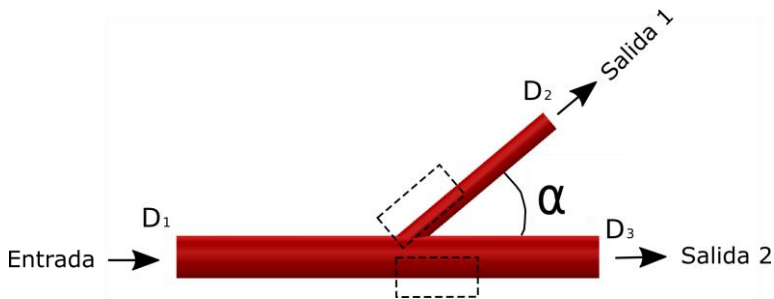


Figura 4.2. Esquema general de las bifurcaciones asimétricas. Valores mínimos de *wall shear stress* (WSS) se localizan típicamente en la pared exterior del vaso lateral y en el vaso principal justo después de la bifurcación (áreas marcadas con líneas discontinuas) Los parámetros de control son el ángulo (α) y los diferentes diámetros de los vasos considerados

4.2.2. Malla

Se construye una malla 3D usando el software Simcenter StarCCM+ [*StarCCM+*]. La malla considerada está compuesta por prismas rectangulares y poliédricos distribuidos de la siguiente forma: los prismas poliédricos ocupan la parte central de la geometría mientras que los elementos rectangulares se usan para crear capas cerca de la pared y captar de forma más precisa los fenómenos que allí ocurren (Figura 4.3)

Además, con el objetivo de asegurar que los resultados obtenidos son independientes de la malla considerada, se construyen tres mallas con un número diferente de elementos y tamaño haciendo que todas las simulaciones se ejecuten con cada una de ellas.

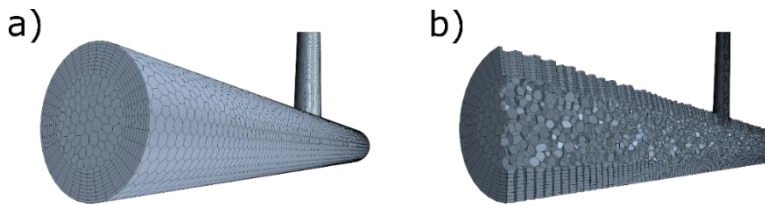


Figura 4.3. a) Malla en la geometría con ángulo de apertura $\alpha = 60^\circ$ b) Detalle de la distribución de los elementos de la malla en el interior de la geometría. Los elementos poliédricos conforman la parte central de la geometría mientras que el refinamiento se aplica cerca de la pared

Los valores de máxima velocidad y mínimo WSS se estudian para cada malla, siendo las diferencias entre ellos siempre menores del 5% en todas las configuraciones. Los detalles del análisis de malla para un ángulo $\alpha = 20^\circ$ en una bifurcación asimétrica considerando la primera de las configuraciones ($D_1 = D_3$) se presentan en la Tabla 4.1:

Tabla 4.1. Análisis de independencia de malla. Las variables de control son la velocidad y los valores de WSS para diferentes configuraciones de malla en el caso asimétrico ($D_1 = D_3 = 2\text{mm}$; $D_2 = 1\text{mm}$, $\alpha = 20^\circ$). Se realiza un análisis equivalente para todas las otras configuraciones consideradas con resultados similares (error inferior al 5% en todos los casos)

	a)	Parámetros		b)	Variaciones	
	Número de elementos	Máxima velocidad (m/s)	Mínimo WSS (Pa)		Máxima velocidad	Mínimo WSS
M1	91255	M1 0.3643978	0.6071796	M1	--	--
M2	72893	M2 0.3642983	0.6139590	M2	0.03%	1,10%
M3	63378	M3 0.3663937	0.6120392	M3	0,69%	0.79%

Dados los resultados obtenidos en el test de mallado, se opta por utilizar la Malla 1 (M1) con el objetivo de optimizar los recursos computacionales disponibles.

4.2.3. Modelo numérico

La circulación sanguínea se modela considerando la sangre como un fluido Newtoniano incompresible cuya densidad y viscosidad son 1060 kg/m^3 y $0.004 \text{ Pa}\cdot\text{s}$ respectivamente [Otero-Cacho et al., (2018); Kim et al., (2009)] manteniéndose constantes ambas variables a lo largo de todo el estudio.

Como consideración general, se asume que los vasos sanguíneos son rígidos con condición de no deslizamiento en la pared, que la velocidad de entrada en el dominio es de 0.2 m/s [Chodzyński et al. (2016)] y que la presión en las salidas es atmosférica [Decorato et al., (2014); Byun et al. (2016)].

El número de Reynolds en todas las simulaciones es menor de 400 por lo que se garantiza en todas ellas un flujo laminar. Por último, se establece un criterio de convergencia basado en la reducción de residuales en cinco órdenes de magnitud que permite asegurar que la simulación ha llegado a un estado estacionario.

4.3. RESULTADOS

Habitualmente, los estudios relacionados con el flujo sanguíneo en arterias coronarias se centran en una bifurcación arterial idealizada con el vértice en forma de pico (afilado). Sin embargo, la geometría real de la bifurcación en el interior del cuerpo humano es bastante más complicada y en esta sección se van a tener en cuenta aspectos relacionados con estas singularidades geométricas.

4.3.1. Geometría simétrica. Efecto de la topología del vértice

En condiciones reales, la transición de la pared del vaso principal de la bifurcación al vaso hijo y la transición entre los vasos hijo es suave y puede presentar un gran número de configuraciones. Con el objetivo de incorporar la mayoría de ellas, dos parámetros son introducidos en una bifurcación simétrica tratando de emular las condiciones fisiológicas reales (como se describe en el apartado 4.2.1.1). Los dos parámetros que se pueden observar en la Figura 4.1 describen el radio de curvatura de la pared exterior de la bifurcación (R_o) y el radio de curvatura de la pared interna de la bifurcación (R_v). En todas las simulaciones, los diámetros internos de todos los vasos se consideran iguales ($D_1 = D_2 = D_3$). En la Figura 4.4, se realiza un resumen de las diferentes configuraciones.

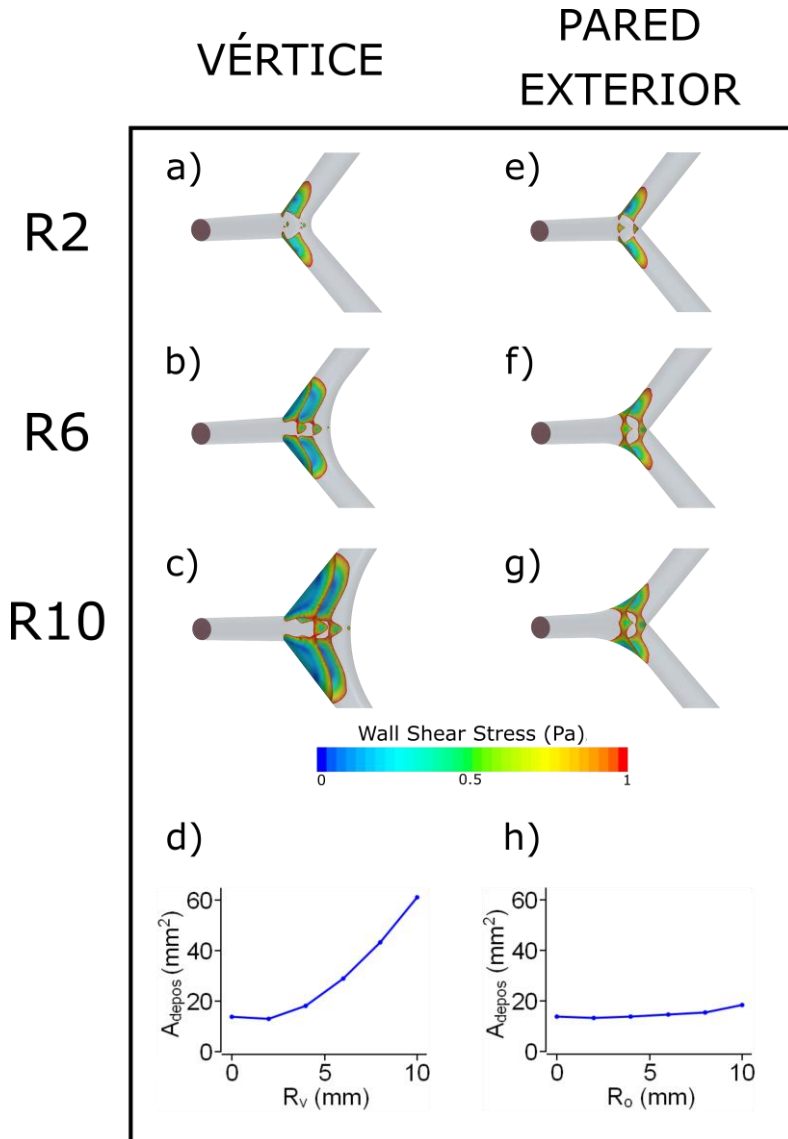


Figura 4.4. Efecto del radio de curvatura (R_v y R_o) en la distribución del WSS en una bifurcación simétrica. (a) $R_v=2$ y $R_o=0$ mm. (b) $R_v=6$ mm and $R_o=0$ mm. (c) $R_v=10$ mm and $R_o=0$ mm. (d) Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_v ($R_o=0$ mm). (e) $R_v=0$ mm y $R_o=2$ mm. (f) $R_v=0$ mm and $R_o=6$ mm. (g) $R_v=0$ mm y $R_o=10$ mm. (h) Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_o ($R_v=0$ mm)

Las Figuras 4.4a a 4.4c muestran diferentes configuraciones variando el diámetro interior (R_v) y en ellas se representa, en gama de colores, la distribución del WSS a lo largo de la geometría. Se observa claramente que incrementando R_v se obtienen mayores valores de áreas con bajo WSS y, por lo tanto, de riesgo vascular. Las áreas donde el WSS es menor de 1Pa se miden para cada experimento estando representados sus valores en la Figura 4.4d que las relaciona con el R_v . Esta curva muestra claramente la importancia del papel que juega la morfología del vértice en la formación de áreas con alta probabilidad de formación de placa.

El efecto del radio externo de las bifurcaciones, R_o , se muestra en las Figuras 4.4e a 4.4h. Las Figuras 4.4e a la 4.4g representan las diferentes geometrías de la bifurcación para diferentes valores de R_o considerados y en ellas se representan los valores de bajo WSS (menor de 1Pa). Todos los valores de las áreas con WSS menor de 1Pa se grafican frente al R_o en la gráfica 4.4h. Cabe destacar que el efecto del radio externo de curvatura es mucho menos significativo que el R_v pero, aun así, es posible observar un ligero aumento de las áreas de riesgo con el aumento de R_o . Este efecto también ha sido estudiado bajo la consideración de flujo de entrada pulsátil. Para ello, además de este flujo pulsátil, se impone en las salidas una condición de presión constante de 10000 Pa con el objetivo de simular las condiciones reales de presión en el árbol arterial [Sinnott *et al.*, (2006)]. El perfil de velocidad que caracteriza al pulso es extraído de bibliografía [Chodzyński *et al.* (2015)] y se describe en la Figura 4.5.

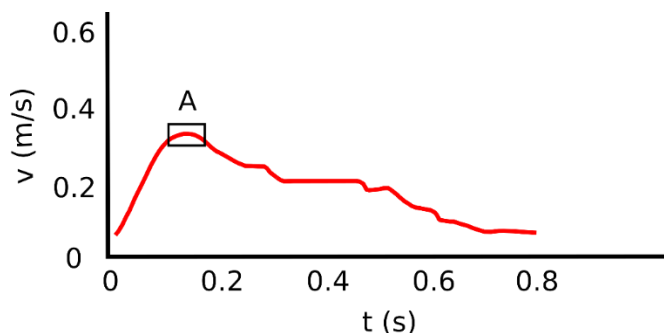


Figura 4.5. Perfil de velocidad de un pulso cardíaco de 0.81 segundos de período

Concretamente, el estudio se centra en la fase sistólica del pulso porque es en esta parte del ciclo cardíaco donde se generan las zonas de recirculación de mayor tamaño. Las mediciones se realizan una vez transcurren los 5 primeros pulsos con el objetivo de lograr la estabilización del flujo y evitar artefactos presentes al inicio de la simulación (durante el llenado de la geometría). Los resultados se representan en la Figura 4.6:

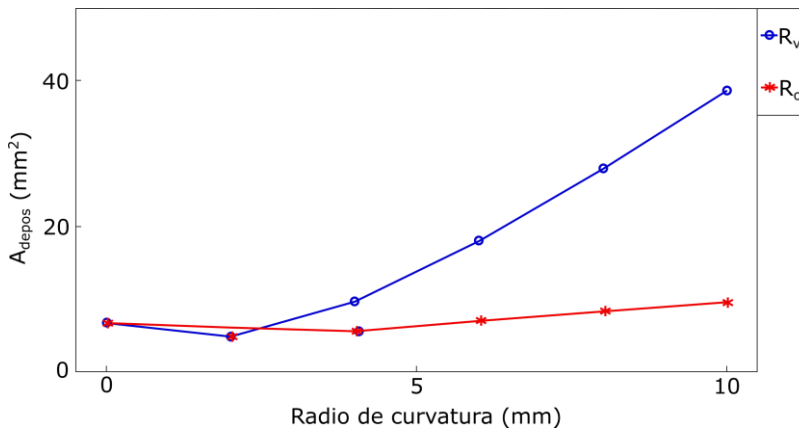


Figura 4.6. Área con bajo WSS (menos de 1Pa) en función del radio de curvatura en la pared exterior y en el vértice

Cabe destacar que los resultados obtenidos son muy similares a los presentados en la Figura 4.4 siendo el efecto del radio de curvatura R_v mucho más importante que R_o .

La velocidad del flujo en los vasos sanguíneos también varía en función de la proximidad al músculo cardíaco y a otro tipo de circunstancias por lo que, en una segunda parte del presente estudio, se considera el efecto del número de Reynolds en la posible deposición de placa en los vasos objeto de estudio. Para ello se va a analizar la evolución del área de las regiones caracterizadas por valores bajos de WSS (menor de 1Pa) cuando se introducen variaciones en los radios de curvatura (R_v y R_o) y en el número de Reynolds. Así, se consideran seis valores diferentes de número de Reynolds ($Re = 106, 159, 212, 265, 318, 371$) que corresponden a diferentes velocidades de flujo ($v = 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6$ y 0.7 m/s).

La Figura 4.7 muestra el efecto de las dos curvaturas (R_v , Figura 4.7A y R_o , Figura 4.7B) en el área de deposición o área con WSS menor a 1Pa para los diferentes números de Reynolds considerados.

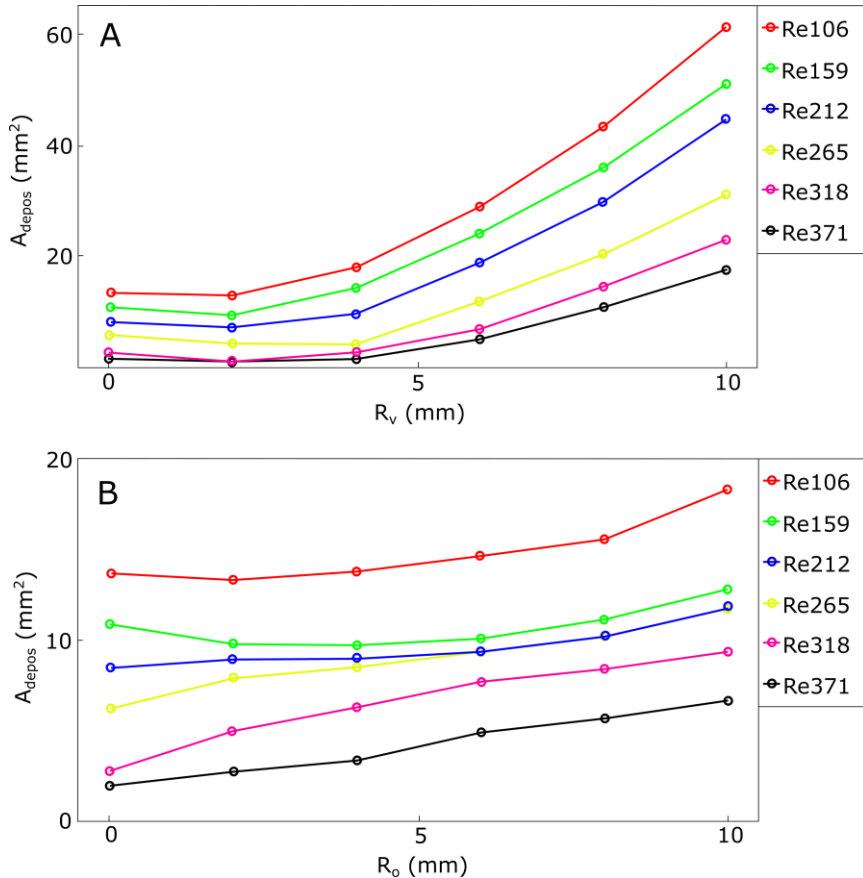


Figura 4.7. Área de deposición (A_{depos}) frente a **A.** Radio de curvatura R_v (con $R_o=0\text{mm}$) y **B.** Radio de curvatura R_o (con $R_v=0\text{mm}$) para diferentes valores del número de Reynolds (Re). El resto de los parámetros del modelo se mantienen como en las simulaciones previas

Cabe destacar que, a medida que el número de Reynolds aumenta, las áreas más propensas a la deposición de partículas (aquellas caracterizadas por $WSS < 1\text{Pa}$) decrecen independientemente del valor de R_v o R_o . A su vez, se observa que la influencia de la curvatura en la

Cap. 4. Influencia de la geometría en la formación de placa

pared interior de la bifurcación (R_v en Figura 4.7A) es más fuerte que R_o (Figura 4.7B). A medida que el número de Reynolds decrece, el efecto de R_v se vuelve más importante y las áreas con bajo WSS se vuelven más extensas.

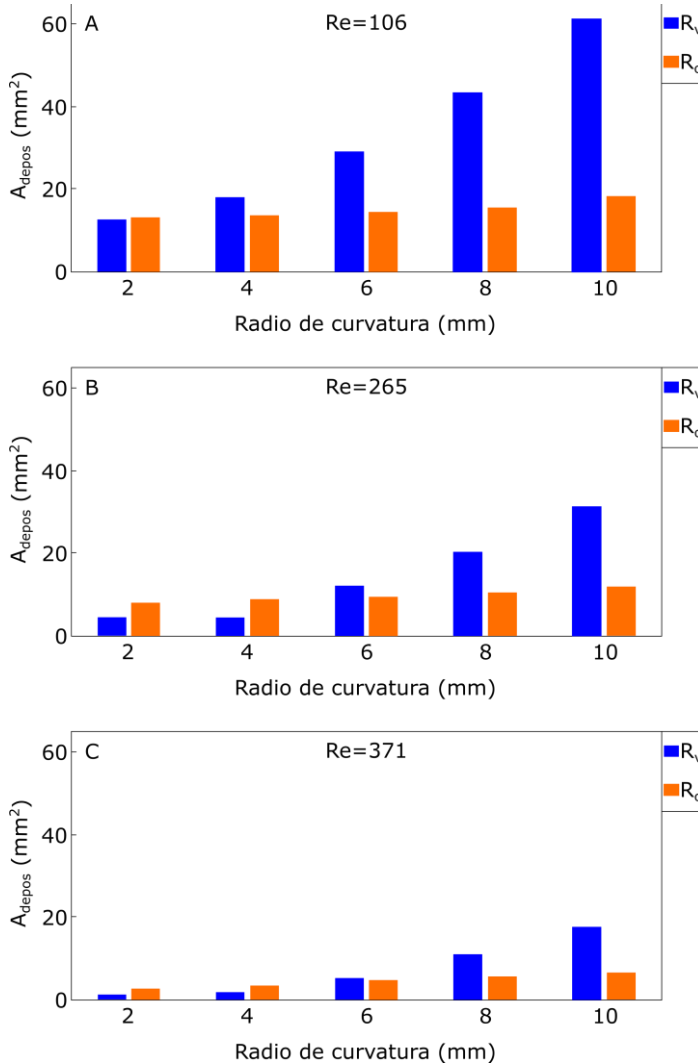


Figura 4.8. Variación del área de deposición (A_{depos}) con los dos radios de curvatura en la bifurcación (R_v y R_o) para tres valores diferentes de número de Reynolds; A. $Re=106$, B. $Re=265$ y C. $Re=371$.

La Figura 4.8 muestra una comparación del efecto de los dos radios de curvatura considerando tres números de Reynolds diferentes. Las áreas caracterizadas por un bajo WSS (A_{depos}) decrecen a medida que el número de Reynolds aumenta en todas las configuraciones. Además, a medida que se incrementa el radio de curvatura, se hace más evidente que R_v ejerce una mayor influencia en el flujo que R_o . Así, un radio de curvatura más grande en la parte interior de la bifurcación da como resultado mayores áreas de WSS. Este efecto es también modulado por el número de Reynolds. Cuando el número de Reynolds es igual a 106, las áreas con WSS menor de 1 Pa empiezan a volverse significativamente mayores desde $R = 4\text{mm}$. Cuando $Re = 265$ este fenómeno ocurre desde $R = 6\text{mm}$ y cuando $Re = 371$ ocurre desde $R = 8\text{mm}$. Así, podemos observar que la influencia de la geometría en la distribución del WSS está afectada por el número de Reynolds y, por lo tanto, por la velocidad del fluido.

4.3.2. Geometría asimétrica con $D_1 = D_3$

Se considera la bifurcación descrita en la Figura 4.2 con diámetro del tramo proximal del vaso madre (D_1) igual al diámetro del tramo más distal (D_3). Así, los dos parámetros a analizar son el diámetro del vaso lateral (D_2) y el ángulo de este vaso con la dirección del vaso principal. De este modo, se diseñan varias simulaciones cambiando el diámetro del vaso lateral ($D_2 = 0.5, 1.0, 1.5$ y 2 mm) y el ángulo ($\alpha = 20^\circ, 40^\circ, 60^\circ$ y 90°). Cabe destacar que, en el vaso principal, valores bajos de WSS ocurren justo después de la bifurcación y en la pared exterior mientras que, en el vaso lateral, estos valores de WSS ocurren en la pared exterior inmediatamente después del vértice (Figura 4.2).

Cap. 4. Influencia de la geometría en la formación de placa

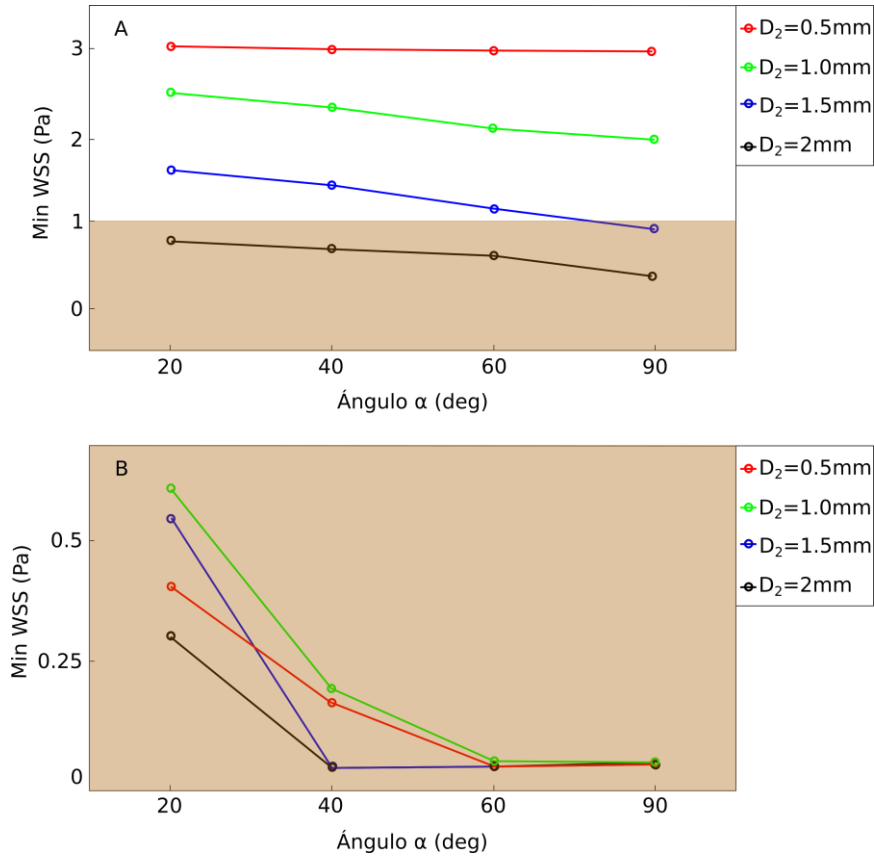


Figura 4.9. Variaciones de los valores mínimos de WSS en A. tramo distal del vaso y B. vaso lateral considerando diferentes ángulos y diámetros (D_2). Las geometrías cuyos valores mínimos de WSS están en la región coloreada de marrón son más propensas a la formación de placa

El resultado de la evolución del WSS en las bifurcaciones está recogido en la Figura 4.9. La Figura 4.9A representa el mínimo valor de WSS para cada par D_2 y α en la pared exterior del vaso principal después de la bifurcación. Este efecto se acentúa para el caso $D_2 = 1.5$ mm o superior, donde el aumento del ángulo produce valores de mínimo WSS por debajo de los valores considerados seguros para la formación de placa.

El mínimo WSS medido en el brazo lateral se grafica en la Figura 4.9B para el mismo caso que el considerado en la Figura 4.9A. El

mínimo WSS alcanza un máximo para $\alpha = 20^\circ$ independientemente de D_2 y después da un salto, alcanzando un valor mínimo para $\alpha = 60^\circ$ y $\alpha = 90^\circ$. Cabe destacar que todos los valores están por debajo del umbral de 1Pa por lo que la pared exterior del vaso lateral cumple las condiciones de deposición de placa en todos los casos analizados.

4.3.3. Geometría asimétrica siguiendo la ley de Finet

La configuración arterial que se estudia en esta sección está más cerca de aquellas que se encuentran realmente en el cuerpo humano. Aquí, el diámetro de los vasos no se conserva sino que sigue la ley de Finet (Ecuación 4.1). Los parámetros de control considerados en estas simulaciones son el diámetro interior del vaso lateral (D_2), que también define el diámetro del tramo distal del vaso (D_3), y el ángulo de apertura de la bifurcación (α). Los resultados están contenidos en la Figura 4.10.

Cap. 4. Influencia de la geometría en la formación de placa

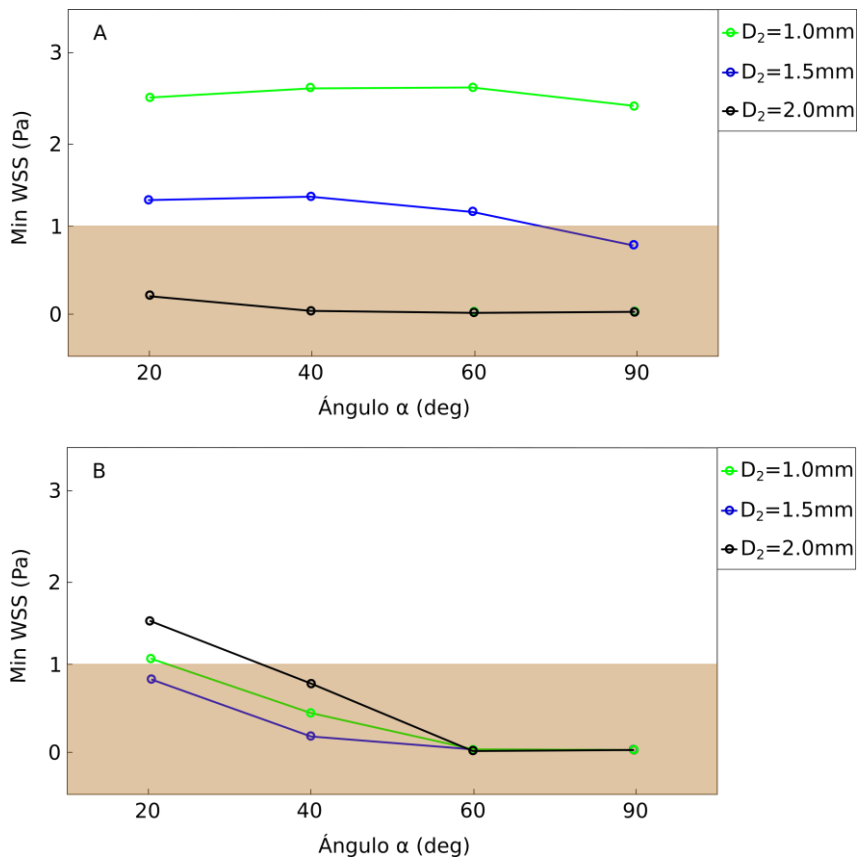


Figura 4.10. Variación de los valores mínimos de WSS **A.** en el tramo distal del vaso principal o vaso madre y **B.** en el vaso lateral considerando diferentes ángulos y diámetros. Las geometrías cuyos valores mínimos de WSS están coloreados en marrón son más propensos a la formación de placa.

La Figura 4.10A muestra la variación del mínimo valor de WSS en la pared exterior del tramo distal del vaso principal y la Figura 4.10B corresponde con los valores relativos al vaso lateral. Cabe destacar que el valor de $D_2 = 0.5$ mm no está representado ya que se trata de una configuración que no se encuentra de manera natural en el cuerpo humano con D_3 mayor que D_1 .

El comportamiento del WSS en esta segunda configuración es muy similar a la observada en la primera (donde el radio proximal y distal eran iguales a 2mm). Las geometrías con mayor radio del vaso lateral

presentan mayor riesgo de formación de placa en el vaso madre (Figura 4.10A). Este efecto es más significativo cuando se analiza el vaso lateral (Figura 4.10B). Cabe destacar también que se observa un valor mínimo entre los valores mínimos de WSS y que este se alcanza para $\alpha = [60^\circ, 90^\circ]$ para todas las configuraciones. Sin embargo, los valores absolutos son mucho mayores que en el caso anterior descrito en la Figura 4.9.

4.3.4. Geometría asimétrica. Efecto de la topología del vértice

Al igual que en el caso de las bifurcaciones simétricas, es importante conocer la influencia de la forma del vértice y de la transición de la pared exterior del vaso en la evolución de las áreas de bajo WSS cuando se trata de bifurcaciones asimétricas. Así, se realiza un estudio similar al mostrado en la Figura 4.4 considerando bifurcaciones con ángulo de apertura de 60° y el mismo diámetro para todos los segmentos del vaso. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 4.11. En ella se puede observar un comportamiento muy similar al caso simétrico con una mayor influencia de la morfología del radio de curvatura en el vértice sobre las zonas con bajo WSS y una influencia mucho menor del radio exterior.

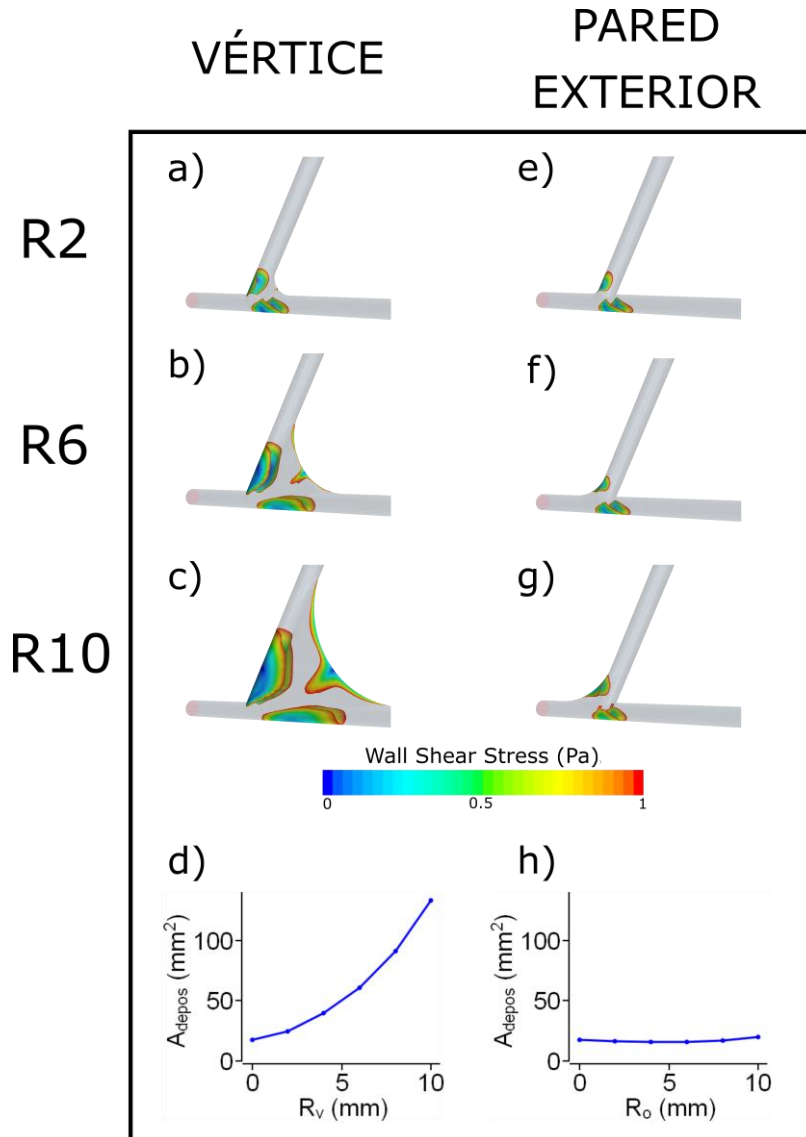


Figura 4.11. Efecto del radio de curvatura (R_v y R_o) en la distribución del WSS en una bifurcación asimétrica. (a) $R_v=2$ y $R_o=0$ mm. (b) $R_v=6$ mm and $R_o=0$ mm. (c) $R_v=10$ mm and $R_o=0$ mm. (d) Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_v ($R_o=0$ mm). (e) $R_v=0$ mm y $R_o=2$ mm. (f) $R_v=0$ mm and $R_o=6$ mm. (g) $R_v=0$ mm y $R_o=10$ mm. (h) Área con bajo WSS (menos de 1 Pa) o área de deposición en función de R_o ($R_v=0$ mm)

4.4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Las bifurcaciones se encuentran distribuidas a lo largo de todo el sistema arterial y juegan un papel crucial en la dinámica de la sangre. Comprender su papel en la circulación es de gran interés ya que influye decisivamente en la deposición de partículas en la pared arterial dando lugar, en ocasiones, al desarrollo de enfermedades como la aterosclerosis. Se ha demostrado que la morfología de las bifurcaciones influye fuertemente en la formación de placa. A lo largo de este capítulo se han presentado los resultados de simulaciones numéricas que analizan diferentes geometrías de bifurcaciones de vasos idealizados. Estos resultados complementan a los obtenidos en el capítulo anterior y que fueron validados con medidas experimentales *in vitro*.

Debido a que las bifurcaciones son áreas del árbol coronario en las que hay un cambio en las condiciones de flujo que promueven la formación de placa aterosclerótica, las bifurcaciones de las arterias coronarias han sido ampliamente estudiadas en la literatura. *Morbiducci et al., (2016)* hicieron una revisión sobre qué factores afectan a la variación del WSS y la formación de placa, llegando a la conclusión de que la geometría (junto con otros factores biológicos y hemodinámicos) afecta de forma decisiva. *Pinho et al., (2019)* y *Gallo et al., (2012)* utilizan en sus estudios geometrías arteriales reales extraídas de una imagen médica. Mientras *Pinho et al., (2019)* observan que valores más bajos de parámetros como la tortuosidad o el área de sección transversal de la rama ventricular derecha conducen a condiciones hemodinámicas susceptibles de formación de placa de ateroma, *Gallo et al., (2012)* demuestran que existe una fuerte relación entre los patrones de flujo helicoidal y la exposición a perturbaciones en la bifurcación carotídea. Otros factores como la presencia de estenosis [*Frattolin et al., (2015)*; *Chiastra et al., (2017)*], ángulo de la bifurcación [*Beier et al. (2016)*, *Chiastra et al., (2017)*, *Otero-Cacho et al., (2018)*] y el comportamiento elástico de las paredes [*Malvè et al., (2012)*] tienen influencia en la evolución de la formación de placa y en la distribución de la presión en los vasos sanguíneos.

En comparación con la literatura existente, este trabajo se centra en un estudio exhaustivo de la influencia de la morfología del vértice y la

unión entre vasos en la distribución del flujo sanguíneo y la formación de placa. Además, se estudian otros parámetros como el ángulo de apertura y el diámetro de los vasos sanguíneos para comprender mejor su influencia en la distribución del flujo.

La primera parte de la investigación identifica el importante papel que juega la topología de la propia bifurcación. Cualquier bifurcación se caracteriza por la curvatura de las paredes entre los dos vasos secundarios después de la ramificación (radio de curvatura del vértice, R_v) y la curvatura entre el vaso madre y cualquiera de los vasos secundarios (radio de curvatura exterior, R_o). Nuestras simulaciones identifican claramente a R_v como un parámetro crítico que puede aumentar significativamente el área de depósito de placa y, por tanto, el riesgo de enfermedades coronarias. Estos resultados concuerdan con los publicados por *Perktold et al. (1990)*. En este trabajo, los autores analizaron las bifurcaciones en forma de T y obtuvieron que, además del ángulo de bifurcación, la suavidad del vértice de la arteria influye significativamente en el esfuerzo cortante local. Así, un vértice con una morfología más afilada conduce a un valor de WSS menor.

En la segunda parte del estudio, se analiza el efecto de las características de flujo, determinadas principalmente por el número de Reynolds (Re), observando que valores elevados de Re reducen las áreas de depósito de placa y, por tanto, los riesgos coronarios.

Teniendo en cuenta las diferentes geometrías de las bifurcaciones, podemos determinar los parámetros críticos que hacen que las áreas propensas a la formación de placa aterosclerótica sean más grandes. Cabe destacar que el modelo mediante el que se analizaron las bifurcaciones simétricas y asimétricas permite acceder a condiciones y detalles que ningún experimento puede alcanzar.

Es importante señalar que el uso de modelos matemáticos se está volviendo más popular ya que permite investigar un conjunto completo de condiciones con un detalle en la resolución y el número de fenómenos observables que no es accesible a través de experimentos tradicionales *in vivo*. Esto hace que este tipo de investigaciones sea de gran valor para la comunidad científica ya que proporciona información valiosa que de otra manera no es accesible y es susceptible de ser utilizada en el diseño de experimentos *in vivo*.

Capítulo 5

DETERMINACIÓN DE INDICADORES CARDIOLÓGICOS POR MÉTODOS NO INVASIVOS

La metodología descrita en el presente capítulo, los resultados y las conclusiones han dado lugar a la solicitud de la siguiente patente:

EP20383157.3 “Método no invasivo para determinar un indicador de daño vascular” [FlowReserve Labs S.L., Universidade de Santiago, Servizo Galego de Saúde (SERGAS)]. Autores: Otero-Cacho, A., López-Otero, D., García-Campos, A., Pérez-Muñuzuri, V., P. Muñuzuri, A., González-Juanatey

5.1. INTRODUCCIÓN

El análisis de determinadas variables, como el WSS, en geometrías idealizadas es de gran interés cuando el objetivo es evaluar el comportamiento general del flujo y la incidencia de estas variables, por ejemplo, en la formación de placa aterosclerótica. Sin embargo, si se desea realizar un análisis del comportamiento del flujo de forma

personalizada a cada paciente, es necesario considerar las características particulares que definen la geometría de su árbol coronario y las características físicas que afectan al comportamiento del flujo (presión arterial). Por ello, en este capítulo se va a definir una metodología que permite simular de forma precisa la circulación sanguínea en el árbol coronario de cada paciente. Para ello, se utilizará un modelo en 3D de orden completo mediante el cual se realizará la simulación del flujo sanguíneo a partir de imágenes de TAC (Tomografía Axial Computarizada) de diferentes pacientes. A partir de esta recreación, se analizarán parámetros de interés clínico, prestando especial atención al FFR (Reserva Fraccional de Flujo), que se apoyará en otros parámetros como el *wall shear stress* (WSS), la resistencia de la estenosis (SR) o el $\Delta\text{FFR}_{\text{ct}}$, haciendo así más robusto su carácter diagnóstico. Se trata, pues, de un enfoque completamente distinto al de los Capítulos 3 y 4 en los que se analizaban geometrías idealizadas con el objetivo de caracterizar el comportamiento general de cada variable física. En virtud del convenio de colaboración entre la Universidade de Santiago de Compostela (USC) y el Servizo Galego de Saúde (SERGAS), los resultados obtenidos se comparan con medidas directas del FFR obtenidos en pacientes anónimos mediante técnicas invasivas llevadas a cabo en el Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (CHUS). El hecho de realizar un análisis paciente a paciente constituye un importante avance en el campo de la medicina personalizada, contribuyendo al bienestar del paciente y a la eficiencia del sistema sanitario que se beneficie de este tipo de tecnologías.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Población objeto de estudio

Se estudian un total de 18 pacientes con diferentes edades y patologías asociadas que se especifican en la siguiente tabla:

Tabla 5.1. Características de los pacientes y enfermedades previas: HT (hipertensión), DM (diabetes mellitus), DLP (dislipidemia), PAD (enfermedad arterial periférica).

Paciente	Edad	Género	HT	DM	DLP	PAD	Fumador/a
01	45	Mujer	✓	x	x	x	✓
02	72	Varón	✓	x	✓	x	x
03	52	Varón	x	x	✓	x	x
04	51	Varón	x	x	x	x	✓
05	74	Varón	✓	x	✓	x	x
06	56	Varón	x	✓	x	x	✓
07	68	Mujer	✓	x	x	x	x
08	77	Mujer	x	x	✓	x	x
09	48	Varón	x	x	✓	x	x
10	66	Varón	x	x	✓	x	x
11	64	Varón	✓	x	x	x	✓
12	42	Varón	x	x	✓	x	x
13	71	Varón	✓	x	x	x	x
14	27	Varón	✓	x	✓	x	x
15	49	Varón	x	x	x	x	✓
16	67	Varón	x	✓	x	x	x
17	59	Mujer	✓	x	x	x	✓
18	76	Varón	x	✓	x	x	✓

El estudio se lleva a cabo en colaboración con el Servicio de Cardiología del CHUS que es el encargado de reclutar a los pacientes, realiza la prueba invasiva y analizar los datos clínicos.

5.2.2. Simulaciones numéricas

5.2.2.1. Reconstrucción del modelo coronario del paciente

La geometría utilizada en estos estudios y que va a constituir el dominio computacional sobre el cual se van a resolver las ecuaciones de Navier-Stokes, se obtiene a partir de imagen de TAC tal y como se describe en el Capítulo 2 de la presente Tesis. Esta geometría consta, en todos los casos, de la arteria aórtica y de las arterias principales izquierda (LMS) y derecha (RCA).

5.2.2.2. Malla

Se realiza un estudio de independencia de malla con el objetivo de analizar la influencia del número de elementos en la precisión de los cálculos. Se consideraron tres configuraciones de malla con diferente densidad y tamaño de elementos y se calculó la variable de control en cada una de las mallas para cada uno de los pacientes. La Tabla 5.2 resume los resultados obtenidos para uno de los pacientes analizados.

Tabla 5.2. Se calculan los valores de FFRct para diferentes mallas (M1, M2, M3) y los errores cometidos para cada una de ellas con respecto a una de referencia

	Elementos	FFRct	Error
M1	1526300	0.91	----
M2	2146300	0.91	0%
M3	2869500	0.91	0%

Al no existir error alguno entre las mallas 2 y 3 (M2, M3) y la malla 1 (M1) se toma esta última como referencia por ser más eficiente en términos de coste computacional.

En la Figura 5.1. se muestra una de las configuraciones de malla utilizadas. En ella se puede observar el diferente grado de refinamiento empleado para la aorta y para las demás arterias coronarias.

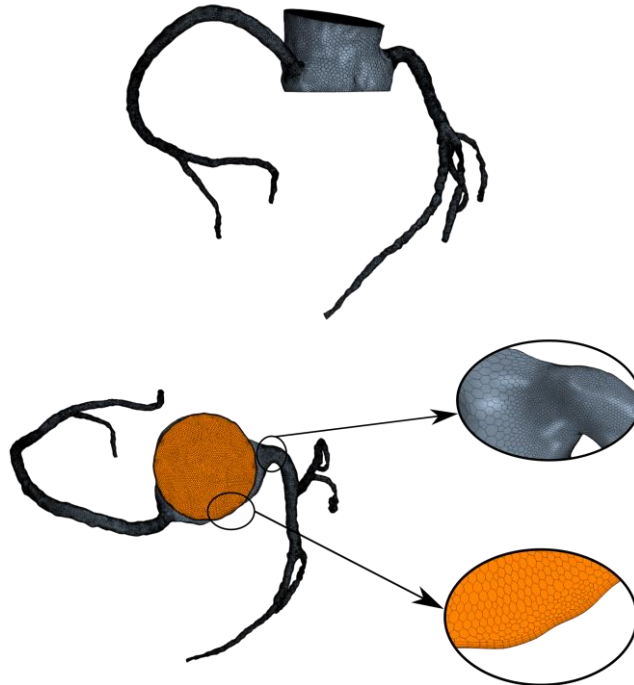


Figura 5.1. Configuración de malla para el árbol coronario y detalle para la aorta y una de las arterias

5.2.2.3. Condiciones de frontera

En el presente estudio se realizan simulaciones en estado transitorio y estacionario y, dependiendo de cual consideremos, se establecerán unas condiciones de contorno u otras.

Condiciones de entrada

Las condiciones de entrada se fijarán en función del régimen que se esté considerando. Así, en régimen transitorio se utiliza un perfil de presión para caracterizar un pulso y emplearlo como condición de entrada en todas las simulaciones. Dicho perfil se describe en la Figura 5.2 [Stergiopoulos *et al.*, (1994)]. Nótese que, al tratarse de un perfil de pulso que se va a aplicar a la entrada de la aorta, su morfología y

características son diferentes a las del perfil considerado en los Capítulos 3 y 4, donde se utilizaba un pulso definido por la velocidad específica en la entrada en arterias coronarias.

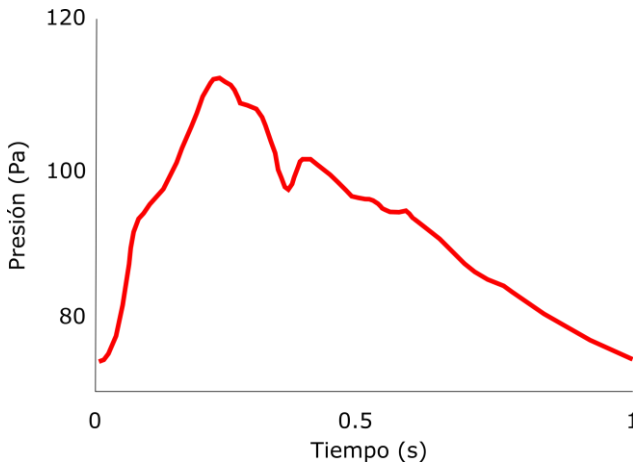


Figura 5.2. Pulso de presión utilizado como condición de entrada en la aorta

Por el contrario, bajo condiciones de flujo estacionario, la presión media (MAP) es usada como condición de entrada y se calcula basándose en los datos propios de los pacientes obtenidos de forma no invasiva:

$$MAP = \frac{1}{3}SBP + \frac{2}{3}DBP \quad (5.1)$$

siendo SBP y DBP la presión sistólica y diastólica, respectivamente.

Condiciones de salida

Al igual que en el caso de las condiciones de entrada, las condiciones de salida también dependen del régimen en el que se esté trabajando.

- **Régimen transitorio**

Para simulaciones en régimen transitorio se opta por un modelo de Windkessel, que es uno de los denominados *lumped parameter models* definidos originalmente por Otto Frank [*Otto et al., (1899)*].

Windkessel es un modelo agrupado basado en una analogía eléctrica donde el árbol arterial se asimila a un circuito eléctrico. Aquí, la pérdida de presión a lo largo del árbol coronario se modela definiendo una resistencia equivalente para cada sección del árbol.

En el presente estudio se utilizó un modelo de Windkessel de tres elementos para definir la presión arterial de salida. Este fue introducido por *Westerhoff et al., (1971)* como una mejora sobre el Windkessel clásico de dos elementos con el objetivo de simular la circulación sistémica y se trata del modelo más utilizado para este tipo de estudios e investigaciones teóricas [*Laskey et al., (1990)*, *Stergiopoulos et al., (1992)*]. Su elección se debe a la alta precisión que presenta en comparación con el modelo de dos elementos y a una mayor sencillez a la hora de estimar los parámetros en relación con el Windkessel de cuatro elementos [*Zhou et al., (2019)*]. De este modo, se consigue reducir el error cometido en estas estimaciones lo que repercute de manera positiva en la precisión de los cálculos.

Los parámetros de los componentes del circuito corresponden a las propiedades de cada rama. La presión juega el papel del voltaje y el caudal el de la corriente. Durante el ciclo cardíaco, el modelo de Windkessel de tres elementos considera el efecto de la distensibilidad arterial y la resistencia periférica total. En la analogía eléctrica, Figura 5.3, la distensibilidad arterial se representa como un capacitor con propiedades de almacenamiento de carga eléctrica y la resistencia periférica del sistema arterial sistémico se representa como una resistencia de disipación de energía. El flujo de sangre en el corazón es análogo a la corriente del circuito y la presión sanguínea de salida se modela como un potencial eléctrico variable en el tiempo. Por último, R_p y R_d corresponden a las resistencias proximal y distal, respectivamente.

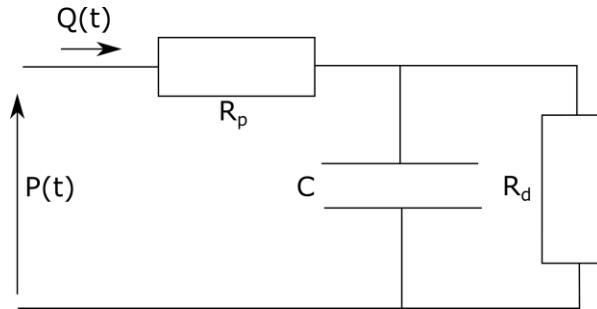


Figura 5.3. Analogía eléctrica para el modelo de Windkessel de tres parámetros. $P(t)$ es la presión dependiente del tiempo, $Q(t)$ es el caudal dependiente del tiempo, C es la capacitancia y R_p y R_d son las resistencias proximal y distal respectivamente.

Para el método de Windkessel de tres elementos, la relación entre la presión y el flujo se define mediante la ecuación:

$$Q(t) \left(1 + \frac{R_p}{R_d} \right) + C * R_p * \frac{dQ(t)}{dt} = C * \frac{dP(t)}{dt} + \frac{P(t)}{R_d} \quad (5.2)$$

donde $Q(t)$ es el caudal dependiente del tiempo, R_p y R_d son las resistencias proximal y distal, respectivamente, $P(t)$ es la presión dependiente del tiempo y C es la capacitancia.

La compliancia o distensibilidad coronaria puede estimarse utilizando un ajuste de curva exponencial en la fase diastólica [Westerhoff *et al.*, (2009)]; aplicando un proceso iterativo donde se calcula un modelo de Windkessel de dos parámetros insertando la resistencia periférica total como entrada [Stergiopoulos *et al.*, (1994)]; o con modelos coronarios específicos del paciente estimados a partir de datos de Tomografía Axial Computarizada [Duanmu *et al.*, (2018)]. Para el presente estudio se consideró esta última metodología.

En primer lugar, se obtiene el tiempo de decaimiento (τ) multiplicando cada resistencia por su compliancia, extraída de [Duanmu *et al.*, (2018)]. Ésta es una τ de referencia para cada tipo de vaso. A continuación, se calcula la resistencia del vaso siguiendo $R = \frac{P_a}{d^{-k}}$. Para obtener la resistencia proximal y distal se han elegido valores de 0,09 y 0,91, respectivamente [Kim *et al.*, (2009)] y para calcular cada

distensibilidad coronaria, se divide la constante de decaimiento de cada vaso por su resistencia distal.

- **Régimen estacionario**

En régimen estacionario se aplica a las salidas del dominio un algoritmo implícito (basado en *Sadeghian et al., (2021)*) utilizando un factor de relajación que facilita su convergencia:

$$P_{k+1} = (1 - \alpha) * P_k + \alpha(R * Q_k) \quad (5.3)$$

donde P es la presión (Pa), α es el factor de relajación, R es la resistencia (Pa·s/m³) y Q es el caudal de sangre (m³).

5.2.2.4. Simulación numérica

Al trabajar con números de Reynolds bajos se considera en todas las simulaciones la condición de régimen laminar y se define el criterio de convergencia como el tiempo en el que las variables que se calculan, como el FFR, permanecen invariables. Al mismo tiempo, la sangre circulante se considera como un fluido newtoniano con una densidad de 1060 kg/m³ y una viscosidad dinámica de 0.004 Pa·s [*Kim et al., (2009)*] con condición de no deslizamiento en las paredes rígidas del vaso.

5.3. RESULTADOS

El objetivo fundamental de la metodología expuesta en este capítulo es la caracterización completa del flujo sanguíneo en determinadas zonas del sistema arterial (en nuestro caso, el segmento coronario). Es esta caracterización completa del flujo la que permite calcular un gran número de parámetros de interés clínico, algunos de ellos recogidos en el presente capítulo y otros, que pueden incluso no estar definidos en el estado de la técnica, podrían calcularse igualmente haciendo uso de las simulaciones que aquí se presentan. La circulación

en el árbol coronario empleado en nuestro estudio comienza en la aorta, distribuyéndose el caudal entre las coronarias (alrededor del 5%) y la propia aorta en su segmento superior (95% aproximadamente del caudal inyectado). En la Figura 5.4. se representan las líneas de corriente en una geometría coronaria. Dependiendo del grado de resolución empleado, pueden detectarse pequeños fenómenos que ocurren en determinadas partes del árbol como, por ejemplo, las recirculaciones después de una estenosis (Figura 5.4A) o en la bifurcación de la aorta y el tronco coronario izquierdo (Figura 5.4B). Haciendo uso de esta misma simulación, aplicada a diferentes pacientes, se extraen otros parámetros que pasan a describirse en los sucesivos apartados de este capítulo.

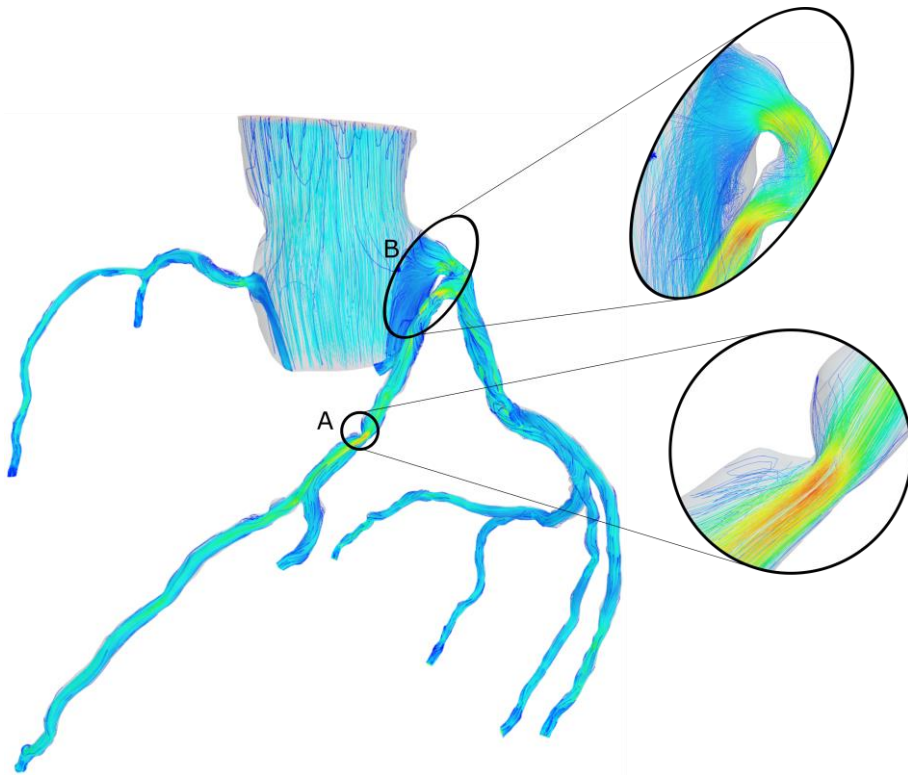


Figura 5.4. Representación de las líneas de corriente en una geometría coronaria.
A. Recirculación generada aguas abajo de una estenosis en la arteria LAD. **B.** Recirculación originada en el ostium, unión entre las arterias LMS y aorta.

5.3.1. FFRct

Para evaluar el riesgo coronario, analizamos diferentes parámetros como la Reserva Fraccional de Flujo (FFR), el *wall shear stress* (WSS), la resistencia a la estenosis (SR) y ΔFFRct (diferencia de presiones entre un segmento proximal y otro distal a la lesión) en condiciones basales y de hiperemia (aumento de flujo en las arterias coronarias). Estos últimos cuatro parámetros evalúan el riesgo coronario [Lee et al., (2019); Martijin Meuwissen et al., (2002)] y la gravedad de las lesiones y complementan el cálculo del FFR, que es el estándar para los estudios de precisión diagnóstica y para la toma de decisiones clínicas.

La circulación sanguínea en el árbol coronario se simula numéricamente siguiendo las técnicas y procedimientos detallados en la sección 5.2.2. Las geometrías 3D se obtienen a partir de imágenes de TAC y están compuestas por el tronco aórtico y las arterias coronarias izquierda y derecha así como otras que se derivan de estas. Por tanto, todos los parámetros de riesgo se pueden calcular a lo largo del árbol coronario.

La Reserva Fraccional de Flujo (FFR) es un indicador invasivo de la gravedad funcional de una estenosis determinada a partir de las mediciones de la presión coronaria durante un cateterismo. Para su cálculo se administra un vasodilatador (adenosina) por vía intravenosa para inducir una hiperemia máxima y el FFR se calcula como la relación entre la presión coronaria distal hiperémica y la presión aórtica media medida a través de una guía de presión. En pacientes con estenosis coronaria de gravedad moderada, el FFR es un indicador útil de la gravedad funcional de la estenosis [Stergiopoulos et al., (1994)]. Numéricamente, para el flujo en hiperemia, la resistencia periférica se reduce al 24% de la resistencia basal, aumentando así el flujo que circula por las arterias coronarias.

La Figura 5.5 muestra el FFRct calculado en todas las ubicaciones del árbol coronario. Es importante señalar que el método numérico permite analizar el estado de los pacientes con una sola imagen, no solo donde se obtuvo el FFR a través de la cateterización, sino para todos los vasos y en cualquier punto de estos. El cálculo del FFRct se realiza en estado estacionario y transitorio y en estado basal e hiperémico.

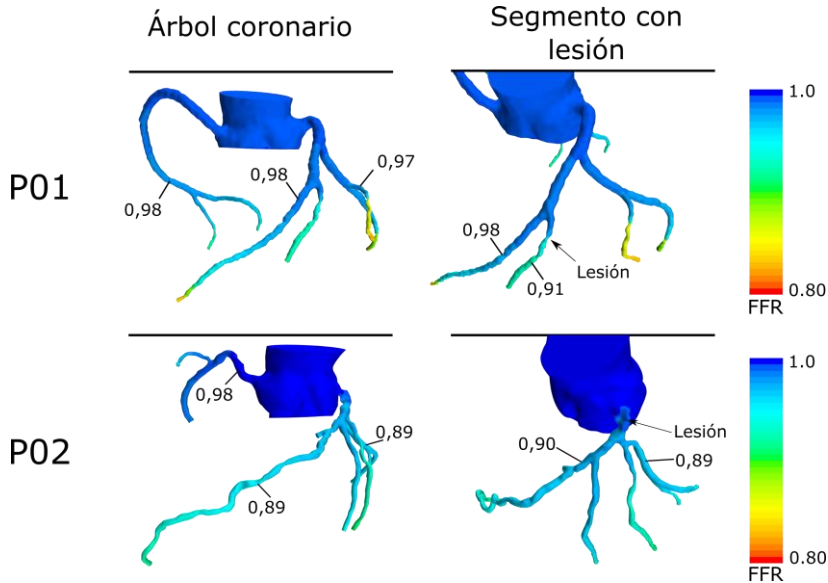


Figura 5.5. Representación del FFRct calculado para el árbol coronario de dos pacientes en condiciones de hiperemia y en régimen estacionario. La columna de la izquierda muestra el FFRct para todo el árbol coronario donde se indican algunos valores representativos. La columna de la derecha se centra en estudiar la distribución de los diferentes valores de FFRct en la rama donde se ubica la lesión

Para la correcta evaluación del método y de las medidas obtenidas se representan los valores de FFRct obtenidos en condiciones de hiperemia estables en función del FFR invasivo. En la Figura 5.6 se puede observar la buena correlación entre los valores obtenidos siguiendo ambas metodologías lo que supone que el FFRct, a falta de una validación más exhaustiva, podría convertirse en una alternativa real al método invasivo.

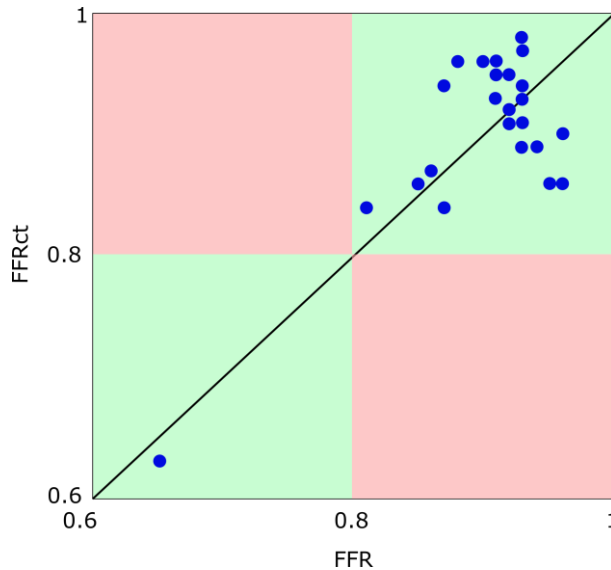


Figura 5.6. Correlación entre el FFR medido de forma invasiva y el FFR calculado utilizando métodos computacionales (FFRct)

En la Figura 5.7 se muestra el error de las medidas obtenidas por el método computacional en relación con el obtenido de forma invasiva. Cabe destacar la buena concordancia que existe entre ambas medidas. En la mayoría de los casos, al tratarse de pacientes de riesgo medio-bajo, se obtienen valores de FFR mayores de 0.80, valor que marca el límite a partir del cual una lesión ha de considerarse significativa (<0.8) o no significativa (>0.8). Con los datos analizados, todos los pacientes con enfermedad no significativa han sido considerados como tal y aquellas lesiones significativas también se han detectado correctamente con un error, por lo tanto, del 0% en cuanto al diagnóstico. Aunque las correlaciones son satisfactorias, es importante continuar con el análisis de casos con $FFR < 0.80$ para la validación correcta del método.

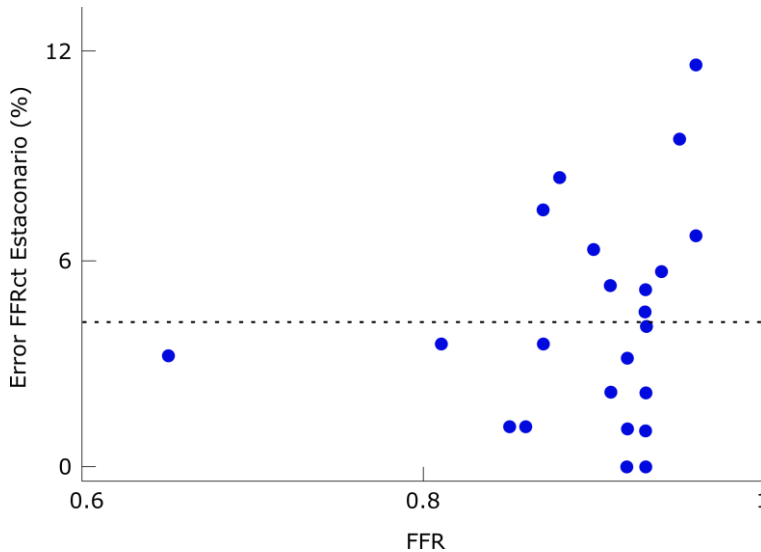


Figura 5.7. Error entre las mediciones invasivas y computacionales.

5.3.2. Otros parámetros cardiológicos de relevancia clínica

Como se indicaba con anterioridad, además del WSS, existen otros parámetros que permiten caracterizar las lesiones y determinar la importancia que estas tienen en el comportamiento del flujo.

El *wall shear stress* (WSS) es un parámetro ampliamente utilizado para determinar qué zonas son más propensas a la formación de placa. Esta magnitud explica las fuerzas de fricción entre el flujo circulante y las paredes del vaso, y se vuelve cero cuando el flujo se detiene. Las paredes de los vasos sanguíneos con un *wall shear stress* bajo son más propensas a la deposición de placa y, por lo tanto, a desarrollar aterosclerosis [Tonino et al., (2009)]. Valores altos de WSS tienden a darse en la zona de estenosis máxima estando relacionados con el riesgo de rotura de la placa [Eshtehradi et al, (2017)]. Además, estos valores elevados inducen cambios específicos en el comportamiento celular que tienen el potencial de exacerbar la inflamación y propiciar la progresión del núcleo lipídico aterosclerótico [Brown et al., (2016)].

Por otro lado, el *wall shear stress* (WSS) es muy sensible al lugar en el que se ubique la zona de medición. Así, el WSS en la cresta de la estenosis aumenta a medida que aumenta la velocidad del flujo y, por lo tanto, el FFR disminuye. De esta forma, en el presente estudio, se considera una región muy específica de la lesión (alrededor de la cresta) que es en la que define la reducción del calibre de los vasos sanguíneos y, por tanto, la gravedad de la lesión [Kittaka *et al.*, (2020)].

Además del área de análisis, los valores de WSS son sensibles a las condiciones de flujo sanguíneo en las que se lleve a cabo el estudio. Es bien sabido que la hiperemia inducida provoca un elevado aumento del flujo en los vasos coronarios. Este aumento de caudal y velocidad provoca un flujo perturbado y oscilatorio en el entorno de la lesión que influye en la variabilidad de los valores de WSS ya que es un parámetro muy sensible a las condiciones de flujo local y a los gradientes de velocidad. Además, la influencia del WSS en el comportamiento de las células endoteliales y su influencia en la deposición de placa ha sido ampliamente estudiada y reportada en condiciones basales, por lo que puede ser más precisa y significativa, desde un punto de vista clínico, la correlación entre FFR y WSS en estas condiciones.

Otro indicador importante es la resistencia a la estenosis (SR). El cálculo de este índice combina la presión con las mediciones de flujo y su expresión viene dada por:

$$SR = \frac{\bar{p}_a - \bar{p}_d}{APV} \quad (5.4)$$

donde \bar{p}_a y \bar{p}_d son la presión aórtica media y la presión distal media, y APV es la velocidad de flujo máxima promedio, medida distal a la lesión coronaria. Este índice se calcula en condiciones de hiperemia (HSR) y basales (BSR).

Algunos autores proponen que la combinación de este índice con el FFR mejora la precisión del tratamiento y detección de estenosis severa [Martijin Meuwissen *et al.*, (2002)]. La principal diferencia entre HSR y la resistencia a la estenosis calculada en estado basal (BSR) es la necesidad de inducir hiperemia para calcular la primera, mientras que para el cálculo del BSR no es necesario este incremento del flujo. Existen otras publicaciones que sostienen que, en condiciones basales,

existe una gran variabilidad hemodinámica que puede perjudicar la precisión de los resultados obtenidos con BSR [Kern et al., (2012)]. Además, la velocidad del flujo en el estado basal es insuficiente para discriminar entre una lesión significativa y una que no lo es [Berry et al., (2013)]. Sin embargo, [van de Hoef et al., (2015)] muestra una fuerte correlación entre BSR y HSR, lo que sugiere que este indicador podría ser eficaz para caracterizar la estenosis coronaria.

Finalmente, el ΔFFRct se define como el cambio del FFRct a lo largo de la lesión. Este parámetro se define para cada una de las lesiones calculando la diferencia entre los valores de FFRct , proximal y distal [Lee et al., (2019)]. Así, para evaluar el ΔFFRct se analizan dos localizaciones: distal a la lesión (el mismo plano donde se evalúa la presión utilizada para calcular la FFRct) y proximal a la lesión (1cm desde la estenosis). El segmento en el que se lleva a cabo la medición puede observarse en la Figura 5.8.

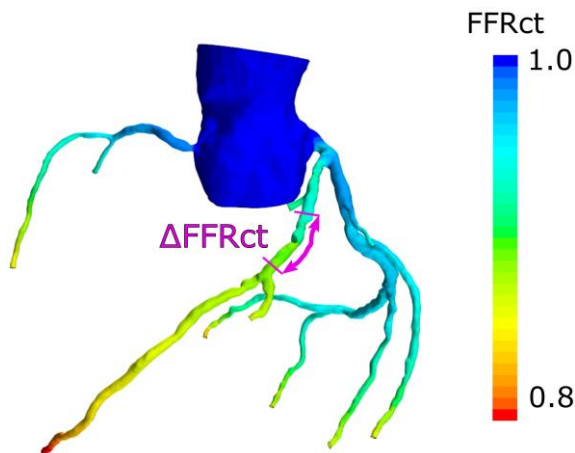


Figura 5.8. Zona de cálculo de ΔFFRct para uno de los pacientes analizados

En la Tabla 5.3 se recogen los valores de las diferentes variables de interés clínico calculadas para todos los pacientes.

Los resultados obtenidos, considerando el régimen transitorio con una presión de pulso como condición de entrada y el modelo de Windkessel en salidas, son muy similares a los obtenidos en simulaciones en régimen estacionario. Así, se podría realizar un análisis

numérico en régimen estacionario para analizar variables no dependientes del tiempo como el FFR con una reducción significativa del tiempo de cálculo y sin pérdida de precisión.

Cap.5. Indicadores cardiológicos por métodos no invasivos

Tabla 5.3. Medición del FFR de forma invasiva para 18 pacientes y 24 lesiones diferentes. Los resultados se comparan con el FFRct obtenido siguiendo dos esquemas de simulación diferentes (estacionario y transitorio) y el error se calcula entre el FFRct en condiciones de hiperemia y el FFR invasivo. Otros valores de interés clínico como el WSS, HSR, BSR y Δ FFRct se analizan también para cada paciente

Paciente	Localización del FFRct	FFR	FFRct estacionario (hiperemia)	FFRct transitorio (hiperemia)	Error estacionario	Error transitorio	WSS	HSR	BSR	Δ FFRct
1	LAD	0,92	0,91	0,90	1,10%	2,22%	4,77	0,29	0,17	0,08
2	LAD	0,96	0,90	0,87	6,67%	9,38%	3,06	0,55	0,26	-
	LCx	0,94	0,89	0,87	5,62%	7,45%	3,06	0,37	0,20	-
3	LAD	0,87	0,94	0,94	7,45%	7,45%	2,70	0,25	0,13	0,05
4	RCA	0,81	0,84	0,84	3,57%	3,57%	8,73	0,46	0,24	0,13
5	RCA	0,96	0,86	0,88	11,63%	9,09%	8,20	0,45	0,24	0,11
6	LAD	0,93	0,89	0,90	4,49%	3,22%	1,09	0,45	0,34	0,12
	IA	0,86	0,87	0,89	1,15%	3,37%	3,10	0,38	0,25	0,09
7	OM	0,87	0,84	0,83	3,57%	4,82%	6,40	0,59	0,39	0,13
8	RCA	0,91	0,93	0,93	2,15%	2,15%	0,74	0,26	0,20	0,06
9	RCA	0,65	0,63	0,66	3,17%	1,52%	18,23	1,29	0,72	0,33
	Cx	0,93	0,94	0,95	1,06%	2,11%	1,73	0,21	0,11	0,04
10	LAD	0,91	0,95	0,94	4,21%	3,19%	1,58	0,20	0,13	0,03
11	RCA	0,92	0,92	0,91	0,00%	1,10%	3,14	0,22	0,12	0,07
12	RCA	0,93	0,93	0,93	0,00%	0,00%	0,43	0,44	0,31	0,02
13	RCA	0,93	0,98	0,92	5,10%	1,09%	3,55	0,22	0,09	0,02
14	LAD	0,90	0,96	0,96	6,25%	6,25%	0,81	0,19	0,14	0,01
15	Proximal LAD	0,91	0,96	0,95	5,21%	4,21%	1,82	0,12	0,07	0,00
	Distal RCA	0,95	0,86	0,85	9,47%	10,53%	4,61	0,49	0,28	0,07
	LCx	0,93	0,91	0,92	2,15%	1,08%	3,48	0,23	0,14	0,07
16	OM	0,93	0,97	0,98	4,12%	5,10%	1,98	0,18	0,00	0,01
17	LAD	0,92	0,95	0,94	3,16%	2,13%	2,12	0,20	0,16	0,03
18	RCA	0,88	0,96	0,96	8,33%	8,33%	2,33	0,07	0,04	-
	LAD	0,85	0,86	0,86	1,16%	1,16%	2,69	0,31	0,19	0,04

La Tabla 5.4 resume los principales coeficientes de correlación entre estos parámetros y el FFR invasivo. Excepto para FFRct, el WSS, HSR y Δ FFRct muestran una correlación negativa con el FFR. Los mejores coeficientes de correlación se obtienen para FFRct, WSS y Δ FFRct mientras que HSR y BSR muestran coeficientes de correlación similares a los esperados [*van de Hoef et al., (2015)*]. La correlación entre Δ FFRct y FFR es mayor que para FFRct, lo que sugiere que es un buen candidato para reforzar la toma de decisiones del cardiólogo basada en este método computacional.

Tabla 5.4. Coeficientes de correlación de Spearman (ρ) y R2 para los 5 parámetros calculados en comparación con el FFR invasivo

	FFRct	WSS	HSR	BSR	Δ FFRct
Coef. Spearman ρ	0,71	-0,75	-0,67	-0,64	-0,78
R2	0,57	0,57	0,44	0,41	0,61

5.4. DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El modelo matemático planteado es capaz de describir correctamente la circulación sanguínea en un árbol arterial completo (aorta y arterias coronarias). Una vez obtenida, esta caracterización del flujo es la que va a permitir calcular parámetros de interés en cardiología, entre los que se encuentra el FFRct. A lo largo del presente capítulo se presenta un método detallado para el cálculo del FFRct a partir de imágenes médicas 3D del árbol coronario (metodología no invasiva) estando los resultados obtenidos muy de acuerdo con los obtenidos mediante cateterismo (técnica invasiva). Utilizando la simulación base en la que se describe, de forma detallada, el flujo coronario, se definen parámetros adicionales en este contexto que proporcionan información complementaria de acuerdo con el FFR calculado experimentalmente. En particular, los valores de WSS calculados mediante técnicas no invasivas proporcionan información complementaria y significativa además de ofrecer una alta correlación con las mediciones de FFR invasivo. A su vez, también se calculan otros parámetros adicionales (HSR, BSR y Δ FFRct) que muestran una buena correlación con el FFR invasivos y proporcionan información útil

que podría ayudar en la toma de decisiones médicas en aquellas situaciones con valores de FFR cercanos a la zona de corte o zona gris ($0,75 \leq \text{FFR} \leq 0,8$).

Hoy en día, la mayoría de las empresas involucradas en imágenes cardíacas y, particularmente, en TC cardíaca, están buscando una solución completa no invasiva para una evaluación de la cardiopatía isquémica con el objetivo de ser competitivas en este mercado en continua y rápida evolución [Tu et al., (2014); Budoff et al., (2008)]. Algunas empresas están desarrollando software que permite que las imágenes de CTCA anatómicas y las imágenes de SPECT / PET de perfusión miocárdica funcional se analicen juntas [Danad et al., (2013)], como con el paquete de software CardiacIQ Fusion de General Electric [Koukouraki et al., (2013)]. A pesar de ello, esta solución no reduce la necesidad de realización de dos pruebas diferentes, la mayoría de las veces, en días diferentes. Otras empresas, fabricantes de equipos de TC, tienen la intención de incluir avances en sus equipos como el cálculo de FFR no invasivo. Hasta el momento, esta solución no se ha difundido ampliamente debido, principalmente, a restricciones en la comercialización de los primeros modelos FFRct, dejando el mercado abierto para nuevas soluciones.

El método presentado en el trabajo constituye un gran avance en el campo de la medicina personalizada, ayudando a resolver uno de los retos actuales en el ámbito sanitario: mejorar la calidad de vida del paciente y la eficiencia en los procesos de diagnóstico a través de la optimización y digitalización del propio diagnóstico. Un rápido modelado del árbol coronario 3D del paciente permite obtener el FFRct así como otros parámetros para todos los vasos del árbol coronario, reduciendo el número de pruebas invasivas requeridas en el contexto de cardiopatía isquémica y dando lugar a una gestión altamente personalizada por parte del facultativo.

Capítulo 6

INFLUENCIA DEL FLUJO EN LA DEPOSICIÓN DE CÉLULAS TUMORALES EN BIFURCACIONES DEL SISTEMA CIRCULATORIO

Este capítulo incluye el contenido del siguiente artículo:

Casas-Arozamena, C., Otero-Cacho, A., Carnero, B. et al. Haemodynamic-dependent arrest of circulating tumour cells at large blood vessel bifurcations as new model for metastasis. Sci Rep 11, 23231 (2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-02482->,

6.1. INTRODUCCIÓN

La evolución en las prestaciones técnicas de los equipos de computación ha hecho que en los últimos años se hayan ampliado los usos de las técnicas de CFD a un gran número de áreas del conocimiento. Aunque en el ámbito médico se han empleado principalmente para el análisis del flujo sanguíneo (sistema continuo),

similar al que se realiza en los Capítulos 3, 4 y 5 de esta Tesis, resulta también muy interesante su aplicación para el análisis de otro tipo de patologías, entre ellas, el cáncer. Así, en el presente capítulo se realiza un análisis del comportamiento de células tumorales circulantes (CTCs) en los vasos sanguíneos. Concretamente, se estudia la incidencia que tiene el flujo sanguíneo en la detención y anidamiento de CTCs en bifurcaciones de gran calibre. Estas células son las causantes del desarrollo de metástasis en segmentos distales al tumor primario y conocer su comportamiento es crucial para prevenir o mitigar el avance de la enfermedad. Además, el hecho de estudiar el anidamiento de las CTCs en bifurcaciones de vasos sanguíneos de gran diámetro supone una novedad en el enfoque de este tipo de estudios, que suelen realizarse en vasos de un calibre más cercano al de los capilares.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1. Métodos numéricos

El dominio utilizado para realizar la simulación numérica consiste en una bifurcación con diferentes ángulos de apertura α (30° , 45° y 90°) y diferente forma de vértice. La sección del canal tiene, en todas las configuraciones consideradas, una forma semicircular de 2 mm de diámetro. Los detalles y las distancias características de estas configuraciones se observan en la Figura 6.1.

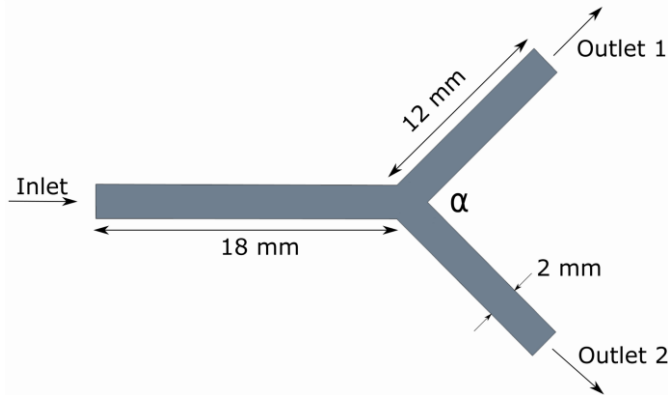


Figura 6.1. Esquema general de la bifurcación en forma de Y

Para la construcción de la malla se utilizaron elementos poliédricos y un refinamiento cerca de la pared con capas hexaédricas para mejorar la precisión del cálculo. Para evitar que los resultados de la simulación dependan de la discretización de la geometría, se estudia el valor de la velocidad máxima para 3 tipos de mallas diferentes en cada geometría. Todas las simulaciones se repitieron para las tres mallas diferentes. En la Tabla 6.1, se indican las características de cada malla para la geometría de 90° y el ángulo de bifurcación más agudo.

Tabla 6.1. Detalles de diferentes mallas usadas para discretizar el dominio físico de una bifurcación de 90° con vértice en forma de pico. Los valores obtenidos para las variables en las mallas 2 y 3 (M2 y M3) se comparan con aquellos obtenidos para la malla 1 (M1) con el objetivo de estimar el porcentaje de variación en caso de considerar una u otra malla.

	Tipo de malla		
	M1	M2	M3
Número de elementos	89442	107158	249718
Máxima velocidad [m/s]	0.063142	0.062918	0.063934
Variación	*****	0.35%	1.24%

El valor máximo de la velocidad de flujo se elige como variable de control por su importancia en los problemas analizados y el fluido considerado para esta prueba es suero fetal bovino (FBS). La Tabla 6.2. presenta un estudio de malla realizado para una geometría con un

ángulo de bifurcación redondeado o no afilado y tomando el tiempo de residencia como variable de control.

Tabla 6.2. Detalles de las diferentes mallas usadas para discretizar el dominio físico de la bifurcación con un ángulo de apertura de 90° y vértice redondeado

	Medio			FBS			Methylcellulose 0.5%		
	M1	M2	M3	M1	M2	M3	M1	M2	M3
Número de elementos	35180	105637	204365	35180	105637	204365	35180	105637	204365
Tiempo de residencia [s]	0.2091	0.1995	0.203	0.2234	0.219	0.2289	0.2355	0.2439	0.2386
Variación	*****	4.60%	2.93%	*****	1.97%	2.46%	*****	3.57%	1.32%

Como se puede apreciar en la Tabla 6.2 las variaciones en la magnitud "Velocidad máxima" y "Tiempo de residencia" son siempre inferiores al 5% y, por esta razón, se elige la malla 1 (M1) para realizar los cálculos con el objetivo de optimizar los recursos computacionales disponibles sin que ello se traduzca en una pérdida de precisión.

Como se ha mencionado con anterioridad, en las simulaciones numéricas se consideran dos fases diferentes: el fluido y las partículas (CTCs) que circulan en su interior. A continuación, se describen las características más destacables de ambas fases:

Fluido. Se consideran diferentes tipos de fluido, tanto en los experimentos como en simulaciones numéricas. Como condición de entrada se utiliza un flujo de 3ml/min para cada simulación y se establece una presión atmosférica en las salidas. En las simulaciones, realizadas con el objetivo de determinar las zonas de deposición en función de la densidad y viscosidad del fluido, el número de Reynolds es siempre menor que 100 y varía solo en función de la viscosidad y la densidad, ya que la velocidad y el diámetro de entrada son constantes. En un segundo estudio, en el que se evalúa la evolución de las áreas de baja velocidad en función del flujo, el número de Reynolds varía solo con la velocidad y las simulaciones se mantienen de nuevo en régimen laminar, garantizándose así este régimen en todos los estudios. Es importante destacar que, aunque el comportamiento de los fluidos analizados no es Newtoniano (como se puede observar en la Figura 6.2), en las simulaciones realizamos la consideración de fluido Newtoniano siguiendo una simplificación ampliamente aceptada en la literatura. La

Tabla 6.3 presenta los valores de densidad y viscosidad para los diferentes niveles de shear rate considerados en los experimentos *in-vitro*.

Partículas. Se consideran 20000 células tumorales circulantes (CTCs) con el objetivo de estudiar su comportamiento en circulación. Estas CTCs fueron modeladas como esferas rígidas con un diámetro de $14\mu\text{m}$ [Awe *et al.*, (2017)] y densidad 1.05g/ml [Bryan *et al.*, (2014)] y las fuerzas que actúan sobre ellas son la fuerza de arrastre, las fuerzas de sustentación y la gravedad que se definen en el Capítulo 2 de la presente Tesis.

6.2.2. Métodos experimentales

Como complemento a las simulaciones numéricas, se realiza también un análisis del flujo en canales utilizando estructuras de PDMS, recreando bifurcaciones arteriales con diferentes ángulos de apertura y morfología del vértice. Así, con la ayuda de una bomba peristáltica y de un sistema de tubos diseñado para el experimento, se hace recircular por el canal un medio continuo con CTCs. Estas CTCs se marcan con un fluoróforo con el objetivo poder observar sus trayectorias facilitando, a su vez, la cuantificación de aquellas que se depositan en las inmediaciones del vértice. Para analizar la influencia de la viscosidad del medio, se analizan cuatro fluidos diferentes en un reómetro Anton Paar MCR 102. La evolución de la viscosidad se evalúa para diferentes valores de shear rate y las curvas resultantes se representan en la Figura 6.2.

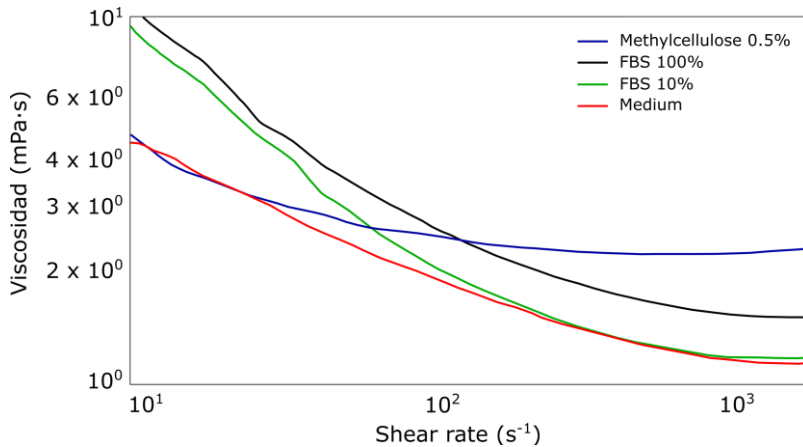


Figura 6.2. Medidas experimentales de la viscosidad de los fluidos en función del shear rate. Estas viscosidades se miden utilizando un reómetro Anton Paar MCR 102.

Además de la viscosidad, es necesario evaluar también la densidad del fluido con el objetivo de obtener una caracterización completa del mismo. Para este cometido se utiliza un densímetro SG-Ultra Max.

Los valores de densidad y viscosidad de los fluidos que se han empleado en el desarrollo del estudio (*in vitro* e *in silico*) pueden verse en la Tabla 6.3.

Tabla 6.3. Valores de densidad y viscosidad de los diferentes medios utilizados en los experimentos y en las simulaciones numéricas

	Densidad [g/cm ³]	Viscosidad [mPa·s]
Methylcellulose 0.5%	1.0076	2.29
FBS 100%	1.016147	1.935
FBS 10%	1.006881	1.49
Medio	1.005248	1.46

6.3. RESULTADOS

Usando el modelo matemático y el setup descrito en el apartado 6.2 del presente capítulo, se realiza la simulación numérica de la circulación

de CTCs en la bifurcación, pudiéndose observar, en el tramo recto de la geometría, la distribución de las mismas a lo largo de la sección transversal del vaso principal (Figura 6.3A).

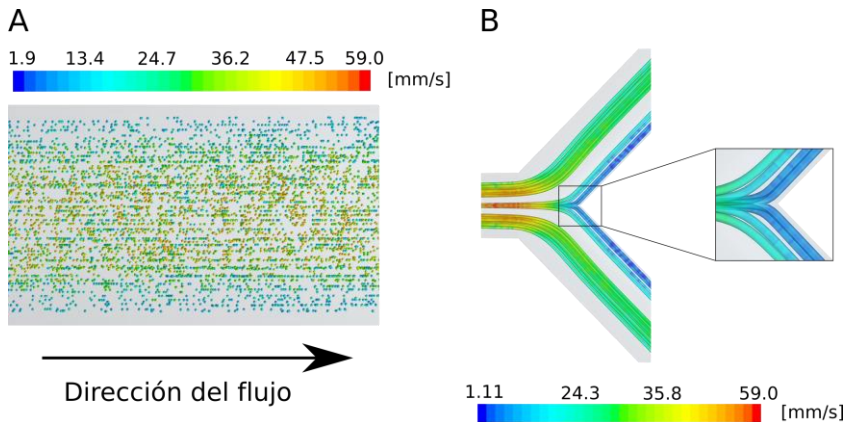


Figura 6.3. A) Distribución espacial de las partículas en la sección transversal del vaso principal. Las partículas con mayor velocidad se ubican en el centro del canal mientras que las que circulan cerca de la pared lo hacen con velocidades menores. **B)** Descripción de las líneas de corriente en la bifurcación

Una vez que el flujo alcanza la bifurcación, este vaso principal se divide en dos vasos secundarios y la mayor parte de los CTCs se distribuyen siguiendo aquellas líneas de corriente de velocidad máxima (líneas verdes en la Figura 6.3B). Además, en las simulaciones también se puede observar que una pequeña cantidad de CTCs pueden abandonar las líneas de corriente principales debido a sus trayectorias inerciales y llegar a ubicaciones muy cercanas a la pared del vaso en el vértice de la bifurcación (carina) con velocidades extremadamente bajas (líneas azules en Figura 6.3B). Este componente menor representa alrededor del 0.1% de las trayectorias totales de CTCs y está asociado con la distribución de las células en el caudal del vaso principal. De esta forma, aquellas que se sitúan en el centro fluyen con las velocidades más altas (Figura 6.3A) y, por lo tanto, tienen mayor probabilidad de alcanzar la carina (vértice de la bifurcación) por inercia.

En las áreas de menor velocidad, el tiempo de residencia de estas CTCs puede ser lo suficientemente relevante como para permitir la

interacción con las paredes endoteliales y, eventualmente, adherirse a ellas.

Para evaluar experimentalmente el comportamiento de las CTCs en este contexto particular, se fabrican canales de PDMS [*Otero-Cacho et al., (2018); Aymerich et al., (2017)*] que reproducen con precisión las geometrías utilizadas para realizar las simulaciones numéricas. Se hacen circular CTCs en una concentración de 0.5×10^6 células/ml a través de un flujo constante de 3ml/min. Ambos estudios, el computacional y el estudio *in vitro*, emplean un número de células comparable considerando la concentración de esferas y células por ml, el caudal de inyección y el tiempo de perfusión. Además, estas tasas de perfusión de CTCs fueron clínicamente relevantes considerando una detección media de 1-10 CTCs por 7,5 ml en pacientes con cáncer de mama metastásico y una tasa de supervivencia media de tres años.

Como se podía extraer de las simulaciones numéricas, una parte marginal de las CTCs ubicadas en el canal principal continúan fluyendo hasta alcanzar la carina, área caracterizada por una baja velocidad. Estos valores bajos de velocidad junto con los impactos en esta zona del vértice resultan en una deposición sistemática de las células tumorales en el frente de la bifurcación (Figura 6.4).

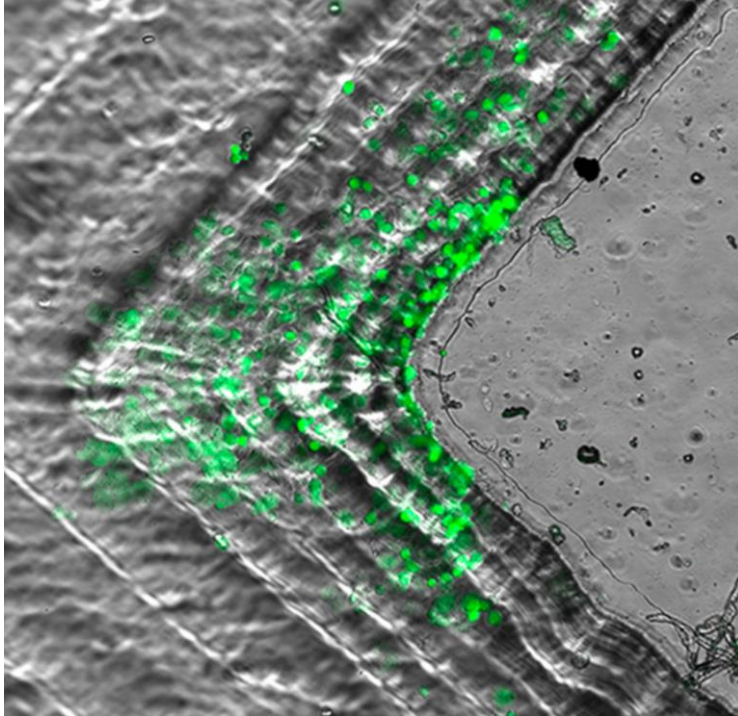


Figura 6.4. Deposición y anidamiento de las células tumorales en zonas próximas al vértice de la bifurcación observadas en un canal de PDMS

Además, se realizaron nuevas simulaciones para comprobar cómo incide el ángulo de apertura de la bifurcación con la distribución de velocidades en el vértice y la adhesión de las partículas al mismo. En la Figura 6.5A se puede observar como el área de baja velocidad de flujo, próxima al vértice de la bifurcación, depende directamente de la superficie de la carina que está expuesta a las líneas inerciales del flujo y debería impactar en el número de CTCs que acceden a esta área y a su tiempo de residencia (Figura 6.5A).

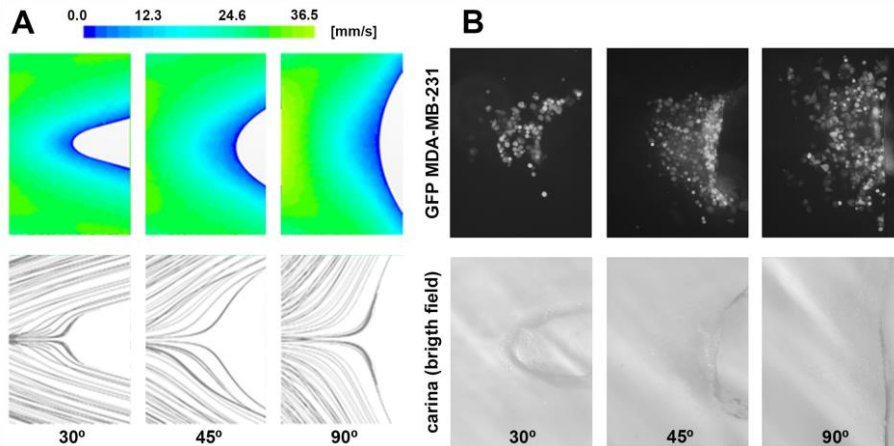


Figura 6.5. A. Mapa de color de la distribución de áreas de baja velocidad alrededor del vértice en función del ángulo de la bifurcación. B. Imagen tomada con un microscopio de fluorescencia en el cual se observa la deposición de CTCs en la zona de la carina y la morfología del vértice

Los experimentos realizados *in vitro*, que reproducen la circulación de células metastásicas en los canales de PDMS con ángulos de bifurcación de 30°, 45° y 90°, concluyen que, a medida que aumenta el ángulo de apertura, aumenta también el número de CTCs que se adhieren al vértice de la bifurcación (Figura 6.5B). La cuantificación de las CTCs que se detienen en el vértice confirma el incremento de la deposición de partículas cuando el área de baja velocidad en esta zona es mayor.

Todo esto apoya la especificidad del evento de área de baja velocidad en la proximidad de grandes bifurcaciones de vasos que impactan en el destino de las CTCs y excluye una observación condicionada a las condiciones numéricas y experimentales. La magnitud del área de baja velocidad en la bifurcación también depende del flujo sanguíneo, afectando al número de Reynolds. Valores de caudal muy bajos se asocian con grandes áreas de baja velocidad que pueden resultar en una residencia prolongada de las CTCs y en un mayor anidamiento. (Figura 6.6).

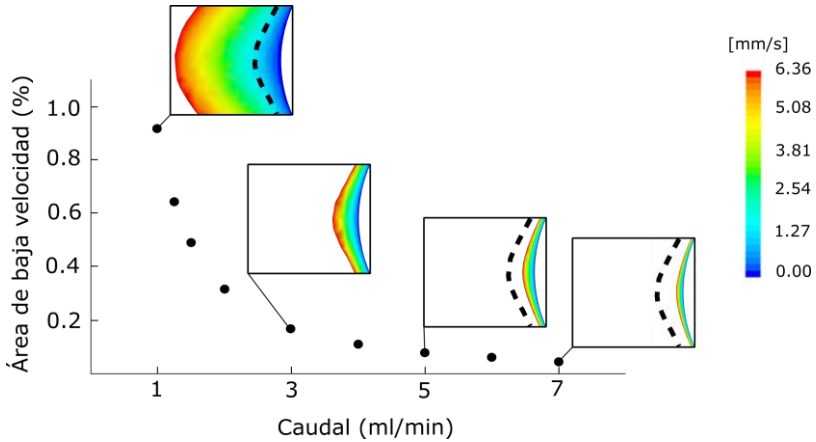


Figura 6.6. Representación numérica de las áreas de baja velocidad en la carina de bifurcaciones de con vasos de gran diámetro en función del flujo y considerando FBS como fluido en circulación. La escala de colores representa la velocidad del flujo en mm/s en las diferentes áreas de la bifurcación; la línea negra punteada marca el límite del área de baja velocidad alcanzada considerando la condición de flujo estándar (3 ml/min). Se observan resultados similares cuando se utilizan como medio otros fluidos como medio de cultivo sin FBS y metilcelulosa.

Otro parámetro decisivo a la hora de evaluar el anidamiento de CTCs y que puede afectar a sus propiedades adhesivas [Krog and Henry, (2018)] es el esfuerzo cortante de la pared, cuya evolución en función del caudal se representa en la Figura 6.7.

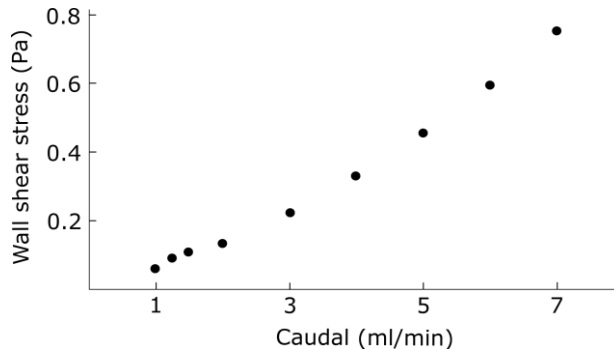


Figura 6.7. Representación del valor medio del *wall shear stress* (WSS) analizado en la carina de la bifurcación en función del caudal. El *wall shear stress* es una fuerza que actúa tangencialmente a la superficie de los microcanales y que, como puede observarse, se incrementa con el caudal introducido en la geometría

Una vez descrita la singularidad de la detención de los CTCs en la carina de las bifurcaciones de vasos sanguíneos que resultan de las trayectorias inerciales y las capacidades adhesivas de las células tumorales metastásicas en las áreas de flujo de velocidad reducida, se explora si estos eventos son compatibles con experimentos *in vitro* más complejos y modelos preclínicos *in vivo*. En lo referente a los experimentos *in vitro*, se recubren los canales con una monocapa endotelial y se marcan las células circulantes para poder ser visualizadas con fluorescencia. Como se muestra en la Figura 6.8A, se evidencia la detención de CTCs en la carina cubierta con la monocapa endotelial, lo que sugiere la formación de contactos célula-célula con las células endoteliales durante el lapso de tiempo de estancia de las CTCs en el área de baja velocidad próximo a la carina. En segundo lugar, se simula la circulación de CTCs *in vivo* en ratones por perfusión intracardíaca permitiendo que 10×10^6 CTCs recirculen a través de todo el sistema vascular a 1ml/min durante 5 minutos. La adhesión de las CTCs se estudia en el pulmón (órgano diana). Para ello se realiza una exploración cualitativa de todo el órgano y se confirma la detención de CTCs en las bifurcaciones de grandes vasos sanguíneos, además de que las CTCs quedan atrapadas en los alveolos como lo demuestra la microscopía de fluorescencia (Figura 6.8B). Estos resultados sugieren que la localización de CTCs en el vértice de las bifurcaciones de vasos sanguíneos de gran calibre, motivada por las trayectorias inerciales y las áreas de baja velocidad y que podrían resultar en la generación de metástasis a distancia, es compatible con modelos preclínicos que reproducen la diseminación metastásica.

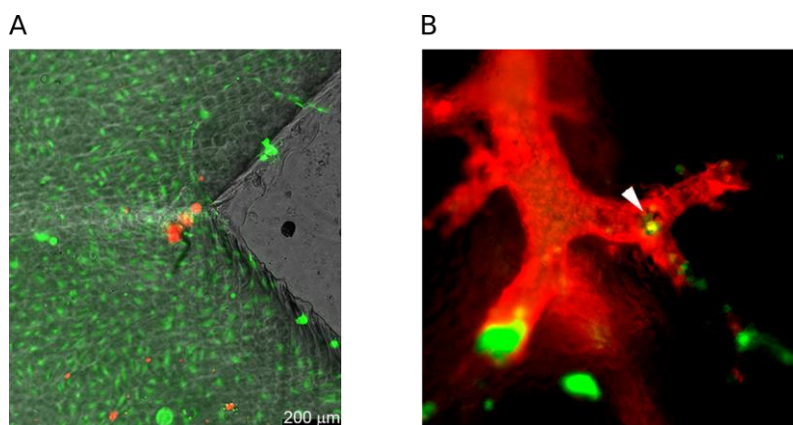


Figura 6.8. A. Células tumorales circulantes (en rojo) adheridas a la monocapa de células endoteliales (en verde) en las inmediaciones de la carina. B. CTCs (marcadas en verde) perfundidas en la vasculatura del ratón (los vasos sanguíneos se marcan en color rojo) que ilustra la detención de las CTCs en la carina de las bifurcaciones de los vasos sanguíneos (ver punta de la flecha) en un modelo preclínico *in vivo*

Finalmente, investigamos si la modulación de aquellos componentes que participan en la definición y el comportamiento del flujo sanguíneo podrían minimizar la adhesión debida a la inercia de las CTCs en las bifurcaciones y que pueden estar, en parte, detrás de la generación de metástasis en otros lugares del árbol arterial. Para ello, modificamos la viscosidad del fluido como la principal variable que define el número de Reynolds y que determina el destino de las células tumorales en circulación. Así, comparamos el anidamiento de células MDA-MB-231 marcadas en recirculación en: i) medio de cultivo basal sin suero fetal bovino como condición del medio básico con la viscosidad más baja (1,46 mPa·s); ii) suero fetal bovino (FBS) como la condición del medio con la viscosidad más alta (1.935 mPa·s); y iii) medio de cultivo basal complementado con 0,5% de metilcelulosa como componente no biológico que agrega viscosidad al medio (2,29 mPa·s), en un rango similar al FBS.

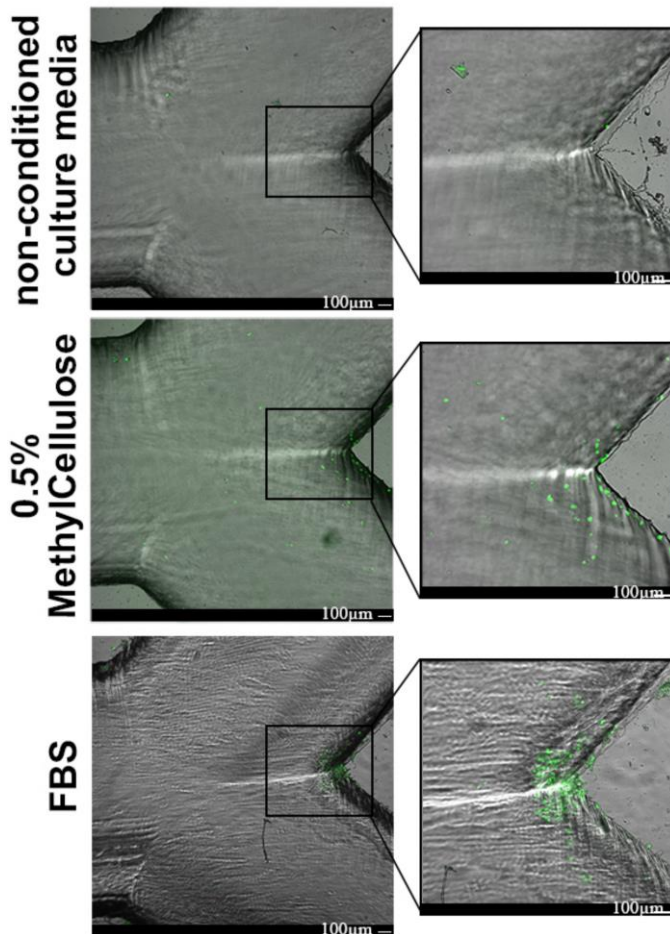


Figura 6.9. Células MDA-MB-231 marcadas con GFP embebidas en tres tipos diferentes de fluidos: medio de cultivo (paneles superiores), 0.5% Methylcellulose (paneles intermedios) FBS (suero fetal bovino) (paneles inferiores). A medida que la viscosidad del medio aumenta, se incrementa el anidamiento de las células en las zonas de baja velocidad.

Como se muestra en la Figura 6.9, nos encontramos con que las CTCs perfundidas en medios de cultivo con la viscosidad más baja se detienen de manera menos eficiente en la zona de la carina de los microcanales (paneles superiores en la Figura 6.9), en comparación con los perfundidos en medios de cultivo suplementados con 0,5% de metilcelulosa (paneles centrales en la Figura 6.9), o con las CTCs

recirculando en FBS (paneles inferiores en la Figura 6.9). De acuerdo con estos hallazgos, las simulaciones numéricas mostraron un agrandamiento de las áreas con velocidades bajas a medida que se aumenta la viscosidad del fluido (Figura 6.10), aumentando así el tiempo de residencia en el caso de metilcelulosa al 0.5% o FBS en comparación con el medio fluido no acondicionado, y favoreciendo la detención de las CTCs.

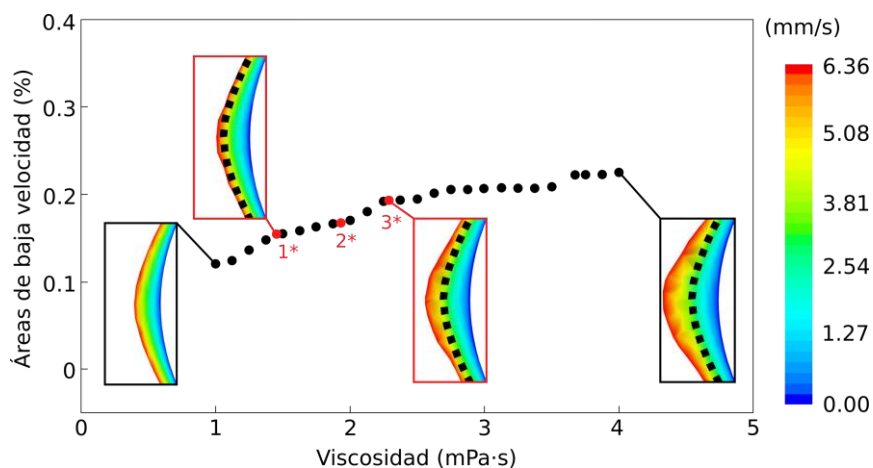


Figura 6.10. Representación numérica de las áreas de baja velocidad en la carina de las bifurcaciones en función de la viscosidad del medio. Los recuadros corresponden a la representación gráfica de las áreas de baja velocidad a diferentes valores de viscosidad que muestran que el área de baja velocidad aumenta a medida que aumenta la viscosidad de los tres medios (1* medio de cultivo, 2*FBS, 3*metilcelulosa 0.5%).

Curiosamente, se encontró que la detención de CTCs era más eficiente en la condición de FBS en comparación con la metilcelulosa al 0,5%, con un valor de viscosidad similar pero más bajo, lo que sugiere que, además de los componentes físicos del fluido y las capacidades adhesivas de las CTCs, otros factores biológicos pueden estar afectando el direccionamiento de las CTCs en las bifurcaciones de los vasos sanguíneos de gran calibre, como la agregación o agrupamiento de CTCs tras la adhesión [Bidard *et al.*, (2008)]

6.4. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos, además de confirmar el impacto de la dinámica del flujo en la detención y anidamiento de CTCs en áreas de baja velocidad como las que se generan en las bifurcaciones de los vasos sanguíneos de gran calibre, también ofrecen la oportunidad de alterar clínicamente estos eventos, ya que la viscosidad en la sangre se rige, principalmente, por el hematocrito y por homeostasis de la coagulación. Curiosamente, las variaciones en el hematocrito pueden modular la adhesión de CTCs a la pared del vaso, su velocidad en el flujo sanguíneo y la agregación de glóbulos rojos [Xiao *et al.*, (2017)]. Desde una perspectiva terapéutica, los fármacos anticoagulantes como la heparina de bajo peso molecular y la Warfarina, que contribuyen a reducir la viscosidad sanguínea, han mostrado actividad antitumoral y antimetastásica [Ejaz *et al.*, (2021); Lee *et al.*, (2019)]. Asimismo, existe una cantidad considerable de datos preclínicos y epidemiológicos que respaldan la hipótesis de que la aspirina tiene el potencial de ser una terapia adyuvante eficaz contra el cáncer [Elwood *et al.*, 2016)]. Además, los anticoagulantes orales directos parecen tener un impacto en la diseminación de metástasis en modelos preclínicos [Najidh *et al.*, (2020)].

En conclusión, en el presente capítulo se describe un mecanismo novedoso de detención de CTCs en el vértice de las bifurcaciones de vasos sanguíneos, asociado a velocidades bajas de flujo y trayectorias inerciales de células tumorales. Las propiedades adhesivas de las CTCs también juegan un papel crítico ya que el tiempo de residencia de las CTCs en las áreas de baja velocidad debe permitir el establecimiento de contactos celulares con la capa endotelial. Por último, se presentan datos que apoyan la reducción de la viscosidad de la sangre para minimizar o alterar el anidamiento de CTCs en el proceso de colonización metastásica. El uso combinado de técnicas de simulación numérica con tecnologías *organ-on-a-chip* permite obtener resultados más robustos y mostrar una explicación más detallada del mecanismo.

Capítulo 7

DISEÑO Y COMPORTAMIENTO EN FLUJO DE PARTÍCULAS PORTADORAS DE MEDICAMENTO

7.1. INTRODUCCIÓN

Después de describir los mecanismos y variables físicas relacionadas con las condiciones de flujo que intervienen en el desarrollo de enfermedades cardíacas y tumorales, consideramos en este capítulo posibles actuaciones para eliminar esos riesgos de ocurrencia de enfermedad. Para combatir este tipo de patologías existen numerosos tratamientos y procedimientos invasivos (cirugías) que se encuentran en continuo desarrollo debido a su importancia a la hora de aumentar la calidad de vida de personas que las padecen, pudiendo llegar a su completa curación. En los últimos años se ha producido un importante desarrollo en el campo de la nanotecnología que ha traído consigo numerosos avances en el ámbito clínico. Una de las aplicaciones más importantes de estas tecnologías es el diseño y fabricación de nanopartículas portadoras de medicamento que son capaces de actuar en zonas concretas del sistema circulatorio. Su correcto direccionamiento es fundamental para alcanzar las zonas

objetivo de forma precisa sin dañar tejidos periféricos y depende de múltiples factores, entre los que se encuentran la forma y el tamaño de la cápsula en la que se introduce el medicamento. Por ello, en este capítulo se estudia la circulación y la eficiencia de estos tratamientos encapsulados en nano y micropartículas. Sus aplicaciones son variadas y entre ellas se encuentran el tratamiento de tumores y la reducción de la placa aterosclerótica en lugares determinados del sistema arterial.

7.2. MATERIALES Y MÉTODOS

7.2.1. Geometría

En el presente estudio se consideran dos geometrías diferentes que se utilizan para medir la eficiencia del transporte de medicamento a zonas objetivo del sistema arterial. En primer lugar, se considera un vaso sanguíneo cuya parte central está afectada por una estenosis similar a la que presentan algunos vasos sanguíneos tras la deposición de determinadas partículas que viajan por el torrente sanguíneo como, por ejemplo, las partículas de LDL (low-density lipoprotein). Esta acumulación de partículas provoca un estrechamiento que reduce el calibre del vaso y dificulta el paso del flujo sanguíneo. Se trata de una situación patológica común que tiene una gran relevancia en el desarrollo de enfermedades cardíacas. La otra geometría empleada para estudiar el comportamiento de partículas portadoras de medicamento describe una bifurcación del árbol coronario que consta de un vaso principal y un vaso hijo o secundario. Se trata de una configuración cuya presencia es habitual en todo árbol coronario y que se va a utilizar para analizar la capacidad de las partículas portadoras de medicamento de seguir las líneas principales de corriente o, por el contrario, salirse de ese flujo preferencial y dirigirse hacia las paredes del vaso.

El vaso estenosado fue modelado como un cilindro con un estrechamiento en el centro de la geometría. Esta estenosis reduce en un 50% su diámetro interno y su morfología se describe en la Figura 7.1. El objetivo principal del diseño es el de reproducir de forma fidedigna la morfología real de una placa en un segmento arterial, para

lo cual se utiliza la siguiente ecuación [Mandal, (2005); Ostadfar, (2016)]:

$$R(z) = (mz + a) - \frac{h * \sec \varphi (z - l_0)}{h^2 \sin \varphi^2 - \frac{l_s^2}{4}} (l_s - (z - l_0)) \quad (7.1)$$

con: $l_0 \leq z \leq l_0 + l_s$

Así pues, $R(z)$ representa el radio de la región afectada por la lesión, l_s es la longitud de la estenosis, l_0 es la distancia a la lesión desde la entrada de la geometría, h es la altura máxima de la estenosis y m es igual a $\tan \varphi$ que denota el ángulo del vaso respecto al eje z .

De este modo, la configuración final de vaso sanguíneo considerado puede observarse en la Figura 7.1:

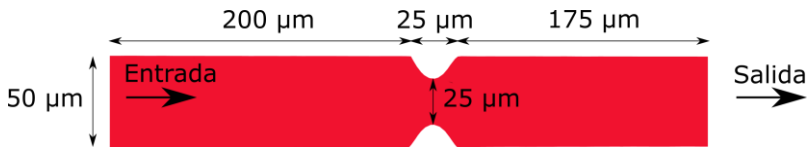


Figura 7.1. Esquema general de vaso sanguíneo. Las partículas se inyectan en la misma dirección del flujo de derecha a izquierda. La placa reduce el 50% del calibre del vaso, lo que causa un incremento de la velocidad del flujo en el estrechamiento.

La segunda de las geometrías consiste en un vaso madre del mismo diámetro que el vaso con estenosis y un vaso hijo de 20 micrómetros. La dirección del flujo y las características geométricas se indican en la Figura 7.2.

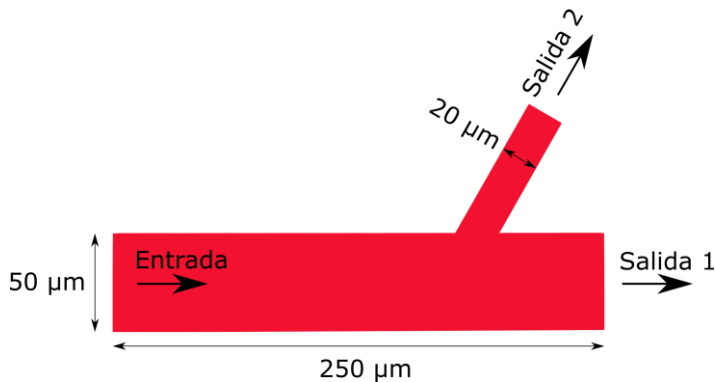


Figura 7.2. Esquema de la bifurcación arterial. La bifurcación arterial fue modelada como un vaso madre de $50\mu\text{m}$ de diámetro y un vaso hijo de $20\mu\text{m}$ de diámetro. En ángulo es igual a 60°

Aunque el objetivo del estudio es el análisis del comportamiento de las partículas portadoras de medicamentos en grandes vasos, se opta por el diseño del dominio de simulación en escala micro para poder alcanzar las concentraciones óptimas de glóbulos rojos. Estas células juegan un papel importante en la migración de las nano y micropartículas y, dada su alta concentración en la sangre, la realización de simulaciones en vasos de gran diámetro supondría un coste computacional muy elevado. Nótese que el reescalamiento del modelo a escalas superiores arrojaría resultados equivalentes a los presentados en el presente capítulo.

7.2.2. Malla

La malla está constituida por elementos poliédricos y hexaédricos distribuidos con el objetivo de captar de forma precisa toda la fenomenología que tiene lugar en el interior del dominio. Concretamente, tendrá especial relevancia la construcción de la malla en las inmediaciones de las estenosis ya que va a ser esta la zona en la que se analicen los contactos de las partículas con la pared del vaso.

A continuación, se realiza un estudio de independencia de malla en el que se toma como variable de control la distancia d obtenida para las micropartículas esféricas.

Tabla 7.1. Análisis de independencia de malla. La variable de control utilizada es la distancia d que es estudiada para el caso de micropartículas esféricas en circulación.

	Elementos	d (μm)	Variación
M1	37299	7.73	---
M2	58693	7.62	1.4 %
M3	106291	7.71	0.26 %

En virtud de los resultados obtenidos, se opta por utilizar M1 dado que su utilización supondrá una reducción del coste computacional sin pérdida de precisión en los cálculos.

7.2.3. Propiedades del fluido y condiciones de flujo

En todas las simulaciones consideradas en el presente estudio, se asume que la sangre está constituida por una fase líquida continua (plasma) y por una fase discreta (glóbulos rojos y partículas portadoras de medicamento). La fase continua (plasma) está caracterizada por su densidad igual a 1025kg/m^3 [*Spradling y Viator, (2009)*] y su viscosidad que es igual a $0.0015\text{ Pa}\cdot\text{s}$ [*Késmárky et al., (2008)*]. El número de Reynolds considerado para todas las simulaciones se fija en 106 con el objetivo de recrear las condiciones de flujo que tienen lugar típicamente en las arterias coronarias con diámetro de vaso del orden de 2mm. La dinámica de flujo se resuelve mediante las ecuaciones de Navier-Stokes y se realiza un análisis en el que las variables son dependientes del tiempo (régimen transitorio). Es necesario tratar el problema en régimen transitorio ya que se necesita conocer la posición de las partículas en el flujo en instantes de tiempo concretos para su posterior análisis.

7.2.4. Propiedades de las micro y nanopartículas

Puesto que estudiaremos el desplazamiento de los portadores de medicamento en el torrente sanguíneo, es necesario considerar la interacción con el resto de partículas que están presentes dentro del

mismo de forma natural. Por ello, se consideran dos tipos de partículas que interaccionan con la fase continua de la sangre (plasma): los glóbulos rojos (RBCs en sus siglas en inglés *red blood cells*) y partículas portadoras de medicamento con diferentes geometrías y tamaños comenzando en escala nano y extendiéndose a escala micro. A continuación, se describen las características más importantes de las partículas y células que forman parte del sistema discreto.

Glóbulos rojos (RBCs). Los glóbulos rojos o eritrocitos son las células más numerosas de la sangre y constituyen alrededor del 35-50% de su volumen total (Figura 7.3)

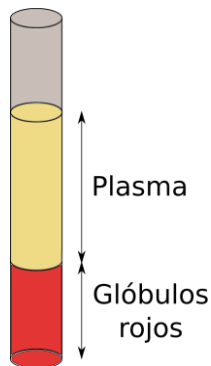


Figura 7.3. Composición de la sangre en la que los glóbulos rojos suponen entre el 35%-50% de su volumen

Se trata de células altamente deformables debido a su forma bicóncava [Fung, (1993)] y a su membrana, que se ocupa de encapsular la hemoglobina. En este estudio se considera su densidad igual a 1100kg/m^3 [Kumar et al., (2014)] con un diámetro comprendido entre 6 y $8\mu\text{m}$. La forma de simularlas está descrita en el Capítulo 2.

Micro y nanopartículas. Se consideran cinco tipos diferentes de micro y nanopartículas con el objetivo de estudiar su comportamiento en condiciones de flujo. Estas partículas tratan de simular aquellas fabricadas con polietileno de sulfato de bario que tienen típicamente una densidad de 1500kg/m^3 . El volumen de cada micropartícula se establece igual al volumen de una esfera de $1\mu\text{m}$ de diámetro mientras

que el volumen de cada nanopartícula es igual al de una esfera de 200nm de diámetro. En la Figura 7.4 se describen las características de cada una de las tipologías.






Nombre	Aspect ratio (L/D)	Forma
Esfera	-----	
Cil12 (disco)	1/2	
Cil32	3/2	
Cil21	2/1	
Cil51	5/1	

Figura 7.4. Forma y parámetro de forma (*aspect ratio*) de las partículas utilizadas como portadoras de medicamento

Interacción partícula-partícula. El método de elementos discretos (DEM son sus siglas en inglés) se usa para modelar la interacción entre partículas y su formulación está descrita en el Capítulo 2.

7.3. RESULTADOS

En el presente capítulo se analiza el comportamiento de micro y nanopartículas con diferentes formas cuando se encuentran en movimiento en el flujo sanguíneo con un valor de hematocrito igual al 30% (es decir, que el 30% del volumen del vaso sanguíneo está ocupado por eritrocitos). El objetivo final del estudio es el de determinar qué geometría de las consideradas es más propensa a migrar o a continuar siguiendo la dirección de flujo preferencial. Cabe destacar que el valor de hematocrito considerado se encuentra en el rango habitual para personas sanas [30%, 50%]. El hecho de optar por el menor valor del intervalo se debe a la necesidad de optimizar los recursos computacionales disponibles.

En cada simulación se consideran 5000 partículas fluyendo con el torrente sanguíneo y se definen 5 formas geométricas diferentes (una esférica y las otras cuatro se definen con formas cilíndricas con diferentes relaciones de aspecto o *aspect ratio*). Además, el análisis se realiza considerando tamaños de partículas en dos escalas diferentes: micro y nano. Por último, se consideran dos morfologías diferentes para los vasos sanguíneos: un vaso con estenosis y una bifurcación.

7.3.1. Estudio de la migración en un vaso sanguíneo con estenosis

En esta configuración de vaso, interesa analizar la habilidad de las diferentes partículas para interactuar con la región ubicada aguas abajo de la estenosis. Por ello, se considera una variable que se define como la distancia (d) medida desde la estenosis y se monitoriza el número de partículas de cada geometría que impactan o pasan suficientemente cerca del endotelio (Figura 7.5).

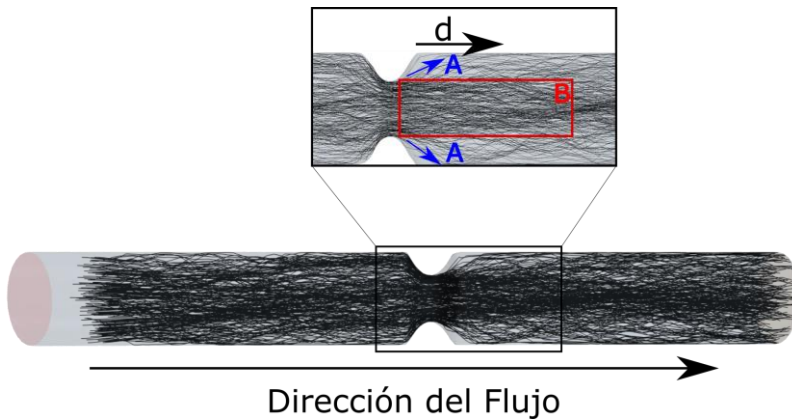


Figura 7.5. Representación de las trayectorias de partículas portadoras de medicamento. A. Dirección de migración de las partículas una vez cruzan la estenosis. B. Región central del canal ocupada por las partículas que cruzan la estenosis por la sección central. 'd' es la distancia a la estenosis a la cual chocan las partículas con el endotelio

En la Figura 7.6 se muestra el resultado de una simulación CFD basada en el experimento descrito con anterioridad. Las partículas coloreadas de rojo son los eritrocitos o glóbulos rojos mientras que las de color amarillo son las partículas portadoras de medicamento. Aguas arriba de la estenosis, tiene lugar un choque entre los glóbulos rojos, las partículas, la pared del vaso y la pared de la estenosis, quedando las nano y micropartículas atrapadas entre los glóbulos rojos y la pared.

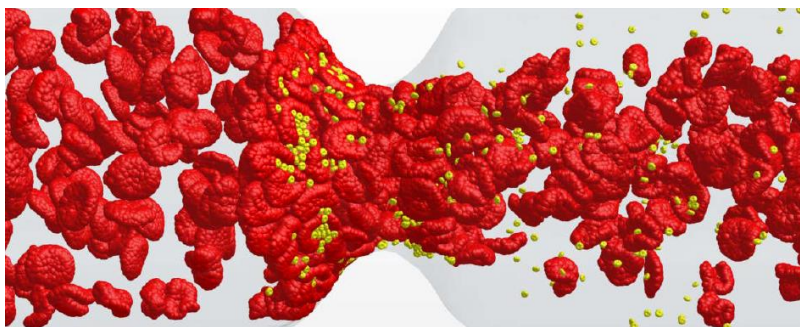


Figura 7.6. Glóbulos rojos y micropartículas (forma discoidal) fluyendo a través de una estenosis. Se puede observar la migración lateral de las partículas (en amarillo)

Una vez las partículas consiguen atravesar la estenosis es más probable que aquellas que circulan más próximas a las paredes golpeen áreas más cercanas a la estenosis mientras que, aquellas ubicadas en el centro de canal, tienden a seguir las líneas de corriente preferenciales del flujo. A partir de esta simulación, es posible contar el número de partículas que chocan con la pared en función de la distancia 'd' a la estenosis. Dado que el objetivo es analizar qué tipo de partícula alcanza antes la pared y, por ello, presenta una mayor capacidad para migrar e interactuar con la lesión, la distancia d_{min} desde la estenosis se representa en la Figura 7.7 y se calcula como sigue: (1) se registran los choques de cada tipo de partícula aguas abajo del estrechamiento y la distancia 'd' a la que se producen y (2) se define d_{min} para cada tipo de partícula por el 5° percentil de las distancias 'd' medidas desde la estenosis.

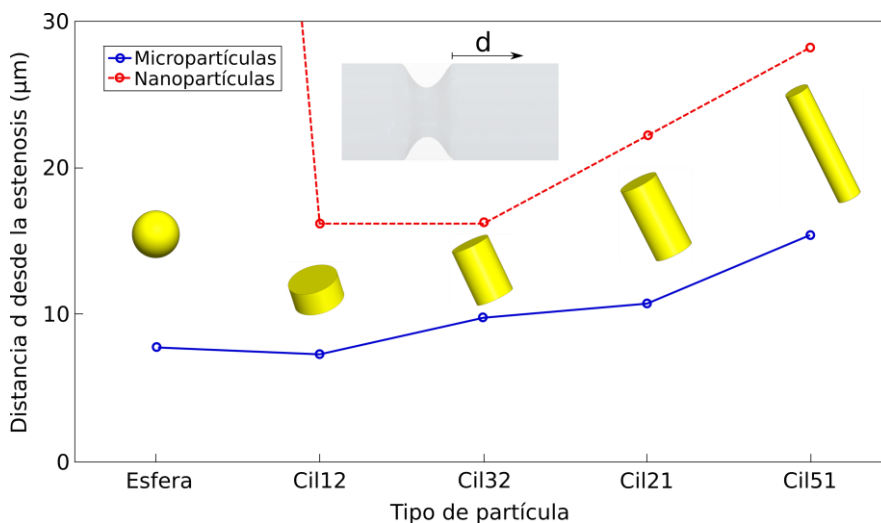


Figura 7.7. Las nanopartículas con forma de disco, con un *aspect ratio* bajo, llegan antes a la pared mientras que las nanopartículas con forma esférica no llegan a tocarla, mostrando una menor eficacia como portador de fármacos para el caso estudiado. En general, las micropartículas migran de manera más eficiente que las nanopartículas.

La primera conclusión que se puede extraer de estos resultados es que las partículas más grandes consideradas (escala micro) colisionan

sistemáticamente más cerca de la estenosis que aquellas en escala nano. A su vez, las esferas muestran un comportamiento diferente dependiendo de su tamaño. Así, las esferas de tamaño nano presentan una baja capacidad para migrar y tienden a permanecer atrapadas en el núcleo de glóbulos rojos. De hecho, las nanoesferas consideradas no chocan con las paredes en el rango de observación de las simulaciones realizadas en este estudio (Figura 7.8). Por otra parte, las esferas de tamaño micro tienen una alta capacidad para migrar siendo una de las formas que alcanzan la pared más rápidamente una vez superada la estenosis. El comportamiento observado para los cilindros muestra la misma tendencia para las escalas micro y nano. Partículas con bajo *aspect ratio* (que se define como la ratio de la longitud sobre el diámetro) tienden a migrar y, por lo tanto, a alcanzar la pared más rápidamente. Entre todas las geometrías consideradas, la más adecuada para alcanzar la zona de aguas abajo de la estenosis es la forma de disco que es la que tiene la relación de aspecto más baja (1/2).

En la Figura 7.8. puede observarse gráficamente el comportamiento descrito con anterioridad al mostrarse en detalle las trayectorias de esferas y cilindros con *aspect ratio* 3/2 (en escala micro y nano) cuando cruzan las estenosis.

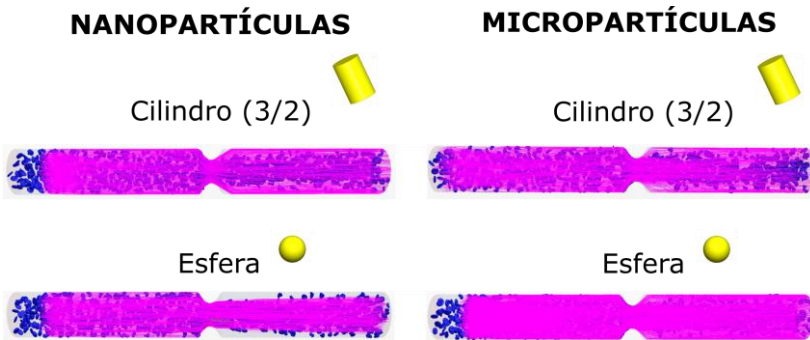


Figura 7.8. Trayectorias (en color rosa) de las partículas portadoras de medicamento (esferas y cilindros 3/2). En azul se representan los eritrocitos. Mientras los cilindros 3/2 muestran un comportamiento similar en escala nano y micro, las esferas se comportan de manera muy diferente manteniéndose en el centro del canal en el caso nano y aumentando su capacidad de migración a medida que aumenta su tamaño

Si analizamos el experimento desde otro punto de vista, es decir, si la intención del experimento es que las partículas continúen siguiendo las líneas preferenciales de flujo y lleguen lo más lejos posible en el torrente sanguíneo, entonces debemos optar por encapsular el fármaco en cilindros de alta relación de aspecto o en esferas (solo para escala nano). Con este enfoque, la elección de la partícula debería estar en la escala nano, en general, ya que, según nuestro estudio, las partículas definidas en esta escala tienden a seguir las líneas de corriente preferenciales de flujo.

Haciendo uso de este mismo dominio (vaso con estenosis), se estudia la influencia del nivel de hematocrito en sangre (Hc) en la migración de las partículas portadoras de medicamento y, por lo tanto, en su capacidad para actuar en la zona objetivo. Es necesario tener en cuenta que este parámetro es accesible de forma experimental mediante el uso de los medicamentos adecuados y se puede utilizar para mejorar la eficacia de ciertos medicamentos sin aumentar la toxicidad de los mismos. Se consideran tres casos: nivel de hematocrito (Hc) bajo (5% Hc), normal (30% Hc) y alto (65% Hc).

La Figura 7.9 muestra el porcentaje de partículas que llegan desde la pared a diferentes distancias una vez que superan la estenosis. El análisis se realiza utilizando geometrías cilíndricas con una relación de aspecto de 3/2 (micro y nano) por tratarse de la tipología de partícula que tiene un comportamiento más parecido en ambas escalas. La observación directa de la Figura 7.9 muestra que, a medida que aumenta la concentración de glóbulos rojos, las partículas micro muestran una tendencia a permanecer en el flujo principal y golpear las paredes más alejadas de la estenosis. De hecho, los valores altos de hematocrito producen una distribución más uniforme de las partículas. Por otro lado, una sangre más fluida (con un nivel de hematocrito más bajo) ayuda a que las partículas lleguen a ubicaciones de la pared más cercanas a la estenosis. El comportamiento observado para las nanopartículas en la fila inferior de la Figura 7.9 es diferente. El aumento de hematocrito del 5% al 30% favorece la migración de las partículas mientras que un aumento del 30% al 65% atenúa su migración después de la estenosis. Por lo tanto, parece que hay algún valor de hematocrito particular en el que el efecto de migración es óptimo.

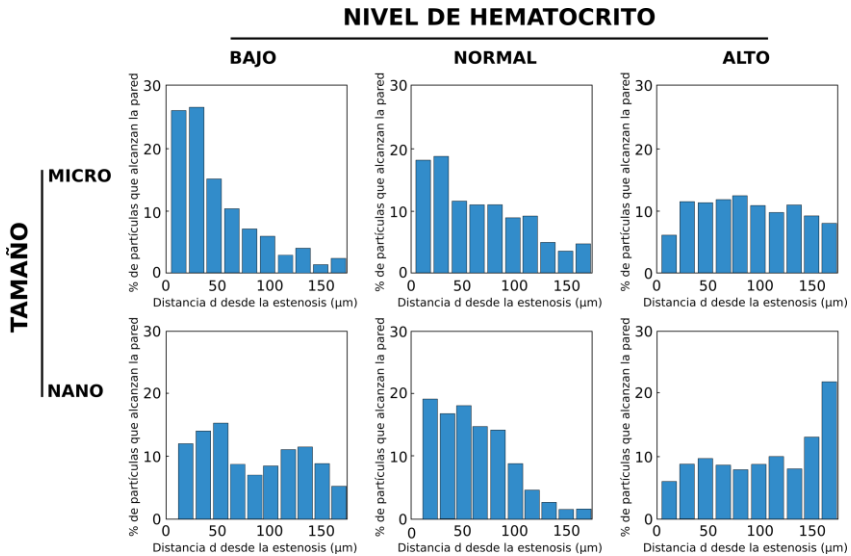


Figura 7.9. Distribución en la pared aguas abajo de la estenosis de cilindros con relación de aspecto 3/2 (en escala micro y nano) considerando tres niveles diferentes de hematocrito. a) Bajo hematocrito (5%Hc) b) Hematocrito normal (30%Hc) c) Alto hematocrito (65%)

7.3.2. Estudio de la migración de micropartículas en una bifurcación del sistema circulatorio

En esta subsección, se analiza la capacidad de las micropartículas para migrar en un contexto diferente. Se considera una bifurcación en la que el flujo sanguíneo se divide y aparece un flujo secundario que surge a partir del canal principal. En esta ocasión, el porcentaje de partículas que salen de la corriente principal a la secundaria se caracteriza en función de las diferentes geometrías de las partículas portadoras de medicamento. El análisis sólo se realiza en escala micro ya que las partículas en escala nano mostraron poca capacidad para salir del flujo principal. Los resultados se muestran en la Figura 7.10.

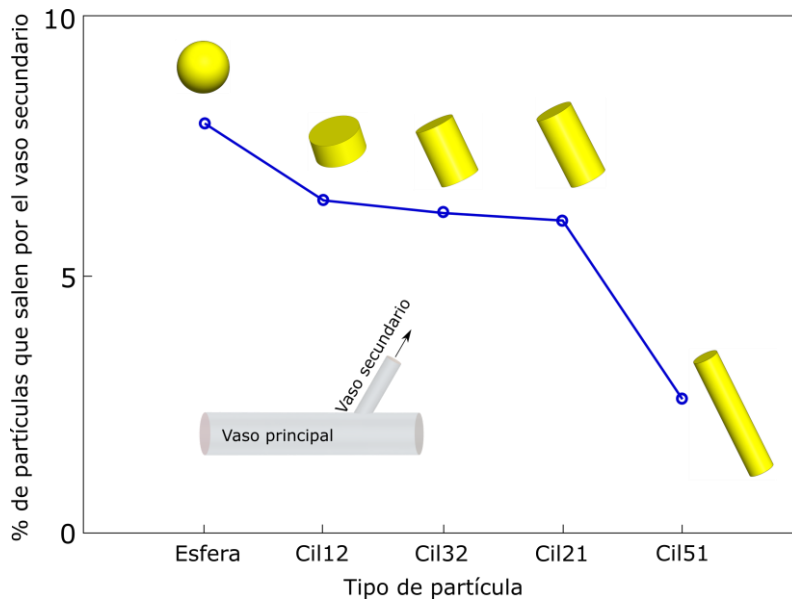


Figura 7.10. Se muestra el % de micropartículas que salen de la geometría por el brazo lateral o vaso secundario de acuerdo con el tipo de partícula.

En este caso podemos observar como las esferas son las micropartículas que tienen una mayor capacidad para alcanzar la salida del vaso secundario seguido de los discos y de los cilindros con mayor *aspect ratio*. Combinando los resultados de este estudio con los observados en la subsección anterior en la que se analizaba el comportamiento de las partículas al pasar a través de una estenosis, se puede concluir que, en escala micro, las esferas y los cilindros con la relación de aspecto más baja (discos) tienen una probabilidad significativamente mayor de migrar hacia la pared del vaso. Será necesario un análisis estadístico más robusto (con un mayor número de partículas) para determinar si son las esferas o los discos las partículas más propensas a migrar hacia el endotelio. Por otro lado, aquellos cilindros con una relación de aspecto alta tienen una mayor tendencia a permanecer en el flujo principal.

7.4. CONCLUSIONES

Con frecuencia, las partículas administradas por vía intravenosa están en escala nano y tienen forma esférica. En muchas ocasiones, la eficacia de estas partículas como sistema de administración de fármacos depende de su interacción con la pared de los vasos sanguíneos y esta interacción está influenciada por la capacidad de estas partículas para salir del núcleo de los glóbulos rojos y moverse radialmente hacia el endotelio.

Varios estudios experimentales y computacionales recientes han indicado que las micropartículas tienen una mayor propensión a marginar hacia la pared [Howard *et al.*, (2014); Müller *et al.*, (2014)]. Además, otros estudios también han indicado que las partículas no esféricas pueden tener una mayor marginación que las esféricas. [Vahidkhalil y Bagchi, (2015); Shah *et al.*, (2011)].

El tamaño es uno de los parámetros más importantes cuando estudiamos la migración de partículas. Según estudios recientes, encontramos que las partículas más grandes (microescala) migran de manera más eficiente que otras partículas más pequeñas en escala nano. Además del tamaño, también se ha tenido en cuenta la forma de las partículas. Aquí encontramos que aquellas con forma cilíndrica o discoidal migran de manera más eficiente cuanto más baja sea su relación de aspecto. El comportamiento de las partículas cuando tienen forma esférica es muy diferente según el tamaño. Mientras que las micropartículas tienen una alta capacidad para migrar, las nanoesferas parecen estar atrapadas en el núcleo de los glóbulos rojos y tardan más tiempo en llegar a la pared. Finalmente, los niveles de hematocrito también influyen en la migración de partículas. Mientras que las micropartículas pierden su capacidad de migrar a medida que aumentamos la cantidad de glóbulos rojos, las nanopartículas tienen un comportamiento desigual: alcanzan la pared antes si los niveles de hematocrito aumentan a un porcentaje del 30% pero en el rango [30%-65%] pierden eficiencia de migración.

La importancia de estos resultados es relevante en campos como la cardiología o la oncología. En cardiología, las partículas para administración de fármacos se utilizan en vasos de mayor diámetro y su

eficacia está directamente relacionada con su interacción con el endotelio. Sin embargo, en oncología, el objetivo suele ser que las partículas lleguen a vasos con diámetros muy pequeños (del orden de las micras). En este sentido, puede resultar interesante el uso de partículas que permanezcan en flujo durante más tiempo sin interactuar con el endotelio y que no provoquen bloqueos en los vasos diana.

Conclusiones

A lo largo de esta Tesis se han definido e implementado modelos numéricos con el objetivo de obtener una representación realista del flujo sanguíneo y poder así analizar determinadas variables de interés clínico en el campo de la cardiología (Capítulos 3, 4 y 5) y de la oncología (Capítulo 6) así como de proporcionar información para el diseño de fármacos que puedan eliminar o mitigar las enfermedades que son objeto de estudio en los capítulos anteriores (Capítulo 7). El documento comienza con el estudio de bifurcaciones coronarias idealizadas cuyo objetivo es estudiar la influencia que tiene la geometría de la estructura del vaso sanguíneo y determinadas variables en la formación de placa aterosclerótica y en el avance de enfermedades cardíacas. Posteriormente, se incrementa el grado de personalización del análisis construyendo un modelo más sofisticado capaz de proporcionar indicadores cardiológicos personalizados y de forma no invasiva que habitualmente son usados en la práctica clínica para diagnóstico de cardiopatía isquémica. El Capítulo 6 se centra en el campo de la oncología, concretamente, en la distribución del anidamiento de células tumorales en estructuras arteriales singulares (bifurcaciones) y en cómo el flujo sanguíneo puede determinar la generación de metástasis en ubicaciones poco usuales. Por último, un análisis aerodinámico de las cápsulas en las cuales se introducen los medicamentos guiados por flujo proporciona estrategias a seguir para mejorar su eficiencia.

Con carácter más específico, las conclusiones principales del presente trabajo son:

- Las zonas exteriores de las bifurcaciones se caracterizan por ser zonas de baja velocidad en las que existe una mayor

probabilidad de deposición de partículas y, por lo tanto, de formación de placa aterosclerótica.

- El ángulo de las bifurcaciones es fundamental para entender los mecanismos de formación de placa aterosclerótica. Así, de este trabajo se deduce que hay un ángulo crítico ubicado en el rango $[60^\circ, 90^\circ]$ en el cual la formación de placa puede ser más pronunciada.
- Cambios en la morfología de las bifurcaciones arteriales provocan cambios en el flujo que ocasionan, a su vez, un cambio sustancial en la deposición de las partículas que promueven la formación de placa. Así, el aumento del radio del vértice se establece como un parámetro clínico que puede conllevar un aumento de la probabilidad de enfermedad coronaria.
- A partir de una imagen médica procedente de TAC se puede construir la morfología coronaria personalizada de un paciente y, mediante un estudio con CFD, es posible el cálculo preciso de FFR mediante el cual se puede evaluar la severidad de lesiones coronarias.
- Parámetros como el $\Delta\text{FFR}_{\text{ct}}$, HSR o el WSS suponen un importante apoyo diagnóstico cuando el FFR_{ct} resulta en un valor poco concluyente a la hora de caracterizar la severidad de una lesión ($0.75 \leq \text{FFR}_{\text{ct}} \leq 0.80$)
- Las células tumorales circulantes (CTCs) pueden anidar en bifurcaciones de grandes vasos sanguíneos en zonas del vértice caracterizadas por una baja velocidad, un bajo WSS y un alto número de impactos.
- Tratamientos o fármacos que provocan una reducción de viscosidad de la sangre pueden contribuir a reducir el

anidamiento y formación de metástasis en determinadas ubicaciones del árbol arterial.

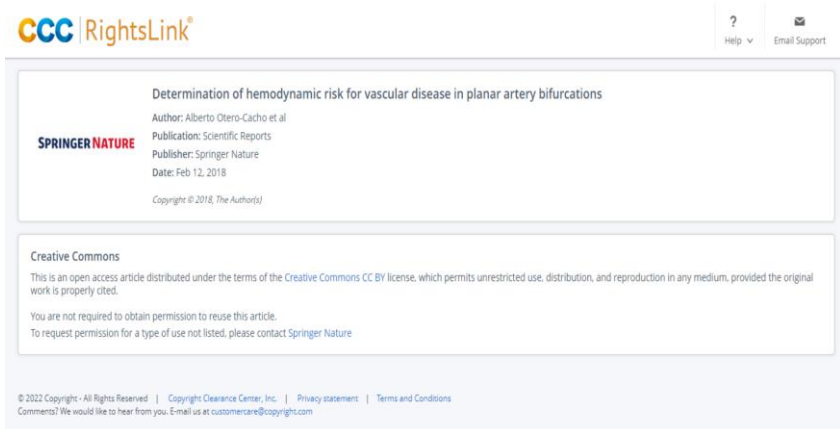
- La morfología de las partículas portadoras de medicamento incide de forma decisiva en su comportamiento en flujo.
- Las micropartículas de forma esférica se posicionan como aquellas con una mayor probabilidad de migrar y, por lo tanto, de establecer contacto más rápidamente con la estenosis objetivo, liberando el fármaco y contribuyendo a la reducción de la placa aterosclerótica.
- Las nanopartículas esféricas portadoras de fármaco pueden ser las geometrías más eficientes a la hora de trasportar el fármaco a vasos terminales del sistema vascular debido a su tamaño y a su escasa propensión a migrar.

Como conclusión general, se puede decir que la modelización matemática de los procesos de circulación y transporte en el torrente sanguíneo ha alcanzado un alto nivel de fiabilidad que le ha hecho convertirse en una herramienta fundamental a la hora de plantear cualquier estudio en este sentido llegando, en algunos casos, a constituirse en alternativa a métodos experimentales con el consiguiente abaratamiento de los costes de experimentación y reducción de experimentos en animales.

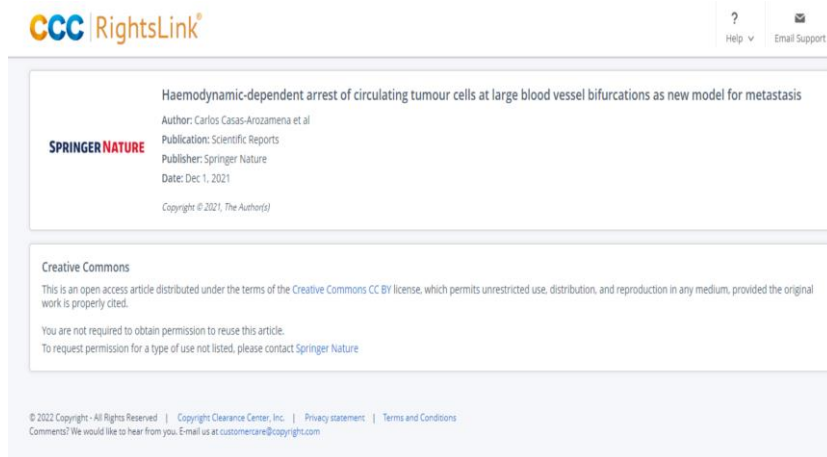
Anexo

AUTORIZACIÓN PARA LA REPRODUCCIÓN DE ARTÍCULOS

En el este apéndice se muestran los permisos para el uso y reproducción de contenido presente diferentes publicaciones siendo todo este contenido debidamente citado en el cuerpo de la presente Tesis.



The screenshot displays a RightsLink interface for an article. At the top left is the 'CCC RightsLink' logo. On the top right, there are links for 'Help' and 'Email Support'. The main content area is divided into two sections. The first section, titled 'Determination of hemodynamic risk for vascular disease in planar artery bifurcations', lists the author as 'Alberto Otero-Cacho et al', the publication as 'Scientific Reports', the publisher as 'Springer Nature', and the date as 'Feb 12, 2018'. It also includes a copyright notice: 'Copyright © 2018, The Author(s)'. The second section, titled 'Creative Commons', states that the article is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. It also notes that permission is not required to reuse the article, but requests for other types of use should be directed to Springer Nature. At the bottom of the page, there is a footer with copyright information: '© 2022 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Terms and Conditions' and a comment: 'Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com'.



The screenshot displays the metadata and Creative Commons license for an article. At the top left is the CCC RightsLink logo. At the top right are links for Help and Email Support. The article title is "Haemodynamic-dependent arrest of circulating tumour cells at large blood vessel bifurcations as new model for metastasis". The author is Carlos Casas-Arozamena et al. The publication is Scientific Reports, published by Springer Nature on Dec 1, 2021. The copyright is © 2021, The Author(s). Below this is the Creative Commons license information, stating it is an open access article under the terms of the Creative Commons CC BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. It also notes that permission is not required to reuse the article, but for other types of use, contact Springer Nature. At the bottom, there is a footer with copyright information and contact details for the Copyright Clearance Center.

CCC RightsLink®

? Help v | Email Support

SPRINGER NATURE

Haemodynamic-dependent arrest of circulating tumour cells at large blood vessel bifurcations as new model for metastasis

Author: Carlos Casas-Arozamena et al

Publication: Scientific Reports

Publisher: Springer Nature

Date: Dec 1, 2021

Copyright © 2021, The Author(s)

Creative Commons

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons CC BY license, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

You are not required to obtain permission to reuse this article.

To request permission for a type of use not listed, please contact Springer Nature

© 2022 Copyright - All Rights Reserved | Copyright Clearance Center, Inc. | Privacy statement | Terms and Conditions
Comments? We would like to hear from you. E-mail us at customercare@copyright.com

El siguiente artículo está aceptado para su publicación en la revista *Clinical Cardiology and Cardiovascular Medicine* (OpenAccess):

Otero-Cacho, A., Muñuzuri, A.P. The geometry of coronary artery bifurcations and its role in plaque formation. Status: Accepted (2021)



Attribution 4.0 International (CC BY 4.0)

This is a human-readable summary of (and not a substitute for) the [license](#). [Disclaimer](#).

You are free to:

Share — copy and redistribute the material in any medium or format

Adapt — remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

The licensor cannot revoke these freedoms as long as you follow the license terms.



Bibliografía

Álvarez, B. Á., Casas, C. A. J., Cordero, A., Gómez, Á. M., Álvarez, A. B. C., Bermejo, R. A., ... & Juanatey, J. R. G. (2020). Coronariografía precoz y mortalidad a largo plazo en infarto agudo de miocardio de alto riesgo. Registro CARDIOCHUS-HUSJ. *Revista Española de Cardiología*, 73(1), 35-42.

Asakura, T., & Karino, T. (1990). Flow patterns and spatial distribution of atherosclerotic lesions in human coronary arteries. *Circulation research*, 66(4), 1045-1066.

Awe, J. A., Saranchuk, J., Drachenberg, D., & Mai, S. (2017, May). Filtration-based enrichment of circulating tumor cells from all prostate cancer risk groups. In *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations* (Vol. 35, No. 5, pp. 300-309). Elsevier.

Aymerich, M., Álvarez, E., Bao-Varela, C., Moscoso, I., González-Juanatey, J. R., & Flores-Arias, M. T. (2017). Laser technique for the fabrication of blood vessels-like models for preclinical studies of pathologies under flow conditions. *Biofabrication*, 9(2), 025033.

Bajraktari, A., Bytyçi, I., & Henein, M. Y. (2020). The relationship between coronary artery wall shear strain and plaque morphology: A systematic review and meta-analysis. *Diagnostics*, 10(2), 91.

Baluja, A., Rodríguez-Mañero, M., Cordero, A., Kreidieh, B., Iglesias-Alvarez, D., García-Acuña, J. M., ... & González-Juanatey, J. R. (2020). Prediction of major adverse cardiac, cerebrovascular events

in patients with diabetes after acute coronary syndrome. *Diabetes and Vascular Disease Research*, 17(1), 1479164119892137.

Beier, S., Ormiston, J., Webster, M., Cater, J., Norris, S., Medrano-Gracia, P., ... & Cowan, B. (2016). Impact of bifurcation angle and other anatomical characteristics on blood flow—A computational study of non-stented and stented coronary arteries. *Journal of biomechanics*, 49(9), 1570-1582.

Bermejo, R. A., Cordero, A., García-Acuña, J. M., Otero, I. G., Román, A. V., Martínez, Á., ... & González-Juanatey, J. R. (2018). Determinantes e impacto pronóstico de la insuficiencia cardiaca y la fracción de eyección del ventrículo izquierdo en el síndrome coronario agudo. *Revista Española de Cardiología*, 71(10), 820-828.

Berry, C., Van'T Veer, M., Witt, N., Kala, P., Bocek, O., Pyxaras, S. A., ... & Oldroyd, K. G. (2013). VERIFY (VERification of instantaneous wave-free ratio and fractional flow reserve for the assessment of coronary artery stenosis severity in EverydaY practice) a multicenter study in consecutive patients. *Journal of the American College of Cardiology*, 61(13), 1421-1427.

Bidard, F. C., Pierga, J. Y., Vincent-Salomon, A., & Poupon, M. F. (2008). A “class action” against the microenvironment: do cancer cells cooperate in metastasis?. *Cancer and Metastasis Reviews*, 27(1), 5-10.

Boehm, F. (Ed.). (2016). *Nanomedical device and systems design: challenges, possibilities, visions*. CRC Press.

Bonert, M., Leask, R. L., Butany, J., Ethier, C. R., Myers, J. G., Johnston, K. W., & Ojha, M. (2003). The relationship between wall shear stress distributions and intimal thickening in the human abdominal aorta. *BioMedical Engineering OnLine*, 2(1), 1-14.

Brodland, G. W., & Veldhuis, J. H. (2012). The mechanics of metastasis: insights from a computational model.

Brown, A. J., Teng, Z., Evans, P. C., Gillard, J. H., Samady, H., & Bennett, M. R. (2016). Role of biomechanical forces in the natural history of coronary atherosclerosis. *Nature reviews cardiology*, 13(4), 210-220.

Bryan, A. K., Hecht, V. C., Shen, W., Payer, K., Grover, W. H., & Manalis, S. R. (2014). Measuring single cell mass, volume, and density with dual suspended microchannel resonators. *Lab on a Chip*, 14(3), 569-576.

Budoff, M. J., Dowe, D., Jollis, J. G., Gitter, M., Sutherland, J., Halamert, E., ... & Min, J. K. (2008). Diagnostic performance of 64-multidetector row coronary computed tomographic angiography for evaluation of coronary artery stenosis in individuals without known coronary artery disease: results from the prospective multicenter ACCURACY (Assessment by Coronary Computed Tomographic Angiography of Individuals Undergoing Invasive Coronary Angiography) trial. *Journal of the American College of Cardiology*, 52(21), 1724-1732.

Byun, J. S., Choi, S. Y., & Seo, T. (2016). The numerical study of the hemodynamic characteristics in the patient-specific intracranial aneurysms before and after surgery. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, 2016.

Caro, C. G., Fitz-Gerald, J. M., & Schroter, R. C. (1971). Proposal of a shear dependent mass transfer mechanism for atherogenesis. *Clinical science*, 40(2), 5P.

Carson, J. M., Pant, S., Roobottom, C., Alcock, R., Javier Blanco, P., Alberto Bulant, C., ... & Nithiarasu, P. (2019). Non-invasive coronary CT angiography-derived fractional flow reserve: A benchmark study comparing the diagnostic performance of four different computational methodologies. *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 35(10), e3235.

Casas-Arozamena, C., Otero-Cacho, A., Carnero, B., Almenglo, C., Aymerich, M., Alonso-Alconada, L., ... & Abal, M. (2021). Haemodynamic-dependent arrest of circulating tumour cells at large blood vessel bifurcations as new model for metastasis. *Scientific reports*, 11(1), 1-11.

Cebral, J. R., Vazquez, M., Sforza, D. M., Houzeaux, G., Tateshima, S., Scrivano, E., ... & Putman, C. M. (2015). Analysis of hemodynamics and wall mechanics at sites of cerebral aneurysm rupture. *Journal of NeuroInterventional Surgery*, 7(7), 530-536.

Chaichana, T., Sun, Z., & Jewkes, J. (2011). Computation of hemodynamics in the left coronary artery with variable angulations. *Journal of biomechanics*, 44(10), 1869-1878.

Charoenphol, P., Mocherla, S., Bouis, D., Namdee, K., Pinsky, D. J., & Eniola-Adefeso, O. (2011). Targeting therapeutics to the vascular wall in atherosclerosis—carrier size matters. *Atherosclerosis*, 217(2), 364-370.

Chiastra, C., Gallo, D., Tasso, P., Iannaccone, F., Migliavacca, F., Wentzel, J. J., & Morbiducci, U. (2017). Healthy and diseased coronary bifurcation geometries influence near-wall and intravascular flow: a computational exploration of the hemodynamic risk. *Journal of Biomechanics*, 58, 79-88.

Chodzyński, K. J., Zouaoui Boudjeltia, K., Lalmand, J., Aminian, A., Vanhamme, L., de Sousa, D. R., ... & Coussement, G. (2015). An in vitro test bench reproducing coronary blood flow signals. *Biomedical engineering online*, 14(1), 1-26.

Coenen, A., Lubbers, M. M., Kurata, A., Kono, A., Dedic, A., Chelu, R. G., ... & Nieman, K. (2015). Fractional flow reserve computed from noninvasive CT angiography data: diagnostic performance of an on-site clinician-operated computational fluid dynamics algorithm. *Radiology*, 274(3), 674-683.

Cundall, P. A., & Strack, O. D. (1979). A discrete numerical model for granular assemblies. *geotechnique*, 29(1), 47-65.

Danad, I., Raijmakers, P. G., Appelman, Y. E., Harms, H. J., de Haan, S., van den Oever, M. L., ... & Knaapen, P. (2013). Hybrid imaging using quantitative H215O PET and CT-based coronary angiography for the detection of coronary artery disease. *Journal of Nuclear Medicine*, 54(1), 55-63.

Dasgupta, A., Lim, A. R., & Ghajar, C. M. (2017). Circulating and disseminated tumor cells: harbingers or initiators of metastasis?. *Molecular oncology*, 11(1), 40-61.

Decorato, I., Kharboutly, Z., Vassallo, T., Penrose, J., Legallais, C., & Salsac, A. V. (2014). Numerical simulation of the fluid structure interactions in a compliant patient-specific arteriovenous fistula. *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, 30(2), 143-159.

Decuzzi, P., Lee, S., Bhushan, B., & Ferrari, M. (2005). A theoretical model for the margination of particles within blood vessels. *Annals of biomedical engineering*, 33(2), 179-190.

Di Renzo, A., & Di Maio, F. P. (2004). Comparison of contact-force models for the simulation of collisions in DEM-based granular flow codes. *Chemical engineering science*, 59(3), 525-541.

Dong, J., Sun, Z., Inthavong, K., & Tu, J. (2015). Fluid–structure interaction analysis of the left coronary artery with variable angulation. *Computer methods in biomechanics and biomedical engineering*, 18(14), 1500-1508.

Doshi, N., Prabhakarpanthian, B., Rea-Ramsey, A., Pant, K., Sundaram, S., & Mitragotri, S. (2010). Flow and adhesion of drug carriers in blood vessels depend on their shape: a study using model

synthetic microvascular networks. *Journal of Controlled Release*, 146(2), 196-200.

Duanmu, Z., Yin, M., Fan, X., Yang, X., & Luo, X. (2018). A patient-specific lumped-parameter model of coronary circulation. *Scientific reports*, 8(1), 1-10.

Ejaz, U., Akhtar, F., Xue, J., Wan, X., Zhang, T., & He, S. (2021). Inhibitory potential of low molecular weight Heparin in cell adhesion; emphasis on tumor metastasis. *European Journal of Pharmacology*, 892, 173778.

Elwood, P. C., Morgan, G., Pickering, J. E., Galante, J., Weightman, A. L., Morris, D., ... & Dolwani, S. (2016). Aspirin in the treatment of cancer: reductions in metastatic spread and in mortality: a systematic review and meta-analyses of published studies. *PLoS one*, 11(4), e0152402.

Eom, H. J., Yang, D. H., Kim, Y. H., Roh, J. H., Kweon, J., Kang, S. J., ... & Lim, T. H. (2016). Coronary bifurcation stent morphology in dual-source CT: validation with micro-CT. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, 32(11), 1659-1665.

Eshtehardi, P., McDaniel, M. C., Suo, J., Dhawan, S. S., Timmins, L. H., Binongo, J. N. G., ... & Samady, H. (2012). Association of coronary wall shear stress with atherosclerotic plaque burden, composition, and distribution in patients with coronary artery disease. *Journal of the American Heart Association*, 1(4), e002543.

Eshtehardi, P., Brown, A. J., Bhargava, A., Costopoulos, C., Hung, O. Y., Corban, M. T., ... & Samady, H. (2017). High wall shear stress and high-risk plaque: an emerging concept. *The international journal of cardiovascular imaging*, 33(7), 1089-1099.

Fairbairn, T. A., Nieman, K., Akasaka, T., Nørgaard, B. L., Berman, D. S., Raff, G., ... & Patel, M. R. (2018). Real-world clinical

utility and impact on clinical decision-making of coronary computed tomography angiography-derived fractional flow reserve: lessons from the ADVANCE Registry. *European heart journal*, 39(41), 3701-3711.

Ferziger, J. H., & Peric, M. (1996). *Computational Methods for Fluid Dynamics* Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York.

Finet, G., Gilard, M., Perrenot, B., Rioufol, G., Motreff, P., Gavit, L., & Prost, R. (2008). Fractal geometry of arterial coronary bifurcations: a quantitative coronary angiography and intravascular ultrasound analysis. *EuroIntervention: journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology*, 3(4), 490-498.

Follain, G., Herrmann, D., Harlepp, S., Hyenne, V., Osmani, N., Warren, S. C., ... & Goetz, J. G. (2020). Fluids and their mechanics in tumour transit: shaping metastasis. *Nature Reviews Cancer*, 20(2), 107-124.

Font-Clos, F., Zapperi, S., & La Porta, C. A. (2020). Blood flow contributions to cancer metastasis. *Iscience*, 23(5), 101073.

Frattolin, J., Zarandi, M. M., Pagiatakis, C., Bertrand, O. F., & Mongrain, R. (2015). Numerical study of stenotic side branch hemodynamics in true bifurcation lesions. *Computers in Biology and Medicine*, 57, 130-138.

Fu, B. M. (2018). Tumor metastasis in the microcirculation. *Molecular, Cellular, and Tissue Engineering of the Vascular System*, 201-218.

Fung, Y. C. (1993). Mechanical properties and active remodeling of blood vessels. In *Biomechanics* (pp. 321-391). Springer, New York, NY.

Fung, Y. C. (1997). Blood flow in arteries. In *Biomechanics* (pp. 108-205). Springer, New York, NY.

Gallo, D., Steinman, D. A., Bijari, P. B., & Morbiducci, U. (2012). Helical flow in carotid bifurcation as surrogate marker of exposure to disturbed shear. *Journal of biomechanics*, 45(14), 2398-2404.

Gentile, F., Curcio, A., Indolfi, C., Ferrari, M., & Decuzzi, P. (2008). The margination propensity of spherical particles for vascular targeting in the microcirculation. *Journal of nanobiotechnology*, 6(1), 1-9.

Guo, P., Cai, B., Lei, M., Liu, Y., & Fu, B. M. (2014). Differential arrest and adhesion of tumor cells and microbeads in the microvasculature. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 13(3), 537-550.

Gwon, H. C. (2018). Understanding the coronary bifurcation stenting. *Korean circulation journal*, 48(6), 481-491.

Holme, M. N., Fedotenko, I. A., Abegg, D., Althaus, J., Babel, L., Favarger, F., ... & Zumbuehl, A. (2012). Shear-stress sensitive lenticular vesicles for targeted drug delivery. *Nature nanotechnology*, 7(8), 536-543.

Hoye, A. (2017). The proximal optimisation technique for intervention of coronary bifurcations. *Interventional Cardiology Review*, 12(2), 110.

Howard, M., Zern, B. J., Anselmo, A. C., Shuvaev, V. V., Mitragotri, S., & Muzykantov, V. (2014). Vascular targeting of nanocarriers: perplexing aspects of the seemingly straightforward paradigm. *ACS nano*, 8(5), 4100-4132.

Huang, S., & Ingber, D. E. (2005). Cell tension, matrix mechanics, and cancer development. *Cancer cell*, 8(3), 175-176.

Instituto Nacional de Estadística (INE). <https://www.ine.es>

Itu, L., Rapaka, S., Passerini, T., Georgescu, B., Schwemmer, C., Schoebinger, M., ... & Comaniciu, D. (2016). A machine-learning approach for computation of fractional flow reserve from coronary computed tomography. *Journal of applied physiology*, *121*(1), 42-52.

Johnson, K. L., & Johnson, K. L. (1987). *Contact mechanics*. Cambridge university press.

Kern, M. J. (2012). Basal stenosis resistance: another adenosine-free contender for the lesion assessment crown?. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, *5*(4), 456-458.

Késmárky, G., Kenyeres, P., Rábai, M., & Tóth, K. (2008). Plasma viscosity: a forgotten variable. *Clinical hemorheology and microcirculation*, *39*(1-4), 243-246.

Kienast, Y., Von Baumgarten, L., Fuhrmann, M., Klinkert, W. E., Goldbrunner, R., Herms, J., & Winkler, F. (2010). Real-time imaging reveals the single steps of brain metastasis formation. *Nature medicine*, *16*(1), 116-122.

Kim, H. J., Vignon-Clementel, I. E., Figueroa, C. A., LaDisa, J. F., Jansen, K. E., Feinstein, J. A., & Taylor, C. A. (2009). On coupling a lumped parameter heart model and a three-dimensional finite element aorta model. *Annals of biomedical engineering*, *37*(11), 2153-2169.

Kittaka, D., Sato, H., Nakai, Y., & Kato, K. (2020). Relationship Between Coronary Fractional Flow Reserve and Computational Fluid Dynamics Analysis in Moderate Stenosis of the Coronary Artery. *Circulation Reports*, *2*(10), 545-551.

Klein, C. A. (2020). Cancer progression and the invisible phase of metastatic colonization. *Nature Reviews Cancer*, *20*(11), 681-694.

Kleinstreuer, C., Hyun, S., Buchanan, J. R., Longest, P. W., Archie Jr, J. P., & Truskey, G. A. (2001). Hemodynamic parameters and early intimal thickening in branching blood vessels. *Critical Reviews™ in Biomedical Engineering*, 29(1).

Klingenberg, R., & Hansson, G. K. (2009). Treating inflammation in atherosclerotic cardiovascular disease: emerging therapies. *European heart journal*, 30(23), 2838-2844.

Koo, B. K., Erglis, A., Doh, J. H., Daniels, D. V., Jegere, S., Kim, H. S., ... & Min, J. K. (2011). Diagnosis of ischemia-causing coronary stenoses by noninvasive fractional flow reserve computed from coronary computed tomographic angiograms: results from the prospective multicenter DISCOVER-FLOW (Diagnosis of Ischemia-Causing Stenoses Obtained Via Noninvasive Fractional Flow Reserve) study. *Journal of the American College of Cardiology*, 58(19), 1989-1997.

Korin, N., Kanapathipillai, M., Matthews, B. D., Crescente, M., Brill, A., Mammoto, T., ... & Ingber, D. E. (2012). Shear-activated nanotherapeutics for drug targeting to obstructed blood vessels. *Science*, 337(6095), 738-742.

Koskinas, K. C., Chatzizisis, Y. S., Baker, A. B., Edelman, E. R., Stone, P. H., & Feldman, C. L. (2009). The role of low endothelial shear stress in the conversion of atherosclerotic lesions from stable to unstable plaque. *Current opinion in cardiology*, 24(6), 580-590.

Koskinas, K. C., Feldman, C. L., Chatzizisis, Y. S., Coskun, A. U., Jonas, M., Maynard, C., ... & Stone, P. H. (2010). Natural history of experimental coronary atherosclerosis and vascular remodeling in relation to endothelial shear stress: a serial, in vivo intravascular ultrasound study. *Circulation*, 121(19), 2092-2101.

Koukouraki, S., Pagonidis, K., Perisinakis, K., Klinaki, I., Stathaki, M., Damilakis, J., ... & Karkavitsas, N. (2013). Hybrid cardiac imaging:

insights in the dilemma of the appropriate clinical management of patients with suspected coronary artery disease. *European Journal of Radiology*, 82(2), 281-287.

Krog, B. L., & Henry, M. D. (2018). Biomechanics of the circulating tumor cell microenvironment. *Biomechanics in Oncology*, 209-233.

Ku, D. N., Giddens, D. P., Zarins, C. K., & Glagov, S. (1985). Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation. Positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. *Arteriosclerosis: An Official Journal of the American Heart Association, Inc.*, 5(3), 293-302.

Kumar, A. A., Patton, M. R., Hennek, J. W., Lee, S. Y. R., D'Alesio-Spina, G., Yang, X., ... & Whitesides, G. M. (2014). Density-based separation in multiphase systems provides a simple method to identify sickle cell disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(41), 14864-14869.

LaBarbera, M. (1990). Principles of design of fluid transport systems in zoology. *Science*, 249(4972), 992-1000.

LaDisa, J. F., Guler, I., Olson, L. E., Hettrick, D. A., Kersten, J. R., Warltier, D. C., & Pagel, P. S. (2003). Three-dimensional computational fluid dynamics modeling of alterations in coronary wall shear stress produced by stent implantation. *Annals of biomedical engineering*, 31(8), 972-980.

Lahoz, C., & Mostaza, J. M. (2007). La aterosclerosis como enfermedad sistémica. *Revista Española de Cardiología*, 60(2), 184-195.

Lambert, A. W., Pattabiraman, D. R., & Weinberg, R. A. (2017). Emerging biological principles of metastasis. *Cell*, 168(4), 670-691.

Langille, B. L., & O'Donnell, F. (1986). Reductions in arterial diameter produced by chronic decreases in blood flow are endothelium-dependent. *Science*, *231*(4736), 405-407.

Laskey, W. K., Parker, H. G., Ferrari, V. A., Kussmaul, W. G., & Noordergraaf, A. B. R. A. H. A. M. (1990). Estimation of total systemic arterial compliance in humans. *Journal of Applied Physiology*, *69*(1), 112-119.

Lee, C. H., Jung, K. H., Cho, D. J., & Jeong, S. K. (2019). Effect of warfarin versus aspirin on blood viscosity in cardioembolic stroke with atrial fibrillation: a prospective clinical trial. *BMC neurology*, *19*(1), 1-7.

Lee, S. R., Jung, J. M., Jung, L. Y., Lee, J. H., Lee, S. H., Rhee, K. S., ... & Rosenson, R. S. (2013). Elevated coronary whole blood viscosity in acute coronary syndrome patients. *Clinical hemorheology and microcirculation*, *55*(1), 85-94.

Lee, J. M., Choi, G., Koo, B. K., Hwang, D., Park, J., Zhang, J., ... & Kim, H. S. (2019). Identification of high-risk plaques destined to cause acute coronary syndrome using coronary computed tomographic angiography and computational fluid dynamics. *Cardiovascular Imaging*, *12*(6), 1032-1043.

Lefèvre, T., Louvard, Y., Morice, M. C., Dumas, P., Loubeyre, C., Benslimane, A., ... & Piéchaud, J. F. (2000). Stenting of bifurcation lesions: classification, treatments, and results. *Catheterization and cardiovascular interventions*, *49*(3), 274-283.

Lo, E. W., Menezes, L. J., & Torii, R. (2019). Impact of inflow boundary conditions on the calculation of CT-based FFR. *Fluids*, *4*(2), 60.

Malek, A. M., Alper, S. L., & Izumo, S. (1999). Hemodynamic shear stress and its role in atherosclerosis. *Jama*, *282*(21), 2035-2042.

Malvè, M., García, A., Ohayon, J., & Martínez, M. A. (2012). Unsteady blood flow and mass transfer of a human left coronary artery bifurcation: FSI vs. CFD. *International communications in heat and mass transfer*, 39(6), 745-751.

Mandal, P. K. (2005). An unsteady analysis of non-Newtonian blood flow through tapered arteries with a stenosis. *International journal of non-linear mechanics*, 40(1), 151-164.

Martorell, J., Santoma, P., Kolandaivelu, K., Kolachalama, V. B., Melgar-Lesmes, P., Molins, J. J., ... & Balcells, M. (2014). Extent of flow recirculation governs expression of atherosclerotic and thrombotic biomarkers in arterial bifurcations. *Cardiovascular research*, 103(1), 37-46.

Meuwissen, M., Siebes, M., Chamuleau, S. A., van Eck-Smit, B. L., Koch, K. T., de Winter, R. J., ... & Piek, J. J. (2002). Hyperemic stenosis resistance index for evaluation of functional coronary lesion severity. *Circulation*, 106(4), 441-446.

Mongrain, R., & Rodés-Cabau, J. (2006). Role of shear stress in atherosclerosis and restenosis after coronary stent implantation. *Revista espanola de cardiologia*, 59(1), 1-4.

Morbiducci, U., Kok, A. M., Kwak, B. R., Stone, P. H., Steinman, D. A., & Wentzel, J. J. (2016). Atherosclerosis at arterial bifurcations: evidence for the role of haemodynamics and geometry. *Thrombosis and haemostasis*, 115(03), 484-492.

Morris, P. D., Ryan, D., Morton, A. C., Lycett, R., Lawford, P. V., Hose, D. R., & Gunn, J. P. (2013). Virtual fractional flow reserve from coronary angiography: modeling the significance of coronary lesions: results from the VIRTU-1 (VIRTUal Fractional Flow Reserve From Coronary Angiography) study. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 6(2), 149-157.

Müller, K., Fedosov, D. A., & Gompper, G. (2014). Margination of micro-and nano-particles in blood flow and its effect on drug delivery. *Scientific reports*, 4(1), 1-8.

Murray, C. J. L. GBD 2015 Mortality, Causes of Death Collaborators, 2016. Global, regional, and national life-expectancy, all-cause mortality, and cause-specific mortality for 249 causes of death, 1980–2015: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*, 388, 1459-1544.

Najidh, S., Versteeg, H. H., & Buijs, J. T. (2020). A systematic review on the effects of direct oral anticoagulants on cancer growth and metastasis in animal models. *Thrombosis Research*, 187, 18-27.

Nakazato, R., Park, H. B., Berman, D. S., Gransar, H., Koo, B. K., Erglis, A., ... & Min, J. K. (2013). Noninvasive fractional flow reserve derived from computed tomography angiography for coronary lesions of intermediate stenosis severity: results from the DeFACTO study. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 6(6), 881-889.

Namdee, K., Thompson, A. J., Charoenphol, P., & Eniola-Adefeso, O. (2013). Margination propensity of vascular-targeted spheres from blood flow in a microfluidic model of human microvessels. *Langmuir*, 29(8), 2530-2535.

Nerem, R. M. (1992). Vascular fluid mechanics, the arterial wall, and atherosclerosis.

Nørgaard, B. L., Leipsic, J., Gaur, S., Seneviratne, S., Ko, B. S., Ito, H., ... & NXT Trial Study Group. (2014). Diagnostic performance of noninvasive fractional flow reserve derived from coronary computed tomography angiography in suspected coronary artery disease: the NXT trial (Analysis of Coronary Blood Flow Using CT Angiography: Next Steps). *Journal of the American College of Cardiology*, 63(12), 1145-1155.

Okano, M., & Yoshida, Y. (1994). Junction complexes of endothelial cells in atherosclerosis-prone and atherosclerosis-resistant regions on flow dividers of brachiocephalic bifurcations in the rabbit aorta. *Biorheology*, *31*(2), 155-161.

Ostadfar, A. (2016). *Biofluid mechanics: Principles and applications*. Academic Press.

Otero-Cacho, A., Aymerich, M., Flores-Arias, M. T., Abal, M., Álvarez, E., Pérez-Muñuzuri, V., & Muñuzuri, A. P. (2018). Determination of hemodynamic risk for vascular disease in planar artery bifurcations. *Scientific reports*, *8*(1), 1-7.

Otto, F. (1899). Die grundform des arteriellen pulses. *Zeitung fur Biologie*, *37*, 483-586.

Oviedo, C., Maehara, A., Mintz, G. S., Araki, H., Choi, S. Y., Tsujita, K., ... & Moses, J. W. (2010). Intravascular ultrasound classification of plaque distribution in left main coronary artery bifurcations: where is the plaque really located?. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, *3*(2), 105-112.

Patankar, S. V., & Spalding, D. B. (1983). A calculation procedure for heat, mass and momentum transfer in three-dimensional parabolic flows. In *Numerical prediction of flow, heat transfer, turbulence and combustion* (pp. 54-73). Pergamon.

Peinado, H., Zhang, H., Matei, I. R., Costa-Silva, B., Hoshino, A., Rodrigues, G., ... & Lyden, D. (2017). Pre-metastatic niches: organ-specific homes for metastases. *Nature Reviews Cancer*, *17*(5), 302-317.

Pepona, M., Balogh, P., Puleri, D. F., Hynes, W. F., Robertson, C., Dubbin, K., ... & Randles, A. (2020). Investigating the interaction between circulating tumor cells and local hydrodynamics via

experiment and simulations. *Cellular and Molecular Bioengineering*, 13(5), 527-540.

Perktold, K., & Resch, M. (1990). Numerical flow studies in human carotid artery bifurcations: basic discussion of the geometric factor in atherogenesis. *Journal of Biomedical Engineering*, 12(2), 111-123.

Pijls, N. H. J. (1996). DE Bruyne B, Peels K, Van der Voort PH, Bonnier HJRM, Bartunek J, Koolen JJ. Measurements of fractional flow reserve to assess the functional severity of coronary-artery stenosis. *N Engl J Med*, 334, 1703-1708.

Pinho, N., Sousa, L. C., Castro, C. F., António, C. C., Carvalho, M., Ferreira, W., ... & Pinto, S. I. S. (2019). The impact of the right coronary artery geometric parameters on hemodynamic performance. *Cardiovascular engineering and technology*, 10(2), 257-270.

Rajamohan, D., Banerjee, R. K., Back, L. H., Ibrahim, A. A., & Jog, M. A. (2006). Developing pulsatile flow in a deployed coronary stent.

Razavi, S. E., Omidi, A. A., & Zanjani, M. S. (2014). Numerical investigation of blood flow in a deformable coronary bifurcation and non-planar branch. *BioImpacts: BI*, 4(4), 199.

Rejniak, K. A. (2016). Circulating tumor cells: when a solid tumor meets a fluid microenvironment. In *Systems biology of tumor microenvironment* (pp. 93-106). Springer, Cham.

Rigatelli, G., Zuin, M., Ronco, F., Caprioglio, F., Cavazzini, D., Giatti, S., ... & Perilli, S. (2018). Usefulness of the Finet law to guide stent size selection in ostial left main stenting: Comparison with standard angiographic estimation. *Cardiovascular Revascularization Medicine*, 19(7), 751-754.

Saxer, T., Zumbuehl, A., & Müller, B. (2013). The use of shear stress for targeted drug delivery. *Cardiovascular research*, 99(2), 328-333.

Sadeghian, M., Mohammadi, V., Shafiee, A., & Babakhani, H. (2021). Non-Invasive Flow Ratio (NiFR) Measurement based on Angiography Images. *Journal of Biomedical Physics & Engineering*, 11(6), 685.

Saffman, P. G. (1965). The lift on a small sphere in a slow shear flow. *Journal of fluid mechanics*, 22(2), 385-400.

Schiller, L., & Naumann, A. (1933). Über die grundlegenden berechnungen bei der schwerkraftaufbereitung. *Zeitung des vereins deutscher ingenieure*.

Seifert, U., Berndl, K., & Lipowsky, R. (1991). Shape transformations of vesicles: Phase diagram for spontaneous-curvature and bilayer-coupling models. *Physical review A*, 44(2), 1182.

Seifert, U. (1997). Configurations of fluid membranes and vesicles. *Advances in physics*, 46(1), 13-137.

Selmi, M., Belmabrouk, H., & Bajahzar, A. (2019). Numerical study of the blood flow in a deformable human aorta. *Applied Sciences*, 9(6), 1216.

Shaaban, A. M., & Duerinckx, A. J. (2000). Wall shear stress and early atherosclerosis: a review. *American Journal of Roentgenology*, 174(6), 1657-1665.

Shah, S., Liu, Y., Hu, W., & Gao, J. (2011). Modeling particle shape-dependent dynamics in nanomedicine. *Journal of nanoscience and nanotechnology*, 11(2), 919-928.

Shashi, E. (2015). *Transmission Pipeline Calculations and Simulations Manual*.

Sheikine, Y. A., & Hansson, G. K. (2006). Chemokines as potential therapeutic targets in atherosclerosis. *Current drug targets*, 7(1), 13-27.

Sinnott, M., Cleary, P. W., & Prakash, M. (2006, December). An investigation of pulsatile blood flow in a bifurcation artery using a grid-free method. In *Proc. Fifth International Conference on CFD in the Process Industries* (pp. 1-6).

Sociedad Española de Oncología Médica (<https://seom.org>)

Sommerfeld, M. (2000). Theoretical and experimental modelling of particulate flows. *Lecture series*, 6, 3-7.

Spradling, E. M., & Viator, J. A. (2009, February). Detection of melanoma cells suspended in mononuclear cells and blood plasma using photoacoustic generation. In *Photons Plus Ultrasound: Imaging and Sensing 2009* (Vol. 7177, pp. 499-507). SPIE.

Star-CCM+ documentation.
<https://thesteveportal.plm.automation.siemens.com>.

Stergiopoulos, N., Young, D. F., & Rogge, T. R. (1992). Computer simulation of arterial flow with applications to arterial and aortic stenoses. *Journal of biomechanics*, 25(12), 1477-1488.

Stergiopoulos, N., Meister, J. J., & Westerhof, N. (1994). Simple and accurate way for estimating total and segmental arterial compliance: the pulse pressure method. *Annals of biomedical engineering*, 22(4), 392-397.

Svetina, S., & Žekš, B. (1989). Membrane bending energy and shape determination of phospholipid vesicles and red blood cells. *European biophysics journal*, 17(2), 101-111.

Tang, C. X., Lu, M. J., Schoepf, J. U., Tesche, C., Bauer, M., Nance, J., ... & Zhang, L. J. (2020). Coronary computed tomography angiography-derived fractional flow reserve in patients with anomalous origin of the right coronary artery from the left coronary sinus. *Korean journal of radiology*, 21(2), 192-202.

Tesche, C., De Cecco, C. N., Albrecht, M. H., Duguay, T. M., Bayer, R. R., Litwin, S. E., ... & Schoepf, U. J. (2017). Coronary CT angiography-derived fractional flow reserve. *Radiology*, 285(1), 17-33.

Tesche, C., De Cecco, C. N., Baumann, S., Renker, M., McLaurin, T. W., Duguay, T. M., ... & Schoepf, U. J. (2018). Coronary CT angiography-derived fractional flow reserve: machine learning algorithm versus computational fluid dynamics modeling. *Radiology*, 288(1), 64-72.

Tonino, P. A., De Bruyne, B., Pijls, N. H., Siebert, U., Ikeno, F., vant Veer, M., ... & Fearon, W. F. (2009). Fractional flow reserve versus angiography for guiding percutaneous coronary intervention. *New England Journal of Medicine*, 360(3), 213-224.

Trial Demonstrates HeartFlow FFRCT Analysis Significantly Lowers Cost of Care, Improves Quality of Life for Coronary Artery Disease. Available online: <https://hfdc-corpweb.s3-us-west-2.amazonaws.com/assets/docs/TCT-PLATFORM-Press-Release/TCT-PLATFORM-Press-Release.html> (accessed on 20 November 2018).

Tropea, B. I., Glagov, S., & Zarins, C. K. (1997). Hemodynamics and atherosclerosis. *Basic Science in Vascular Disease*. Armonk, NY: Futura Publishing Company, Inc, 107-126.

Tu, S., Barbato, E., Köszegi, Z., Yang, J., Sun, Z., Holm, N. R., ... & Reiber, J. H. (2014). Fractional flow reserve calculation from 3-dimensional quantitative coronary angiography and TIMI frame count:

a fast computer model to quantify the functional significance of moderately obstructed coronary arteries. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 7(7), 768-777.

Ungvári, T., Sánta, J., Béres, Z., Tar, B., Sánta, P., Lugosi, P., & Koszegi, Z. (2009, September). Evaluation of the spatial changes of the coronary morphology due to stent implantation with three-dimensional angiography. In *2009 36th Annual Computers in Cardiology Conference (CinC)* (pp. 649-651). IEEE.

Vahidkhan, K., & Bagchi, P. (2015). Microparticle shape effects on margination, near-wall dynamics and adhesion in a three-dimensional simulation of red blood cell suspension. *Soft Matter*, 11(11), 2097-2109.

van de Hoef, T. P., Echavarría-Pinto, M., Van Lavieren, M. A., Meuwissen, M., Serruys, P. W., Tijssen, J. G., ... & Piek, J. J. (2015). Diagnostic and prognostic implications of coronary flow capacity: a comprehensive cross-modality physiological concept in ischemic heart disease. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 8(13), 1670-1680.

VanderLaan, P. A., Reardon, C. A., & Getz, G. S. (2004). Site specificity of atherosclerosis: site-selective responses to atherosclerotic modulators. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*, 24(1), 12-22.

Vergallo, R., Papafaklis, M. I., Yonetsu, T., Bourantas, C. V., Andreou, I., Wang, Z., ... & Jang, I. K. (2014). Endothelial shear stress and coronary plaque characteristics in humans: combined frequency-domain optical coherence tomography and computational fluid dynamics study. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 7(6), 905-911.

Westerhof, N., Elzinga, G. I. J. S., & Sipkema, P. (1971). An artificial arterial system for pumping hearts. *Journal of applied physiology*, 31(5), 776-781.

Westerhof, N., Lankhaar, J. W., & Westerhof, B. E. (2009). The arterial windkessel. *Medical & biological engineering & computing*, 47(2), 131-141.

Windecker, S., Neumann, F. J., Jüni, P., Sousa-Uva, M., & Falk, V. (2019). Considerations for the choice between coronary artery bypass grafting and percutaneous coronary intervention as revascularization strategies in major categories of patients with stable multivessel coronary artery disease: an accompanying article of the task force of the 2018 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization. *European heart journal*, 40(2), 204-212.

Xiao, L. L., Liu, Y., Chen, S., & Fu, B. M. (2017). Effects of flowing RBCs on adhesion of a circulating tumor cell in microvessels. *Biomechanics and modeling in mechanobiology*, 16(2), 597-610.

Xu, L., Chen, X., Cui, M., Ren, C., Yu, H., Gao, W., ... & Zhao, W. (2020). The improvement of the shear stress and oscillatory shear index of coronary arteries during Enhanced External Counterpulsation in patients with coronary heart disease. *PloS one*, 15(3), e0230144.

Yang, D. H., Kim, Y. H., Roh, J. H., Kang, J. W., Ahn, J. M., Kweon, J., ... & Lim, T. H. (2017). Diagnostic performance of on-site CT-derived fractional flow reserve versus CT perfusion. *European Heart Journal–Cardiovascular Imaging*, 18(4), 432-440.

Zhang, C., Xie, S., Li, S., Pu, F., Deng, X., Fan, Y., & Li, D. (2012). Flow patterns and wall shear stress distribution in human internal carotid arteries: the geometric effect on the risk for stenoses. *Journal of biomechanics*, 45(1), 83-89.

Zhang, Y., Menon, N. V., Li, C., Chan, V., & Kang, Y. (2016). The role of bifurcation angles on collective smooth muscle cell biomechanics and the implication in atherosclerosis development. *Biomaterials science*, 4(3), 430-438.

Zhang, J. M., Zhong, L., Luo, T., Lomarda, A. M., Huo, Y., Yap, J., ... & Tan, S. Y. (2016). Simplified models of non-invasive fractional flow reserve based on CT images. *PloS one*, *11*(5), e0153070.

Zhang, B., Gu, J., Qian, M., Niu, L., Zhou, H., & Ghista, D. (2017). Correlation between quantitative analysis of wall shear stress and intima-media thickness in atherosclerosis development in carotid arteries. *Biomedical engineering online*, *16*(1), 1-17.

Zhou, S., Xu, L., Hao, L., Xiao, H., Yao, Y., Qi, L., & Yao, Y. (2019). A review on low-dimensional physics-based models of systemic arteries: application to estimation of central aortic pressure. *Biomedical engineering online*, *18*(1), 1-25.

La presente Tesis Doctoral se centra en el estudio numérico (mediante el uso de técnicas CFD) y experimental de la dinámica de fluidos biológicos con el objetivo de analizar la influencia del flujo en el desarrollo y evolución de enfermedades como, por ejemplo, la aterosclerosis. En una primera parte, se considera la sangre como un fluido continuo y, empezando por estructuras coronarias sencillas, se va aumentando la complejidad hasta llegar a modelos realistas del árbol coronario de aplicación en medicina personalizada. Finalmente, se introduce un mayor grado de complejidad en el sistema y se estudia el anidamiento de células cancerígenas en zonas singulares del sistema circulatorio y la eficiencia de partículas portadoras de medicamento dirigidas a zonas específicas aprovechando sus propiedades aerodinámicas.