

PERFILES DE LA DENSIDAD ESPERMÁTICA HUMANA EN LARGOS MICROCANALES ASIMÉTRICOS

PROFILES OF HUMAN SPERM DENSITY IN LONG ASYMMETRIC MICROCHANNELS

M. Palacio Fornero^{*1,2}, M. A. Bettera Marcat², A. J. Banchio^{1,2} y
V. I. Marconi^{**1,2}

¹Instituto de Física Enrique Gaviola (IFEG) - Universidad Nacional de Córdoba - CONICET

²Facultad de Matemática, Astronomía, Física y Computación (FaMAF), Universidad Nacional de Córdoba
Av. Medina Allende s/n, Ciudad Universitaria (X5000HUA) - Córdoba - Argentina

Recibido: 23/11/2024 ; Aceptado: 23/12/2024

El desarrollo de dispositivos microfluídicos se presenta como un enfoque innovador para mejorar las técnicas actuales de reproducción asistida las cuales distan de ser muy eficientes. El diseño de estos microdispositivos en general es muy chato, posee muchos canales y todas las paredes desempeñan un papel fundamental, encontrándose a distancias micrométricas entre ellas. Para estudiar este efecto de alto confinamiento, se modeló el movimiento espermático humano en dos dimensiones utilizando dinámica de Langevin. Se calcularon los perfiles de densidad celular dentro de canales (con entradas y salidas asimétricas) de ancho micrométrico y aspecto (ancho/largo, w/L) menor a uno. Con el propósito de obtener una representación precisa de su dinámica oscilatoria, se utilizó un modelo fenomenológico con parámetros de movilidad espermática obtenidos experimentalmente. Al disminuir el ancho del canal, se observa que la cercanía entre las paredes influye significativamente en la distribución de densidad principalmente cuando la distancia entre ellas es de pocas células, haciendo evidentes los efectos del alto confinamiento. Se observó que el perfil transversal varía para distintas posiciones a lo largo del canal, especialmente cerca de las entradas y salidas, y se mantiene constante en torno a la mitad del largo ($L/2$). Por ejemplo, para un largo de $300\ \mu\text{m}$ el perfil se mantiene constante a lo largo de $125\ \mu\text{m}$, en cambio para canales muy cortos como $L = 50\ \mu\text{m}$ los perfiles son distintos a lo largo del canal, es decir, la asimetría del mismo domina.

Palabras Clave: espermatozoides, microfluídica, confinamiento, micronador, reproducción

The development of microfluidic devices presents itself as an innovative approach to improving current assisted reproduction techniques, which are far from being highly efficient. The design of these microdevices is generally very flat, is characterized by many channels and all the walls play a fundamental role, located at micrometric distances from each other. To study this high-confinement effect, human sperm motion was modeled in two dimensions using Langevin dynamics. The cellular density was calculated within channels (with asymmetric entry and exit) of micrometric width and an aspect ratio (width/length, w/L) less than one. To achieve an accurate representation of the oscillatory dynamics, a phenomenological model with experimentally obtained sperm motility parameters was used. As the channel width decreases, the proximity to the walls significantly influences the density distribution, primarily when the distance between them is a few cells, making the effects of the device's high confinement evident. It was observed that the transverse profile varies for different positions along the channel, especially near the entrances and exits, and remains constant around the middle of the length ($L/2$). For example, for length of $300\ \mu\text{m}$, the profile remains constant along $125\ \mu\text{m}$, instead, in very short channels as $L = 50\ \mu\text{m}$ the profiles vary along the length of the channel, that is, the asymmetry dominates.

Keywords: sperm, microfluidics, confinement, microswimmer, reproduction

<https://doi.org/10.31527/analesafa.2025.36.1.7>



ISSN 1850-1168 (online)

I. INTRODUCCIÓN

Estudios recientes indican un incremento global en los índices de infertilidad [1, 2]. Esta tendencia afecta a millones de personas y tiene repercusiones psicológicas, sociales y económicas para quienes lo padecen [3, 4]. Esto incentiva el desarrollo de dispositivos microfluídicos orientados a optimizar las técnicas de fertilización asistida actuales, con la expectativa de desarrollar tratamientos con mayor portabilidad y eficiencia [5-7]. Se han desarrollado microrectificadores [8, 9] con una pared de obstáculos asimétricos que

divide el espacio interno del dispositivo en dos regiones e induce una corriente de células en la dirección preferencial de movimiento. Esta geometría asimétrica aprovecha la alta movilidad espermática para promover la concentración de los espermatozoides más rápidos en una de las zonas durante una ventana de tiempo aplicable en la clínica. Mediante esta preselección se mejora la calidad espermática de la muestra y sirve como primera preparación antes de que sea empleada en técnicas de reproducción asistida.

Dentro de estos microdispositivos, los espermatozoides nadan en condiciones de cuasi-bidimensionalidad. El movimiento de las células se realiza en grandes regiones entre dos superficies separadas por unas pocas micras o den-

*marinapalacio@mi.unc.edu.ar

**vmarconi@famaf.unc.edu.ar

tro de microcanales chatos. En particular, el espermatozoide humano posee una cabeza de tamaño aproximado de $4 \times 8 \times 1 \mu\text{m}$ que realiza un movimiento oscilatorio. Las superficies superior e inferior del dispositivo se encuentran separadas por $20\text{--}25 \mu\text{m}$, este espacio reducido afecta el batido flagelar y, por lo tanto, su movimiento. Además, en algunas zonas del dispositivo surge una segunda restricción, con una separación entre paredes de apenas unas pocas micras, equivalente a unos pocos diámetros celulares, como ocurre en los canales. Esta configuración adicional es fundamental en dispositivos microfluídicos que se usan, por ejemplo, para separar distintas especies [10] o cepas bacterianas [8]. En estas condiciones ultraconfinadas, la dinámica del espermatozoide se diferencia notablemente del movimiento en medios no restringidos. Este trabajo busca contribuir al estudio de la densidad de los espermatozoides en microcanales. El mismo puede ser fundamental para el diseño de dispositivos microfluídicos y sus aplicaciones potenciales, no sólo en medicina reproductiva, sino también en biotecnología y bioingeniería.

El *ratchet* utilizado en este trabajo está formado por dos regiones separadas por varios microcanales con una alta relación de aspecto, muy largos y estrechos respecto al ancho (unas pocas micras). Estos canales son asimétricos, es decir, sus entradas y salidas tienen curvaturas opuestas (ver diseño experimental motivador en Fig. 4(b) de [9]). El uso en este trabajo de canales largos cambia significativamente la geometría en comparación con trabajos anteriores [8, 9], donde predominan aperturas de pocas micras tanto de ancho como de largo, Fig. 1. Para buscar altas concentraciones espermáticas son necesarios muchos canales y para imitar esta cantidad con menos tiempo de cálculo se simuló cinco canales con condiciones periódicas de contorno (CPC) en el ancho del dispositivo. Los cálculos se realizaron variando el ancho y el largo de los canales, manteniendo la densidad de la muestra espermática constante.

II. MODELO

Se modeló el movimiento de N nadadores en un régimen de bajo número de Reynolds, es decir, donde la inercia es despreciable. Consideramos a los espermatozoides como discos en 2D de diámetro d , siguiendo el enfoque de modelos anteriores [9, 11, 12]. El sistema es sobreamortiguado por lo cual la suma de fuerzas sobre el nadador es cero. Las fuerzas modeladas son las de mayor importancia fenomenológica: el arrastre del medio, la autopropulsión y la interacción entre los nadadores con la pared y entre ellos. Para el i -ésimo nadador, la posición se simboliza como \mathbf{r}_i y el ángulo que forma la velocidad con el eje x como φ . Las ecuaciones de movimiento para cada nadador se resuelven con dinámica de Langevin [13] y son las siguientes:

$$\gamma_t \frac{d\mathbf{r}_i}{dt} = \mathbf{F}_i^m(\varphi_i) + \mathbf{F}_i^{sw} + \mathbf{F}_i^{ss} \quad (1)$$

$$\gamma_r \frac{d\varphi_i}{dt} = \chi_i + \tau_i^{sw}(\beta_i) \quad (2)$$

donde γ_t es el coeficiente de arrastre traslacional del medio y γ_r es el coeficiente de fricción rotacional. En la Ec. 2, χ_i representa el ruido biológico propio del motor del es-

permatozoide y $\tau_i^{sw}(\beta_i)$ el torque de alineación con la pared [12]. En la Ec. 1 \mathbf{F}_i^m representa la autopropulsión del nadador, el movimiento se compone por la translación del centro de masa y un cabeceo en la dirección perpendicular al movimiento. En este término se incorporaron los parámetros de movilidad medidos experimentalmente [9, 12], con lo cual se logra una representación más realista de los espermatozoides. Esta fuerza se modela de la siguiente forma: $\mathbf{F}_i^m = \gamma_t \left[v_i \hat{e}_i^{\parallel}(\varphi_i) + \omega_i A \cos(\omega t) \hat{e}_i^{\perp}(\varphi_i) \right]$ donde \vec{v}_i es la velocidad de cada nadador, A es la amplitud y ω_i es la frecuencia angular asociada al cabeceo del espermatozoide. Los versores \hat{e}_i^{\parallel} y \hat{e}_i^{\perp} representan las direcciones paralelas y perpendiculares a la dirección de la velocidad dadas por $\hat{e}_i^{\parallel} = \cos(\varphi_i)\hat{e}_x + \sin(\varphi_i)\hat{e}_y$ y $\hat{e}_i^{\perp} = -\sin(\varphi_i)\hat{e}_x + \cos(\varphi_i)\hat{e}_y$ respectivamente. La fuerza de interacción del nadador con la pared \mathbf{F}^{sw} es no nula si el nadador está en contacto con la pared y toma la forma: $\mathbf{F}^{sw} = (1 - r_{ik}/d_{min})^{0.1} \hat{n}_k$ donde $d_{min} = d + \Delta w/2$. La fuerza de interacción entre nadadores \mathbf{F}^{ss} es modelada como una fuerza repulsiva que actúa si $r_{ij} < d$, dada por la expresión: $\mathbf{F}_i^{ss} = F^{ss} \sum_{j \neq i}^{N_s} (1 - r_{ij}/d) \hat{r}_{ij}$ donde N_s es el número de nadadores.

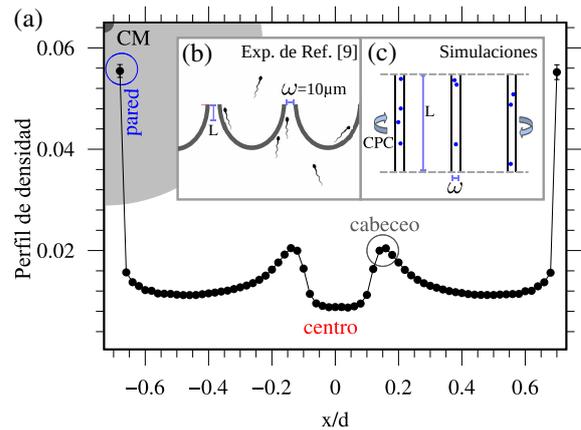


FIG. 1: (a) Perfil de densidad a lo ancho del canal, calculado en la mitad del largo del canal. El círculo gris es el tamaño del espermatozoide. (b) Diseño experimental Ref. [9]. (c) Canales simulados con CPC.

Las dimensiones utilizadas son: largo total del dispositivo $4520 \mu\text{m}$, es decir, del orden de $900d$ (se utiliza d , el diámetro de las células como parámetro de escala) y se utilizaron anchos entre $400 - 1200 \mu\text{m}$, que corresponde a $80 - 240d$. Las dimensiones de los canales rectos utilizados son: ancho, w , de $5 \mu\text{m}$ a $100 \mu\text{m}$, lo cual corresponde a un rango de $1 - 20d$, y largo, L , de $25 \mu\text{m}$ a $600 \mu\text{m}$, es decir, de $5 - 120d$. Ver esquema de los canales simulados con CPC en Fig. 1(c).

Con el objetivo de estudiar el movimiento de espermatozoides dentro de microcanales se calcula la densidad espermática a lo ancho del canal, es decir, *el perfil de densidad transversal*. Para obtener este perfil se promedia en el tiempo la densidad de células ρ , tras alcanzar un tiempo de equilibración de 1 hora, durante 5 horas. Además, su valor en función del ancho se calcula integrando $\int \rho(x,y) dx dy$, en un ancho $dx = 0.1 \mu\text{m}$ y un largo $dy = d$. La integral en x se normaliza a 1. Las coordenadas x e y tienen su origen en el centro del canal a lo ancho y en la mitad de su longitud.

III. Resultados

En la Fig. 1(a) se muestra el perfil de densidad a lo ancho del canal para canales de $60d$ ($300 \mu\text{m}$) de largo y $5d$ ($15 \mu\text{m}$) de ancho. El perfil se estudia en la mitad del largo del canal, $L/2$. El círculo gris representa el diámetro y CM el centro de masa del espermatozoide modelado. Destacamos tres puntos notables: una mayor densidad en los bordes del canal, dos mínimos locales debido al cabeceo en las cercanías de la pared y una depresión en el medio del canal. Esta mayor acumulación en los bordes es consistente con lo observado en diversos micronadadores de tipo pusher [8, 12, 14, 15]. El espermatozoide combina un movimiento de traslación de su centro de masa con *oscilaciones laterales*. Este patrón de vaivén genera dos máximos locales en la proximidad de la pared.

Perfil de densidad a lo largo del canal

Los canales poseen entradas y salidas asimétricas que favorecen una dirección fácil de movimiento desde la entrada hacia la salida. En este contexto surge la pregunta: ¿El perfil de densidad cambia al recorrer el canal? En la Fig. 2(a) se muestra el perfil de densidad a lo ancho del canal para tres posiciones distintas a lo largo de la parte recta del canal. El perfil en la entrada se representa con azul, en el medio con negro (mismo perfil que la Fig. 1(a)) y en la salida con rojo. En la Fig. 2(b) se muestra un recorte para observar la densidad en la cercanía de pared a lo largo del canal. Se observa que los perfiles de densidad en el interior del canal son similares, la mayor diferencia es la mayor acumulación en las paredes que se produce en la salida. La densidad cercana a la pared en la zona de salida es 1.8 veces más grande en la proximidad de la entrada que en la mitad del canal. La distribución de densidad para la entrada y mitad es similar, ya que la forma de la entrada es similar al interior del canal. La salida, en cambio, termina de forma abrupta, por lo cual cambia en comparación con las otras regiones. Debido a la asimetría y el confinamiento de los canales, aparece un nuevo fenómeno: existe una dependencia del perfil de densidad a lo largo del canal.

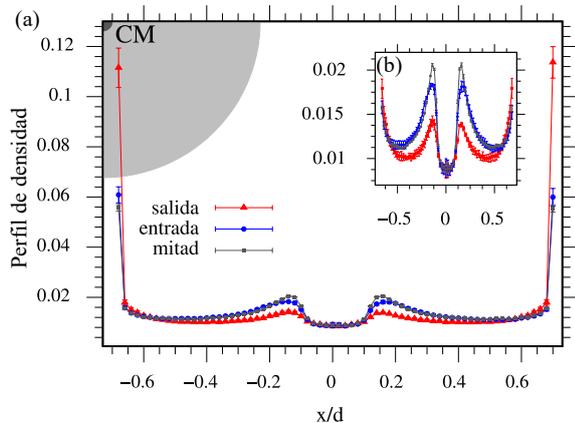


FIG. 2: (a) Perfil de densidad a lo ancho del canal para tres posiciones distintas a lo largo: la entrada, la mitad y la salida. (b) Se muestra una ampliación en interior del canal.

En la Fig. 3(a) se muestra el perfil de densidad a lo ancho del canal para distintas posiciones a lo largo del canal. Los cambios más significativos en la densidad se deben al cabe-

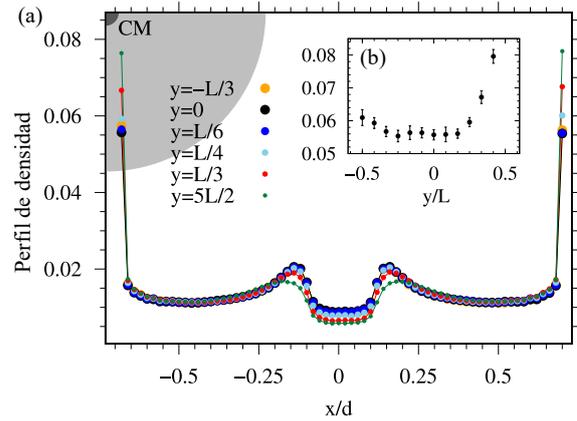


FIG. 3: (a) Perfil de densidad a lo ancho del canal para distintas posiciones a lo largo del mismo. (b) Se muestra la densidad en la cercanía de la pared al cambiar la posición a lo largo del canal.

ceo y son especialmente pronunciados cerca de la pared. En la Fig. 3(b) se muestra la densidad en la pared al ir variando la posición a lo largo del canal, esta posición está dividida por el largo del canal. A medida que se avanza a lo largo del canal, se observa que la densidad cercana a la pared disminuye inicialmente, alcanza un valor constante en la región central y luego vuelve a aumentar. Aparece una “zona homogénea”, que hace referencia a que el perfil no cambia mucho en esa región. ¿Para qué largos de canal aparece esta región? Surge para tamaños partir de $200 \mu\text{m}$ micras. En la Tabla 1 se muestran mediciones del ancho de esta zona para distintos largos de canal (primera columna). Se muestran los valores y_{in} , y_{fi} que representan la posición donde empieza y termina la zona medida a partir de la entrada. Δy es el largo de la zona. Se observa que la distancia del borde del canal a y_{fi} es $100 \mu\text{m}$ para todos los casos. Notar que al variar el largo del canal ambas distancias desde el comienzo del perfil y el fin del canal permanecen constantes. y_{in} y y_{fi} dependen solamente de la curvatura de la entrada y salida. Por ejemplo, para largo de canal de $300 \mu\text{m}$ a partir de $75 \mu\text{m}$ el perfil permanece constante a lo largo de $125 \mu\text{m}$ y luego comienza a variar al acercarse a la salida del canal.

Largo [μm]	y_{in} [μm]	y_{fi} [μm]	Δy [μm]
200	75	100	25
250	75	150	75
300	75	200	125
350	75	250	175
400	75	300	225
450	75	350	275
500	75	375	325
550	75	450	375
600	75	500	425

TABLA 1: Cuantificaciones para distintos largos del canal. y_{in} , y_{fi} son la posición donde empieza y termina la zona homogénea contactada a partir de la entrada. Δy muestra el largo de dicha región.

Al diseñar los dispositivos, resulta difícil fabricar canales cortos, del tamaño de unas pocas de células. Teniendo esto en cuenta analizamos el perfil variando el largo del canal. En la Fig. 4(a) se toman como referencia tres puntos notables del perfil de densidad variando el largo del canal: pared, cabeceo y centro. En la Fig. 4(b) se muestra la acu-

mulación en la pared a lo largo del canal. Se observa que la acumulación en la pared disminuye hasta llegar a un valor constante, en cambio, la magnitud del cabeceo y en el centro aumentan hasta llegar a un valor constante. A partir de cincuenta diámetros celulares, el perfil de acumulación se mantiene constante, con lo cual las células fluyen más libremente a lo largo del canal.

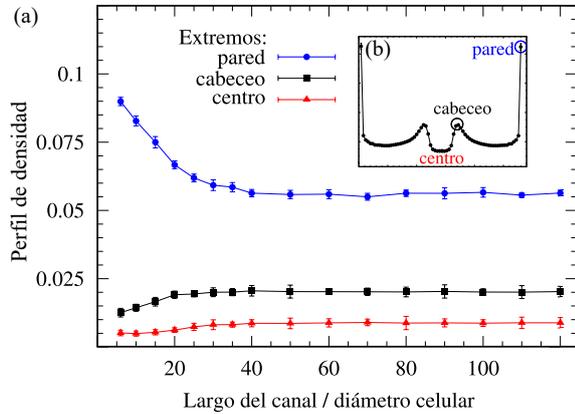


FIG. 4: (a) Perfil de densidad de los puntos notables variando el largo del canal. (b) Se muestran los puntos que se definen como notables.

Perfil de densidad variando el ancho del canal

Al microfabricar dispositivos rectificadores la eficiencia es mayor cuanto el ancho del canal es menor, obteniendo el máximo de eficiencia cuando el ancho es del tamaño celular[8]. Este ancho es muy difícil de fabricar y se pueden producir complicaciones en el transporte debido a que el espacio de movimiento es muy restringido. Por lo cual se estudia cómo varía el perfil de densidad al variar el ancho del canal. En esta sección se utiliza un canal con un largo de 60 diámetros celulares ($300 \mu m$) y se varía el ancho del canal. El perfil se estudia en la mitad del largo del canal, es decir, dentro de la zona homogénea. En la Fig. 5(a) se muestran los puntos notables variando el ancho del canal. Al ir aumentando su ancho, la acumulación disminuye. La acumulación de la pared y el cabeceo se estabilizan mientras que en la mitad continúa disminuyendo, esto se debe a que los nadadores se distribuyen en un ancho cada vez más grande. Si el ancho del canal se reduce a menos de dos diámetros celulares, los dos máximos asociados al cabeceo comienzan a superponerse, hasta fusionarse en un único máximo. Una mayor reducción del ancho conduce a un perfil uniforme en el interior del canal, con una mayor acumulación cerca de las paredes.

La acumulación en la cercanía a la pared aumenta el doble al comparar un ancho de canal de $20d$ ($100 \mu m$) a uno de $2d$ ($10 \mu m$). Los puntos notables aumentan su magnitud para anchos menores a $5d$, debido al menor espacio disponible. Cabe destacar que para un dispositivo con canales de $20d$ de ancho, el dispositivo baja mucho su eficiencia en concordancia con lo reportado en [8]. Donde por eficiencia nos referimos a la capacidad de concentrar espermatozoides en la cámara de extracción respecto de los que se encuentran en la cámara de inoculación.

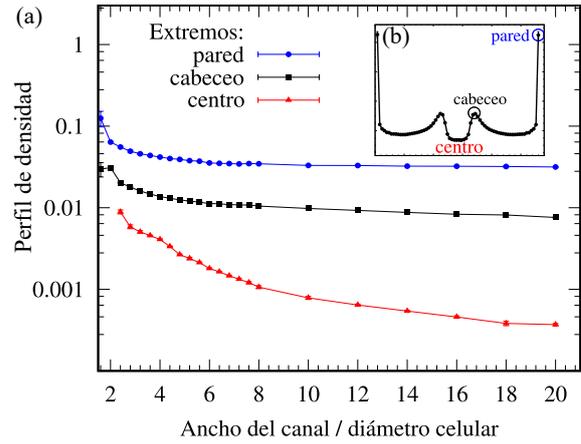


FIG. 5: (a) Perfil de densidad de los puntos notables variando el ancho del canal. (b) Se muestran los puntos que se definen como notables.

IV. CONCLUSIONES

En este trabajo se estudió la movilidad de espermatozoides humanos microconfinados en canales largos y asimétricos, así como su distribución dentro de los mismos. El perfil de densidad se calcula a lo ancho y a lo largo del canal. El perfil transversal varía para distintas posiciones a lo largo del canal. Esta asimetría observada en la distribución de células es debido a la diferencia de curvatura entre la entrada y la salida. Si el canal es lo suficientemente largo, $L > 250 \mu m$, en la mitad del canal aparece una zona en la que el perfil de densidad se mantiene casi constante en torno a la mitad del canal que tiene un largo de $125 \mu m$, esto mejora la fluidez del desplazamiento de células. Por otro lado, en la mitad del largo del canal, cuando para anchos del canal menores a $25 \mu m$, es decir, 5 diámetros celulares, observamos que la magnitud de los puntos notables cambia con respecto a cuando se encuentra lejos de las paredes, aparece un efecto debido al confinamiento de las paredes de unos pocos diámetros celulares.

En este trabajo se demostró que, en canales cortos y asimétricos, la distribución de espermatozoides humanos es no homogénea tanto a lo largo como a lo ancho. Por lo cual resulta crucial tener en cuenta en el diseño de microdispositivos y sus aplicaciones, el cual debe ajustarse a los objetivos específicos de cada caso. Se espera que esta contribución sea de ayuda en un área de alta relevancia actual como es la microfluídica aplicada a análisis clínicos y selección espermática [5-7].

V. AGRADECIMIENTOS

Financiamiento de CONICET PIP 2023 11220220100509CO, SeCyT-UNC 3361220230100298 y FONCyT:PICT-2020-SERIEA-02931. Agradecemos a los recursos de cluster del GTMC-FAMAF UNC. M. Palacio Fornero agradece a la beca Estímulo a las Vocaciones Científicas, 2022.

REFERENCIAS

- [1] W. Ombelet, I. Cooke, S. Dyer, G. Serour y P. Devroey. *Infertility and the provision of infertility medical services in developing countries*. Human Reproduction Update **14**, 605-621 (2008). ISSN: 1355-4786.

- [2] J. Boivin, L. Bunting, J. A. Collins y K. G. Nygren. *International estimates of infertility prevalence and treatment-seeking: potential need and demand for infertility medical care*. Human Reproduction **22**, 1506-1512 (2007). ISSN: 0268-1161.
- [3] P. Njagi, W. Groot, J. Arsenijevic, S. Dyer, G. Mburu y J. Kiarie. *Financial costs of assisted reproductive technology for patients in low- and middle-income countries: a systematic review*. Human Reproduction Open **2023**, hoad007 (2023). ISSN: 2399-3529.
- [4] T. Wischmann. *Psychological aspects of infertility*. Medizinische Genetik **36**, 171-177 (2024).
- [5] R. Nosrati, B. Graham P.J. Zhang, J. Riordon, A. Lagunov, T. G. Hannam, C. Escobedo, K. Jarvi y D. Sinton. *Microfluidics for sperm analysis and selection*. Nat. Rev. Urol. **14**, 707-730 (2017).
- [6] A. R. Jahangiri, N. Ziarati, E. Dadkhah, M. N. Bucak, P. Rahimizadeh, A. Shahverdi, M. A. Sadighi G. y T. R. To-praggaleh. *Microfluidics: The future of sperm selection in assisted reproduction*. Andrology **12**, 1236-1252 (2024).
- [7] G. R. Bhat, F. A. Lone y J. Dalal. *Microfluidics—A novel technique for high-quality sperm selection for greater ART outcomes*. FASEB BioAdvances **6**, 406-423 (2024).
- [8] I. Berdakin, Y. Jeyaram, V. V. Moshchalkov, L. Venken, S. Dierckx, S. J. Vanderleyden, A. V. Silhanek, C. A. Condat y V. I. Marconi. *Influence of swimming strategy on micro-organism separation by asymmetric obstacles*. Phys. Rev. E **87**, 052702-052711 (2013).
- [9] A. Guidobaldi, Y. Jeyaram, I. Berdakin, V. V. Moshchalkov, C. A. Condat, V. I. Marconi, L. Giojalas y A. V. Silhanek. *Geometrical guidance and trapping transition of human sperm cells*. Phys. Rev. E **89**, 032720-032726 (2014).
- [10] A. Dalili, E. Samiei y M. Hoorfar. *A review of sorting, separation and isolation of cells and microbeads for biomedical applications: microfluidic approaches*. Analyst **144**, 87-113 (2019).
- [11] H. A. Guidobaldi, Y. Jeyaram, C. A. Condat, M. Oviedo, I. Berdakin, V. V. Moshchalkov, L. C. Giojalas, A. V. Silhanek y V. I. Marconi. *Disrupting the wall accumulation of human sperm cells by artificial corrugation*. Biomicrofluidics **9**, 024122 (2015). ISSN: 1932-1058.
- [12] M. A. B. Marcat, M. N. Gallea, G. L. Miño, M. A. Cubilla, A. J. Banchio, L. C. Giojolas, V. I. Marconi y H. A. Guidobaldi. *Hitting the wall: Human sperm velocity recovery under ultra-confined conditions*. Biomicrofluidics **14**, 024108 (2020).
- [13] D. S. Lemons y A. Gythiel. *Paul Langevin's 1908 paper On the Theory of Brownian Motion [Sur la théorie du mouvement brownien, C. R. Acad. Sci. (Paris) 146, 530-533 (1908)]*. American Journal of Physics. **65**, 1079-1081. (1997). ISSN: 002-9505.
- [14] J. Rothschild. *Non-random distribution of bull spermatozoa in a drop of sperm suspension*. Nature **198**, 1221-1222 (1963).
- [15] A. P. Berke, L. Turner, H. C. Berg y E. Lauga. *Hydrodynamic Attraction of Swimming Microorganisms by Surfaces*. Phys. Rev. Lett. **101**, 038102 (2008).