

# Trabajo Fin de Máster

## Máster Universitario en Ingeniería Industrial

### Análisis cinemático de un modelo 3D de migración celular

Autor: Celia Cañada Pérez

Tutores: José Antonio Sanz Herrera

Pedro Pérez Alcántara

Dpto. de Mecánica de Medios Continuos y  
Teoría de Estructuras  
Escuela Técnica Superior de Ingeniería  
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2021





Trabajo Fin de Máster  
Máster Universitario en Ingeniería Industrial

# **Análisis cinemático de un modelo 3D de migración celular**

Autor:  
Celia Cañada Pérez

Tutores:  
José Antonio Sanz Herrera  
Pedro Pérez Alcántara

Dpto. de Mecánica de Medios Continuos y Teoría de Estructuras  
Escuela Técnica Superior de Ingeniería  
Universidad de Sevilla  
Sevilla, 2021



Trabajo Fin de Máster: Análisis cinemático de un modelo 3D de migración celular

Autor: Celia Cañada Pérez

Tutores: José Antonio Sanz Herrera, Pedro Pérez Álcantara

El tribunal nombrado para juzgar el Proyecto arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2021

El Secretario del Tribunal



# Resumen

En el presente trabajo se ha realizado el análisis cinemático de movimientos en 3D de células individuales inmersas en un medio extracelular. Dicho análisis está basado en un modelo computacional de migración celular que incluye la dinámica de distintas capas de la célula, la interacción de la célula con el medio que la rodea y el comportamiento del propio medio extracelular. Este modelo ha sido puesto a prueba en distintas casuísticas, permitiendo ver la variabilidad de los resultados en función de los parámetros del modelo, ya sea la variabilidad de la geometría de la célula como la rigidez del medio extracelular. Se han obtenido diferencias significativas entre los distintos casos a los que se ha sometido el modelo. Esto ha demostrado la importancia de las variables de entrada del modelo.

Para la obtención de resultados, ha sido necesario utilizar dos herramientas software diferentes: Matlab para la realización de cálculos y obtención de resultados y Paraview para la visualización en 3D de los resultados de migración. La representación en 3D en Paraview otorga un valor añadido a la presentación de resultados, ofreciendo una visualización efectiva de la evolución de la célula y una interpretación de los resultados más cómoda e intuitiva.





# Agradecimientos

Agradecer en primer lugar a mi tutor José Antonio, por haber hecho posible la realización de este trabajo y haberme brindado la oportunidad de seguir aprendiendo hasta el final. Por su paciencia y comprensión en esta situación de pandemia que nos ha tocado vivir.

No puedo si no mencionar a mi otro tutor, Pedro, sin el cual este trabajo no hubiese sido posible. Gracias por todo lo que me ha enseñado, por todo el tiempo de dedicación a este trabajo, por su paciencia y la ayuda que me ha prestado.

A mi familia, que me ha acompañado en todo momento y no ha dudado en que pudiera llegar hasta aquí.

A todos ellos, gracias.



# Índice general

<b>Resumen</b>	<b>VII</b>
<b>Agradecimientos</b>	<b>IX</b>
<b>1. Descripción del problema</b>	<b>1</b>
1.1. Contexto . . . . .	1
1.2. Antecedentes y estado del arte . . . . .	3
1.3. Objetivo . . . . .	4
<b>2. Descripción del Modelo de Migración Celular</b>	<b>7</b>
2.1. Introducción . . . . .	7
2.2. Conceptos iniciales . . . . .	7
2.3. Marco teórico . . . . .	10
2.3.1. Fuerzas que gobiernan el movimiento de la célula . . . . .	10
2.3.2. Dinámica de penetración de los filopodios . . . . .	18
2.4. Variables cinemáticas estudiadas . . . . .	21
2.4.1. Velocidad . . . . .	21
2.4.2. Supervivencia . . . . .	22
2.4.3. Desplazamiento . . . . .	22
2.4.4. Orientación . . . . .	22
2.4.5. Tiempo de unión del filopodio con la ECM . . . . .	23
2.5. Estudio sobre la rigidez . . . . .	23
<b>3. Resultados de la Cinemática de Migración</b>	<b>25</b>
3.1. Introducción . . . . .	25
3.2. Estudio de la cinemática . . . . .	25
3.2.1. Velocidad . . . . .	25
3.2.2. Desplazamiento . . . . .	27

3.2.3.	Orientación . . . . .	27
3.2.4.	Supervivencia . . . . .	29
3.2.5.	Tiempos de unión del filopodio con la ECM . . . . .	29
3.3.	Variación de la rigidez . . . . .	33
3.3.1.	Caso 2 . . . . .	33
3.3.2.	Caso 4 . . . . .	34
<b>4.</b>	<b>Discusión</b>	<b>37</b>
4.1.	Velocidad, supervivencia y unión del filopodio con la ECM . . .	37
4.1.1.	Caso 1 . . . . .	37
4.1.2.	Caso 2 . . . . .	39
4.1.3.	Caso 3.1 . . . . .	40
4.1.4.	Caso 3.2 . . . . .	42
4.1.5.	Caso 4 . . . . .	43
4.1.6.	Caso 5 . . . . .	45
4.1.7.	Validación de los resultados . . . . .	46
4.2.	Desplazamiento . . . . .	47
4.3.	Orientación, supervivencia y unión del filopodio con la ECM .	48
4.3.1.	Caso 1 . . . . .	48
4.3.2.	Caso 2 . . . . .	49
4.3.3.	Caso 3.1 . . . . .	50
4.3.4.	Caso 3.2 . . . . .	51
4.3.5.	Caso 4 . . . . .	51
4.3.6.	Caso 5 . . . . .	52
4.4.	Variación de la rigidez . . . . .	53
4.4.1.	Caso 2 . . . . .	53
4.4.2.	Caso 4 . . . . .	55
<b>5.</b>	<b>Conclusiones y trabajo futuro</b>	<b>57</b>
5.1.	Conclusiones . . . . .	57
5.2.	Trabajos futuros . . . . .	58
	<b>Bibliografía</b>	<b>59</b>

# Índice de figuras

1.1. Representación de la migración celular. Fuente: [1] . . . . .	2
1.2. Representación de todos los casos tratados. (a) Caso 1. (b) Caso 2. (c) Caso 3.1. (d) Caso 3.2. (e) Caso 4. (f) Caso 5. . . . .	5
2.1. Célula en movimiento, diferencia entre lamelipodio y filopodio. Fuente: [1] . . . . .	9
2.2. Adhesión focal. Fuente: [1] . . . . .	9
2.3. División en mallas de la célula. Fuente: [12] . . . . .	11
2.4. Unión de la actino miosina. Fuente: [12] . . . . .	17
2.5. Representación de la nube de puntos del filopodio en Paraview.	19
2.6. Coordenadas esféricas . . . . .	23
3.1. Resultados obtenidos de la velocidad instantánea para cada caso. Donde (a) Caso 1, (b) Caso 2, (c) Caso 3.1, (d) Caso 3.2, (e) Caso 4 y (f) Caso 5. . . . .	26
3.2. Resultados de los desplazamientos para todos los casos. . . . .	27
3.3. Resultados obtenidos de la orientación para cada caso. Donde (a) Caso 1, (b) Caso 2, (c) Caso 3.1, (d) Caso 3.2, (e) Caso 4 y (f) Caso 5. . . . .	28
3.4. Resultados obtenidos para el caso 1.(a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número. . . . .	30
3.5. Resultados obtenidos para el caso 2.(a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número. . . . .	30
3.6. Resultados obtenidos para el caso 3.1.(a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número. . . . .	31
3.7. Resultados obtenidos para el caso 3.2.(a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número. . . . .	31
3.8. Resultados obtenidos para el caso 4.(a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número. . . . .	32

3.9.	Resultados obtenidos para el caso 5.(a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número. . . . .	32
3.10.	Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el caso 2. . . . .	33
3.11.	Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 2.(a) $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$ (b) $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$ (c) $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d) $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ . . . . .	34
3.12.	Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el caso 4. . . . .	35
3.13.	Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 4.(a) $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$ (b) $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$ (c) $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d) $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ . . . . .	36
4.1.	Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 1. . . . .	38
4.2.	Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el Caso 1. . . . .	39
4.3.	Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 2. . . . .	40
4.4.	Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el caso 2. . . . .	41
4.5.	Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 3.1. . . . .	41
4.6.	Comparación de la velocidad con la supervivencia para el caso 3.2. . . . .	42
4.7.	Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el Caso 3.2. . . . .	43
4.8.	Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el Caso 4. . . . .	44
4.9.	Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 4. . . . .	44
4.10.	Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 5. . . . .	45
4.11.	Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el caso 5. . . . .	46
4.12.	Comparación del resultado de la velocidad para todos los casos. . . . .	46
4.13.	Comparación de los desplazamientos para todos los casos en el instante inicial. . . . .	48
4.14.	Comparación de la orientación con la supervivencia para el caso 1. . . . .	49
4.15.	Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 2. . . . .	50

4.16. Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 3.1. . . . .	50
4.17. Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 3.2. . . . .	51
4.18. Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 4. . . . .	52
4.19. Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 5. . . . .	52
4.20. Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el caso 2. . . . .	53
4.21. Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 2.(a) $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$ (b) $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$ (c) $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d) $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ . . . . .	54
4.22. Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el Caso 4. . . . .	55
4.23. Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 4.(a) $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$ (b) $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$ (c) $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d) $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ . . . . .	56





# Capítulo 1

## Descripción del problema

### 1.1. Contexto

Se entiende como *migración celular* el proceso por el cual una célula se desplaza, a través de los tejidos o en la superficie de una placa de cultivo, como se muestra en la figura 1.1. En el desplazamiento de la célula intervienen expansiones citoplasmáticas, llamadas lamelipodios y filopodios [2]. Es un proceso importante en el desarrollo y el mantenimiento de los organismos pluricelulares, ya que la formación de tejido durante el desarrollo embrionario, la cicatrización y la respuesta inmune requieren de movimientos celulares sincronizados en una dirección particular y hacia sitios específicos [3]. La migración de las células representa un papel importante en el desarrollo patológico como la metástasis del cáncer y trastorno autoinmunes. El interés en comprender la migración celular se ha visto impulsado por el aumento de conocimiento en la medicina regenerativa, y se basa en la posibilidad de que el conocimiento de los mecanismos precisos subyacentes a la migración celular se pueda aprovechar para crear nuevos enfoques terapéuticos. La investigación sobre la migración celular se ha beneficiado enormemente de los avances en bioingeniería, revelando ideas fascinantes sobre la forma en que se mueven las células y los mecanismos que impulsan su motilidad [4].

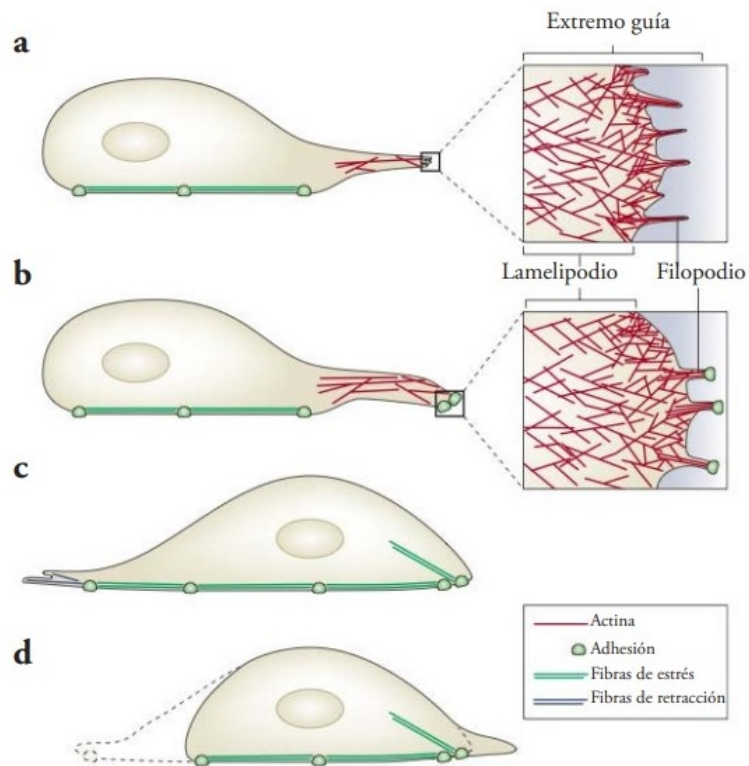


Figura 1.1: Representación de la migración celular. Fuente: [1]

El desarrollo reciente de la nanotecnología y su aplicación a la migración celular está logrando prometedores avances en la lucha contra el cáncer y enfermedades infecciosas. Las leyes de Newton establecen que no se puede entender el movimiento de un objeto sin conocer las fuerzas que actúan sobre él, por lo que en la célula no va a ser distinto. El orden de magnitud que alcanzan estas fuerzas puede variar desde pocos piconewtons, hasta el nanonewton, y sólo han podido ser medidas recientemente gracias al desarrollo de nanotécnicas como la microscopía de tracción y la microscopía de fuerza atómica [5].

Para este avance, se hace necesario la figura de la ingeniería, además de la medicina, la biología o la biotecnología. Incluir conocimientos relacionados con la resolución clásica de los problemas de ingeniería al mundo de la biología han dado lugar a disciplinas como la *mecanobiología*. Esta rama del conocimiento explora el papel de las fuerzas físicas, más allá de la biología,

fisiología o las enfermedades. Esta disciplina se basa en el estudio de cómo los componentes mecánicos pueden ser decisivos en el comportamiento de la célula [6].

## 1.2. Antecedentes y estado del arte

La mecanobiología es una disciplina muy joven. El primer documento que cita esta palabra clave data de 1998. Es en 2006 cuando se habla por primera vez en el área de la ingeniería de forma más profunda sobre esta disciplina [7]. Es en este documento dónde se llega a la conclusión de que el linaje de las células madre se ve influenciado por la elasticidad de la matriz extracelular. Es decir, los resultados obtenidos en este documento tienen implicaciones significativas para comprender los efectos físicos del microambiente y también para usos terapéuticos de las células madre. Se explica cómo podrían las células madre sentir o percibir la elasticidad de la matriz y transducir esa información en cambios morfológicos y especificación de linaje.

La migración celular es un fenómeno multidisciplinar. No solo intervienen factores bioquímicos, sino que también es fundamental la interacción célula-matriz desde un punto de vista estructural. El conocimiento basado en experimentación proviene principalmente de estudios realizados en sustratos planos (2D) [8]. Gracias a ellos se ha avanzado mucho en el conocimiento de los fenómenos involucrados en la migración celular, pero son necesarios los ensayos 3D en ambientes más realistas.

La migración celular es un conjunto complejo de procesos mecanoquímicos que interactúan entre sí. Para ello se definen los filopodios, que son protuberancias en el borde de ataque de la célula. Los filopodios desempeñan un papel importante en la guía de la motilidad celular y participan en la comunicación célula-célula. La estructura filopodial está sostenida por filamentos de actina paralelos reticulados dentro de la membrana celular. Se ha sugerido anteriormente, que un gran complejo de proteínas en la punta del filopodio juega un papel importante en la regulación de la dinámica filopodial. El crecimiento y la retracción de los filopodios son impulsados en gran medida por la polimerización y despolimerización de los filamentos de actina [9].

Actualmente, existe un interés manifiesto en la comunidad científica en el uso de técnicas computacionales en el ámbito de la migración celular. Utilizar modelos de migración puede permitir obtener conclusiones reduciendo el número de experimentos necesarios o, incluso, permitir hacer simulaciones

cuyo montaje experimental sea especialmente difícil obtener. La correcta definición de dichos modelos se convierte en una tarea crucial para el avance del conocimiento.

Además, la migración de células en organismos superiores está mediada por receptores de adhesión, como las integrinas, que unen la célula a ligandos de la matriz extracelular, transmitiendo fuerzas y señales necesarias para la locomoción. El hecho de que las células migren o no en un sustrato determinado, y también su velocidad, depende de varias variables relacionadas con las interacciones integrina-ligando [10].

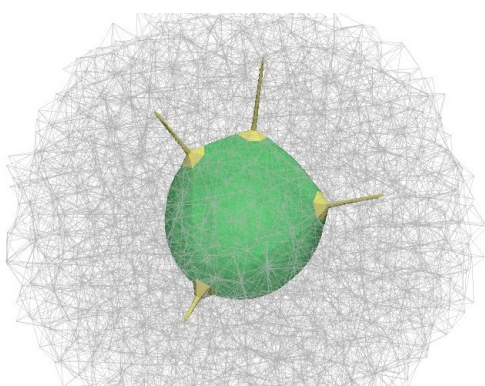
### 1.3. Objetivo

El objetivo del presente trabajo es el análisis cinemático del movimiento de células individuales introducidas en una matriz extracelular. Para ello, se ha utilizado un modelo de migración basado en la propuesta de [11], [12] y [13]; utilizando Matlab y Paraview como software de cálculo y representación respectivamente.

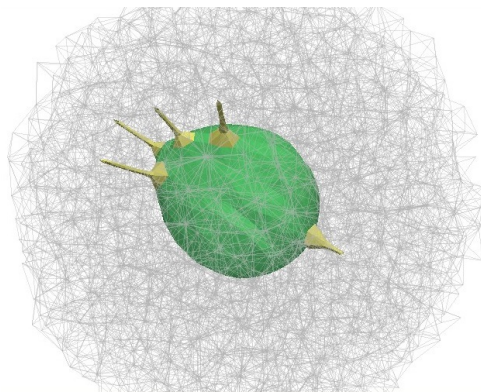
Se ha aplicado sobre seis tipos de casos diferentes, en función de un número de filopodios y su distribución a lo largo de la membrana celular:

- Caso 1: Se encuentra compuesto por cuatro filopodios en posiciones aleatorias de la membrana de la célula.
- Caso 2: Esta situación enfrenta un conjunto de cuatro filopodios contra un filopodio aislado.
- Caso 3.1: Dentro de este caso se estudian la situación de cuatro filopodios opuestos a tres filopodios.
- Caso 3.2: Este caso es una variación del caso 3.1 ya que hay cuatro filopodios enfrentados a otros tres, pero en un ángulo inferior.
- Caso 4: Se encuentran dos filopodios en posiciones enfrentadas.
- Caso 5: Situación en la que se encuentran siete filopodios colocados de forma aleatoria en la membrana de la célula.

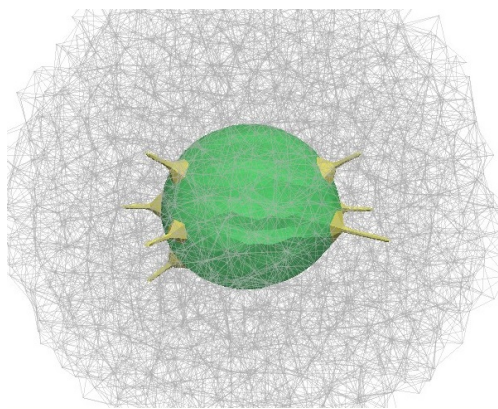
A continuación se representan cada una de estas casuísticas, a través del software Paraview.



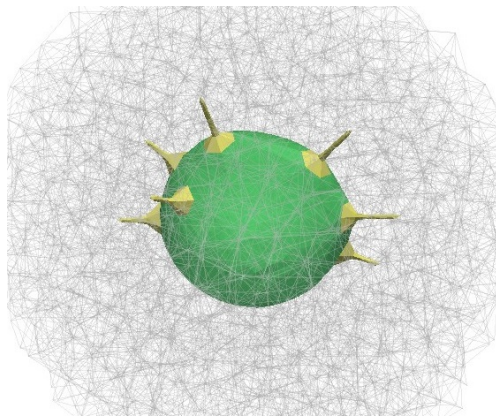
(a)



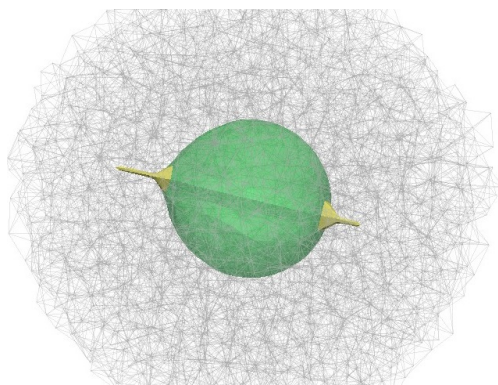
(b)



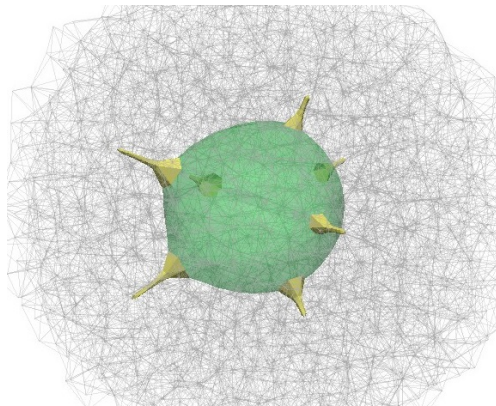
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 1.2: Representación de todos los casos tratados. (a) Caso 1. (b) Caso 2. (c) Caso 3.1. (d) Caso 3.2. (e) Caso 4. (f) Caso 5.



# Capítulo 2

## Descripción del Modelo de Migración Celular

### 2.1. Introducción

En este capítulo se describe el modelo de Migración Celular sobre el que se ha trabajado, así como el procedimiento de cálculo y las variables que serán analizadas en el presente proyecto. Este trabajo se basa en el modelo de migración celular propuesto por [11, 12, 13].

### 2.2. Conceptos iniciales

En este apartado se definen y una serie de conceptos aplicados a lo largo de la descripción de la matemática de proceso.

- Actina: la actina es una familia de proteínas globulares que forman los microfilamentos, uno de los tres componentes fundamentales del citoesqueleto.
- Integrina: son una superfamilia de glucoproteínas que participan mayoritariamente en la unión de las células con la matriz extracelular.
- Actina-miosina: La miosina es una proteína fibrosa, que conjuntamente con la actina, permiten principalmente la contracción de los músculos e interviene en la división celular y el transporte de vesículas.

- ECM: La matriz extracelular representa una red tridimensional que engloba todos los órganos, tejidos y células del organismo. Forma una estructura esencial de apoyo para la célula.
  
- Filopodio: El borde de ataque de las células móviles proyecta protuberancias del tamaño del orden de micras basadas en filamentos de actina agrupados en paralelo, llamados filopodios. Son proyecciones citoplasmáticas delgadas que se extienden desde el extremo directriz de células en migración. Los filopodios son una herramienta fundamental en la migración celular, puesto que serán estructuras encargadas de sentir la rigidez del entorno. Estas estructuras serán las responsables de dirigir el movimiento, de la orientación de la célula y de las potenciales deformaciones que sufrirá la ECM debido a la interacción con la célula.
  
- Lamelipodio: son prolongaciones transitorias de la membrana celular producidas por la acción de microfilamentos de actina, los cuales pertenecen al citoesqueleto celular. Su estructura es ancha y su forma laminar. La diferencia entre lamelipodio y filopodio como se muestra en la figura 2.1, es que, los lamelipodios son protusiones de la membrana que se forman en el borde frontal de la célula y que pueden extenderse durante largas distancias arrastrando de las células a través del tejido, mientras que los filopodios son proyecciones finas de membrana que sirven para explorar los alrededores de la célula. En la figura 2.1 se representa el movimiento de una célula, y se observa la diferencia entre lamelipodio y filopodio.
  
- Adhesión focal (FA): unión de la matriz extracelular a componentes del citoesqueleto de la célula. En la figura 2.2 se muestra representada esta unión.



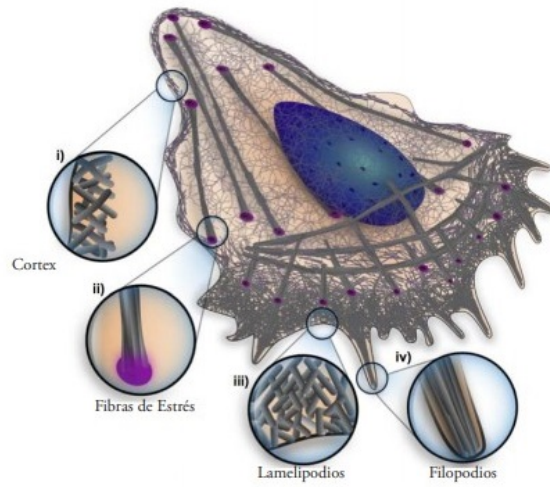


Figura 2.1: Célula en movimiento, diferencia entre lamelipodio y filopodio.  
Fuente: [1]

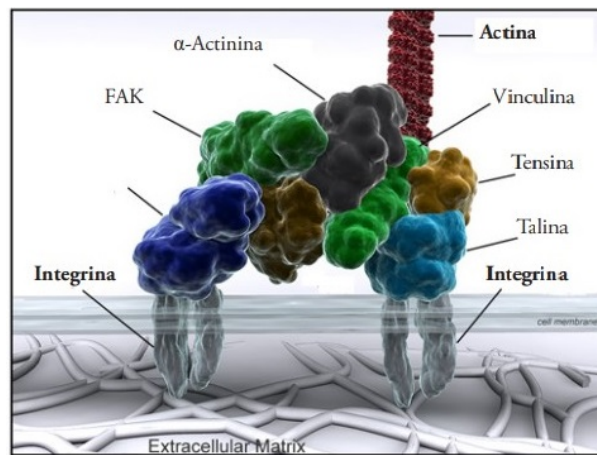


Figura 2.2: Adhesión focal. Fuente: [1]

- Complejo focal (FC): estructura macromolecular de una unión especializada y desarrollada. Son fundamentales para mantener la cohesión de muchos tejidos.

## 2.3. Marco teórico

Basado en el artículo [11], se construye un modelo computacional basado en fuerzas individuales, integrando cuatro módulos:

- Dinámica de penetración del filopodio.
- Mecánica intracelular de las membranas celulares y nucleares, fibras contráctiles de tensión de actina y dinámica de adhesión focal.
- Mecánica estructural de redes de fibra ECM.
- Interacción célula-ECM.

La punta de cada filopodio se desplaza a lo largo de las fibras de ECM, tira de las fibras de alrededor, y se contrae dependiendo de la fuerza de fijación, o de la rigidez de la ECM y del tamaño del poro. Esta interacción filopodio-ECM es modelada como un proceso estocástico, basado en la cinética entre integrinas en la punta del filopodio y, los enlaces de las fibras de ECM de alrededor. Este modelo revela que la degradación de la red de fibra ECM juega un papel importante en la dinámica de penetración del filopodio durante los estados de contracción de filopodios fijados a la ECM.

Las células invaden la ECM, extienden el filopodio dentro de la ECM y, deterioran y remodelan la ECM de alrededor. El filopodio debe penetrar a través de las fibras de ECM de alrededor e interactuar con ellas, sondeando un hueco en las fibras de ECM para extenderse. Cuando encuentra una fibra de ECM, se une a ella mediante unas fuerzas de los complejos focales, y secuencialmente genera fuerzas de tracción para empujar la membrana de la célula hacia delante. El filopodio se desplaza a lo largo de la fibra de ECM cercana a la punta, además, tira de las fibras generando fuerzas locales y causando deformaciones dentro de la ECM. El filopodio también prueba la red de fibra local y coordina múltiples actividades: protrusión, retracción y contracción.

### 2.3.1. Fuerzas que gobiernan el movimiento de la célula

Para la realización del presente trabajo, la célula se ha dividido en las siguientes mallas:

- ECM.
- Membrana exterior.
- Membrana intermedia o transduce.
- Núcleo.
- Filopodio.

Como se tiene un comportamiento viscoelástico, este lo modelan una membrana interna y otra externa. Los movimientos de las células se traspan de la membrana exterior a la membrana transduce, y de la membrana transduce al núcleo. En la figura 2.3 se observan estas mallas diferenciadas.

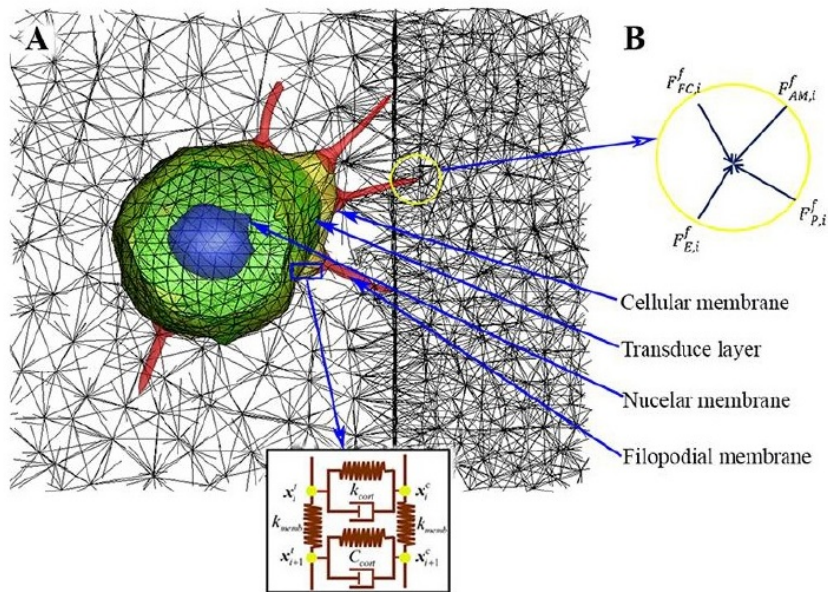


Figura 2.3: División en mallas de la célula. Fuente: [12]

A continuación se detallarán cada una de las ecuaciones implícitas en el movimiento de la célula.

## Membrana Celular

La siguiente ecuación gobierna el movimiento de la célula:

$$(C_c + C_{cort}) \frac{dx_i^c}{dt} - C_{cort} \frac{dx_i^t}{dt} = F_{FA,i}^c + F_{E,i}^c + F_{L,i}^c + F_{T,i}^c, \quad i = 1, \dots, N_c \quad (2.1)$$

En esta ecuación se define a través del sumatorio de las fuerzas, una para cada elemento que se necesita, donde:

- $x_i^c$ : nube de puntos.
- $c$ : malla perteneciente a la membrana celular.
- $i$ : nodo  $i$ -ésimo de la malla.
- $N_c$ : número de puntos de la membrana celular que, a su vez, coincide con el número de puntos de la membrana intermedia.
- $C_c$ : coeficiente de fricción de la membrana celular.
- $C_t$ : coeficiente de fricción de la membrana intermedia.
- $C_{cort}$ : constante asociada a la contribución viscoelástica.

La célula se mueve por el sumatorio de todas las fuerzas, las cuales se definen:

- Fuerza de adhesión focal (FA): es la conexión o contacto de la célula con la matriz. Siempre se encuentra en la membrana celular. Viene regida por la siguiente ecuación:

$$F_{FA,i}^c = n_{b,i}^c k_{LR} (L_b - \lambda) \hat{n}_{R,i}^c \quad (2.2)$$

Dónde:

- $n_{b,i}^c$ : número de integrinas que se encuentran enganchadas en el nodo  $i$ -ésimo de la membrana celular.
- $\hat{n}_{R,i}^c$ : vector director de la fuerza de la célula, apuntando desde la membrana celular al punto de conexión.

- $k_{LR}$ : rigidez del enlace ligando-receptor. Ligando se refiere a la proteína de la membrana celular (integrina) y el receptor a las conectividades que pueden aparecer en las fibras de la ECM.
  - $L_b$ : distancia real que separa la punta del filopodio a una fibra.
  - $\lambda$ : distancia mínima de enlace.
- Fuerza de la respuesta elástica (E) de la célula con los propios nodos de la célula: fuerzas de resistencia a los efectos de deformación de la membrana celular.

$$F_{E,i}^c = -k_L^c \sum_{j=1}^{line} (L_j^c - l_j^{c0}) \frac{\partial L_j^c}{\partial x_i^c} - k_A^c \sum_{j=1}^{element} \left( \frac{A_j^c - A_j^{c0}}{A_j^{c0}} \right) \frac{\partial A_j^c}{\partial x_i^c} \quad (2.3)$$

Dónde:

- $L_j$  : longitud entre nodos.
  - $A_j$ : área de los elementos cercanos.
  - $k_j$ : rigidez longitudinal.
  - $k_A$ : rigidez de área.
- Movimiento del lamelipodio (L): el lamelipodio, como se ha visto inicialmente, es una acumulación de proteínas que ejerce fuerza hacia el exterior. Se define como una fuerza constante de 300  $pN$  en el *leading edge*, es decir, en las zonas que lideran el movimiento.
- Fuerza transduce (T): fuerza motivada por la membrana intermedia o membrana transduce. Esta es negativa, ya que ejerce una resistencia al movimiento:

$$F_{T,i}^c = -k_{cort} (L_{T,i} - L_{T,i}^0) \frac{\partial L_{T,i}}{\partial x_i^c} \quad (2.4)$$

## Membrana del Núcleo

La ecuación que gobierna el movimiento del núcleo:

$$C_n \frac{dx_i^n}{dt} = F_{E,i}^n + F_{SF,i}^n, \quad i = 1, \dots, N_n \quad (2.5)$$

Dónde:

- $C_n$  : coeficiente de fricción de la membrana del núcleo.
- $N_n$ : número de nodos del núcleo, mismo número que las mallas celulares.

En esta ecuación también se define a través del sumatorio de las fuerzas, una para cada elemento que se necesita.

- Fuerza elástica del núcleo (E): al igual que en la membrana celular, son las fuerzas de resistencia de los puntos de alrededor del punto del que se tira. Se definen como:

$$F_{E,i}^n = -k_L^n \sum_{j=1}^{line} (L_j^n - l_j^{n,0}) \frac{\partial L_j^n}{\partial x_i^n} - k_A^n \sum_{j=1}^{element} \left( \frac{A_j^n - A_j^{n0}}{A_j^{n0}} \right) \frac{\partial A_j^n}{\partial x_i^n} \quad (2.6)$$

Dónde:

- $L_j$  : longitud entre nodos.
  - $A_j$ : área de los elementos cercanos.
  - $k_L$ : rigidez longitudinal.
  - $k_A$ : rigidez de área.
- Fuerzas de *stress fiber* (SF) o fibras de tensión: Estas fibras nacen de la conexión entre el núcleo y la membrana transduce:

$$F_{SF,i}^n = -\frac{\partial E_{SF,i}}{\partial x_i^n} = -\frac{k_{SF}}{N_{SF}} (d_{SF,i} - N_{SF} L_{SF,i}^1) \frac{\partial d_{SF,i}}{\partial x_i^n} = -F_{SF,i}^t \quad (2.7)$$

Dónde:

- $d_{SF}$ : distancia de compartimento de *stress fiber*.
- $N_{SF}$ : número de compartimentos.
- $L_{SF}^1$ : longitud de referencia del compartimento.
- $k_{SF}$ : rigidez del compartimento.

### Membrana Transduce

Es la membrana intermedia que sufre las fuerzas de las dos anteriores. La fuerza se rige por la siguiente ecuación:

$$-C_{cort} \frac{dx_i^t}{dt} + (C_t + C_{cort}) \frac{dx_i^t}{dt} = F_{E,i}^t + F_{E,i}^c + F_{SF,i}^t + F_{T,i}^t, \quad i = 1, \dots, N_t \quad (2.8)$$

Dónde:

- $C_t$  : coeficiente de fricción de la membrana intermedia.
- $N_t$ : número de nodos de la membrana intermedia.

En esta ecuación también se define a través del sumatorio de las fuerzas, una para cada elemento que se necesita.

### Filopodio

Las fuerzas de los filopodios se rigen por la siguiente ecuación:

$$C_f \frac{dx_i^f}{dt} = F_{E,i}^f + F_{FC,i}^f + F_{P,i}^f + F_{AM,i}^f, \quad i = 1, \dots, N_f \quad (2.9)$$

Dónde:

- $C_f$  : coeficiente de fricción de la membrana filopodial.
- $N_f$ : número de nodos de la membrana filopodial.

En esta ecuación también se define a través del sumatorio de las fuerzas, una para cada elemento que se necesita. Pero en este caso, no hay conexión con otras membranas.

- Fuerza elástica del filopodio (E): al igual que en los anteriores, son las fuerzas de resistencia que se opone a la deformación, que tiende a devolver al nodo en particular a su posición original con respecto a la distancia de sus nodos cercanos. Se definen como:

$$F_{E,i}^f = -k_L^f \sum_{i=1}^{line} (L_i^f - L_i^{f0}) \frac{\partial L_i^f}{\partial x_i^f} - k_A^f \sum_{i=1}^{element} \left( \frac{A_i^f - A_i^{f0}}{A_i^{f0}} \right) \frac{\partial A_i^f}{\partial x_i^f} \quad (2.10)$$

Dónde:

- $L_i$  : longitud entre nodos.
  - $A_i$ : área de los elementos cercanos.
  - $k_L$ : rigidez longitudinal.
  - $k_A$ : rigidez de área.
- Fuerzas de polimerización (P): es la fuerza que decide que el filopodio crezca hacia delante. Se aplica en la punta y es constante de un valor de  $2 nN$ .
  - Fuerza del complejo focal (FC): Es igual a la fuerza de la adhesión focal pero en este caso, en la punta del filopodio. Se define como:

$$F_{FC,i}^f = n_{b,i}^f k_{LR} (L_b - \lambda) \hat{n}_{R,i}^f \quad (2.11)$$

- Fuerza de la actina-miosina (AM): como se ha comentado inicialmente, la actina-miosina es el motor muscular, es decir, es la proteína que mueve el músculo. Esta tira en dirección contraria al movimiento del filopodio, es decir, hacia dentro. Se parametriza de la siguiente manera:

$$F_{AM,j}^f = -\frac{\partial H_{AM}}{\partial x_j^f} = -k_{AM,j} (d_{AM,j} - L_{AM,j}^1) \frac{\partial d_{AM,j}}{\partial x_j^f} + k_{AM,j+1} (d_{AM,j+1} - L_{AM,j+1}^1) \frac{\partial d_{AM,j+1}}{\partial x_{j+1}^f} \quad (2.12)$$

Dónde:

- $d_{AM}$ : distancia de compartimento de la actina-miosina.



- $H_{AM}$ : energía elástica total almacenada en la actina-miosina en el filopodio.
- $L_{AM}^1$ : longitud de referencia del compartimento.
- $k_{AM}$ : rigidez de la actina-miosina.

En la figura 2.4 , se representa la unión de actina – miosina, así como la agrupación de integrinas en la punta del filopodio y las fibras ECM.

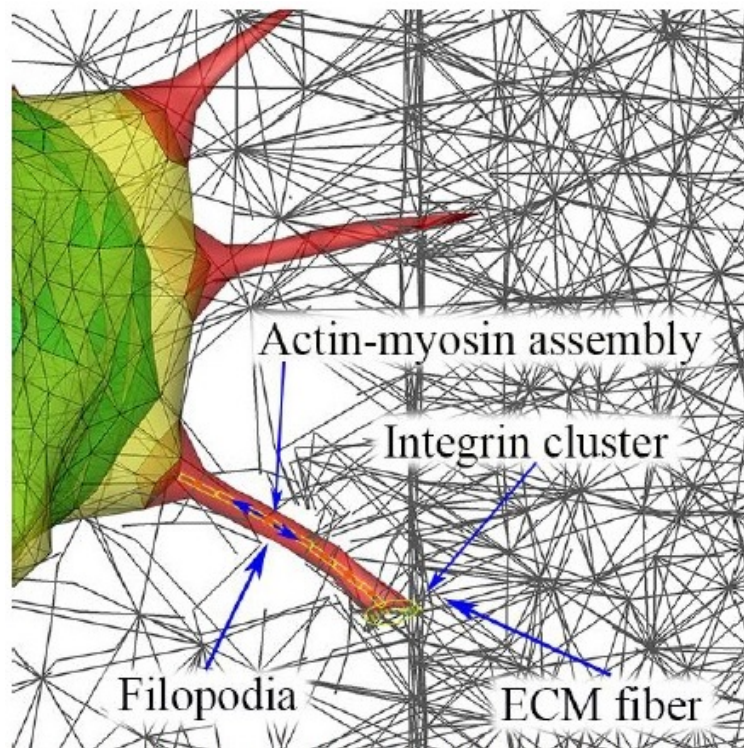


Figura 2.4: Unión de la actino miosina. Fuente: [12]

### Matriz Extracelular

A la hora de representar las mallas en los casos anteriores, se subdividían en triángulos, mientras que para la ECM se representa en tetraedros, por lo que ahora se trabaja con ángulos en vez de con áreas. Las fuerzas vienen regidas por la siguiente ecuación.

$$C_e \frac{dx_i^e}{dt} = F_{FA,i}^e + F_{FC,i}^e + F_{E,i}^e, \quad i = 1, \dots, N_e \quad (2.13)$$

Dónde:

- $C_e$ : coeficiente de fricción de la ECM.
- $N_e$ : número de nodos de la ECM.

Las fuerzas que actúan corresponden a la adhesión focal, al complejo focal y finalmente, a la fuerza elástica, la cual cambia respecto a las anteriores debido a la representación en tetraedros.

- Fuerza elástica de la ECM (E): al igual que en los anteriores, son las fuerzas de resistencia que se opone a la deformación, que tiende a devolver al nodo en particular a su posición original con respecto a la distancia de sus nodos cercanos. Se definen como:

$$F_{E,ij}^e = \frac{\partial H_{f,i}^e}{\partial x_{ij}^e} = -k_{f,s}^e \sum_{k=j}^{j+1} \frac{(L_{ik}^e - L_{ik}^{e0})}{L_{ik}^{e0}} \frac{\partial L_{ik}^e}{\partial x_{ij}^e} - k_{f,b}^e \sum_{k=j-1}^{j+1} \frac{(\theta_{ik}^e - \theta_{ik}^{e0})}{L_{ik}^{e0}} \frac{\partial \theta_{ik}^e}{\partial x_{ij}^e} \quad (2.14)$$

Dónde:

- $L_{ik}$ : longitud entre nodos.
- $\theta_{ik}$ : ángulo entre nodos.
- $k_{f,s}^e$ : rigidez de la ECM. Esta rigidez viene dada a partir de  $k_{f,s}^e = E_f^e A_f$  dónde  $E_f^e$  es el módulo de Young y  $A_f$  el área de la sección transversal de una sola fibra.

### 2.3.2. Dinámica de penetración de los filopodios

Inicialmente, se ha definido el filopodio como una nube de puntos xyz con una conectividad entre sí.

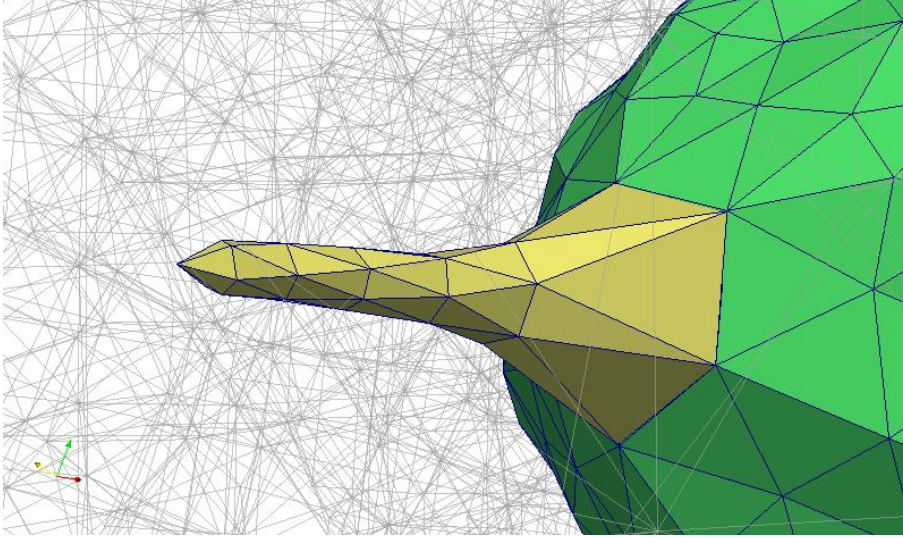


Figura 2.5: Representación de la nube de puntos del filopodio en Paraview.

La dinámica de los filopodios se describe a partir de la siguiente ecuación:

$$C_f \frac{dx_f^i}{dt} = F_{E,i}^f + F_{FC,i}^f + F_{P,i}^f + F_{AM,i}^f, \quad i = 1, \dots, N_f \quad (2.15)$$

Dónde:

- $F_{E,i}^f$  : Fuerza elástica.
- $F_{FC,i}^f$  : Fuerza del complejo focal.
- $F_{P,i}^f$  : Fuerza de polimerización.
- $F_{AM,i}^f$  : Fuerza de la actino-miosina.
- $C_f$  : Coeficiente de fricción asociado con la disipación de energía en el nodo del filopodio.
- $x_f^i$  : Posición  $xyz$  del nodo  $i$  de la malla del filopodio.
- $N_f$  : Número de puntos de la malla del filopodio.

El comportamiento dinámico de los filopodios se materializa en cuatro fases diferenciadas:

- Fase de crecimiento: debida a la polimerización saliente de la actina. Como todavía no se encuentra enganchado a nada, no existe complejo focal ni fuerzas motivadas por actina-miosina. La fuerza de polimerización es la que se encarga de que el filopodio crezca. Una vez pasa la fase de crecimiento, puede que se agarre a la ECM (fase de “tugging”) o que crezca tanto que ya no se enganche y se retraiga (fase retráctil).
- Fase retráctil: debida al exceso de tamaño del filopodio asociado a la falta de éxito en la fijación a la ECM con excesivo tamaño. Si las fuerzas son bajas, se puede producir el desenganche y volver al crecimiento. Sólo actúa la fuerza elástica, ya que no se engancha a la ECM.
- Fase de “tugging”: si se encuentra cerca de un punto de enlace, entra en juego el complejo focal. Por tanto, actúa la fuerza elástica y la fuerza del complejo focal. Una vez se enganche, puede pasar que se desenganche (cuando el número de integrinas conectadas son pocas y el balance de fuerzas no contribuye a acercarse, sino a alejarse, por lo tanto  $F_E$  es mayor que  $F_{FC}$ ) y pase de nuevo a la fase de crecimiento, o que el enganche madure (fase contráctil).
- Fase contráctil: debida a las fuertes fuerzas de FC en la punta del filopodio y a las actividades motoras lentas de la miosina en la punta del filopodio. Actúan todas las fuerzas menos la de polimerización, ya que esta es la encargada de que el filopodio crezca, por lo tanto, sólo se encuentra en la fase de crecimiento.
- Fase de muerte: se produce por la no alineación del filopodio con la orientación de migración de la célula.

Durante el proceso dinámico, el filopodio conmuta entre estas cuatro fases. Dependiendo de la fuerza del complejo focal, la longitud del filopodio, la duración de la fase, y otros factores, las transiciones entre fases están determinadas. Brevemente, la fase de crecimiento conmuta a la fase “tugging” cuando, tras un breve tiempo de maduración del filopodio, las distancias entre la punta del filopodio y una fibra de la ECM permiten la generación de complejos focales. Si no se consigue obtener una distancia necesaria que permita la generación de complejos focales antes de que el filopodio alcance su

máxima longitud, el filopodio conmuta a fase retráctil. Si se rompe, conmuta de vuelta a la fase de crecimiento.

Todo este complejo proceso depende de muchos estímulos que recibe la célula, determinando así la respuesta migratoria. Estos estímulos pueden ser químicos, los cuales pueden ser las sustancias químicas diluidas en el entorno así como material segregado por la propia célula; mecánicos, como la resistencia que ofrece el medio; o topográficos, es decir, la topografía en la que se encuentra embebida la célula [8].

## 2.4. Variables cinemáticas estudiadas

### 2.4.1. Velocidad

Se ha calculado para los distintos casos disponibles, la velocidad para cada instante de tiempo. Se obtiene a partir de la siguiente ecuación.

$$v_t = \frac{C_i - C_{i-1}}{\Delta t} \quad (2.16)$$

Dónde:

- $C_{i-1}$ : posición del centro de la célula en instante anterior.
- $C_i$ : posición del centro de la célula en instante posterior.
- $v_t$ : velocidad instantánea ( $\mu m/s$ ).
- $\Delta t$ : instante de tiempo, este caso 2 segundos.

También se ha realizado el cálculo de la velocidad media, el cual se ha calculado mediante la siguiente ecuación:

$$v_m = \frac{C_f}{t_f} \quad (2.17)$$

Dónde:

- $C_f$ : posición del centro de la célula en instante final.
- $v_m$ : velocidad media ( $\mu m/s$ ).
- $t_f$ : tiempo total, en este caso 600 segundos.

## 2.4.2. Supervivencia

En este apartado se ha procedido a calcular el tiempo de supervivencia de cada filopodio. Para ello, se ha utilizado el software Paraview para la modelización de cada caso y la observación de las muertes de los distintos filopodios. Dicha supervivencia se ha medido respecto al tiempo en el que mueren los filopodios.

## 2.4.3. Desplazamiento

Dentro de esta sección, se ha calculado el desplazamiento en cada instante de la célula, así como un desplazamiento final acumulado de cada caso. Para ello, inicialmente se aplica la siguiente ecuación:

$$D_t = C_i - C_{i-1} \quad (2.18)$$

Dónde:

- $D_t$ : desplazamiento en cada instante  $\mu m$ .
- $C_i$ : posición del centro de la célula en instante posterior.
- $C_{i-1}$ : posición del centro de la célula en instante anterior.

Y una vez calculado el desplazamiento en cada instante, se calcula el desplazamiento acumulado:

$$D_{at} = D_{at-1} + D_t \quad (2.19)$$

## 2.4.4. Orientación

Dentro de esta sección, se ha calculado la orientación del movimiento de la célula en cada instante. Para ello, se ha obtenido el valor de la proyección en cada eje, del vector polarización de la célula. Dicho vector se posiciona en cada instante en la dirección en la que la célula se mueve. Es un vector normalizado, por lo que su longitud es 1. Además, se ha establecido un criterio de representación basado en coordenadas esféricas, las cuales representan en la figura 2.6. Este sistema da la localización de puntos en el espacio por medio de dos ángulos y una distancia. Los ángulos son:

- Azimutal ( $\varphi$ ): ángulo que va de 0 a 360°, el cual representa el ángulo de la distancia de la proyección del vector sobre el plano XY, con el eje X.
- Colatitud ( $\theta$ ): ángulo que va de 0 a 180°, y representa el ángulo entre el vector y el eje Z.

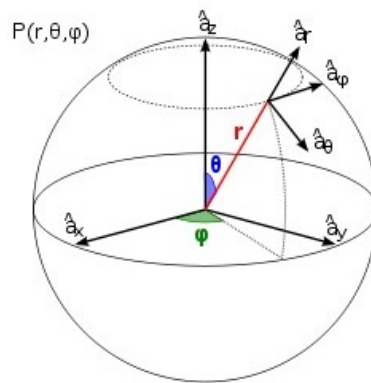


Figura 2.6: Coordenadas esféricas

Por lo que, la orientación de un punto en un instante concreto se toma como  $(\theta, \varphi)$ .

#### 2.4.5. Tiempo de unión del filopodio con la ECM

Para el cálculo de los tiempos de unión del filopodio con la ECM, se ha controlado los tiempos en los que los filopodios se encuentran en *fase contráctil*.

### 2.5. Estudio sobre la rigidez

Además de todo lo comentado anteriormente, se ha llevado a cabo un estudio sobre el cambio de rigidez. Debido a la conocida influencia que tiene la rigidez del medio con respecto a la orientación de la célula [12], resulta

interesante incluir cambios en los valores de rigidez de la ECM para comprobar si aparecen efectos microlocales que puedan alterar la cinemática de la célula. Para ello, se han estudiado para el Caso 4 y el Caso 2, los efectos que pueden ser consecuencia de cambiar la rigidez de la ECM. En particular, las pruebas se han hecho modificando el valor del parámetro  $E_{fe}$ , el cual es el *módulo de Young* de la ECM, a los valores  $1,25 \cdot 10^6 Pa$ ,  $2,5 \cdot 10^6 Pa$ ,  $5 \cdot 10^6 Pa$  y  $10 \cdot 10^6 Pa$ .



# Capítulo 3

## Resultados de la Cinemática de Migración

### 3.1. Introducción

En este apartado se expondrán los resultados obtenidos de la aplicación de los cálculos explicados anteriormente a los distintos casos de migración celular planteados en el presente proyecto.

### 3.2. Estudio de la cinemática

#### 3.2.1. Velocidad

Los resultados obtenidos correspondientes a la velocidad instantánea a partir de la ecuación 2.16, se representan en la figura 3.1 . Y por consecuente, la velocidad media según la ecuación 2.17 para cada caso corresponde a:

- Caso 1:  $0.0017 \mu m/s$
- Caso 2:  $0.0035 \mu m/s$
- Caso 3.1:  $9.9563e-04 \mu m/s$
- Caso 3.2:  $0.002 \mu m/s$
- Caso 4:  $9.6189e-04 \mu m/s$

■ Caso 5:  $0.0014 \mu\text{m/s}$

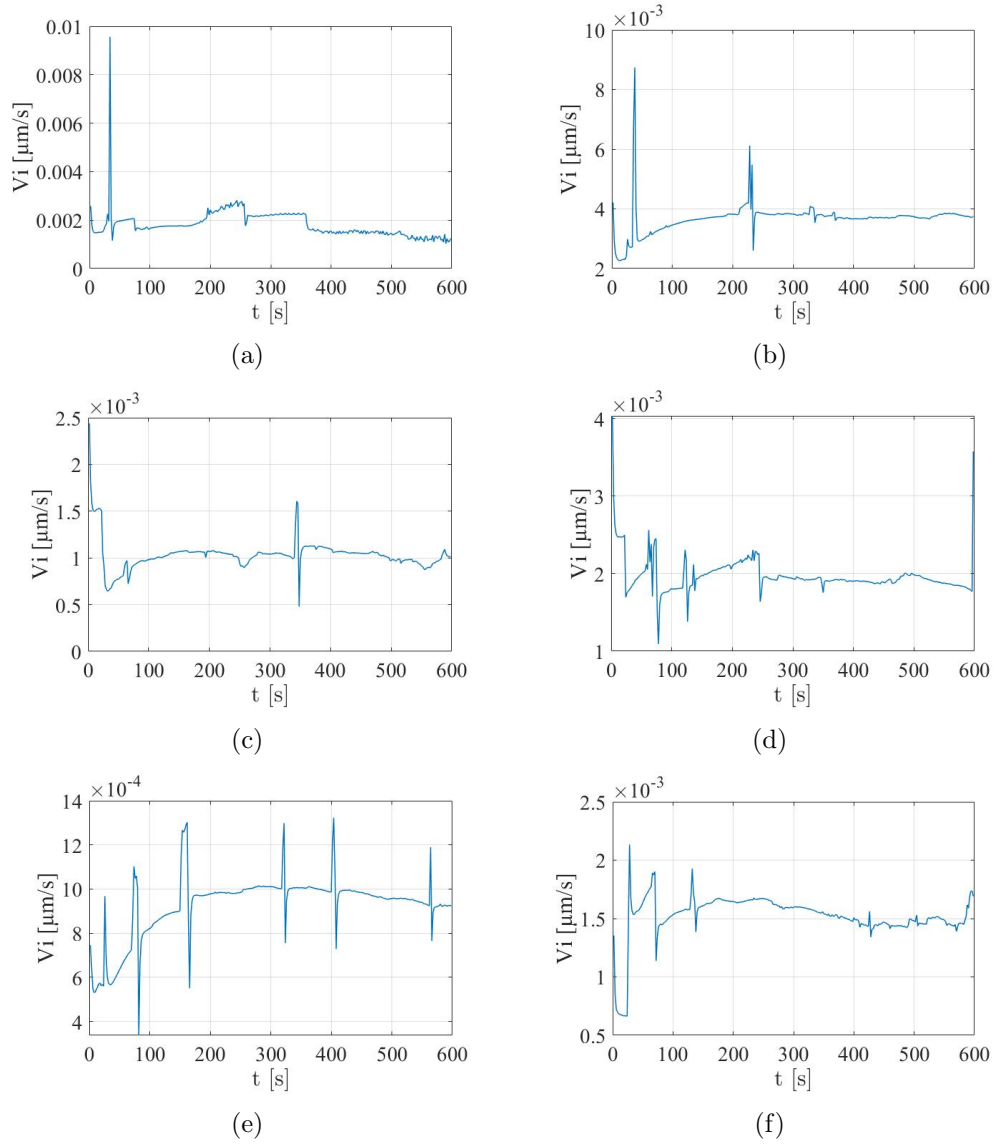


Figura 3.1: Resultados obtenidos de la velocidad instantánea para cada caso. Donde (a) Caso 1, (b) Caso 2, (c) Caso 3.1, (d) Caso 3.2, (e) Caso 4 y (f) Caso 5.

### 3.2.2. Desplazamiento

En la figura 3.2 se representan los resultados del cálculo de los desplazamientos para los distintos casos.

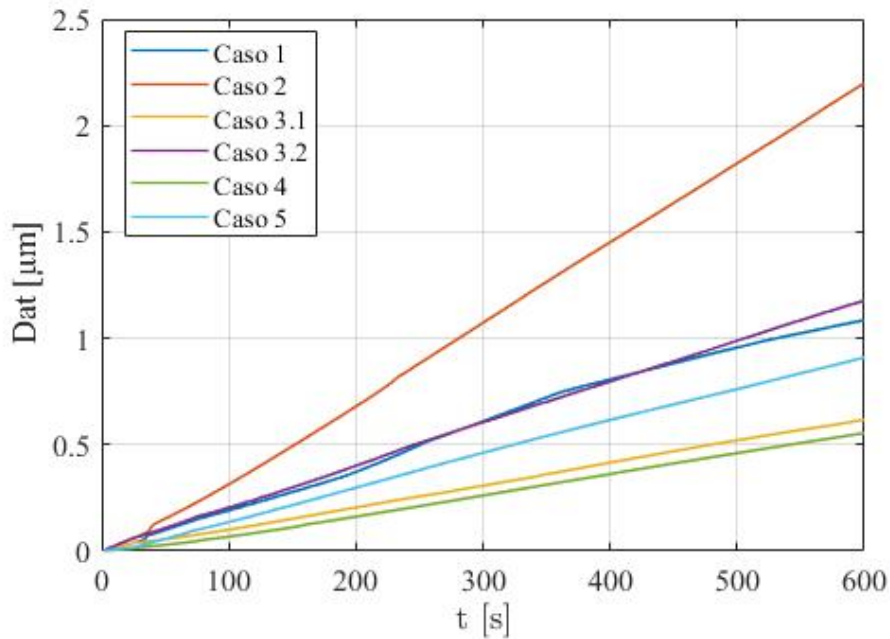
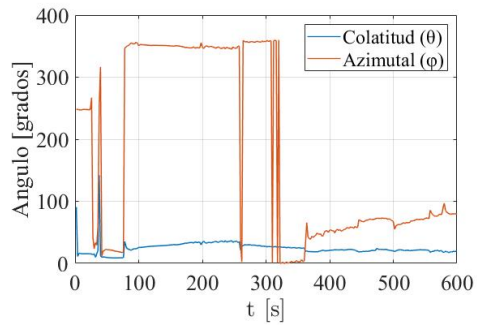


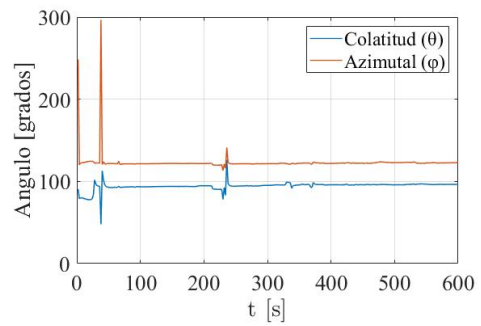
Figura 3.2: Resultados de los desplazamientos para todos los casos.

### 3.2.3. Orientación

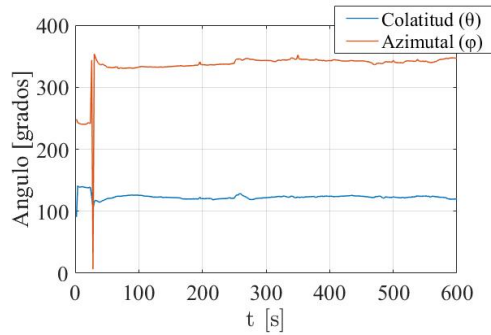
A continuación, en la Figura 3.3, se exponen los resultados de la orientación, en la que se representa el ángulo de la colatitud y azimutal para cada uno de los casos.



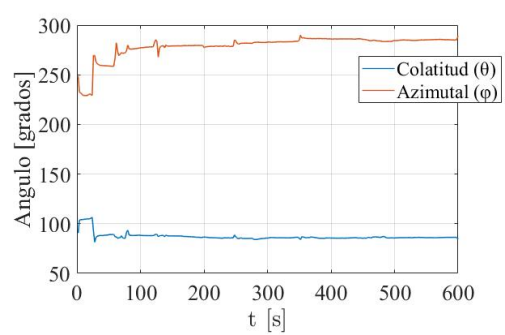
(a)



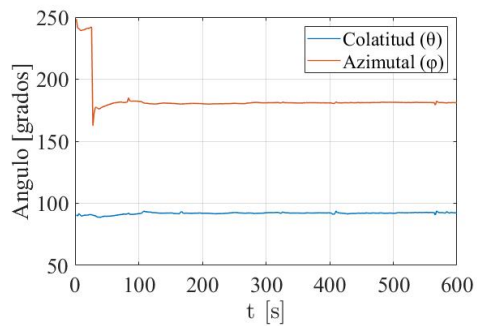
(b)



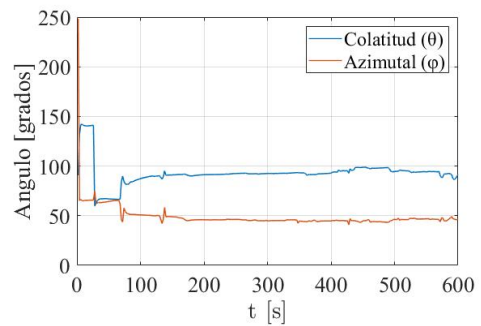
(c)



(d)



(e)



(f)

Figura 3.3: Resultados obtenidos de la orientación para cada caso. Donde (a) Caso 1, (b) Caso 2, (c) Caso 3.1, (d) Caso 3.2, (e) Caso 4 y (f) Caso 5.

### 3.2.4. Supervivencia

A continuación, en la tabla 3.1, se encuentran los tiempos en los que mueren los filopodios dentro de cada caso, nombrados en el orden en el que van muriendo.

Cuadro 3.1: Tiempos de supervivencia de los filopodios en segundos.

t [s]	Caso 1	Caso 2	Caso 3.1	Caso 3.2	Caso 4	Caso 5
$t_{sf1}$	26	26	26	26	26	26
$t_{sf2}$	76	Sobrevive	26	26	Sobrevive	26
$t_{sf3}$	360	Sobrevive	26	26	-	26
$t_{sf4}$	Sobrevive	Sobrevive	26	26	-	26
$t_{sf5}$	-	Sobrevive	26	58	-	66
$t_{sf6}$	-	-	26	Sobrevive	-	Sobrevive
$t_{sf7}$	-	-	Sobrevive	Sobrevive	-	Sobrevive

### 3.2.5. Tiempos de unión del filopodio con la ECM

A continuación, se muestran los resultados obtenidos para cada caso con respecto al tiempo de unión entre el filopodio y la ECM, es decir, el tiempo que se encuentran en fase contráctil. Se han representado dichos tiempos de forma que conmuta de 1 (fase contráctil) a 0 (se "desengancha"). También se han añadido los esquemas para una mejor visualización de los filopodios y su numeración.

### Caso 1

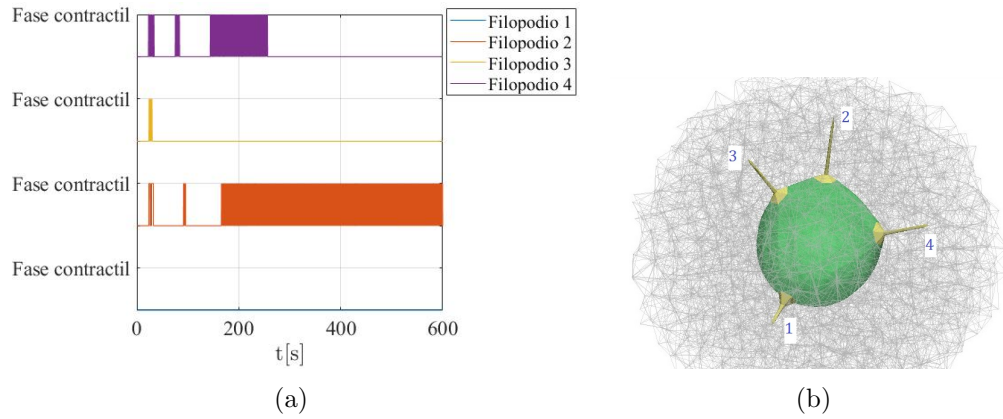


Figura 3.4: Resultados obtenidos para el caso 1. (a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número.

### Caso 2

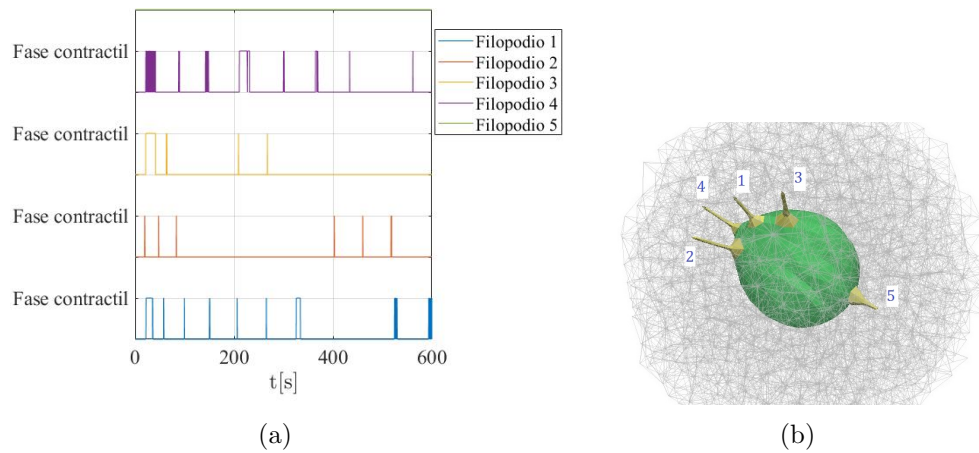


Figura 3.5: Resultados obtenidos para el caso 2. (a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número.

### Caso 3.1

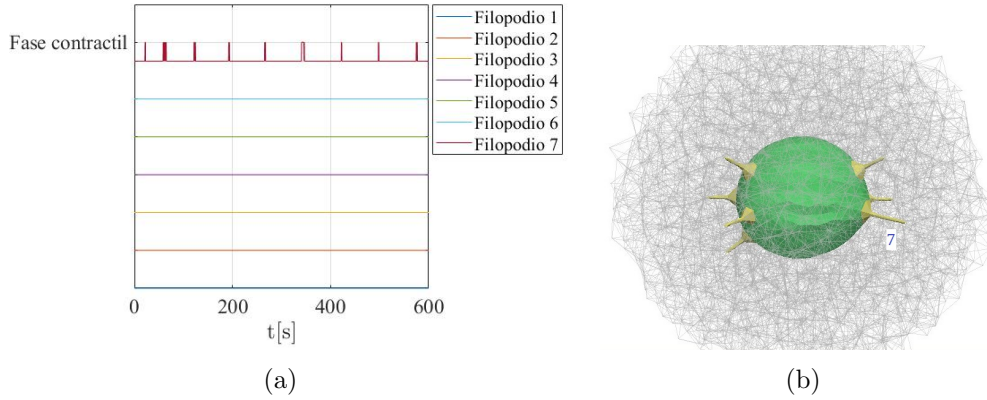


Figura 3.6: Resultados obtenidos para el caso 3.1.(a) Tiempos de fase contractil. (b) Identificación de filopodios por número.

### Caso 3.2

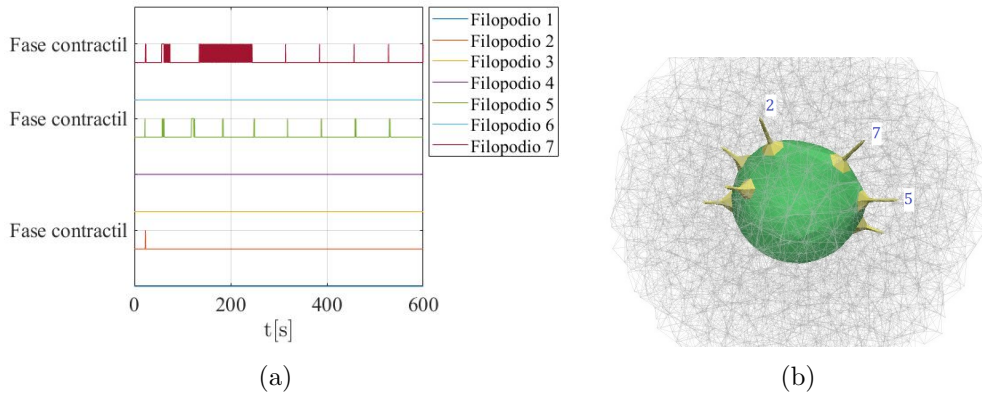


Figura 3.7: Resultados obtenidos para el caso 3.2.(a) Tiempos de fase contractil. (b) Identificación de filopodios por número.

### Caso 4

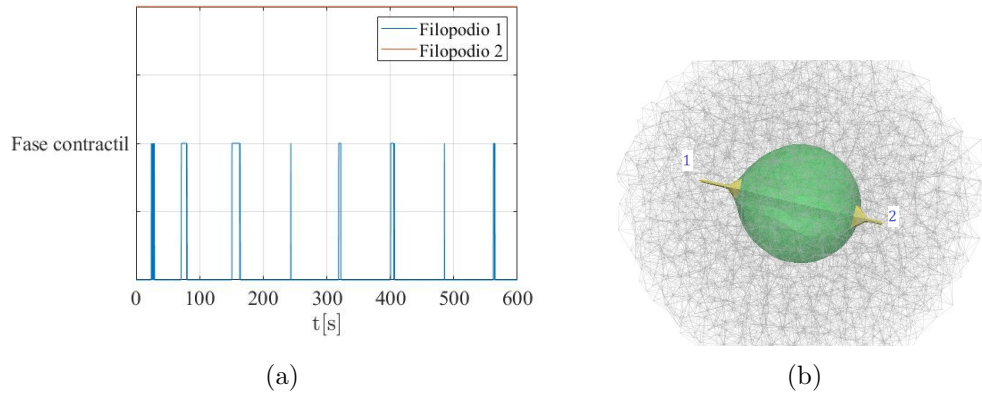


Figura 3.8: Resultados obtenidos para el caso 4. (a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número.

### Caso 5

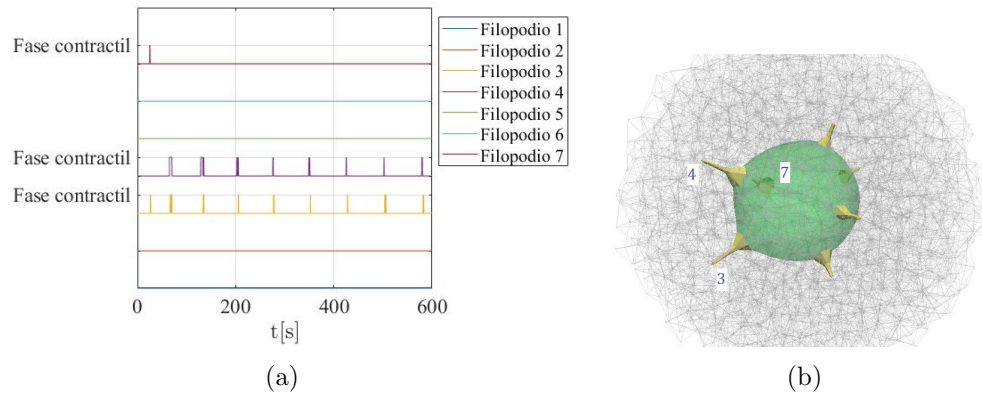


Figura 3.9: Resultados obtenidos para el caso 5. (a) Tiempos de fase contráctil. (b) Identificación de filopodios por número.



### 3.3. Variación de la rigidez

#### 3.3.1. Caso 2

##### Velocidad

Los resultados obtenidos de la velocidad para dicho caso, en función de su rigidez se representan en la Figura 3.10. Si  $v_k$  representa el valor de la velocidad para la rigidez  $k$ ,  $v_{2k}$ , es decir, la velocidad asociada a una matriz con el doble de rigidez, varía aproximadamente como  $v_{2k} = 0,95v_k$ , obteniendo un valor de velocidad inferior a medida que aumenta la rigidez.

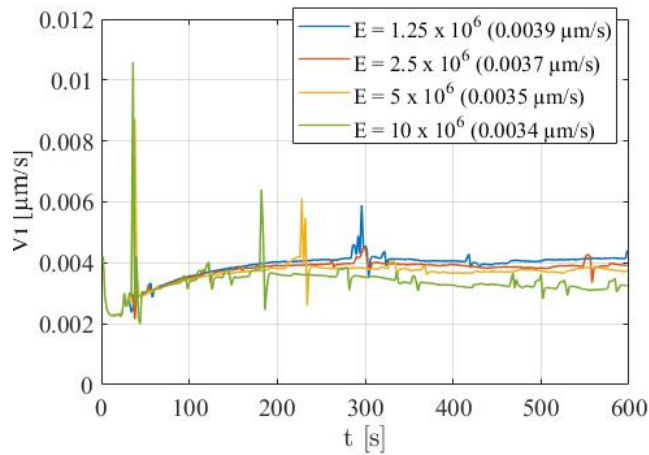


Figura 3.10: Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el caso 2.

##### Orientación

Los resultados obtenidos de la orientación para dicho caso, en función de su rigidez se representan en la Figura 3.11.

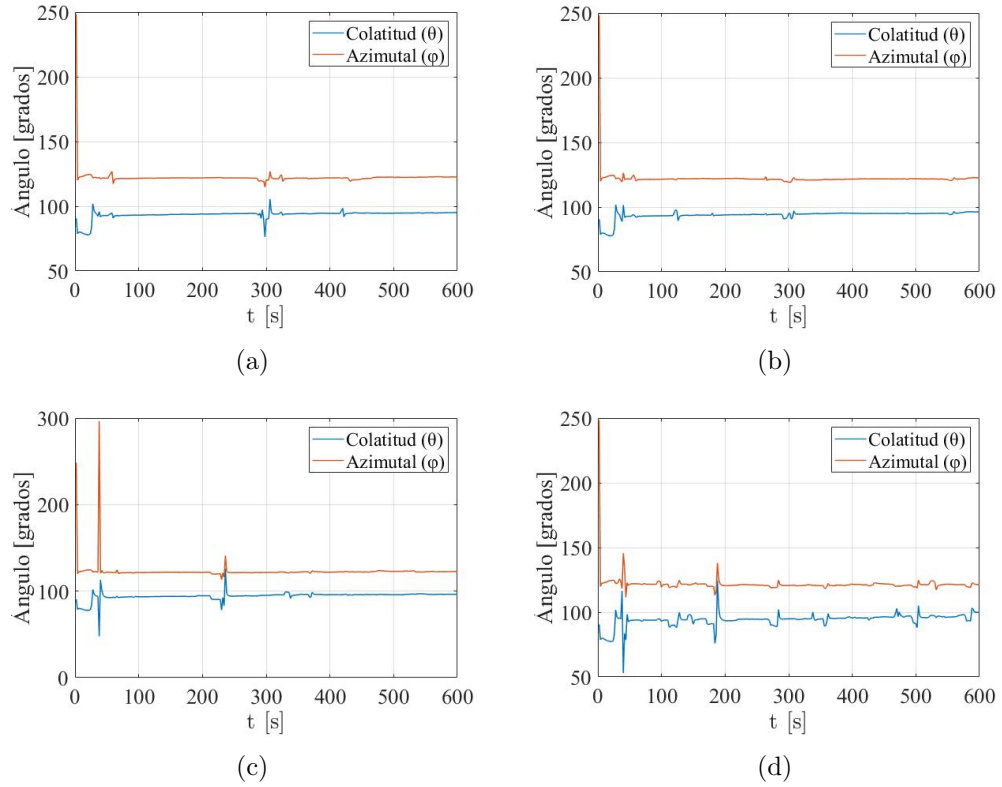


Figura 3.11: Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 2. (a)  $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$  (b)  $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$  (c)  $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d)  $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ .

### 3.3.2. Caso 4

#### Velocidad

Los resultados obtenidos de la velocidad para dicho caso, en función de su rigidez se representan en la Figura 3.12. Si  $v_k$  representa el valor de la velocidad para la rigidez  $k$ ,  $v_{2k}$ , es decir, la velocidad asociada a una matriz con el doble de rigidez, varía aproximadamente como  $v_{2k} = 0,99v_k$ , obteniendo un valor de velocidad inferior a medida que aumenta la rigidez.

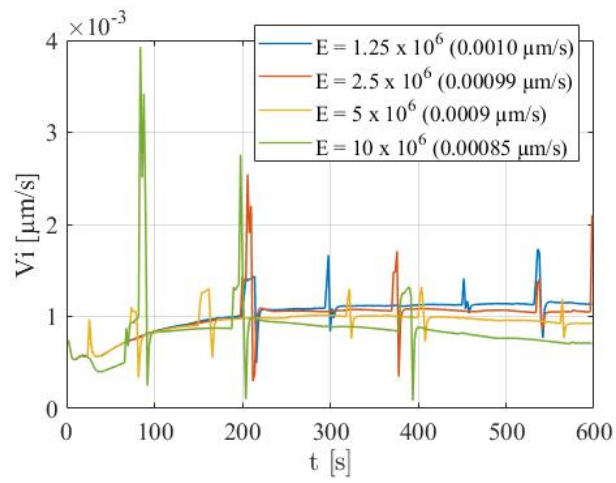


Figura 3.12: Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el caso 4.

### Orientación

Los resultados obtenidos de la orientación para dicho caso, en función de su rigidez se representan en la Figura 3.13.

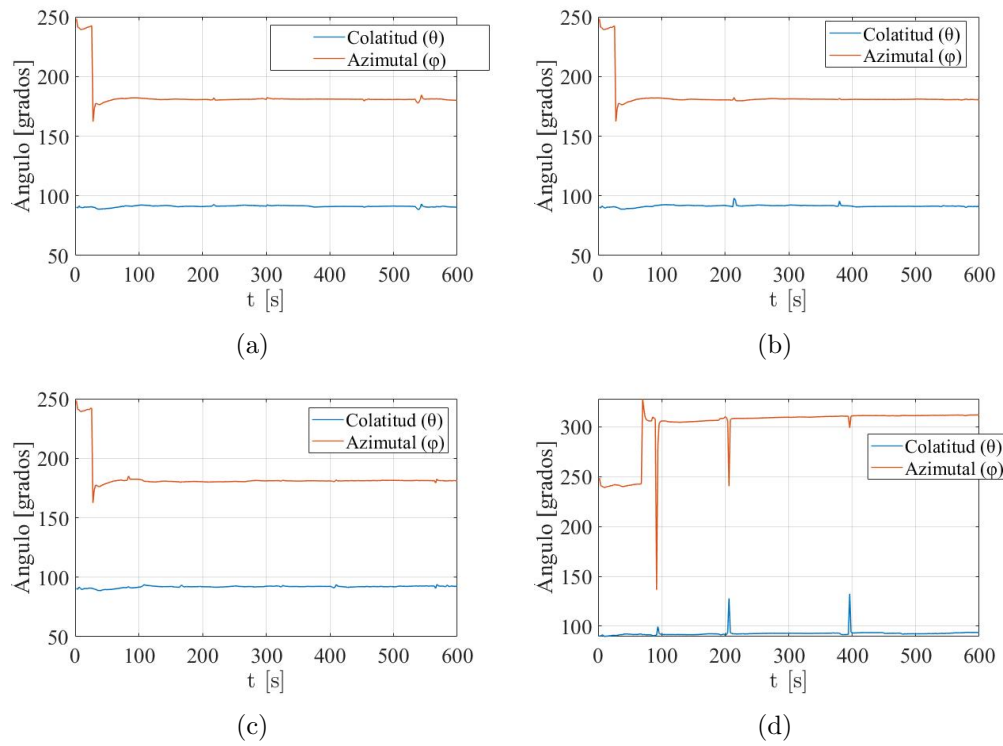


Figura 3.13: Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 4. (a)  $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$  (b)  $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$  (c)  $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d)  $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ .

# Capítulo 4

## Discusión

### 4.1. Velocidad, supervivencia y unión del filopodio con la ECM

#### 4.1.1. Caso 1

Como se observa en la Figura 4.1, hay un crecimiento inicial de la velocidad. Esto se debe a que, inicialmente, actúan más filopodios en una misma dirección. Finalmente, la velocidad termina por estabilizarse a un valor constante cuando la polarización de la célula se autoregula. Si se compara con la supervivencia de cada filpodio, el crecimiento inicial se puede asociar a que, claramente existe un filpodio que no está alineado con el resto. Inicialmente, dicho filpodio ejerce una fuerza de resistencia y, cuando muere, la célula termina por seguir la dirección que el resto de filopodios le impone. También se puede observar que, en el tramo en el que sobreviven 2 filopodios, la velocidad es mayor que en el tramo en el que sólo queda vivo un filpodio. Con estos resultados, se puede concluir que la velocidad que se consigue al estabilizarse el movimiento de la célula depende del número de filopodios dominantes en la dirección del movimiento de la célula, aumentando dicha velocidad en proporción al número de filopodios dominantes.

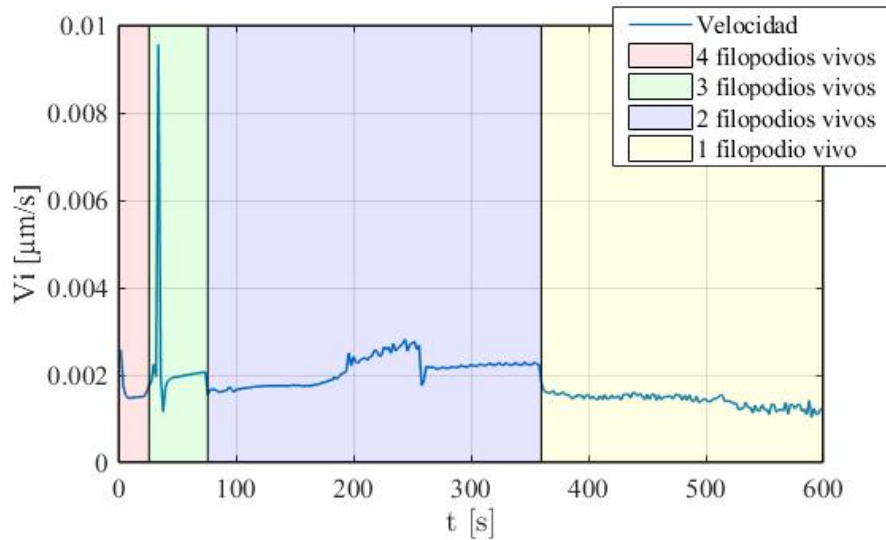


Figura 4.1: Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 1.

Es interesante observar los distintos tramos en los que la velocidad no es claramente constante, si no que crece y disminuye de forma continuada y en pequeña cantidad, como puede ser el caso entre 190 y 260 segundos aproximadamente. Esta situación puede atribuirse al movimiento del filopodio, ya que entra en un movimiento repetitivo de engancharse y soltarse. Es decir, el filopodio cambia de fase de crecimiento a fase de “tugging” de forma continuada, por lo que el enganche no ha madurado y no puede entrar en fase contráctil. Esto puede observarse en la Figura 4.2 que representa el tiempo de unión del filopodio con la ECM, en la que además se puede ver como la velocidad crece en este tramo hasta que el filopodio 4 no es capaz de engancharse a nada.

Posterior a este tramo, en el instante de  $t = 260$  s se produce una reducción pronunciada de la velocidad, esto es debido a que el filopodio que va a morir a continuación entra en fase retráctil, teniendo una influencia muy baja en la reorientación de la célula. En ese caso, sólo actúa la fuerza elástica y el filopodio es incapaz de engancharse a la ECM. Esta reducción de velocidad se debe al último tramo de fase contráctil, tras el que el filopodio finalmente se desengancha y comienza su fase retráctil. Así, este filopodio ejerce una mínima resistencia a la dirección del filpodio que finalmente sobrevive, pero

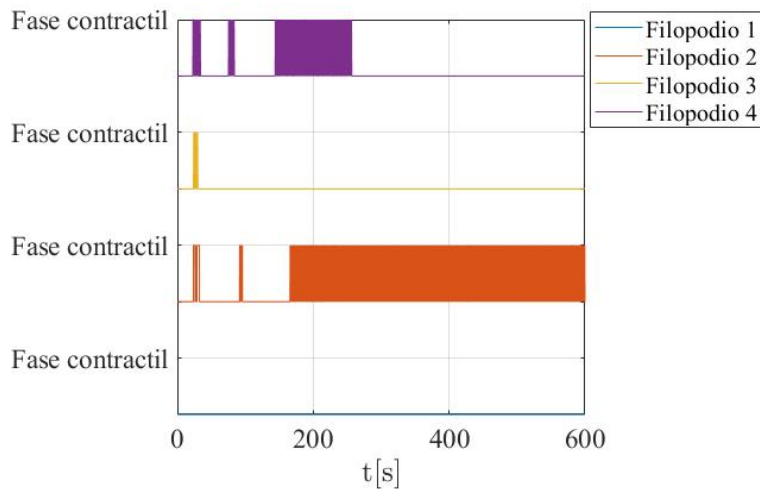


Figura 4.2: Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el Caso 1.

no contribuye al movimiento y al avance de la célula. Se observa, de esta misma manera, esta disminución de velocidad para los instantes  $t = 40$  s y  $t = 10$  s. Es el instante inmediatamente anterior a la muerte de los filopodios, los cuales se encuentran en fase retráctil. Un vez mueren, esta velocidad aumenta.

#### 4.1.2. Caso 2

En este caso, como en el anterior, un filopodio se encuentra claramente en sentido opuesto a los demás, y es el que inicialmente muere. Por lo que, según se observa en la Figura 4.3, en el instante de su muerte, éste deja de ejercer una resistencia en sentido contrario y, en consecuencia, la velocidad aumenta en el sentido contrario.

Una vez pasado este instante inicial, la velocidad crece de forma estabilizada hasta el instante de 210 segundos. En este instante, según se observa en la representación de la Figura 4.3, se observa un crecimiento de la base de uno de los filopodios. Este movimiento puede ser debido, no sólo al filopodio, sino a otros tipos de mecanismo que influyen en la célula. Este movimiento parece ser un movimiento dirigido por los lamelipodios, los cuales son, como se ha dicho anteriormente, protusiones de la membrana en el borde de la célula. También si lo comparamos con la Figura 4.4 del tiempo de unión

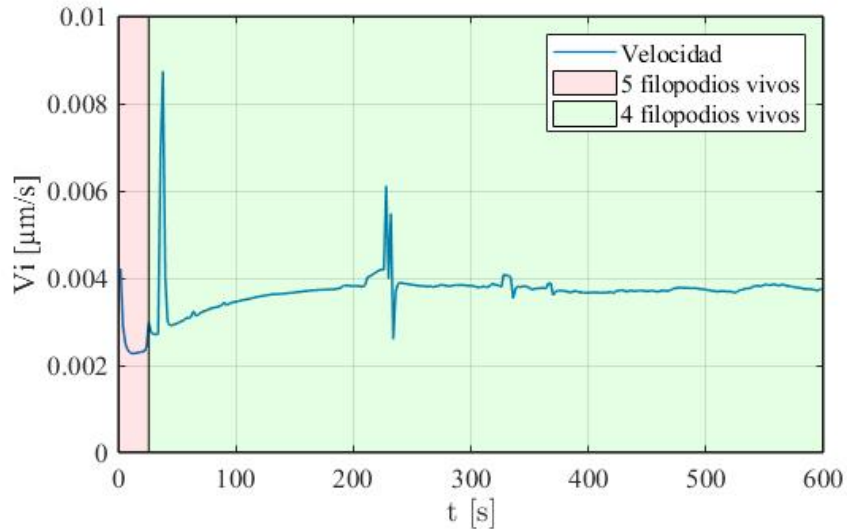


Figura 4.3: Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 2.

de los filopodios con la ECM, el filopodio 4 en ese instante se encuentra en continua fase contráctil, por lo que el enganche madura y se produce un tirón mayor.

Finalmente, a partir del segundo 360 se observa cómo se estabiliza la velocidad. Esto ocurre por la combinación de movimientos que ejerce el filopodio y el movimiento continuo de las adhesiones focales.

### 4.1.3. Caso 3.1

Dentro de este caso, el comportamiento es diferente a los anteriores ya que, de siete filopodios, sólo sobrevive uno. Es interesante observar cómo sobrevive del lado con menor número de filopodios.

Según se observa en la Figura 4.5, la disminución inicial de la velocidad viene asociada al número de filopodios, por lo que, al morir todos y sólo quedar uno, la velocidad es mayor que si hubiese más filopodios contribuyendo al movimiento. También se puede apreciar que el comportamiento inicial después de la muerte de los filopodios es similar al Caso 2. La velocidad crece en el instante de  $t = 340$  s aproximadamente. Este movimiento es similar al del



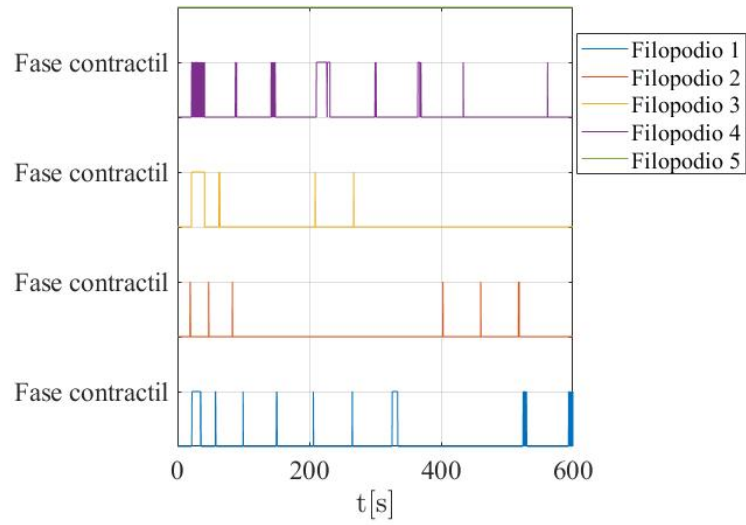


Figura 4.4: Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el caso 2.

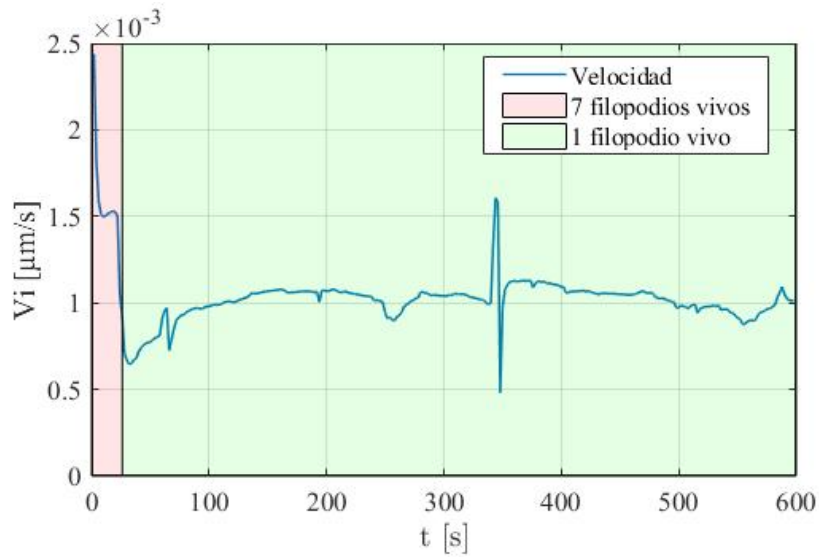


Figura 4.5: Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 3.1.

Caso 2, ya que, dentro del movimiento de la célula, influyen los movimientos lamelipodiales más que los de los filopodios.

#### 4.1.4. Caso 3.2

Igualmente, se observa en la Figura 4.6 un decrecimiento pronunciado de la velocidad hasta que mueren los cuatro primeros filopodios, posteriormente, por un pequeño intervalo de tiempo se puede ver el comportamiento anteriormente descrito, en el que la velocidad decrece e intenta estabilizarse, pero en este caso se produce la muerte de un filopodio más. Este incremento de velocidad repentino se atribuye a que dicho filopodio deje de ofrecer una cierta resistencia en un sentido distinto al de los dos filopodios restantes vivos.

Después de la muerte de los cinco filopodios, se producen tres cambios repentinos de velocidad, sobre 80 segundos, sobre 120 segundos y sobre 240 segundos.

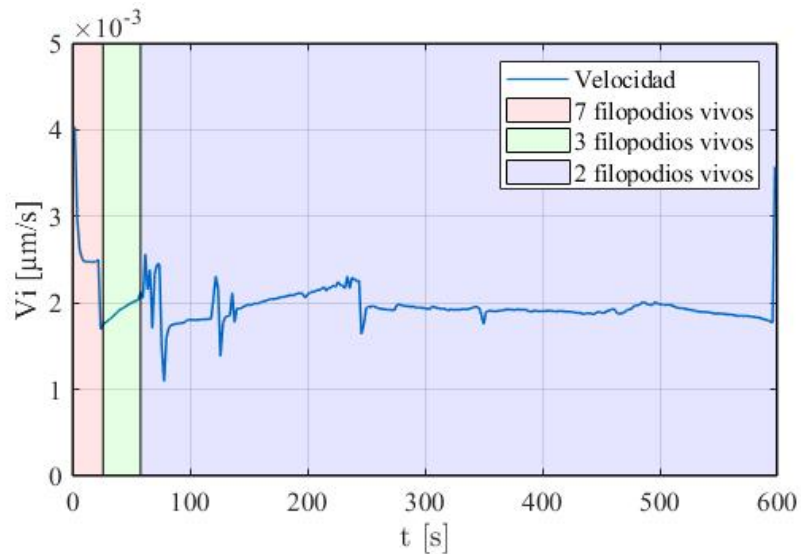


Figura 4.6: Comparación de la velocidad con la supervivencia para el caso 3.2.

Si se compara con el tiempo de unión de los filopodios con la ECM en la Figura 4.7, se puede apreciar como el crecimiento de velocidad en el tramo

entre 140 y 240 segundos, se atribuye a que el filopodio 7 entra en un estado de constante conmutación entre fase contráctil y otras fases.

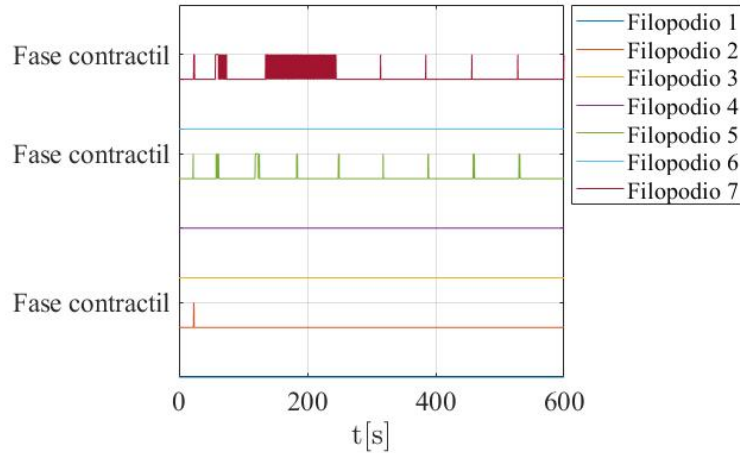


Figura 4.7: Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el Caso 3.2.

#### 4.1.5. Caso 4

En la Figura 4.9 se puede ver cambios repentinos de la velocidad en ciertos instantes. Estos cambios se deben a que el movimiento de la célula se encuentra regido, principalmente, por un único filopodio, lo que hace que el centro de la célula se mueva de una manera similar, incluyendo el resto de movimientos que influyen. Por lo que, en la Figura 4.9 se observa las distintas fases por las que pasa el filopodio, en las que los cambios bruscos se deben a que el filopodio entra en fase contráctil, el enganche madura y, posteriormente, se produce el desenganche para pasar a la fase de crecimiento. Para observar esto mejor, a continuación se encuentra la gráfica que representa el tiempo de unión del filopodio con la ECM en la Figura 4.8, en el que en los instantes en los que se encuentra en fase contráctil, se observa un cambio de velocidad. En los instantes en los que el tiempo de unión es mínimo también se observa un aumento de velocidad, pero no tan brusco como, por ejemplo, en el instante  $t = 250$  s ó  $t = 490$  s.

En este caso, se puede observar, en la Figura 4.9, el efecto de la muerte del filopodio, ya que se produce un aumento de la velocidad y, al dejar de

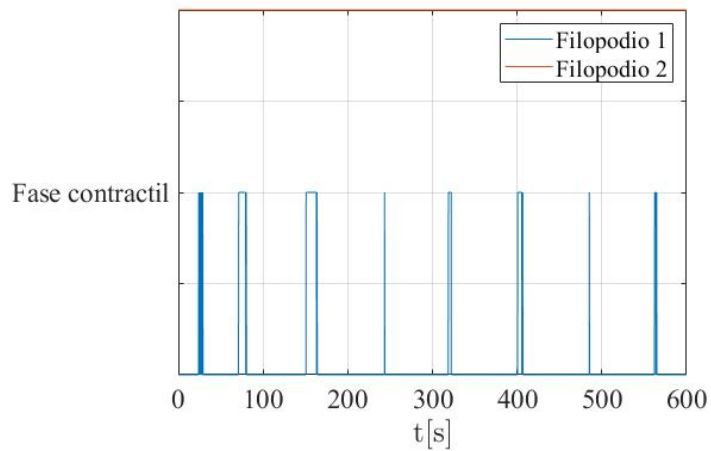


Figura 4.8: Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el Caso 4.

ofrecer resistencia, se intenta estabilizar.

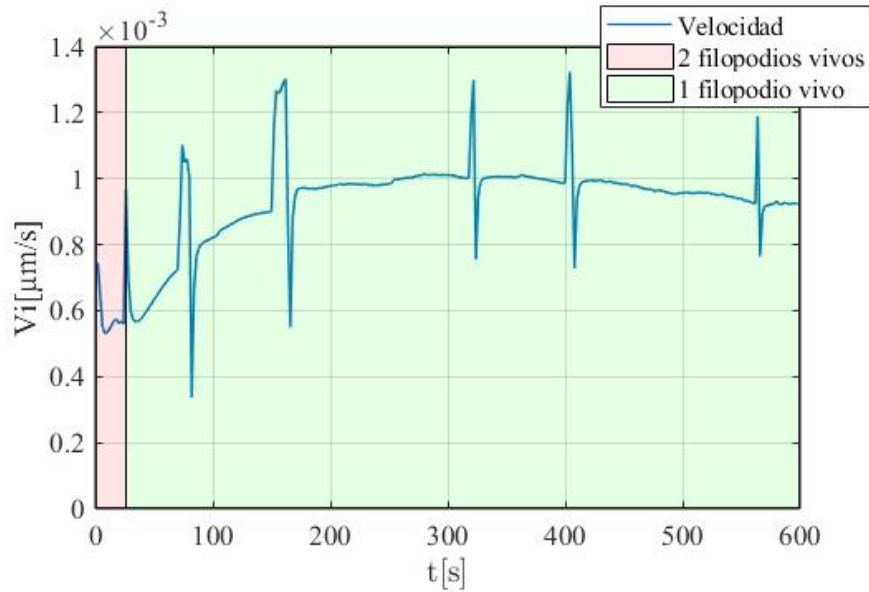


Figura 4.9: Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 4.

### 4.1.6. Caso 5

En la Figura 4.10 se puede observar un aumento inicial de la velocidad debida a la muerte de 4 filopodios y, a continuación, otro cambio brusco debido a la muerte del filopodio restante.

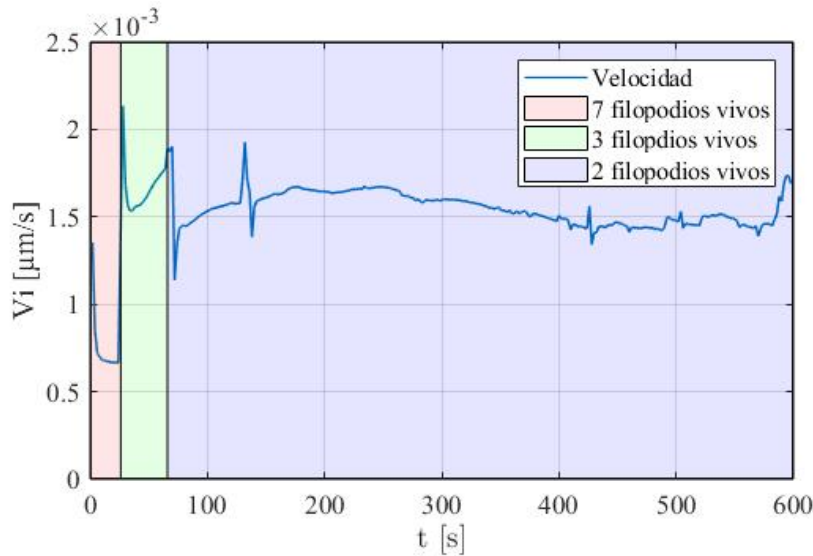


Figura 4.10: Comparación de la velocidad con la supervivencia para el Caso 5.

Después de esto, se observa en la Figura 4.10 una cierta estabilización en la velocidad de la célula, ya que los filopodios que quedan vivos crecen en la misma dirección.

Si se observa la Figura 4.11, sobre el instante  $t = 120$  s, hay un cambio brusco de la velocidad. Podría decirse que ambos filopodios comienzan a coincidir en la fase contráctil, ejerciendo, por lo tanto, una mayor fuerza. A su vez, esto se traduce en una mayor velocidad.

Como se observa en la Figura 4.10, la fase contráctil coincide en los filopodios que quedan vivos por lo que, a partir del instante  $t = 140$  s hay una ligera estabilización de la velocidad.

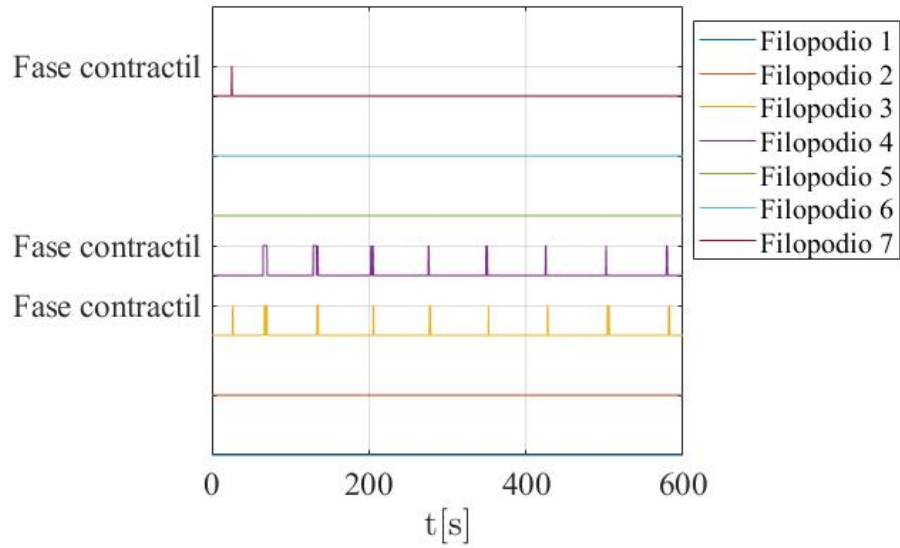


Figura 4.11: Tiempos de unión del filopodio con la ECM para el caso 5.

#### 4.1.7. Validación de los resultados

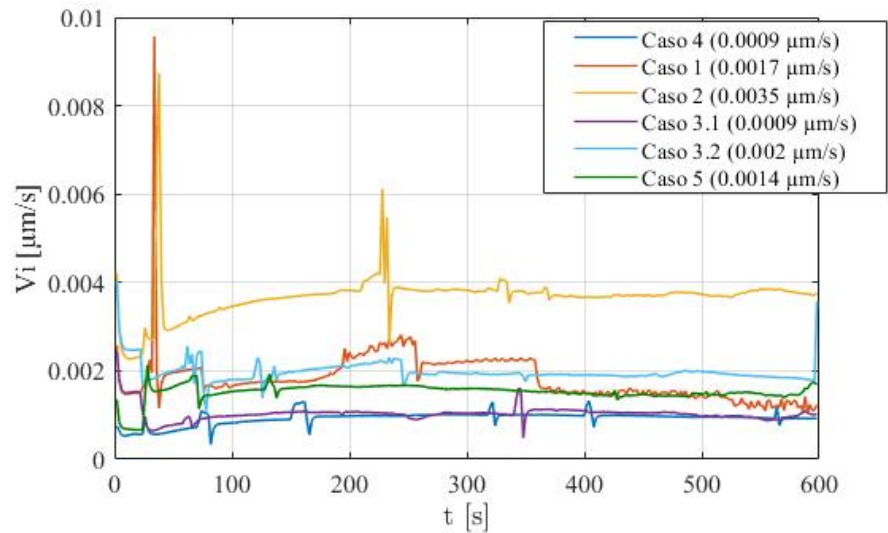


Figura 4.12: Comparación del resultado de la velocidad para todos los casos.

Comparando todas las velocidades según la Figura 4.12, se concluye que, a mayor número de filopodios vivos, mayor velocidad de migración de la célula. Es decir, la velocidad incrementa en función del número de filopodios. En el instante de  $t = 40$  s, el pico de velocidad del Caso 1 supera al del Caso 2. En ambos casos, se encuentra un filopodio en sentido contrario a los restantes, mientras que, en el Caso 1, hay tres filopodios restantes y, en el Caso 2, son cuatro. Con lo cual, la resistencia que ejerce un único filopodio será mayor con respecto a 3 filopodios que 4 y, como resultado, un incremento de velocidad aparece en el Caso 1 con respecto al Caso 2.

Utilizando como base de apoyo [11], en el cual se ha estudiado la velocidad del filopodio, se ha observado como la velocidad de la raíz del filopodio oscila entre  $0.003 \mu\text{m/s}$  y  $0.007 \mu\text{m/s}$ . El orden de los resultados aquí obtenidos es similar a los anteriormente descritos. En este trabajo, cabe destacar que se ha estudiado la velocidad respecto al centro de la célula, por lo que, aunque la velocidad no debe ser exacta, existe una gran similitud. Para ser más exactos, se ha comparado también con [13] en el que en la figura 6 de dicho documento se especifica un valor aproximado de  $0.0022 \mu\text{m/s}$ , con lo que comprobamos que la magnitud de la velocidad obtenida concuerda con la bibliografía utilizada.

## 4.2. Desplazamiento

En la Figura 3.2 se puede ver como el desplazamiento total en el Caso 2 es mayor que en el resto, lo que, a mayor número de filopodios vivos y orientados hacia la misma dirección, mayor velocidad y, por consiguiente, mayor desplazamiento.

En la Figura 4.13, se muestra una ampliación del instante inicial para una visión más profunda de lo que ocurre al principio. Se observa que, en la mayoría, al principio ocurre un aumento de desplazamiento en poco tiempo. Esto se debe a la muerte de filopodios más temprana ya que, como se observa en la supervivencia, muchos filopodios mueren en un tiempo similar, a los 26 segundos. Estas muertes, que ocurren al inicio, suelen ser en situaciones enfrentadas, que hacen que, una vez mueren, no ejerzan resistencia en el sentido contrario, por lo que comienzan a desplazarse en un único sentido con menor esfuerzo.

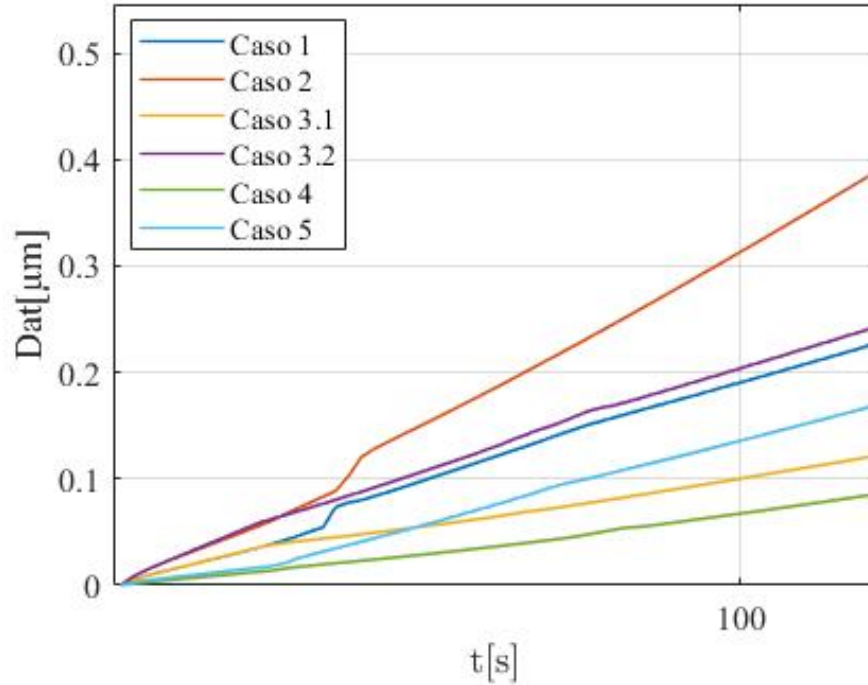


Figura 4.13: Comparación de los desplazamientos para todos los casos en el instante inicial.

### 4.3. Orientación, supervivencia y unión del filopodio con la ECM

#### 4.3.1. Caso 1

En este caso, se observan cambios bruscos de orientación. Esto se debe a que los filopodios se encuentran en situaciones aleatorias y en sentidos contrarios que, a medida que van muriendo los filopodios y dejan de ofrecer resistencia en un sentido distinto, la célula cambia de sentido hacia los filopodios que continúan tirando. En la Figura 4.14 se observan los cambios de orientación con respecto a la supervivencia de los filopodios.



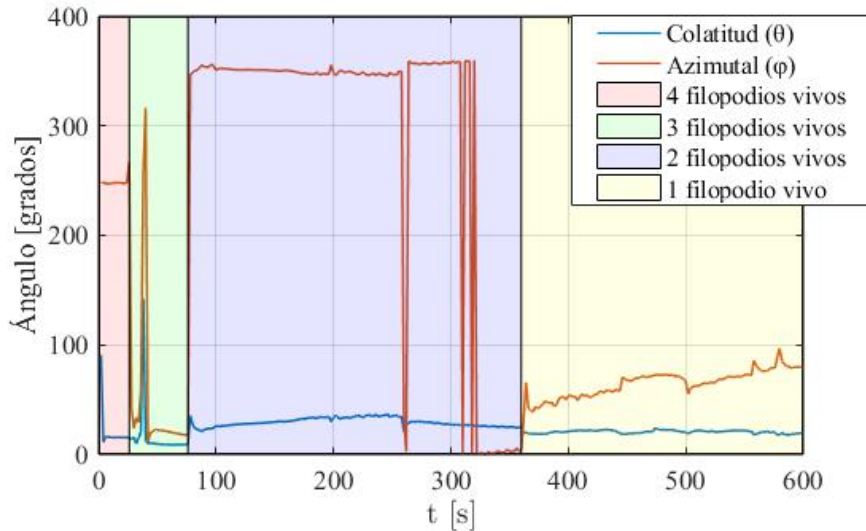


Figura 4.14: Comparación de la orientación con la supervivencia para el caso 1.

También es importante observar el tramo entre 260 segundos y 320 segundos, en los que existen unos cambios muy grandes de orientación. Para ello, se ha comparado con la gráfica del tiempo de unión del filopodio con la ECM.

En la Figura 4.14 podemos ver como, en el instante de  $t = 260$  s, el filopodio 4 deja de estar en fase contráctil y comienza la fase retráctil hasta que, finalmente, muere. Esto influye a la hora de la orientación y es el instante en el que empieza a dejar de ofrecer resistencia antes de la muerte.

### 4.3.2. Caso 2

En este caso, el mayor cambio de orientación, comparando con la supervivencia, se experimenta en el instante en el muere el filopodio, a partir de estos se estabiliza en la misma orientación, ya que no existe ninguna muerte más. Sólo existe un cambio de orientación sobre el instante de  $t = 230$  s. Se puede atribuir, si se compara con la Figura 4.4 del tiempo de unión del filopodio con la ECM, en el que se observa como el filopodio 4 se encuentra en constante fase contráctil, lo que hace que el enganche madure y ejerza más fuerza en su dirección.

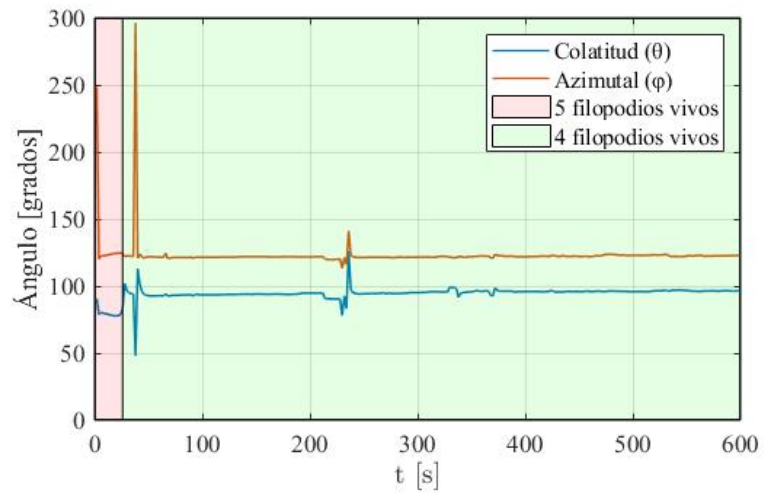


Figura 4.15: Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 2.

### 4.3.3. Caso 3.1

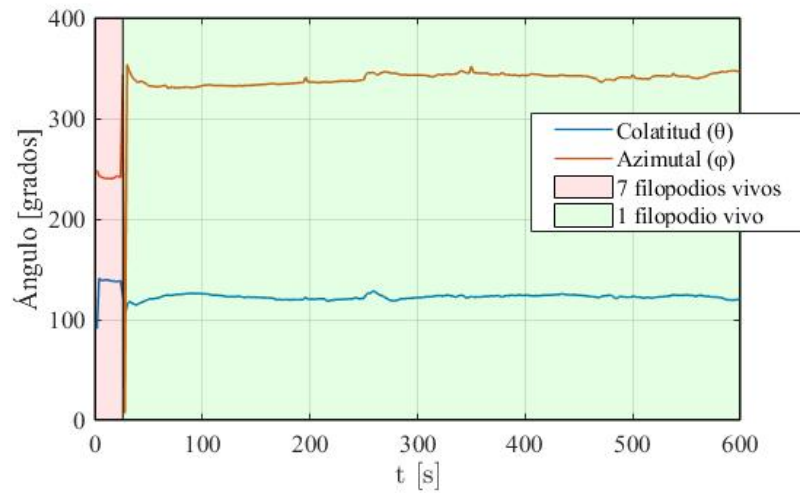


Figura 4.16: Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 3.1.

Como se ve en la Figura 4.16, la orientación se estabiliza después de la muerte de los filopodios. Por lo que, al morir 6 filopodios a la vez, existe un gran cambio de orientación inicial, estabilizándose posteriormente.

#### 4.3.4. Caso 3.2

En comparación con la supervivencia, se ve en la Figura 4.17 que, al morir inicialmente un número alto de filopodios, se observa un cambio de orientación. En la muerte del siguiente filopodio, también se experimenta un cambio de orientación, pero menor al anterior. Una vez que mueren y sólo queda uno, la orientación se estabiliza, ya que solo queda un filopodio en constante conmutación entre la fase contráctil, retráctil y de crecimiento.

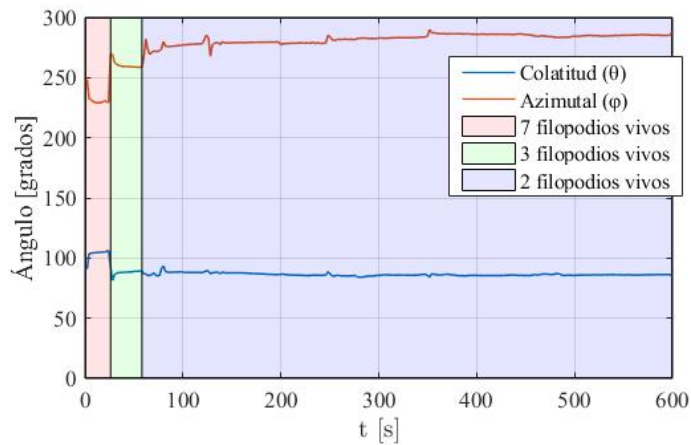


Figura 4.17: Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 3.2.

#### 4.3.5. Caso 4

El cambio de orientación claro se experimenta cuando muere uno de los filopodios. Se observa en la Figura 4.18, un cambio brusco porque, al tener sólo dos filopodios, la fuerza que ejerce el restante es muy parecida a la que ejercía el filopodio muerto.

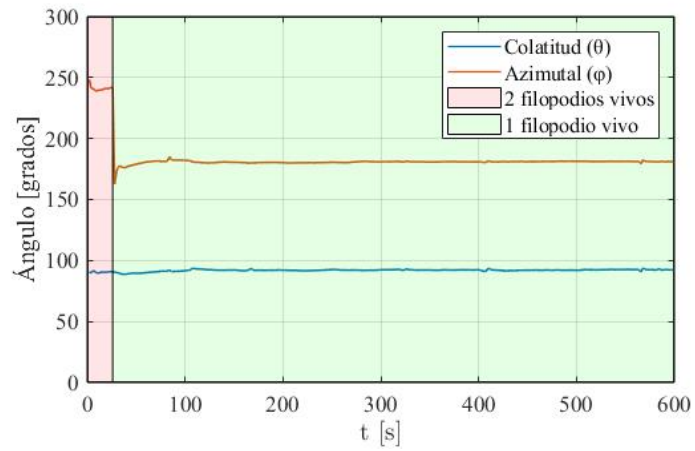


Figura 4.18: Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 4.

#### 4.3.6. Caso 5

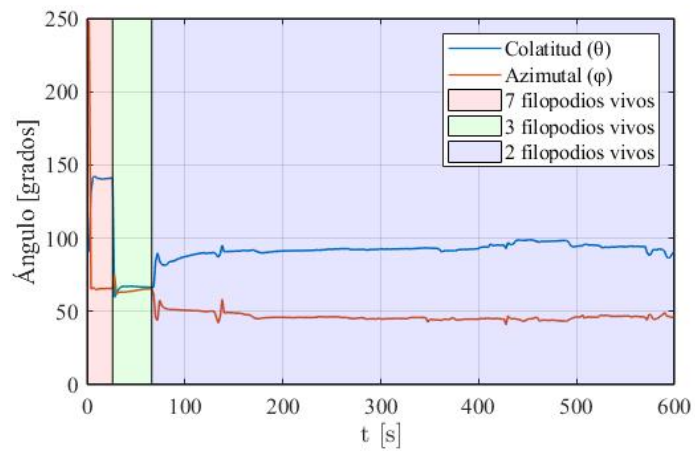


Figura 4.19: Comparación de la orientación con la supervivencia para el Caso 5.

El resultado es similar al del Caso 3.2, ya que, inicialmente, muere un número alto de filopodios en comparación con el total de todos ellos. La

muerte del siguiente filopodio también influye en la orientación, pero en menor medida que la muerte de los anteriores. Esto se puede apreciar en la Figura 4.19.

## 4.4. Variación de la rigidez

### 4.4.1. Caso 2

#### Velocidad

En este caso, se observa también como se repite el patrón, ya que la velocidad media disminuye a medida que se aumenta la rigidez.

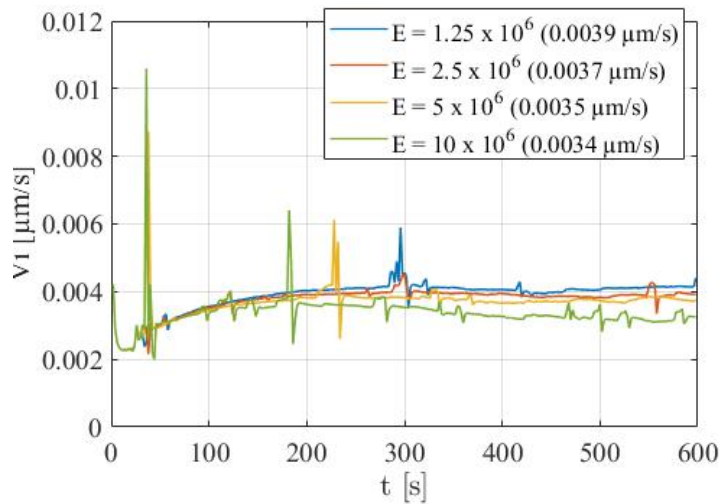


Figura 4.20: Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el caso 2.

#### Orientación

En la Figura 4.21 como la orientación se mantiene constante para los dos primeros valores, mientras que para el caso de  $E = 5 \cdot 10^6 Pa$  existe un ligero cambio en el instante  $t = 40 s$ , correspondiente a la muerte del filopodio.

Además de para el caso de  $E = 10 \cdot 10^6 Pa$  en el que la variación es ligeramente mayor a la anterior. Esto puede deberse a que, a mayor rigidez, menor resistencia al movimiento, por lo que, mayor facilidad cambio de dirección. Este resultado es el esperado, pero no concuerda con los resultados de la velocidad, por lo que, sería interesante su estudio en trabajos futuros.

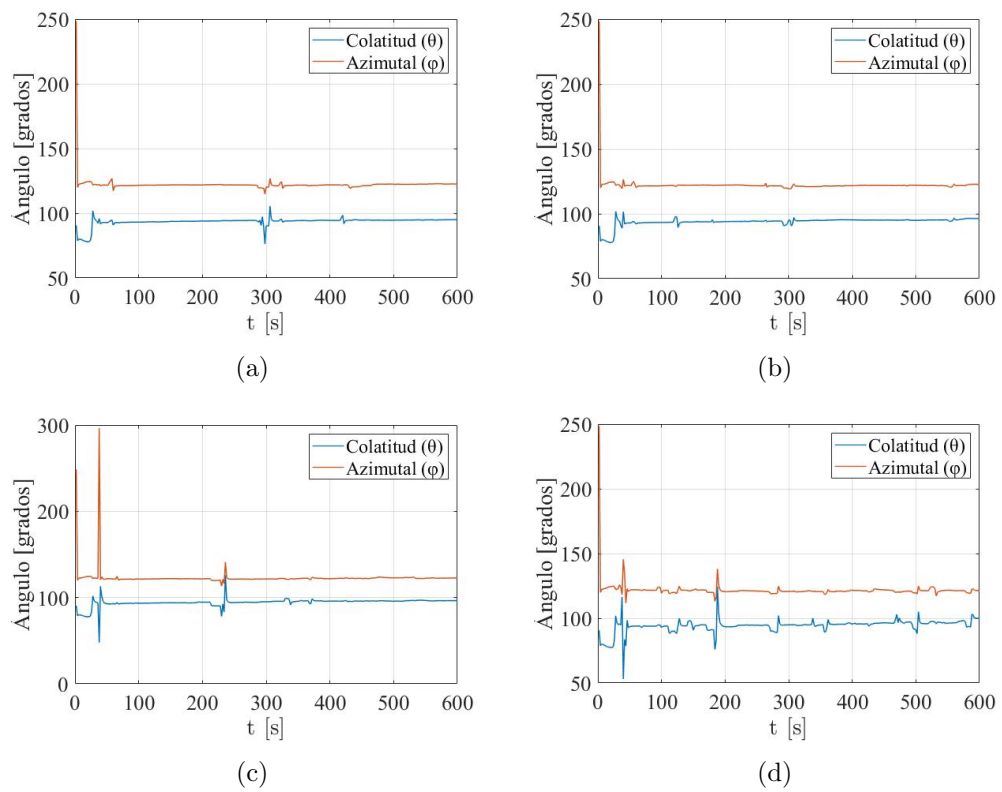


Figura 4.21: Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 2.(a)  $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$  (b)  $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$  (c)  $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d)  $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ .

## 4.4.2. Caso 4

### Velocidad

Se observa en la Figura 4.22, a medida que aumenta la rigidez, la velocidad media disminuye. Estos resultados obtenidos no han sido los esperados, ya que, cuanto mayor es la rigidez de la matriz extracelular, mayor fuerza de agarre para el filopodio, por lo que podría esperarse que aumentase la velocidad. En este caso, podría tomarse como que, a mayor rigidez de la matriz extracelular, mayor resistencia impuesta por la matriz, con lo cual, menor velocidad. Respecto a la velocidad instantánea, se observa como, en el instante de  $t = 90$  s, a mayor rigidez, mayor velocidad inicial, con lo que podría aplicarse lo anteriormente descrito. Es decir, una matriz extracelular más resistente hace que el filopodio se pueda agarrar mejor y tirar con una fuerza mayor.

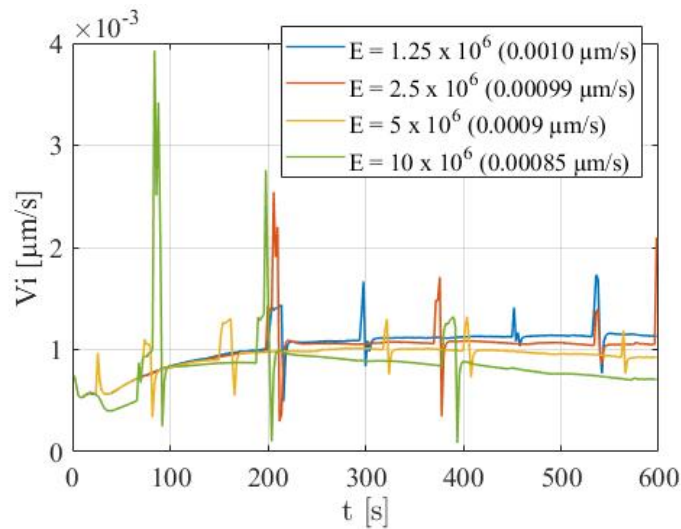


Figura 4.22: Resultados de la comparación de velocidades mediante la variación de la rigidez para el Caso 4.

### Orientación

En la Figura 4.23 se puede observar como la orientación cambia para una rigidez de  $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ . En este caso podría entenderse como, al modificar

las rigidez de la matriz extracelular, han cambiado sus características, por lo que, en el sentido en el que se movía, ha aparecido un aumento en la rigidez microlocal. Eso aumenta la resistencia al movimiento y hace que al filopodio le haya resultado más sencillo continuar en sentido contrario.

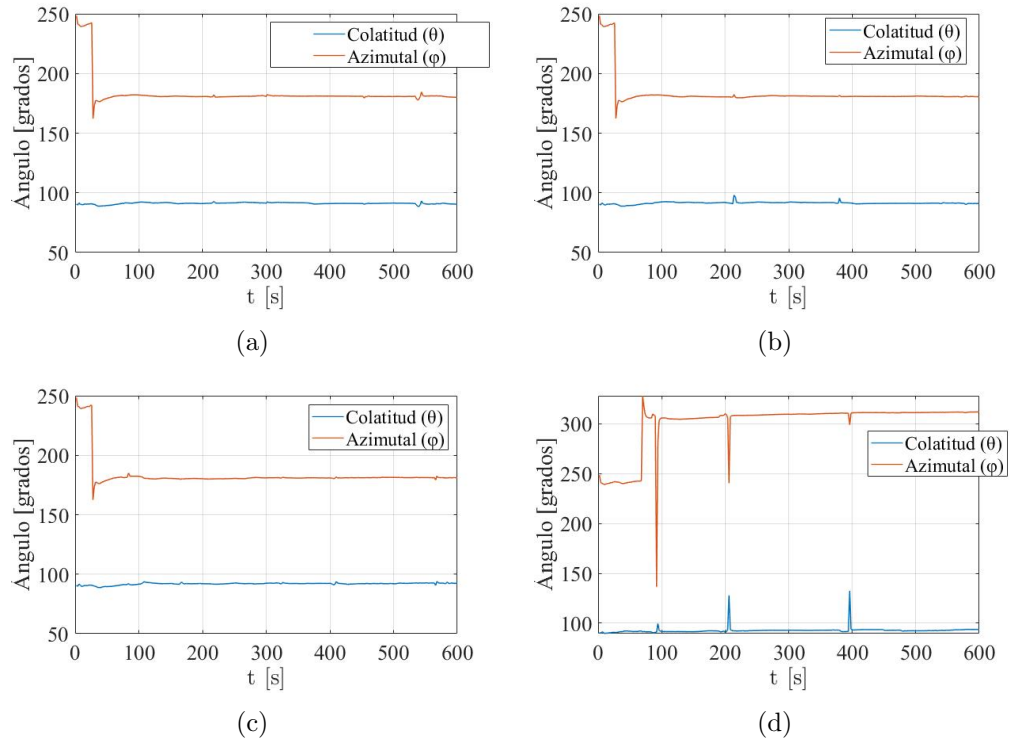


Figura 4.23: Resultados de la comparación de la orientación mediante la variación de la rigidez para el Caso 4. (a)  $E = 1,25 \cdot 10^6 Pa$  (b)  $E = 2,5 \cdot 10^6 Pa$  (c)  $E = 5 \cdot 10^6 Pa$ . (d)  $E = 10 \cdot 10^6 Pa$ .



# Capítulo 5

## Conclusiones y trabajo futuro

### 5.1. Conclusiones

En este Trabajo Fin de Máster se han estudiado distintas variables cinemáticas aplicadas a una célula, así como un estudio sobre el efecto de un cambio de rigidez en el entorno de la misma. Además, se ha sabido que la muerte de los distintos filopodios afecta a la orientación con la que se mueve la célula. Se ha podido observar como en todos los casos la velocidad y la orientación tienden a estabilizarse. Se ha observado como afectan las distintas fases de penetración de los filopodios al movimiento de la célula. En el momento en el que un filpodio se encuentra en constate conmutación de fase contráctil a fase de crecimiento, la velocidad aumenta. Aplicando la documentación en la que se basa este proyecto, se ha podido ver como efectivamente, el orden de magnitud de la velocidad concuerda con dichos estudios. Con todo esto, las conclusiones finales son:

- La velocidad obtenida con este modelo de migración es de  $v_m = 0,00173 \pm 0,000884 \mu m/s$ .
- La velocidad de migración de una célula depende del número de filopodios activos en su migración.
- A mayor número de filopodios mayor velocidad, por lo que, un mayor desplazamiento para un mismo tiempo.
- La orientación de la célula es dependiente de su geometría.

- Los filopodios tienen distintos tiempos de muerte en función de la geometría de la célula, pero existe un tiempo en el que la célula, en función de su dirección de migración, termina con la migración en una dirección particular.

## 5.2. Trabajos futuros

Los posibles trabajos futuros a raíz del presente Trabajo Fin de Máster son los siguientes:

- Estudiar por qué, al cambiar la rigidez de la matriz extracelular, la velocidad no se comporta como el resultado esperado. Es decir, a más rigidez, mayor velocidad.
- Analizar posibles cambios de orientación debido a cambios de rigidez microlocal.
- Incluir cambios en la geometría de la ECM para comprobar cambios en los eventos migratorios de la célula.

# Bibliografía

- [1] D. Reginensi Espinoza *et al.*, “Modulación de las propiedades migratorias de las células de la glia envolvente,” 2015.
- [2] C. U. de Navarra, “Migración celular, Diccionario médico.” Página web, 2020.
- [3] R. A. de Ingeniería, “Migración celular.” Página web, 2020.
- [4] M. Wilson, “Migración celular: relevancia clínica, patrones de movimiento únicos y tecnologías de conducción.” Página web, Redes tecnológicas, Mayo 2019.
- [5] X. Serra-Picamal and X. Trepap, “Nanotecnologías para el estudio de la migración celular,” *SEBBM (168)*, pp. 14–17, 2011.
- [6] N. Landinez Parra, D. A. Garzón-Alvarado, and C. A. Narváez Tovar, “Una introducción a la mecanobiología computacional,” *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, vol. 30, no. 3, pp. 368–389, 2011.
- [7] A. J. Engler, S. Sen, H. L. Sweeney, and D. E. Discher, “Matrix elasticity directs stem cell lineage specification,” *Cell*, vol. 126, no. 4, pp. 677–689, 2006.
- [8] J. Santos Antón and C. Borau Zamora, “Modelo computacional de la migración celular en matrices 3d basado en estímulos químicos y mecánicos,” *Universidad de Zaragoza*, 2012.
- [9] Y. Lan and G. A. Papoian, “The stochastic dynamics of filopodial growth,” *Biophysical journal*, vol. 94, no. 10, pp. 3839–3852, 2008.

- [10] S. P. Palecek, J. C. Loftus, M. H. Ginsberg, D. A. Lauffenburger, and A. F. Horwitz, “Integrin-ligand binding properties govern cell migration speed through cell-substratum adhesiveness,” *Nature*, vol. 385, no. 6616, pp. 537–540, 1997.
- [11] M.-C. Kim, J. Whisler, Y. R. Silberberg, R. D. Kamm, and H. H. Asada, “Cell invasion dynamics into a three dimensional extracellular matrix fibre network,” *PLoS computational biology*, vol. 11, no. 10, p. e1004535, 2015.
- [12] M.-C. Kim, Y. R. Silberberg, R. Abeyaratne, R. D. Kamm, and H. H. Asada, “Computational modeling of three-dimensional ecm-rigidity sensing to guide directed cell migration,” *Proceedings of the National Academy of Sciences*, vol. 115, no. 3, pp. E390–E399, 2018.
- [13] M.-C. Kim, D. M. Neal, R. D. Kamm, and H. H. Asada, “Dynamic modeling of cell migration and spreading behaviors on fibronectin coated planar substrates and micropatterned geometries,” *PLoS computational biology*, vol. 9, no. 2, p. e1002926, 2013.