

GRADO EN INGENIERÍA MECÁNICA



**Universidad**  
Zaragoza

# Trabajo Fin de Grado

Simulación por elementos finitos de la deformación  
celular en ambientes confinados

Autor/es

Víctor Royo Pérez

Director/es

José Manuel García Aznar

M<sup>a</sup> José Gómez Benito



**Escuela de**  
**Ingeniería y Arquitectura**  
**Universidad Zaragoza**

JUNIO 2016



## ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN .....	3
2.	MATERIAL Y MÉTODOS .....	5
2.1	ESTUDIOS PREVIOS.....	5
2.2	MODELO .....	8
2.2.1	HIPÓTESIS .....	8
2.2.2	IMPLEMENTACIÓN NUMÉRICA (ABAQUS) .....	11
3.	RESULTADOS .....	18
3.1	MODELO 1: Contracción y expansión volumétrica .....	18
3.2	MODELO 2: Contracción, expansión volumétrica y fuerza de polimerización.....	20
3.3	MODELO 3: Material fibrado en el citoesqueleto .....	22
3.4	MODELO 4: Fibras de actina.....	24
4.	CONCLUSIONES .....	26
5.	BIBLIOGRAFÍA .....	27
6.	ANEXOS .....	29
6.1	INFLUENCIA DE LA FRICCIÓN.....	29
6.2	INFLUENCIA DEL NÚCLEO.....	33

## 1. INTRODUCCIÓN

El estudio de la migración celular ha ido ganando importancia en los últimos años debido al papel fundamental que juega en procesos patológicos y fisiológicos. Un fenómeno muy importante en el que está implicada la migración celular es la metástasis tumoral, que se produce a partir de un tumor primario, aquel que se encuentra focalizado en un determinado punto del cuerpo humano, ciertos factores o estímulos pueden hacer que células tumorales puedan migrar a otras partes del cuerpo con la consiguiente transmisión del tumor a otras zonas y de este modo, ocasionar graves consecuencias en el funcionamiento regular del organismo [1].

Estos estímulos se han estudiado en trabajos recientes. En ellos se ha determinado que las respuestas que las células ofrecen al entorno que las rodea pueden ser de diversos tipos. A nivel mecánico, las células prefieren buscar las "zonas de confort" donde las fuerzas ejercidas sobre ellas les dejan en una situación más estable para poder actuar más libremente. Además, las células se mueven a lo largo de gradientes de concentración química debido a estímulos en su medio ambiente en lo que se conoce como *quimiotaxis*. También otros fenómenos condicionan la migración celular como *galvanotaxis* debido a las variaciones de los gradientes de potencial eléctrico, o la *haptotaxis*, movimiento a lo largo de un gradiente de adhesión celular [2].

El avance en campos experimentales y en el modelado teórico y computacional ha ayudado a entender el problema. De este modo, uno de los focos principales de estudio del problema metastático sería la intravasación y extravasación celular, descritos en la *Figura 1*.

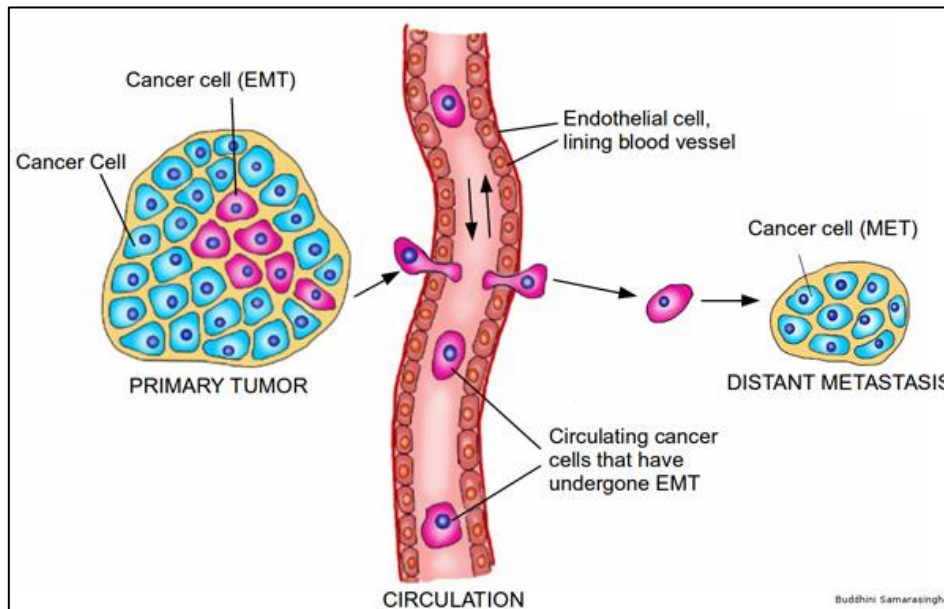


Figura 1: Esquema de la intravasación y extravasación celular[3]

Básicamente, estos mecanismos se producen cuando la célula cancerosa intenta pasar a través de las células endoteliales un vaso sanguíneo o linfático cercano [4]. Primero se produce la intravasación que supone el paso de las células tumorales al torrente sanguíneo. Seguidamente, estas células entran en una fase de circulación atravesando el sistema circulatorio para finalmente pasar a la extravasación. En este momento, las células penetran nuevamente las paredes del vaso sanguíneo para pasar nuevamente a otro tejido [5].

En estas fases de la metástasis la célula experimenta el mayor número de cambios, no solo fisiológicamente sino externamente a nivel de forma. A simple vista se observa en la *Figura 2* como la célula pasa de una forma más redondea a una más alargada, debido a la necesidad de penetrar la barrera por la cual quiere pasar.

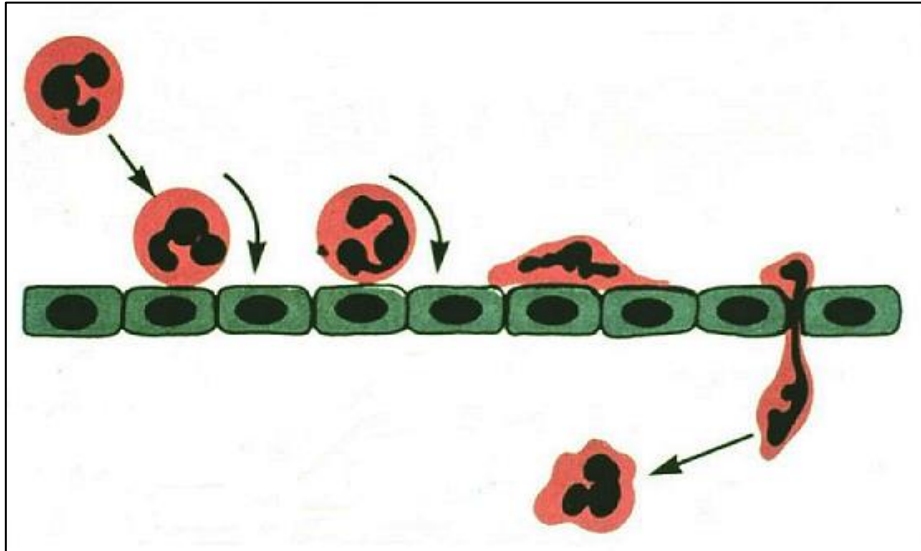


Figura 2: Cambio de forma durante intravasación/extravasación [6]

La importancia de este fenómeno recae en que si se pudiera evitar esa intravasación, se estaría controlando y aislando el cáncer en una sola zona del cuerpo y por tanto, no se produciría metástasis. Pero debido a la multitud de cambios experimentados por la célula, la dificultad del proceso es elevada y por tanto, poder entenderlo se plantea como un reto.

El desarrollo de este trabajo se basa en la utilización del campo de la microfluídica y la mecánica celular [7]. Áreas en auge hoy en día que permiten estudiar la influencia de ciertos factores mecánicos en el comportamiento celular. De este modo, sabiendo el comportamiento de la unidad celular frente a distintos parámetros mecánicos sería posible estimar la deformación sufrida por la misma.

Por consiguiente, el objetivo último de este proyecto es conocer como se produce la deformación celular en ambientes confinados para extrapolar las conclusiones a entender la deformación celular en los momentos de la intravasación y la extravasación, para ayudar a comprender los mecanismos de la intra y extravasación. Dando un pequeño paso hacia entender la extensión del tumor inicial, objetivo último del trabajo de tantos científicos, ingenieros y profesionales del ámbito médico durante muchos años.

Finalmente, la estrategia a seguir consistirá en la utilización de artículos científicos previos que han centrado su estudio en la experimentación y se apoyan de modelos analíticos y en base a ellos, determinar la deformación celular en ambientes confinados.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1 ESTUDIOS PREVIOS

A continuación se realiza una revisión de los antecedentes relacionados con el tema de este trabajo. Conociendo su metodología, experimentación y resultados obtenidos, se puede hacer uso de ellos y abordar desde un punto de vista complementario sus propuestas para intentar mejorarlas haciendo más hincapié en alguna de sus carencias.

Así bien, los modelos clásicos describían que las células solo se movían si tenían ciertos puntos de adhesión a la pared en ambientes confinados, estas adhesiones favorecían la transmisión de fuerzas intracelulares, desde el citoesqueleto al sustrato de confinamiento, que propulsaban al microorganismo [8]. Pero, estudios más recientes desmintieron esa teoría basándose en que la migración celular se podía dar sin ningún tipo de adhesión específica [9].

Por tanto, se buscaron otros fenómenos involucrados en el avance celular, empezándole a dar más relevancia a la fricción [10], pero con el desconocimiento todavía de si sería capaz de generar suficiente fuerza de empuje tal que impulsara a la célula en su migración celular, siendo el causante principal.

Con objetivo de dar con una respuesta clara, se realizaron numerosas comprobaciones experimentales en ambientes confinados donde la célula (Walker 256 cancerosa) se sumergía en un canal de microfluídica (véase *Figura 3*). Éste, se suplementaba con inhibidores para prevenir de la adhesión celular, además de enriquecer la actina y miosina de la corteza celular [11], microfilamentos celulares internos con alta participación en la movilidad de la célula.

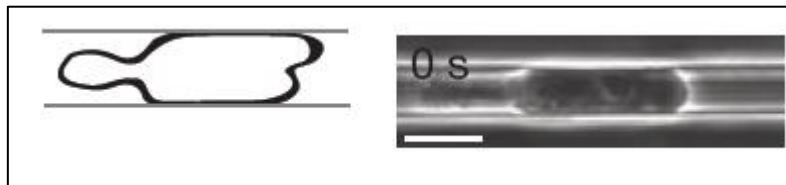


Figura 3: Canal de microfluídica con célula inmersa (dibujo y foto real) [12]

En las comprobaciones se observó un fuerte gradiente biomolecular orientado hacia la parte trasera de la célula que generó una contracción del microorganismo, es decir, la diferencia de concentración de las moléculas dentro de la célula cambiaba la forma de la célula [13]. Además, se dio con que la velocidad en la parte trasera de la célula se veía reducida considerablemente, mientras que delante no tenía efecto alguno [14]. Esto sugirió que la contracción es necesaria en la migración de este tipo de células, siguiendo con la hipótesis de no adherencia.

Nuevamente, buscando un mayor énfasis en el estudio de la fricción, se vuelve a estudiar el mismo tipo de célula en un ambiente confinado. Pero esta vez en tres canales diferentes con tres tipos de revestimientos en las paredes del canal: un análogo del polietilen glicol (Pluronic F127), un suero (BSA) y una mezcla de ambos [15].

Estos tres diferentes ambientes hacen que la fricción varíe desde una baja fricción con el aporte de F127 hasta una alta fricción con el de BSA. A continuación, se muestra el experimento en la *Figura 4*. En este estudio estamos interesados en el efecto que podría tener una mayor o menor fricción en la progresión y movilidad de la célula.

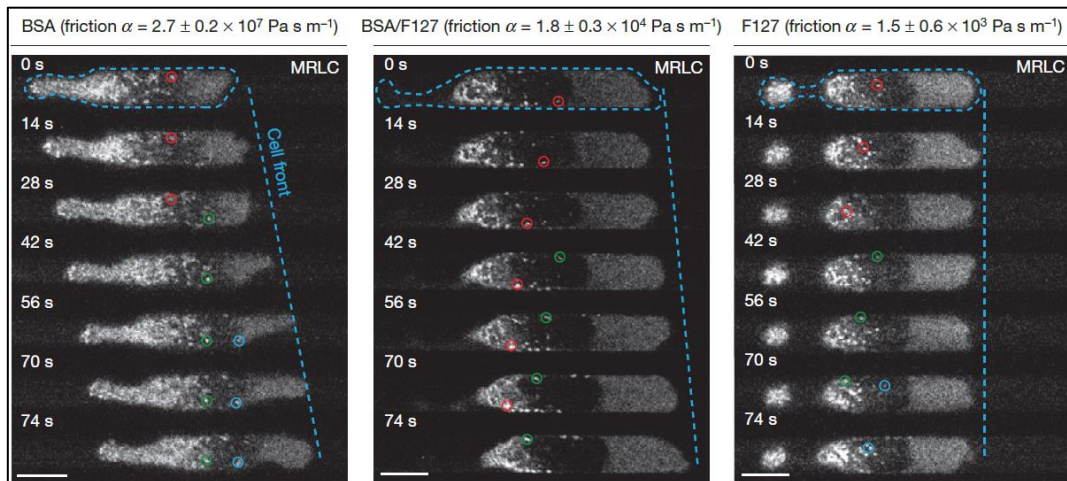


Figura 4: Movilidad celular en función de varios valores de fricción [12]

En todos los casos la célula adopta la misma morfología que tenía al principio de empezar a recorrer el canal, independientemente de la cantidad de fricción que se esté induciendo. La principal diferencia recae en el hecho que cuanto mayor sea la fricción, mayor longitud de avance estará consiguiendo la célula y viceversa con menores fricciones [12], aunque el movimiento del núcleo es menor.

Desde este momento, se empiezan a sacar conclusiones y plantear un modelo analítico que explique detalladamente el comportamiento de estas células confinadas en tubos. La principal conclusión a la que se llega es que la célula requiere de una fuerza de fricción que ayude a la movilidad celular, sin una fuerza de fricción mínima la célula permanecería inmóvil.

Además, luego se observa que la fricción entre la célula y la pared del canal influye en la dinámica del córtex de actina y miosina conjuntamente (actomiosina). Para fricciones bajas, un flujo retrogrado, no estacionario, de actomiosina se mantiene en el canal completamente desacoplado del sustrato, sin apenas generar movimiento celular. Conforme aumentamos la fricción, el flujo se acopla más al sustrato por medio de la propia fricción conduciendo a las células en la migración (Figura 5) [12]. Es decir, la célula necesita del acople al sustrato para moverse.

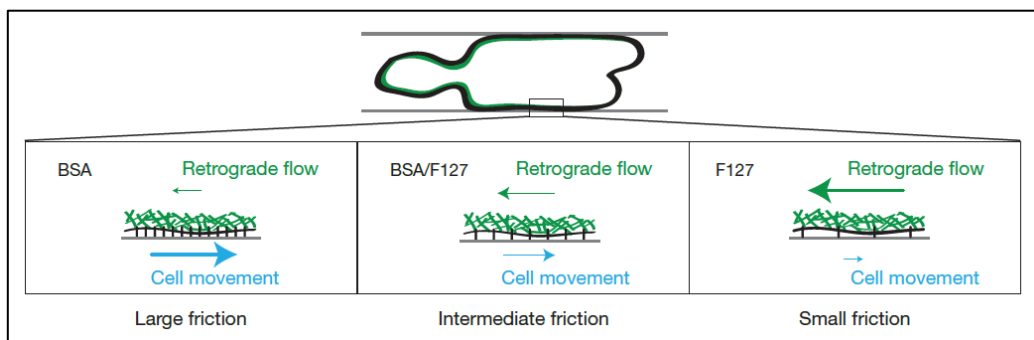


Figura 5: Efecto del flujo retrogrado en la movilidad celular [12]

A continuación se usan los diferentes coeficientes de fricción para realizar mediciones y estimaciones de las fuerzas que conducen a la migración basada en la fricción. Como resultado se obtiene un orden de magnitud demasiado pequeño, no siendo suficientes las fuerzas calculadas como para llegar a conducir a la célula en su migración [16].

Esto significa que algún agente externo más debe estar provocando el avance de la célula y no solo la fricción. Por consiguiente se hace una descripción teórica de la distribución de fuerzas que participan activamente en el fenómeno como aparece reflejado en la *Figura 6*. Estas son: fuerza de contracción de la miosina, fricción externa con las paredes del canal y fuerza de arrastre generada por el fluido [12].

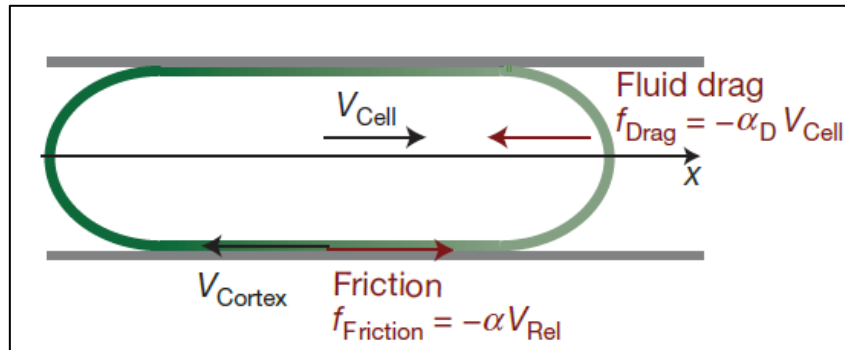


Figura 6: Descripción de las fuerzas actuadoras sobre la célula [12]

Se concluye que se requiere de una fricción umbral del orden de la fuerza de arrastre externa, siendo suficientes fuerzas de arrastre pequeñas para la propulsión de la célula [12]. De este modo, resulta un movimiento que se va a caracterizar por una contracción en la parte trasera de la célula y expansión en la parte delantera como ilustra la *Figura 7*.

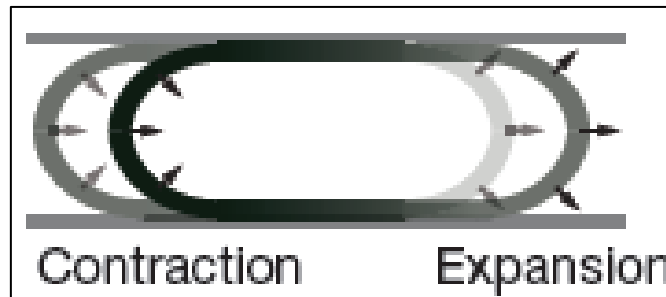


Figura 7: Caracterización del movimiento celular [12]

Una vez analizados los trabajos previos, se buscan las carencias o falta de detalle en ciertas hipótesis para darle otro enfoque en nuestro modelo. Principalmente, al tratarse de un modelo más experimental se centran en solo una parte de la célula. En nuestro caso se va a tratar de un modelo que llevará incorporado el núcleo y membrana en la célula, viendo de este modo el papel claro que juega el núcleo en la deformación de la célula. A su vez, dando un enfoque más matemático y con simulaciones computacionales que serán contrastadas con los resultados teóricos.

Además, otra carencia destacada es la del fenómeno de la polimerización, un proceso biológico de vital importancia en la movilidad de la célula [17]. En los estudios previos no hacen mucho énfasis, dándole más importancia a la contracción celular, pero su relación con la migración celular es directa. Será introducido más adelante y se estudiará su efecto y demostraremos su relevancia.



## 2.2 MODELO

### 2.2.1 HIPÓTESIS

Inicialmente, se presentan las hipótesis que van a regir el modelo y serán el fundamento para estudiar la deformación celular. Se simulará una célula Walker 256 cancerosa sumergida en un ambiente confinado que irá progresando debido a varios mecanismos de avance. En este caso, se parte de una introducción biológica de las distintas partes de la célula para poder entender el modelo final que será implementado.

La célula consta de varias zonas claramente diferenciadas que básicamente podrían clasificarse en tres rasgos generales, según la *Figura 8*. Entre sus componentes se encuentra: la membrana plasmática, que protege a la célula del exterior; el núcleo, centro de procesamiento de toda la información de la célula y el citoplasma donde se encuentran todos los orgánulos y el citoesqueleto [18].

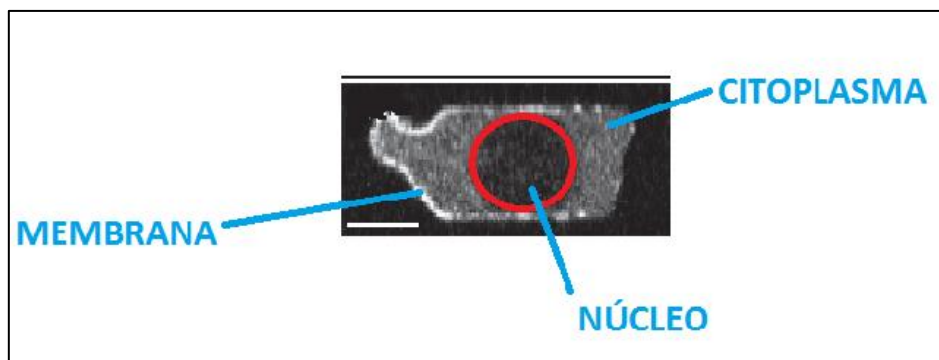


Figura 8: Partes de la célula [12]

El citoesqueleto tiene forma de entramado y es el que configura lo que sería el “andamiaje” o soporte interno para la célula, a la vez que facilita la movilidad celular [19]. Está formado a su vez por tres tipos de filamentos que cumplen diversas misiones: microfilamentos, filamentos intermedios y los microtúbulos. Nosotros nos centraremos en los microfilamentos de actina y miosina para este trabajo como principales agentes en la migración celular.

Además, se van a considerar diversos procesos celulares internos que tienen especial relevancia en el movimiento celular: polimerización/despolimerización y contracción. Además, todo esto no tendría ningún efecto si no se incluyera una mínima fricción para lograr fuerzas efectivas de transmisión en la superficie de la célula [12]. La influencia de las fuerzas consideradas se desarrolla matemáticamente en los siguientes puntos con detalle.

### 2.2.1.1 POLIMERIZACIÓN Y DESPOLIMERIZACIÓN

Por un lado tendremos el fenómeno de la polimerización y despolimerización que serán abordados desde la perspectiva del modelo de *Brownian Ratchet* [17]. En el caso de la polimerización, se basa en la adicción de más monómeros al filamento de actina, el cual tiene forma de hélice como se ve en la *Figura 9*, generando así más uniones. Estos nuevos enlaces propulsan al polímero a ejercer una fuerza de empuje sobre la membrana del microorganismo consiguiendo el desplazamiento [20]. Para la despolimerización ocurre el efecto contrario, la pérdida de proteínas genera menos uniones que llevan consigo un empuje de la propia membrana sobre el microfilamento de actina.

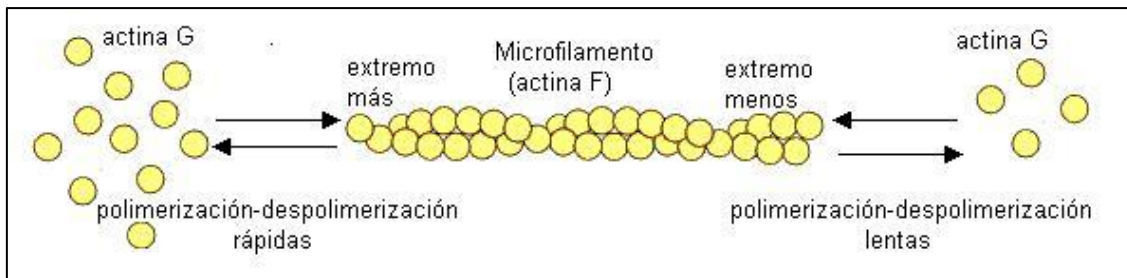


Figura 9: Proceso de polimerización y despolimerización de la actina [21]

Un parámetro importante de caracterización de este proceso viene dado por la velocidad de polimerización/despolimerización expresada en la ecuación (1). La ecuación expresa la rapidez con la que se produce la adicción o desprendimiento de los monómeros de actina en el microfilamento [17]:

$$v = \delta \left( k_{on}[A_1]e^{-\frac{F\delta}{KT}} - k_{off} \right) \quad (1)$$

Donde  $\delta$  es el incremento de longitud debido a la incorporación de un monómero,  $k_{on}$  es el ratio de activación,  $k_{off}$  el ratio de desactivación,  $[A_1]$  la concentración del monómero,  $K$  es la constante de equilibrio,  $T$  es la temperatura ambiente y  $F$  es la fuerza interna de la célula. Su interpretación es que el ratio de activación es reducido por un factor igual a la probabilidad del espacio de ser mayor longitud que  $\delta$  [17].

Para llegar a resolver esta ecuación, primero es necesario calcular algunos de los parámetros que no han sido previamente obtenidos experimentalmente, como es el caso del ratio de desactivación,  $k_{off}$ . Teniendo en cuenta un estado donde la célula permanece en reposo y todavía no ha comenzado a protusionar se puede considerar que el sistema está en equilibrio. Entonces se postula la siguiente expresión [17]:

$$F_{eq} = \frac{KT}{\delta} \ln \frac{[A_1]}{K_c} \quad (2)$$

Esta fuerza de equilibrio equivaldría a  $7 \text{ pN}$  y considerando los valores de  $[A_1] = 200 \text{ }\mu\text{M}$  y de  $\frac{KT}{\delta} = 1.52 \text{ pN}$ , que es agrupado como una constante, por tanto se obtiene  $K_c = 2.10^{-6}$ , la concentración crítica en ausencia de fuerza externa. Y con este nuevo valor y la ecuación (3) ya se puede obtener el ratio de desactivación [17].

$$K_c = \frac{K_{off}}{K_{on}} \quad (3)$$

A partir de aquí, ya es posible obtener un valor para la velocidad de la polimerización mediante la ecuación (1). Esta velocidad sale del orden de  $1.6 \mu\text{m/s}$  [22], se considerará constante en el tiempo, aunque su verdadera interpretación sea exponencial con el tiempo, a fin de simplificar los cálculos.

Finalmente, se sabe que la célula se polariza antes de iniciar su movimiento y como consecuencia de esto, la actina desprendida por la despolimerización se mueve hacia la parte delantera de la célula con objeto de generar más enlaces y empujar a la membrana cada vez más [23].

### 2.2.1.2 CONTRACCIÓN CELULAR

Por otro lado, los motores moleculares de miosina con ayuda de las de actina afectan también a la movilidad celular mediante la contracción celular como se aprecia en la *Figura 10*. Esta contracción modifica la estructura interna de la célula considerablemente [24].

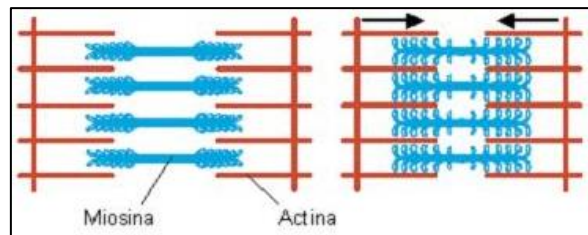


Figura 10: Contracción celular [25]

Esta contracción se considera, como primera hipótesis, constante en el tiempo con un valor de velocidad de contracción en torno a  $500 \text{ nm/s}$  [24]. Del mismo modo, la miosina permanece estacionaria y se extiende por toda la parte trasera de la célula tras reordenarse el citoesqueleto debido a la polarización de la célula. Por esa razón la contracción celular solo se produce atrás en la célula [23].

### 2.2.1.3 FUERZA DE ARRASTRE Y FRICCIÓN

Como se ha mencionado previamente, el hecho de tener una célula inmersa en un ambiente confinado hace que la membrana se vea afectada por una fuerza de fricción mínima que se irá variando para ver su efecto. Inicialmente se va a considerar un valor de 0.05 para el coeficiente de fricción, dado que será el valor que deje a la célula desplazarse más libremente y sin oposición.

En cambio, se va a despreciar la influencia de la fuerza de arrastre sobre la superficie de la célula. Esta fuerza se debe a la diferencia de presiones que se da entre la parte delantera y trasera de la célula debida a la permeabilidad del espacio entre la superficie de la célula y la pared del canal. Hipotéticamente, en este análisis se considera casi nula la permeabilidad, provocando velocidades tanto de la célula como del fluido semejante.

## 2.2.2 IMPLEMENTACIÓN NUMÉRICA (ABAQUS)

Así bien, una vez expuestas las hipótesis de la célula, se describe ahora su implementación. Para estudiar la deformación celular se utilizará el modelado computacional con elementos finitos, usando el software ABAQUS.

Se supone que la célula se encuentra confinada en un tubo cilíndrico y tanto el tubo como la célula presentan simetría de revolución, así pues, se ha definido un modelo celular axisimétrico conformado exclusivamente por dos partes. En primer lugar, la célula está dividida en el citoplasma, con sus correspondientes filamentos internamente, el núcleo y la membrana; también se considera un tubo rígido que simula la pared de contacto con la célula.

Como medidas tomadas para dibujar las partes, se ha basado todo en dimensiones reales de la célula basadas en imágenes realizadas por microscopio del tamaño exacto de la célula [12]. A continuación se detalla en la *Figura 11* la geometría considerada de la célula con las correspondientes cotas de todas las dimensiones, en micrómetros.

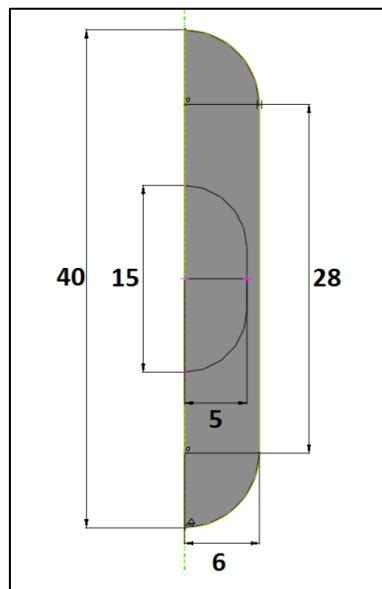


Figura 11: Acotación modelo celular ( $\mu\text{m}$ )

La membrana se va a añadir sobre el citoplasma y el valor tomado del grosor será de  $50 \mu\text{m}$  [26]. El comportamiento de los materiales de la célula se supone descrito a través de un modelo hiperelástico Neo-Hookeano, tanto para núcleo como citoplasma, no lineal y la célula se considera como isótropa.

El coeficiente de Poisson utilizado será de 0.38 [27] y el módulo de Young de 0.8 KPa para el citoplasma y 0.8 KPa para el núcleo [28]. Para la membrana se supone más rígida de 1285 KPa y coeficiente de Poisson 0.45 [28]. A partir de ellos se determina el módulo de rigidez,  $G$  así como, el módulo de compresibilidad acorde a las ecuaciones (7) y (8) descritas abajo.

$$G = \frac{E}{2(1 + \nu)} \quad (7)$$

$$K = \frac{E}{3(1 - 2\nu)} \quad (8)$$

De esta manera, los coeficientes del material están ligados a estas constantes elásticas a través de las siguientes ecuaciones (9) y (10) dando valores de  $C_1 = 0.144$  y  $D_1 = 0.55$  para el citoplasma,  $C_1 = 1.37$  y  $D_1 = 13.33$  para el núcleo y de  $C_1 = 221.55$  y  $D_1 = 2141.66$  para la membrana. Todos los materiales de la célula se consideran compresibles e isotropos.

$$D_1 = \frac{2}{K} \quad (9)$$

$$C_1 = \frac{G}{2} \quad (10)$$

Una vez definidas las partes y el material se aplican las condiciones de contorno. Se han creado tres casos de carga más el inicial que viene por defecto. Se impide el desplazamiento en la dirección vertical inicialmente en el punto medio, ver punto superior en *Figura 12*, hasta que la célula empieza a moverse a lo largo del tubo, es decir, en el tercer caso de carga ya deja de hacer efecto esa condición. Se hace para evitar el desplazamiento como sólido rígido de la célula.

Además, se impone un punto de referencia fijo, punto inferior en *Figura 12*, que se mantendrá hasta el final del movimiento. Servirá para situar un punto de origen desde donde referenciar el desplazamiento a lo largo del tubo.

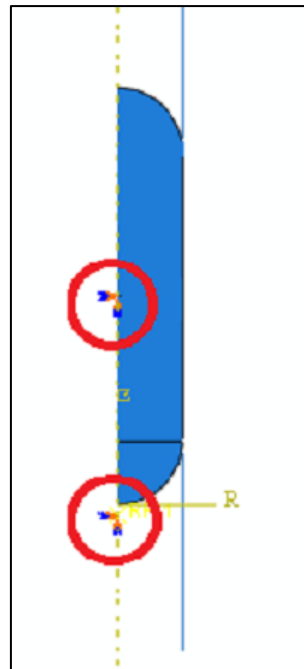


Figura 12: Condiciones de contorno

El contacto entre tubo y célula se impondrá primero con un valor del coeficiente de fricción de 0.05, como se ha detallado previamente. Posteriormente se evaluará su influencia sobre la movilidad de la célula.

Además de todas estas imposiciones comunes a todas simulaciones, se va a detallar a continuación como se han implementado los sucesivos modelos y que características los distinguen, a fin de refinar los resultados.

### 2.2.2.1 MODELO 1: Contracción y expansión volumétrica

Como primer modelo de estudio, se va a implementar la fuerza de polimerización mediante una expansión volumétrica constante (*Figura 13*). Se utiliza la temperatura como herramienta de apoyo para buscar una relación directa entre  $\alpha$  con la velocidad de polimerización experimentada por la célula, ya que se considera que el crecimiento es isótropo, igual en todas las direcciones, y que supone una fuerza volumétrica.

Del mismo modo, se utilizará la temperatura como método de aplicación de la contracción. Se establece una relación entre  $\alpha$  con la velocidad de contracción constante experimentada por la célula.

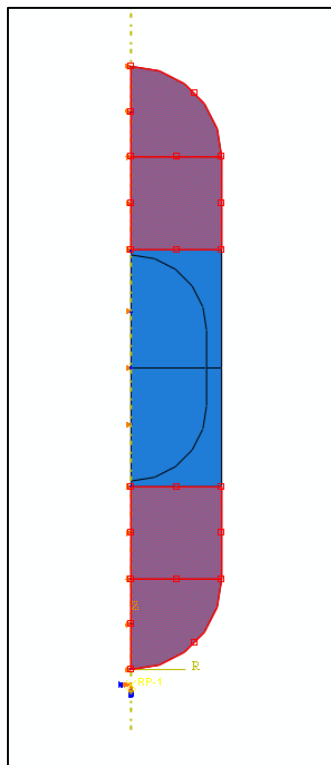
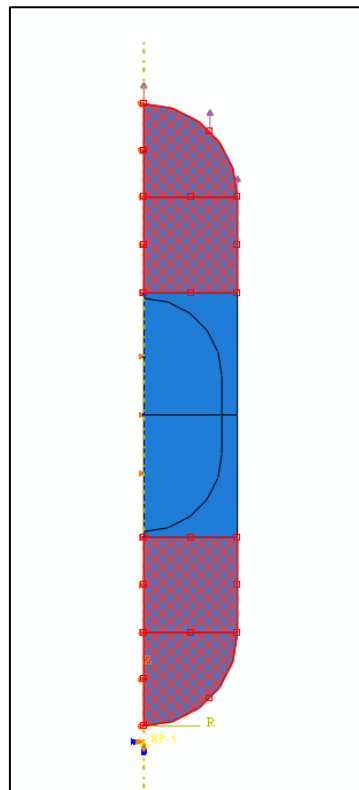


Figura 13: Modelo 1, contracción y expansión volumétrica

### 2.2.2.2 *MODELO 2: Contracción, expansión volumétrica y fuerza de polimerización*

Continuando con la aportación de la expansión y contracción, definidas anteriormente, se añade en este caso una fuerza sobre la membrana como complemento de la expansión para representar mejor el fenómeno de la polimerización, véase *Figura 14*.



**Figura 14: Modelo 2, contracción, expansión volumétrica y fuerza de polimerización**

Como se ha explicado previamente, la fuerza de polimerización es una fuerza que impulsa a la membrana debido a la adición de monómeros en los filamentos de actina. Aplicar esta fuerza es más representativo de la realidad que solo imponer la expansión como fenómeno explicativo de la polimerización.

Así bien, esta fuerza se aplicará sobre la superficie frontal de la célula orientada con un sentido hacia donde se produce el movimiento. Simulará el efecto de empuje de los filamentos de actinas sobre la membrana.

2.2.2.3 *MODELO 3: Material fibrado en el citoesqueleto*

Basándose en todo lo anterior, se buscan ahora una reestructuración interna del modelo celular, incorporando el citoesqueleto al citoplasma. Esto conlleva modificar las propiedades internas del citoplasma, considerándolo ahora como un material fibrado que simula al efecto de dicho citoesqueleto. Se implementará entonces como un material elástico ortótropo dándole una rigidez mayor al citoplasma en la dirección del movimiento, dirección axial. Las propiedades mecánicas de dicho material se recogen en la *Tabla 1*.

$E$	(KPa)	$\nu$		$G$	(KPa)
$E_1$	5	$\nu_{12}$	0.277	$G_{12}$	1.5
$E_2$	0.8	$\nu_{23}$	0.4	$G_{23}$	1.42
$E_3$	0.8	$\nu_{31}$	0.068	$G_{13}$	1.5

Tabla 1: Propiedades mecánicas del citoplasma

Para implementar el material en ABAQUS, es necesario introducir los distintos valores que definen la matriz de comportamiento siguiendo la relación ilustrada en la ecuación (11).

$$\begin{Bmatrix} \sigma_{11} \\ \sigma_{22} \\ \sigma_{33} \\ \sigma_{12} \\ \sigma_{13} \\ \sigma_{23} \end{Bmatrix} = \begin{bmatrix} D_{1111} & D_{1122} & D_{1133} & 0 & 0 & 0 \\ & D_{2222} & D_{2233} & 0 & 0 & 0 \\ & & D_{3333} & 0 & 0 & 0 \\ & & & D_{1212} & 0 & 0 \\ & sym & & & D_{1313} & 0 \\ & & & & & D_{2323} \end{bmatrix} \begin{Bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ \gamma_{12} \\ \gamma_{13} \\ \gamma_{23} \end{Bmatrix} = [D^{el}] \begin{Bmatrix} \varepsilon_{11} \\ \varepsilon_{22} \\ \varepsilon_{33} \\ \gamma_{12} \\ \gamma_{13} \\ \gamma_{23} \end{Bmatrix} \quad (11)$$

Para obtener todas las constantes que definen a la matriz de comportamiento, se recurren a las fórmulas especificadas en las ecuaciones (12), (13), (14), (15), (16), (17), (18), (19), (20).

Donde  $\frac{\nu_{ij}}{E_i} = \frac{\nu_{ji}}{E_j}$  y  $Y = \frac{1}{1 - \nu_{12}\nu_{21} - \nu_{23}\nu_{32} - 2\nu_{21}\nu_{32}\nu_{13}}$

$$D_{1111} = E_1(1 - \nu_{23}\nu_{32})Y \quad (12)$$

$$D_{2222} = E_2(1 - 2\nu_{13}\nu_{31})Y \quad (13)$$

$$D_{3333} = E_3(1 - 2\nu_{12}\nu_{21})Y \quad (14)$$

$$D_{1122} = E_1(\nu_{21} + \nu_{31}\nu_{23})Y \quad (15)$$



$$D_{1133} = E_1(v_{31} + v_{21}v_{32})Y \quad (16)$$

$$D_{2233} = E_2(v_{32} + v_{12}v_{31})Y \quad (17)$$

$$D_{1212} = G_{12} \quad (18)$$

$$D_{1313} = G_{13} \quad (19)$$

$$D_{2323} = G_{23} \quad (20)$$

Además ha sido necesario crear un nuevo sistema local de coordenadas cilíndrico con dirección principal en la dirección a lo largo del tubo, para orientar al material más rígido en la dirección deseada.

#### 2.2.2.4 MODELO 4: Fibras de actina

Se parte del modelo anterior, con las mismas cargas, al cual se le añaden los filamentos de actina como suplemento para tirar del núcleo debido a la protrusión de la célula. Los filamentos de actina se van a dibujar en la dirección axial, dirección del movimiento, porque es la cual en la que se va a producir el mayor empuje debido a la polimerización de la actina (Figura 15). EL material del citoplasma volverá a ser hiperelástico Neo-Hookeano.

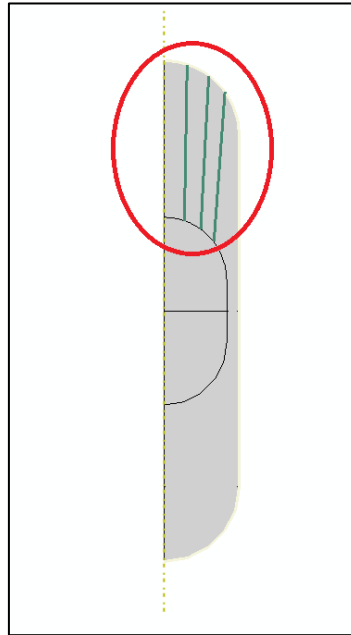


Figura 15: Esquema de los filamentos de actina

Las fibras de actina son en realidad unos filamentos alargados de 8 nm de diámetro [29], aunque se han considerado como una superficie del mismo grosor (dado que no se simularán todo el entramado de fibras de actina se supone que esta superficie tiene una rigidez equivalente al entramado) que solo trabaja a esfuerzos axiales. Además solo se han añadido tres de ellas para simplificar el modelo, considerando que será suficiente su efecto en la representación final de la célula. Estos filamentos cuentan con unas propiedades mecánicas dadas por una rigidez de 1.2 GPa y 0.38 de coeficiente de Poisson.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 MODELO 1: Contracción y expansión volumétrica

Como punto de partida, se sabe que cuando una célula empieza a desplazarse, su movimiento se debe fundamentalmente a dos fenómenos. Se genera una contracción en la parte trasera de la célula por el efecto de la miosina y una expansión en la delantera gracias a la polimerización de la actina. Entonces se pasa a obtener un primer resultado cuantitativo de lo descrito anteriormente, véase *Figura 16*.

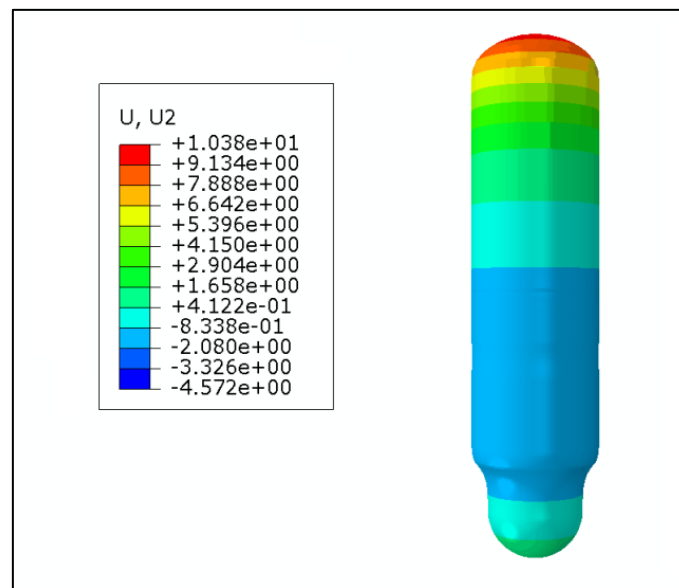


Figura 16: Desplazamiento vertical de la célula con contracción y expansión volumétrica (en  $\mu\text{m}$ )

La forma exterior que adopta la célula y su propio avance es muy semejante al obtenido experimentalmente (*Figura 4*). Sobre todo en la parte de abajo, ya que en los modelos experimentales, la célula obtenía una forma como de cola, más estrecha que el resto del cuerpo de la célula.

A su vez, los valores del desplazamiento total de la célula a lo largo del tubo son muy cercanos a lo que ocurre en la realidad para una fricción mínima, valores cercanos a los  $10 \mu\text{m}$  en ambos casos para el frente de avance delantero de la célula. También en esa imagen se puede ver el avance del núcleo a lo largo del tubo. Obviamente, para ilustrar perfectamente dicho desplazamiento se muestra la *Figura 17* en la que solo aparece el núcleo.

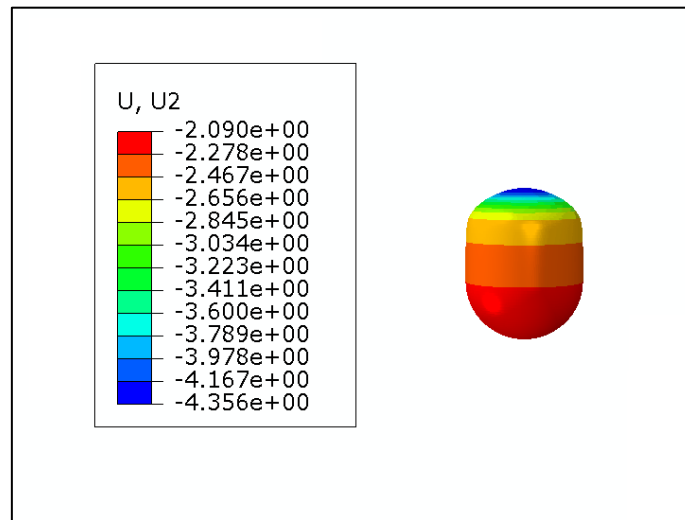


Figura 17: Desplazamiento vertical del núcleo con contracción y expansión volumétrica (en  $\mu\text{m}$ )

Prestando atención solamente al núcleo, se observa el descenso al que se ve sometido. La fuerza de expansión es muy grande y probablemente le está llevando hacia abajo. Mientras que en la *Figura 4* se consigue el efecto contrario, se impulsa el núcleo junto con la célula, manteniéndose este más o menos en la misma posición, prácticamente centrado.

Por ello, se ve que considerar los efectos de la contracción de la miosina en la parte trasera de la célula junto con la expansión en la parte delantera no explican el desplazamiento de la misma observado experimentalmente, por lo tanto, tiene que haber otros efectos que produzcan este desplazamiento.

### 3.2 MODELO 2: Contracción, expansión volumétrica y fuerza de polimerización

De este modo, se añade una fuerza de empuje a lo largo del tubo en la superficie delantera de la célula (*Figura 18*) que representa la fuerza de polimerización actuando fundamentalmente sobre la membrana. Además, se mantiene la contracción y la expansión de la célula del modelo anterior.

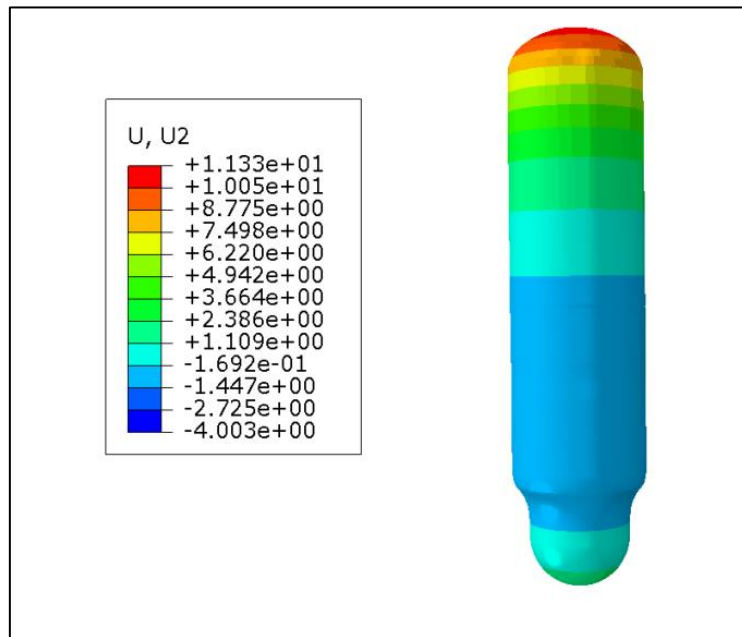


Figura 18: Desplazamiento vertical de la célula con contracción, expansión volumétrica y fuerza de polimerización (en  $\mu\text{m}$ )

A simple vista se observa en la *Figura 18* también una forma exterior de la célula acorde a los experimentos detallados en los estudios previos y el desplazamiento total de la célula a lo largo del tubo se ve incluso incrementado, seguimos estando en torno a los valores reales. De nuevo, se comprueba el desplazamiento del núcleo al final de la simulación (*Figura 19*) para comparar con los experimentos.

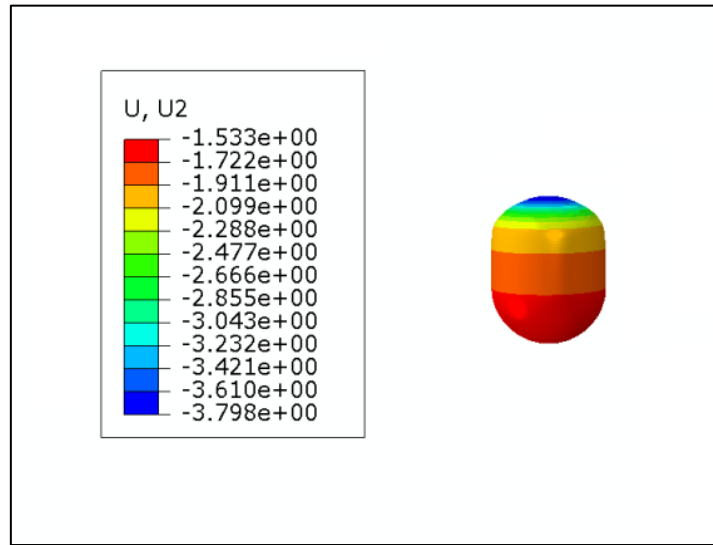


Figura 19: Desplazamiento vertical del núcleo con contracción, expansión volumétrica y fuerza de polimerización (en  $\mu\text{m}$ )

Se observa otra vez el descenso del núcleo, aunque el efecto de añadir esa fuerza mejora algo el resultado, dando con desplazamientos menos negativos. A priori se puede determinar que la fuerza de polimerización ayuda a tirar de toda la célula con mayor intensidad y acerca todavía más al resultado final.

### 3.3 MODELO 3: Material fibrado en el citoesqueleto

Como siguiente prueba para entender el movimiento de la célula, se modela el citoplasma como material fibrado simulando al citoesqueleto. Consecuentemente, se ilustra en la Figura 20 el desplazamiento total de la célula en todo su conjunto.

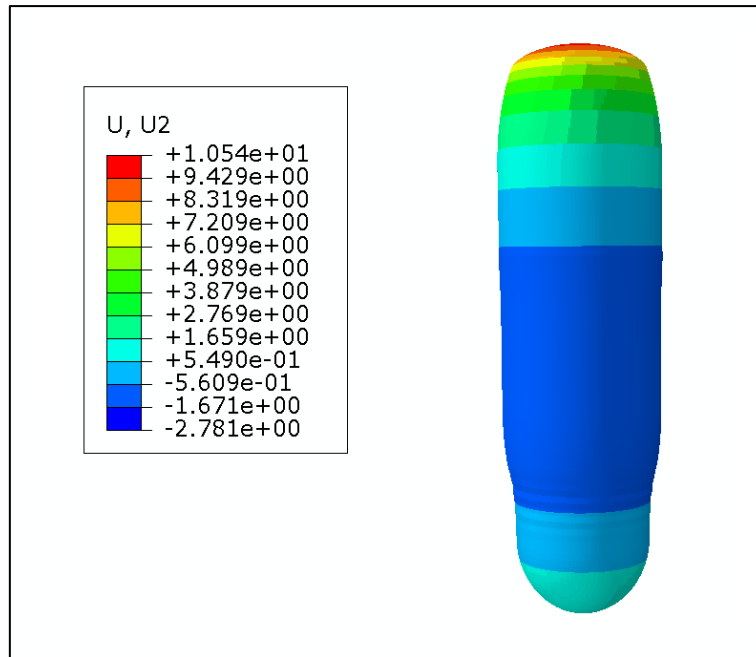


Figura 20: Desplazamiento vertical de la célula con material fibrado en el citoesqueleto (en  $\mu\text{m}$ )

Se están manteniendo los mismos resultados que teníamos antes en cuanto a deformación total de la célula, se dan avances semejantes en ambas mitades de la célula. Por ello, se necesita visualizar el estado del núcleo para saber si se ha mejorado algo con respecto al anterior modelo, véase *Figura 21*.

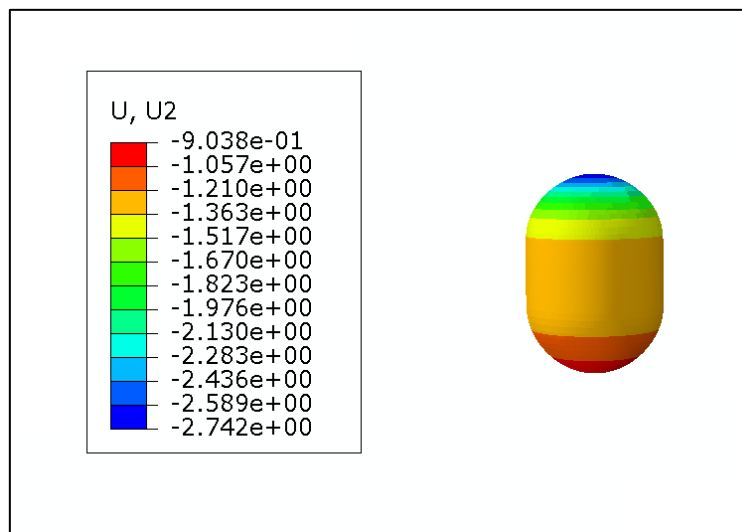


Figura 21: Desplazamiento vertical del núcleo con material fibrado en el citoesqueleto (en  $\mu\text{m}$ )

En la *Figura 21* se aprecia una mejoría en cuanto a desplazamiento, menos negativos, pero todavía sigue sin ser suficiente. La reacción generada por los efectos compresivos y expansivos en la célula sigue superando a la polimerización y esto no deja avanzar al núcleo. Por tanto, este modelo no está representando con claridad lo que ocurre internamente en la célula y por tanto, se buscan nuevas alternativas.



### 3.4 MODELO 4: Fibras de actina

A fin de encontrar desplazamientos positivos y representar los experimentos tal cual son observados, se van a añadir nuevas modificaciones al modelo. Se busca conseguir la representación del desplazamiento del núcleo mediante la adición de microfilamentos de actina. En la Figura 22 se representa el desplazamiento total de la célula.

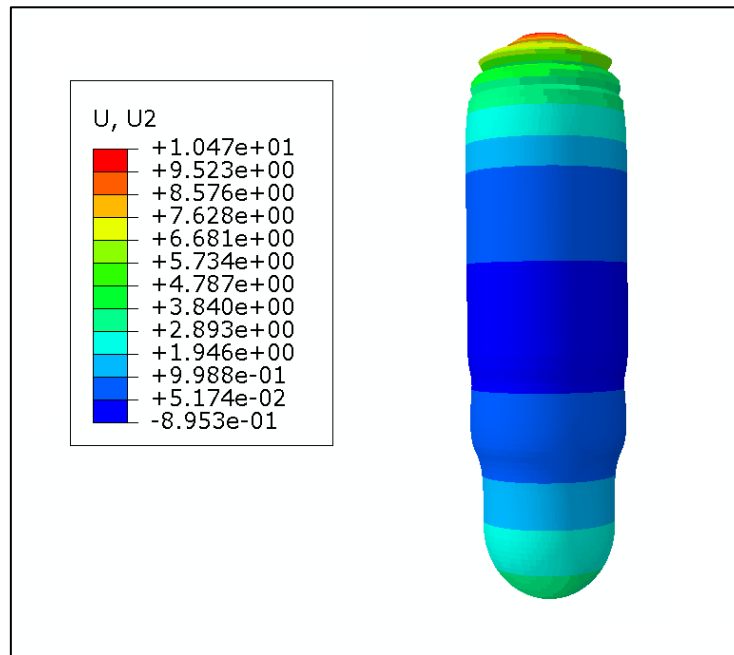


Figura 22: Desplazamiento vertical de la célula con la adición de las fibras de actina (en  $\mu\text{m}$ ), factor de amplificación de la deformada 0.8.

Como en todos los casos descritos, estamos dentro de los valores observados experimentalmente en cuanto a desplazamiento exterior celular, en torno a los  $10 \mu\text{m}$ . Ahora se pasa a representar el núcleo, *Figura 23*, buscando hallar con la solución real.

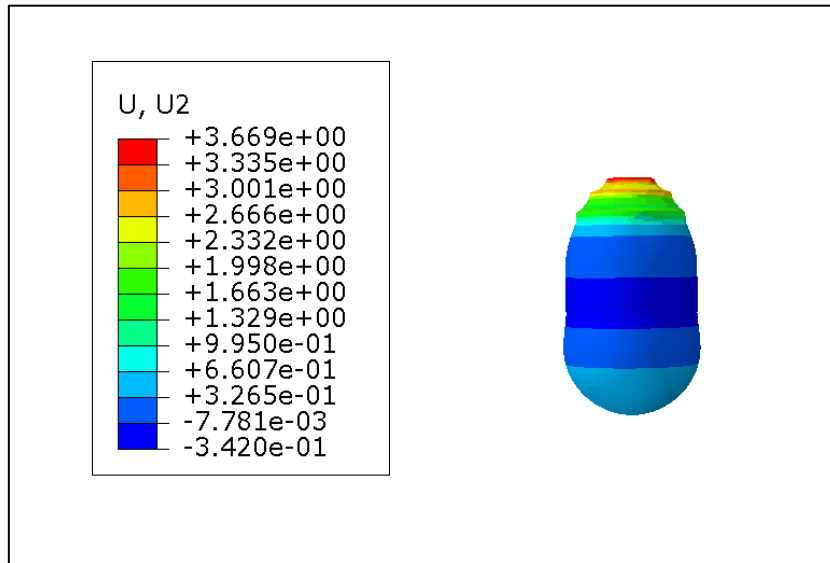


Figura 23: Desplazamiento vertical del núcleo con la adición de las fibras de actina (en  $\mu\text{m}$ ), factor de amplificación de la deformada 0.8.

Observando el resultado, ahora sí que ya se empieza a ver el verdadero efecto de la actina y el papel de la polimerización. Añadiendo fibras en la dirección del movimiento, dirección axial, la actina solo está trabajando a esfuerzo axial. Los microfilamentos reciben una tensión de la membrana provocada por el empuje que esta sufre a razón de la protrusión, que se trasmite hasta llegar el núcleo. A razón de recibir esa fuerza, el núcleo comienza a desplazarse a lo largo del tubo más lejos que en cualquier resultado previo.

Para finalizar, se recoge, en la *Figura 24*, una comparativa de los desplazamientos a lo largo del tubo, tanto del frente de la célula como el del núcleo, para los distintos modelos implementados, así como del resultado sacado del artículo obtenido mediante la experimentación.

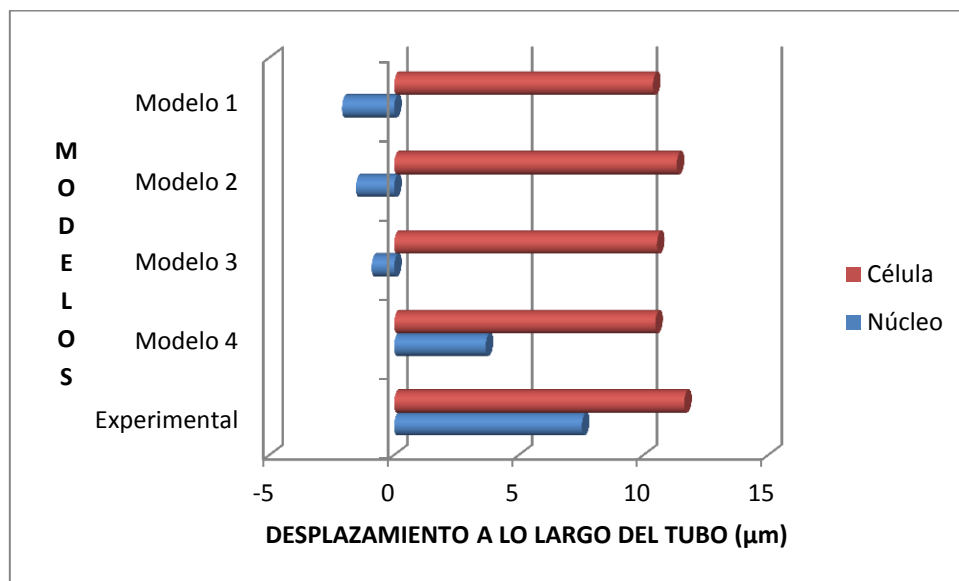


Figura 24: Avance del frente del núcleo y célula en todos los modelos ( $\mu\text{m}$ )

## 4. CONCLUSIONES

A través de este proyecto se muestra la deformación y avance celular en ambientes confinados mediante la simulación con el objetivo de estudiar la migración celular. Las simulaciones realizadas permiten ayudarnos a entender los mecanismos de avance celulares y llevar a cabo una interpretación de los fenómenos que internamente ocurren y que tanta influencia tienen en la problemática del cáncer metastático durante las fases de intravasación y extravasación principalmente.

Se ha comprobado que con modelos bastantes sencillos, simplemente imponiendo la contracción y polimerización celular, se puede observar una tendencia clara de la célula a deformarse, acorde con las imágenes experimentales. Pero el núcleo permanece inmóvil e incluso, la mayoría de las veces, se mueve en la dirección contraria al movimiento. Esto contradice al fenómeno que en verdad ocurre, por lo que considerar solo la contracción y polimerización celular no explican por sí solas la migración celular.

El movimiento del núcleo ha sido el foco de estudio en este trabajo, se trata del punto más delicado de analizar y se ha encontrado que la clave para su correcto desplazamiento es el citoplasma. Aumentando notablemente su rigidez se ayuda a contrarrestar los fenómenos expansivos y contractivos sobre el núcleo que no permiten que este avance a la par que el resto de la célula.

Por eso incorporando el material fibrado se da un salto de mejora hacia el correcto avance del frente nuclear, aunque no es hasta la adición de las fibras de actina, que cuentan con una alta rigidez, cuando se muestra que el núcleo ya se está empezando a desplazar correctamente.

Las fibras de actina salientes del núcleo y con extremo opuesto en la membrana simulan la polimerización. No solo empujan a la membrana lo suficiente como para desplazar a toda la célula, sino que también tiran del núcleo en el sentido del movimiento, como reflejaban los experimentos.

Sin embargo, la consideración de posibles líneas de desarrollo futuro en estos campos es muy amplia. Hay mucho por estudiar y comprender aún, ya que se trata de una ciencia joven. Por tanto, los nuevos métodos de simulación deben interactuar con los hallazgos biológicos para mejorar la predicción, análisis y diseño de fenómenos celulares.

Una posible línea para continuar con este estudio sería realizar experimentos donde se tiñan los filamentos de actina y miosina para ver su verdadera orientación y disposición en la célula. De esta manera, se vería la polarización completa de la célula y las uniones que se van creando en los filamentos de actina con forme el fenómeno de polimerización está creciendo.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- [1] M. F. Leber and T. Efferth, "Molecular principles of cancer invasion and metastasis ( Review )," pp. 881–895, 2009.
- [2] C. Borau, W. J. Polacheck, R. D. Kamm, and J. M. García-aznar, "Europe PMC Funders Group Probabilistic Voxel-Fe model for single cell motility in 3D," pp. 1–34, 2015.
- [3] B. Samarasinghe, "The Hallmarks of Cancer 6: Tissue Invasion and Metastasis," 2013.
- [4] T. Tsuji, S. Ibaragi, and G. -f. Hu, "Epithelial-Mesenchymal Transition and Cell Cooperativity in Metastasis," *Cancer Res.*, vol. 69, no. 18, pp. 7135–7139, Sep. 2009.
- [5] I. Ferreiro, "Metástasis," 2015. [Online]. Available: <http://eatthisroot.blogspot.com.es/2015/06/614-metastasis.html>.
- [6] Univeristy of South Carolina School of Medicine, "Acute Inflammation," 2016. [Online]. Available: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/4-acute-inflammation/deck/3359944>.
- [7] H. W. Hou, W. C. Lee, M. C. Leong, S. Sonam, S. R. K. Vedula, and C. T. Lim, "Microfluidics for applications in cell mechanics and mechanobiology," *Cell. Mol. Bioeng.*, vol. 4, no. 4, pp. 591–602, 2011.
- [8] J. T. Parsons, A. R. Horwitz, and M. A. Schwartz, "Cell adhesion: integrating cytoskeletal dynamics and cellular tension," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 11, no. 9, pp. 633–643, Sep. 2010.
- [9] P. Friedl, "To adhere or not to adhere?," *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, vol. 11, no. 1, pp. 3–3, Jan. 2010.
- [10] R. J. Hawkins, R. Poincloux, O. Bénichou, M. Piel, P. Chavrier, and R. Voituriez, "Spontaneous contractility-mediated cortical flow generates cell migration in three-dimensional environments," *Biophys. J.*, vol. 101, no. 5, pp. 1041–5, Sep. 2011.
- [11] M. Bergert, S. D. Chandross, R. A. Desai, and E. Paluch, "Cell mechanics control rapid transitions between blebs and lamellipodia during migration," *Proc. Natl. Acad. Sci.*, vol. 109, no. 36, pp. 14434–14439, Sep. 2012.
- [12] M. Bergert, A. Erzberger, R. A. Desai, I. M. Aspalter, A. C. Oates, G. Charras, G. Salbreux, and E. K. Paluch, "Force transmission during adhesion-independent migration," *Nat. Cell Biol.*, vol. 17, no. 4, pp. 524–9, 2015.
- [13] T. M. Keenan and A. Folch, "Biomolecular gradients in cell culture systems.," *Lab Chip*, vol. 8, no. 1, pp. 34–57, Jan. 2008.
- [14] J.-Y. Tinevez, U. Schulze, G. Salbreux, J. Roensch, J.-F. Joanny, and E. Paluch, "Role of cortical tension in bleb growth.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 106, no. 44, pp. 18581–6, Nov. 2009.
- [15] S. Byun, S. Son, D. Amodè, N. Cermak, J. Shaw, J. H. Kang, V. C. Hecht, M. M. Winslow, T. Jacks, P. Mallick, and S. R. Manalis, "Characterizing deformability and surface friction of cancer cells.," *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 110, no. 19, pp. 7580–5, May 2013.
- [16] W. R. Legant, J. S. Miller, B. L. Blakely, D. M. Cohen, G. M. Genin, and C. S. Chen, "Measurement of mechanical tractions exerted by cells in three-dimensional matrices.," *Nat. Methods*, vol. 7, no. 12, pp. 969–71, Dec. 2010.
- [17] Jonathon Howard, *Mechanics of Motor Proteins and the Cytoskeleton*. 2001.
- [18] "Cell Structure 1: Basics of cellular structures and functions - Biological Physics - biologicalphysics.iop.org."
- [19] B. Wickstead and K. Gull, "The evolution of the cytoskeleton," *J. Cell Biol.*, vol. 194, no. 4, pp. 513–525, 2011.
- [20] T. D. Pollard, G. G. Borisy, and N. Haven, "Cellular Motility Driven by Assembly and Disassembly of Actin Filaments," vol. 112, pp. 453–465, 2003.
- [21] V. E. Sabbatino, *Biología celular y humana*. .
- [22] A. Mogilner and G. Oster, "Force Generation by Actin Polymerization II: The Elastic Ratchet and Tethered Filaments," *Biophys. J.*, vol. 84, no. 3, pp. 1591–1605, 2003.
- [23] R. Y. K. Christopher R. Jacobs, Hayden Huang, *Introduction to Cell Mechanics and Mechanobiology*, 1st ed. 2012.
- [24] A. Crow, K. D. Webster, E. Hohlfeld, W. P. Ng, P. Geissler, and D. A. Fletcher, "Contractile equilibration of single cells to step changes in extracellular stiffness," *Biophys. J.*, vol. 102, no. 3, pp. 443–451, 2012.

- [25] H. Lodish, N. B. Sterin de Speziale, and N. A. Vidal, *Biología celular y molecular*. Editorial Médica Panamericana, 2005.
- [26] J. Baker, *Cytological technique: the principles underlying routine methods*, 5th ed. London ;New York: Methuen;;Wiley, 1966.
- [27] W. R. Trickey, F. P. T. Baaijens, T. A. Laursen, L. G. Alexopoulos, and F. Guilak, "Determination of the Poisson's ratio of the cell: Recovery properties of chondrocytes after release from complete micropipette aspiration," *J. Biomech.*, vol. 39, no. 1, pp. 78–87, 2006.
- [28] R. D. K. Mohammad R. K. Mofrad, *Cellular Mechanotransduction: Diverse Perspectives from Molecules to Tissues*. 2010.
- [29] E. Grazi, "What is the diameter of the actin filament?," *FEBS Lett.*, vol. 405, no. 3, pp. 249–252, 1997.

## 6. ANEXOS

### 6.1 INFLUENCIA DE LA FRICCIÓN

Para representar la influencia de la fricción en la deformación y desplazamiento celular, en este apartado se va a variar el coeficiente de fricción del modelo. Se parte de valores pequeños llegando a valores más elevados, manteniendo en todo momento la condición de fricción mínima. Es decir, no se supondrá el modelo sin fricción en ningún momento, pues la descripción del movimiento sería como un sólido rígido.

Además se mantienen los parámetros y cargas de aplicación detallados anteriormente constantes en cada caso. Los resultados obtenidos serán cualitativos y no se presta atención al núcleo como primer análisis, si no solamente a la superficie exterior de la célula y como el desplazamiento de toda la célula se ve afectado por una fricción u otra, véanse *Figuras 25,26,27*.

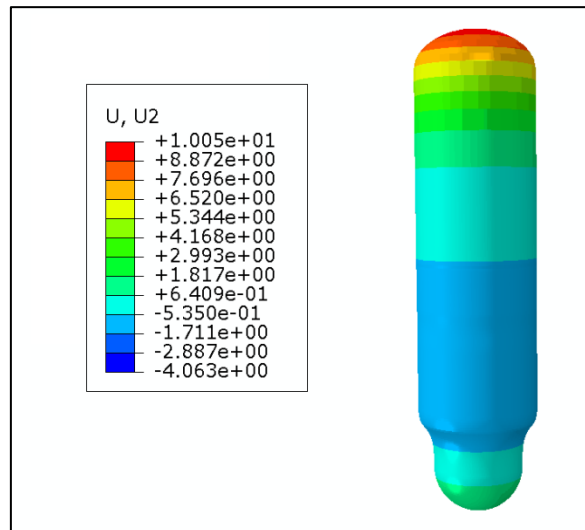


Figura 25: Desplazamiento vertical de la célula con una fricción de 0.15 (en  $\mu\text{m}$ )

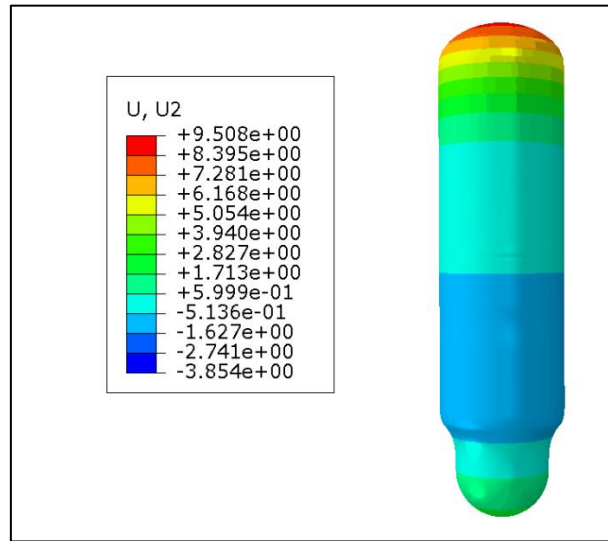


Figura 26: Desplazamiento vertical de la célula con una fricción de 0.25 (en  $\mu\text{m}$ )

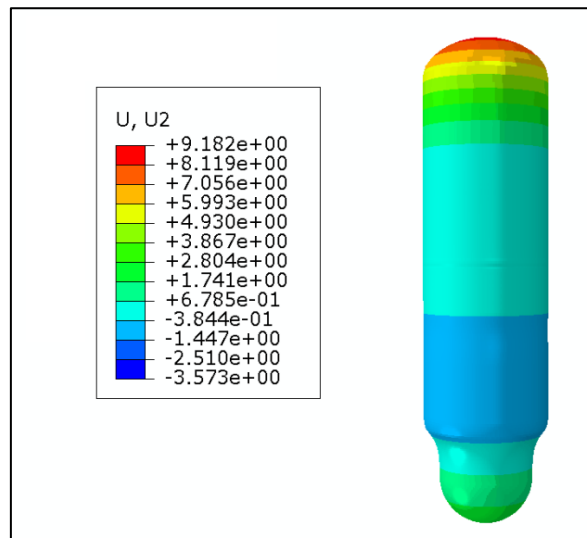


Figura 27: Desplazamiento vertical de la célula con una fricción de 0.5 (en  $\mu\text{m}$ )

Analíticamente viendo los resultados se ve un descenso, aunque no muy pronunciado, de la distancia avanzada por la célula conforme aumentamos el coeficiente de fricción. Esto se aprecia sobre todo en la parte delantera de la célula, mientras que en la parte de atrás apenas hay variación de desplazamiento.

Debido a contar con menos fricción y ver a la célula más alargada, también se puede decir intuitivamente que se deja a la polimerización actuar más libremente. La fuerza de polimerización está ligada a la velocidad con la que polimeriza la célula. Cuanto más alta es la velocidad de polimerización, más rápido se generan enlaces en las fibras de actina y mayor será la fuerza de empuje sobre la membrana o al menos, se consigue la misma fuerza pero mucho antes.

Con altas fricciones, la fuerza de fricción a vencer por la célula y comenzar el avance de la misma es mayor. Entonces la célula centra toda su energía de polimerización en superar esa fuerza, que obviamente le cuesta más tiempo vencerla. En este caso, la célula tardará más tiempo en alcanzar una velocidad suficiente que le haga empezar a polimerizar y al mismo tiempo generar una fuerza tan elevada como teniendo menos fricción.

Entonces se podría decir que aumentando la fricción se ve más restringida la polimerización y expansión de la célula, reduciendo el alargamiento de la célula y su avance en la dirección del tubo. En caso contrario, la mitad inferior de la célula no se ve modificada aparentemente, por lo que la fricción casi no influye en la contracción celular.

Por otro lado, si se atiende a la zona media de la célula, habría que hacer una representación interna para saber como la célula se ve afectada por el efecto de variar la fricción. Se pasa a analizar el desplazamiento del núcleo representado en las siguientes Figuras 28,29,30.

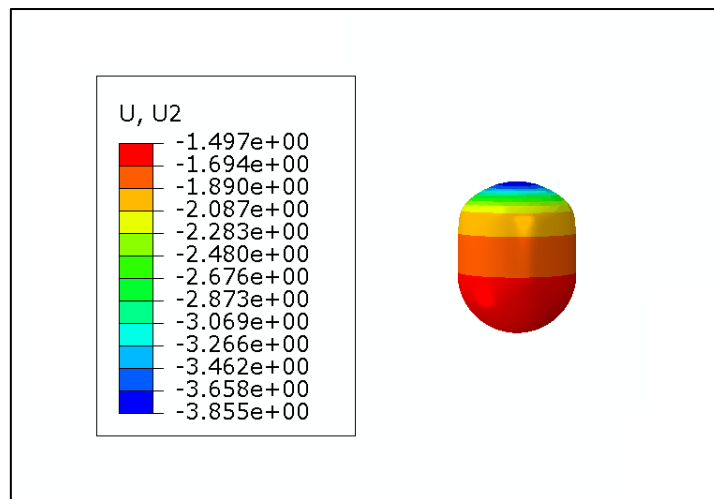


Figura 28: Desplazamiento vertical del núcleo con una fricción de 0.15 (en  $\mu\text{m}$ )

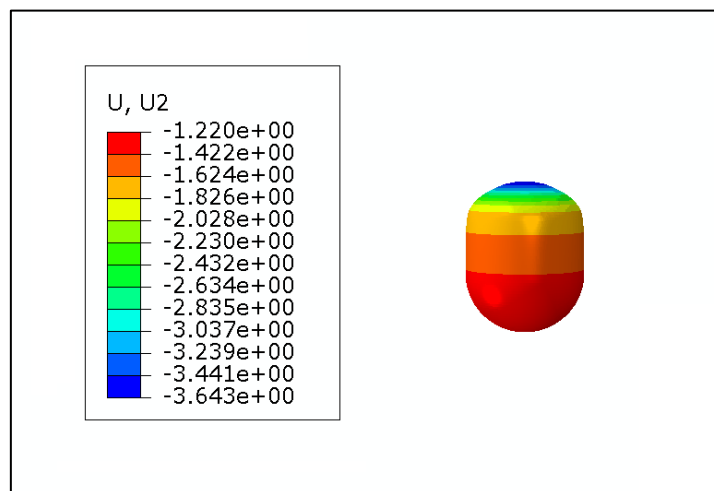


Figura 29: Desplazamiento vertical del núcleo con una fricción de 0.25 (en  $\mu\text{m}$ )



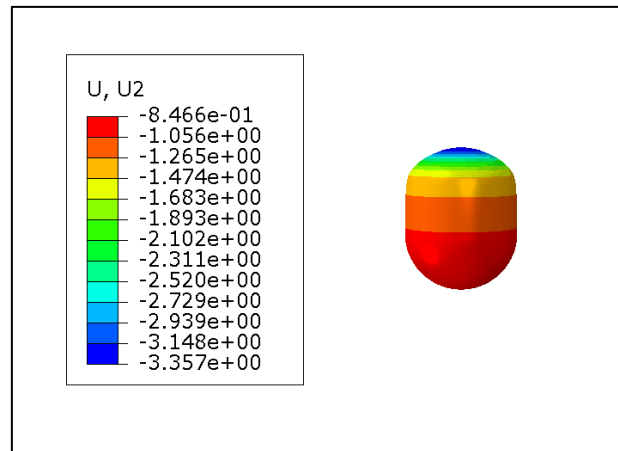


Figura 30: Desplazamiento vertical del núcleo con una fricción de 0.5 (en  $\mu\text{m}$ )

Se observa una tendencia del núcleo a descender lo menos posible al efecto de aumentar la fricción. Aquí, se ve más modificada la parte baja del núcleo, cuando en el conjunto de la célula, en cambio, se modificaba más la parte superior.

Como se ha comentado antes, la expansión y polimerización afectan menos al conjunto de la célula conforme se aumenta la fricción. Por ello, si se está consiguiendo reducir levemente la expansión, también el núcleo se ve menos influenciado por la fuerza originada por el fenómeno expansivo que generalmente hacía que se desplazara hacia abajo, dando desplazamientos altamente negativos. Por tanto, si reducimos la expansión, también reducimos la fuerza que genera contracción en la mitad superior del núcleo y entonces se desplaza menos hacia abajo. Con la contracción ocurre semejante, el núcleo se expande en la mitad inferior como fenómeno de reacción a la contracción en el citoplasma.

## 6.2 INFLUENCIA DEL NÚCLEO

En este caso se va a comprobar el papel que juega el núcleo en la deformación y movilidad celular. Para ello, variaremos su tamaño, un 10% mayor y un 10% menos, y veremos el efecto conseguido sobre el desplazamiento del propio núcleo.

Se mantendrán las mismas propiedades en todo el modelo, así como conservar idénticamente la aplicación de cargas y se ajusta el coeficiente de fricción a 0.05 como en la mayoría de los casos. En primer lugar se va a aumentar el tamaño, reflejando el resultado final en la *Figura 31* y así mismo, a continuación se disminuye su tamaño y se muestra en la *Figura 32* el mismo resultado.

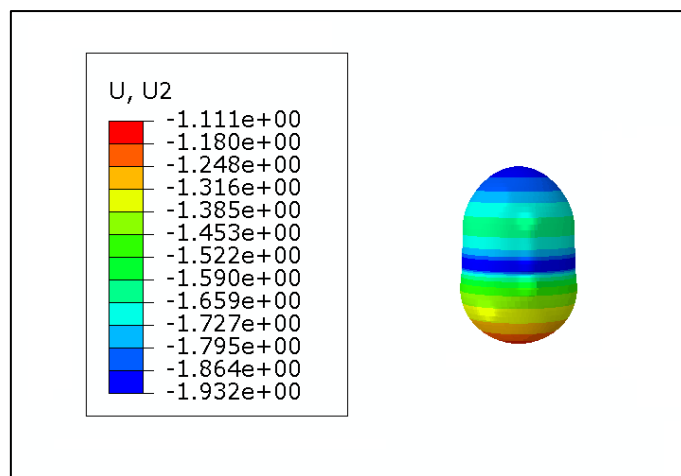


Figura 31: Desplazamiento vertical del núcleo con un tamaño mayor (en  $\mu\text{m}$ )

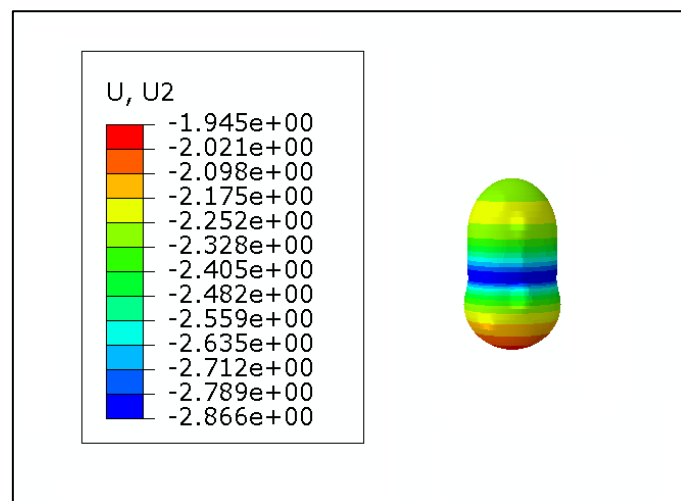


Figura 32: Desplazamiento vertical del núcleo con un tamaño menor (en  $\mu\text{m}$ )

Centrando la atención en la *Figura 31*, se observa que el núcleo tiene más tamaño y por tanto, mayor superficie. Este hecho hace que frente a una misma carga, esta se vea más repartida en una misma superficie; es decir, aumentando el área y manteniendo la fuerza, la presión disminuye.

Teniendo en cuenta el efecto que se generaba con la polimerización y la consiguiente expansión que resultaba en una reacción contra el núcleo. Esta reacción va a ser menor, cuanto mayor sea el área a la cual se aplica. Entonces, aumentando el tamaño del núcleo y teniendo mayores áreas, dejamos más libremente desplazar al núcleo y se obtienen desplazamientos menos negativos y sucede el efecto contrario disminuyéndolo.