



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Título del trabajo:

ESTUDIO MEDIANTE EL MÉTODO DE ELEMENTOS FINITOS
DE LA MECÁNICA Y LA MOTILIDAD CELULAR EN DIFERENTES
AMBIENTES CONFINADOS

Study by means of the finite element method of cell mechanics and motility
in different confined environments

Autora

Nerea Olivera Jurjo

Directoras

María José Gómez Benito
Silvia Hervás Raluy

ESCUELA DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
2020/21

Nerea Olivera Jurjo

RESUMEN

El estudio de la migración celular en ambientes confinados en tres dimensiones es un campo aún bastante desconocido, hasta ahora numerosos investigadores se han centrado en estudiar el confinamiento en dos dimensiones el cual no se asemeja de la misma forma al confinamiento real que sufren las células.

En este trabajo de fin de grado lo que se pretende es estudiar la forma en que las células cancerígenas migran en un ambiente confinado en tres dimensiones. Más específicamente los procesos de extravasación e intravasación en los que este tipo de células se deforman mucho más que otras para poder abandonar el tumor de origen atravesar los vasos sanguíneos y metastatizar en un tumor secundario. Este estudio se va a centrar en observar cómo se mueve una célula cancerígena al pasar por tres canales diferentes con distintas geometrías. En estos canales se simulará la migración de este tipo de células estudiando la influencia de los componentes del citoesqueleto de la célula, así como el grado de adhesión en el canal.

Para poder simular este fenómeno de la migración, se ha considerado la célula como un elemento elástico lineal formada por el citoplasma compuesto por un material con una rigidez muy baja y el núcleo, el elemento más rígido de la célula, cuyo módulo elástico es por tanto bastante superior al del citoplasma. Las proteínas que conforman el citoesqueleto, actina y miosina, están formadas por un material con una rigidez parecida a la del citoplasma y distribuidas la miosina en la parte posterior de la célula y la actina en el frente y a los lados. Por otro lado, el canal se ha simulado como un elemento rígido e indeformable, ya que en la realidad su rigidez es muy superior a la de la célula y es ésta la que debe deformarse para poder pasar a través de él.

Para realizar las simulaciones se ha utilizado el software comercial de elementos finitos ABAQUS, el conseguir que los modelos creados migren es un proceso complicado en el que no solo intervienen el trabajo de la actina y la miosina, sino que también hay que tener en cuenta otros factores como el contacto entre el canal y la célula o el volumen y la rigidez del núcleo y citoplasma. Una de las principales dificultades de este trabajo es el encontrar



que procesos o propiedades mecánicas existen que sean lo más parecidas a los procesos biológicos que se pretenden simular y estudiar.

En este estudio se han obtenido varios resultados que concuerdan en su mayoría con lo que ya se venía investigando en trabajos anteriores. La importancia de la adhesión y el contacto entre la célula y el canal, así como la fricción entre ellos para que se de la migración. La necesidad de que las proteínas de la actina y la miosina trabajen conjuntamente para conseguir un movimiento conjunto de la célula y ver que no es posible la migración con la ausencia de cualquiera de ellas. También se ha observado la importancia de la distribución de estas proteínas, se ha visto que dependiendo de su coordenada longitudinal su densidad varía lo cual es un factor importante a tener en cuenta.

El objetivo principal de este proyecto es seguir investigando en este campo tan desconocido con el fin de poder aportar resultados y conclusiones que puedan seguir ayudando a la creación de tratamientos contra el cáncer y al estudio de esta enfermedad en general.



ÍNDICE

RESUMEN.....	2
INTRODUCCIÓN.....	5
1- LA CÉLULA.....	8
2- MECANICA CELULAR.....	10
3- MECANISMOS DE MOTILIDAD CELULAR EN AMBIENTES CONFINADOS.....	10
ESTADO DEL ARTE.....	14
MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
Polimerización de la actina y contracción de la miosina.....	19
Partes de la célula.....	21
Geometría.....	22
Modelado por Elementos Finitos.....	22
1. Mallado.....	23
2. Condiciones de contorno.....	23
3. Pasos de cálculo y cargas.....	23
Miosina.....	25
Actina.....	26
RESULTADOS.....	28
Influencia de la miosina.....	30
Influencia de la fricción.....	32
Influencia de la actina adherida.....	34
Influencia de la actina libre.....	35
DISCUSIÓN.....	37
CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS.....	39
REFERENCIAS.....	40

INTRODUCCION

El cáncer es una de las principales causas de muerte en el mundo, actualmente se estiman alrededor de 9.5 millones de muertes por esta enfermedad al año y se anticipa que en 2040 el número de muertes aumentará a 16.4 millones [1].

El cáncer engloba aquellas enfermedades en las que se observa un proceso descontrolado en la división de las células en el cuerpo. Las células cancerosas pierden las características propias de las células normales y adquieren otras que no les corresponden. Una de ellas es su capacidad invasiva de distintos órganos (metástasis). Además, pueden crecer y dividirse más allá de los límites normales del órgano, migrando por las distintas partes del cuerpo a través del sistema circulatorio y linfático, provocando la formación de tumores secundarios en zonas del cuerpo que no son la original [2].

Para que se produzca esa migración por el organismo, las células han de deformarse enormemente. El grado de deformación que sufrirá la célula depende de la función que tenga y del medio en el que se encuentre, por ello algunas clases de células como las leucocitarias o las cancerígenas son capaces de alcanzar grandes deformaciones para poder atravesar el vaso sanguíneo. En el caso de las segundas, esa deformación es la que les permite migrar desde un tumor principal primario, pasar al torrente sanguíneo y formar tumores secundarios o metástasis.

El proceso de la metástasis está compuesto de múltiples pasos (Figura 1). El primer paso para la colonización de otro órgano es la invasión local, en el cual las células tumorales invaden localmente su lugar de origen. Seguidamente se da el paso de la intravasación, es decir, la entrada de las células cancerosas en los vasos sanguíneos o linfáticos. [3]. Finalmente, el proceso de la extravasación tiene lugar cuando las células cancerígenas cruzan el vaso e invaden el órgano de destino. La supervivencia en el órgano no está asegurada, ya que pueden existir diferencias entre el microambiente del tumor primario y el lugar al que llegan las células cancerosas. Sin embargo, las células tumorales pueden llegar a desplegar complejos mecanismos para modificar el microambiente ajeno y facilitar la supervivencia inicial en esta localización [3].

CASCADA METASTÁSICA



Figura 1: Pasos para el desarrollo de metástasis. Las células cancerosas han de abandonar el tumor primario, pasar al torrente sanguíneo y así poder colonizar otro órgano diana diferente al de su origen, con el fin de crear un tumor secundario o metástasis [14].

La motivación de este trabajo fin de grado es estudiar el proceso de extravasación, así como su análogo, la intravasación. En ambos procesos las células han de deformarse en gran medida para poder atravesar el vaso sanguíneo. La deformación de estas células cancerígenas, así como el ambiente confinado que experimentan las mismas durante su migración a través del torrente sanguíneo va a ser estudiado para poder comprender mejor el porqué de este fenómeno.

Se han realizado distintos estudios sobre la extravasación de las células cancerígenas en diferentes ambientes confinados en dos dimensiones (2D) [15,16], pero muy pocos en tres dimensiones (3D). Recientemente se han demostrado las limitaciones de analizar la motilidad celular en 2D subrayando la necesidad de diferentes estrategias destinadas a entender los mecanismos de la migración celular en ambientes tridimensionales. La naturaleza molecular del entorno, así como sus propiedades mecánicas pueden diferir, independientemente de la naturaleza 2D o 3D de la migración. Hay una propiedad de la mayoría de los entornos en 3D que no se da en la migración 2D, el confinamiento, es decir, la falta de espacio. El hecho de que al menos una dimensión del entorno sea menor que el tamaño típico de la célula implica que

ésta necesite deformarse para poder migrar (Figura 2). Mientras que el confinamiento puede ser un factor limitante, a su vez puede promover el movimiento cuando las células tienen una débil adhesión al canal ya que les permite desarrollar fuerzas de empuje [10].

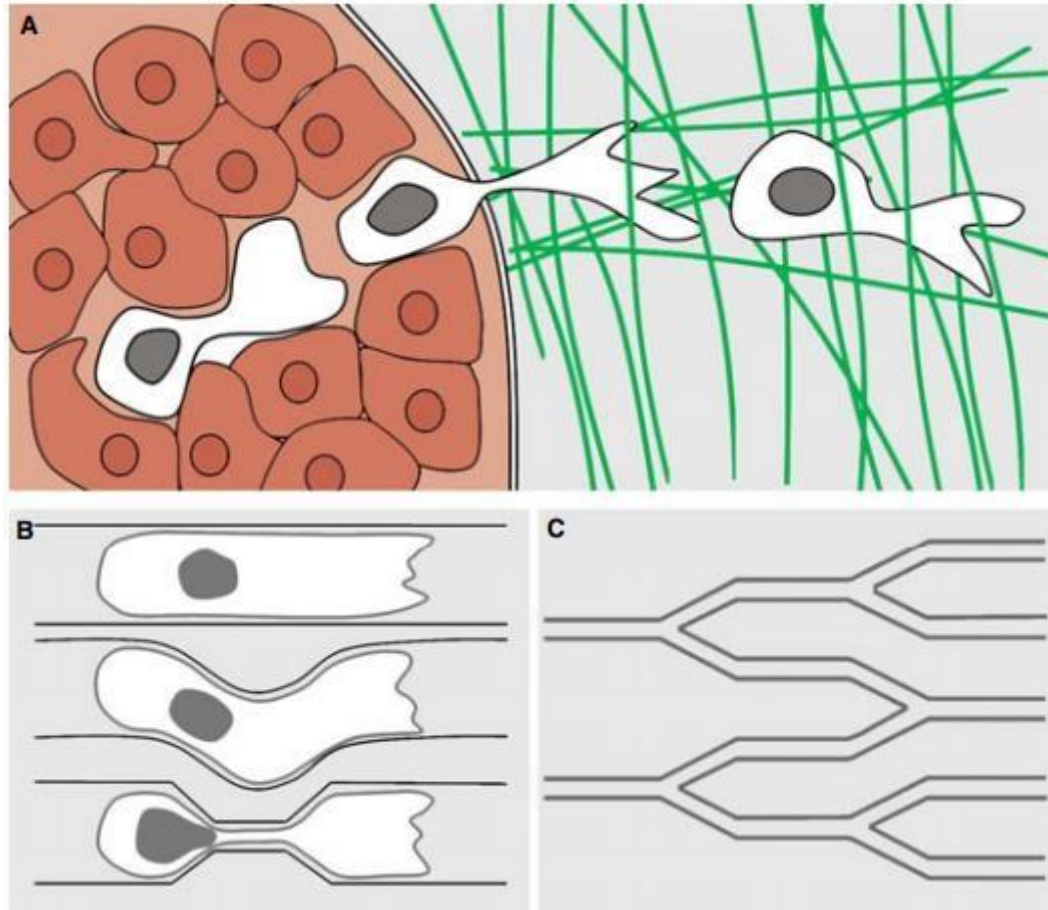


Figura 2: Migración *in vivo* e *in vitro*. La migración de las células en diferentes vasos con distintas geometrías les obliga a deformarse. (A) Las células han de migrar en diferentes ambientes confinados. (B y C) Simulación de distintas geometrías de sustratos para el estudio de la migración en ambientes confinados [10].

La novedad de este trabajo es la creación de varios modelos en diferentes ambientes confinados en 3D para comprender cómo la geometría del microambiente influye en la motilidad de las células cancerígenas y llegar a entender mejor su mecánica celular para saber por qué se deforman tanto este tipo de células.

LA CÉLULA

Para poder hacer un estudio sobre la mecánica celular y la motilidad de las células cancerosas es necesario conocer las características y partes de una célula. La célula es la unidad fundamental de los seres vivos que contiene el material necesario para mantener los procesos vitales. El tamaño de una célula depende de su función y puede variar desde una a cien micras [17].

La célula eucariota animal está formada por numerosas partes (Figura 4), para el estudio que se realiza en este trabajo nos centraremos en aquellas que desempeñan funciones que influyen en el comportamiento mecánico de la célula. Este tipo de células carecen de paredes celulares que las protejan como en el caso de las células vegetales, y, por tanto, requieren de otras estructuras especializadas para soportar las cargas mecánicas. Todas las células animales están encerradas dentro de una membrana celular que protege a la célula de la exposición al ambiente exterior y se encarga de controlar lo que entra y sale de la célula. El núcleo contiene el material genético [4]. Dentro de la membrana celular se incluye el citoplasma, una sustancia compuesta en su mayoría por agua donde se aloja el citoesqueleto (Figura 4). El citoesqueleto está compuesto de una red de proteínas filamentosas que incluye microtúbulos, filamentos intermedios y filamentos de actina. Sus principales funciones están relacionadas con la motilidad celular y los cambios de forma de la célula. Forma parte y controla características muy influyentes en la migración como la adhesión, la contracción de la célula y en la generación de diversas fuerzas mecánicas en respuesta a señales externas a ella [18]. Una breve explicación de los tres tipos de filamentos se detalla a continuación (Figura 3):

- Microtúbulos: miden aproximadamente 24 nm de diámetro, son relativamente gruesos e inflexibles y dominan los movimientos intracelulares, trabajan a compresión [21].
- Filamentos intermedios: de unos 10 nm de diámetro, corresponden a una familia de proteínas que varían de un tipo de célula a otro, son irregulares y flexibles, poseen rigidez principalmente a tracción [21].
- Filamentos de actina: miden de 7 a 9 nm de diámetro, son los encargados de mantener la forma de la célula, trabajan a tracción [21].

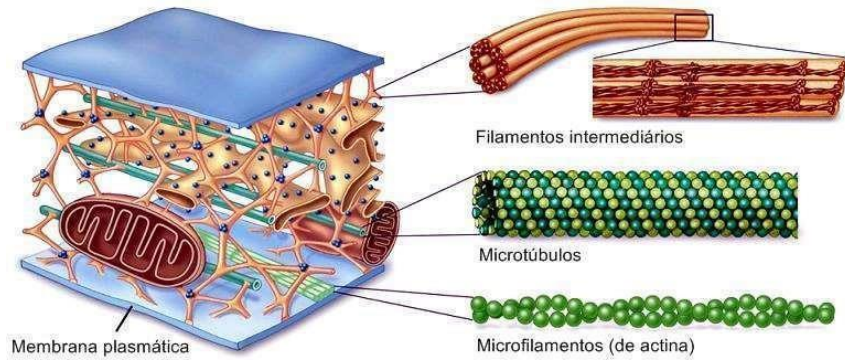


Figura 3: Red de proteínas que forman el citoesqueleto [22]

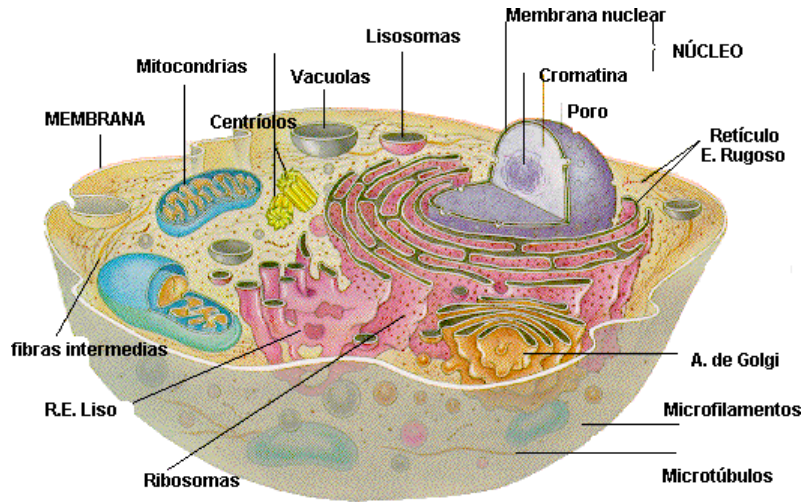


Figura 4: Partes de una célula eucariota animal [6]

MECÁNICA CELULAR

La mecánica celular estudia las propiedades mecánicas y el comportamiento de las células vivas y cómo se relacionan con la función celular. La migración celular es la que permite que se formen tejidos en diferentes procesos como la embriogénesis o la cicatrización de heridas. Sin embargo, errores durante este proceso pueden desencadenar en la formación de tumores y metástasis. Por ello, un conocimiento profundo de este campo es vital para desarrollar técnicas que permitan combatir estos problemas.

MECANISMOS DE MOTILIDAD CELULAR EN AMBIENTES CONFINADOS

Existen muchos tipos de migración celular dependiendo del entorno y las condiciones mecánicas que se den. En ambientes confinados tridimensionales, destacan dos modos de migración: basada en lamelipodios y migración ameboide. La primera está caracterizada por fuertes adhesiones a la matriz extracelular y la segunda por pocas adhesiones (Figura 5). Para el estudio que se está realizando nos centraremos en la primera.

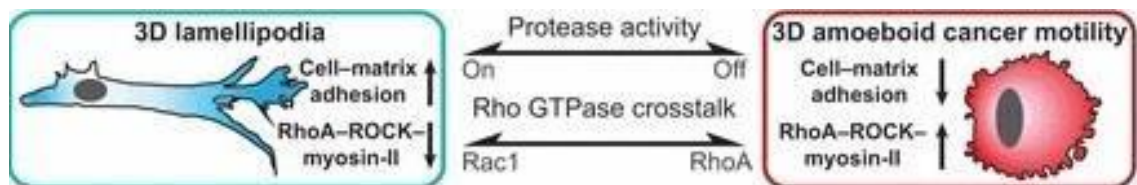


Figura 5: Migración celular basada en lamelipodios 3D vs migración de las células cancerosas ameboides.

Para que se produzca la migración celular basada en lamelipodios se debe producir una combinación entre la polimerización de la actina en la parte frontal de la célula y la contracción de la miosina en la zona trasera.

En una primera instancia está la actina globular (G-actina), un monómero que se localiza principalmente en las zonas cercanas al núcleo (Figura 6). Cuando la G-actina se desplaza a la parte frontal de la célula polimeriza, el monómero se une a otros monómeros convirtiéndose en filamentos de actina (F-actina). Estos filamentos son los responsables de empujar la zona frontal de la célula provocando su avance [5].

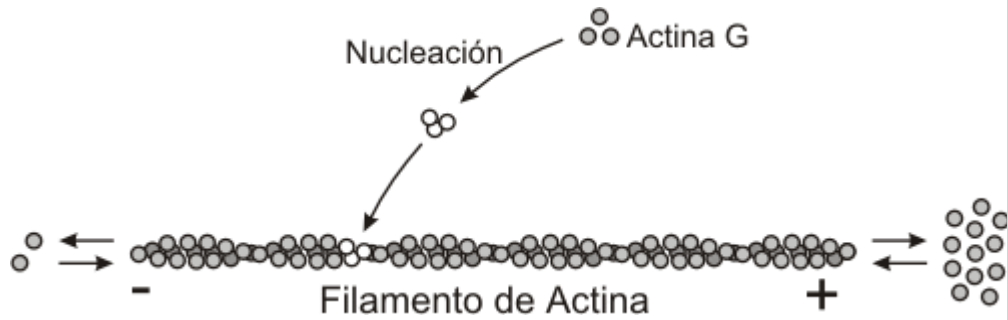


Figura 6: Esquema de polimerización de la actina. La G-actina es el monómero que por el fenómeno de nucleación se transforma en F-actina. Esta transformación puede ocurrir en sentido contrario, los filamentos de actina despolimerizan convirtiéndose en monómeros G-actina [5].

La distribución de la miosina no es uniforme, se concentra más en la zona de la cola y va disminuyendo conforme se acerca al núcleo [23].

Se ha observado que existen varios tipos de redes de F-actina diferentes [24], una se localiza en la parte frontal de la célula compuesta por filamentos de F-actina libres donde la polimerización es más rápida y orientada hacia el movimiento. Por otro lado, en la interfaz de la pared celular se encuentra la F-actina adherida compuesta por filamentos de actina orientados en dirección perpendicular al canal, siendo la polimerización de este tipo de actina más lenta. Estos dos tipos de actina, junto con la actina globular situada en las zonas cercanas al núcleo, componen todas las formas de actina que encontraremos en la célula [24].

Para que se dé la migración de la célula han de trabajar todos estos componentes. Por un lado, la polimerización de la actina libre localizada en el frente provoca una expansión de los filamentos que impulsa la célula hacia adelante. Por otra parte, los filamentos que componen la actina adherida orientados perpendicularmente a la pared celular hacen que la célula se adhiera al sustrato. La depolimerización de la actina que se produce en las zonas cercanas al núcleo convirtiéndose en actina globular provoca un fenómeno de contracción que también ayuda a la motilidad celular. Y por último la contracción de la miosina, provoca que se forme una cola y que la parte posterior de la célula también avance pudiéndose dar la migración.

La importancia de la coordinación entre la polimerización de la actina y la contracción de la miosina es un fenómeno bastante desconocido, pero lo que sí se sabe con certeza es que es necesaria la interacción de ambas para que se produzca la motilidad celular [5].

También se ha llegado a demostrar que el núcleo traduce los cambios de forma celular en una señal de deformación que regula el comportamiento celular (Figura 7). Los cambios en la forma celular inducen el despliegue de la membrana nuclear, esto provoca el estiramiento mecánico del núcleo en el reclutamiento de miosina a la corteza celular que regula la contractilidad del citoesqueleto de actina y el comportamiento celular. Los altos niveles de contractilidad conducen además a la transformación de las células móviles e inician la migración de las células ameboides [7].

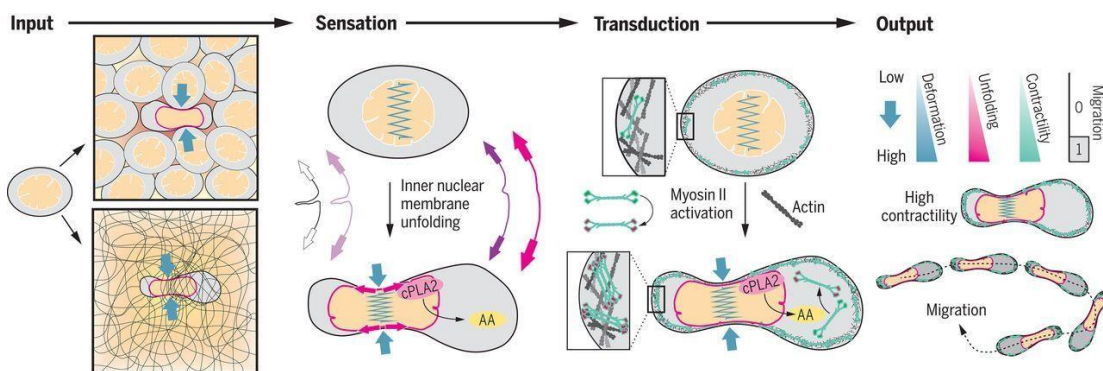


Figura 7: Los cambios en la forma celular inducen el despliegue y la activación de la membrana nuclear interna. Esto provoca el estiramiento mecánico en el reclutamiento de miosina II a la corteza celular que regula la contractilidad del citoesqueleto de actina y el comportamiento celular. Los altos niveles de contractilidad conducen aún más a la transformación de las células móviles e inician la migración de las células ameboides [7].

Otro factor relacionado con el núcleo es su tamaño, dado que es la parte más rígida de la célula, y su módulo de Young es aproximadamente un orden de magnitud superior al del citoplasma [6]. Esto se traduce en que cuanto mayor es su tamaño, mayores han de ser las fuerzas ejercidas por la combinación de actina-miosina para que la célula se desplace [20].

La fricción también juega un papel importante en la motilidad celular. Para migrar, las células deben ejercer fuerzas sobre el canal en el que están confinadas para impulsar el cuerpo celular hacia adelante. Los modelos clásicos de migración celular implican que la célula ha de adherirse al canal para poder avanzar. Sin embargo, estudios recientes indican que, en un confinamiento tridimensional, la migración se puede lograr sin adhesiones específicas. En este tipo de confinamiento se ha descubierto que la fricción que ejerce la célula al sustrato debido a la presión a la que está sometida por su confinamiento puede ayudar al movimiento [8] (Figura 8).

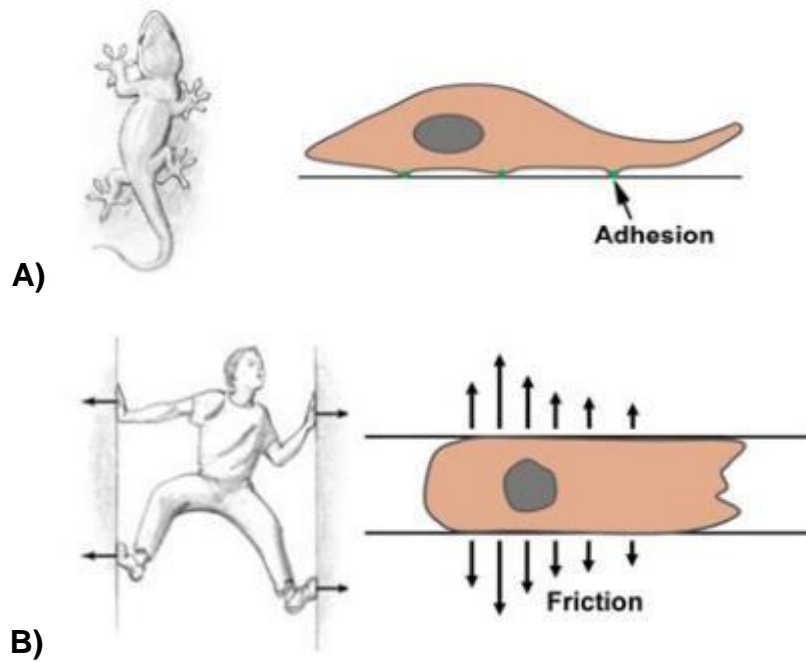


Figura 8: (A) El confinamiento en 2D necesita que la célula se adhiera al sustrato (B) En el confinamiento en 3D es necesaria la fricción, fuerzas perpendiculares a la superficie del canal para promover la motilidad [10].

ESTADO DEL ARTE

En los últimos años se han realizado numerosos estudios sobre la motilidad celular en ambientes confinados, sin embargo, la mayoría son trabajos en ambientes confinados en dos dimensiones analizando la adhesión de la célula al sustrato. Cada vez son más los experimentos que demuestran que los resultados obtenidos en ambientes en 2D son diferentes a los obtenidos en un confinamiento en 3D [8,9,13].

El trabajo realizado por Wilson *et al.* [24] se centra en el estudio de la dinámica de la actina en la parte frontal de las células cancerígenas durante su migración. Para ello imitaron un entorno en 3D utilizando canales de microfluídica con secciones transversales de 5x5 micrómetros.

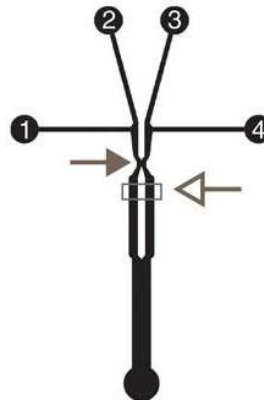


Figura 9: Dispositivo de microfluídica con cuatro entradas utilizado en los experimentos de Wilson *et al.* [24].

Mediante esta técnica pudieron observar que en la parte frontal de las células se formaba una zona rica en actina que ocupaba toda la sección transversal del canal y que estaba compuesta por dos redes diferentes de F-actina trabajando conjuntamente para empujar la célula hacia adelante. Una de ellas, la actina adherida, con una densidad de actina mayor polimeriza perpendicularmente a la pared celular ayudando a que la célula se mantenga pegada al sustrato. La otra, actina libre, con menor concentración polimeriza en la dirección longitudinal de la célula empujando el frente de la célula y promoviendo la migración.

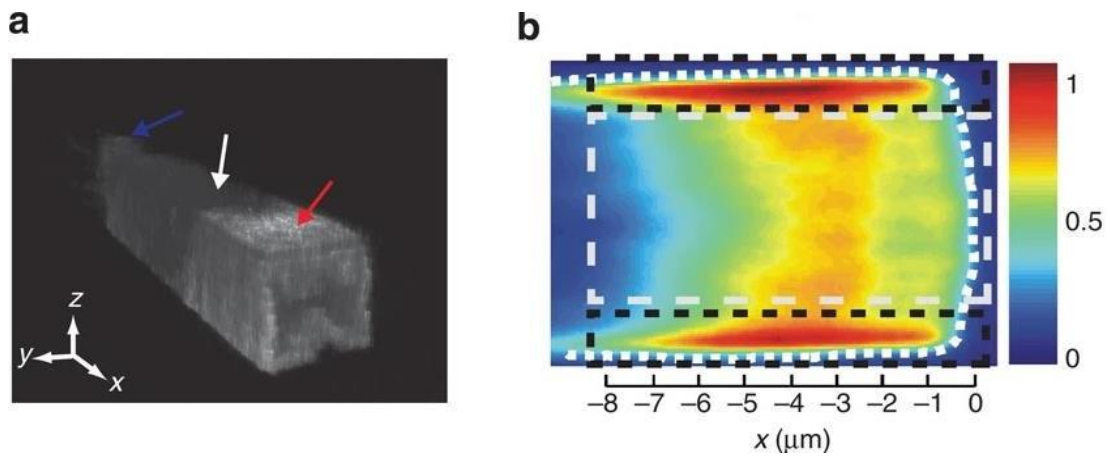


Figura 10: (a) Vista transversal de la célula. La flecha roja indica la parte frontal, una región altamente enriquecida en actina. Núcleo y cola señalados por las flechas blanca y azul respectivamente. (b) Distribución de concentración de actina. Las zonas encuadradas en negro corresponden a la F-actina adherida y la zona encuadrada en gris a la F-actina libre, la línea blanca delimita el contorno de la célula. Los colores cálidos indican aumentos en la densidad de actina y los fríos disminución [24].

Estos resultados les llevaron a proponer que en ambientes confinados la disposición geométrica de la polimerización de la F-actina en el frente celular da como resultado una interacción mecánica entre las redes de actina adherida y libre que genera las fuerzas necesarias para la migración. La polimerización perpendicular al canal de la actina adherida (Figura 11) hace que se forme una red de actina en las zonas pegadas a la pared celular comprimiendo la actina libre que se encuentra en la parte central del frente de la célula, impidiendo su movimiento hacia atrás y promoviendo la migración.

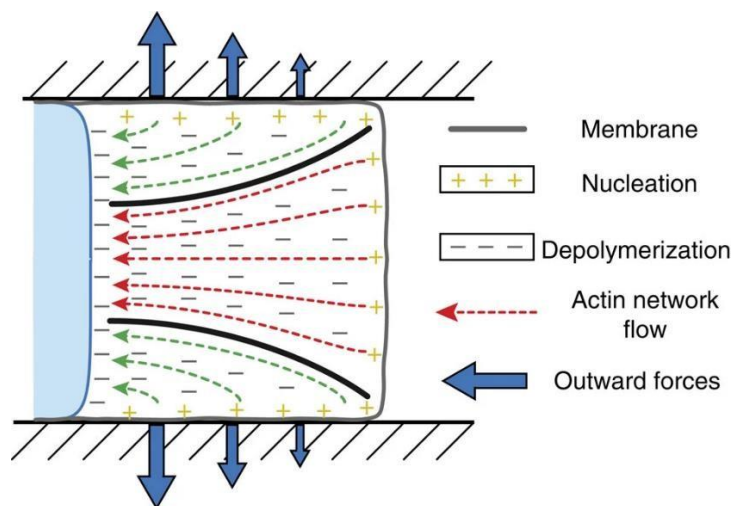


Figura 11: Esquema de la polimerización de las redes de actina libre y adherida. La polimerización perpendicular a las paredes del canal (verde) crea una constricción en la red de actina libre (rojo) evitando su movimiento hacia atrás [24].

Por otro lado, el estudio realizado por Reversat *et al.* [12] demuestra que algunas clases de células como las leucocitarias pueden migrar tanto en condiciones de baja adhesión como en ausencia de esta. Cuando las células se confinan en un espacio tridimensional crean fuerzas de fricción tangentes a las paredes del canal que permiten impulsar el cuerpo hacia adelante.

Para comparar las características de migración en 2D frente a las que se dan en 3D diseñaron, en primer lugar, un sistema microfluídico para confinar las células entre dos superficies paralelas separadas por un espacio ajustable (Figura 12).

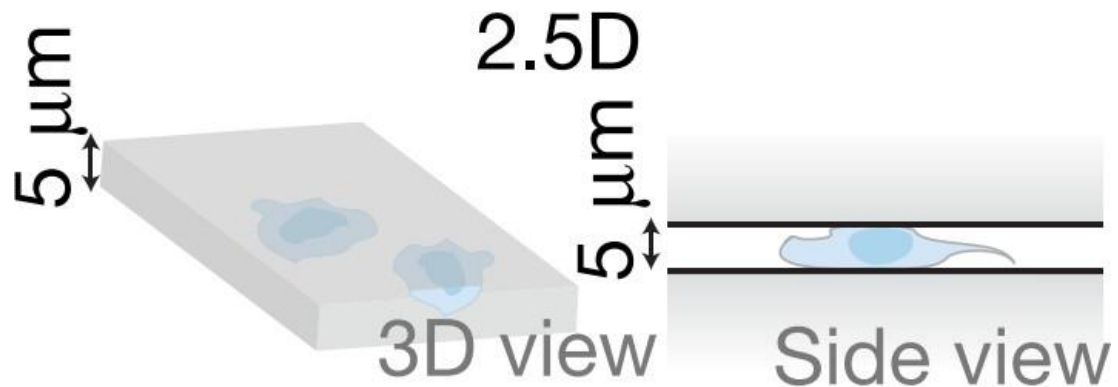


Figura 12: Células migrando en un espacio confinado en una dirección con un espesor de $5\ \mu\text{m}$ [12].

Posteriormente, crearon varios modelos de canales dentados que acababan en una superficie lisa (Figura 13) y observaron que, en los canales dentados y no lisos, las células creaban fuerzas de perpendiculares al sustrato impulsando su locomoción. Además, descubrieron que las células migraban a mayor velocidad cuando los sustratos tenían un periodo de onda menor y que conforme se iban suavizando las ondulaciones las células se ralentizaban siendo incapaces de entrar en la zona de paredes lisas.

También demostraron una dependencia lineal de la fuerza de propulsión con respecto a la velocidad del flujo de actina. El flujo de actina está basado en la polimerización en la parte frontal que impulsa la célula hacia delante y en la contracción de la miosina en la parte posterior. Al inhibir el efecto de la miosina

y observaron que las células seguían moviéndose mejor en los canales dentados.

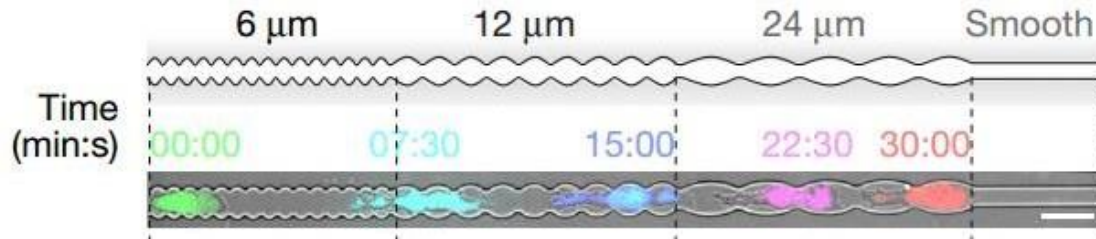


Figura 13: Esquema de un sustrato dentado con un periodo que va desde $6 \mu\text{m}$ a $24 \mu\text{m}$ con un espesor de $5 \mu\text{m}$. En la zona gris de la imagen célula migrando desde la zona de $6 \mu\text{m}$ a la zona lisa. Barra de escala $20 \mu\text{m}$ [12].

MATERIALES Y MÉTODOS

Este trabajo se centra en el estudio de la migración de las células cancerígenas en diferentes ambientes confinados, de forma que el punto de partida que se ha escogido para empezar la parte experimental es el estudio realizado por Reversat, *et. al.* [12]. En este trabajo se analiza el comportamiento de las células leucocitarias en diferentes ambientes confinados estudiando la influencia de la polimerización de la actina, el trabajo de contracción de la miosina y la geometría de los sustratos. Se demuestra que cuando las células se encuentran en entornos tridimensionales, son capaces de ayudarse de la geometría del sustrato y crear fuerzas de fricción que les permiten migrar [10]. Se crean varios modelos que simulan canales dentados con periodos de 6, 12 y 24 μm (Figura 14). Se observa que la capacidad migratoria de las células era mayor en los canales con mayor ondulación.

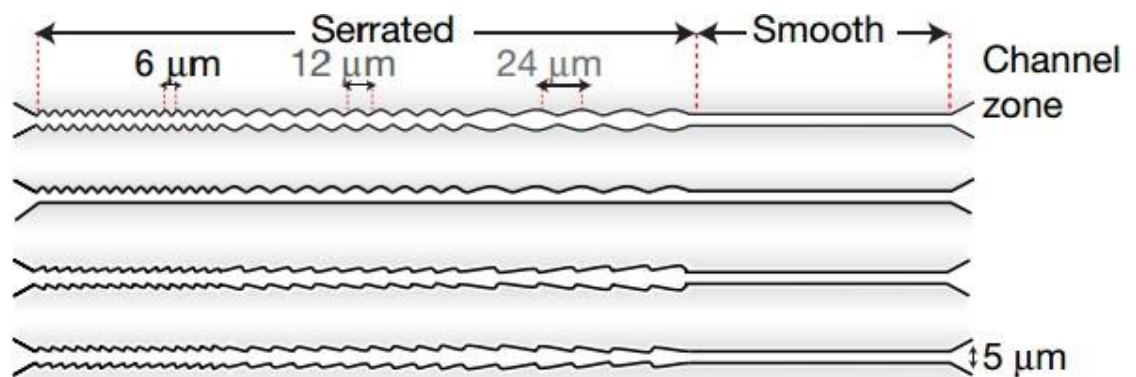


Figura 14: Geometría de los canales del estudio de Reversat *et al* (2020) [12].

Para poder simular el comportamiento de los diferentes parámetros que influyen en la motilidad celular (polimerización actina, contracción miosina, geometrías del sustrato...) se ha tenido que buscar un fenómeno mecánico cuyo comportamiento se asemeje al de cada uno de estos parámetros.

Polimerización de la actina y contracción de la miosina

La polimerización de la actina es un fenómeno en el que la actina globular situada cerca del núcleo va formando filamentos de actina creando redes de actina que provocan que la célula avance hacia el frente celular y hacia sus

lados. Este fenómeno supone un aumento de volumen de las células, por su formulación se utiliza el paralelismo con la expansión térmica que sufre un material, producida por un incremento de temperatura.

La miosina situada en la parte final de la célula provoca una contracción que hace que se forme la cola de la célula. Es un fenómeno parecido al de la polimerización de la actina, salvo que en este caso es una contracción que decreta el volumen por lo que de nuevo se utiliza el paralelismo con las ecuaciones de deformación por temperatura por medio de incrementos de temperatura negativos.

Partes de la célula

La célula está formada por varias partes, desde un punto de vista mecánico se van a diferenciar el núcleo y el citoplasma. El citoplasma se puede dividir en varias zonas dependiendo de la red de actina o de la miosina que se encuentre en esa zona. En la parte delantera de la célula encontramos la red de F-actina libre, en la interfaz con el canal se encuentra la red de F-actina adherida y entre la actina libre y el núcleo encontramos actina en forma globular debido a la depolimerización producida. Y, por último, en la zona final de la célula se encuentra la miosina (Figura 15).

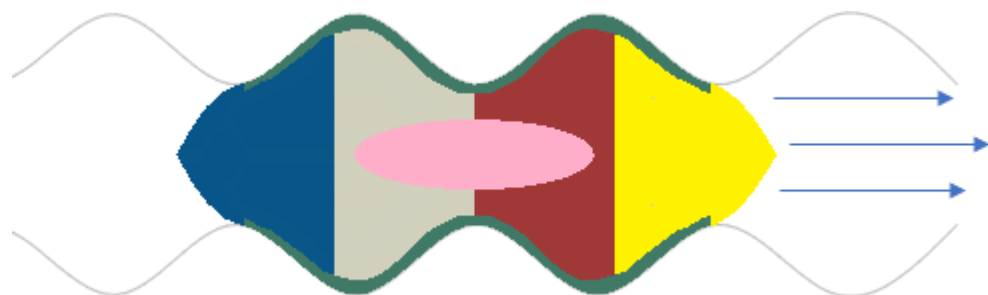


Figura 15. Diferentes partes de la célula consideradas en el modelo: núcleo (rosa), red de F-actina adherida (verde), miosina (azul), actina globular (rojo) y actina libre (amarillo).

El núcleo es la parte más rígida de la célula, se ha estimado que su módulo de Young es diez veces superior al del citoplasma [11]. El citoplasma tiene una rigidez mucho menor, sin embargo, las zonas compuestas por F-actina y miosina tienen una rigidez superior, por ello su módulo de Young será mayor al del resto

del citoplasma. La zona de la actina globular al no estar compuesta por filamentos de actina, que son los que le dan rigidez a la célula, se va a suponer con una rigidez menor que las zonas formadas por F-actina y miosina por lo que su módulo de Young será menor.

La polimerización de la F-actina libre en el frente, en el que los filamentos de actina se orientan a lo largo del eje longitudinal empujando la célula hacia adelante, junto con la contracción de la miosina en la cola, le confiere un comportamiento ortótropo a la célula en el eje longitudinal de la célula. Por ello las zonas de actina libre y miosina (Figura 15) pueden suponerse con un coeficiente de expansión ortótropo en el eje vertical. Esta hipótesis no se aplica al núcleo ya que ningún proceso de polimerización o contracción tiene lugar, por lo tanto, se le aplica un coeficiente de expansión nulo. En la zona de actina adherida, en la que sus filamentos se orientan en el eje transversal perpendicularmente a la pared celular, se propone poner un coeficiente de expansión ortótropo en el eje transversal. Se ha observado que no hay cambios influyentes al poner un coeficiente ortótropo en el eje horizontal por tanto se ha optado por un coeficiente de expansión isótropo por simplicidad.

En la Tabla 1 se muestran las propiedades de los materiales que componen cada zona detallada anteriormente:

	Módulo elástico (KPa)	Coefficiente de Poisson	Coefficiente de expansión
Núcleo	2	0.45	0
Citoplasma	0.8	0.45	1 (ortótropo)
Actina globular	0.5	0.45	1 (ortótropo)
Actina adherida	0.8	0.45	1 (isótropo)

Tabla 1: Propiedades de los materiales

Geometría

Otra de las novedades de este trabajo fin de grado, es que se estudia la motilidad celular en un ambiente confinado en el que el sustrato no es liso, sino que tiene una geometría irregular. A la hora de determinar la geometría y siguiendo la base del trabajo realizado por Reversat, *et. al.* [12] se han creado tres modelos diferentes. La longitud de todos los canales será de $72 \mu\text{m}$. Cada canal dentado tendrá un periodo de 6, 12 y $24 \mu\text{m}$ respectivamente. Las dimensiones de la célula se basan en los experimentos *in vitro* mostrados en el artículo de Berget *et al.* [8].

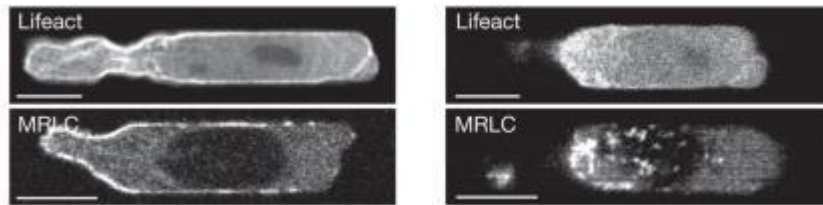


Figura 16: Sección transversal de una célula captada *in vitro* migrando en canales confinados. Escala= $10 \mu\text{m}$ [8].

La longitud de la célula será de $30 \mu\text{m}$, y se diferencian dos zonas, el citoplasma y el núcleo. Tanto el volumen de la célula como el del núcleo se mantienen iguales en los tres modelos (Figuras 17, 18 y 19).

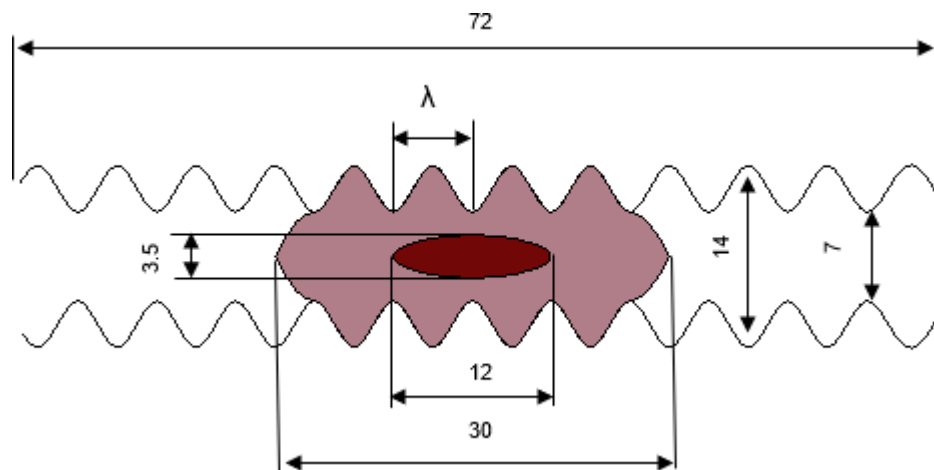


Figura 17: Esquema geometría sustrato y célula $\lambda=6 \mu\text{m}$

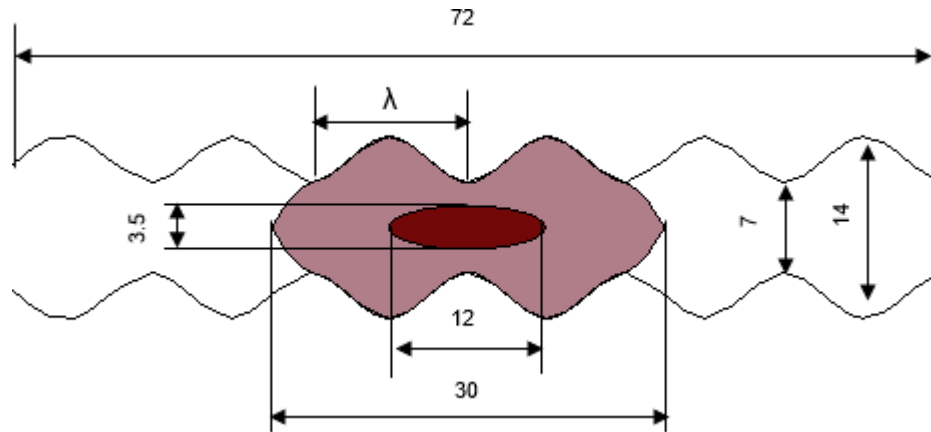


Figura 28: Esquema geometría sustrato y célula $\lambda=12 \mu\text{m}$

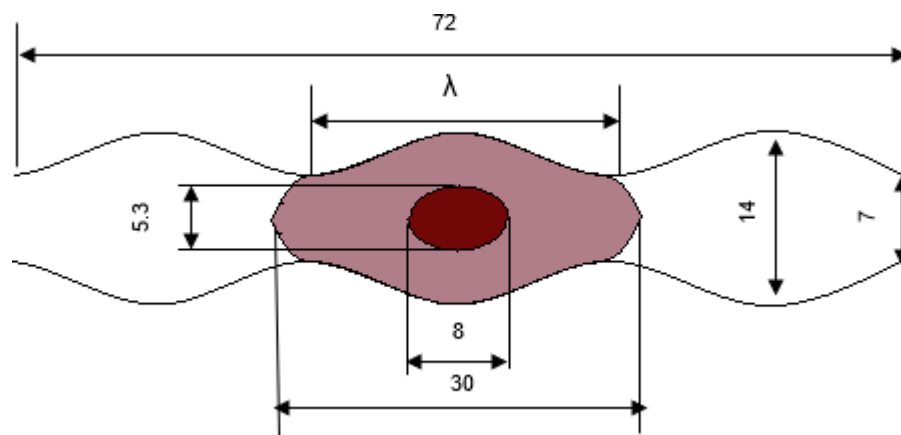


Figura 39: Esquema geometría sustrato y célula $\lambda=24 \mu\text{m}$

Modelado por Elementos Finitos

El estudio experimental de este Trabajo de Fin de Grado se ha realizado simulando el problema mediante Elementos Finitos (EF) en el software comercial Abaqus. Dada la simetría de revolución del problema se han realizado tres modelos axisimétricos compuestos por un sustrato y una célula cuyas geometrías son las detalladas en el apartado anterior (Figuras 17, 18 y 19). El sustrato, por un lado, se ha simulado como un sólido rígido, ya que su rigidez es muy superior a la de la célula y no sufre apenas deformación al paso de la célula. Por otro lado, la célula se divide en dos áreas núcleo y citoplasma (figura 20).

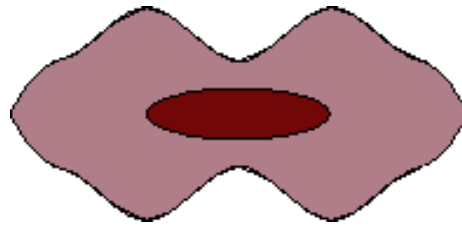


Figura 20: Áreas de la célula modeladas en Abaqus para un periodo de onda de $12 \mu\text{m}$ (rojo núcleo, rosa citoplasma).

El citoplasma a su vez se divide en varias zonas, actina libre, actina adherida, actina globular y miosina (Figura 15). A cada parte de la célula se le ha asignado un material determinado en función de las propiedades mecánicas de cada zona (Tabla 1).

Dada la simetría de revolución del canal y de la célula se ha simulado sólo una sección del modelo aplicando axisimetría.

Las deformaciones que sufre la célula durante el proceso de migración son superiores al 20%, por lo que todas las simulaciones se realizarán en grandes deformaciones, actualizando por tanto la configuración de la célula.

1. Mallado

La célula se ha mallado con elementos triangulares lineales ya que son los que mejor se adaptaban a la geometría de los modelos con un tamaño de elemento de $0.5 \mu\text{m}$. El canal se ha mallado con elementos unidimensionales rígidos.

2. Condiciones de contorno

El canal no se mueve por lo que se ha impedido el movimiento en un punto de referencia localizado en el canal (Figura 21).

La célula se considera en contacto con el canal por medio de un contacto con fricción creando fuerzas perpendiculares entre el sustrato y la célula asegurando el confinamiento. El coeficiente de fricción entre la célula y el sustrato es un parámetro del modelo.

3. Pasos de cálculo y cargas

Para simular la migración de una célula cancerígena confinada en un

sustrato partimos de que la célula se encuentra en un estado libre de tensiones, es decirno está sometida a ninguna fuerza provocada por el confinamiento. Se distinguen dos pasos de cálculo diferentes.

Primero, la célula ha de hacer contacto con en el canal, el cual tiene una sección transversal menor que la de la célula. Para ello, se aplica una presión uniforme (0.01 kPa) en toda la superficie externa de la célula (Figura 21).

Una vez la célula está dentro del canal, se quita esta presión y la célula se adapta a la geometría del canal consiguiéndose el contacto de ambas superficies.

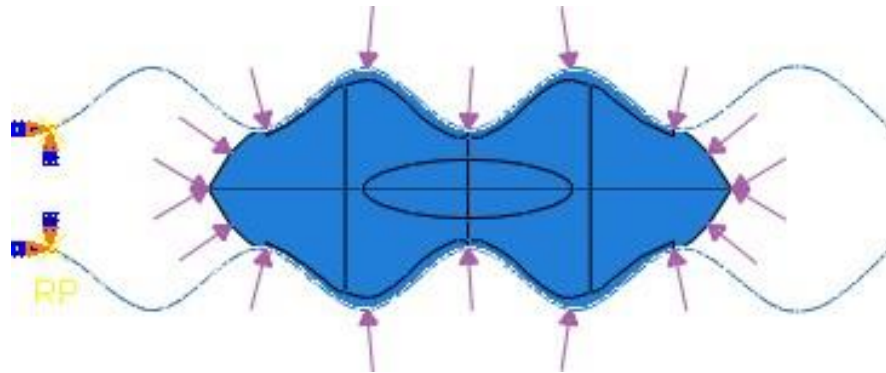


Figura 21: Presión de 0.01 kPa aplicada en la superficie celular. RP, punto de referencia escogido para anclar el canal e impedir su movimiento. (El modelo se ha simulado como axisimétrico, se representa en la figura la sección completa de célula y canal)

Tras la finalización de estos pasos se consigue establecer el contacto de ambas superficies.

En los tres modelos ($\lambda=24 \mu\text{m}$, $\lambda=12 \mu\text{m}$ y $\lambda=6 \mu\text{m}$) se ha establecido un contacto entre las dos superficies de forma que la célula es la que se mueve frente al canal que está fijo. Se ha establecido un coeficiente de fricción entre las dos superficies que favorece la migración [10,13]. Se ha realizado un estudio de sensibilidad del coeficiente de rozamiento hasta encontrar el valor más favorable para la migración siendo éste de 0.22.

Una vez establecido el contacto, se crea el siguiente paso de cálculo en el que se simula la migración de la célula. En este punto entran en juego la combinación de la actina y la miosina [5]. La polimerización de la actina en el frente, en el que la actina globular (G-actina) se une formando polímeros (F-actina) provoca una expansión que hace que la célula avance. Mientras que el

trabajo de contracción de la miosina hace que se forme la cola de la célula ayudando a la célula a avanzar. Así, se aplica a diferentes partes de la célula incrementos o decrementos de volumen por medio de las ecuaciones de expansión térmica a través de incrementos de temperatura positivos o negativos dependiendo de la función a simular, tal y como se ha explicado en la sección de materiales y métodos. Otro factor que se ha tenido en cuenta es que en varios experimentos [25] se ha observado que, en un primer momento, cuando la célula se dispone a migrar y empiezan a trabajar la actina y la miosina lo primero que se produce es la formación de la cola de la célula. Por ello se ha dividido este paso “migración” en dos partes, una donde solo trabaja la miosina y otra en la que sigue trabajando la miosina junto con la actina.

Miosina

La concentración de la miosina es máxima en el extremo final de la célula y conforme se va acercando al núcleo se reduce [23], se aproxima a un comportamiento lineal. Por ello, para crear el efecto de la contracción que provoca el trabajo de la miosina y a su vez simular ese cambio de concentración que sufre, a la zona que delimita la miosina (Figura 15) se le aplica un incremento de temperatura negativo que se asume que varía linealmente en función de su coordenada vertical. De forma que el decremento de temperatura será máximo en el extremo final de la célula y se irá haciendo más pequeño conforme avanza por el eje vertical hasta hacerse nulo cuando ya no se encuentra en la zona de la miosina. La ecuación propuesta que sigue este comportamiento es:

$$\Delta T = k_p \cdot d_n(\mathbf{x}) \quad (\text{ec.1})$$

Donde $k_p = -0.1$ es la constante de polimerización, d_n la distancia en la dirección longitudinal al centro del núcleo la longitud desde el punto (\mathbf{x}) perteneciente a la zona de la miosina.

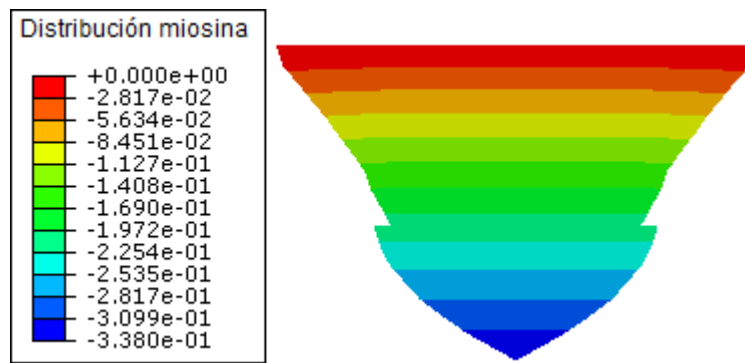


Figura 22: Zona de la miosina a la que se le ha aplicado un decremento de temperatura en función de su coordenada longitudinal, siendo máximo en el extremo final con un decremento de 0.4°C.

Las condiciones expuestas serían las iniciales, en cada incremento de cálculo la coordenada de referencia ha de actualizarse así como las coordenadas de la zona de la miosina debida a la deformación. Para ello se ha creado una subrutina (UTEMP) en la que se aplica el decremento de temperatura en cada nodo dependiente de la coordenada actualizada del extremo inferior del núcleo y del punto considerado.

Actina

En la segunda parte de este paso se introducen los incrementos de temperatura que simulan la polimerización y depolimerización de la actina.

En la zona frontal de la célula se localiza la actina libre, es la zona con la mayor concentración de F-actina, es decir donde más polimerización se produce por lo que el incremento de temperatura será mayor. Conforme nos acercamos al núcleo esa densidad se va reduciendo debido a la depolimerización. Al igual que con la miosina el efecto de la polimerización se asemeja a un incremento de temperatura lineal dependiente de su coordenada vertical. Por lo que se ha creado una función igual que en el caso de la miosina (ec. 1) que afecte a esta zona de forma que en la parte frontal de la célula el incremento de temperatura sea el máximo y cerca del núcleo incremento es menor.

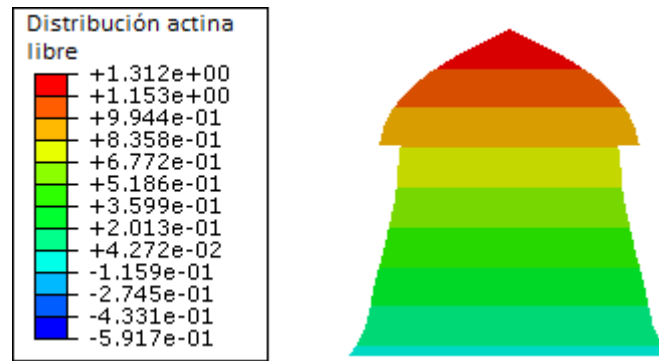


Figura 22: Distribución de actina libre a la que se le ha aplicado un incremento de temperatura en función de su coordenada longitudinal.

La actina adherida se sitúa pegada a la pared celular por los laterales de la célula sin llegar al frente y acabando antes de llegar a la cola [12]. En esta zona la actina polimeriza ejerciendo fuerzas perpendiculares al canal asegurando que se mantenga el contacto entre la célula y la pared. Se ha establecido un incremento de temperatura positivo que no depende de ninguna función lineal, pero sin llegar a ser muy alto ya que la densidad de actina en esta zona es menor y cabe la posibilidad de que el núcleo se deforme.

Para poder comparar el comportamiento de los tres modelos se les ha aplicado los mismos incrementos de temperatura siendo $-0.6\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la miosina, $-0.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la actina globular, $0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la actina libre y $0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en la actina adherida.

Tras el establecimiento de todas estos pasos y cargas se simula por completo la motilidad celular en un ambiente confinado.

RESULTADOS

Se van a detallar a continuación, para los tres modelos simulados los resultados obtenidos. Se estudiará el efecto de la miosina, de la actina adherida y la actina libre en su conjunto y de forma separada con el fin de ver cómo afectan al proceso de migración en los distintos canales.

Se va a partir de un modelo con miosina variable en función de su coordenada transversal, actina libre también variable en el frente y actina adherida localizada pegada a la pared celular a los lados de la célula (Figura 15).

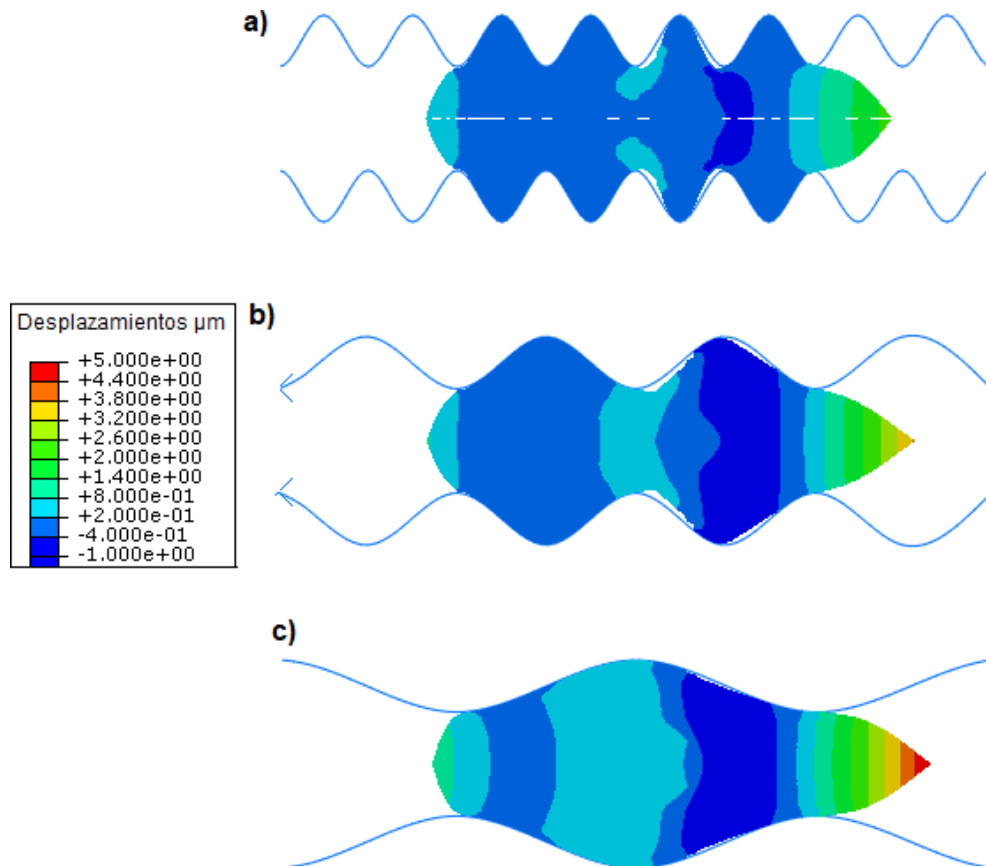
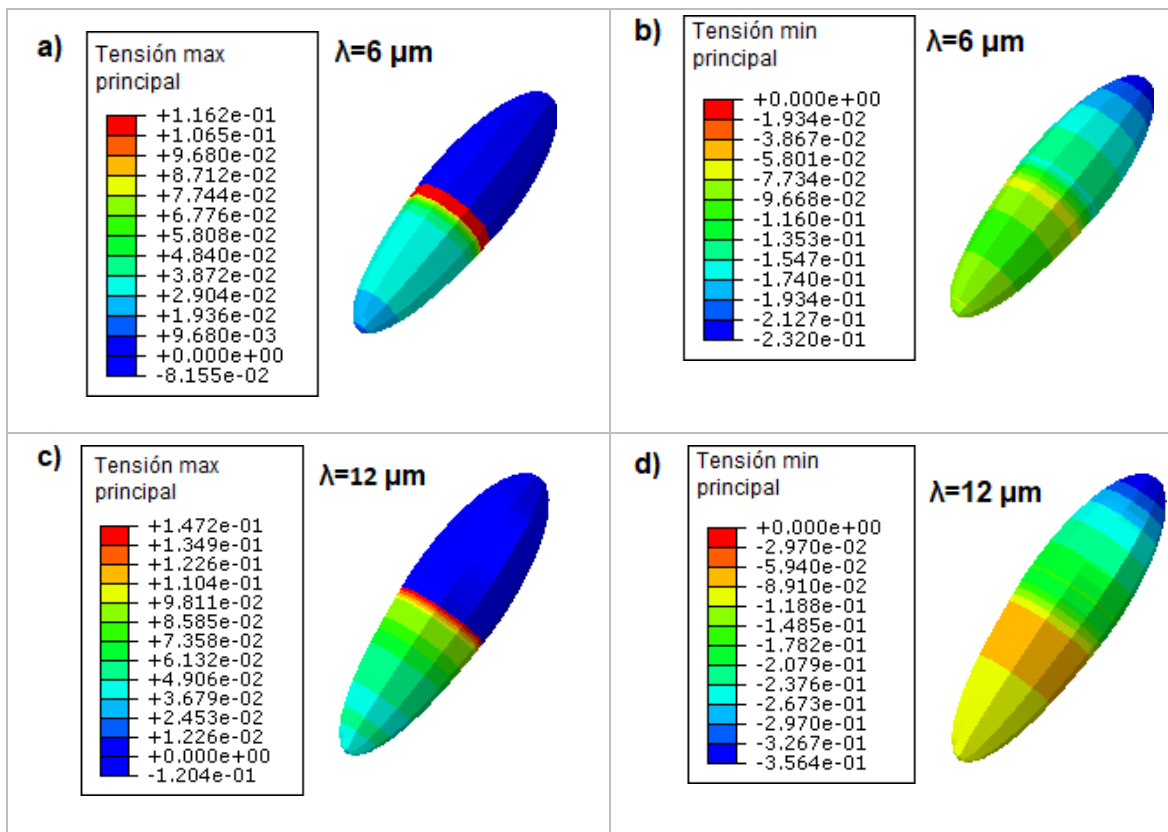


Figura 23: Desplazamiento (μm) en el eje longitudinal de la célula, a) modelo con $\lambda=6 \mu\text{m}$, b) modelo con $\lambda=12 \mu\text{m}$ y c) modelo con $\lambda=24 \mu\text{m}$.

Se observa que el modelo que más se desplaza es el que tiene un periodo de onda más grande ($\lambda=24 \mu\text{m}$) y el que menos el que tiene un periodo de onda menor ($\lambda=6 \mu\text{m}$). En los tres modelos se alcanza el desplazamiento máximo en la

zona frontal de la célula debido a la polimerización de la actina libre, seguido por la zona del núcleo y la cola, esta última debida al trabajo de contracción de la miosina. Se puede observar que en los modelos con menor longitud de onda del canal ($\lambda=6 \mu\text{m}$ y $12 \mu\text{m}$) en las zonas intermedias la célula se despega del canal, esto puede ser debido a que al tener distintas geometrías la concentración de actina adherida cambia de una a otra, provocando que en algunos casos ese volumen de actina adherida se reduzca y no sea suficiente como para empujar la célula hacia los lados para mantener el contacto entre el canal y la célula.

El comportamiento del núcleo en la migración celular es decisivo [7], es un elemento pasivo, es decir, en él no se producen fuerzas mecánicas que promuevan el movimiento celular, sino que ha de ser empujado por el efecto de tracción y compresión de la actina y miosina.



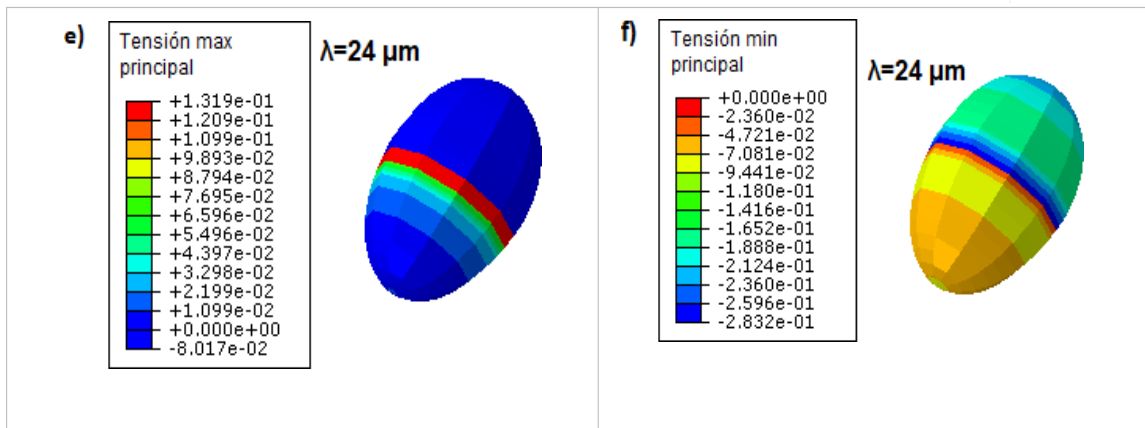


Tabla 2: Tensiones principales (kPa) en el núcleo.

Las imágenes a), c) y e) de la tabla 2 muestran las tensiones máximas principales en el núcleo, en los tres modelos se observa que la mitad superior está sometida a compresión mientras que la inferior a tracción, las tensiones son de la orden de 0.1 a 0.01 KPa.

Las imágenes b), d) y f) contienen las tensiones mínimas principales las cuáles son todas a compresión. Las máximas compresiones se dan en el modelo con una longitud de onda $\lambda=12 \mu\text{m}$.

Influencia de la miosina

A continuación, se muestran algunos resultados obtenidos en el caso de que no intervenga la miosina en la migración. En este caso solo se activa la polimerización y despolimerización de la actina omitiendo el efecto que produce en la motilidad de la célula la contracción de la miosina.

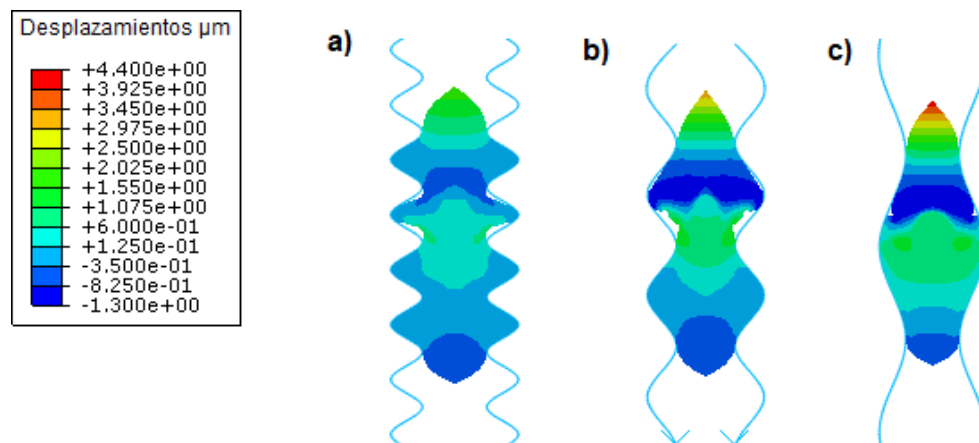


Figura 24: Desplazamiento en el eje longitudinal de la célula omitiendo el efecto de contracción de la miosina, a) modelo con $\lambda=6 \mu\text{m}$, b) modelo con $\lambda=12 \mu\text{m}$ y c) modelo con $\lambda=24 \mu\text{m}$.

Se observa que el desplazamiento en el frente celular es prácticamente el mismo incluso algo superior que en el caso con actina y miosina (figura 24), sin embargo, en ninguno de los tres casos se produce la contracción en la zona posterior de la célula necesaria para favorecer el avance de todo el cuerpo de la célula, no solo de la parte delantera, la parte posterior se desplaza en sentido contrario al avance de la célula.

Debido a que en este caso no interviene el trabajo de la miosina las fuerzas de contracción en la zona de la cola y en la zona posterior del núcleo no son suficientes para promover el avance de la célula. Lo que sucedería a la larga es que la parte frontal de la célula seguiría avanzando mientras que la posterior no sería capaz de hacerlo, por tanto, la célula se alargaría, pero no se movería.

En la figura 15, se van a mostrar los tres modelos en caso de que la distribución de la miosina no dependa de la coordenada vertical, sino que sea constante en toda la zona de la miosina con un decremento de temperatura de 0.5 °C.

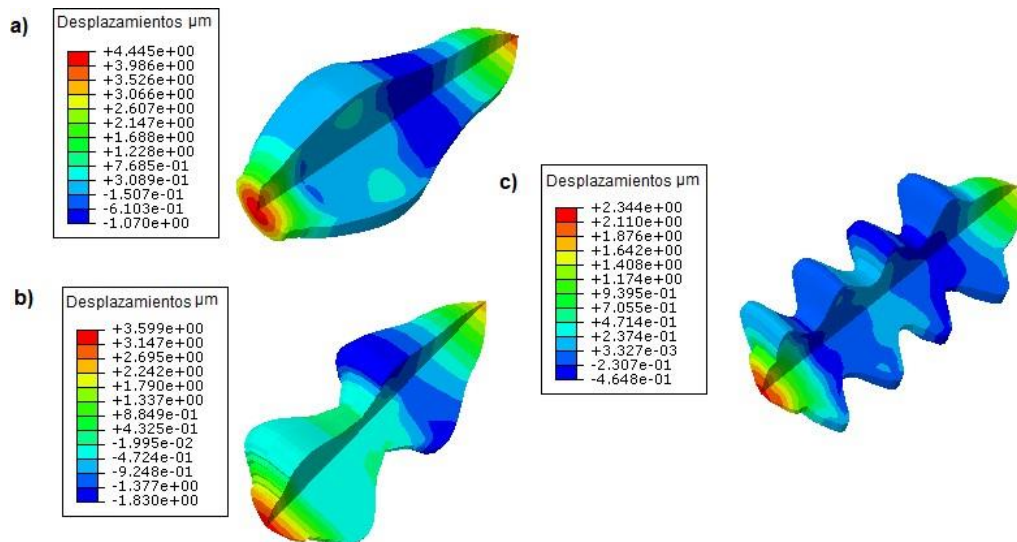


Figura 25: Desplazamiento en el eje longitudinal de la célula con un trabajo de contracción de la miosina constante, a) modelo con $\lambda=24 \mu\text{m}$, b) modelo con $\lambda=12 \mu\text{m}$ y c) modelo con $\lambda=6 \mu\text{m}$.

En la figura 25 se puede observar que la zona que más se desplaza es la cola, esto es debido a que una distribución constante genera una contracción muy alta en la parte posterior de la célula. Sin embargo, las zonas centrales del cuerpo de la célula donde se sitúa el núcleo no se desplazan a la par que la cola

y que el frente, sino que se desplazan más lentamente. Por lo tanto, lo que sucede es que la parte frontal de la célula seguirá avanzando, pero el núcleo se verá arrastrado hacia atrás por las fuerzas de contracción de la miosina provocando que la célula se estire pero que no haya un desplazamiento uniforme hacia adelante.

Influencia de la fricción

Las fuerzas de fricción que se producen entre el sustrato y la célula son necesarias para la motilidad celular. En los modelos anteriores el coeficiente de fricción establecido era de 0.22, ahora se presentan dos casos diferentes, uno con un coeficiente de fricción menor de 0.1 y otro mayor de 0.27 para permitir evaluar la influencia de esta propiedad (figuras 26, 27 y 28).

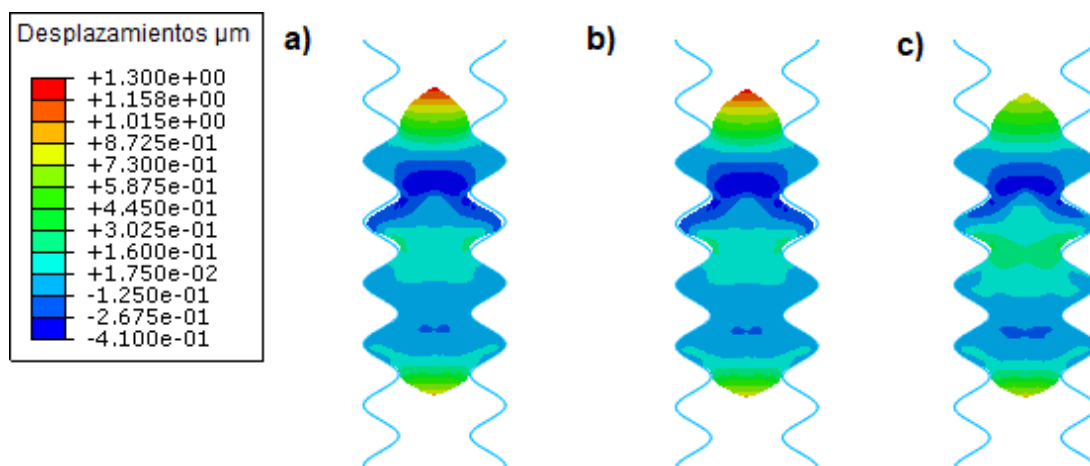


Figura 26: Desplazamiento (μm) en el eje longitudinal de la célula del modelo con $\lambda=6 \mu\text{m}$. La imagen a) tiene un coeficiente de fricción de 0.27, la b) de 0.22 y la c) de 0.1.

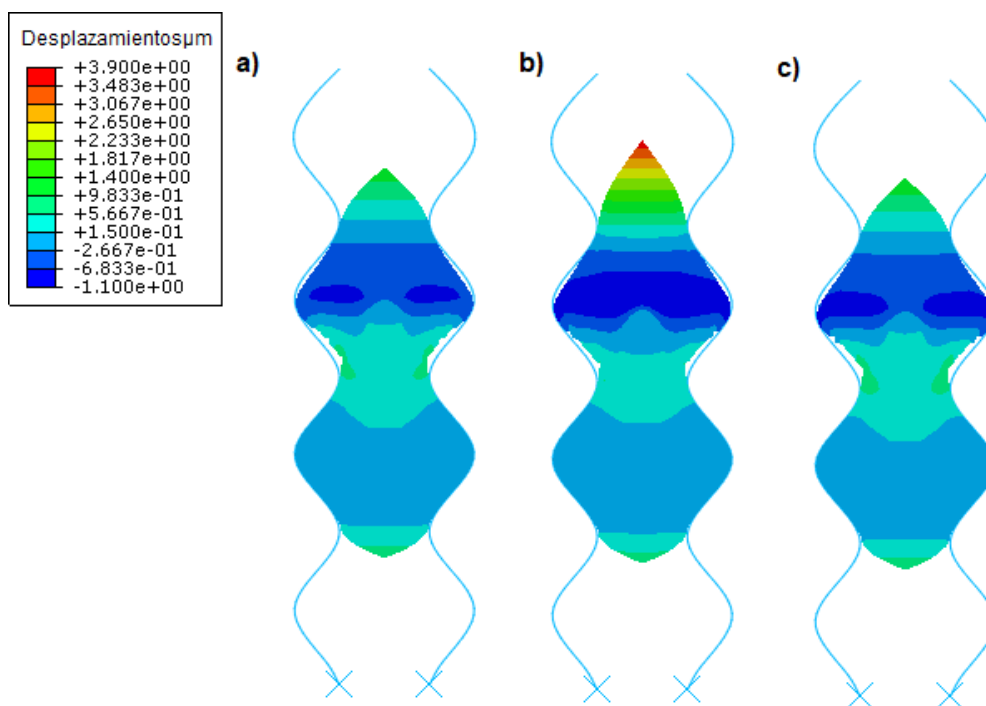


Figura 27: Desplazamiento (μm) en el eje longitudinal de la célula del modelo con $\lambda=12 \mu\text{m}$. La imagen a) tiene un coeficiente de fricción de 0.27, la b) de 0.22 y la c) de 0.1.

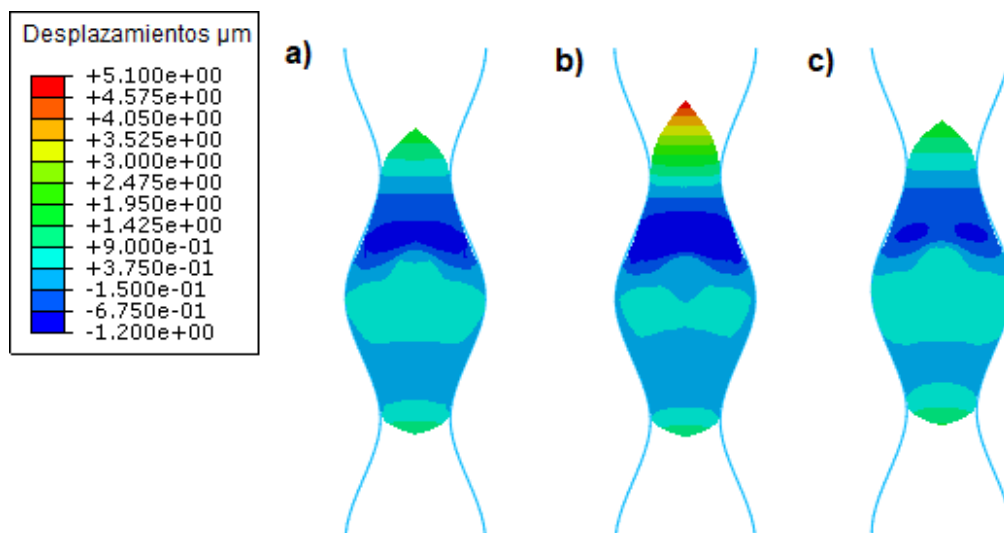


Figura 28: Desplazamiento (μm) en el eje longitudinal de la célula del modelo con $\lambda=24 \mu\text{m}$. La imagen a) tiene un coeficiente de fricción de 0.27, la b) de 0.22 y la c) de 0.1.

En este caso se observa que cuando el coeficiente de fricción es menor el desplazamiento de la célula se reduce.

En el caso en que el coeficiente de fricción es mayor se observa que el desplazamiento es muy parecido al caso original en el modelo con $\lambda=24 \mu\text{m}$, pero

en las otras dos geometrías se observa claramente que el caso que más se desplaza se produce cuando el coeficiente de fricción es de 0.22. Se puede concluir que en la migración celular son necesarias las fuerzas de fricción entre la pared del canal y la membrana celular, siendo el coeficiente de fricción no muy reducido como para no ayudar al avance ni tampoco muy grande como para impedir la migración.

Influencia de la actina adherida

Ahora se va a presentar el caso en que la actina adherida no intervenga.

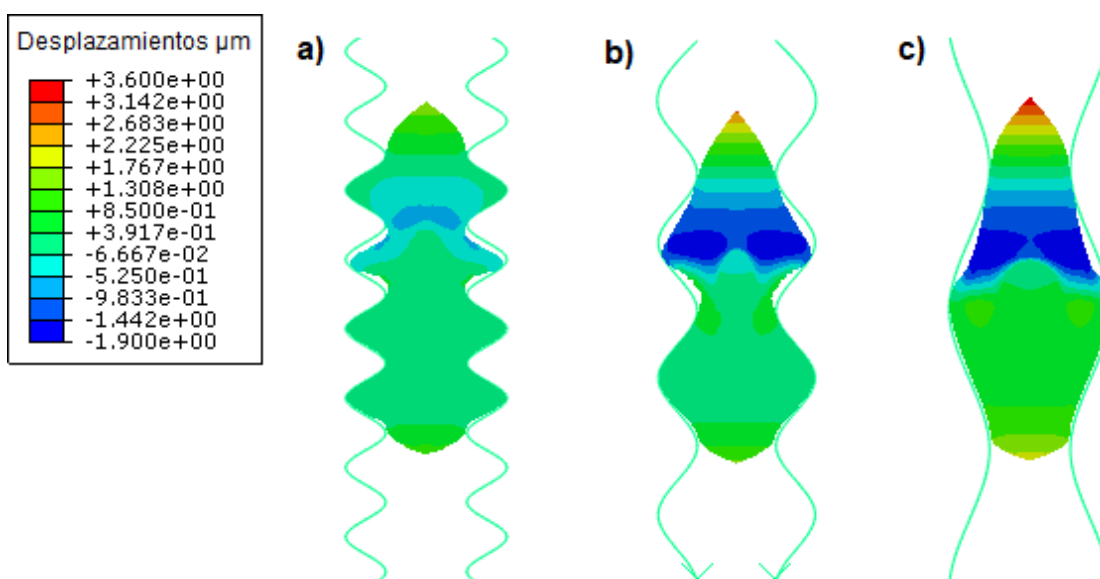
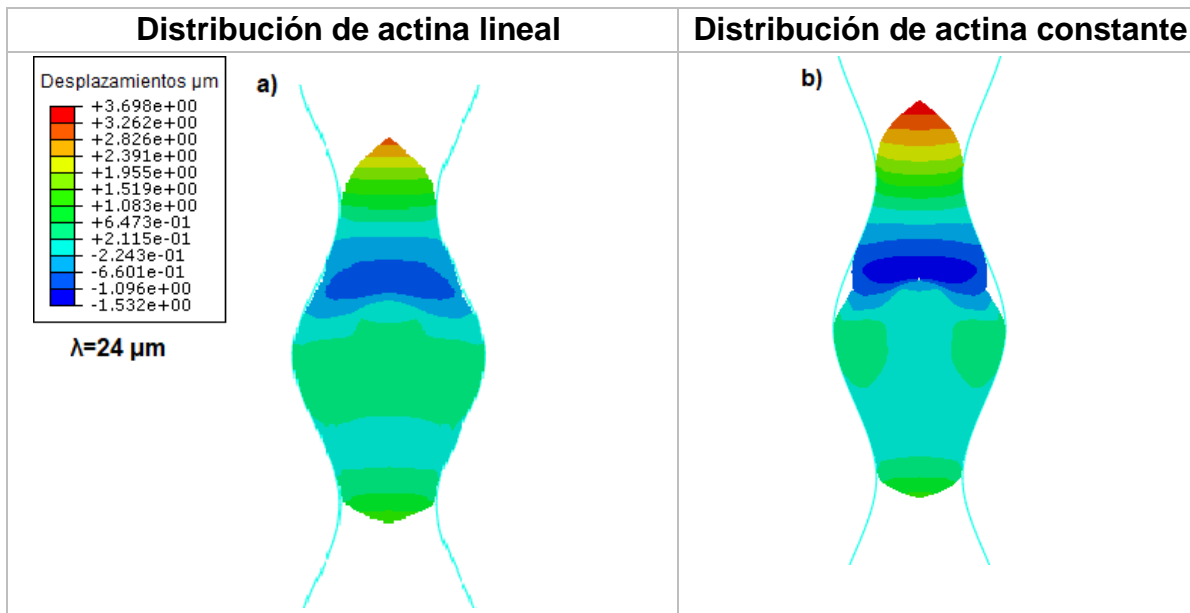


Figura 29: Desplazamiento en el eje longitudinal de la célula omitiendo el efecto la actina adherida, a) modelo con $\lambda=6 \mu\text{m}$, b) modelo con $\lambda=12 \mu\text{m}$ y c) modelo con $\lambda=24 \mu\text{m}$.

En la figura 29 se puede observar que la función de la actina adherida no es solo importante para el avance celular, también lo es para que la célula se mantenga en contacto con el sustrato ya que es un factor clave para que se dé la migración celular. En la zona en la que se encuentra la actina globular al estar sometida aun decremento de temperatura se produce una contracción y por tanto la célula se despegar del canal, la función de la actina localizada a los costados de la célula es la de intentar mantener ese contacto. Sin embargo, en el caso de que actina adherida no actúe, la célula se despegar del canal (Figura 27), por tanto, las fuerzas de fricción necesarias para el avance son nulas en esa zona y por consecuencia el desplazamiento se reduce.

Influencia de la actina libre:

A continuación, se va a estudiar la importancia de la polimerización de la actina en el frente de la célula para ello se han obtenido resultados en caso de que la actina libre sea constante y no dependa de su coordenada longitudinal (tabla 3).



CURSO 2020/2021

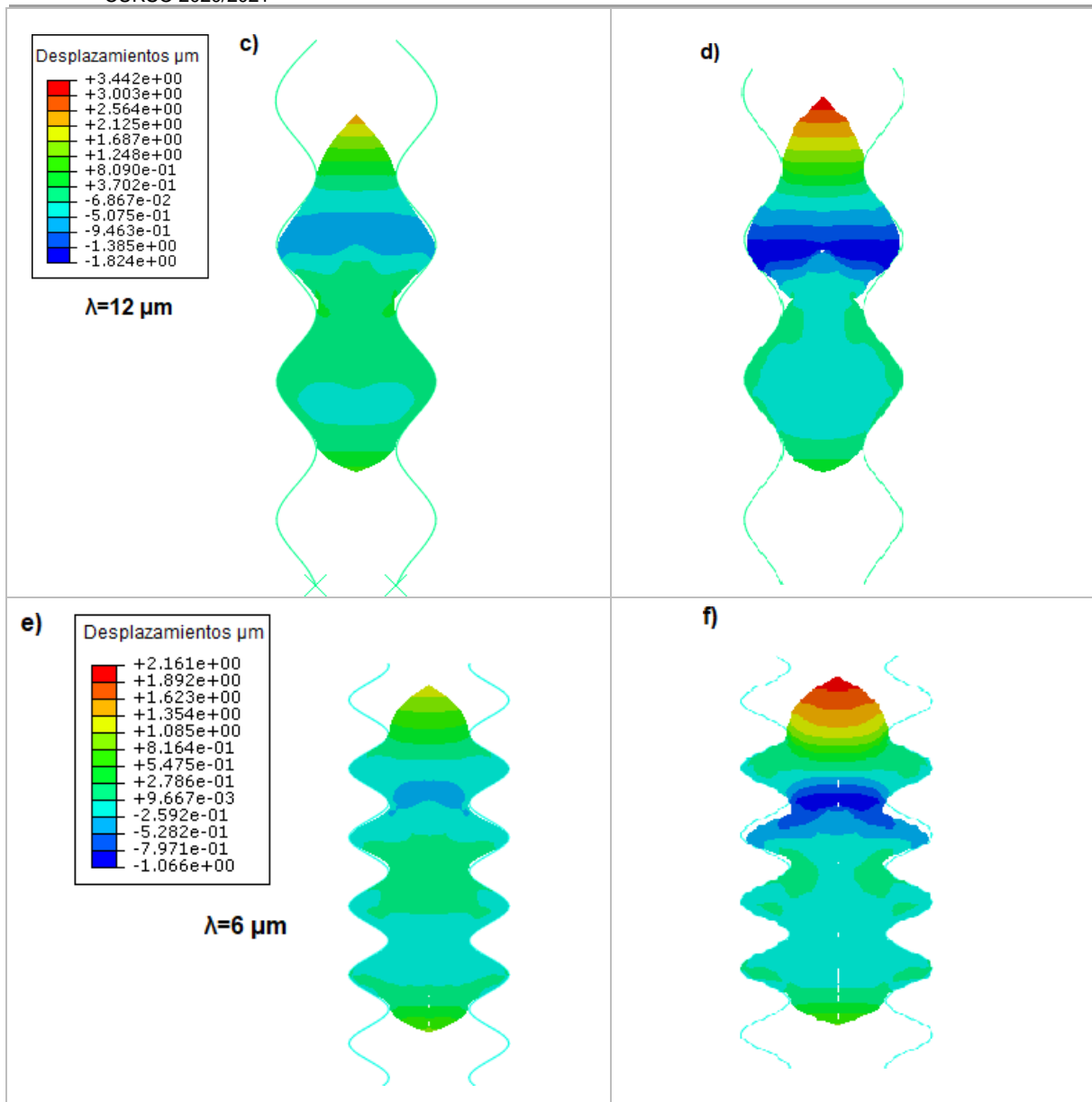


Tabla 3: Desplazamientos en el eje longitudinal de la célula. a) y b) modelos con $\lambda=24 \mu\text{m}$, c) y d) modelos con $\lambda=12 \mu\text{m}$ y e) y f) modelos con $\lambda=6 \mu\text{m}$.

Analizando los desplazamientos mostrados en la tabla 3 se observa que los modelos con distribución de actina constante se desplazan más en el frente, esto es debido a que toda la parte frontal de la célula polimeriza originando un crecimiento mayor de volumen que en el caso de actina no constante. La deformación es considerablemente mayor, sin embargo, si observamos la zona del núcleo, éste no avanza, sino que retrocede, es un caso parecido a cuando había una distribución de miosina constante. La consecuencia será que la célula se estirará, pero no avanzará conjuntamente. Por tanto, se observa la importancia de la polimerización en el frente y la despolimerización de la actina conforme nos acercamos al núcleo.

DISCUSIÓN

Tras el análisis de los resultados obtenidos se puede afirmar que para la motilidad celular es imprescindible el trabajo conjunto de las proteínas de actina y miosina. Es necesaria la expansión producida por la polimerización de la F-actina en el frente para promover el avance celular, pero, para evitar que el núcleo se vea arrastrado hacia atrás también se necesitan las fuerzas de contracción de la miosina en la cola [5, 23]. Es muy importante este trabajo de expansión-contracción de la actina y la miosina para evitar un crecimiento de volumen de la célula exagerado cuya consecuencia es un estiramiento de la célula en el que la mitad superior intenta avanzar todo lo posible pero el resto del cuerpo de la célula retrocede impidiendo la migración conjunta de toda la célula.

Otro factor clave es la diferenciación de varios tipos de actina los cuáles desempeñan una función diferente en la migración celular [24]. Se observa que la actina libre situada en el frente, compuesta por filamentos de actina formados por la polimerización de la proteína y orientados en el eje longitudinal, son los encargados de empujar la célula hacia adelante para promover el avance. Por otro lado, conforme nos alejamos del frente y nos vamos acercando al núcleo se produce la despolimerización de la actina y esos filamentos de actina se convierten en actina globular que rodea el núcleo, la cual ejerce fuerzas de contracción necesarias para arrastrar al núcleo. Se puede afirmar que no todo el frente está compuesto por filamentos de actina, sino que también es imprescindible la acción de la actina globular alrededor del núcleo [20]. Y por último, se observa que para asegurar el contacto de la célula y el sustrato la polimerización orientada en el eje transversal situada en las paredes de la célula es muy importante. En la migración en ambientes confinados el contacto entre célula y canal es imprescindible.

El núcleo es el elemento más rígido de la célula, en el caso de la migración es un elemento pasivo es decir la acción de la actina y la miosina es la responsable de que éste se mueva. Aunque sea un elemento pasivo tiene una gran influencia en la motilidad celular [7,20], y es vital que se vea arrastrado hacia



adelante para que el cuerpo celular avance conjuntamente.

Como se ha podido ver en las simulaciones, la actina libre ha de tener una distribución variable dependiente de la coordenada longitudinal, de forma que en la zona pegada a la membrana celular frontal se encuentra la máxima polimerización y que conforme se va retrocediendo hacia el núcleo esa polimerización es más débil hasta llegar a la zona de actina globular donde se produce la despolimerización. Lo que provoca esta distribución es que en la zona situada en el frente de la célula la expansión sea muy grande promoviendo el avance celular mientras que en las zonas de actina globular se produzca una contracción que arrastre al núcleo hacia adelante.

Ocurre lo mismo con la distribución de miosina variable, en la zona trasera de la cola se produce la mayor contracción y conforme se avanza hacia el núcleo la contracción va siendo menor. Es una distribución dependiente de la coordenada vertical, además también se ha tenido en cuenta que conforme la célula se desplaza las coordenadas no son las originales, sino que van cambiando, es por ello por lo que se ha creado una subrutina que actualiza esa coordenada vertical conforme la célula migra. La importancia de esto radica en que la contracción variable en la cola producida por la miosina es la que más influencia tiene en empujar el núcleo hacia adelante, en caso de que la distribución fuera constante la contracción sería muy alta y el núcleo sería arrastrado hacia atrás, provocando que la célula se deformara, pero no avanzara.

Se ha demostrado que el contacto entre el sustrato y la célula es imprescindible para la migración celular, se ha observado que las fuerzas de fricción perpendiculares entre ambos favorecen la migración, son necesarias para que la célula pueda “agarrarse” al canal e impulsarse hacia adelante [12]. Si bien también se ha observado que la fricción entre ambos no puede ser muy alta porque impediría el movimiento ya que la célula no sería capaz de superar esas fuerzas y, por otro lado, tampoco pueden ser muy pequeñas como para que la célula no tenga ese punto de apoyo del que impulsarse.



CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS

La migración celular en ambientes confinados es el resultado del trabajo conjunto de varias fuerzas en las que se incluyen las fuerzas de fricción entre sustrato y célula, y las fuerzas de expansión-contracción de la actina y miosina entre otras, si bien estas son las más influyentes. Es imprescindible la coordinación entre todas ellas.

En este trabajo se ha hecho hincapié en que la migración en un confinamiento en 3D es diferente al de 2D, recientes investigaciones aseguran que los factores mecánicos que intervienen en un confinamiento en 3D son los que más se asemejan a la migración real de una célula.

La novedad que de este trabajo es la creación de modelos con geometrías diferentes para poder estudiar la influencia de la geometría y el contacto en la migración celular. Por otro lado, el conseguir que el efecto de contracción de la miosina sea dependiente de la distancia al núcleo y que ésta se vaya actualizando al cambiar la configuración.

En el futuro se pretende crear varios modelos que simulen lo más fielmente posible la migración celular real para poder investigar y predecir comportamientos que nos permitan saber un poco más del comportamiento de las células cancerígenas que hasta ahora es un campo muy desconocido. Especificando un poco más en trabajos futuros se seguirá con esta línea de investigación incluyendo novedades como estudiar este comportamiento en otro tipo de células como los leucocitos, cuantificar de forma más exacta la cantidad de actina y miosina que se encuentra en cada zona en base a experimentos in vitro, estudiar más a fondo la importancia del núcleo en la migración no solo modelarlo como un elemento pasivo sino también un elemento activo, incorporar el elemento de la membrana celular y observar su influencia, crear nuevas geometrías de canales y células, entre otros.

REFERENCIAS Y BIBLIOGRAFÍA

- [1] *Estadísticas del cáncer*. (2020, 25 septiembre). Instituto Nacional del Cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/cancer/naturaleza/estadisticas>
- [2] El Cáncer. Aspectos básicos sobre su biología, clínica, prevención, diagnóstico y tratamiento. Ministerio de Protección Social. Instituto Nacional de Cancerología, 2004. República de Colombia.
- [3] *Cáncer metastásico*. (2020, 10 noviembre). Instituto Nacional del Cáncer. <https://www.cancer.gov/espanol/tipos/cancer-metastatico>
- [4] *Cell mechanics - Wikipedia*. (2008).
https://es.qaz.wiki/wiki/Cell_mechanics.
- [5] Hervas-Raluy, S., Garcia-Aznar, J., & Gomez-Benito, M. (2019). Modelling actin polymerization: the effect on confined cell migration. *Biomechanics And Modeling In Mechanobiology*, 18(4), 1177-1187.
- [6] Friedl P, Wolf K, Lammerding J (2011) *Nuclear mechanics during cell migration*. *Curr Opin Cell Biol* 23(1):55–64
- [7] Venturini, V., Pezzano, F., Català Castro, F., Häkkinen, H., Jiménez-Delgado, S., & Colomer-Rosell, M. et al. (2020). The nucleus measures shape changes for cellular proprioception to control dynamic cell behavior. *Science*, 370(6514), eaba2644.
- [8] Bergert, M., Erzberger, A., Desai, R., Aspalter, I., Oates, A., & Charras, G. et al. (2015). Force transmission during adhesion-independent migration. *Nature Cell Biology*, 17(4), 524-529.
- [9] Shih, W., & Yamada, S. (2012). N-cadherin-mediated cell-cell adhesion promotes cell migration in a three-dimensional matrix. *Journal Of Cell Science*. Published.
- [10] Heuzé, M., Vargas, P., Chabaud, M., Le Berre, M., Liu, Y., & Collin, O. et al. (2013). Migration of dendritic cells: physical principles, molecular mechanisms, and functional implications. *Immunological Reviews*, 256(1), 240-254.

[11] Mathur AB, Truskey GA, Reichert WM. *Atomic force and total internal reflection 787 fluorescence microscopy for the study of force transmission in endothelial cells*. 788 *Biophys J*. 2000;78(4):1725–1735. doi:10.1016/S0006-3495(00)76724-5

[12] Reversat, A., Gaertner, F., Merrin, J., Stopp, J., Tasciyan, S., & Aguilera, J. et al. (2020). Cellular locomotion using environmental topography. *Nature*, 582(7813), 582-585.

[13] Hawkins, R., Piel, M., Lennon-Dumenil, A., Joanny, J., Prost, J., & Voituriez, R. (2009). Pushing Off The Walls: A Mechanism Of Cell Motility In Confinement. *Biophysical Journal*, 96(3), 197a.

[14] Xicoténcatl Zavala, G. (2019). Invasion and methastasis. *Nurse Educator*, 34(5), 208.

[15] Liu, Y., Le Berre, M., Lautenschlaeger, F., Maiuri, P., Callan-Jones, A., & Heuzé, M. et al. (2015). Confinement and Low Adhesion Induce Fast Amoeboid Migration of Slow Mesenchymal Cells. *Cell*, 160(4), 659-672.

[16] Bergert, M., Chandradoss, S., Desai, R., & Paluch, E. (2012). Cell mechanics control rapid transitions between blebs and lamellipodia during migration. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 109(36), 14434-14439.

[17] Magalahas, L. (2010). La célula. *Toda Materia*.

[18] Guirado Blanco, Otmara, Solanas García, Montserrat, Costa Traschel, Irmgard, & Escrich Escriche, Eduard. (2002). El citoesqueleto de actina: una perspectiva desde la biología molecular del cáncer. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 21(2), 115-122.

[19] Petrie, R., & Yamada, K. (2012). At the leading edge of three-dimensional cell migration. *Journal Of Cell Science*.

[20] Patricia M. Dadvidson y Bruno Cadot. (2021) "Actin on and around the Nucleus". *Trends in Cell Biology*.

[21] González Malerva, L., & Hernández Ambrosio, J. (2003). El citoesqueleto. *Ciencias*, 070, 1-7.



[22] Barbosa, I. D. (2019). *GoConqr - Citoesqueleto*. GoConqr.
https://www.goconqr.com/es/p/17578269?dont_count=true&frame=true&fs=true

[23] Chabaud, M., Heuzé, M., Bretou, M., Vargas, P., Maiuri, P., & Solanes, P. et al. (2015). Cell migration and antigen capture are antagonistic processes coupled by myosin II in dendritic cells. *Nature Communications*, 6(1).

[24] Wilson, K., Lewalle, A., Fritzsche, M., Thorogate, R., Duke, T., & Charras, G. (2013). Mechanisms of leading edge protrusion in interstitial migration. *Nature Communications*, 4(1).

[25] Cramer, L. P. (2010). Forming the cell rear first: breaking cell symmetry to trigger directed cell migration. *Nature Cell Biology*, 12(7), 628–632.