

Trabajo Fin de Grado

Estudio computacional de la influencia de la anisotropía de la matriz extracelular en la migración celular

Computational study of the influence of extracellular matrix anisotropy on cell migration

Autor/es

Rafael Seguí Ares

Director/es

Daniel Camacho Gómez

María José Gómez Benito

Escuela de Ingeniería y Arquitectura

Curso 2022/2023

Tabla de contenido

Agradecimientos	3
Resumen	4
Capítulo 1. Introducción General	5
1.1 GPID.....	5
1.2. Migración celular de un tumor.....	6
1.3. Matriz extracelular	8
1.4. Modelos computacionales	9
Capítulo 2. Métodos.....	10
2.1 Descripción general del modelo.....	10
2.2. Dinámica de agentes	11
2.3. Dirección de migración.....	12
2.4. Optimización de parámetros.....	13
2.5. Implementación	14
Capítulo 3. Resultados.....	16
3.1. Parámetros de la simulación.....	16
3.2 Resultados optimización	17
3.3 Trayectoria y direccionalidad	18
Capítulo 4. Conclusiones.....	22
Capítulo 5. Líneas de futuro.....	23
Capítulo 6. Bibliografía	24

Agradecimientos

Antes de comenzar, me gustaría dar las gracias a mis dos tutores, Daniel Camacho y María José Gómez, por toda la ayuda que me han brindado durante la realización de este trabajo. Además de toda la paciencia y la predisposición que han tenido en todo momento para facilitarme y ayudarme a entender cada parte del trabajo.

Resumen

La migración celular de las células cancerígenas es el proceso por el cuál las células se mueven para invadir el tejido en el que se encuentra y así expandirse. Por ello, estudiar cómo las células migran es vital en el contexto del cáncer para comprender los mecanismos detrás de este proceso para así detenerlo.

En el presente Trabajo de Fin de Grado (TFG) se va a tratar de replicar una serie de ensayos *in vitro* en dispositivos de microfluídica que se han realizado con células tumorales de glioma pontino intrínseco difuso (GPID), un tipo de tumor cerebral infantil, en hidrogeles con base de colágeno mediante un modelo computacional. Este modelo simula la migración de las células tumorales en función de las características mecánicas de la matriz extracelular en la que se hallan y la concentración de colágeno que posee dicha matriz.

Se estudiará la influencia que tiene la anisotropía de la matriz y su densidad sobre el modo de migración de las células. Para ello, las simulaciones que se van a realizar tratarán de analizar los valores de la velocidad, posición y trayectoria de las células. De este modo, se podrá determinar cómo el aumento de la rigidez de la matriz afecta a la migración celular.

El modelo será implementado en Matlab, donde se tratará de replicar los resultados experimentales.

Capítulo 1. Introducción General

1.1 GPID

El glioma pontino intrínseco difuso (GPID) es el tumor cerebral pediátrico más común, el cual se origina en la protuberancia anular, una región del tronco encefálico (Figura 1). El tronco encefálico está compuesto por el cerebro medio, la protuberancia y el bulbo raquídeo, y se encuentra en la parte inferior del encéfalo, conectándose con la médula espinal justo encima de la nuca. Esta área es responsable de controlar funciones vitales como la respiración, la frecuencia cardíaca y los movimientos sensoriales y motores relacionados con la visión, el oído, el caminar, el hablar y la alimentación [3], por lo que el desarrollo de este tumor lo hace especialmente agresivo [6].

Actualmente no hay cura conocida para el GPID, lo que lo convierte en un tumor mortal, con una supervivencia media de 8 a 14 meses desde el momento del diagnóstico. Los tratamientos utilizados para hacer frente a esta enfermedad incluyen la radioterapia, que es la terapia primaria para los niños mayores de tres años recién diagnosticados con GPID. Sin embargo, el tratamiento mediante radioterapia de alta energía sólo consigue prolongar la supervivencia entre tres y seis meses, siendo meramente un paliativo. Por otro lado, los tratamientos realizados en combinación con quimioterapia tampoco están siendo satisfactorios para aumentar la tasa de supervivencia de los pacientes. Finalmente, la localización tan delicada de este tumor imposibilita la realización de cirugías, puesto que podría producir lesiones irreparables en el cerebro. De este modo, la carencia de tratamientos satisfactorios contra el GPID, junto con el hecho de que se desarrolla en una región anatómica crucial, ya que por ella pasan todas las conexiones neuronales que descienden desde el cerebro hasta la médula espinal, hacen que el GPID sea un tumor devastador.

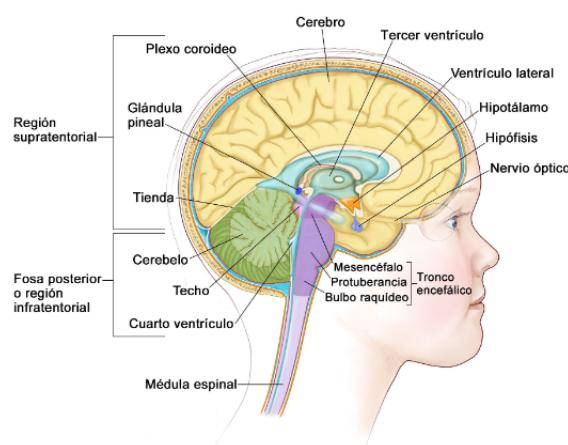


Figura 1: Anatomía del encéfalo [1].

El GPID se caracteriza por su infiltración difusa y extensa en el tronco encefálico, una región vital del cerebro responsable de funciones como la respiración y la digestión. Esta infiltración invasiva dificulta su tratamiento, ya que el tumor se infiltra en diferentes áreas sin seguir un patrón definido. Esto presenta un desafío adicional a la hora de su extracción, debido a la naturaleza difusa e infiltrante del tumor. La gran infiltración difusa del GPID lo convierte en un tumor agresivo y difícil de tratar, con una alta tasa de mortalidad y opciones de tratamiento limitadas. La infiltración difusa en el GPID está estrechamente relacionada con la migración celular, caso de estudio de este trabajo. Las células tumorales en el GPID tienen la capacidad de moverse y diseminarse dentro del tejido cerebral normal.

1.2. Migración celular de un tumor

La migración celular es un proceso biológico continuo en el cual células individuales o grupos de células se desplazan dentro del tejido. Este fenómeno es fundamental en los organismos vivos y está relacionado con el desarrollo normal o la respuesta inmune, pero también en diversos procesos patológicos, como la metástasis del cáncer. La migración celular constituye el primer paso en la propagación del cáncer. A la hora de estudiar este proceso se pueden emplear diversos métodos para observar el movimiento celular, los cuales tienen múltiples aplicaciones en la investigación del cáncer, la inmunología, la biología de los vasos sanguíneos, la biología celular y la biología del desarrollo [13].

Existen dos formas principales de movimiento celular: el movimiento individual y el movimiento colectivo. Sin embargo, en este trabajo nos enfocaremos únicamente en el movimiento individual, donde crearemos un modelo computacional para simular el desplazamiento de una célula cancerígena.

El movimiento celular es un proceso complejo que implica una serie de eventos coordinados y regulados. En el caso de la migración celular, el proceso puede describirse de la siguiente manera (Figura 2). La célula se expande y forma protrusiones utilizando una estructura llamada actina. La célula requiere adherirse y traccionar algo para poder desplazarse, y esto se logra mediante la interacción de unas estructuras llamadas integrinas o contactos con una sustancia llamada matriz extracelular. Si la célula está unida a otras células, se emplean moléculas de adhesión célula-célula para facilitar esta conexión. Finalmente, la célula ejerce una fuerza para impulsar su cuerpo hacia adelante y también para retraer la parte posterior.

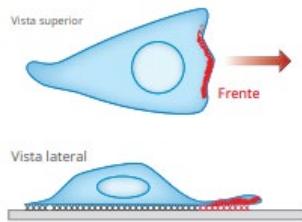


Figura 2: Ejemplo del movimiento realizado por la célula en la migración celular individual [13]

La migración celular colectiva desempeña un papel crucial en varios procesos fisiológicos y patológicos. Durante la regeneración de tejidos y la cicatrización de heridas, las células deben migrar de manera coordinada para restaurar la función y la integridad del tejido dañado (Figura 3). En el caso de la metástasis en cánceres, la migración celular colectiva es un modo importante de propagación de las células tumorales a través del cuerpo.

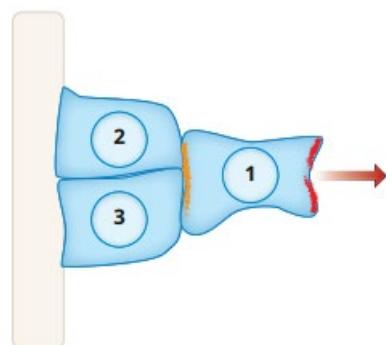


Figura 3: Ejemplo del movimiento realizado por la célula en la migración celular colectiva [13]

Es importante destacar que, aunque la migración celular colectiva prevalece en muchos tipos de cáncer, es un proceso de largo plazo y lento, lo cual dificulta su observación directa mediante técnicas de microscopía convencionales. Por esta razón, los mecanismos de dinámica celular colectiva están menos estudiados en comparación con otros procesos de migración celular.

La metástasis, o diseminación de células cancerosas desde el tumor primario a un órgano distante, es la principal causa de muerte en pacientes con cáncer [16]. Se define como la capacidad de las células malignas de abandonar el tumor primario, migrar e implantarse en otros tejidos de un órgano a distancia, donde pueden proliferar y formar nuevos focos tumorales.

En la visión clásica de la metástasis, se creía que las células tumorales necesitaban someterse a una transición epitelial a mesenquimatosa (EMT) para migrar como células individuales (Figura 4). Sin embargo, las observaciones del comportamiento de las

células tumorales en cultivos 3D han revelado que las células tumorales de tipo epitelial pueden diseminarse como grupos o brotes.

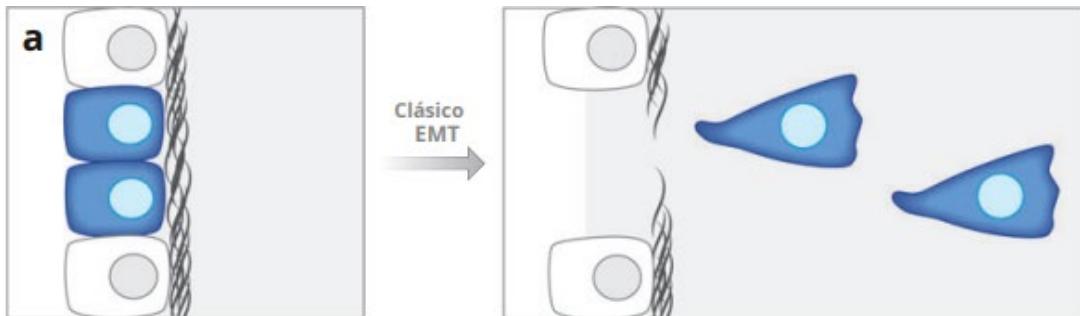


Figura 4: Migración individual de células tumorales [19]

Las frecuentes observaciones de tales crecimientos en muestras clínicas de carcinomas en etapa avanzada indican que es probable que esto sea relevante para la progresión del cáncer.

1.3. Matriz extracelular

La matriz extracelular (ECM) se define como la parte no celular del tejido que proporciona soporte bioquímico y estructural esencial a las células que lo componen. En lugar de ser simplemente un espacio entre las células, la ECM desempeña un papel activo en la fisiología del tejido vivo al contribuir a la comunicación celular, la adhesión y la proliferación celular [15]. Está compuesta por diversas proteínas que generan diferentes estructuras y propiedades en su interior. Los componentes principales incluyen el colágeno, los proteoglicanos, la laminina y la fibronectina, siendo el colágeno el componente más importante y la proteína más abundante en los tejidos humanos [15]. Por esta razón, muchos estudios utilizan hidrogeles de colágeno para intentar replicar el comportamiento de la matriz extracelular.

Estos hidrogeles consisten en una red de filamentos de polímero dispersos en un medio acuoso, y sus propiedades mecánicas dependen principalmente de la arquitectura de la red de fibras y las propiedades de las fibras individuales [18]. Se utilizan para imitar los tejidos conjuntivos e intersticiales debido a la abundancia de colágeno en la matriz extracelular natural, que constituye aproximadamente el 25% de la proteína total in vivo en mamíferos y hasta el 90% de la proteína en los tejidos conectivos humanos [24].

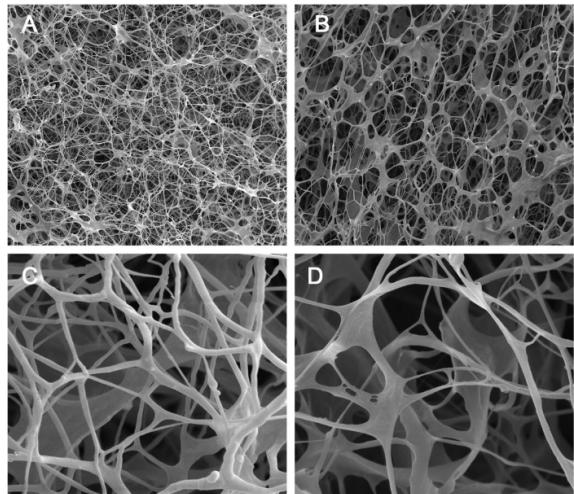


Figura 5: Imágenes microscópicas de matrices de fibras de colágeno [17]

Para poder entender los cambios que sufren los hidrogeles ante solicitudes mecánicas y externas, es indispensable tener un amplio conocimiento de sus propiedades mecánicas.

1.4. Modelos computacionales

Los modelos computacionales continuos se basan en ecuaciones diferenciales que describen los cambios en la concentración de diferentes sustancias químicas o factores de señalización en el entorno celular. Estas ecuaciones tienen en cuenta los gradientes químicos, las interacciones celulares y los efectos mecánicos. Los modelos continuos son útiles para describir fenómenos a gran escala, como la migración celular en un tejido completo, y pueden proporcionar información sobre la dinámica temporal y espacial de la migración. Este tipo de modelos son adecuados proporcionan una descripción global de la migración celular, pero pueden pasar por alto detalles a nivel celular e interacciones locales.

Por otro lado, los modelos computacionales discretos se basan en representaciones individuales de células y su comportamiento. Cada célula se modela como una entidad discreta que interactúa con otras células y con su entorno. Estos modelos se implementan utilizando técnicas como modelos basados en agentes (ABM) o autómatas celulares (CA). Los modelos discretos son útiles para simular la migración celular a nivel microscópico, teniendo en cuenta las interacciones celulares a nivel individual. También permiten estudiar aspectos detallados de la migración, como la polaridad celular, la adhesión y la deformación celular [26].

En general, la elección entre modelos continuos y discretos para el estudio de la migración celular depende del objetivo de la investigación, la escala de interés y los recursos computacionales disponibles. A menudo, se utilizan enfoques híbridos que combinan elementos de ambos tipos de modelos para obtener una comprensión más completa del fenómeno de migración celular.

En el presente trabajo se va a desarrollar un modelo discreto basado en agentes, donde las células simuladas quedarán descritas por su posición, velocidad y trayectoria, y en el cual se estudiará la influencia que tiene la anisotropía de la matriz extracelular sobre dichas células.

Capítulo 2. Métodos

Con el desarrollo de los métodos computacionales se ha proporcionado una visión profunda de los procesos biológicos. Por ello se han construido varios modelos computacionales para comprender y simular el comportamiento de las células durante la migración, entre ellos comportamientos complejos de los cánceres, como la progresión tumoral, la resistencia a los medicamentos y la inerte inmune. Estos modelos pueden dividirse en dos grupos, los modelos continuos y los discretos.

2.1 Descripción general del modelo.

El objetivo de este trabajo es el de desarrollar un modelo computacional basado en agentes para estudiar el proceso de migración individual de las células de GPD en una matriz extracelular tridimensional. De este modo, se estudiará la influencia que tiene la anisotropía de la distribución de fibras de colágeno de la matriz extracelular en la migración celular de este tipo

Para ello, en este modelo cada célula se considera como un agente autónomo que se puede mover en un ambiente tridimensional y están tienen unos atributos y comportamientos individuales que son los que se van a estudiar, como son la velocidad, dirección de movimiento. Se ejecuta en pasos discretos de tiempo, donde el estado y posición de la célula se va actualizando en cada instante de tiempo en función de las reglas y algoritmos que se establezcan. Durante la simulación se registrarán datos sobre la posición y dirección que toma la célula en un entorno 3D.

2.2. Dinámica de agentes

En primer lugar, se ha describir la posición temporal de los agentes. Para ello, en este tipo de modelos se considera que la posición puede ser calculada mediante física de partículas. Por tanto, la posición de la partícula x , puede obtenerse mediante el balance de las fuerzas que actúan sobre ella:

$$m \frac{d^2x}{dt^2} = \sum \mathbf{F} \approx 0, \quad (1)$$

donde m es la masa de la célula y $\sum \mathbf{F}$ representa todas las fuerzas que actúan sobre la célula. El término inercial $m \frac{d^2x}{dt^2}$ suele despreciarse debido a que la masa y la velocidad de la célula son pequeñas, de este modo, las fuerzas que actúan sobre una célula en su proceso de migración son:

$$\sum \mathbf{F} = \mathbf{F}_{loc} + \mathbf{F}_{fric} = 0. \quad (2)$$

Siendo \mathbf{F}_{loc} la fuerza de locomoción que la célula ejerce para migrar y \mathbf{F}_{fric} la fuerza de fricción experimentada por la célula con la matriz extracelular compuesta por hidrogeles de colágeno. Así, para calcular esta fuerza fricción, se considerará que la matriz extracelular es puramente viscosa, por lo que la fuerza de fricción puede calcularse mediante la ley de Stokes, que es válida para objetos esféricos que se mueven en un fluido viscoso en régimen laminar:

$$\mathbf{F}_{fric} = 6\pi R_c \eta v, \quad (3)$$

donde R_c es el radio de la célula, η la viscosidad dinámica de la matriz y v la velocidad de la célula.

Finalmente, obtenemos que,

$$\mathbf{F}_{loc}(t) = F_{loc} \mathbf{e}(t), \quad (4)$$

con $\mathbf{e}(t)$ el vector unitario de dirección. Así, la dirección en la que se ejerce la fuerza de locomoción varía en el tiempo y se considerará que está influenciada por la distribución de las fibras que tiene la matriz. Por tanto, para poder reproducir el movimiento de migración se ha de obtener cómo cambia la dirección de aplicación de la fuerza de migración con el tiempo ($\mathbf{e}(t)$).

2.3. Dirección de migración

Para determinar la dirección en la que va a migrar la célula se ha definido el ángulo de aplicación de la fuerza, el cual viene dado por otros dos ángulos, siendo estos, φ , que representa el ángulo de proyección del vector sobre los ejes XY; y α que representa el ángulo entre el vector y el eje Z.

Una vez definida la dirección inicial el siguiente paso es conocer cómo variará en el tiempo. Para ello se han definido los ángulos de rotación φ_{rot} y α_{rot} , que describirán como cambian φ y α después de un intervalo de tiempo Δt .

$$\varphi(t + Dt) = \varphi(t) + \varphi_{rot} \quad (5)$$

$$\alpha(t + Dt) = \alpha(t) + \alpha_{rot} \quad (6)$$

Con ellos se indica que la dirección de aplicación de la fuerza se modificará con la suma de los ángulos de rotación correspondientes.

Para determinar la variación de estos ángulos de rotación se ha utilizado el método de muestreo inverse transform sampling, que permite generar valores aleatorios que siguen una distribución de probabilidad específica. En este caso la distribución utilizada es la de Cauchy, conocida por sus largas colas y su simetría alrededor de un punto central. Se generan unos números aleatorios entre 0 y 1 que se utilizan como entrada en las funciones de distribución acumulada de φ_{rot} y α_{rot} .

Esta función de Cauchy se compone de 2 parámetros, x_0 y γ , donde el x_0 es considerado cero ya que la función está centrada y lo que deja como único parámetro variable de la función a γ , que es el que controla la función. Al tener dos ángulos de rotación se le otorga cada uno un gamma diferente, γ_α y γ_φ .

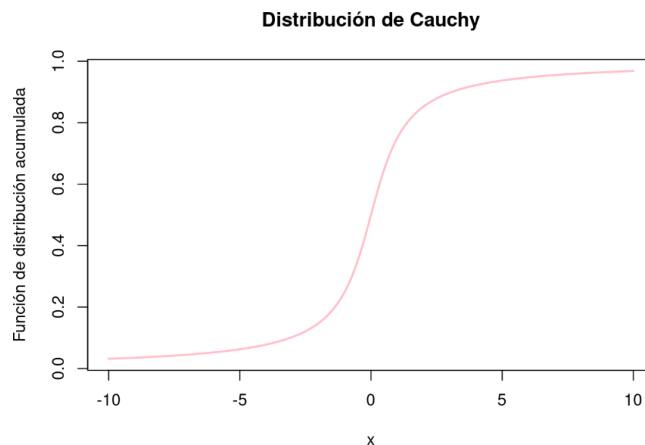


Figura 6: Función de distribución acumulativa [27]

El valor de rotación resultante se obtiene al encontrar el punto en la función acumulada donde el número aleatorio generado corta la curva. Los cambios en los ángulos de rotación se verán influenciados por la forma que adopte la función de distribución. Si se asemeja a más a una función lineal, es posible que los cambios sean más suaves y graduales; en cambio, si se asemeja a un escalón, los cambios podrían ser más abruptos y discontinuos

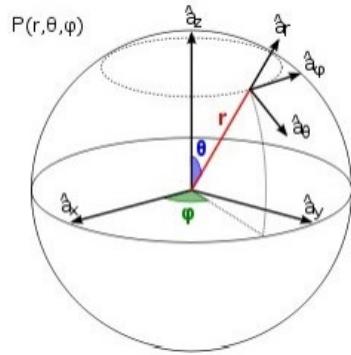


Figura 7: Esquema general de la rotación de los ángulos [26]

2.4. Optimización de parámetros

Para tratar de que las simulaciones del modelo se asemejen a los datos experimentales se ha realizado una optimización del modelo, donde se han utilizado dos parámetros, γ_α y γ_{phi} . Mediante una búsqueda iterativa se ha tratado de encontrar los valores de γ_α y γ_{phi} que reproduzcan los resultados de anisotropía y sigma más cercanos a los valores objetivos.

A la hora de ajustar los parámetros de γ_α y γ_{phi} se ha utilizado un algoritmo evolutivo, que busca ajustar los parámetros de cada población para mejorar su aptitud en cuanto a la cercanía a los valores que tenemos como objetivo. Esta aptitud se calcula para cada población en función de la diferencia entre la anisotropía simulada y la esperada.

$$\gamma_{\alpha1'} = \gamma_{\alpha1} + \Delta\gamma_{\alpha1} \quad (7)$$

$$\gamma_{\alpha2'} = \gamma_{\alpha2} + \Delta\gamma_{\alpha2} \quad (8)$$

$$\gamma_{\varphi1'} = \gamma_{\varphi1} + \Delta\gamma_{\varphi1} \quad (9)$$

$$\gamma_{\varphi2'} = \gamma_{\varphi2} + \Delta\gamma_{\varphi2} \quad (10)$$

Se hallan 4 valores que simulan los vértices de un rectángulo y de entre ellos se elige el que mejor aptitud nos dé, es decir, el que más se aproxime a la solución buscada y se van actualizando los valores de γ_α y γ_{phi} .

2.5. Implementación

Una vez conocida la rotación y con ello la direccionalidad de la célula en todo momento, podemos conocer la velocidad de la célula en cada instante y a partir de ella conocer la posición

$$\mathbf{v}_{cel}(t) = \left(\frac{1}{6\pi R_c \eta} \right) \mathbf{F}_{loc} \mathbf{e}(t) \quad (11)$$

$$\mathbf{x}(t + \Delta t) = \mathbf{x}_{cel} + \Delta t \mathbf{v}_{cel}(t) \quad (12)$$

Siendo Δt , el lapso entre cada instante de tiempo que se calcula

Las células tienen movimientos dirigidos, durante un periodo corto de tiempo, lo que significa que tienden a moverse en línea recta, pero son afectadas por la anisotropía de la matriz, lo que las hace rotar ligeramente y no seguir un camino recto todo el rato. Esto se ha obtenido siguiendo el modelo de ratio de dirección, que es la relación promedio entre la longitud total de la trayectoria de la célula en función del tiempo y el desplazamiento dirigido total (Figura 8).

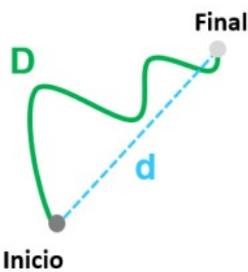


Figura 8: Ratio de direccionalidad = d/D [24]

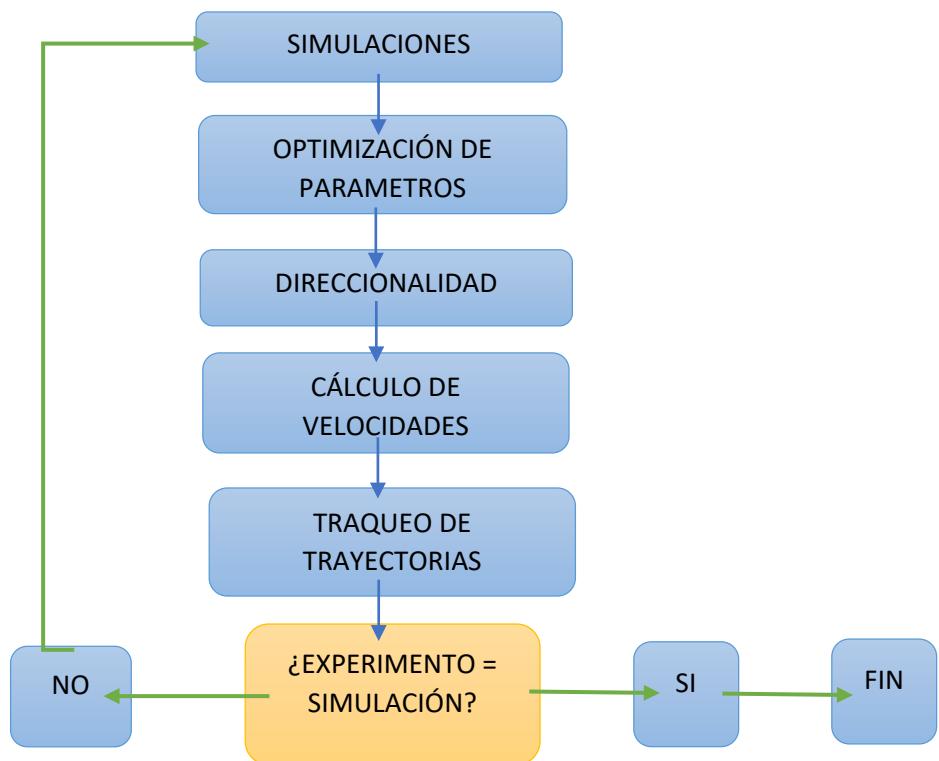


Figura 9: Esquema general del modelo

Capítulo 3. Resultados

A continuación, se simulará los resultados experimentales. Como ya se ha comentado previamente, el objetivo de este trabajo es estudiar la influencia que tiene la anisotropía de la matriz extracelular en la migración de las células cancerígenas en experimentos *in vitro* en tres dimensiones.

3.1. Parámetros de la simulación

El modelo contiene una serie de parámetros de entrada que determinan las características principales tanto de la matriz extracelular como de las células mismas. Estos parámetros son fundamentales para el desarrollo del sistema a lo largo de las simulaciones en los diferentes escenarios analizados. Algunos de ellos son fijos en todas las simulaciones y otros varían en las simulaciones y con los que se obtienen datos estadísticos para la comparación con los resultados experimentales.

Tabla 1: Parámetros del modelo

	2.5 mg/ml	4.0 mg/ml	6.0 mg/ml	Unidades
Radio de las células	10	10	10	μm
Número de células	151	117	106	
Velocidad del experimento	0.12017	0.040057	0.0023	$\mu\text{m}/\text{min}$
Coeficientes de fricción(η)	7.96	18.42	39.15	$\mu\text{g}/\mu\text{m min}$
Desviación estándar	24.1698	16.0731	4.965	
Integral direccionalidad	301.6545	147.9867	611.5922	
Tiempo de simulación	20	20	20	min

Estos parámetros son:

Radio de las células: Radio que poseen las células utilizadas en el modelo

Número de simulaciones: Es la cantidad de simulaciones que se van a realizar, cada una es asignada a una concentración de colágeno diferente.

Velocidad del experimento: Velocidad que va a tener el experimento en cada concentración de la matriz

Concentración de colágeno: Son las tres concentraciones, ya comentadas previamente, con las que se van a realizar las simulaciones

Coeficientes de fricción: Representa la fricción a la que están sometidas las células durante su trayectoria por la matriz celular.

Desviación estándar: Este parámetro es útil para conocer el nivel de dispersión que tienen los datos de la simulación. Cuanto mayor sea su valor, mayor será dicha dispersión

Integral direccionalidad: Nos proporciona el valor de la integral bajo la curva del radio de direccionalidad de la célula.

Algunos parámetros como el número de iteraciones varían en algunas simulaciones, pero no influyen en la migración celular que los demás parámetros. Su valor dependerá del grado de detalle que se esté buscando, en el caso de este trabajo, interesan en mayor medida los valores finales.

Se puede observar que hay parámetros que poseen tres valores, que corresponden a los distintos hidrogeles de colágeno y las diferentes concentraciones de cada uno (2.5, 4.0, 6.0 mg/ml)

3.2 Resultados optimización

En este apartado se van a exponer los resultados de la optimización del modelo, donde se han calculado los valores de γ_α y γ_{phi} para cada una de las matrices de colágeno utilizadas, así como los valores que adopta el fitness en cada una de las simulaciones. Se realizaron 151,117 y 106 iteraciones respectivamente y se eligió la simulación que más aproximaba los valores buscados a los experimentales.

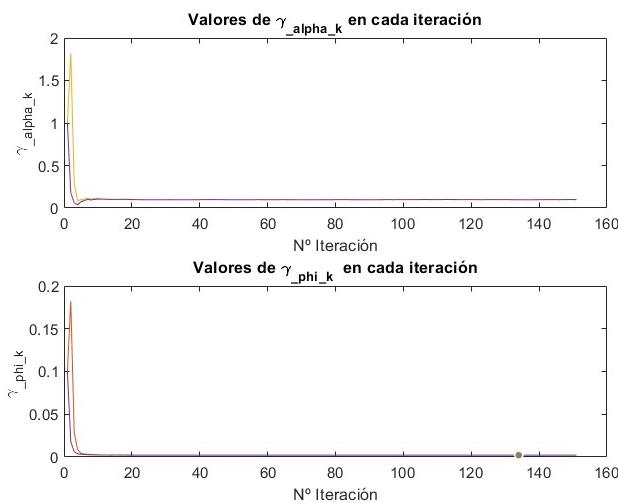


Figura 9: Valores de γ_α y γ_{phi} en cada iteración en la matriz de 2.5 mg/ml

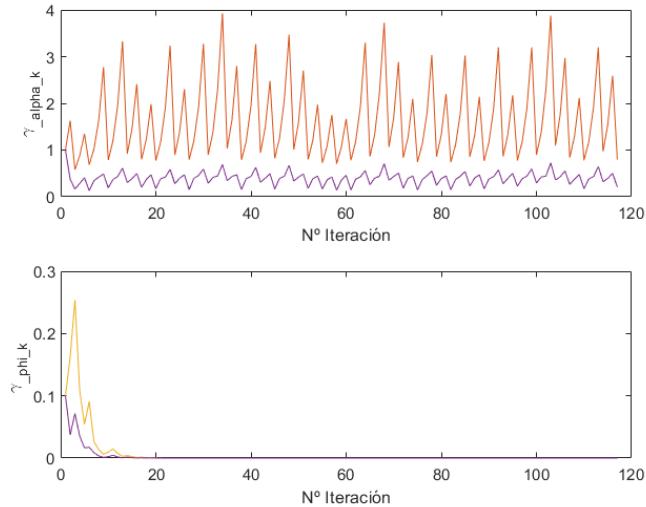


Figura 10: Valores de γ_α y γ_{phi} en cada iteración en la matriz de 4.0 mg/ml

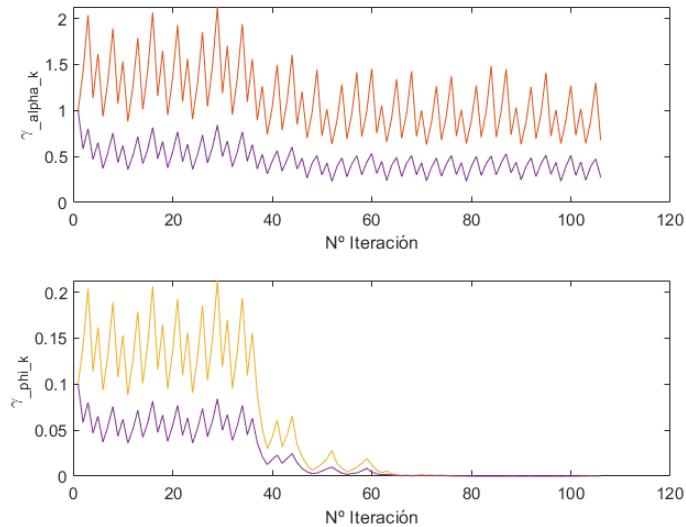


Figura 11: Valores de γ_α y γ_{phi} y del fitness en cada iteración en la matriz de 6.0 mg/ml

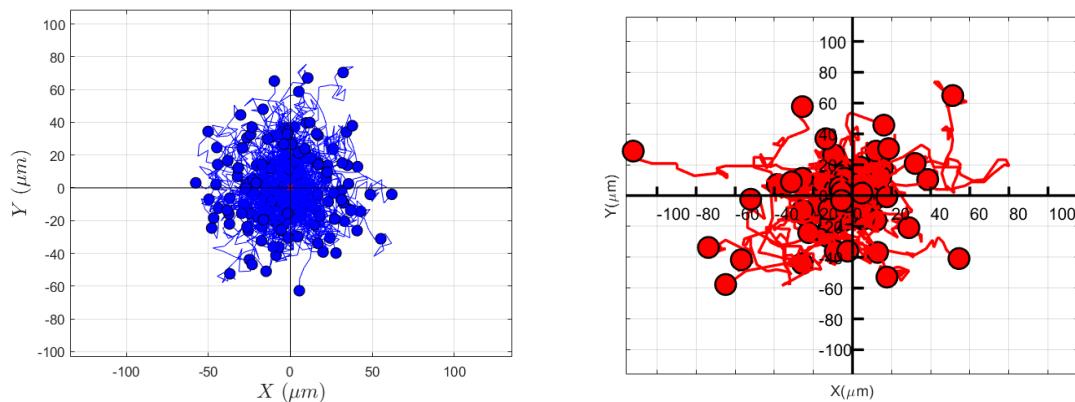
3.3 Trayectoria y direccionalidad

Como ya se ha comentado antes, en las configuraciones 3D, los valores de rigidez surgen cambios en su estructura que afectan a la arquitectura de la matriz, que se encarga de regular la migración. Concretamente, las matrices que presentan una mayor densidad de fibras suelen ser más rígidas, lo que se traduce en una dificultad para desplazarse a través de ellas.

Para ello, en este apartado se van a analizar las trayectorias y la direccionalidad que toman las células dependiendo de la concentración de colágeno (matrices de 2.5, 4.0, 6.0 mg/ml). Los parámetros de entrada utilizados en las simulaciones son los expuestos en la Tabla 1.

El primero de los ensayos, se realiza sobre una matriz de con una concentración de 2.5 mg/ml, donde se puede observar como el movimiento celular es mucho más disperso y poco controlado. Esto se debe a la poca resistencia que presenta la matriz en la migración para esta concentración. Lo que se traduce en la formación de estructuras más pequeñas debido a la capacidad de migración de las células. En la figura 12 vemos los resultados de los ensayos computacionales y experimentales.

A



B

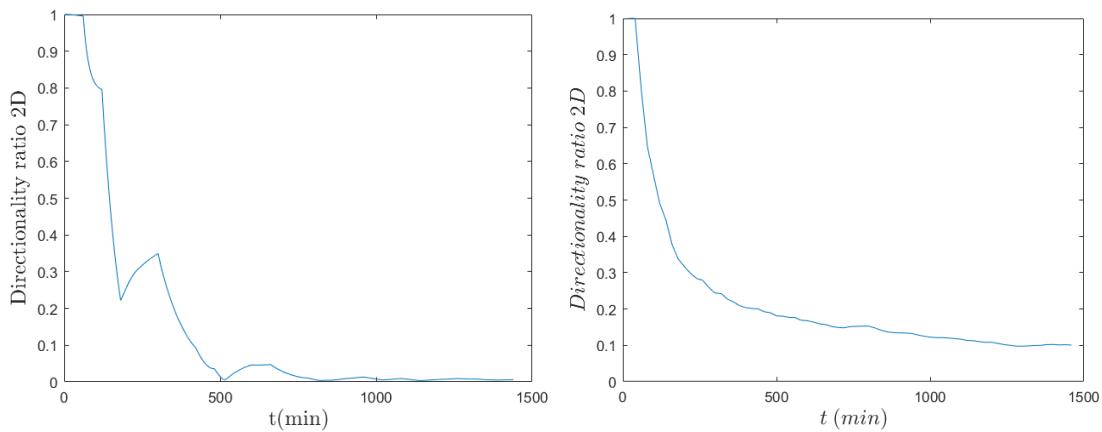
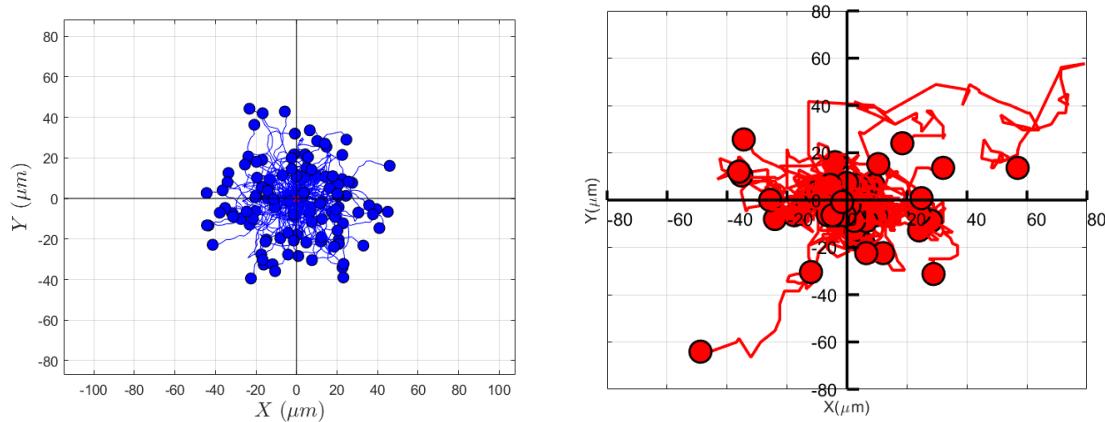


Figura 12: Comparación de trayectorias y direccionalidades en matriz de 2.5 mg/ml

(A) Representación de las trayectorias celulares relativas a los resultados computacionales (izquierda) y experimentales (derecha) (B) Representación de las direccionalidades celulares relativas a los resultados computacionales (izquierda) y experimentales (derecha)

El segundo de los casos que se expone corresponde a la matriz de 4 mg/ml de concentración de colágeno, donde se aprecia cómo se empieza a ver reducida la movilidad de las células y como se encuentran menos dispersas por la matriz. (Figura 13)

A



B

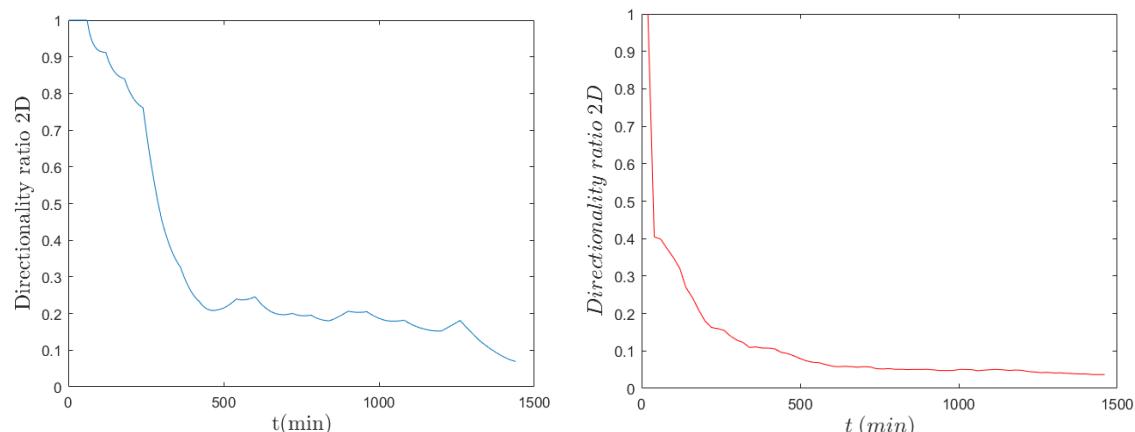


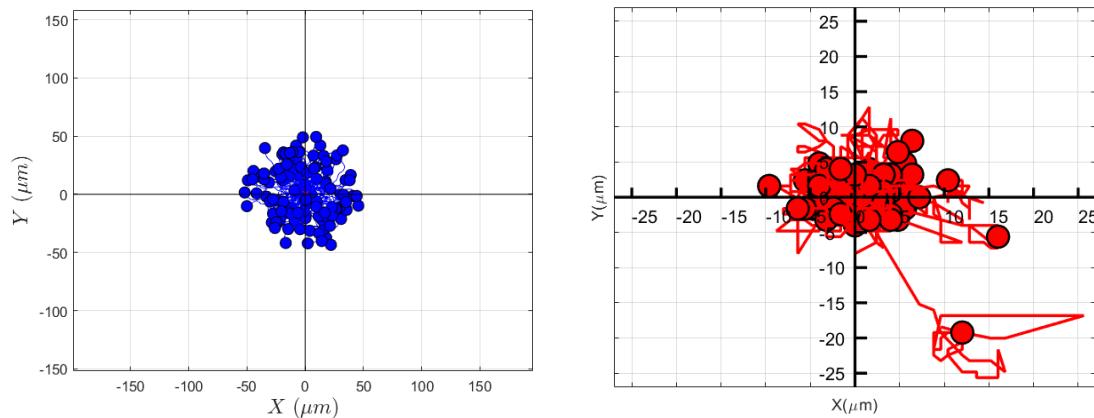
Figura 13: Comparación de trayectorias y direccionalidades en matriz de 4.0 mg/ml

(A) Representación de las trayectorias celulares relativas a los resultados computacionales (izquierda) y experimentales (derecha) (B) Representación de las direccionalidades celulares relativas a los resultados computacionales (izquierda) y experimentales (derecha)

El tercer y último caso estudiado corresponde a la matriz de 6.0 mg/ml de concentración de colágeno, donde se espera una movilidad mucho menor, lo que se traduce en trayectorias mucho más cortas y una mayor congregación de células. (Figura 14) Se

puede apreciar como a medida que pasa el tiempo la ratio de direccionalidad varía menos que en los casos anteriores, esto se debe al aumento de la densidad de la matriz.

A



B

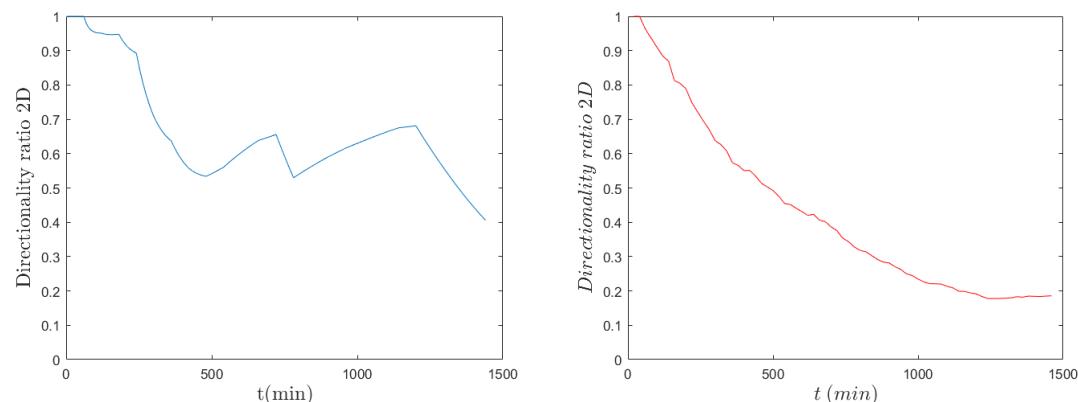


Figura 14: Comparación de trayectorias y direccionalidades en matriz de 6.0 mg/ml

(A) Representación de las trayectorias celulares relativas a los resultados computacionales (izquierda) y experimentales (derecha) (B) Representación de las direccionalidades celulares relativas a los resultados computacionales (izquierda) y experimentales (derecha)

En una visión general, se puede ver como a medida que va aumentando la concentración de colágeno, las trayectorias se ven reducidas. Además, se puede apreciar como en los resultados experimentales muestran unas dispersiones celulares en dirección horizontal, debido a la orientación de las fibras de colágeno. Por el contrario, las células simuladas adoptan una motilidad más aleatoria ya que no se ha definido una dirección preferente.

Capítulo 4. Conclusiones

La migración celular es un proceso donde los desplazamientos de las células se ven directamente afectados. Las variaciones en la concentración de colágeno de la matriz extracelular y los cambios de sus propiedades mecánicas son parámetros clave en las características de esta migración.

En el presente trabajo, se ha presentado una extensión del modelo basado en agentes, donde se ha tratado de simular el comportamiento individual y colectivo de las células de DIPG y como se ven influenciadas por la anisotropía que presenta la matriz. Para ello se han utilizado datos experimentales calculados previamente en el laboratorio. Además, podemos observar cómo el aumento de la densidad de la matriz se traduce en una reducción de la velocidad de las células, y con ello, una reducción de la trayectoria que estas realizan en la migración, produciendo así grupos celulares de mayor tamaño. Al contrario que en las matrices con menor concentración, que dan como resultado tumores de menor tamaño y más dispersos.

A lo largo del trabajo se ha tenido en cuenta la naturaleza fibrosa de la matriz, lo que afecta directamente a la direccionalidad de las células, caso que en estudios anteriores no se ha tenido en cuenta.

Capítulo 5. Líneas de futuro

En un futuro este modelo podría ser aplicado a otros tipos de células, ya que cada tipo de célula puede tener diferentes propiedades de migración y respuesta a señales químicas. Se podría adaptar el modelo para incluir los parámetros específicos de estas nuevas células y estudiar cómo varía su comportamiento en la matriz tridimensional.

Las células a menudo secretan enzimas para hacerse camino a través de la matriz, lo que supone una degradación de esta. Se podrían introducir términos en el modelo que representen esta degradación y nos ayude a entender cómo afecta a la migración celular ya la dirección. Además de tener en cuenta los gradientes químicos que también influyen en la velocidad y dirección.

Asimismo, la distribución de fibras de la matriz sería un escenario importante para estudiar, ya que el incorporar información sobre la orientación y densidad de las fibras nos permitiría ver cómo las células siguen o interactúan con estas fibras en su camino de migración.

Capítulo 6. Bibliografía

- 1."Cáncer En Español." *Instituto Nacional Del Cáncer*, Cancer.gov, 2019, www.cancer.gov/español, Accessed 26 Aug. 2023
2. "Cancer.net." *Cancer.net*, 2019, www.cancer.net/. Accessed 26 Aug. 2023.
3. St. Jude Children's Research Hospital. "St. Jude Children's Research Hospital." *Stjude.org*, 2023, www.stjude.org/. Accessed 26 Aug. 2023.
4. Movilla, N., C. Borau, C. Valero, y J. M. García-Aznar. 2018. «Degradation of Extracellular Matrix Regulates Osteoblast Migration: A Microfluidic-Based Study». *Bone* 107:10-17. doi: 10.1016/j.bone.2017.10.025.
5. "Home." ACCO, 4 Oct. 2017, www.acco.org/. Accessed 26 Aug. 2023.
6. "Unidos Contra El Dipg - Inicio." *Unidoscontraeldipg.org*, www.unidoscontraeldipg.org/. Accessed 26 Aug. 2023.
7. Plou, J., Juste-Lanas, Y., Olivares, V., del Amo, C., Borau, C. & García-Aznar, J.M. (2018). From individual to collective 3D cancer dissemination: roles of collagen concentration and TGF- β .
8. Caiazzo, A., & Ramis-Conde, I. (2015). Multiscale modelling of palisade formation in glioblastoma multiforme. *Journal of theoretical biology*, 383, 145-156.
9. Brat, D.J., Castellano-Sánchez, A.A., Hunter, S.B., Pecot, M., Cohen, C., Hammond, E.H., Devi, S.N., Kaur, B., Van Meir, E.G., 2004. Pseudopalisades in glioblastoma are hypoxic, express extracellular matrix proteases, and are formed by an actively migrating cell population.
10. Brat, D.J., Van Meir, E.G., 2004. Vaso-occlusive and prothrombotic mechanisms associated with tumour hypoxia, necrosis, and accelerated growth in glioblastoma.
11. Martínez-González, A., Calvo, G.F., Pérez-Romasanta, L.A., Pérez-García, V.M., 2012. Hypoxic cell waves around necrotic cores in glioblastoma: a biomathematical model and its therapeutic implications.
12. Berens, M.E., Giese, A., 1999. Those left behind, biology and oncology of invasive glioma cells.
13. Justus, Calvin R., Nancy Leffler, Maria Ruiz-Echevarria, y Li V. Yang. 2014. «In vitro Cell Migration and Invasion Assays». *Journal of Visualized Experiments: JoVE* (88):51046. doi: 10.3791/51046.
14. Zaman, Muhammad H., Roger D. Kamm, Paul Matsudaira, y Douglas A. Lauffenburger. 2005. «Computational Model for Cell Migration in Three-Dimensional Matrices». *Biophysical Journal* 89(2):1389-97. doi: 10.1529/biophysj.105.060723.
15. Walker, Cameron, Elijah Mojares, y Armando Del Río Hernández. 2018. «Role of Extracellular Matrix in Development and Cancer Progression». *International Journal of Molecular Sciences* 19(10):3028. doi: 10.3390/ijms19103028.

16. Yamaguchi, Hideki, Jeffrey Wyckoff, y John Condeelis. 2005. «Cell Migration in Tumors». *Current Opinion in Cell Biology* 17(5):559-64. doi: 10.1016/j.ceb.2005.08.002.
17. Anón. s. f.-a. «Migración celular - PMC». Recuperado 14 de mayo de 2023 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4457291/>).
18. Valero, Clara, Hippolyte Amaveda, Mario Mora, y Jose Manuel García-Aznar. 2018. «Combined Experimental and Computational Characterization of Crosslinked Collagen-Based Hydrogels» editado por D. Zeugolis. *PLOS ONE* 13(4):e0195820. doi: 10.1371/journal.pone.0195820.
19. Movilla, N., C. Borau, C. Valero, y J. M. García-Aznar. 2018. «Degradation of Extracellular Matrix Regulates Osteoblast Migration: A Microfluidic-Based Study». *Bone* 107:10-17. doi: 10.1016/j.bone.2017.10.025.
20. Friedl, Peter, y Darren Gilmour. 2009. «Collective Cell Migration in Morphogenesis, Regeneration and Cancer». *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 10(7):445-57. doi: 10.1038/nrm2720.
21. Rørth, Pernille. 2009. «Collective Cell Migration». *Annual Review of Cell and Developmental Biology* 25(1):407-29. doi: 10.1146/annurev.cellbio.042308.113231.
22. Arvelo, Francisco. s. f. «ASPECTOS MOLECULARES Y CELULARES DE LA METASTASIS CANCEROSA».
23. Justus, Calvin R., Nancy Leffler, Maria Ruiz-Echevarria, y Li V. Yang. 2014. «In vitro Cell Migration and Invasion Assays». *Journal of Visualized Experiments: JoVE* (88):51046. doi: 10.3791/51046.
24. Movilla, N. (2021, 16 de septiembre). Análisis del efecto de la matriz extracelular en la migración 3D de fibroblastos y osteoblastos humanos. Extraído el 18 de agosto de 2023 desde <https://zaguan.unizar.es/record/106714/files/TESIS-2021-243.pdf>
25. Rodríguez Barrios, José Manuel, David Serrano, Toni Monleón, y Jaime Caro. «Los modelos de simulación de eventos discretos en la evaluación económica de tecnologías y productos sanitarios». *Gaceta Sanitaria* 22, n.º 2 (abril de 2008): 151-61.
26. “Esfera.” *Wikipedia*, 10 Sept. 2020, es.wikipedia.org/wiki/Esfera. Accessed 27 Aug. 2023.
27. “Rpubs - Poster-Cauchy.” *Rpubs.com*, rpubs.com/marianataliavc/1027318. Accessed 27 Aug. 2023.

