# Propuesta de un modelo fisicoquímico de la interacción astrocito-biomaterial empleado como andamio en regeneración de sistema nervioso.

**Gyna Alexandra Herrera Álvarez**

Universidad El Bosque
Facultad de Ingeniería, Programa de Bioingeniería
Bogotá D.C., Colombia
2022

# Propuesta de un modelo fisicoquímico de la interacción astrocito-biomaterial empleado como andamio en regeneración de sistema nervioso.

**Gyna Alexandra Herrera Álvarez**

Tesis o trabajo de grado presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:
**Bioingeniero**

Director(a):
José Francisco Ibla Gordillo

Bogotá D.C., Colombia
. 2022

# Contenido

**Lista de figuras** VII

**Lista de tablas** 1

**1 Introducción al contenido** 2
1.1 Resumen . . . . . 2
1.2 Abstract . . . . . 2
1.3 Introducción . . . . . 2

**2 Cuerpo principal** 3
2.1 Planteamiento del problema . . . . . 3
2.2 Arbol del problema . . . . . 4
2.3 Objetivos . . . . . 5
2.4 Justificación . . . . . 5
2.5 Estado del arte . . . . . 8

**3 Marco de referencia** 13
3.1 Células del sistema nervioso . . . . . 13
3.2 Regeneración nerviosa . . . . . 14
3.2.1 Ingeniería de tejidos . . . . . 14
3.3 Modelos . . . . . 16
3.3.1 Modelos a escala . . . . . 17
3.3.2 Modelos matemáticos . . . . . 17
3.3.3 Modelos teóricos . . . . . 17
3.3.4 Modelos en sistemas biológicos . . . . . 17

**4 Metodología propuesta** 24
4.1 Formulación del modelo . . . . . 24
4.1.1 Elección del andamio . . . . . .. . . . . 25
4.1.2 Planteamiento de supuestos . . . . . .. 27
4.1.3 Extracción de variables involucradas . . . . . 29
4.1.4 Definición de naturaleza y ecuaciones del modelo. . . . . 29
4.2 Construcción del modelo . . . . . 34
4.2.1 Elección del software . . . . . 34
4.2.2 Definición de parámetros de entrada y salida . . . . . 36

4.2.3 Programación en Python . . . . . 37
4.3 Evaluación del modelo . . . . . 38

**5 Resultados y discusión** **40**

**6 Conclusiones** **45**

**7 Referencias** **46**

# Lista de Figuras


**2-1** Árbol del problema . . . . . 5
**2-2** Diagrama modelo de autómata celular del crecimiento del neuro esfera (Sipahi & Zupanc, 2018). . . . . 11
**2-3** Diagrama de modelo celular tipo potts de micropatrones. 12
**3-1** Morfología de los astrocitos . . . . . 14
**3-2** Astrocitos. . . . . 14
**3-3** Elementos clave en la interacción entre las células y el andamio . . . . . 16
**3-4** Esquema del proceso de modelado . . . . . 19

**5-1** Diagrama general del desarrollo del modelo. . . . . .. . . . . 25
**5-2** Metodología de la formulación del modelo. . . . . 29
**5-3** Diagrama de relaciones de características del andamio y las características celulares. . . . . 29
**5-4** Representación número de puntos de adhesión a lo largo de los días 34
**5-5** Puntos de adhesión a lo largo de los días, ecuación seleccionada 34
**5-6** (A)Modelos de red de cables hexagonales y ( B ) triangulares para el citoesqueleto celular adherente (Coughlin & Stamenović, 2003). 35
**5-7** Simulación ubicación puntos de adhesión a lo largo de los días
**5-8** Diagrama de bloques de la construcción del modelo. 34
**5-9** Diagrama de bloques de la evaluación del modelo
**5-10** Energía de interacción predicha con un diametro de 0,8um
**6-1** Andamio de PCL/gelatina 40
**6-2** Diagrama representación de relaciones del modelo 43
**6-3** Diagrama de cuerpo libre astrocito-biomaterial 43
**6-4** Diagrama de bloques de la programación del modelo 44
**6-5** Simulación puntos de adhesión día 0 48
**6-6** Simulación puntos de adhesión día 1 48
**6-7** Simulación puntos de adhesión día 2 49
**6-8** Simulación puntos de adhesión día 3 49
**6-9** Simulación puntos de adhesión día 4 50
**6-10** Simulación puntos de adhesión día 5 50
**6-11** Simulación puntos de adhesión día 6 51
**6-12** Simulación puntos de adhesión día 7 51
**6-13** Simulación puntos de adhesión día 8 52
**6-14** Simulación puntos de adhesión día 9 52

**6-15** Simulación puntos de adhesión día 10 53
**6-16** Simulación puntos de adhesión día 11 53
**6-17** Simulación puntos de adhesión día 12 54
**6-18** Simulación puntos de adhesión día 13 54
**6-19** Simulación puntos de adhesión día 14 55
**6-20** Predicción energía de interacción para un astrocito a lo largo de los días 56
**6-21** Predicción de energía de interacción aplicando diversas fuerzas en los puntos de adhesión 57
**6-22** Diagrama energía de interacción y área final de puntos de adhesión variando el diámetro de los mismos 58
**6-23** Relación área final de matriz de puntos y diámetro de puntos de adhesión, variado entre 4nm y 4000nm 58
**6-24** Relación área final de matriz de puntos y diámetro de puntos de adhesión, variado entre 40nm y 400nm 59
**6-25** Relación predicción final de energía de interacción y modulo de Young bidimensional del andamio, variado entre 304N/m y 504N/m 60
**6-26** Predicción energía de interacción a lo largo de los días con diferente valor en el módulo de Young 61
**6-27** Predicción energía de interacción a lo largo de los días con diferente valor en el área del andamio considerada 61
**6-28** Relación predicción final de energía de interacción y área del andamio, variado entre la mitad y el triple 62

# Lista de Tablas

**2-1** Parámetros utilizados en el modelo CA(Van Scoy et al., 2017) 10
**3-1** Softwares usados en modelos computacionales . . . . . 22
**5-1** Matriz de decisión del andamio 28
**5-2** Matriz de decisión del software 38
**5-3** Primeros resultados de energía de interacción evaluando la repetibilidad del cálculo. 40
**6-1** Resultados energía de interacción evaluación de la repetibilidad del modelo. 56
**6-2** Resultados energía de interacción variando módulo de Young bidimensional entre 304-504N/m. 59

# 1 Introducción al contenido

## 1.1 Resumen

Se propuso un modelo teórico de escala bidimensional que busca predecir la interacción entre una célula nerviosa en este caso un astrocito y un andamio de microfibras electrohiladas orientadas de poli-e-caprolacona gelatina. El modelo parte de la importancia que tiene los puntos de adhesión de la célula y como influencian esos puntos en la respuesta de todo lo demás, es decir como influencian en la energía de interacción, en los cambios morfológicos de la célula y la respuesta al esfuerzo que va a tener el andamio. El modelo se desarrolló de forma teórica, teniendo en cuenta características físicas y mecánicas del andamio halladas de forma experimental por diferentes autores y el comportamiento natural del astrocito. El modelo propuesto se evaluó en términos de sensibilidad a los parámetros y los límites que se pueden hallar en los mismos. El modelo dio información de la energía del astrocito en el proceso de interacción con el andamio. El comportamiento evidenciado por esta energía fue siempre decreciente hasta que se estabilizó. Además, se evaluó y se evidencio como los factores del andamio no tienen mayor influencia en el comportamiento de la energía, que va a estar siempre determinada por la respuesta del astrocito a las características del andamio y su proceso de adhesión.

## 1.2. Abstract

A two-dimensional scale theoretical model was proposed that seeks to predict the interaction between a nerve cell, in this case an astrocyte, and a scaffold of oriented electrospun microfibers of poly-e-caprolacone gelatin. The model is based on the importance of cell adhesion points and how these points influence the response of everything else, that is, how they influence the energy of interaction, the morphological changes of the cell and the response to stress. that will have the scaffolding. The model was developed theoretically, taking into account physical and mechanical characteristics of the scaffold found experimentally by different authors and the natural behavior of the astrocyte. The proposed model was evaluated in terms of sensitivity to the parameters and the limits that can be found in them. The model provided information on the energy released by the astrocyte in the process of interaction with the scaffold. The behavior evidenced by this energy was always decreasing until it stabilized. In addition, it was evaluated and evidenced that the factors of the scaffold do not have a major influence on the behavior of the energy, which will always be determined by the response of the astrocyte to the characteristics of the scaffold and its adhesion process.

## 1.3. Palabras claves

Modelo teórico, interacción, astrocitos, andamio, poli-e-caprolactoca, propiedades físicas, propiedades mecánicas.

## 1.4. Introducción

Los astrocitos son una célula nerviosa cuya influencia en el éxito de la regeneración nerviosa se ha demostrado en los últimos años (Cooper et al., 2011), su participación en procesos de regeneración va tomando fuerza y su papel se hace relevante. De igual forma, tiene importancia como este reacciona al ponerse en contacto con un material en específico.
Los astrocitos sufren una serie de cambios, en su morfología o comportamiento, además de que su viabilidad celular puede verse realmente afectada por las propiedades que tenga al material con el que se va a poner en contacto(Sadeghi et al., 2019).

Sin embargo, hasta el día de hoy no hay una herramienta que pueda predecir esos cambios, o que de información de como interactúan estos dos componentes. Tener una herramienta que lo facilitara evitaría el desperdicio de material y tiempo en andamios que no cumplen con las características especificas que requiere un entorno tan complejo como lo es el sistema nervioso (Zhang et al., 2018). Es por lo que en este trabajo se busca proponer un modelo físico químico de la interacción astrocito-biomaterial empleado como andamio en la regeneración del sistema nervioso.

El modelo dará información de la energía de interacción que se da entre el astrocito y el biomaterial, permitiéndole al usuario tener una idea de cuan exitosa será la interacción antes de llevar la situación a una realización experimental. El modelo es una herramienta para quienes han entendido la importancia de los astrocitos, y el éxito que la regeneración puede tener si se da una interacción exitosa entre ellos y el andamio.

Este documento parte de la identificación de un problema de la carencia con ayuda de una ardua revisión bibliográfica, se plantean las ecuaciones. Luego se lleva a cabo la metodología, proponiendo un modelo que cumpla con los requerimientos ya planteados y ofrezca información sobre la energía que proviene del astrocito y responde al proceso de adhesión, el cual se ve en los resultados, estos mismos se analizan, y se llega a las conclusiones sobre cómo influye cada variable considerada en la respuesta del modelo. .

# 2 Cuerpo principal

## 2.1. Planteamiento del problema

En el mundo actualmente más de un millón de personas tienen afectaciones en el sistema nervioso. Esto puede deberse a diversas causas, entre ellas se encuentran las lesiones traumáticas causadas por algún tipo de accidente en cualquier parte del sistema; enfermedades neurodegenerativas o trastornos en el desarrollo neurológico. A pesar de su relevancia no se cuenta con tratamiento efectivo para la mayoría de los casos (Zhuang et al., 2017).

La ingeniería de tejidos ha tenido un alto impacto en los últimos años gracias a los enfoques prometedores que ofrece en la reparación de los defectos en diferentes tejidos, entre estos, el nervioso. Para este fin, se requiere la fabricación de andamios que interaccionan con la células para promover el desarrollo de tejidos(Kennedy et al., 2016). Mediante características únicas de los andamios que imiten las propiedades de la matriz extracelular, para el cultivo de células específicas, según la regeneración deseada (Kharaziha et al., 2013). Los andamios tienen la función de soportar las células y de brindarles a las mismas las condiciones necesarias para que crezcan, proliferen e interactúen entre ellas para conseguir así una regeneración exitosa (Zhang et al., 2018). En particular, los andamios utilizados para reparar células nerviosas, además de cumplir con los requisitos convencionales como biocompatibilidad, alta porosidad y biodegradabilidad, deben cumplir otras más específicas que promuevan la proliferación celular nerviosa, como lo es la integridad mecánica para mantener una vía de señalización sin obstáculos, proporcionar contacto para la migración celular, entre otras (Cooper et al., 2011). A su vez, las células ejercen fuerzas sobre la matriz y remodelan su estructura a lo largo del desarrollo del tejido(Kennedy et al., 2016).

La regeneración se estudia ampliamente a través de andamios bidimensionales (2D) y tridimensionales (3D). Las investigaciones en 2D son populares y exitosas, particularmente en el crecimiento de la célula, la supervivencia y formación de señales fisicoquímicas. Mas, sin embargo, son generalmente inadecuados debido a las insuficientes interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular. En contraste, los andamios 3D para el cultivo de las células, establecidos artificialmente proporcionan un entorno más complejo y tienden a ser más informativos y predictivos sobre la interacción (Zhuang et al., 2017). La interacción de las células con los biomateriales es fundamental para la proliferación y diferenciación celular. Diversas señales bioquímicas (factores de crecimiento, fármacos) o biofísicas (Estrés / tensión, campo magnético, campo eléctrico) están involucradas en la interacción célula-biomaterial, que regula dinámicamente los comportamientos celulares (Meng et al., 2019). Estudios anteriores

han demostrado que las interacciones de las células con los andamios pueden verse influenciadas por las propiedades mecánicas de los andamios, y que las señales mecánicas se pueden utilizar para regular los comportamientos celulares como la migración celular, la proliferación y la diferenciación(Ning et al., 2016).

Los biomateriales tienen la particularidad de imitar la matriz extracelular natural, sin embargo, no se tiene claridad de cómo las señales físicas (topografía) y químicas influencian la respuesta de las células neuronales, lo que lleva a no obtener los andamios con las propiedades requeridas (Sergi & Cavalcanti-Adam, 2017), para aportar en la posible obtención de un tejido que funcione en la regeneración de sistema nervioso central. Por lo tanto, el problema central como se evidencia en el árbol del problema es la falta de herramientas que permitan obtener andamios donde se favorezca la interacción con los astrocitos, ya que no hay forma de entender esta relación enfocada en sistema nervioso central.

Este problema, presentado en el árbol tiene varias causas entre esas, que para poder comprender la relación que está ocurriendo entre el andamio y el astrocito es fundamental tener en cuenta una integración de los diversos comportamientos tanto de la célula como del biomaterial, y no usar técnicas que pretenden tener en cuenta una sola característica del biomaterial, sea su comportamiento mecánico, composición química, o características físicas (topografía), para determinar el comportamiento celular, porque este tipo de técnicas dejan fuera un gran número de variables que también pueden influenciar o limitar el comportamiento real que va a tener la célula en el biomaterial (Zhang et al., 2018).

Por otro lado, no comprender la interacción produce discrepancias entre el andamio deseado y el obtenido (Stogsdill & Eroglu, 2017)(Melacon et al, 2017). Muchas veces el andamio que se obtiene no tiene las propiedades deseadas y esto lleva a que sea necesario repetir el proceso, puesto que lo que se busca es favorecer el desarrollo celular (proliferación, viabilidad, etc), para así a largo plazo promover la regeneración nerviosa; pero para que este desarrollo celular sea correcto, el ambiente debe tener las características ya mencionadas en pro de las necesidades de la célula.

Otra de las causas también expuestas en el árbol es que el estudio de las características está basado en ensayos de prueba y error. Estas características son importantes, ya que limitan la arquitectura que debe ser adecuada para que las células crezcan, proliferen y sean viables para la formación de tejidos(Zhang et al., 2018). Y no existe actualmente una forma de tener un acercamiento preciso a la determinación de estas características, y a la comprensión de la influencia de las misma en la respuesta celular, lo cual lleva a que el desarrollo de tejidos sea un proceso incierto, donde el éxito o el fracaso de un andamio con características adecuadas no se llega a comprobar sino hasta su implementación experimental (Sergi & Cavalcanti-Adam, 2017).

Es por esta serie de motivos, que entender la interacción entre el andamio y el astrocito, se vuelve fundamental en ingeniería de tejidos enfocada en regeneración de sistema nervioso. Con apoyo de herramientas computacionales que permitan simular la interacción entre el andamio y el astrocito y así a largo plazo el desarrollo de mejores andamios, lo que significa a su vez el desarrollo de esta área de estudio.

## 2.2. Árbol del problema

A continuación se muestra el árbol del problema, en el cual se pueden identificar nuestro problema central, sus causas y consecuencias **2-1**.

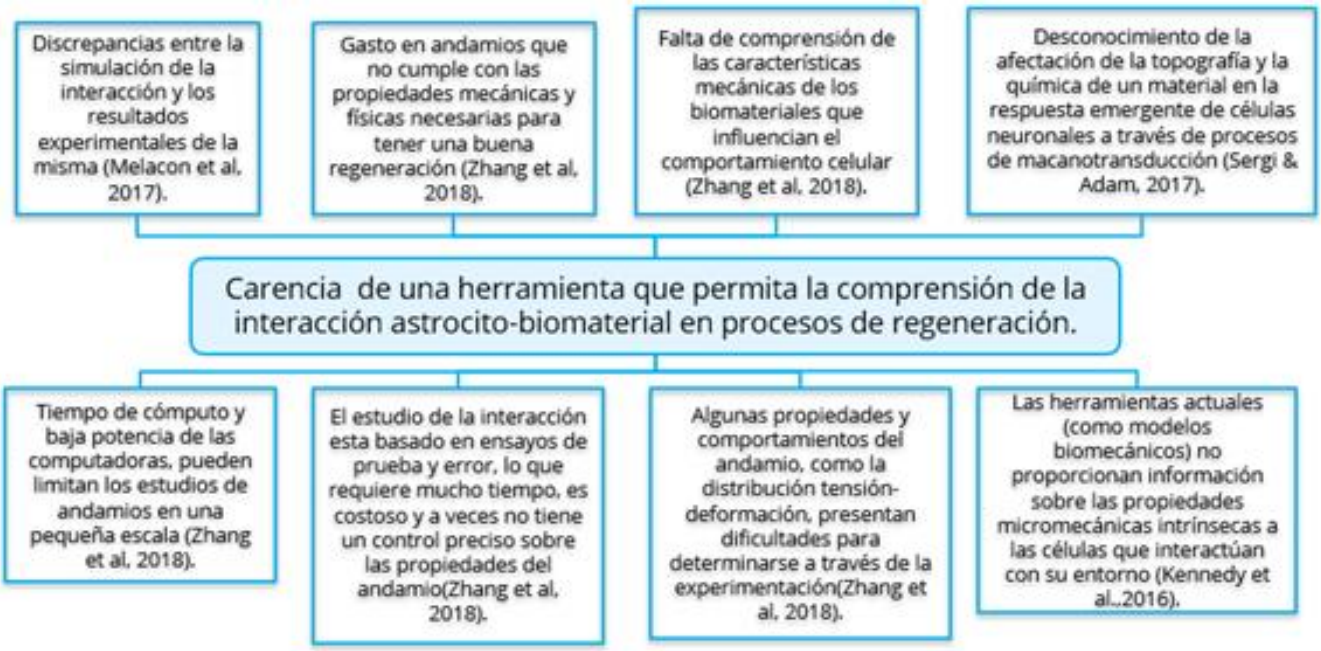



**Figura 2-1:** Árbol del problema [Autoría propia]

## 2.3. Objetivos

### OBJETIVO GENERAL

Proponer un modelo físico y químico de la interacción astrocito-biomaterial empleado como andamio en regeneración de sistema nervioso.

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Diseñar el modelo a partir de variables críticas del biomaterial que influencian el comportamiento del astrocito.
- Construir el modelo en un software que permita la predicción de la interacción astrocito-biomaterial.
- Evaluar la sensibilidad y confiabilidad de los parámetros físicos de interacción en los resultados del modelo.

## 2.4. Justificación

Los biomateriales se pueden usar en la regeneración de diversos tipos de tejidos como tejidos del sistema nervioso, blandos, cardiacos y óseos (D'Amore et al., 2014). Dependiendo de la aplicación de este, es decir del tejido específico que se desee regenerar, se busca una serie de propiedades que contribuya a que la regeneración se dé de forma efectiva. La capacidad de producir biomateriales fibrosos abre nuevas oportunidades en la medicina regenerativa (Cooper et al., 2011), esto motiva el desarrollo de estrategias de caracterización más avanzadas y a la vez para entender la influencia de estos materiales en el desarrollo celular.

Los materiales compuestos por fibras tienen una serie de características físicas en función de parámetros geométricos cuantificables, como las intersecciones de fibra, conectividad, orientación y diámetro, estas características tienen una influencia en la mecánica del material y a su vez en la respuesta celular cuando interactúan (D'Amore et al., 2014).
Los andamios están diseñados para imitar las propiedades de la matriz extracelular del tejido objetivo para guiar la regeneración y reparación de los tejidos. Cuando las células se introducen en el andamio, el desarrollo del tejido es impulsado, en gran parte, por las interacciones a microescala entre las células y la matriz (Kennedy et al., 2016).

El semillero de investigación de Biomateriales de la Universidad El Bosque, ha centrado sus actividades en tres líneas: biosensores y bioreceptores, liberación controlada de fármacos y biomateriales para la regeneración de tejidos. En esta última se han propuesto desarrollos de biomateriales para regeneración en tejidos blandos, óseos y últimamente nervioso. Los recursos del semillero son limitados y deben aprovecharse de la mejor manera, es por esto por lo que se busca desarrollar proyectos que hagan más eficiente el uso de estos recursos en pro de las líneas de investigación. Es así como para la regeneración de sistema nervioso, nace la idea de encontrar herramientas que permitan fabricar andamios que tengan mejor respuesta con el sistema nervioso así, poder predecir como ocurriría la interacción entre el andamio y la célula sin llegar a gastar en materiales y el tiempo en andamios que resulten no aptos para el sistema nervioso, ya que para este se ha demostrado unos requerimientos específicos, mejorando así la eficiencia en la producción de andamios y de la regeneración en sí.

Los grupos de investigación que se dedican a la regeneración de sistema nervioso central han evidenciado la importancia de la topografía de los diversos biomateriales usados en este campo. En particular se ha visto que las fibras alineadas sirven para soportar la adhesión y aumentar la proliferación celular, además que guía la restauración de la unión entre las células, influenciada por la orientación de la fibra (Cooper et al., 2011).

Los andamios biomiméticos exhiben una naturaleza compleja, donde cada propiedad tiene una influencia en la otra. Un ejemplo de esto es la elasticidad o rigidez que se cuantifica por el módulo de Young, que relaciona la tensión y la deformación, estas pueden deberse en el andamio, por ejemplo, a una célula que empuja contra una fibra para iniciar migración o cargas fisiológicas como la presión hidrostática. En los andamios fibrosos, las fibras (puntales) pueden sufrir tensión, compresión, y flexión, dependiendo de las tracciones inducidas por células. En estos casos, también es útil cuantificar el módulo de flexión de las fibras que depende de la geometría, alineación, así como de la composición química del material y de los componentes adicionales (factores de crecimiento, reticulantes, entre otros) en el mismo (Kennedy et al., 2016).

El ejemplo anterior, es una sencilla forma de comprender la relación entre los diversos factores del andamio, y como estos tienen influencia en el comportamiento celular, sin dejar de lado el comportamiento de retroalimentación cerrada, donde el comportamiento celular también está teniendo una influencia constante en el biomaterial. Viéndolo así, la complejidad de la interacción célula- biomaterial no permite su comprensión a simple vista, o tomando en cuenta una sola característica, si se quiere obtener el resultado deseado, o una predicción fiable de este comportamiento.

En Colombia los recursos invertidos por entidades públicas y privadas no son suficientes para las necesidades y desafíos que presenta la investigación, desarrollo e innovación en tecnologías(Nieto Gómez & Giraldo Díaz, 2015). Se sabe que existen 12 grupos de investigación dedicados a la ingeniería de tejidos en el país, de los cuales solo uno trabaja regeneración enfocada a sistema nervioso (Ramirez & Ayala, 2016). Este déficit en investigación y el gran número de personas afectadas por lesiones en sistema nervioso, crea la necesidad de desarrollar tecnología, que permita el aprovechamiento de los pocos recursos. Por lo tanto, un desafío central está en volver los procesos de producción de tejidos, que generalmente se basan en prácticas de laboratorio, en técnicas apropiadas que sean reproducibles, segura, efectivas y económicamente aceptables(Nieto Gómez & Giraldo Díaz, 2015). Para poder obtener un andamio que ofrezca las propiedades necesarias es importante comprender las características propias del mismo y del ente biológico con el que va a tener contacto directo, en este caso se vuelve fundamental entender la interacción entre el andamio y el astrocito.

Los diferentes estudios han demostrado que la interacción entre la célula y el andamio es cuantificable, esta cuantificación es significativa para la ingeniería de tejidos, particularmente para determinar la influencia del andamio en el desarrollo de las células. Al contar con modelos que proporcionen información sobre la interacción entre el andamio y la célula es probable estudiar está antes de llevar el andamio a un nivel experimental, de forma que cuando se haga la experimentación se obtengan los resultados deseados (Dado & Levenberg, 2009). La falta de modelos hace que el proceso de elección de un andamio que tenga una respuesta positiva en el desarrollo de la célula sea lenta y costosa, pues requiere de múltiples pruebas de laboratorio variando las características físicas del andamio, y observando la respuesta de la célula ante estas características. Cada prueba de por sí es costosa, y además tiene el riesgo de ser fallida, lo que implica una perdida monetaria para los investigadores, además de que el tiempo que se tardan fabricando cada andamio fallido retrasa las diversas investigaciones (Zhang et al., 2018).

La realización de un modelo es compleja, requiere de una comprensión a profundidad del contexto, del manejo del lenguaje matemático y del manejo de software para llevarlo a la computación. Es este requerimiento de capacidades lo que permite que un bioingeniero haga el desarrollo de un modelo que describa la interacción del astrocito y el andamio, porque un bioingeniero puede comprender el sistema biológico, entender las propiedades físicas y químicas del andamio, descubrir la relación que hay entre ambas y llevarlos a un lenguaje matemático, para poderlo implementar posteriormente en un software que modele la interacción y de una respuesta que pueda dar información del contexto.

Por esto se propone desde la bioingeniería desarrollar un modelo computacional que sirva para comprender la interacción entre el biomaterial y los astrocitos, de forma que se tengan en cuenta las características fisicoquímicas que a su vez influencian el comportamiento mecánico del material y regulan el comportamiento celular.

Cabe aclarar que, aunque los modelos que involucren comportamiento celular se pueden realizar teniendo en cuenta diversas características, como la proteómica, genómica, sus procesos metabólicos, entre otras; el modelo que se va a desarrollar se enfocará únicamente en la interacción de la célula con el andamio, proporcionando información de la energía involucrada en la interacción molecular de las superficies, sin analizar los cambios que esta interacción pueda tener en la célula. Además, el modelado de esta interacción tendrá como punto de partida, las

características físicas del andamio, y algunas propiedades químicas fundamentales para la interacción como la naturaleza hidrofílica o hidrofóbica del material, y características de la línea celular, astrocitos, como su morfología, tasas de proliferación y demás, todos los datos serán obtenidos únicamente por revisión bibliográfica.
Este modelo tomando conocimientos desde la física, la química, la mecánica, la biología e integrando todo eso en las matemáticas y la programación, abre las puertas a herramientas que solo son posibles de desarrollar por bioingenieros con la capacidad de entender el contexto y de llevarlo a otro tipo de lenguaje. Herramientas como esta, han demostrado mejorar la eficiencia de diferentes procesos. El uso de modelos predictivos, facilitan la compresión de un fenómeno que resulta fundamental en términos de la regeneración como lo es la respuesta de los astrocitos en algún andamio. Modelos como este, no se han desarrollado con la especificidad con la que se trabaja en este proyecto.

## 2.5. Estado del arte

Los modelos en ingeniería de tejidos se pueden enforcar en diversos aspectos para predecir los comportamientos celulares y del desarrollo de los tejidos. El interés es en regeneración de sistema nervioso, específicamente en la interacción entre el andamio y los astrocitos. Los modelos en este aspecto no existen con la especificidad requerida. En sistema nervioso se han presentado algunos estudios, como uno donde se establece un modelo matemático que simula el crecimiento nervioso en un conducto nervioso, virtualmente construido que incorpora múltiples gradientes de concentración del factor de crecimiento (NGF). Usando un algoritmo genético, Se ha obtenido perfiles iniciales optimizados de NGF capaces de lograr 4,5 cm de crecimiento guiado con una tasa de crecimiento significativamente mejorada. El modelo también predice una relación inversa entre el coeficiente de difusión del factor y la tasa de crecimiento de neuritas. Este modelo proporciona una herramienta útil para evaluar varios diseños de conductos antes de la fabricación y evaluación. Utilizaron modelos matemáticos para simular el crecimiento guiado dentro de un conducto nervioso construido virtualmente inmovilizado con NGF. Se determina el perfil inicial de NGF dentro del conducto que conduce a una tasa de crecimiento guiada optimizada en las células PC12. También investigamos el efecto del coeficiente de difusión de NGF, que determina qué tan rápido decae el gradiente, sobre la tasa de crecimiento guiada. Tanto el perfil inicial como el coeficiente de difusión representan parámetros de diseño importantes para fabricar conductos nerviosos reales en alguna fecha futura(Se et al., 2007).

A continuación, se presentan el desarrollo de otros modelos, que, aunque no se enfocan en sistema nervioso, tienen en cuenta algunas características físicas y mecánicas del andamio, que como se ha hablado a lo largo de este documento regulan el comportamiento celular, además los mismos sirven de base para entender la naturaleza que puede tener un modelo.

Se ha visto como el uso de simulaciones por computadora, investiga mecanismos de migración. Se presenta un modelo computacional que explica la deformación elástica y las fuerzas de la matriz extracelular, una corteza celular activa y un núcleo, y las fuerzas hidrodinámicas y el flujo del fluido extracelular, el citoplasma y el nucleoplasma. Se encontró que las relaciones entre tres parámetros mecánicos: la fuerza contráctil de la corteza, elasticidad nuclear y rigidez de ECM:

determine la efectividad de la migración celular a través de la densa matriz extracelular(Maxian et al., 2020).

En otro se presenta un modelado computacional para caracterizar las propiedades mecánicas del biomaterial tipo gell 3D, específicamente, el andamio de alginato 3D encapsulado con células. La no linealidad inherente al alginato y las variaciones que surgen de cambios mínimos en su concentración y viscosidad hacen que la evaluación experimental de sus propiedades mecánicas sea una tarea desafiante y que consume mucho tiempo. Desarrollaron un modelo in silico para determinar la relación tensión-deformación del alginato. En particular, compararon el modelo hiperelástico de Ogden con otro modelo de material hiperelástico y determinaron que este modelo era el más adecuado para caracterizar el comportamiento no lineal del alginato.

Se desarrolló un modelo computacional de acumulación de matriz extracelular en un andamio sembrado de células, basado en un sistema continuo de reacción-difusión con inclusiones no homogéneas que representan células individuales. Los efectos de la porosidad en los resultados del tejido diseñado se explican mediante el uso de variables de mezcla que capturan la dinámica espaciotemporal de los componentes del sistema unidos y no unidos. Los constituyentes no unidos son los nutrientes y la matriz extracelular no unida, mientras que los constituyentes unidos son el andamio y la matriz extracelular unida. El modelo de enlace delinea la unión de los constituyentes de la matriz a la matriz extracelular unida existente o al andamio. Se observan alteraciones significativas en la acumulación espaciotemporal de la matriz unida cuando, entre el conjunto de todos los parámetros del modelo, solo se varía la porosidad inicial del andamio. El modelo presentado en ese documento propone una metodología para investigar el acoplamiento entre la biosíntesis mediada por células y la unión de la matriz extracelular en andamios porosos sembrados de células que tiene el potencial de ayudar en el diseño de construcciones óptimas de cartílago de ingeniería tisular (Olson & Haider, 2019).

La ingeniería de tejidos ha entendido la necesidad de modelos que investiguen las interacciones entre la dinámica celular y el microambiente local. Un ejemplo se da donde utilizan un marco discreto para capturar el comportamiento individual de las células, modelando experimentos donde las células se siembran en un andamio poroso o hidrogel y en el transcurso de un mes, el andamio se degrada lentamente mientras las células se dividen y sintetizan los componentes de la matriz extracelular. Se utiliza un enfoque fenomenológico para capturar un perfil continuo para el andamio degradante y la matriz de acumulación, que luego cambiará la porosidad local en toda la construcción. Parametrizaron el modelo haciendo coincidir primero el recuento total de células en la construcción con los condrocitos sembrados en un andamio de ácido poliglicólico. Investigaron, además, la influencia de la porosidad inicial del andamio en el recuento total de células y los perfiles espaciales de células y la construcción de la matriz extracelular. El marco de modelado desarrollado puede extenderse fácilmente y puede usarse para identificar andamios óptimos y condiciones de cultivo que conducen a una distribución deseada de matriz extracelular y recuentos de células en todo el constructo (Cassani & Olson, 2020).

Los modelos en el aspecto biológico tienen una mejor respuesta cuando se hace una integración de varios modelos, un ejemplo de esto es la realización de un modelo integrador de FE (elementos finitos) para analizar el efecto del proceso de degradación acelerada dependiente del tiempo y el cultivo de células hOB en el comportamiento mecánico del implante PCL / andamio HAPcla e in situ

en defectos óseos de tamaño crítico. El modelo FE se construyó utilizando elementos tetraédricos de 1,5 mm. La longitud del elemento era la misma que el tamaño de la superficie en el modelo FE de PCL / in situ HAPclay. El número total de nodos y elementos del modelo FE fue de 7,133 y 36,037, respectivamente. Los parámetros de material dependientes del tiempo utilizados en las simulaciones de FE se obtuvieron de la integración de la respuesta de tensión-deformación del modelo de FE predicho de los andamios PCL / in situ HAPclay y la función de degradación propuesta.

Finalmente, se informaron las respuestas de tensión-deformación para las simulaciones FE del andamio del implante en defectos óseos de tamaño crítico. El modelo FE se realizó con el Marc / Mentat 13.0 (Sharma et al., 2017).

Luego de realizada una búsqueda mas especifica de modelos que sirvieran como base para el desarrollado en este trabajo, se obtienen modelos que resultan en la base del proyecto a realizar. Para empezar, se analizó un modelo de autómata celular de desarrollo de sistema óseo, en él se simulaba el proceso de mineralización realizado por los osteoblastos en una serie de pocillos donde fueron cultivados. Los investigadores hacen los ensayos in vitro y la simulación. Validan la simulación por evaluación de permutaciones del porcentaje de mineralización en cada pocillo, comparando el porcentaje obtenido tanto en el modelo como en el ensayo experimental (Van Scoy et al., 2017).

En este artículo, establecen una serie de parámetros para el modelo que se resumen en la tabla 1. Como se ve en tal tabla el comportamiento del modelo está definido por únicamente dos funciones matemáticas, la primera define el lugar inicial donde se va a hacer la mineralización. Este lugar esta determinado por un numero aleatorio de una serie que tiene una distribución gaussiana y la desviación estándar natural de los osteoblastos. La segunda función está determinada por el comportamiento natural del sistema óseo, donde los lugares con presencia cercana de mineralización son los que tienen mayor probabilidad de generar mineralización. Esto lo pasan al lenguaje matemático al hacer una comparación de la media de porcentaje de mineralización de toda la matriz, con la de los vecinos de un sitio especifico.

***Tabla 2-1**. Parámetros utilizados en el modelo CA (Van Scoy et al., 2017).*

| ***Paso*** | ***Función*** | ***Variables*** | ***Explicación*** |
|---|---|---|---|
| t=0 | I=[ini\|r\|]<br>I número de sitios iniciales de mineralización. | ini=[(,001*M*N)} | Número inicial de sitios de mineralización |
| | | MxN | Dimensiones de la matriz |
| | | R | Número generado aleatoriamente r~N (b,1) |
| | | b=[(,001*M*N)] | 0,1% de los sitios iniciales |
| t=1 a t=26 | Si xa>A<br>B(i,j,t)=B(i,j,t)+$\frac{7y^2}{8}$a<br>else<br>B(i,j,t)=B(i,j,t) | A | Mineralización media de barrio |
| | | A | Mineralización media de toda la matriz |
| | | x~\|N(8,8)\| | Mineralización del sitio depende del barrio |
| | | y~U(0,1) | Cantidad de mineralización<br>No es negativo |

Otro de los modelos que se analizaron fue un modelo de autómatas celulares de tipo estocástico en él, modela el crecimiento de neuro esferas. Este modelo es un modelo lineal, de relaciones y ecuaciones sencilla. Se representa en el diagrama de la figura 2-2.

Este modelo sigue una naturaleza lineal, cada célula se representa con una celda, y se analiza varios microestados para cada una de las celdas de la matriz de acuerdo con las reglas que rigen este comportamiento. El modelo esta compuesto por varios microestados y límites de contorno, y la matemática está ligada a la probabilidad de cada microestado de ocurrir.

Por último, se estudió un modelo de una naturaleza diferente, un modelo celular tipo potts, que estudia la dinámica celular en la formación de micropatrones (Albert & Schwarz, 2014), este modelo deja de ser lineal y parte de un modelo laplaciano. Sus relaciones (figura 2-3) se basan en las tensiones que se ejercen entre el micropatron y la célula, su construcción se hace de forma progresiva.

Este modelo a diferencia de los otros, no representa una célula en una celda de matriz sino que toda la matriz viene a representar el micro patrón que busca llegar a estar cubierto por la célula.

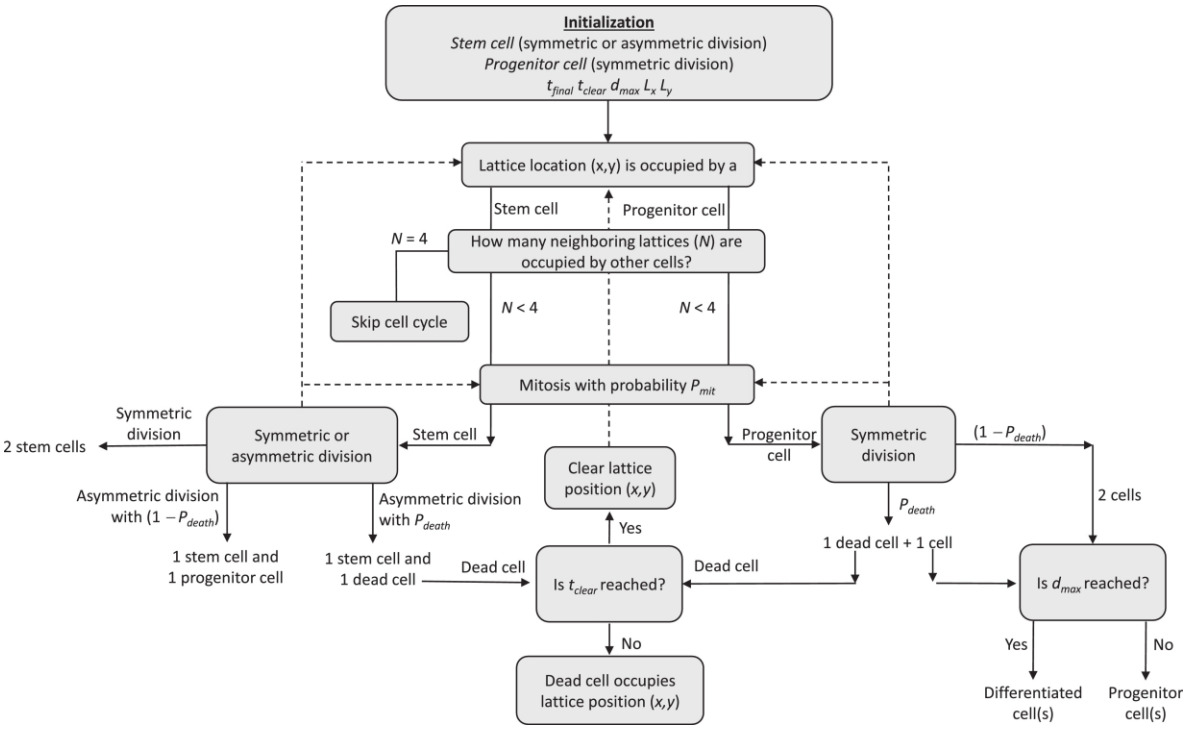



**Figura 2-2.** Diagrama modelo de autómata celular del crecimiento del neuro esfera (Sipahi & Zupanc, 2018).

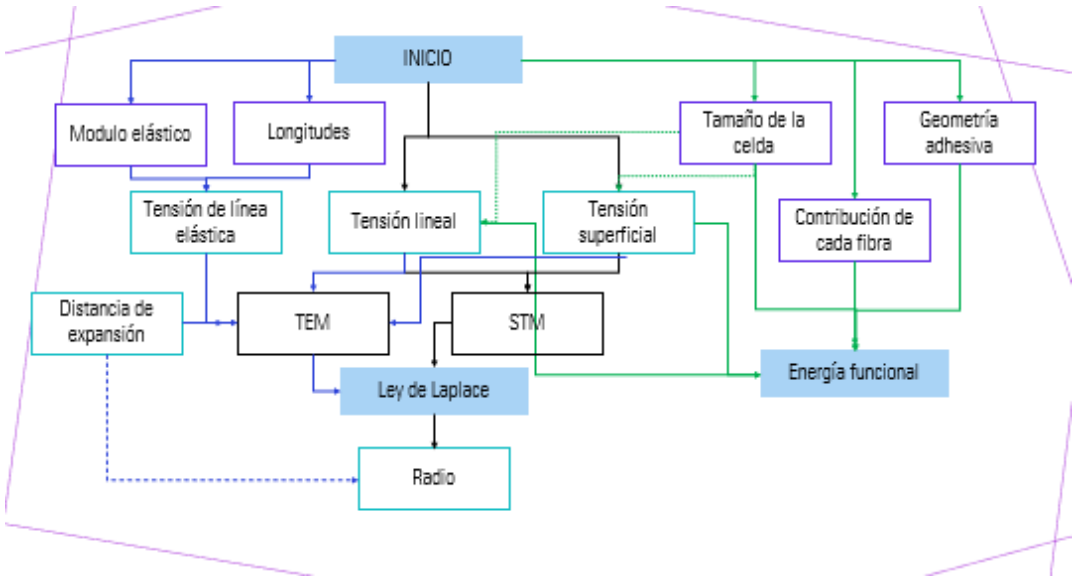



**Figura 2-3.** Diagrama de modelo celular tipo potts de micropatrones.

# 3 Marco de referencia

El sistema nervioso se compone de dos partes, el sistema nervioso central y el periférico. El central recibe la información del medio y coordina las actividades y comportamientos del organismo. Mientras que el periférico se encarga de conectar el central con las extremidades y los órganos, sirviendo como trasmisor de comunicación. El daño en el sistema nervioso, debido a enfermedad, trauma o vejez puede conducir a déficit funcionales o de comportamientos (Sakaguchi, 2016).

El sistema nervioso central (SNC) está compuesto principalmente de: el cerebro y la médula espinal. Lo componen células nerviosas, neuronas y unas células especiales de soporte, células gliales, estas componen el 90% del SNC. Las neuronas son las reponsables de las funciones exclusivas del sistema nervioso, mientras que las gliales apoyan y protegen las neuronas (Brodal & Brodal, 2016; Yao et al., 2018).

## 3.1. Células del sistema nervioso

Las neuronas son células eléctricamente excitables encargadas de conducir los impulsos eléctricos a otras neuronas o células del cuerpo, como respuesta a una variedad de estímulos. Participan en la transmisión sináptica y el procesamiento de la información. Las caracteriza su capacidad de responder a los estímulos a través de impulsos nerviosos, que viajan por el axón en un corto rango de milisegundos (Brodal & Brodal, 2016) .

Por otro lado, las células gliales se dividen en dos categorías, la macroglía y la microglía. La macroglía está formada por oligodendrocitos, astrocitos, células NG”+ y células ependimales. La microglía viene de células mieloides monocíticas y son los macrófagos residentes del SNC (Mathey et al., 2010).

Los oligodendrocitos, su organización y estructura son esenciales para un sistema nervioso funcional ya que producen la mielina en el SNC que proporciona aislamiento para los axones, haciéndolos responsables de la velocidad de propagación de información. Son socios activos de las neuronas (Michopoulos et al., 2018; von Bernhardi et al., 2016).
Según su morfología y algunos estudios inmunohistológicos, existen dos tipos de astrocitos: tipo
Las microglías son las células inmunes del SNC, corresponden a la defensa del cerebro, son responsables de la protección contra factores patógenos (von Bernhardi et al., 2016).
Los astrocitos son células gliales en forma de estrella que construyen la microarquitectura del sistema nervioso central. Son las células más numerosas de la glía y las más diversas en el SNC. Se encargan de una gran variedad de funciones, crean el ambiente cerebral, mantienen la homeóstasis cerebral, controlan el desarrollo de células neuronales, y proporcionan defensa cerebral (Mathey et al., 2010;Yao et al., 2018).

Según su morfología y algunos estudios inmunohistológicos, existen dos tipos de astrocitos: tipo 1 y tipo 2. Los astrocitos tipo 1 se desarrollan a partir en la sustancia blanca, se caracterizan por la presencia de numerosas fibrillas en su citoplasma. Los astrocitos tipo 2, se encuentran en la materia gris y derivan de células progenitoras bipotenciales (Yao et al., 2018).

Los astrocitos son células con una apariencia similar a una estrella (figura 3-1), tiene varios tallos que se originan en el soma, aunque exiten otras morfologías. Una característica morfológica arquetípica de los astrocitos es su expresión de filamentos intermedios, que forman el citoesqueleto (Kettenmann & Verkhratsky, 2016).

.

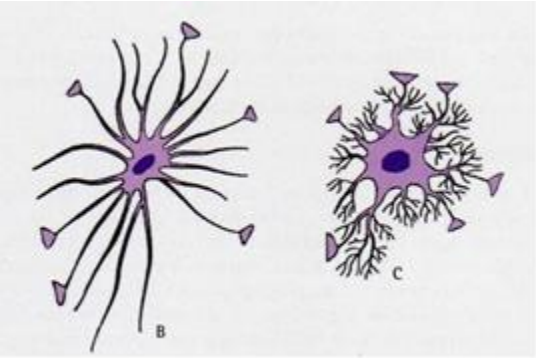



**Figura 3-1:** Morfología de los astrocitos.(Morfología-Electiva TEJIDO NERVIOSO Dr. Ariel D. Quiroga Electiva ppt video online descargar, n.d.)

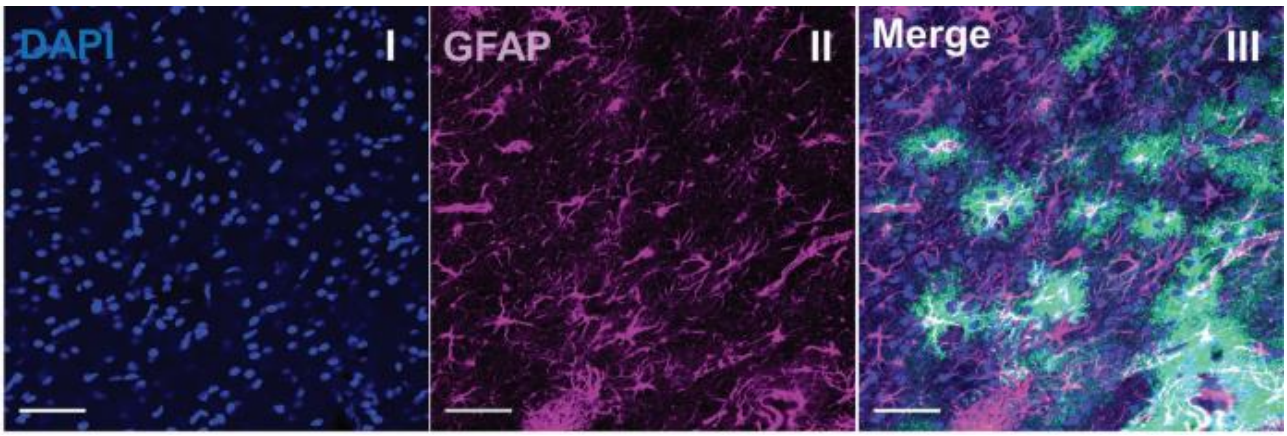



**Figura 3-2:** Astrocitos. Escala 50 µm.(Testen et al., 2020)

Los astrocitos tipo 1, es decir los fibrosos, tienen tallos largos (hasta 300µm) pero mucho mas sencillos. La densidad de los astrocitos fibrosos es de alrededor 200,000 células por $mm^3$ .Los astrocitos tipo 2, protoplasmáticos tienen muchos tallos finos (en promedio ~ 50 µm de largo), que son extremadamente elaborados y complejos. Los tallos de los astrocitos protoplasmáticos contactan los vasos sanguíneos, formando los llamados pies terminales perivasculares, y forman múltiples contactos con las neuronas. La densidad de astrocitos protoplasmáticos en la corteza varía entre 10,000 y 30,000 por $mm^3$ (Kettenmann & Verkhratsky, 2016).

## 3.2. Regeneración nerviosa

Las lesiones del sistema nervioso afectan a más de mil millones de personas en todo el mundo, con 6,8 millos de muertes como resultado cada año (Papadimitriou et al., 2020).

Las lesiones en el SNC a menudo conllevan complicaciones muy graves, que incluyen enfermedades neurodegenerativas y daños físicos en el cerebro y la médula espinal, en gran medida estas lesiones son intratables (Lee et al., 2016).

La regeneración nerviosa busca reparar, reemplazar y regenerar tejidos neuronales, afectados por alguna enfermedad, lesión o el proceso de envejecimiento. La idea de las terapías es restaurar la función del sistema nervioso central. Una razón principal para la ausencia de una capacidad regenerativa prominente en el SNC adulto reside en el entorno glial. Debido a que los oligodendrocitos junto a los astrocitos, producen moléculas inhibidoras en el sitio de la lesión que suprimen la regeneración y el restablecimiento de la función (Sakaguchi, 2017).

Todas las células se ven involucradas en este proceso; se ha comprobado que la muerte o supervivencia de los astrocitos afecta el resultado de la regeneración a través de los efectos sobre la neurogénesis y reorganización celular (Yao et al., 2018).

Se ha demostrado en diversos estudios que los astrocitos pueden soportar el crecimientos de neuritas y reducir las cicatrices después de una lesión cerebral. Se espera además la formación de puentes de astrocitos, ya que estos podrían promover la regeneración del axón en adultos(Yao, 2018). Estas funciones le dan un papel fundamental en la regeneración del sistema nervioso central.

### 3.2.1. Ingeniería de tejidos

La ingeniería de tejido neuronal integra células, biomateriales y técnicas de fabricación en 3D para tratar las lesiones nerviosas. En la ingeniería de tejidos enfocado en tejidos nerviosos, se usa un andamiaje neuronal artificial que busca reemplazar la zona afectada y eventualmente restaurar la función nerviosa. Se tiene gran interés en la fabricación de andamios con una arquitectura espacial altamente controlada para cumplir con los requisitos específicos del paciente, lo que lleva a explorar técnicas de fabricación que permitan ese control, entre ellas se ha despertado gran interés en la bioimpresión 3D(Lee et al., 2016).

Los andamios para regeneración nerviosa deben cumplir con ciertas características: la superficie debe permitir una excelente adhesión y proliferación celular;  los andamios deben tener una alta biocompatibilidad, baja citotoxicidad e inflamación in vivo; buena tasa de biodegradabilidad; alta porosidad que permita el intercambio de gases, nutrientes y promueva

la adhesión y migración celular; y los andamios deben tener una estructura de mecánica estable (Lee et al., 2016).

Los andamios pueden estar hechos tanto de polímeros naturales (es decir, quitosano, colágeno, gelatina, alginato, ácido hialurónico) como de los polímeros sintéticos (es decir, policaprolactona (PCL), poli (ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) y poli ( ácido L -láctico ) ( PLLA)). Los naturales poseen una alta biocompatibilidad, también imitan estrechamente el tejido natural de la matriz extracelular. Muchos biomateriales naturales tienen propiedades mecánicas inadecuadas para su aplicación, como su baja rigidez, desventaja de la variabilidad entre lotes, escasez y dificultad en el procesamiento, por esto se suelen hacer combinaciones entre dos o más materiales. Muchos de los polímeros sintéticos son biodegradables y pueden diseñarse con una porosidad inherente que influye directamente en la adhesión, proliferación y migración de las células neurales. Varios estudios han intentado optimizar la porosidad y la resistencia mecánica de los materiales sintéticos como armazón nervioso (Lee et al., 2016).

Las características físicas del andamio, como la rugosidad y la topografía, y las propiedades mecánicas (por ejemplo, rigidez y elasticidad) influyen en la morfología y el comportamiento celular. Los andamios tienen una serie de estructuras que influyen la interacción entre la célula y el andamio al promover la adhesión celular, la migración, la proliferación y la diferenciación a tejido nuevo; estas estructuras se convierten en señales topográficas bien definidas, como surcos, crestas, poros y nodos (Alkhalili et al., 2019). Las propiedades físicas del andamio van a depender de la composición química del mismo y de la técnica que se use para su fabricación, a su vez las propiedades mecánicas dependen principalmente de la composición y la estructura de los poros de los andamios (Chen et al., 2017).

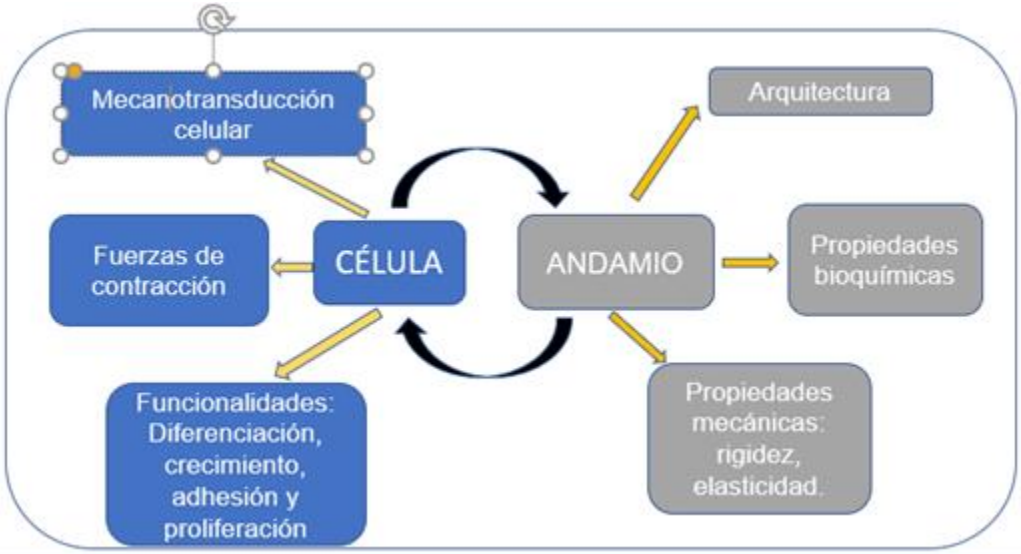



**Figura 3-3:** Elementos clave en la interacción entre las células y el andamio. Adaptado de: (Dado & Levenberg, 2009)

Comprender las interacciones entre biomaterial y las células no es una tarea fácil a pesar de que se ha demostrado la influencia que tienen el uno sobre el otro, ya que existen un gran número de elementos en esta, como se ve en la figura 3-2. Se ha demostrado que las diversas propiedades del material, incluida la composición química, las características estructurales en varias escalas de longitud y las propiedades mecánicas, actúan como señales potenciales que instruyen y dirigen procesos biológicos. Debido a que la mayoría de las veces estas propiedades están interconectadas, es difícil hacer una correlación directa entre las propiedades individuales y las respuestas biológicas (Othman et al., 2018). Por esto se buscan herramientas que permitan la integración de diversas disciplinas para así comprender la interacción que se da entre el entorno del material, y el entorno biológico. El modelado computacional busca cuantificar estas interacciones con fines de estudio fundamental y capacidad predictiva en diversas aplicaciones.

Para promover la comprensión fundamental de los procesos biológicos y las capacidades de las aplicaciones en la ingeniería de tejidos, se han propuesto varios modelos para predecir la dinámica de los agregados celulares. Estos modelos buscan predecir fenómenos morfológicos como la proliferación, adhesión, o métricas específicas de la aplicación como la fusión esferoide o la viabilidad (Timothy J. Sego, 2019).

**Propiedades físicas:**

Módulo de Young: Es la relación entre la tensión normal y la deformación lineal que sufre un material. Su valor es único dependiendo de las características del material. De acuerdo con la ley general de Hooke de la elasticidad, se considera que va a existir una proporcionalidad lineal entre la deformación y la fuerza que la provoca (Lleó & Lleó, 2008).

Entre mayor sea el modulo de Young de un material, menor será la deformación que sufre el mismo como resultado de una fuerza (Lleó & Lleó, 2008).

$$\sigma = E\varepsilon \quad (1)$$

$$Donde, \quad E = Modulo\ de\ Young, \varepsilon = deformación\ lineal\ y\ \sigma = tensión\ normal\ por\ unidad\ de\ superficie.$$

Tensión superficial: Es la relación entre la fuerza que se ejerce de forma perpendicular sobre cualquier elemento de línea de una superficie y la longitud de tal elemento (Lleó & Lleó, 2008).

$$\sigma = \frac{dF}{dl} = \frac{dw}{dS} \quad (2)$$

Donde F= fuerza; l=longitud; W=energía; S=superficie.

## 3.3. Modelos

Un modelo, es una representación de un sistema o proceso, que tiene en cuenta unas características del mismo, y que las relaciona con partes específicas del modelado. Se puede hacer una clara distinción entre los diferentes tipos generales de modelos (Gelfert, 2017):

### 3.3.1. Modelos a escala

Los modelos a escala son aquellos que aumentan o disminuyen ciertas características, es decir literalmente cambian la escala de una variable del sistema de destino, con el fin de hacer que estas características sean más manejables en el modelo. El modelo analógico lo que hace es un cambio en el medio, donde una característica es representada por otra (por ejemplo, los modelos populares de la economía representan el flujo de dinero como el flujo de un líquido a través de un sistema de bombas y válvulas) (Gelfert, 2017).

### 3.3.2. Modelos matemáticos

Los modelos matemáticos se desarrollan como se ve en la figura 3-3; se construyen con la identificación de una serie de variables relevantes, luego se desarrolla hipótesis empíricas sobre las relaciones que puede haber entre estas variables a través de una (a menudo drástica) simplificación, que deriva en un conjunto de ecuaciones matemáticas, que luego pueden evaluarse analíticamente o numéricamente y probar contra nuevas observaciones. Estos modelos permiten la creación de modelos flexibles y concisos de sistemas biológicos, este modelo permite la prueba rápida de hipótesis y aumenta la probabilidad de utilizar el modelo para garantizar las conclusiones extraídas de los experimentos (Boemo Id et al., 2020; Gelfert, 2017).

### 3.3.3. Modelos teóricos

Los modelos teóricos, por último, son aquellos que se desarrollan generalmente extrapolando a partir de datos y regularidades observadas, postulando mecanismos, que puede integrarse en la explicación teórica de un fenómeno(Gelfert, 2017).

### 3.3.4. Modelos en sistemas biológicos

Los modelos de los sistemas biológicos deben reflejar e involucrar las complejidades propias de los fenómenos biológicos(Renardy et al., 2019) . Para esto, los modelos en ingeniería de tejidos generalmente se encuentran dentro de uno de cuatro métodos: métodos de red de Boltzmann (LB), métodos de campo de fase, partícula celular dinámica (CPD) y métodos cinéticos de Monte Carlo (KMC) (Timothy, 2019).

En los métodos LB, las poblaciones celulares y el medio en el que se encuentran colocados se describen mediante distribuciones de partículas con una velocidad particular, que generalmente evolucionan hacia algún estado de equilibrio en un dominio discretizado de variación conectiva. De esta manera, un sistema de agregados celulares se modela como un sistema de fase múltiple,

donde los agregados tienden a evolucionar de acuerdo con principios como la tensión superficial y la velocidad barcéntrica) (Timothy, 2019).

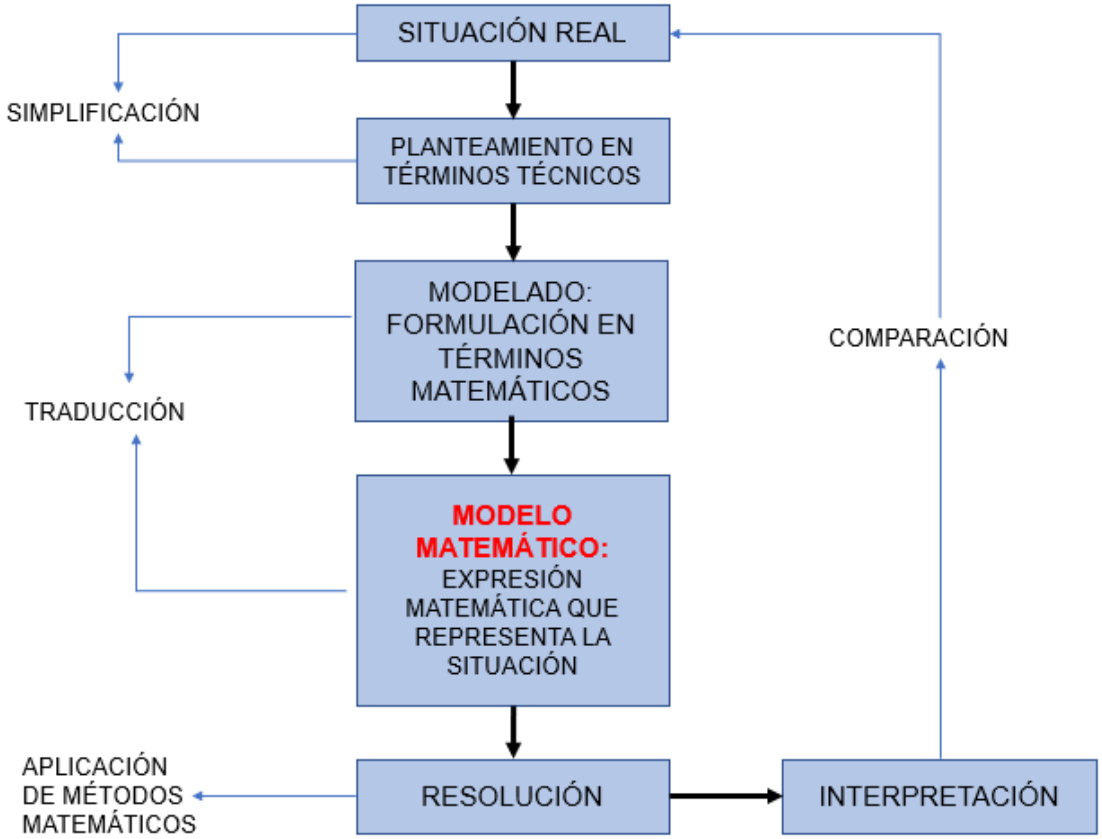



**Figura 3-4:** Esquema del proceso de modelado. Adaptada de: (Gómez, 2011)

En los métodos de campo de fase se asigna un valor de fase en el dominio de un agregado celular, que se trata como un fluido incompresible con un campo de velocidad. Para una población homotípica; se desarrolla un sistema de fase binaria. Usando leyes de conservación de masa y momento, donde la variable de fase representa la fracción de volumen de las células. Las funciones potenciales describen varias interacciones, y estos se resuelven minimizando una energía libre funcional utilizando cálculo variacional(Timothy, 2019).

Los métodos de CPD modelan las células como partículas puntuales, llamadas partículas celulares (CP), en un dominio continúo, o como consiste en una colección de CP. Los PC se modelan para obedecer las descripciones clásicas de movimiento con la introducción de procesos estocásticos en alguna ecuación de Langevin sobreamortiguada. Como tal, modelado de la motilidad se puede aplicar a nivel celular por fenotipo. La ecuación de Langevin de un sistema de PC se construye como un sistema de ecuaciones diferenciales que consiste en una suma de expresiones de energía potencial y, por lo tanto, es un método sin enrejado (Timothy J. Sego, 2019).

En una escala aún más pequeña, los métodos KMC modelan las células como puntos de ocupación en una red discreta y evolucionan de acuerdo con reglas simples y estocásticas. A diferencia de enfoques de autómatas celulares, los métodos de KMC emplean esquemas estocásticos de actualización en serie (Monte Carlo) de agentes celulares discretos de acuerdo con reglas simples que consideran su estado actual y el de su vecindario. Con esto, los métodos KMC reflejan la simplicidad de los autómatas celulares, proporcionando una mayor factibilidad para capturar la inmensa complejidad de los procesos biológicos a múltiples escalas, al tiempo que proporcionan el refinamiento necesario para reproducir fenómenos biológicos más complejos (Timothy, 2019).

Los modelos se pueden clasificar dependiendo el sistema que representen; estos sistemas pueden ser: lineal y no lineal, estática y dinámica, determinista y estocástico, discreta y continua.

A su vez, existen modelos que no se centran en un solo tipo, sino que son la integración de varios, lo que les puede permitir un mejor acercamiento al sistema. Entre estos se tienen los modelos multiescala que tienden a ser muy complejos y tienen en cuenta una gran cantidad de parámetros, lo que les permite abarcar explícitamente dinámicas biológicas a diferentes escalas, desde la genómica hasta la poblacional(Renardy et al., 2019).

O el modelado híbrido que en biología es el acoplamiento de fórmulas con diferente naturaleza, es decir continuas y discretas. Normalmente, los sistemas de reacción-difusión expresados en ecuaciones diferenciales parciales, representan la evolución de las concentraciones o densidades químicas, se combinan con autómatas celulares o modelos basados en agentes. Estos últimos representan el comportamiento individual a través de ciertas características que cambian a medida que evoluciona el componente químico (Stéphanou & Volpert, 2016).

La incertidumbre está presente en los modelos, puesto que son una representación del sistema y de esta manera, conllevan un error; de modo que cuantificar esa incertidumbre se vuelve esencial para interpretar los resultados del modelo y para validar los mismos. La incertidumbre de los modelos se puede evaluar mediante análisis de sensibilidad. El análisis de sensibilidad es un área de estudio que involucra el desarrollo de herramientas que evalúan las fuentes de incertidumbre en los modelos computacionales de los sistemas biológicos y que ayudan a

dilucidar las relaciones entre los parámetros / mecanismos y los resultados del modelo (Renardy et al., 2019).

**Aspectos claves a considerar en un modelo en ingeniería de tejidos:**

Los procesos en el desarrollo de tejidos están regulados por una serie de parámetros que deben controlarse sobre el andamio, y que deben tenerse en cuenta en los modelos para la ingeniería de tejidos (Paim et al., 2018):

Factores de crecimiento, pH del medio, temperatura, concentración de nutrientes, fuerzas mecánicas, tamaño del poro, aspereza, hidrofobicidad/hidrófilia, rigidez, elasticidad, composición química, la interacción de ligandos de proteínas de adhesión con receptores de membrana celular, glicoproteínas, topografía de matriz(patrones topológicos), quimiocinas (Paim et al., 2018).

Dados los aspectos claves que se deben considerar para modelar la interacción del astrocito y el andamio, a continuación, se presenta una lista de software que permita obtener algunas de esas características, integrarlas, como posibles candidatos para realizar el modelo computacional, la información se consigna en la tabla y se describe más abajo:

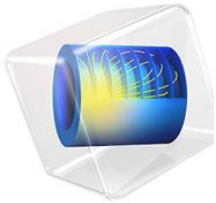
**Comsol:** es una plataforma de simulación que abarca todos los pasos del flujo de trabajo de modelado, desde la definición de geometrías, propiedades de materiales y la física que describe fenómenos específicos hasta la resolución y el potsprocesamiento de modelos para producir resultados precisos y confiables. Para crear modelos para su uso en áreas de aplicación especializadas o campos de ingeniería, puede aumentar COMSOL Multiphysics ® con cualquier combinación de módulos adicionales del conjunto de productos. Los productos de interfaz permiten integrar también la simulación con otro software de ingeniería y matemático utilizado en el diseño de productos y procesos. Cuando haya desarrollado un modelo, incluso puede convertirlo en una aplicación de simulación con una interfaz de usuario dedicada, que puede ser diseñada para un uso muy específico por personas más allá del departamento de I + D (*COMSOL Multiphysics® Software - Understand, Predict, and Optimize*, 2019).

**Matlab:** es un entorno informático numérico de propósito general cuyas potentes características han atraído a muchos investigadores. Es popular en la investigación biológica para crear y simular modelos que usan ecuaciones diferenciales ordinarias (EDO). Ha sido el sustrato de innumerables modelos, así como herramientas de software escritas en su lenguaje de programación orientado a objetos (Harold F. Gómez , Michael Hucka, Sarah M. Keating, German Nudelman, Dagmar Iber, 2016).

**Python:** Es un lenguaje libre de programación, que permite el uso de diversos paquetes o la generación de alguno nuevo. Python está desarrollado bajo una licencia de código abierto aprobada por OSI (Open Systems Interconnection), lo que lo hace de libre uso y distribución, incluso para uso comercial. Tanto la biblioteca estándar de Python como los módulos aportados por la comunidad permiten infinitas posibilidades. Su lenguaje de programación es fácil de desarrollar y de recordar, además de que presenta múltiples documentos de ayuda en el desarrollo de cualquier proyecto (*About Python™ | Python.Org*, n.d.) .

**Tabla 3-1:**

*Softwares usados en modelos computacionales (Zhang et al., 2018).*

| ***Software*** | ***Características*** | ***Costo*** |
|---|---|---|
| Python | Es un software que permite una gran libertad y aplicación en diferentes contextos. | Software libre |
| Comsol  | Muy versátil para el estudio de fenómenos acoplados o multifisícos, que también ofrece una muy buena interfaz con Matlab, por ejemplo. | Licencia de $80000 |
| Matlab | Software con una alta libertad y un gran número de paquetes que permite su aplicación en cualquier campo. | Licencia que puede costar hasta 300 dólares. |

Nota: Esta tabla nos muestra diferentes software utilizados en el desarrollo de modelos.

Además, se tiene una lista de diversos paquetes libres que permiten simular algunas características que podrían ser útiles para este modelo. De las cuales se tiene:

**Quanfima:** Propone un algoritmo para la generación de estructuras similares a fibras no curvadas en 3D. El diámetro y la orientación de cada fibra es representado por un valor de diámetro, y los ángulos de acimut y elevación se muestrean a partir de rangos dados. Se supone que las fibras individuales no se cruzan entre sí y están separadas por un valor de separación especificado. La longitud de las fibras se especifica como un porcentaje con respecto a la longitud lateral mínima del volumen. Las fibras se agregan al volumen hasta que se cumple una regla de detención. La regla de detención puede ser un número máximo de fibras, la relación entre el volumen de todas las fibras y el volumen total, o el número de adiciones fallidas debido a las intersecciones de fibras(Lee et al., 2016)(Shkarin et al., 2019).

**CellSim3D**: permite simular aspectos mecánicos del crecimiento y la división celular, tales como (Madhikar et al., 2018):
1) La forma y fuerza con la que las células interactúan entre sí y su entorno mecánicamente. La interacción entre membranas.
2) Los efectos mecánicos del crecimiento y la división de una célula en sus vecinos.
3)La respuesta mecánica de una célula a estímulos externos.
4) Migración celular: la base mecánica dentro de la célula y el mecanismo utilizado para moverse sobre un sustrato o en una matriz externa.
5)La interacción entre todo lo anterior, incluso entre celdas de diferentes tipos con diferentes parámetros mecánicos.

**CompuCell3D:** es un entorno de código abierto para el modelado de tejidos, órganos y organismos. Los comportamientos celulares se modelan utilizando el modelo de potts. Las simulaciones escritas en el modelo CompuCell3D XML son fijas y no cambian las descripciones de los comportamientos celulares iniciales. CompuCell3D genera simulaciones de celdas múltiples usando valores estáticos que se definen al comienzo de la simulación en un periodo de tiempo definido (Puvvala, 2018).

# 4 Requerimientos

## 4.1. Funcionales

- El modelo establecerá la interacción de la célula y el andamio teniendo en cuenta la interacción que ocurre en las superficies.
- El modelo predecirá la interacción entre el astrocito y andamio, este debe tener una superficie mínima de 20 µm (Miller, & Zachary,2020).
- El modelo deberá suministrar información sobre la fuerza y la energía involucrada en la interacción astrocito andamio.
- El modelo responde a una naturaleza bidimensional, lo cual significa que todas las variables deben seguir esta naturaleza.
- El modelo deberá suministrar información sobre la energía de interacción que viene del astrocito.
- El modelo deberá suministrar información sobre la energía de interacción en Joules(Nm).

## 4.2. Restricción

- El modelo será construido únicamente con información de la línea celular astrocitos.
- El modelo solo tendrá en cuenta las propiedades físicas y mecánicas del andamio y la naturaleza hidrofílica o hidrofóbica del material.
- El modelo no tendrá en cuenta las interacciones químicas internas que ocurren en la célula o procesos metabólicos propios de la célula.

## 4.3. Técnicos

- El equipo de computo a utilizar debe tener la capacidad de permitir el uso de Python y sus bibliotecas(Zhang et al, 2018).
- El software en el que se vaya a modelar debe permitir el ingreso de nueva información para el modelo.
- El lenguaje de operación del software debe permitir ingresar la ecuación que represente la interacción entre el astrocito y el andamio.

# 5 Metodología propuesta

El proceso para desarrollar un modelo abarca varios pasos que van desde la declaración de lo que se espera del modelo, suposiciones sobre los límites del modelo, la adecuación de los datos, el diseño de la estructura del modelo, la evaluación de las simulaciones y un proceso de retroalimentación que puede conllevar a procesos de rediseño del mismo (Tedeschi, 2006), 2006). El objetivo de este modelo es la predicción de la interacción que se da entre los astrocitos y el andamio donde son cultivados.  El desarrollo del modelo se ve en términos generales en la figura 5-1, y se planteó en tres fases: formulación, construcción y evaluación del modelo.

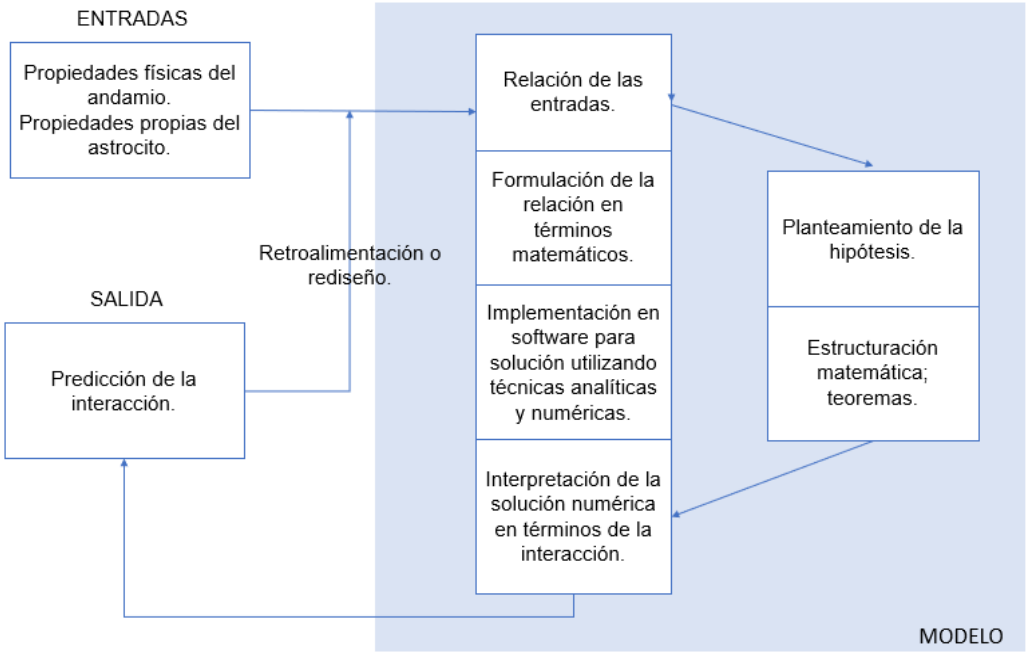



**Figura 5-1:** Diagrama general del desarrollo del modelo. Adaptado de: (Adam, 2011).

## 5.1. Formulación del modelo

Para la formulación del modelo se siguió la metodología representada en el diagrama de flujo presentado en la figura 5-2.

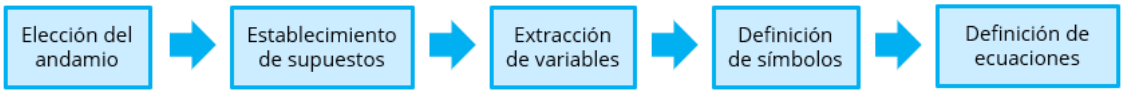



**Figura 5-2:** Metodología de la formulación del modelo. Elaboración propia.

A continuación, se describe a detalle como fue la realización de cada una de esas actividades.

### 5.1.1. Elección del andamio

Para elegir el andamio se tuvieron en cuenta una serie de opciones establecidas por revisión bibliográfica. Dado los requerimientos establecidos para el modelo, para hacer la elección del andamio, se necesitaba información de sus propiedades físicas (microarquitectura, porosidad, tamaño del poro), mecánicas (módulo de Young, módulo de compresión), y la naturaleza hidrofílica o hidrofóbica del biomaterial (para esto se requiere la composición química del material).

Teniendo en cuenta la información requerida, se procedió a hacer la búsqueda de artículos, la búsqueda se hizo en segunda lengua (ingles), usando términos como andamio, astrocitos, características físicas, mecánicas; en un rango de tiempo desde el 2014 hasta la actualidad. Al seleccionar artículos, primero se tuvo en cuenta artículos donde se fabricaran andamios para su uso directamente con astrocitos, luego artículos donde se usaran andamios en regeneración de tejido nervioso, que incluyeran prueba celular de alguna célula nerviosa, no necesariamente astrocitos y por último andamios en otros tipos de tejido. Luego, se organizó la información encontrada en una matriz, para hacer más fácil su comprensión y visualización.
La matriz (anexo 1.Revisión características de andamios) terminó conformada por ocho artículos, que se separan en grupo de acuerdo con el grupo celular para el que se fabricaba. Directamente en astrocitos (cinco artículos), células nerviosas diferentes a astrocitos (dos artículos) y en células de tejido blando (un artículo). Además, cada grupo se organizó por orden cronológico.

De dicha matriz se seleccionaron los artículos de los que más se tuviera información y se trató de hacer un cruce de esa información. Al analizar la matriz, se evidencia que alrededor del 40% de los artículos que se encuentran en la matriz de información tienen presencia de quitosano. De modo que se quiso comparar las características presentes en cada artículo entre ellas, para ver cuanto variaban del uno al otro. De forma que, al hacer un cruce de la información, se complementaran los artículos entre ellos.

Sin embargo, esta comparación no fue posible, debido a que en uno de los artículos se tiene datos de características como el módulo de Young luego de hacer un proceso de humidificación del material(Baniasadi et al., 2015), el otro ofrece datos necesarios para hallar el material en seco(Felfel et al., 2019) y el ultimo proporcionaba información del hidrogel por días después de un proceso de gelificación. De modo que, para poder hacer un cruce de la información, comparando los parámetros de cada andamio para poder realizar la matriz de selección de las características del mismo, era necesario seguir enriqueciendo la matriz.

Luego de evidenciarse que el cruce de información no era una forma viable de seleccionar el andamio se llegó a la conclusión de que la mejor opción era seleccionar uno de los andamios cuyo artículo proporcione la mayor información posible y cuyas características hayan demostrado ser buenas en la interacción con los astrocitos.

Al analizar los artículos se encontró que la información que más contenían los artículos eran las pruebas celulares y las características físicas del andamio (marcado en verde), y la información que más hace falta son las características mecánicas de los andamios (marcado en rojo), que se considera información critica para poder formular un modelo físico químico. Esta conclusión y con todo el proceso anterior, llevo a la preselección de dos artículos (resaltados en amarillo), que eran los que más información nos proporcionaban. Uno de ellos es un artículo de un andamio poroso de quitosano, gelatina y poli anilina grafeno para regeneración de sistema nervioso donde hace prueba celular con célula de Schwann y el otro es un artículo de un andamio fibroso de poli-e-prolactona, gelatina para regeneración de sistema nervioso donde se hace prueba celular directamente con astrocitos.

Tras tener ese preliminar de dos artículos se realizó una matriz de decisión donde cada uno de los criterios se evaluaban de 0-5, donde 0 representa que no cumple en nada el criterio y 5 es que lo cumple en su totalidad. Los criterios que se tuvieron en cuenta son:

*Simplicidad de composición química:* En este criterio se tiene en cuenta a composición química debido a que, entre menos compuestos tenga el andamio será más sencillo hacer el análisis de la influencia de cada uno de ellos en las propiedades del andamio.
*Estabilidad mecánica:* Se tiene en cuenta la estabilidad mecánica del material para poder soportar las células que se ponen en él.
*Microarquitectura:* Se evalúa la microarquitectura del andamio, se tiene en cuenta que por bibliografía algunas microarquitecturas como las fibrosas obtienen mejor resultados en células nerviosas (Kennedy et al., 2016).
*Información obtenida:* En este criterio se tiene en cuenta la cantidad de información que proporciona el artículo sobre el andamio. Del de quitosano se obtienen algunas características físicas, mecánica y ensayo biológico(Baniasadi et al., 2015). Del otro, de PCl se tiene características físicas, y ensayo de relaciones de características del andamio con su influencia en los astrocitos (Saracino et al., 2021).
*Ensayo con la línea celular:* Se analiza la cantidad de información que proporcione el artículo sobre la respuesta celular al andamio.

***Tabla 5-1***
*Matriz de decisión del andamio.*

| Criterio | PCL, gelatina | Quitosano, gelatina, polianilina grafeno |
|---|---|---|
| Simplicidad de composición química. | 4,0 | 3,0 |
| Estabilidad mecánica. | 4,5 | 4,5 |
| Microarquitectura. | 4,3 | 3,8 |
| Información obtenida. | 5,0 | 4,5 |
| Ensayo con la línea celular. | 5,0 | 4,0 |
| Total | 4,6 | 4,0+ |

La asignación de los valores se realizó de la siguiente manera:
-Simplicidad de la composición química: El andamio de PCL- gelatina al tener solo dos compuestos se le asigna una evaluación mayor que al otro, sin embargo, no es un cinco, porque en un andamio compuesto y las características de ambas sustancias van a influenciar en el andamio, en sus características y en la interacción con el astrocito.
-Estabilidad mecánica: De acuerdo con la información contenida en los artículos los andamios demostraron tener las características mecánicas necesarias para soportar el desarrollo celular en los mismos.
-Microarquitectura: Los estudios realizados en andamios para regeneración de células nerviosas, muestran que los andamios de microfibras alineadas tienen mejor respuesta en las mismas, y sus características son mejores, por lo tanto, el andamio microfibroso tiene mayor puntaje que el andamio poroso.
-Información obtenida: Ambos artículos contienen buena cantidad de información sin embargo el artículo de PCL tiene más información obtenida en ensayos experimentales por eso su calificación es mayor.
-Ensayo con la línea celular: En ambos artículos, se realiza una prueba de viabilidad celular, sin embargo en el articulo de quitosano no usan astrocito directamente sino celulares nerviosas de Shawn.
Luego de realizar la evaluación con ayuda de la matriz de decisión se concluyó que la mejor opción de andamio es el andamio de microfibras orientada de forma paralela de poli-e-caprolactona con gelatina, utilizado en la regeneración de sistema nervioso a través del uso de astrocitos.

### 5.1.2. Planteamiento de supuestos sobre la interacción físicas y mecánicas del astrocito y el andamio.

.
Para el planteamiento de supuestos se hizo una revisión bibliográfica de artículos donde se desarrollarán modelos que representaran sistemas biológicos, específicamente algunos comportamientos del sistema nervioso. De esta revisión se obtuvo el artículo titulado “Cellular Automata Modeling of Stem-Cell-Driven Development of Tissue in the Nervous System (Lehotzky & Zupanc, 2019)”, este se revisó y analizó a detalle, preparando y presentando un seminario sobre el mismo.
En él, los investigadores explican la forma de establecer supuestos a partir de preguntas, cuyas respuestas definan el comportamiento biológico. Para este modelo en particular se plantean las siguientes preguntas:
¿Es la interacción entre el astrocito y el biomaterial influenciada por características de ambos?

De a acuerdo a muchas investigaciones(Ning et al., 2016), sí. De modo que para que la predicción sea precisa se deben tener en cuenta variables de ambas partes. Por con siguiente es necesario establecer supuestos tanto del comportamiento del andamio, como del astrocito y una serie de supuestos que relacionen los anteriores.

¿La microarquitectura del andamio tiene influencia directa en las características mecánicas del mismo?
Según lo analizado en algunos estudios (D'Amore et al., 2014), sí.
¿Tiene que ver la composición química del material con sus propiedades físicas?
Sí. De acuerdo a lo que han demostrado algunas investigaciones (Kennedy et al., 2016).

¿Hay una relación entre los esfuerzos mecánicos que sufre el andamio y los que sufre la célula?, ¿cómo es esa relación?, ¿por cuales factores se ve influenciado?
Sí, hay relación entre los esfuerzos mecánicos del uno y del otro (Kennedy et al., 2016).

Para empezar a responder a todos esos supuestos de forma más específica se recurre al artículo base en términos de la información del andamio de PCL, en él los autores desarrollan una serie de pruebas que les permite recuperar información de las relaciones y la interacción que ocurren entre el andamio y el astrocito. Para entender mejor estas, se realiza un diagrama (figura 4-3) que representa las relaciones que ocurren.

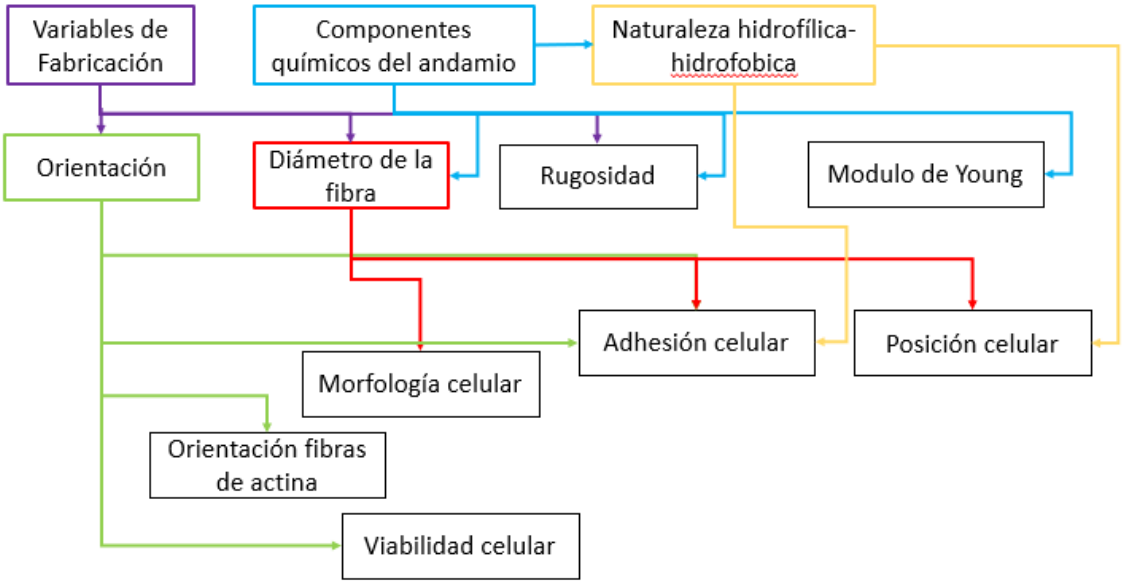



**Figura 5-3.** Diagrama de relaciones de características del andamio y las características celulares.

Las relaciones que se establecen en el diagrama se describen a más detalle a continuación:
Las primeras características que se tienen en cuenta son aquellas que se presentan en la fabricación del andamio, al tratarse de un andamio microfibroso fabricado por electrospining algunos parámetros de su fabricación tienen repercusión en características de estas. Un ejemplo de esto es como al hacer mucho más rápida la tasa de rotación (medida en rpm) este genera una orientación alineada de las fibras, además tiene una influencia en el diámetro de las fibras resultantes.

Además, se tienen los componentes químicos del andamio se ve en el artículo como al agregarle la gelatina al andamio, esto tiene la relación en otras características del andamio, como el

diámetro de la fibra, se evidencia en el andamio como hay una disminución del diámetro, pasa de 3,5 µm a alrededor de 0,6 µm. También se ve una disminución en su rugosidad y su ángulo de contacto (Saracino et al., 2021).
Por otro lado, la influencia de las características del andamio en el comportamiento y en la respuesta de los astrocitos son muy evidentes. La alineación de las fibras tiene una repercusión en cómo se posiciona la célula, es decir en donde se ubica la misma en relación del andamio. Influye en cómo se adhieren las mismas, porque se ha evidenciado que las fibras alineadas favorecen la adhesión de la célula. Por último, tiene una relación directa en la morfología de la célula, ya que el astrocito es una célula poligonal de forma irregular pero que cuando se pone en andamios microfibrosos con fibras alineadas la célula se va alargando y volviendo cilíndrica, además este cambio morfológico no es solo externo, sino que se evidencia un cambio en el posicionamiento de las fibras de actina, pasan de ser radial a alinearse de forma proporcional a la orientación propia de las fibras del andamio.

### 5.1.3. Extracción de variables involucradas en los supuestos

El artículo sobre el modelo de autómata celular en sistema nervioso del que se habla en el ítem anterior presenta una seria de reglas implementadas en su modelo de inspiradas en el comportamiento biológico y extraídas de sus supuestos, de las células nerviosas cuyo comportamiento modelan.
De esta serie de reglas, se extraen unas características de la naturaleza de la célula que se podrían tener en cuenta ya que determinan el comportamiento celular y vienen a ser importantes en las interacciones que tiene la misma, y que para la pertinencia del propio modelo se tienen como opciones de variables a considerar, entre estas tenemos (Lehotzky & Zupanc, 2019):

- Proliferación celular.
- Migración celular.
- Muerte celular y fagocitosis.

Sin embargo, de los supuestos extraídos del articulo base para este modelo, se extraen variables que son más cercanas a tenerse en cuenta para el modelo entre estas se tienen:
Desde el ámbito del andamio se tiene: la orientación de las fibras (en términos de algún porcentaje de orientación), el diámetro de las fibras, la rugosidad, el módulo de Young y el ángulo de contacto que le proporciona al modelo la información que representa la hidrofobicidad.
Desde la célula se puede tener en cuenta: El cambio en la morfología que sufre la célula en términos de alargamiento, la adhesión en términos de alguna tensión influenciada por los puntos adición focal en la célula, y la tensión que ejercerán las fibras de actina que van modificándose y orientándose.

### 5.1.4 Definición de la naturaleza del modelo y las ecuaciones que representen las relaciones de estas variables.

Para poder definir la naturaleza del modelo, se recurre a la revisión bibliográfica de artículos que desarrollan modelos de diferente naturaleza, expuesto en el estado del arte. De estos modelos se analiza la forma como son estructurados y como definen las ecuaciones que representan el comportamiento del sistema biológico.

Luego de analizar esos modelos, para el propio se toman algunas cosas de esos modelos. De los modelos de autómatas celulares se toman los límites de contorno debido a que se tienen características que van a ir cambiando hasta cierto punto, como la orientación de las fibras de actina. Y del modelo tipo potts se toma su naturaleza laplaciano y basado en sus ecuaciones para poder empezar a definir las propias.

Se partió de una ley de Laplace (ecuación 3) que iba a relacionar la tensión superficial dada por la superficie de la célula ($\sigma$) y la tensión de periferia celular ($\lambda$) y esto iba a producir un radio, este radio iba a ir cambiando debido a que la célula se iría alargando.

$$R = \lambda / \sigma \qquad (3)$$

*Para completar esa ecuación era necesario tener en cuenta la orientación de las fibras del andamio, puede ser un factor escalar, o buscar otra naturaleza no lineal.*

Sin embargo, al definir el alcance de este proyecto se determinó que se debe dar información de la energía funcional. Para tal energía se planteó una primera ecuación, a la cual se le fue añadiendo diversos factores.

$$E_{AB} = \sigma P + \lambda \quad (4)$$

Siendo $E_{AB}$, la energía funcional.
*σ la tensión debida a la superficie de la célula, esta se escala en P que tiene que ver con lo puntos de adhesión focales, por eso entre más puntos se tenga mayor será la influencia de la tensión de la célula para la energía funcional.*

Sin embargo, se consideró que a esa ecuación le faltaba el aporte que tienen las fibras de actina en el mismo. Como estas fibras de actinas, se ordenan de forma proporcional a la orientación del andamio, la tensión ejercida por la misma va a tener modificación hasta que se estabiliza. Es decir, habrá otra ecuación que vaya modificando la misma.
Se iba a representar la tensión de las fibras de actina como *f.* Y *m* iba a representar el factor debido a la reorganización de las fibras, quedando la ecuación de la siguiente manera.

$E_{AB} = \sigma P + \lambda + \mathrm{fm}$ , para todos los n, donde no se ha alcanzado la organización de las fibras.

$E_{AB} = \sigma P + \lambda + \mathrm{f}$ , para todos los n de las fibras ya reorganizadas.

Donde n, representa el número de ítems del modelo, cada vuelta del modelo representa un día.
*m :* debía tener relación directa con la orientación de las fibras del andamio, y que en su momento estaba por definirse.
Al hablar de energía se debe tener en cuenta que la tensión que se ejerce en el andamio va a estar respondiendo a las tensiones de la célula, de modo que tendrá sentido contrario.

$$E_{AB} = \sigma P + \lambda + \mathrm{f} - \mathrm{e} \ (6)$$

*e :representa la tensión debida al andamio.*

Otro factor para tenerse en cuenta es el diámetro de las fibras del andamio, este iba a tener una influencia tanto en la tensión de la célula como en la del andamio. Aunque influencia en ambas, la influencia en la célula puede ser positiva o negativa. Dependiendo del valor del mismo, es decir

estudios han demostrado que entre mayor sea el diámetro mejor se adhiere la célula, pero hasta cierto punto, porque si el diámetro es mucho más grande se adhiere menos.

$$E_{AB} = \sigma P di + \lambda + \mathrm{f} - \mathrm{dae} \quad (7)$$

En caso de que el diámetro no supere el límite óptimo para la célula di y da son iguales y la ecuación quedaría en:

$$E_{AB} = d(\sigma P - \mathrm{e}) + \mathrm{f} + \lambda \quad (8)$$

Sin embargo, hacía falta encontrar una forma de como relacionar la ley de Laplace en la ecuación de energía funcional, porque esta energía funcional se vería afectada por el cambio morfológico que sufre la célula. En Laplace se representa de forma diferente de acuerdo a la geometría del sólido.

Luego de volver a revisar las ecuaciones se pudo determinar que había un error en las mismas desde el comienzo, ya que, en la ley de Laplace, el radio es directamente proporcional a la tensión de la periferia, y es inversamente proporcional a la tensión superficial, de forma que al hacer la corrección la ley de Laplace quedaría de la siguiente manera:

$$R = \sigma / \lambda \quad (9)$$

Siendo *σ, la tensión periférica celular y λ* la tensión superficial.
Luego, realizó un nuevo análisis de la ecuación 5 y comparando el comportamiento celular que se evidencia en el artículo base (Saracino et al., 2021), se concluyó que la tensión de la periferia celular tiene una influencia directa en los puntos de adhesión focal, de modo que el uso de otra variable para describir esta influencia lo que podría hacer es sobreentrenar el modelo.

$$E_{AB} = \sigma P di + \lambda - \mathrm{dae} \quad (10)$$

A continuación, se analizó cada una de las variables de la ecuación 7 para definir que significan y que representan cada una de ellas. Además, pareció pertinente cambiar los símbolos con los que estos se representaban que fueran más sencillos de identificar y de relacionar con el modelo. Se sabía que el modelo debía dar información de la energía involucrada en la interacción el primer paso para lograr esta predicción es tener en cuenta en que unidades se iba a dar esta información. La energía se mide en Joules(Newton por metro), de modo que todos los términos de la ecuación debían estar en las mismas unidades para poder hacer los cálculos razonables.
En consiguiente, se analizó termino a término para poder definir que todos quedaran en términos de energía. Para el primer término era importante entender cómo funciona el desarrollo de los puntos de adhesión focal en una célula. Se hizo una revisión de modelos que representaban la formación de los puntos de adhesión, al estudiar dos como base se llegó a la conclusión de que al hallar el módulo de Young de la célula este estaba directamente influenciado por los puntos de adhesión (Paul et al., 2008)(Coughlin & Stamenović, 2003), de esta manera no es necesario varios términos para definir esta relación basta con uno solo, que se identificó con $E_{C.}$

Un aspecto importante que se tuvo en cuenta era que el modelo tendría en cuenta el comportamiento únicamente hasta una bidimensionalidad, dado el alcance que tenía este proyecto, es decir que el modelo iba a ser una representación bidimensional de la interacción entre el astrocito y el andamio.

Dado la naturaleza bidimensional del modelo, el módulo de Young también es bidimensional cuyas unidades son Newton sobre metro. Para que este término se vuelva energía y siguiendo la naturaleza del modelo tipo potts *(Albert & Schwarz, 2014),* este módulo se escala en el área donde afecta, que para este caso es el área que envuelve los puntos de adhesión representada como $A_{MP}$ *y cuyas unidades son* $m^2$*.*

El segundo terminó de la ecuación 8 representa el esfuerzo debido a la superficie de la célula, este esfuerzo es debido a la matriz extracelular y dada la naturaleza bidimensional del modelo este esfuerzo se va a hacer en una sola superficie, es decir se va a relacionar con una única longitud, que será la longitud de la célula, que va cambiando por el proceso de alargamiento que sufre el astrocito. El esfuerzo se mide en Newton y la longitud en metros, de forma que se obtiene energía.
Por último, el ultimo termino que es la respuesta del andamio a los esfuerzos se define como el módulo de Young bidimensional del andamio, que se obtendría por literatura, cuyas unidades son Newton sobre metro y se representa como $E_A$, y este se escalaría a donde se iba a sentir que en este caso es todo el andamio. Para el modelo sería el área del andamio (va a ser del tamaño de un astrocito), esta área medida en metros cuadrados.
Además la ecuación, debido a que representa la energía desde la célula, se define como una energía negativa.

*Teniendo en cuenta todo lo anterior la ecuación principal del modelo quedaría:*

$$\boldsymbol{E_{AB} = -(E_C A_{Mp} + E_M L_0 - E_A A_A)} \quad (11)$$

Lo siguiente que se hizo en la definición de las ecuaciones, teniendo ya la ecuación principal fue definir cuáles eran los parámetros de entrada de cada uno de los términos.

Para el primero es necesario tener en cuenta como varia el módulo de Young bidimensional ha medida que van surgiendo los puntos de adhesión focal, para esto se tiene en cuenta la metodología seguida por Paul(Paul et al., 2008).

A pesar de que para definir el módulo de Young debido a las fibras de actina se usó de base el artículo de Paul, en él el numero de puntos de adhesión se mantiene constante, mientras que para este modelo estos puntos se irán formando en el transcurso de la interacción. Al tener en cuenta el articulo base para las interacciones entre el andamio y el astrocito, se tiene que se forman alrededor de 40 puntos de adhesión en el transcurso de 4 días, con este valor se empieza a definir una serie de ecuaciones que permitan describir la formación de estos puntos de adhesión.

Se sabe que los puntos de adhesión van cambiando con el tiempo, por lo tanto, se tenía que:

$$\frac{dP}{dt} = cambio\ de\ los\ puntos\ de\ adhesión\ a\ lo\ largo\ del\ tiempo(representado\ en\ días).$$

Se pensaba representar como una función en términos de t, sin embargo, cualquier función representada así, por ejemplo, $P=t^2$ o P=log (t) (que cumplen con el comportamiento creciente que tiene el fenómeno) va a hacer que la aparición de puntos de adhesión focal dependa solo del tiempo, cuando en la realidad también depende de cuantos puntos hay anteriormente. Por esto, se decide que para representar el número de puntos de adhesión focal a lo largo del tiempo se usaría una sumatoria, que tuviera en cuenta tanto el paso del tiempo como los puntos presentes hasta ese momento.

Por consiguiente, se plantearon dos opciones de ecuación, la primera sumatoria que sería:

$$P=\sum_{i=1}^{n} P^2 + 2(i-1) \quad (12)$$

Donde P, representa el número de puntos de adhesión formados e i representa el paso del tiempo, cada ciclo representa un día.

La segunda opción de ecuación mantiene la influencia del tiempo y del número de puntos de adhesión focal ya existentes, manteniendo la representación de P e i, igual a la ecuación anterior.

$$\boldsymbol{P = \sum_{i=1}^{n} P + 2(i-1)^2} \quad (13)$$

Luego de plantear ambas ecuaciones, se procedió a obtener sus graficas de respuesta en el tiempo.

La primera opción que representa la ecuación 12 (figura 5-4), tiene un comportamiento exponencial, sin embargo la formación de puntos de adhesión supera en el doble la descrita por el articulo y que se toma como referencia siendo de 40 puntos de adhesión focal promedio al 4 día(Saracino et al., 2021), por esto se descartó esa ecuación. Mientras que como se ve en la figura 5-5 la otra ecuación tiene una mejor respuesta, más cercana a la esperada. A pesar de, como se evidencia en la figura, la formación que se tiene no es exacta a la descrita por el artículo, es una aproximación bastante cercana, ya que aunque solo se tiene un valor de referencia que dice que al día 4 los astrocitos tienen en promedio 40 puntos de adhesión focal el modelo que se desarrolló muestra que entre el día 3 y el 4 se forman de 29 a 61 puntos de adhesión focal, y 40 está dentro de ese rango.

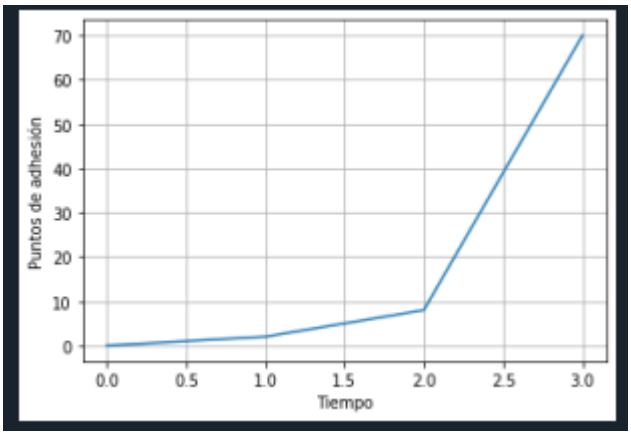



**Figura 5-4.** Representación número de puntos de adhesión a lo largo de los días (Autoría propia).

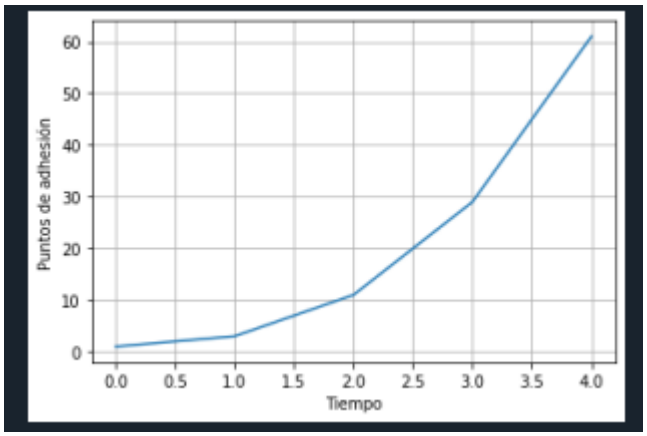



**Figura 5-5:** Puntos de adhesión a lo largo de los días, ecuación seleccionada (Autoria propia).

Luego de tener la cantidad de puntos de adhesión, se representa su comportamiento como una red de cables, para ello se baso en el modelo de adhesión de red de cables pretensados (Coughlin & Stamenović, 2003). Lo primero era escoger una geometría de distribución. El artículo señala dos opciones de acuerdo a la morfología celular como se ve en la figura 5-6 y, en este caso se seleccionó geometría triangular regular, debido a que la otra geometría se recomienda en células circulares y en el caso de los astrocitos que se tienen en cuenta en este modelo, estos son elípticos y además sufren un proceso de alargamiento.

Los puntos de adhesión focal en la matriz se van a distribuir de forma aleatoria (exceptuando el inicial que se ubica en el centro de la matriz), teniendo en cuenta que es mayor la probabilidad de que se formen en la horizontal que en la vertical, debido a que se está representando una célula que se va alargando. Sin embargo, se asume que se forman equidistante y siguiendo la geometría de malla triangular, como se ve en la figura 5-7 que es un ejemplo de la representación de los puntos de adhesión en el transcurso del tiempo, es necesario tener en cuenta que no siempre será así ya que su ubicación en la matriz es un proceso probabilístico que puede variar cada vez que se corra el modelo.

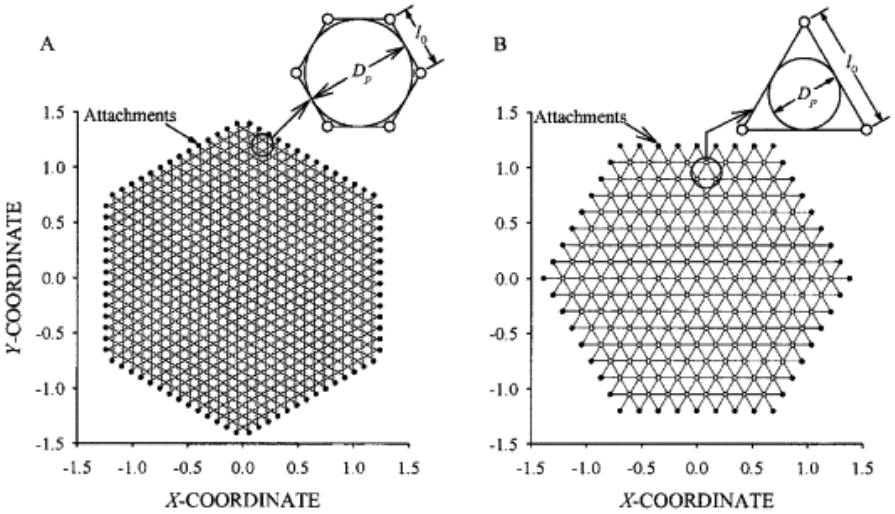



**Figura 5-6.** (A) Modelos de red de cables hexagonales y ( *B* ) triangulares para el citoesqueleto celular adherente (Coughlin & Stamenović, 2003).

La ubicación de estos puntos se hará de forma aleatoria, sabiendo que tiene mayor probabilidad de surgir siguiendo la horizontal debido a la forma elíptica de la célula. La figura xx es una aproximación manual de como deben distribuirse los puntos de adhesión a lo largo del tiempo en la célula.

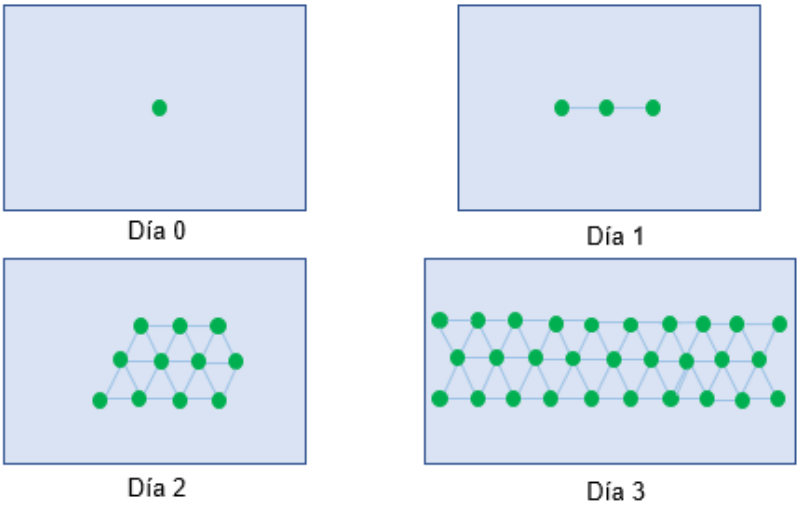



**Figura 5-7:** Simulación ubicación puntos de adhesión a lo largo de los días (autoría propia).

Luego de tener esta red de cables triangulares, se procede a hallar los esfuerzos a los que será sometido cada uno de esos puntos o nodos, para esto se mantiene la ecuación utilizada por Coughlin en su artículo, donde se hallan los componentes de la fuerza tanto en x como en y, haciendo una sumatoria de las fuerzas ejercidas en cada cable que llega al nodo, es decir con cuantos otros nodos se conectan y en qué dirección lo hace:

$$F_x = \sum_{i=1}^{nc} \frac{F_i(x_i - x_0)}{L_i} \quad (14)$$

Donde, i va de 1 hasta el número de cables (nc) conectados a cada nodo, $L_i$ es la longitud de cada cable, que para este caso se mantiene constante en todos los nodos, y la diferencia se va a mantener en 1 o -1 de acuerdo a la dirección de la conexión.

Por último el módulo de Young bidimensional de la red de la célula ($E_C$) seria:

$$E_c = \frac{F_T}{L_y} \quad (15)$$

Donde $F_T$ es la fuerza total en los nodos ubicados en la longitud Ly y $E_x$ representa la deformación que va a sufrir la célula en su horizontal (alargamiento).

En el segundo término, el esfuerzo será definido también por bibliografía mientras la longitud se ira variando de acuerdo con cómo se vaya alargando la célula por la interacción.
Por último, el módulo de Young del andamio será introducido por bibliografía y el área será definida con un mínimo del tamaño que puede llegar a tener un astrocito.

## 5.2. Construcción del modelo

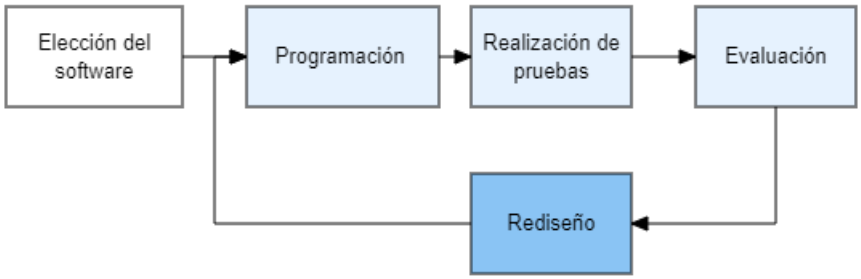



**Figura 5-8:** Diagrama de bloques de la construcción del modelo. Elaboración propia.

### 5.2.1 Elección del software para el modelo.

Para hacer la elección del software con el que se realizara el modelo, se tienen en cuenta unas opciones establecidas por bibliografías de software generalmente usados para realizar este tipo de modelos. Las opciones se evidencian en la tabla 3-1. De las opciones en este momento la que más se destaca es Python, puesto que se usa en un gran número de artículos en el desarrollo

de modelos para sistema nervioso(Zupanc, Günther K.H.; Lehotzky, Dávid, 2020), además de su gran versatilidad, y el hecho de que es un software libre.

Sin embargo, para poder realizar una adecuada selección del sotfware a utilizar es necesario, realizar un matriz de decisión con diversos criterios a tener en cuenta.

De los software tenidos en cuenta en la tabla 2, se hizo una preselección de aquellos tales que le permitan al usuario introducir o definir sus propias ecuaciones y reglas de forma sencilla y rápida, de forma tal que quedaban de entre las opciones el software de Matlab y Python. Estas dos opciones se han visto utilizadas en múltiples modelos de los que hemos revisado para guiar la construcción del propio, permiten no solo la introducción de información sino que múltiples formas de representar los resultados obtenidos (numérica, grafica, sonora, entre muchas otras). Para decidir entre Python y Matlab, se realizó una matriz de decisión, donde cada uno de los criterios se evaluaba de 0-5, siendo 0 que no cumplía con el criterio y 5 que lo cumple en totalidad. La matriz que se ve a continuación en la tabla 5-2, tiene 6 criterios los cuales son:

**Tabla 5-2**
*Matriz de decisión del software.*

| Criterio\Software | Matlab | Python |
|---|---|---|
| Costo de la licencia del programa. | 4,2 | 5,0 |
| Rapidez de ejecución y uso de máquina. | 3,5 | 4,5 |
| Compatibilidad con otros entornos. | 3,0 | 5,0 |
| Simplicidad de código. | 3,0 | 4,2 |
| Manejo del lenguaje y conocimiento del software. | 5,0 | 3,0 |
| Libertad de trabajo. | 5,0 | 5,0 |
| **TOTAL** | 4,0 | 4,5 |

-*Costo de la licencia:* Valor que tiene la licencia del software a utilizar, en caso de Python es un software libre. Matlab esta disponible gracias a la universidad, sin embargo, se ofrece la versión estudiantes que no tiene todos los paquetes de la misma.
-*Rapidez de ejecución y uso de máquina:* Velocidad con la que se ejecuta el algoritmo y el desgaste que tiene en el equipo.
-*Compatibilidad con otros entornos:* Compatibilidad que tiene el software con otros softwares o la compatibilidad que puede tener entre diferentes versiones del mismo, ya que los softwares sufren modificaciones o actualizaciones constantemente.
-*Simplicidad de código:* Refiere a la cantidad de líneas de código que se requiere para realizar cada función, el uso de signos de puntuación y demás.
-*Manejo del lenguaje y conocimiento del software:* Este criterio califica el manejo del lenguaje y uso que ha tenido la estudiante con el software, la experiencia que tiene en el mismo y la facilidad que podría representar para sí realizar el modelo en ese lenguaje.
-*Libertad de trabajo:* Posibilidad de introducir ecuaciones o reglas propias del modelo y representarlas con un algoritmo en el software.

Para evaluar cada uno de los criterios se tuvo en cuenta información obtenida sobre los software en una pequeña revisión bibliográfica(Fangohr, 2004) y los criterios del estudiante.

Luego de realizar la evaluación con ayuda de la matriz de decisión se llegó a definir que la mejor opción de software para realizar el modelo es Python.

### 5.2.2 Definición parámetros de entrada y salida del programa.

Dado la naturaleza del modelo, y el hecho de que se tengan en cuenta variables desde el andamio y desde la célula, en este caso el astrocito. Como parámetros de entrada se van a tener solo las variables que vienen desde el andamio, porque la célula no cambia, siempre va a ser un astrocito, de modo que los parámetros que tienen que ver con la misma se mantienen constante en cada uno de los ensayos que se hagan en el modelo.

Los parámetros de entrada desde el andamio serán las características físicas y mecánicas del mismo, de modo que aunque el modelo debe tener en cuenta el aspecto químico del modelo como lo es su composición química y su naturaleza hidrofílica o hidrofóbica estos datos no se introducirán al modelo de forma directa. Ya que, si se introdujeran de forma directa, el modelo debería tener la robustez suficiente para conocer e interpretar su composición química y sacar conclusiones de esta. Sería necesario que el modelo tuviera una base de datos con los diversos componentes químicos que podría tener y las características propias de cada uno.

Otro parámetro de entrada que va a estar en decisión del usuario es n, que representa el tiempo que se va a modelar, n representa días y en el modelo es el número de ciclos que se van a realizar del mismo.

Como parámetros de salida hasta el momento se tiene la energía funcional (en Joules) y el cambio en diámetro de la célula, debida al alargamiento.

**Estimación de parametros:**

**-**Modulo de young bidimensional de la celula($E_C$): El esfuerzo realizado por cada uno de los puntos de adhesión focal es de 10nN(Albert & Schwarz, 2014), este esfuerzo se aplica en la ecuación 15, teniendo en cuanta el numero de puntos formados.
La distancia entre dos puntos es de 173.2nm en la horizontal(Coughlin & Stamenović, 2003).

**-**Área de la matriz de puntos: El área se halla teniendo en cuenta la cantidad de puntos de cada iteración, sumando el total de distancias horizontales (173.2nm cada una) y verticales (150nm cada una). Luego estas dos medidas se suman y se obtiene el área.

**-**Esfuerzo por la matriz extracelular: Para este valor se usa un valor de 120N en la matriz.

**-**Longitud celular: Debido a que no se ha determinado como cambia la longitud de la celula, en las primeras pruebas se va a usar 20µm que es la longitud natural de los astrocitos.

**-**Modulo de young bidimensional del andamio de policaprolactona($E_A$): Para obtenerlo se parte del modulo de young del andamio hallado de forma experimental en diferentes articulos, y que tiene un valor entre 1,01-1,15MPa(Jian et al., 2018)(Wang et al., 2021).
Luego, siguiendo la relación entre este y el modulo de young bidimensional descrita por:

$$\epsilon = \frac{\epsilon_{2D}}{h} \quad (16)$$

Siendo h: la distancia entre cada capa del andamio y definido por 400µm. Se tendría un modulo de young bidimensional de 404N/m-460N/m.

-Área del andamio: Se tiene la longitud de un astrocito con un minimo de 20µm (Miller, & Zachary,2020) y se le asigna un largo mayor de 30 µm asumiendo el fenómeno de alargamiento del astrocito dando así un área mínima de 0,9nm$^2$.

### 5.2.3 Programación en el software escogido

La programación se realizó en el software escogido, Python en su versión 3.0, haciendo uso del editor de texto Jupyter. El funcionamiento del programa se describe en la figura 5-9 y la programación se encuentra anexada.

Tras tener la programación del modelo, lo primero que se hizo fue evaluar que el mismo obtuviera respuesta n veces que se pusiera a correr el mismo. Los primeros resultados de los calculos de predicción se encuentran en la tabla 5-3. Pero, al realizar un analisis del calculo, se evidencio que había un error en la ejecución del calculo inicial, pues se estaba considerando un área mayor que se usa en la representación grafica del ovalo formado por la red de puntos de adhesión, sin embargo en el calculo las distancias debian mantenerse reales y no aproximarse. Razón por la cual fue necesario hacer un rediseño en la forma como el programa hacia ese calculo.

***Tabla 5-3***
*Primeros resultados de energía de interacción evaluando la repetibilidad del cálculo.*

| Día | Puntos de adhesión | Energía de interacción con 20 N-1 (mJ) | Energía de interacción con 20 N-2 (mJ) | Energía de interacción con 20 N-3 (mJ) |
|---|---|---|---|---|
| 0 | 1 | -2,800 | -2,800 | -2,800 |
| 1 | 3 | -2,809 | -2,809 | -2,809 |
| 2 | 11 | -2,819 | -2,828 | -2,819 |
| 3 | 29 | -2,856 | -2,837 | -2,837 |
| 4 | 61 | -2,875 | -2,856 | -2,856 |

## 5.3. Evaluación del modelo

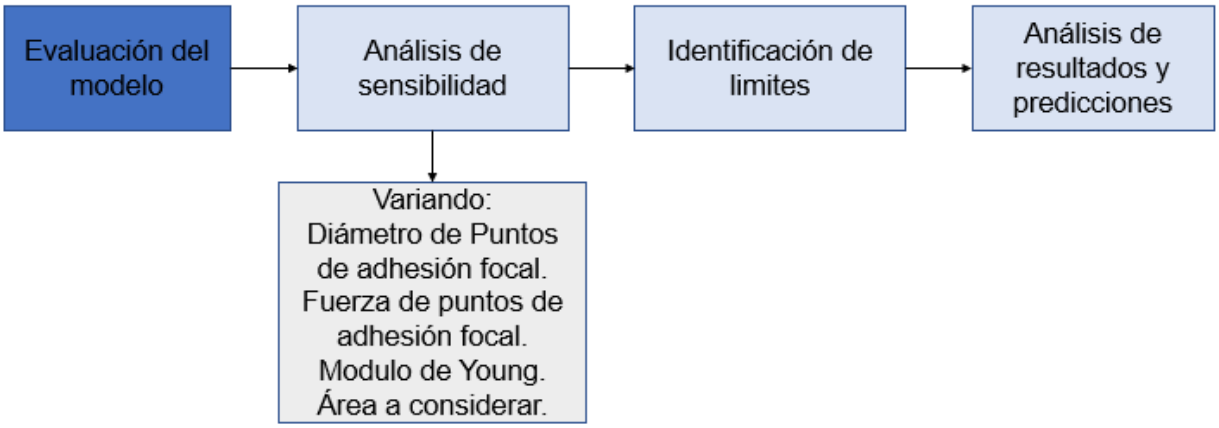



**Figura 5-9:** Diagrama de bloques de la evaluación del modelo. Elaboración propia.

Para evaluar el modelo se sigue la metodología descrita en el diagrama de la figura 5-10. Lo primero es el analisis del sensibilidad que sirve para definir la influencia que tiene cada parametro en la salida del modelo (Renardy et al., 2019), para poder empezar a visualizar cuales son los puntos debiles del mismo. En este caso, se van a variar cuatro parametros, y se mantendra constante siempre la longitud inicial y el esfuerzo de la matriz extracelular que vienen dados por bibliografia.

Luego, se analizó en cuales rangos funcionaban esos parametros para el modelo y por ultimo se hizo un analisis y comparación de los datos de predicción obtenidos por el modelo utilizando fuentes bibliograficas.

Los resultados de la evalución se encuentran en la sección de resultados, sin embargo se presento una situación cuya solución fue hacer una corrección del calculo y que se describe a continuación.

Al hacer el analisis de sensibilidad del modelo, con el parametro del diametro de los puntos de adhesión focal, se evidencio que a partir de los 0.8um de diametro la energía de la celula empezaba a fluctuar como se evidencia en la figura 11, al analizar la fluctuación, se considero por primera vez que tal vez los puntos de adhesión ocupaban mayor area que la que tenía presente el astrocito. Al analizarlo se concluyo, que efectivamente el area de los puntos de adhesión podía ser mayor al area del astrocito, sin embargo lo que estaba causando la fluctuación no era eso, sino un error en el calculo del area de los puntos de adhesión. Puesto que se estaba considerendo solo la destancia que había entre ellos, y no el tamaño que ellos de por si tenían. Se corrió y se procedió a repetir las pruebas ya realizadas y a continuar con las que hacian falta.

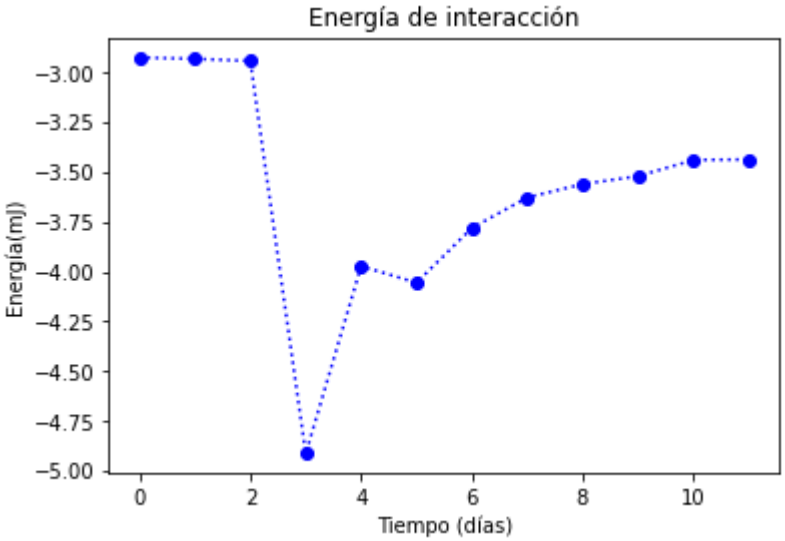



**Figura 5-10:** Energía de interacción predicha con un diametro de 0,8 µm (Elaboración propia).

# 6 Resultados y discusión

La primera parte importante en el desarrollo de este modelo como esta descrito en la sección de metodología, era realizar la selección de un buen andamio. Para este caso se seleccionó un andamio de microfibras orientadas en paralelo de poli-e-caprolactona gelatina, como ideal para el modelo. Este tiene una composición de 0,1 g/ml de una relación 1:1 entre la gelatina y PLC. Este material ha presentado muy buenas respuestas en su uso de andamios para sistema nervioso (Saracino et al., 2021), se ha usado en múltiples combinaciones y permite unas propiedades químicas y mecánicas buenas para el desarrollo y la viabilidad celular.

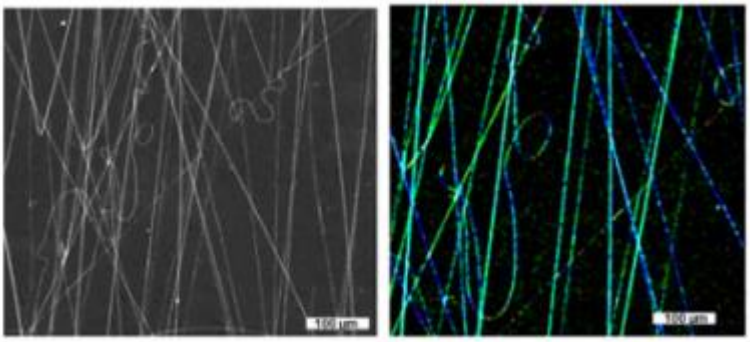


**Figura 6-1.**Andamio de PCL/gelatina (Saracino et al., 2021)

Además, otro factor que toma relevancia al tratarse de un andamio para regeneración de sistema nervioso es la microarquitectura que tiene el mismo. Múltiples estudios han demostrado que trabajar en andamios con fibras orientadas le permite a la célula reconocer los patrones y orientarse en pro de esa microarquitectura, además de sufrir deformaciones morfológicas debido a la superficie como es el caso de los astrocitos en este andamio (Saracino et al., 2021). Todas esas respuestas de la célula al material, son indicativos que entre ellos ocurre una interacción que se ve influenciada por factores desde ambos, es por esto que ese andamio y toda la información que se da sobre el mismo y la respuesta que tienen los astrocitos en él, resultan información relevante para definir las bases de este modelo.

Teniendo definido el andamio y luego de extraer las relaciones que se daban entre el andamio y el astrocito (descrita en la figura 5-3) se empezó el planteamiento del modelo. Este se empezó dándole gran importancia a conocer las características del andamio, del material y de la microarquitectura, sin embargo con el avance en el desarrollo y el análisis del modelo, se evidenció que la interacción esta mayormente influenciada por la respuesta de la célula al material, más que por el propio material, al menos para el alcance de este proyecto.

Al buscar entender que información se quería lograr con este modelo, se definió que se quería dar información de la interacción y una gran forma de partir, era la energía de adhesión, ya que es uno de los primeros procesos que sufre la célula cuando entra en contacto con un material. Es por lo que se parte de los puntos de adhesión focal, porque no es lo mismo que la célula se adhiera de un punto a que lo haga de otro. La adhesión va a definir la fuerza con la que célula se adhiere(Coughlin & Stamenović, 2003) y a su vez va a tener consecuencias sobre morfología del astrocito (proceso de alargamiento) (Wang et al., 2021). El cambio morfológico que sufre la célula toma relevancia porque pasa a ser una respuesta de la célula a la interacción como se ve en la evaluación de este modelo, descritas en la siguiente sección, además de que las longitudes y áreas iniciales son sobre las que se hacen los diversos esfuerzos y por ende tiene influencia directa en la energía de interacción.

Por último, pero no menos importante la influencia del andamio en esta interacción sigue existiendo, aunque ya no es la base de la misma, al ser una relación bidireccional tanto como la célula ejerce un esfuerzo sobre el material, de igual forma el mismo va a responder de acuerdo a sus características mecánicas que estan influenciadas directamente por sus características físicas.

Al estudiar el fenómeno que se quería representar, y entender como interactúa el astrocito con el biomaterial, se define que el modelo se comprende de una serie de ecuaciones en que aporta una idea de la energía de la interacción que ocurre. Por temas de alcance y de la forma como se aborda el modelo, no se llega a hacer análisis molecular con un software más especializado.

## 6.1. Naturaleza y relaciones del modelo

Para poder representar la interacción que ocurre entre el astrocito y el andamio, se parte del hecho que para el alcance de este proyecto se iban a tener en cuenta únicamente propiedades físicas y mecánicas, es así como se estudia el fenómeno de adhesión y se encuentra la manera de representar el mismo en términos físicos. El astrocito se adhiere al material con ayuda de unas proteínas (Moeton et al., 2016), estas moléculas forman un complejo que se define como puntos de adhesión; los puntos de adhesión aunque no son puntos se pueden representar de esta forma y llegan a tener un diámetro y forma diferente de acuerdo al material en el que se está adhiriendo, al adherirse estos, generan un esfuerzo. De esta forma se tienen las primeras dos variables a tener en cuenta, fuerza y área de los puntos de adhesión (ya que al formarse más ya no existe solo el diámetro del mismo sino el área que cubren). Además, naturalmente se sabe que la capa protectora de la célula (matriz extracelular), responde a los estímulos a los que se somete cualquier célula, en este caso la respuesta de interés es el esfuerzo que va a hacer la misma, combinado con la longitud por la cual se realiza ese esfuerzo, en este caso sería la longitud inicial del astrocito.
Por otro lado, no menos importante, se tiene el biomaterial, que como se menciona muchas veces en este documento, la interacción es bidimensional, por esto, el andamio va a responder a los estímulos de la célula teniendo en cuenta sus propias características, en este caso, el área a considerar y el módulo de Young que es una característica intrínseca (Kennedy et al., 2016) del mismo.

Estas características y la forma como ellas se relacionan entre sí, se representa en la figura 6-2, donde las líneas de diferentes colores representan si las características corresponden al astrocito o al biomaterial. Los cuadros en rojo representan lo que se espera poder predecir con el modelo, que es la energía de la interacción y alguna idea del cambio morfológico que se espera de los astrocitos en este tipo de interacción de acuerdo con lo visto en literatura (Saracino et al., 2021).

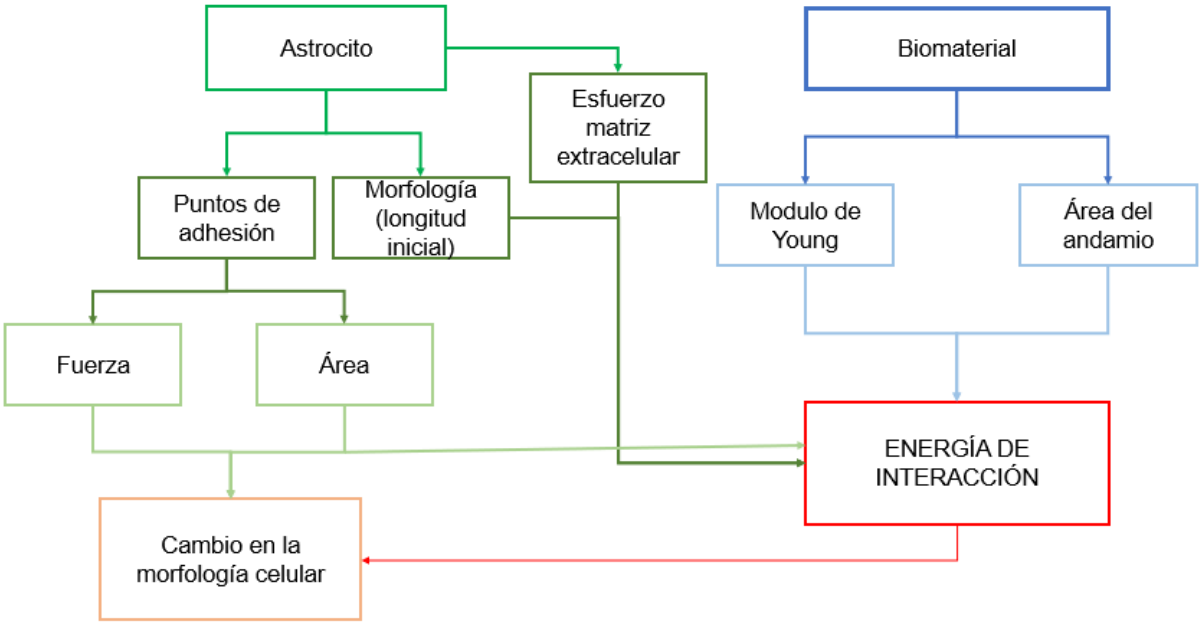



**Figura 6-2.** Diagrama representación de relaciones del modelo (Autoría propia, 2022).

Las características físicas y mecánicas descritas anteriormente se extraen del fenómeno que ocurre entre el astrocito y el biomaterial, este fenómeno “físico” se representa en la figura 6-3 y ocurre cuando el astrocito entra en contacto con la superficie, en este caso el biomaterial.

El astrocito representado en esa figura como un óvalo con una longitud inicial (1), se pone en contacto con el biomaterial cuando se cultiva en el mismo, con el paso de los días, el astrocito empieza su proceso de adhesión, a través de la formación de puntos de adhesión. Estos puntos de adhesión son en realidad complejos de proteínas con forma y diámetro específico (3), que responden a la microarquitectura a la cual se adhieren con un esfuerzo (4). Además, la matriz extracelular del astrocito genera un propio esfuerzo (2) al ponerse en contacto con la superficie del biomaterial, este esfuerzo es propio de la matriz y presenta pocas variaciones. Por último, el esfuerzo del biomaterial (6) va a ser la respuesta a los esfuerzos producidos por la célula, lo que quiere decir que es contrario a los esfuerzos tanto de la matriz extracelular (2) como de los puntos de adhesión (4). Igual, aunque en el diagrama se representa un solo punto de adhesión es importante recordar que estos se van formando a lo largo del tiempo, siguiendo las ecuaciones que se describen en la siguiente sección.

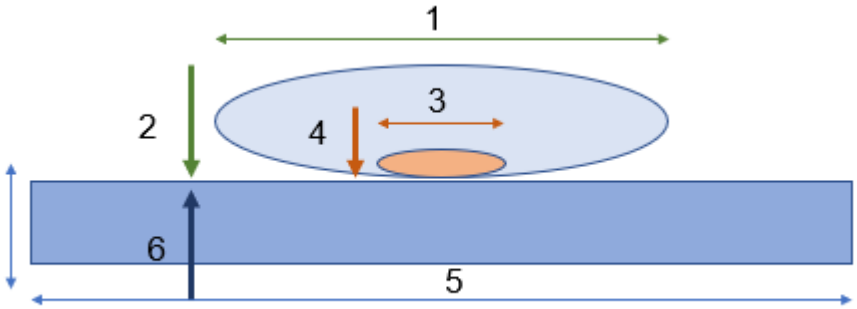



**Figura 6-3.** Diagrama de cuerpo libre astrocito-biomaterial. 1.Longitud inicial del astrocto,2. Esfuerzo de la matriz extracelular, 3. Diámetro de puntos de adhesión focal, 4. Fuerza de cada punto de adhesión focal, 5. Área del andamio a considerar, 6. Módulo de Young bidimensional del andamio (Autoría propia, 2022).

## 6.2. Ecuaciones del modelo

Ecuación principal:

$$\boldsymbol{E_{AB} = -(E_C A_{Mp} + E_M L_0 - E_A A_A)} \qquad (1)$$

Donde,

$\boldsymbol{E_C}$, representa el módulo de Young bidimensional de las microfibras de actina que se van orientado a medida que surgen los puntos de adhesión focal en el astrocito. Se mide en Newtons sobre metro (N/m).

$\boldsymbol{A_{Mp}}$, representa el área de los puntos de adhesión focal que se forman en la célula cuando se adhiere. Se mide en metros cuadrados ($m^2$).

De forma que $\boldsymbol{E_C A_{Mp}}$, representa la energía que invierte la célula en adherirse al andamio. Se mide en Joules (N*m o J).

$\boldsymbol{E_M}$, representa el esfuerzo de la matriz extracelular. Se mide en Newtons (N)

$\boldsymbol{L_0}$, representa la longitud inicial de la célula que va cambiando a medida que la célula se va alargando y van surgiendo los puntos de adhesión focal. Se mide en metros (m).

De forma que $\boldsymbol{E_M L_0}$, representa la energía que invierte la matriz extracelular en el proceso del alargamiento. Se mide en Joules (N*m o J).

$\boldsymbol{E_A}$, representa el módulo de Young bidimensional del andamio, que se activa en respuesta de los esfuerzos a los que está sometido por la presencia del astrocito. Se mide en Newtons sobre metro (N/m).

$\boldsymbol{A_A}$, representa el área del andamio que se está teniendo en cuenta, en este caso el área del astrocito. Se mide en metros cuadrados ($m^2$).

De forma que $\boldsymbol{E_A A_A}$, representa energía que responde del andamio en la interacción. Se mide en Joules (N*m o J).

$\boldsymbol{H}$, representa al final la energía de interacción involucrada entre el astrocito y el andamio. Se mide en Joules (N*m o J).

En proceso de interacción se busca que la energía que se requiere y se libera en la misma se pueda minimizar, para optimizar los procesos. Es decir, que, en este caso al hacer los análisis de los valores arrojados en la energía de esta interacción, entre menor sea la energía se puede concluir que la interacción es mejor.
La ecuación se representa como negativa debido a que se da información de la energía desde el punto de vista del astrocito, es decir, la energía que tendría que invertir el mismo para poder llevar a cabo la interacción. La energía es invertida por el astrocito, es decir, se podría considerar que el astrocito la pierde para poder llevar a cabo el proceso de adhesión en el andamio, esto representa el signo negativo de la ecuación. El astrocito invierte la energía fabricando puntos de adhesión y usándolos a través de una serie de esfuerzos en adherirse al material. Entre más energía invierta, aunque se puede considerar un proceso negativo para el astrocito, mejor es la adherencia, y tener una buena adherencia y orientación en relación al andamio en el que se esta desarrollando facilita la viabilidad celular y la comunicación entre células.

Para poder utilizar la ecuación anterior, es fundamental encontrar la ecuación que define como surgen los puntos de adhesión, este proceso se describe en la metodología y se obtiene como ecuación definitiva:

$$\boldsymbol{P = \sum_{i=2}^{12} P + 2(i-1)^2} \quad (2)$$

Esta ecuación tiene una condición inicial de $P_1$=1, sin embargo, para facilidad de este modelo, el $P_1$ representa el día 0, por otro lado la ecuación se limita hasta el ciclo 12 debido a que de acuerdo a lo visto en el artículo base sobre la relación entre el astrocito y el andamio (Saracino et al., 2021), los astrocitos pueden forman alrededor de 1000 puntos de adhesión como máximo, y en ese ciclo la célula tiene un total de 1013 puntos de adhesión. Se define este valor como máximo y se establece que a partir de ese ciclo (que representa el día 11 en días), la energía de un astrocito se estabiliza y se mantiene constante.

## 6.3. Programación del modelo

La programación se hace en Python 3.0 y se encuentra en el anexo 2. PruebaSimulación.ipynb

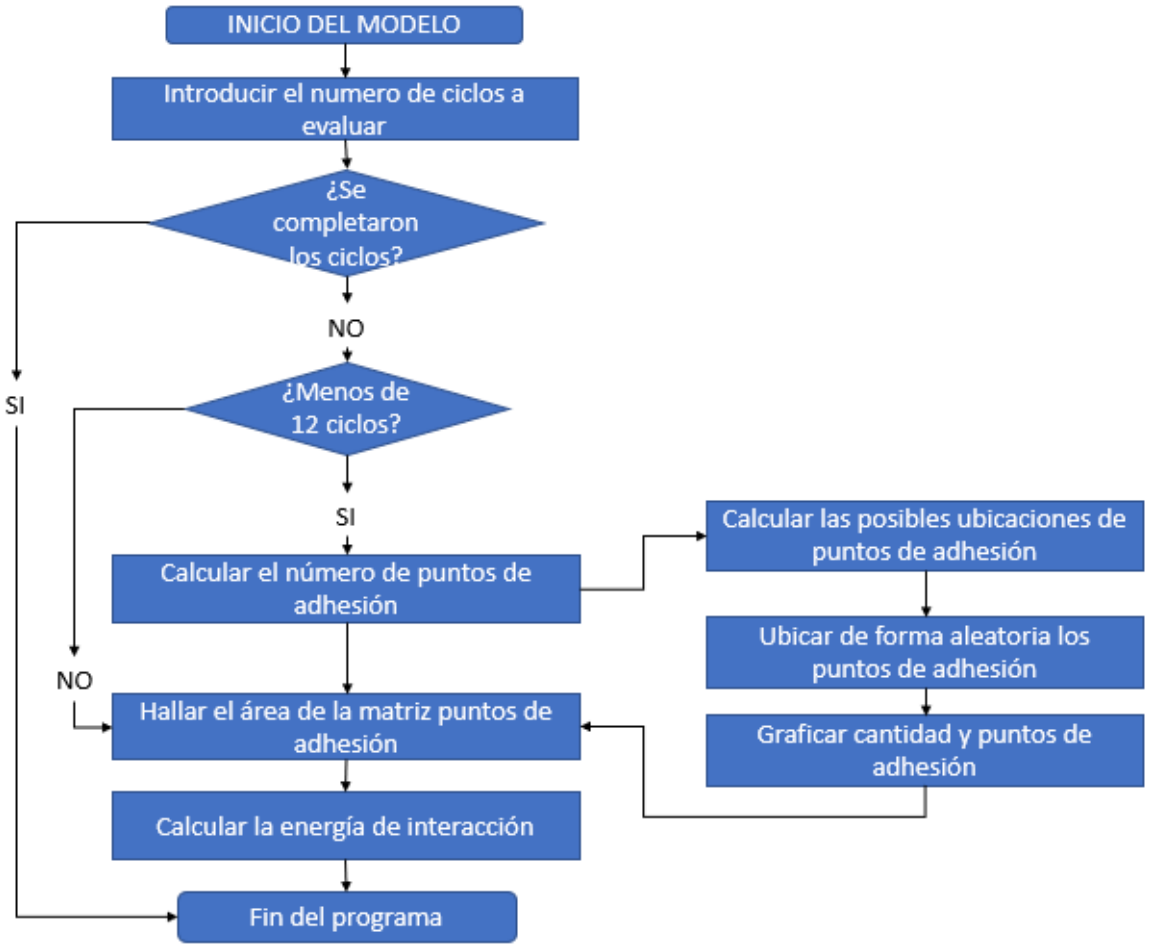



**Figura 6-4:** Diagrama de bloques de la programación.

## 6.4. Predicciones y cálculos del modelo

El modelo parte de la formación de los puntos de adhesión focal, estos se dan cuando la célula se adhiere a la superficie y van a determinar la energía de interacción, así como también los cambios morfológicos que sufre la célula. La distribución de los puntos de adhesión sigue una geometría triangular equidistante, se forman el número de puntos de acuerdo con la ecuación 2 en cada ciclo, y se distribuyen de manera ramdonizada con mayor tendencia hacia la horizontal. Luego de tener ubicados los puntos se hace el cálculo de la predicción de la energía de interacción. Las figuras de la 6-5 a la 6-19 son un ejemplo de la distribución y predicción de la energía de interacción realizada por el modelo del día 0 al día 14. Se evidencia como a partir del día 11, dejan de surgir nuevos puntos de adhesión y la energía se mantiene constante.

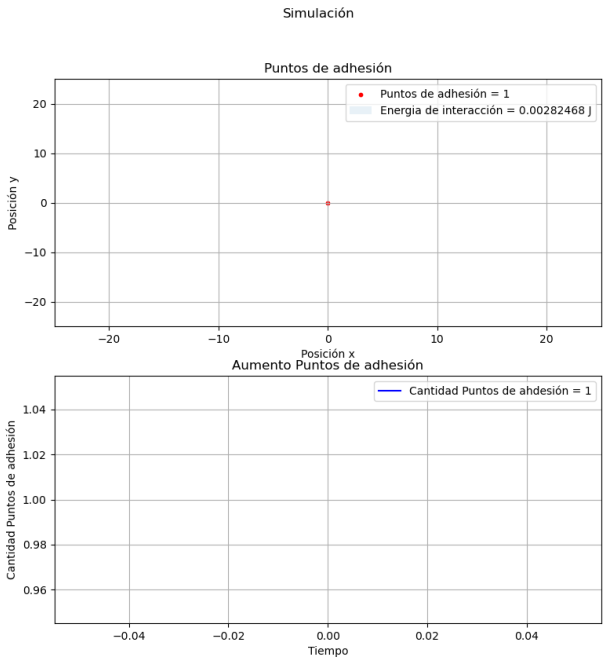



**Figura 6-5.** Simulación puntos de adhesión día 0(Autoría propia).

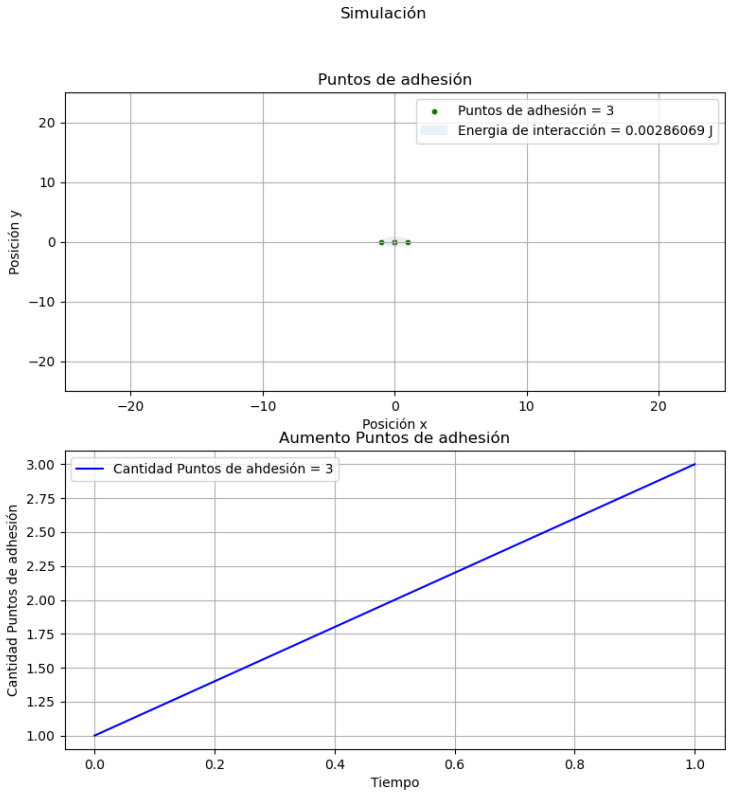



**Figura 6-6.** Simulación puntos de adhesión día 1 (Autoría propia).

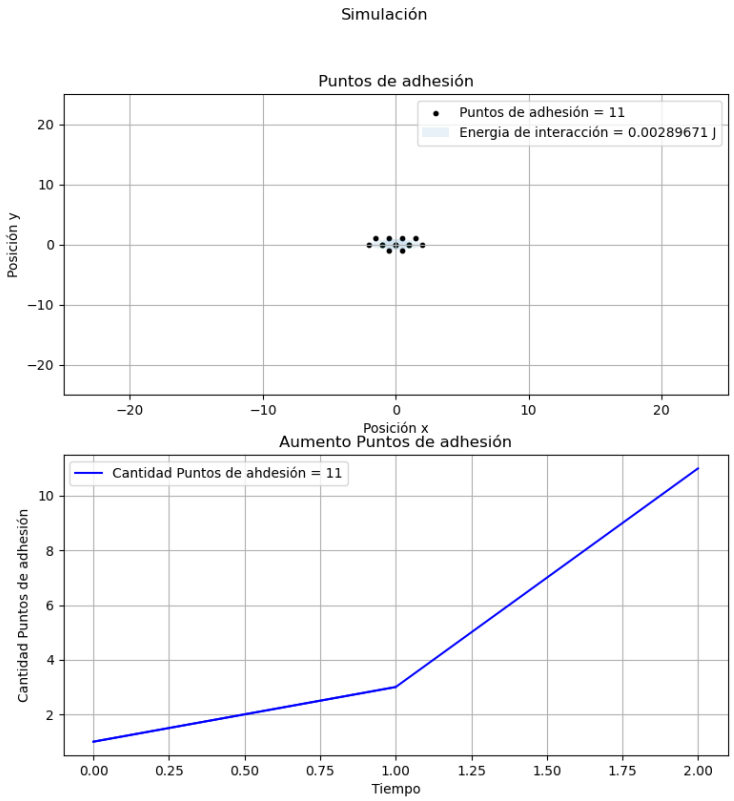



**Figura 6-7.** Simulación puntos de adhesión día 2 (Autoría propia).

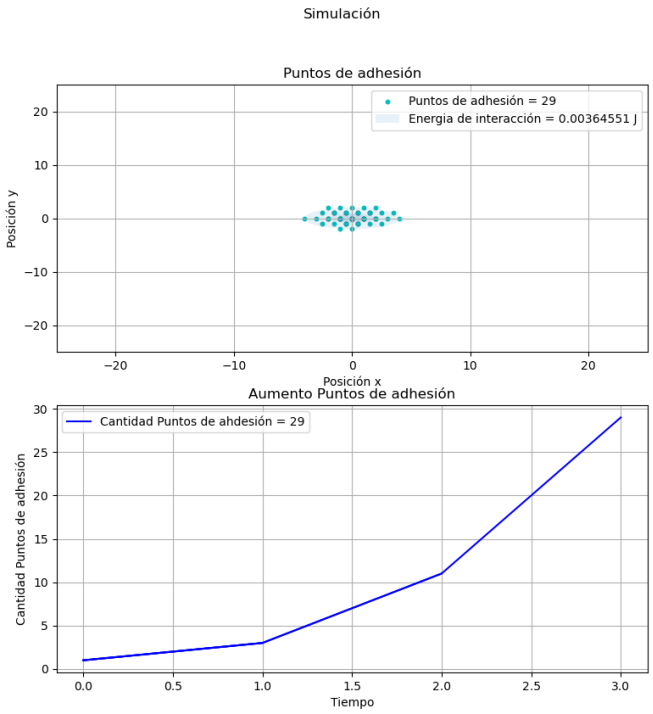



**Figura 6-8.** Simulación puntos de adhesión día 3 (Autoría propia).

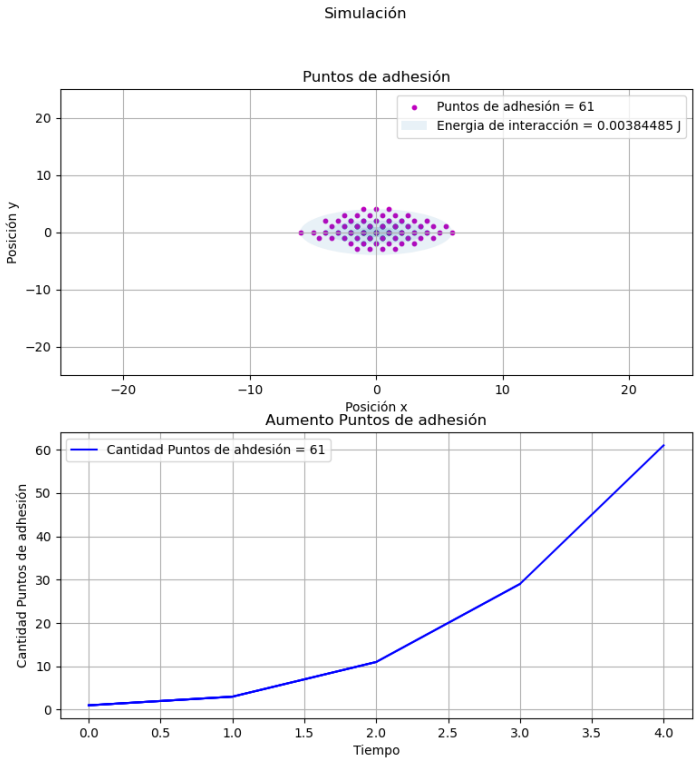



**Figura 6-9.** Simulación puntos de adhesión día 4 (Autoría propia).

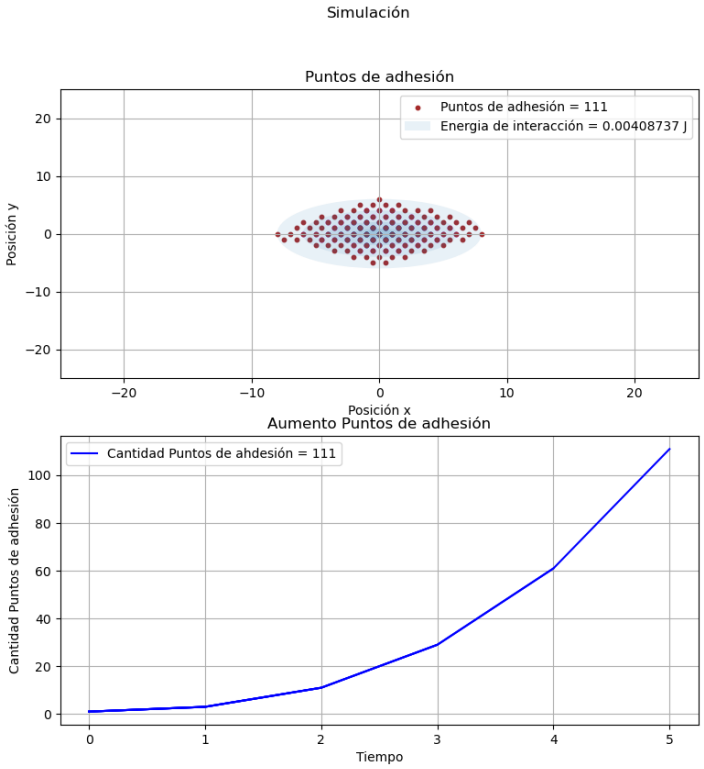



**Figura 6-10.** Simulación puntos de adhesión día 5 (Autoría propia).

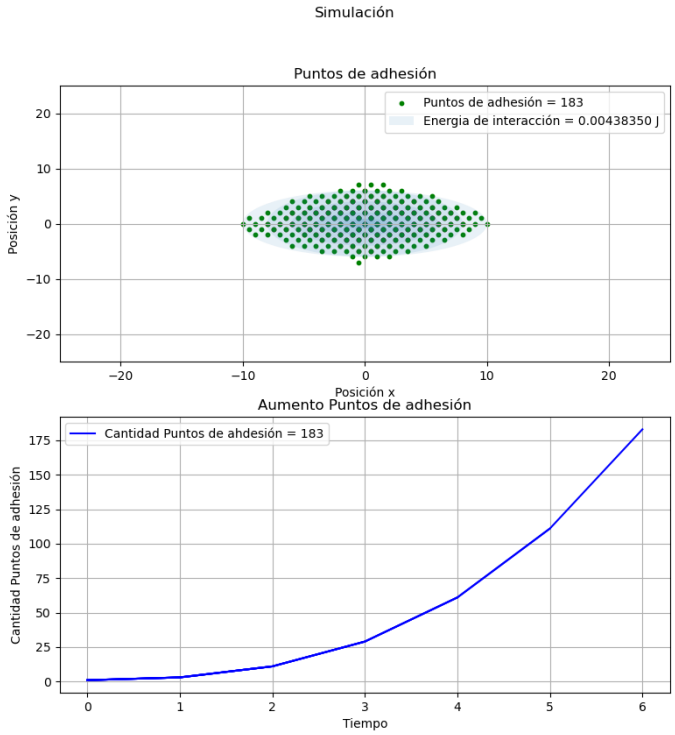



**Figura 6-11.** Simulación puntos de adhesión día 6 (Autoría propia).

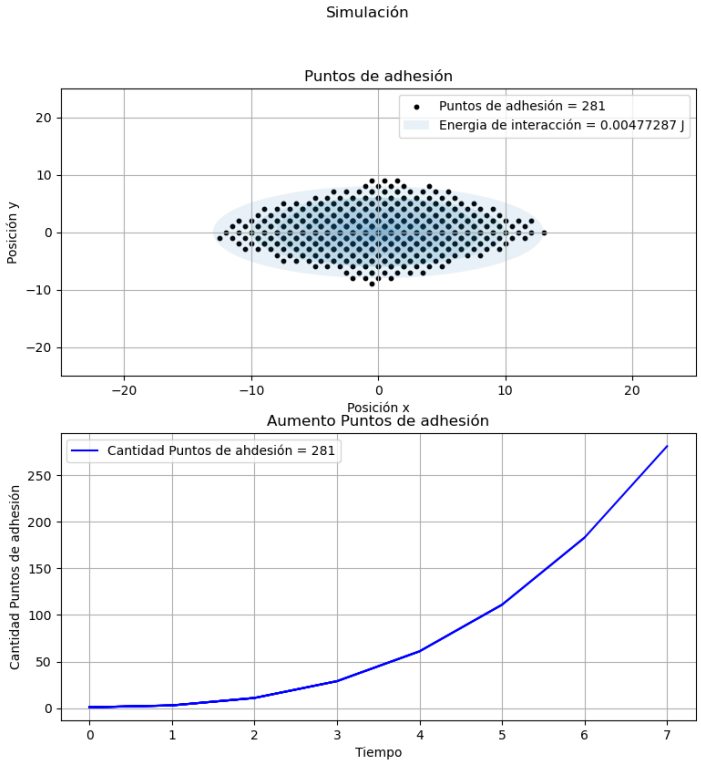



**Figura 6-12.** Simulación puntos de adhesión día 7 (Autoría propia).

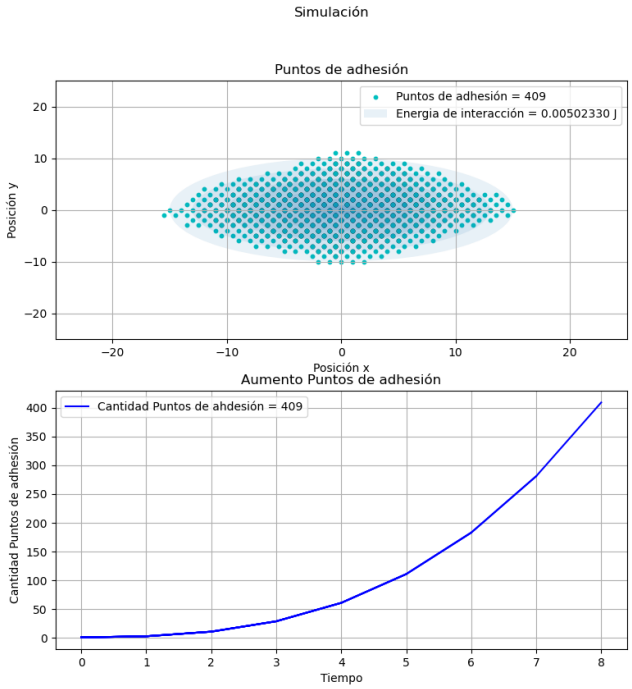



**Figura 6-13.** Simulación puntos de adhesión día 8 (Autoría propia).

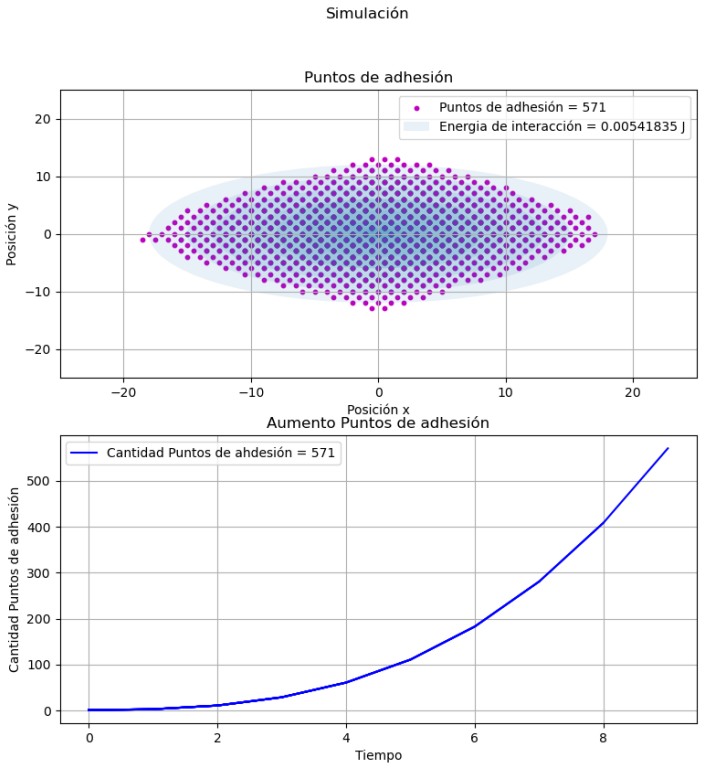



**Figura 6-14.** Simulación puntos de adhesión día 9 (Autoría propia).

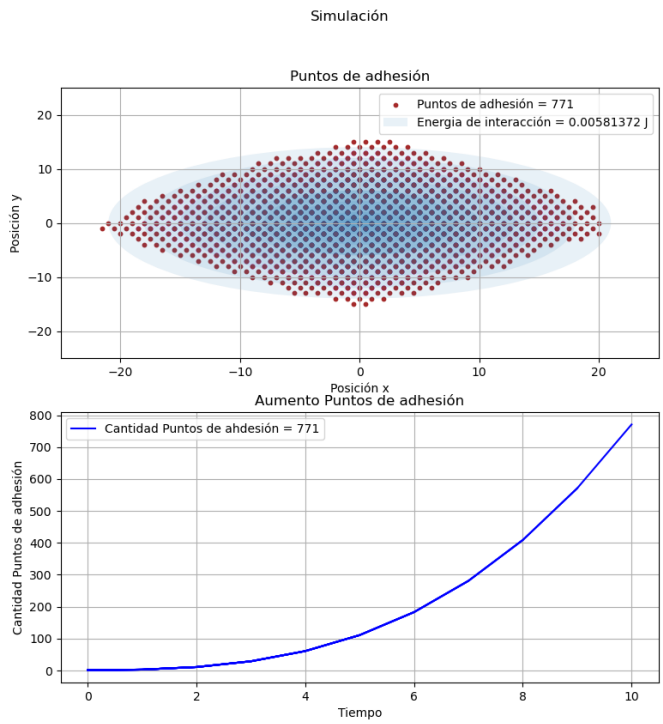



**Figura 6-15.** Simulación puntos de adhesión día 10 (Autoría propia).

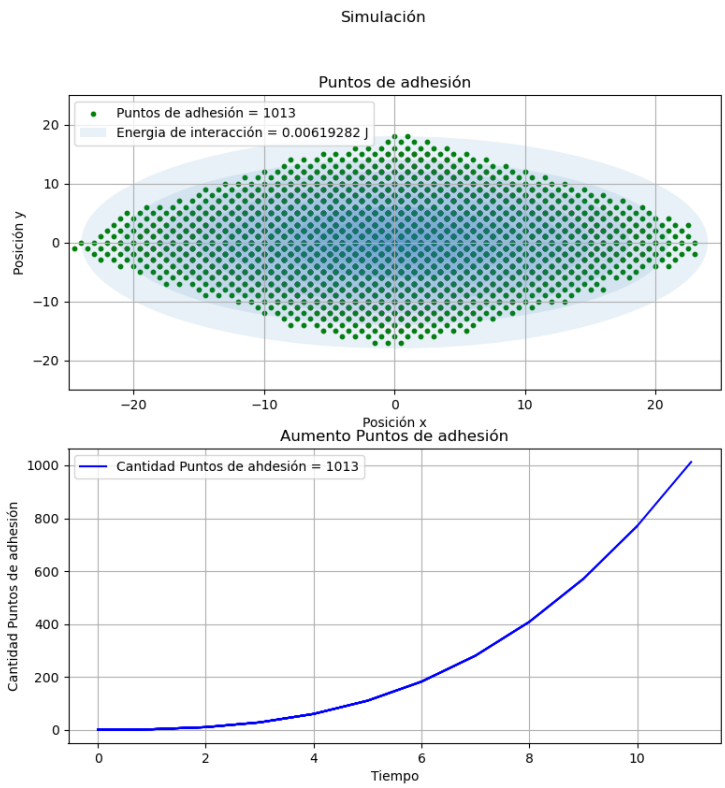



**Figura 6-16.** Simulación puntos de adhesión día 11 (Autoría propia).

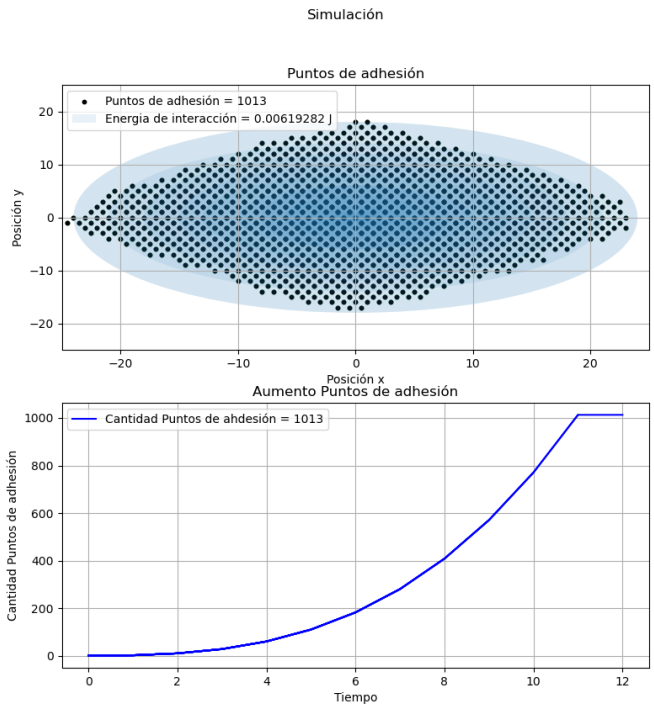



**Figura 6-17.** Simulación puntos de adhesión día 12 (Autoría propia).

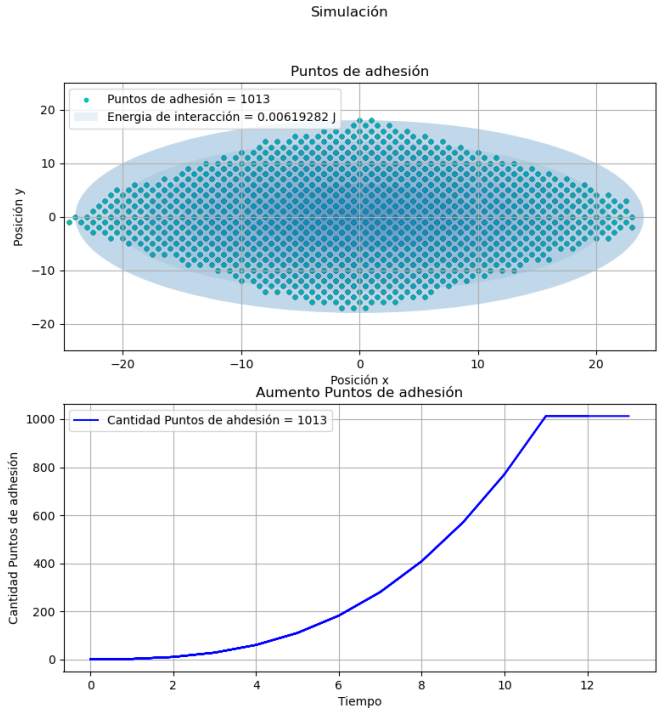



**Figura 6-18.** Simulación puntos de adhesión día 13 (Autoría propia).

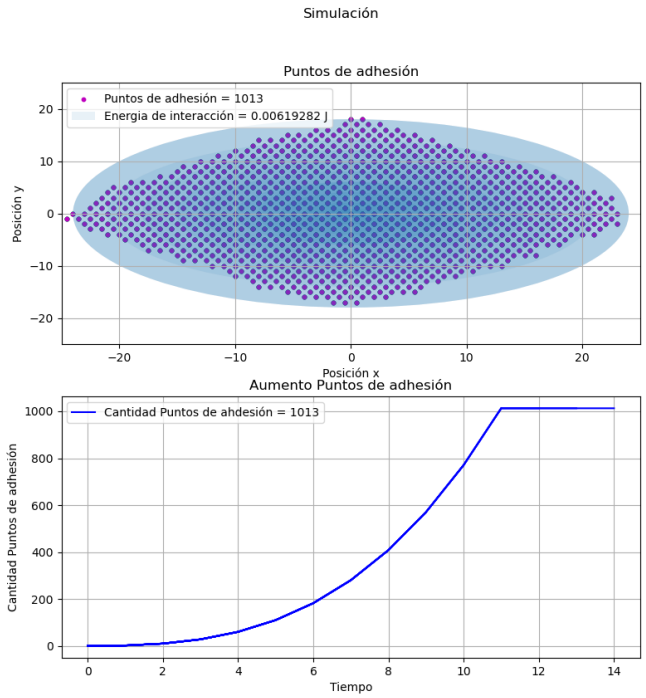



**Figura 6-19.** Simulación puntos de adhesión día 14 (Autoría propia).

La figura 6-20 representa un ejemplo de los valores para la energía de interacción predicha por el modelo a lo largo de los días, se evidencia como esta energía decrece con el paso de cada ciclo, no de forma lineal si no más de forma exponencial, siguiendo la naturaleza del modelo. Se evidencia además que la energía va decreciendo que es lo que se busca que la célula haga siempre.

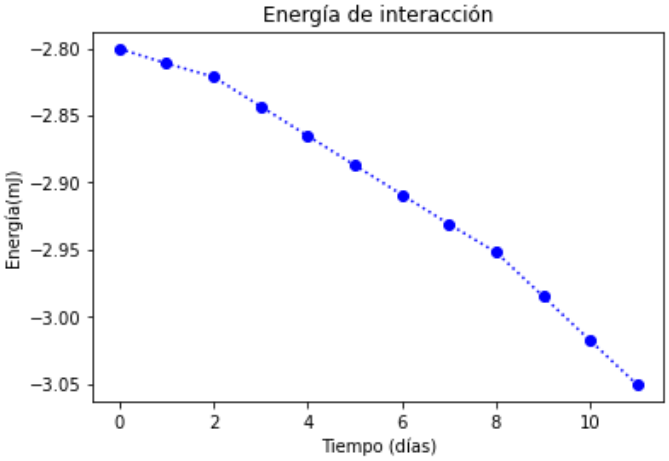



**Figura 6-20.** Predicción energía de interacción para un astrocito a lo largo de los días (Autoría propia).

Luego se realizó un ensayo de repetibilidad, teniendo en cuenta que el algoritmo ubica los puntos de adhesión de forma aleatoria, se esperaba que hubiera variación en el cálculo de la energía a lo largo de los diversos días, aun cuando se usaran los mismos datos iniciales para todos los ensayos, los resultados se ven en la siguiente tabla.

***Tabla 6-1***
*Resultados energía de interacción evaluación de la repetibilidad del modelo.*

| Día | Puntos de adhesión | Energía de interacción con 20 N-1 (mJ) | Energía de interacción con 20 N -2 (mJ) | Energía de interacción con 20 N -3 (mJ) | Energía de interacción con 20N-4 (mJ) | Energía de interacción con 20N-5 (mJ) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 1 | -2,800 | -2,800 | -2,800 | -2,800 | -2,800 |
| 1 | 3 | -2,811 | -2,811 | -2,811 | -2,811 | -2,811 |
| 2 | 11 | -2,821 | -2,821 | -2,821 | -2,832 | -2,832 |
| 3 | 29 | -2,843 | -2,843 | -2,843 | -2,843 | -2,843 |
| 4 | 61 | -2,865 | -2,865 | -2,865 | -2,865 | -2,865 |
| 5 | 111 | -2,887 | -2,887 | -2,887 | -2,887 | -2,898 |
| 6 | 183 | -2,909 | -2,909 | -2,909 | -2,909 | -2,920 |
| 7 | 281 | -2,931 | -2,941 | -2,941 | -2,941 | -2,941 |
| 8 | 409 | -2,952 | -2,963 | -2,974 | -2,974 | -2,963 |
| 9 | 571 | -2,985 | -2,996 | -3,007 | -3,007 | -2,985 |
| 10 | 771 | -3,018 | -3,029 | -3,039 | -3,040 | -3,018 |
| 11 | 1013 | -3,051 | -3,061 | -3,083 | -3,072 | -3,051 |

Tal como se esperaba del modelo, se evidencia una variación en los diversos ensayos, aunque algunos valores se mantienen constantes, o pueden repetirse en algunos días de la simulación la variabilidad existe, lo que es un indicador de que el modelo está funcionando bien y que el algoritmo está haciendo su trabajo al ubicar con aleatoriedad los puntos de adhesión. Algunas cosas a tener en cuenta es que en los primeros dos ciclos, la energía predicha se va a mantener constante, esto porque el modelo parte de la idea de que el primer punto de adhesión se ubica en el centro de la célula, y en el segundo ciclo al formarse solo dos más estos se ubican en su horizontal siempre, por la tendencia de horizontalidad, que está dada porque los puntos de adhesión nuevos, se ubiquen primero sobre el eje x antes de hacerlo sobre el “y”.

## 6.5. Evaluación del modelo

Teniendo ya listo la programación del modelo, se procede a realizar su evaluación siguiendo la metodología ya descrita.

### 6.5.1 Fuerza ejercida por los puntos de adhesión focal

El análisis de sensibilidad inicia variando la fuerza que ejerce cada uno de los puntos de adhesión entre 10 y 20 N, los resultados se evidencian en la figura 6.21:

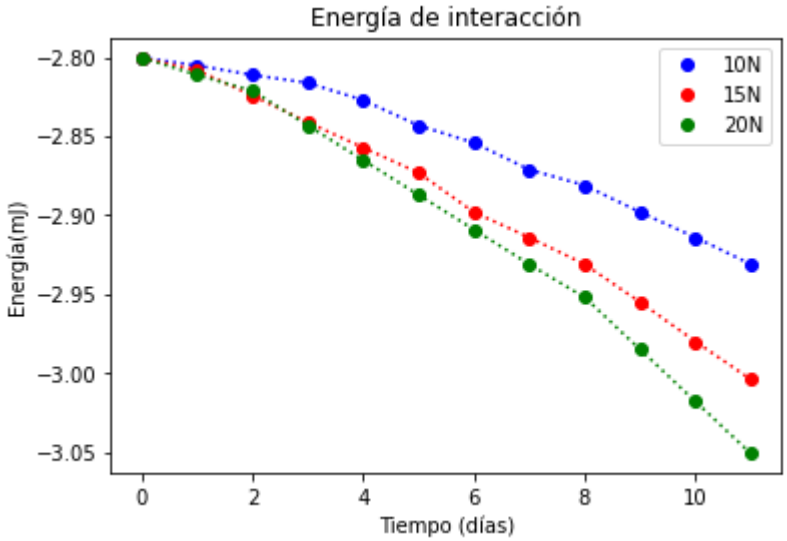



**Figura 6-21.** Predicción de energía de interacción aplicando diversas fuerzas en los puntos de adhesión (Autoría propia).

Un factor a considerar antes de poder analizar los valores consignados en esta y en las otras figuras que salen de las predicciones hechas por el modelo, es que los valores se expresan aquí con 3 cifras significativas para el caso de la energía de interacción y con dos cifras para el caso del área de los puntos de adhesión.
Esto sirve para entender porqué, aunque la fuerza cambia, las primeras predicciones se mantienen constante para todos los valores, esto es porque aunque hay variación como solo se tiene un punto de adhesión el cambio no se alcanza a apreciar en la tabla debido a las cifras significativas. Se evidencia como respuesta que entre mayor sea la fuerza, menor se hará la energía, pues los puntos de adhesión son los que ayudan al astrocito a ganar estabilidad sobre el biomaterial.

## 6.5.2 Diámetro de puntos de adhesión focal

Luego de realizar los ajustes pertinentes en el modelo, se procede a evaluar el modelo en relación al cambio en el diámetro de los puntos de adhesión siguiendo lo dicho en el artículo de Moeton, donde el diámetro de los puntos de adhesión focal va de 0.004 µm a 4 µm (Moeton et al., 2016) obteniendo lo siguiente:

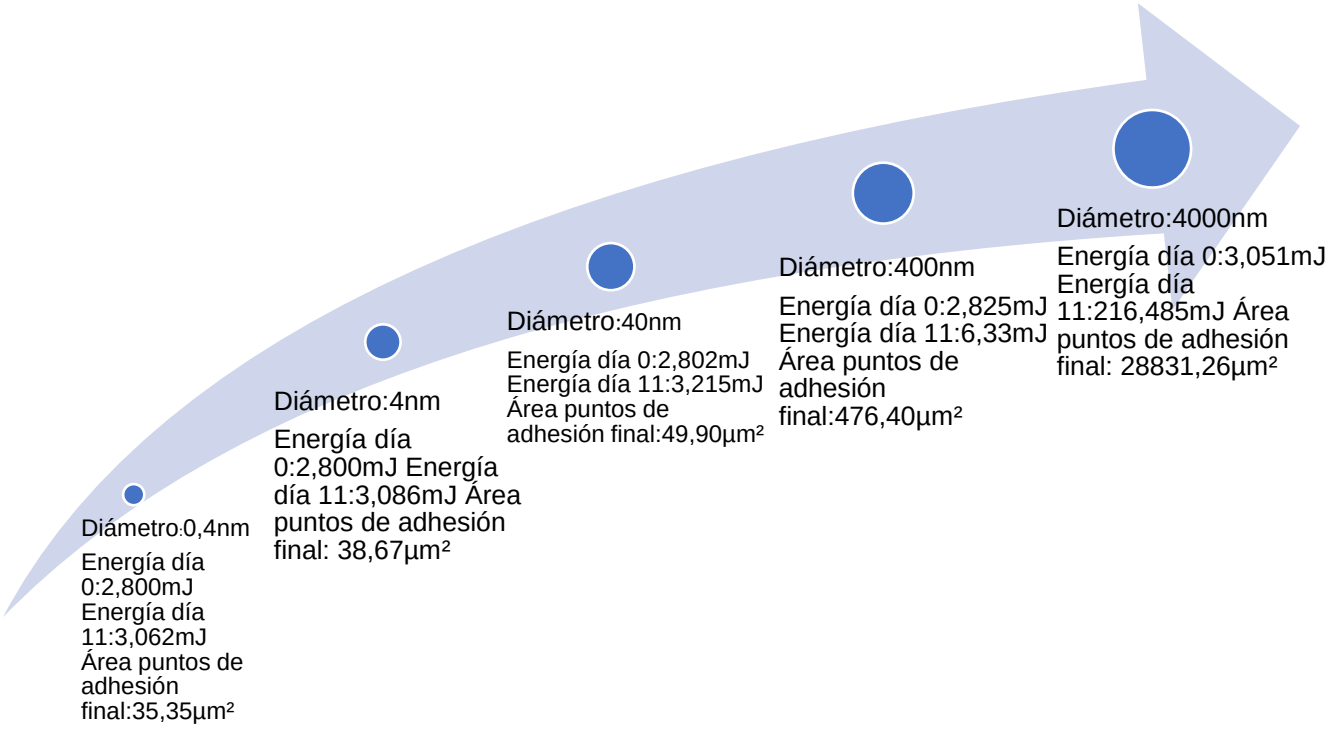



**Figura 6-22.** Diagrama energía de interacción y área final de puntos de adhesión variando el diámetro de los mismos (Autoría propia).

Tal como se mencionó en algún otro momento en este documento, el modelo demuestra que hay una respuesta en el área de los puntos de adhesión que como era de esperarse está relacionada con el diámetro de estos como se ve en la figura 6-22. Además, la energía predicha se hace cada vez más negativa a medida que el área se hace más grande.

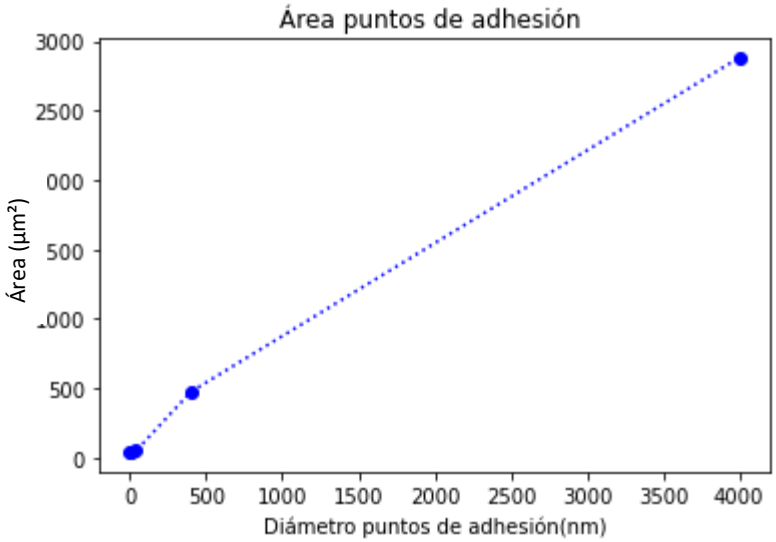



**Figura 6-23.** Relación área final de matriz de puntos y diámetro de puntos de adhesión, variado entre 4 nm y 4000 nm (Autoría propia).

De acuerdo, a la figura 6-23, en algún punto entre 40nm y 400nm los puntos de adhesión llegan a un límite en el que su área supera el área de los astrocitos que es de 314 µm² (Miller, & Zachary,2020), es por esto que se hace un análisis más detallado de ese rango obteniendo la gráfica presente en la figura 6-24.

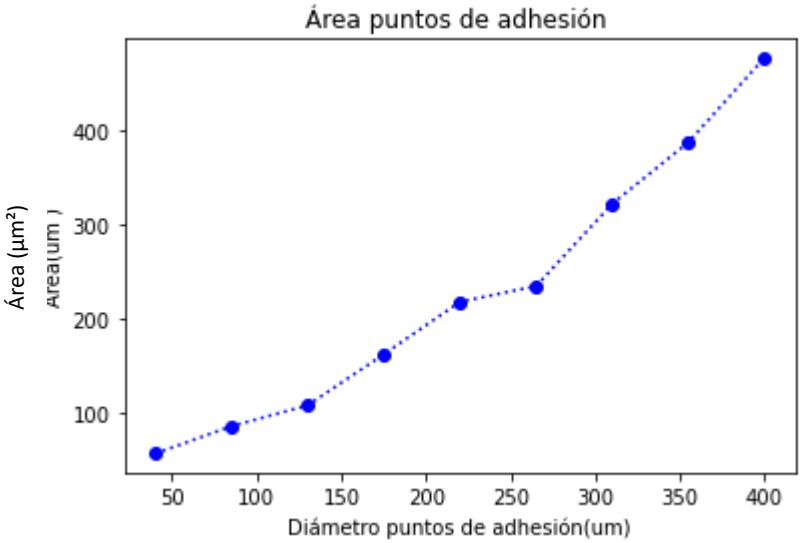



**Figura 6-24.** Relación área final de matriz de puntos y diámetro de puntos de adhesión, variado entre 40 nm y 400 nm (Autoría propia).

Este punto es un punto crítico, pues es a partir del cual la célula presenta cambios morfológicos.

## 6.5.3 Módulo de Young bidimensional del andamio

La evaluación en términos del módulo de Young se hizo variando el módulo de Young bidimensional entre 304 y 504 N/m, los resultados se consignan en la tabla 6-2 y las predicciones finales se muestran en la figura 6-25.

***Tabla 6-2***
*Resultados energía de interacción variando módulo de Young bidimensional entre 304-504 N/m.*

| Día | Puntos de adhesión | Energía de interacción con 304 N/m (mJ) | Energía de interacción con 354 N/m (mJ) | Energía de interacción con 404 N/m (mJ) | Energía de interacción con 454 N/m (mJ) | Energía de interacción con 504 N/m (mJ) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 1 | -2,824 | -2,825 | -2,824 | -2,825 | -2,825 |
| 3 | 29 | -3,645 | -3,646 | -3,646 | -3,465 | -3,646 |
| 6 | 183 | -4,532 | -4,384 | -4,341 | -4,235 | -4,383 |
| 9 | 571 | -5,278 | -5,418 | -5,418 | -5,418 | -5,278 |
| 11 | 1013 | -6,056 | -6,209 | -6,330 | -6,209 | -6,193 |

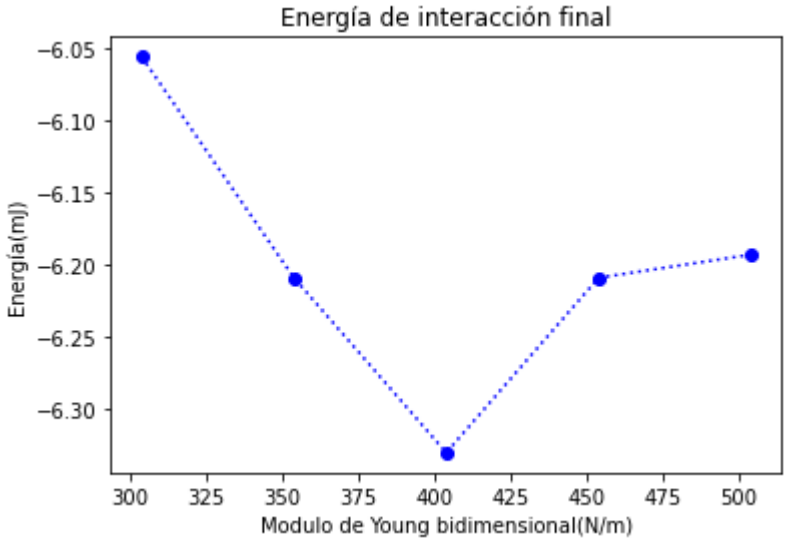



**Figura 6-25.** Relación predicción final de energía de interacción y módulo de Young bidimensional del andamio, variado entre 304 N/m y 504 N/m (Autoría propia).

El análisis de sensibilidad del módulo de Young hasta este punto de la evaluación del modelo es el único que ha mostrado un comportamiento particular pues, en la figura 6-25 se evidencia como la energía llega a un mínimo con el valor de 404 pero, a medida que el módulo de Young se aleja de este, se va haciendo mayor la energía. Esto puede explicarse debido a que para que el astrocito se desarrolle el medio en el que lo hace debe cumplir con unas características particulares, entre esas está la dureza, que se representa matemáticamente con el módulo. De forma que el andamio sea más duro o blando, esto tiene una repercusión negativa en la interacción pues, se aleja de las características optimas que han demostrado funcionar para el desarrollo de astrocitos (Saracino et al., 2021).

Aunque la energía de interacción al compararla a lo largo de los días no representa un cambio en el comportamiento como se evidencia en la figura 6-26, no se debe ignorar la escala en la que el astrocito libera energía y como al comparar más de cerca se ve un cambio en el comportamiento que pasa a ser significativo.

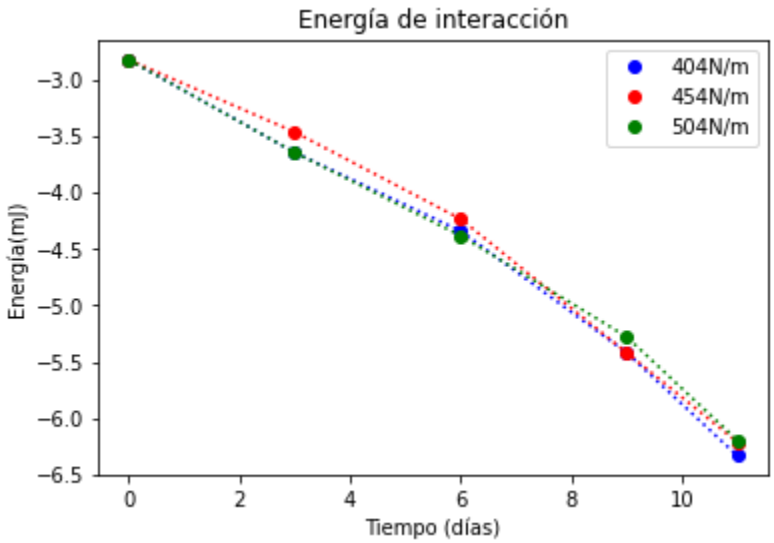



**Figura 6-26.** Predicción energía de interacción a lo largo de los días con diferente valor en el módulo de Young (Autoría propia).

## 6.5.4. Área del andamio

Para evaluar el área del andamio que se está considerando en el modelo, se cambia esa área por su doble, su triple, su media y su tercio; para así tener un espectro alto de la misma para el análisis.

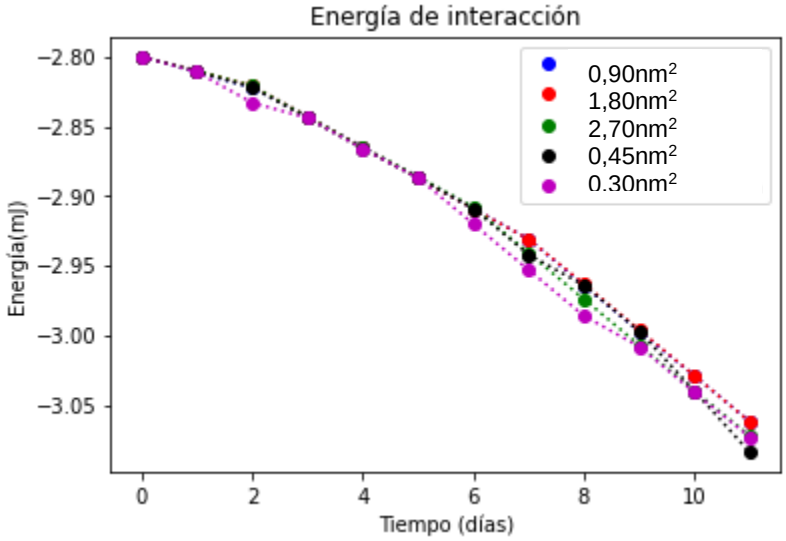



**Figura 6-27.** Predicción energía de interacción a lo largo de los días con diferente valor en el área del andamio considerada (Autoría propia).

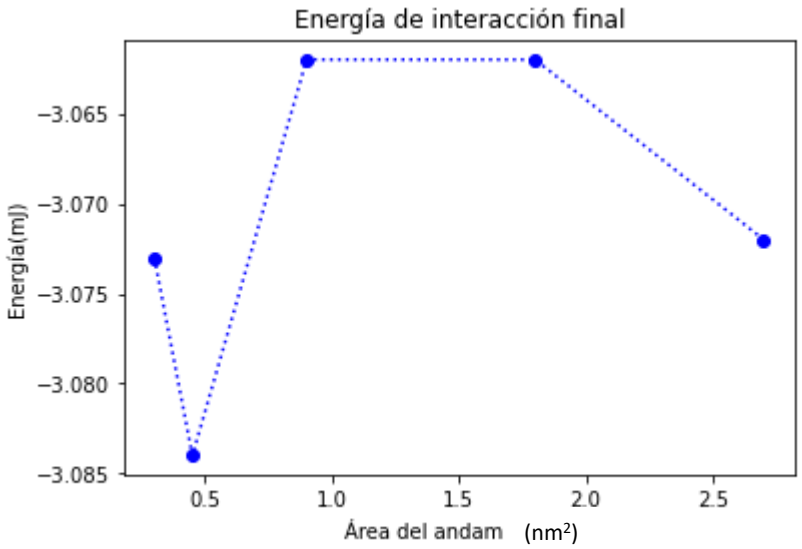



**Figura 6-28.** Relación predicción final de energía de interacción y área del andamio, variado entre la mitad y el triple (Autoría propia).

Como se evidencia en la figura 6-27, al variar el área considerada del andamio, esta no representa una diferencia significativa ni en magnitudes, ni en comportamiento de las predicciones del modelo. Los valores para todas las áreas son similares sobre todo en los primeros días, luego su influencia se vuelve un poco mayor, esto puede deberse a que en los primeros días los puntos de adhesión caben en el área considerada, pero a medida que pasan los días, el área ocupada por los puntos de adhesión se hace cada vez más grande. Por otro lado, la figura 6-28 permite concluir que si se quiere una predicción que no se ve afectada por este valor, se debe mantener el área entre el valor inicial y su doble, ya que cuando se aleja de este valor, la energía empieza a oscilar.

Es importante tener en cuenta que todos los valores y condiciones representadas en este modelo corresponden a un andamio de microfibras paralelas y se establece la premisa de que el astrocito se va a adherir a lo largo de esta. Esto es importante porque en caso de que se cambie la microarquitectura del andamio, es necesario cambiar aspectos del modelo, para hacer una predicción correcta. Entre los aspectos que deberían variarse en caso de tener un andamio en el que ocurra un entrecruzamiento de fibras, estan el módulo de Young que está limitado por la microarquitectura del andamio, y la geometría de los puntos de adhesión y su ubicación. En algunos artículos se evidencia que para el caso de las microfibras alineadas donde la célula sufre un fenómeno de alargamiento, los puntos de adhesión son más circulares y de un tamaño mayor, mientras que en otras geometrías en las que la célula se mantiene esférica estos puntos de adhesión tienden a ser más alargados (Moeton et al., 2016).

La energía de interacción proporcionadas por el modelo, deben considerarse como un acercamiento y nunca como una representación exacta. Desde el inicio del proyecto se buscó entender y representar de una manera precisa el fenómeno, sin embargo, al tratarse de un modelo en base biológica las predicciones no son del todo exactas ni constantes. El análisis

que se hizo del modelo buscaba entender y concluir de lo que se podía inferir del comportamiento de los valores predichos, más que de su magnitud.

La magnitud del modelo no es comparable con ningún otro modelo hasta el momento, pues se representó un caso de interacción demasiado específico que no había sido representado hasta el momento en la literatura. Se partió de lo más pequeño al considerar una sola célula para definir las ecuaciones, lo cual puede generar una diferencia con otros modelos que representan desde el inicio una red celular. La validación de este modelo debería incluir una fase experimental con el andamio específico y astrocitos, hacer mediciones y escalar estas mediciones a una sola célula, que en la vida real es difícil de aislar.

## 6.5.4. Cinética de crecimiento de los astrocitos

Por último, para hacer una evaluación más completa se hace un acercamiento a cuanto sería la energía interacción al considerar el desarrollo que tienen los astrocitos. Para ello se usan los datos de densidad celular extraídos del modelo de cinética celular de los astrocitos de Goldman (Goldman & Chiu, 1984) extrayendo los valores de la figura 6-28 y las predicciones de energía de interacción a lo largo de los días del modelo propio recopiladas en la tabla 6-1. Obteniendo las figuras 6-29 y 6-30:

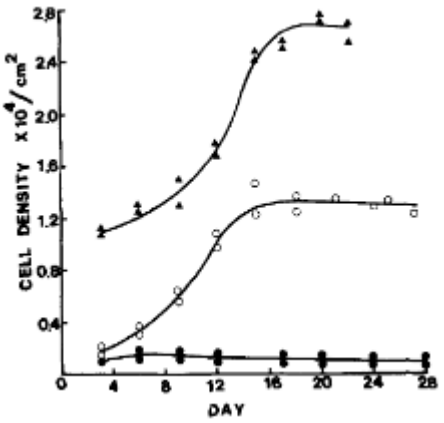



**Figura 6-28.** Modelo de cinética celular de astrocitos (Goldman & Chiu, 1984).

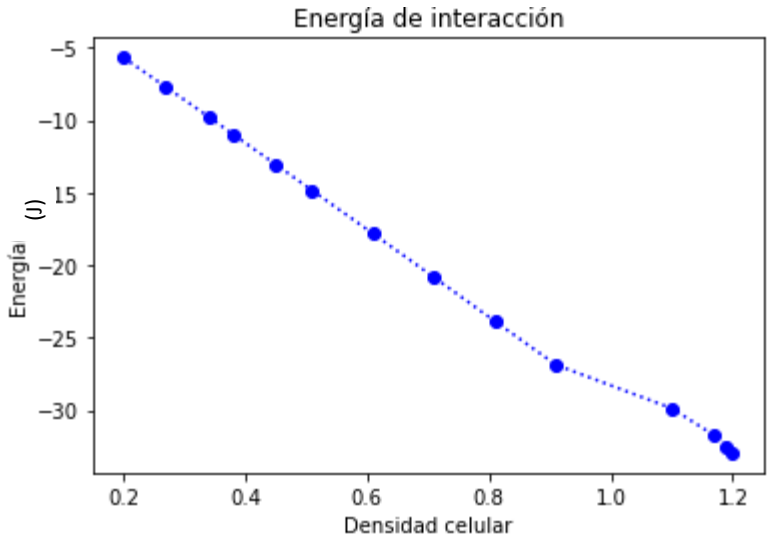



**Figura 6-29.** Predicción energía de interacción en relación con la densidad celular de los astrocitos ($x10^4/cm^2$) (Autoría propia).

La energía se calculó teniendo en cuenta que cada día se producían nuevas células, esas células iniciaban su proceso en la energía de interacción del día inicial, ya que, cada día estudiado, algunas células llevaban solo tres días de desarrollo mientras las últimas ya llevaban más de once días, esto cambia la energía de interacción y es un aspecto para tener en cuenta en los cálculos.

Este cálculo es un acercamiento de como funciona la energía de interacción cuando uno tiene varias células, se tiene en cuenta que cada célula libera la energía de interacción predicha por el modelo y que el análisis se hace para un andamio con un área de 1 $cm^2$.

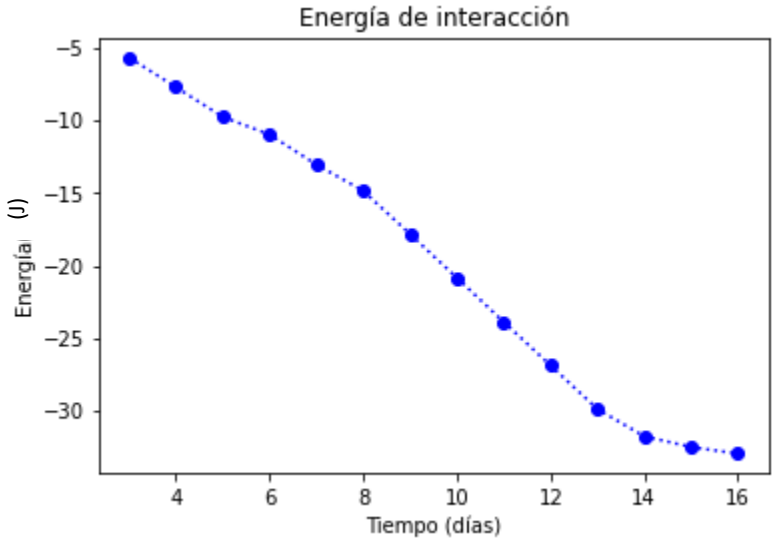



**Figura 6-30.** Predicción energía de interacción a lo largo de los días de un cultivo de astrocitos (Autoría propia).

La respuesta de este acercamiento permite evidenciar como la energía se hace cada vez más negativa a medida que pasa el tiempo y aumenta el número de las células. Esto se debe a que se tiene en cuenta la energía de todas las células, esta energía no es lineal porque responde al modelo de cinética celular y, además, responde al hecho de que no todas las células tienen la misma energía de interacción con el paso del tiempo.

Sería necesario profundizar en como interactúan las células entre ellas y como afecta esa interacción su propia energía, sin embargo, lo que si se concluye al final de la gráfica en la figura 6-30 es que al igual que pasa con una sola célula, la energía se hace cada vez más negativa y tiende a estabilizarse con el paso de los días. Este proceso toma mas tiempo que el que le toma a una sola célula, y va a seguir cambiando hasta que la densidad celular se haya estabilizado y a su vez todas las células hayan logrado su estabilidad. Otra cosa que se evidencia en la figura 6-30 es que a partir del día 13 los cambios dejan de ser tan abruptos, esto se debe no solo a que a partir de allí la densidad celular deja de aumentar de forma significativa, sino que se debe a su vez al hecho de que en ese punto una buena parte de los astrocitos ya estabilizaron su energía de forma individual.

Para finalizar es importante recalcar que, aunque el modelo se planteo de forma teórica, tiene fuertes bases de la revisión bibliográfica de experimentos y planteamientos hechos por diversos autores. La naturaleza del modelo se determinó basada en varios modelos ya desarrollados y validados de forma experimental encontrados en la literatura. Las ecuaciones se plantearon considerando el comportamiento de los astrocitos descrito por autores luego de hacer ensayos experimentales, cada valor o rango utilizado en los cálculos se extrajo de literatura y tiene fundamento en la realidad del fenómeno biológico y físico. El proceso del planteamiento fue meticuloso al respetar las leyes de la física y los comportamientos reales de los diversos procesos que sufre el astrocito. La simulación responde a las ecuaciones planteadas y mantiene la aleatoriedad que se presenta en ensayos reales. Por último, pero no menos importante al analizar la respuesta del modelo a los cambios en los valores, se evidenció coincidencia en el comportamiento de la energía de interacción y lo que se sabe de como responden los astrocitos a cambios en el andamio a través de la literatura. Es decir, la energía del astrocito predicha por el modelo, evidencia el comportamiento de los astrocitos registrado en la bibliografía a lo largo de los años.

# 7 Conclusiones

El modelo propuesto evidencia que el diámetro de los puntos de adhesión y la fuerza que ejercen los mismos, son las variables que mayor influencia tienen en la energía de interacción entre la célula y el astrocito. Ambas variables son características del astrocito, pero son la respuesta que tiene él a la microarquitectura del andamio, por lo tanto, cualquier cambio en el andamio es representa un cambio de estas variables de la célula.

La evaluación de sensibilidad que se le realizó al modelo respecto al área de los puntos de adhesión permitió indagar sobre la predicción de los cambios morfológicos que sufre el astrocito, puesto que el área ocupada por lo puntos de adhesión es cada vez mayor con el paso de los días. Y al variar el diámetro de cada uno de los puntos de adhesión se encuentra que cuando el diámetro es mayor de 300nm no es posible que la célula los genere en su totalidad sin sufrir cambios morfológicos, ya que a partir de allí el área de los puntos es mayor al área de la célula. Sin embargo, sería necesario profundizar que determina de forma exacta el diámetro de los puntos de adhesión y la morfología de estos para entender mejor el fenómeno del cambio morfológico que ocurre en la célula debido a este y cual sería ese cambio. Por ahora solo se concluye que hay un cambio en su área, pero no se puede especificar nada más.

La respuesta de la predicción hecha por el modelo propuesto al cambio de las características directas del andamio como su módulo de Young y su área considerada para el cálculo, no evidencia un comportamiento ni directa ni inversamente proporcional con los valores, sino que muestra como entre más se alejen los valores estas características de los óptimos para la célula, mayor es la energía de interacción predicha, es decir más difícil es para la célula generar un interacción y requiere más energía para adherirse al andamio.

Al analizar las predicciones del modelo cambiando las características de la respuesta celular es decir, la fuerza de los puntos de adhesión focal y el diámetro de estos, se observa un comportamiento inversamente proporcional, es decir, entre mayor sea la fuerza o el diámetro menor es la energía de interacción, esto comprobaría que la célula cambia esas características para hacer más sencilla su interacción con el andamio. Sin embargo, en algún punto hacer cambios en estas características deja de ser viable energéticamente para la célula por ejemplo, no puede hacer el diámetro de los puntos de adhesión de 4000nm porque esto implicaría para la misma triplicar su tamaño, lo cual deja de ser viable.

El modelo predice la energía de interacción entre un astrocito y un andamio de poli-e-caprolactona-gelatina con fibras electrohiladas orientadas sobre la horizontal, y el estudio de las variables involucradas en el modelo responde a estas características en específico, es por esto que cualquier cambio en el andamio, representaría un cambio en el modelo.

# 8 Recomendaciones

Desde la bioingeniería se recomienda para mejorar el modelo y hacerlo cada vez más cercano a la realidad:

Hacer un estudio más profundo de los puntos de adhesión del astrocito y la influencia del material y las características del andamio con el que este esta interactuando para poder determinar una ecuación de esta relación que haga más exacto el modelo.

Entender cómo se da el proceso de adhesión celular a nivel de proteínas y llevar este proceso a un lenguaje matemático que se pudiera incluir en el modelo.

Tener en cuenta como se da el desarrollo de una red de astrocitos a lo largo de los días, representar sus diferentes procesos con ayuda de microestados, y así proponer un modelo que integre la interacción astrocito-biomaterial y pueda dar información sobre el desarrollo del tejido.

Integrar procesos metabólicos de los astrocitos que se ven influenciados por el lugar donde se esté desarrollando.

Estudiar cómo influye en la interacción la morfología celular y hacer cambios en la misma, pues por simplicidad y alcance este modelo analiza los astrocitos como si fueran esféricos y tuvieran una tendencia al alargamiento, pero se sabe que su morfología es realmente muy variada ya que presentan una alta diversidad estructural.

Para iniciar con la validación del modelo de forma experimental, se recomienda iniciar con un cultivo de astrocitos en un andamio con las mismas características que el tenido en cuenta en el modelo, y evaluar con ayuda de microscopía de fluorescencia la aparición de los puntos de adhesión a lo largo de los días y el diámetro de los mismos.

# 9 Agradecimientos

Quiero agradecer a mi tutor, el doctor José Francisco Ibla, por apoyar este proceso desde la idea original hasta el desarrollo final del proyecto. Al ingeniero que aportó en la creación del software, por su apoyo y por creer en mis capacidades para terminar el proyecto. A los evaluadores por las correcciones y recomendaciones para llevar a buen término el proyecto.

# Referencias

*About Python™ | Python.org*. (n.d.). Retrieved March 7, 2022, from https://www.python.org/about/

Adam, J. A. (2011). The Confluence of Nature and Mathematical Modelling. In *Mathematics in Nature* (pp. 1–16).

Albert, P. J., & Schwarz, U. S. (2014). Dynamics of cell shape and forces on micropatterned

substrates predicted by a cellular Potts model. *Biophysical Journal*, *106*(11), 2340–2352. https://doi.org/10.1016/j.bpj.2014.04.036

Alkhalili, O. A., Muñiz, A. J., Hanks, J. E., Stebbins, A. W., Elzinga, S., Topal, T., Lahann, J., Feldman, E. L., & Brenner, M. J. (2019). Scaffold for facial nerve reconstruction. In *Handbook of Tissue Engineering Scaffolds: Volume Two* (pp. 95–121). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102561-1.00004-X

Baniasadi, H., Ramazani S.A., A., & Mashayekhan, S. (2015). Fabrication and characterization of conductive chitosan/gelatin-based scaffolds for nerve tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, *74*, 360–366. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2014.12.014

Boemo Id, M. A., Cardelli Id, L., & Id, C. A. N. (2020). *The Beacon Calculus: A formal method for the flexible and concise modelling of biological systems*. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007651

Brodal, P., & Brodal, P. (2016). Structure of the Neuron and Organization of Nervous Tissue. *The Central Nervous System*, 3–19. https://doi.org/10.1093/med/9780190228958.003.0001

Cassani, S., & Olson, S. D. (2020). A Hybrid Model of Cartilage Regeneration Capturing the Interactions Between Cellular Dynamics and Porosity. *Bulletin of Mathematical Biology*, *82*(2), 1–32. https://doi.org/10.1007/s11538-020-00695-1

Chen, C., Zhao, M., Zhang, R., Lu, G., Zhao, C., Fu, F., Sun, H., Zhang, S., Tu, Y., & Li, X. (2017). Collagen/heparin sulfate scaffolds fabricated by a 3D bioprinter improved mechanical properties and neurological function after spinal cord injury in rats. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *105*(5), 1324–1332. https://doi.org/10.1002/jbm.a.36011

*COMSOL Multiphysics® Software - Understand, Predict, and Optimize*. (2019). https://www.comsol.com/comsol-multiphysics

Cooper, A., Bhattarai, N., & Zhang, M. (2011). Fabrication and cellular compatibility of aligned chitosan-PCL fibers for nerve tissue regeneration. *Carbohydrate Polymers*, *85*(1), 149–156. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.02.008

Coughlin, M. F., & Stamenović, D. (2003). A Prestressed Cable Network Model of the Adherent Cell Cytoskeleton. *Biophysical Journal*, *84*(2), 1328–1336. https://doi.org/10.1016/S0006-3495(03)74948-0

D'Amore, A., Amoroso, N., Gottardi, R., Hobson, C., Carruthers, C., Watkins, S., Wagner, W. R., & Sacks, M. S. (2014). From single fiber to macro-level mechanics: A structural finite-element model for elastomeric fibrous biomaterials. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *39*, 146–161. https://doi.org/10.1016/j.jmbbm.2014.07.016

Dado, D., & Levenberg, S. (2009). Cell-scaffold mechanical interplay within engineered tissue. *Seminars in Cell and Developmental Biology*, *20*(6), 656–664. https://doi.org/10.1016/j.semcdb.2009.02.001

Fangohr, H. (2004). A comparison of C, MATLAB, and Python as teaching languages in engineering. *Lecture Notes in Computer Science (Including Subseries Lecture Notes in Artificial Intelligence and Lecture Notes in Bioinformatics)*, *3039*, 1210–1217. https://doi.org/10.1007/978-3-540-25944-2_157

Felfel, R. M., Gideon-Adeniyi, M. J., Zakir Hossain, K. M., Roberts, G. A. F., & Grant, D. M. (2019). Structural, mechanical and swelling characteristics of 3D scaffolds from chitosan-agarose blends. *Carbohydrate Polymers*, *204*, 59–67. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.002

Gelfert, A. (2017). The Ontology 5 Part A | 1 1. The Ontology of Models. In *Models in the Biological Sciences* (pp. 8–14).

Goldman, J. E., & Chiu, F. -C. (1984). Growth Kinetics, Cell Shape, and the Cytoskeleton of Primary Astrocyte Cultures. *Journal of Neurochemistry*, *42*(1), 175–184. https://doi.org/10.1111/j.1471-4159.1984.tb09714.x

Gómez, J. (2011). Un singular desfile de modelos. *Modelling in Science Education and Learning*, *4*, 15. https://doi.org/10.4995/msel.2011.3052

Harold F. Gómez , Michael Hucka, Sarah M. Keating, German Nudelman, Dagmar Iber, S. C. S. (2016). MOCCASIN: conversión de modelos MATLAB ODE a SBML | Bioinformática | Oxford Academic. *Bioinformatics*, *32*(12), 1905–1906. https://academic.oup.com/bioinformatics/article/32/12/1905/1743777

Jian, W. H., Wang, H. C., Kuan, C. H., Chen, M. H., Wu, H. C., Sun, J. S., & Wang, T. W. (2018). Glycosaminoglycan-based hybrid hydrogel encapsulated with polyelectrolyte complex nanoparticles for endogenous stem cell regulation in central nervous system regeneration. *Biomaterials*, *174*, 17–30. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.05.009

Kennedy, K. M., Bhaw-Luximon, A., & Jhurry, D. (2016). Cell-matrix mechanical interaction in electrospun polymeric scaffolds for tissue engineering: Implications for scaffold design and performance. *Acta Biomaterialia*, *50*, 41–55. https://doi.org/10.1016/j.actbio.2016.12.034

Kettenmann, H., & Verkhratsky, A. (2016). Glial Cells: Neuroglia. In D. W. Pfaff & N. D. Volkow (Eds.), *Neuroscience in the 21st Century: From Basic to Clinical* (pp. 547–578). Springer New York. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3474-4_19

Kharaziha, M., Fathi, M. H., & Edris, H. (2013). Tunable cellular interactions and physical properties of nanofibrous PCL-forsterite: Gelatin scaffold through sequential electrospinning. *Composites Science and Technology*, *87*, 182–188. https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2013.08.015

Lee, S. J., Zhu, W., Castro, N., & Zhang, L. G. (2016). Biomaterials and 3D printing techniques for neural tissue regeneration. In *Neural Engineering: From Advanced Biomaterials to 3D Fabrication Techniques* (pp. 1–24). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31433-4_1

Lehotzky, D., & Zupanc, G. K. H. (2019). Cellular Automata Modeling of Stem-Cell-Driven Development of Tissue in the Nervous System. *Developmental Neurobiology*, *79*(5), 497–517. https://doi.org/10.1002/dneu.22686

Lleó, A., & Lleó, L. (2008). *GRAN MANUAL DE MAGNITUDES FÍSICAS Y SUS UNIDADES* (Diaz de Sa). https://www.editdiazdesantos.com/libros/lleo-gran-manual-de-magnitudes-fisicas-y-sus-

Madhikar, P., Åström, J., Westerholm, J., & Karttunen, M. (2018). CellSim3D: GPU accelerated software for simulations of cellular growth and division in three dimensions. *Computer Physics Communications*, *232*, 206–213. https://doi.org/10.1016/j.cpc.2018.05.024

Mathey, E. K., Arthur, A., & Armati, P. J. (2010). CNS oligarchs; the rise of the oligodendrocyte in a neuron-centric culture. *The Biology of Oligodendrocytes*, 1–18. https://doi.org/10.1017/CBO9780511782121.002

Maxian, O., Mogilner, A., & Strychalski, W. (2020). Computational estimates of mechanical constraints on cell migration through the extracellular matrix Author summary. *BioRxiv.*, 1–25.

Meng, L., Liu, Q., Xue, G., Xie, T., Fan, D., & Gou, X. (2019). Development of an electromechanical testing and loading system for cell-biomaterial interaction study. *IEEE/ASME International Conference on Advanced Intelligent Mechatronics, AIM*, *2019-July*, 1635–1640. https://doi.org/10.1109/AIM.2019.8868833

Michopoulos, J. G., Iliopoulos, A. P., Steuben, J. C., Birnbaum, A. J., & Lambrakos, S. G. (2018). On the multiphysics modeling challenges for metal additive manufacturing processes. *Additive Manufacturing*, *22*(June), 784–799. https://doi.org/10.1016/j.addma.2018.06.019

Moeton, M., Stassen, O. M. J. A., Sluijs, J. A., van der Meer, V. W. N., Kluivers, L. J., van Hoorn, H., Schmidt, T., Reits, E. A. J., van Strien, M. E., & Hol, E. M. (2016). GFAP isoforms control intermediate filament network dynamics, cell morphology, and focal adhesions. *Cellular and Molecular Life Sciences*, *73*(21), 4101–4120. https://doi.org/10.1007/s00018-016-2239-5

Nieto Gómez, L. E., & Giraldo Díaz, R. (2015). Tendencies of Biotechnology, Innovation and Development in Colombia. *Luna Azul*, *41*, 348–364. https://doi.org/10.17151/luaz.2015.41.19

Ning, L., Xu, Y., Chen, X., & Schreyer, D. J. (2016). Influence of mechanical properties of alginate-based substrates on the performance of Schwann cells in culture. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, *27*(9), 898–915. https://doi.org/10.1080/09205063.2016.1170415

Olson, S. D., & Haider, M. A. (2019). A computational reaction – diffusion model for biosynthesis and linking of cartilage extracellular matrix in cell - seeded scaffolds with varying porosity. *Biomechanics and Modeling in Mechanobiology*, *18*(3), 701–716. https://doi.org/10.1007/s10237-018-01110-4

Othman, Z., Cillero Pastor, B., van Rijt, S., & Habibovic, P. (2018). Understanding interactions between biomaterials and biological systems using proteomics. In *Biomaterials* (Vol. 167, pp.

191–204). Elsevier Ltd. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.03.020
Paim, Á., Cardozo, N. S. M., Tessaro, I. C., & Pranke, P. (2018). Relevant biological processes for tissue development with stem cells and their mechanistic modeling: A review. *Mathematical Biosciences*, *301*(June 2017), 147–158. https://doi.org/10.1016/j.mbs.2018.05.007
Papadimitriou, L., Manganas, P., Ranella, A., & Stratakis, E. (2020). Biofabrication for neural tissue engineering applications. In *Materials Today Bio* (Vol. 6, p. 100043). Elsevier B.V. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2020.100043
Paul, R., Heil, P., Spatz, J. P., & Schwarz, U. S. (2008). Propagation of Mechanical Stress through the Actin Cytoskeleton toward Focal Adhesions: Model and Experiment. *Biophysical Journal*, *94*(4), 1470–1482. https://doi.org/10.1529/BIOPHYSJ.107.108688
Puvvala, B. S. K. (2018). *3-D Simulation of Multi Cells and Growth Model - A Case Study In CompuCell3D*. Osmania University, India.
Ramirez, D. A. R., & Ayala, R. del P. Q. (2016). Ingenieria De Tejidos Y Medicina Regenerativa En Colombia. In *Situación Actual De La Ingenieria De Tejidos Y Medicina Regenerativa En Colombia* (Vol. 1, Issue 1). https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/533/1/SITUACIÓN ACTUAL DE LA INGENIERIA DE TEJIDOS Y MEDICINA REGENERATIVA EN COLOMBIA.pdf
Renardy, M., Hult, C., Evans, S., Linderman, J. J., & Kirschner, D. E. (2019). Global sensitivity analysis of biological multiscale models. *Current Opinion in Biomedical Engineering*, *11*, 109–116. https://doi.org/10.1016/j.cobme.2019.09.012
Sadeghi, A., Moztarzadeh, F., & Aghazadeh Mohandesi, J. (2019). Investigating the effect of chitosan on hydrophilicity and bioactivity of conductive electrospun composite scaffold for neural tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, *121*, 625–632. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.022
Sakaguchi, D. S. (2016). Regenerative and repair strategies for the central nervous system. In *Neuroimmune Pharmacology* (pp. 799–818). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-44022-4_47
Saracino, E., Cirillo, V., Marrese, M., Guarino, V., Benfenati, V., Zamboni, R., & Ambrosio, L. (2021). Structural and functional properties of astrocytes on PCL based electrospun fibres. *Materials Science and Engineering C*, *118*, 111363. https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111363
Se, T. H. Z. T., Han, B. P. C., Han, C. M. C., & Am, J. L. (2007). Mathematical Modeling of Guided Neurite Extension in an Engineered Conduit with Multiple Concentration Gradients of Nerve Growth Factor. *Annals of Biomedical Engineering*, *35*(9), 1561–1572. https://doi.org/10.1007/s10439-007-9328-4
Sergi, P. N., & Cavalcanti-Adam, E. A. (2017). Biomaterials and computation: A strategic alliance to investigate emergent responses of neural cells. *Biomaterials Science*, *5*(4), 648–657. https://doi.org/10.1039/c6bm00871b
Sharma, A., Ph, D., Molla, S., Katti, K. S., Ph, D., Asce, M., Katti, D. R., Ph, D., & Asce, M. (2017). *Multiscale Models of Degradation and Healing of Bone Tissue Engineering Nanocomposite Scaffolds*. *7*(Md), 1–14. https://doi.org/10.1061/(ASCE)NM.2153-5477.0000133
Sipahi, R., & Zupanc, G. K. H. (2018). Stochastic cellular automata model of neurosphere growth: Roles of proliferative potential, contact inhibition, cell death, and phagocytosis. *Journal of Theoretical Biology*, *445*, 151–165. https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2018.02.025
Stéphanou, A., & Volpert, V. (2016). Hybrid Modelling in Biology: a Classification Review. *Math. Model. Nat. Phenom*, *11*(1), 37–48. https://doi.org/10.1051/mmnp/201611103
Stogsdill, J. A., & Eroglu, C. (2017). The interplay between neurons and glia in synapse development and plasticity. *Current Opinion in Neurobiology*, *42*, 1–8. https://doi.org/10.1016/j.conb.2016.09.016
Tedeschi, L. O. (2006). Assessment of the adequacy of mathematical models. *Agricultural Systems*, *89*(2–3), 225–247. https://doi.org/10.1016/j.agsy.2005.11.004
Testen, A., Kim, R., & Reissner, K. J. (2020). High-Resolution Three-Dimensional Imaging of Individual Astrocytes Using Confocal Microscopy. *Current Protocols in Neuroscience*, *91*(1), 1–22. https://doi.org/10.1002/cpns.92

Timothy J. Sego. (2019). *HYBRID KINETIC MONTE CARLO MODELS OF CELLULAR PROCESSES IN INTERACTIVE DYNAMIC MICROENVIRONMENTS* (Issue August). Purdue University by.

Van Scoy, G. K., George, E. L., Opoku Asantewaa, F., Kerns, L., Saunders, M. M., & Prieto-Langarica, A. (2017). A cellular automata model of bone formation. *Mathematical Biosciences*, *286*, 58–64. https://doi.org/10.1016/j.mbs.2017.02.001

von Bernhardi, R., Eugenín-von Bernhardi, J., Flores, B., & León, J. E. (2016). Glial cells and integrity of the nervous system. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, *949*, 1–24. https://doi.org/10.1007/978-3-319-40764-7_1

Wang, Z., Wang, H., Xiong, J., Li, J., Miao, X., Lan, X., Liu, X., Wang, W., Cai, N., & Tang, Y. (2021). Fabrication and in vitro evaluation of PCL/gelatin hierarchical scaffolds based on melt electrospinning writing and solution electrospinning for bone regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, *128*, 112287. https://doi.org/10.1016/J.MSEC.2021.112287

Yao, L., Srikanth, M., Yao, L., & Asmatulu, R. (2018). Advances in the Research of Astrocyte Function in Neural Regeneration. In *Glial Cell Engineering in Neural Regeneration* (pp. 1–18). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-02104-7_1

Zhang, S., Vijayavenkataraman, S., Lu, W. F., & Fuh, J. Y. H. (2018). A review on the use of computational methods to characterize, design, and optimize tissue engineering scaffolds, with a potential in 3D printing fabrication. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, *107*(5), 1329–1351. https://doi.org/10.1002/jbm.b.34226

Zhuang, P., Sun, A. X., An, J., Chua, C. K., & Chew, S. Y. (2017). 3D neural tissue models: From spheroids to bioprinting. *Biomaterials*, *154*, 113–133. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2017.10.002

Zupanc, Günther K.H.; Lehotzky, Dávid, T. I. (2020). The Neurosphere Simulator : An educational online tool for modeling neural stem cell behavior and tissue growth. *Developmental Biology*, *469*(January), 80–85.