



**UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR  
DE INGENIERÍA INFORMÁTICA**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA INFORMÁTICA  
INGENIERÍA SUPERIOR INFORMÁTICA**

**ESTUDIO DE UN MODELO DE DESARROLLO  
EMBRIOLÓGICO**

**Realizado por**

**JOSÉ DAVID FERNÁNDEZ RODRÍGUEZ**

**Dirigido por**

**FRANCISCO JOSÉ VICO VELA**

**Departamento  
LENGUAJES Y CIENCIAS DE LA COMPUTACIÓN**

**UNIVERSIDAD DE MÁLAGA**

**MÁLAGA, JUNIO DE 2007**





UNIVERSIDAD  
DE MÁLAGA

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR  
DE INGENIERÍA INFORMÁTICA

**UNIVERSIDAD DE MÁLAGA**

**ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA INFORMÁTICA**

**INGENIERÍA SUPERIOR INFORMÁTICA**

Reunido el tribunal examinador en el día de la fecha, constituido por:

Presidente/a Dº/Dª. \_\_\_\_\_

Secretario/a Dº/Dª. \_\_\_\_\_

Vocal Dº/Dª. \_\_\_\_\_

para juzgar el proyecto Fin de Carrera titulado:

Estudio de un modelo de desarrollo embriológico

del alumno/a Dº/Dª. Jose David Fernández Rodríguez

dirigido por Dº/Dª. Francisco José Vico Vela

ACORDÓ POR \_\_\_\_\_ OTORGAR LA CALIFICACIÓN DE \_\_\_\_\_

Y PARA QUE CONSTE, SE EXTIENDE FIRMADA POR LOS COMPARECIENTES  
DEL TRIBUNAL, LA PRESENTE DILIGENCIA.

Málaga, a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del 2007

El/La Presidente/a

El/La Secretario/a

El/La Vocal

Fdo:

Fdo:

Fdo:



# **INDICE**

1. INTRODUCCIÓN .....	9
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
1.2. ESTADO DEL PROBLEMA.....	11
1.3. APORTACIÓN REALIZADA .....	12
1.4. LA CÉLULA EN BIOLOGÍA .....	12
1.4.1. GENOMA .....	14
1.4.2. EL CITOESQUELETO.....	15
1.4.3. MIGRACIÓN CELULAR .....	17
1.5. TENSEGRIDAD .....	18
1.5.1. CÉLULA TENSEGRITAL .....	19
2. MODELO FÍSICO .....	21
2.1. SISTEMA DE MUELLES .....	21
2.2. DINAMIZACIÓN DEL MODELO .....	25
2.3. SUPERPOSICIÓN DE OBJETOS.....	28
2.3.1. MECANISMO DISEÑADO: ARMONIZACIÓN.....	31
2.4. IMPLEMENTACIÓN .....	42
3. PRIMEROS EXPERIMENTOS .....	47
3.1. INVAGINACION .....	47
3.2. ELEMENTOS TENSEGRITALES PARA UN CITOESQUELETO .....	49
3.3. PSEUDÓPODOS .....	50
3.4. MODELO CELULAR MÁS DETALLADO .....	51
3.5. MIGRACIÓN.....	52
4. MITOSIS .....	55
4.1. MITOSIS AISLADA .....	55
4.1.1. DUPLICACION DE COMPONENTES .....	56
4.1.2. CAMBIOS GEOMÉTRICOS .....	58
4.1.3. FINALIZACIÓN DE LA CITOCINESIS.....	59
4.2. MULTICELULARIDAD.....	60
4.2.1. ENVOLTURA .....	60
4.2.2. DEFORMABILIDAD CELULAR .....	62
4.2.3. MITOSIS EN SITUACIONES DE COMPRESIÓN .....	65
4.2.4. RESULTADOS .....	70
5. EXPERIMENTOS SOBRE MODELOS DE EMBRIONES.....	73
5.1. CONTROL GENÉTICO .....	73
5.2. BIOEMERGENCES .....	76
6. CONCLUSIONES .....	79
6.1. LÍNEAS DE TRABAJO ABIERTAS.....	80
7. BIBLIOGRAFÍA.....	81

## **FIGURAS**

Figura 1.1. Célula eucariota .....	13
Figura 1.2. Componentes del citoesqueleto .....	16
Figura 1.3. Transducción mecánico-metabólica .....	16
Figura 1.4. Esquema del citoesqueleto en la lamelipodia .....	17
Figura 1.5. Estructura tensegrital .....	18
Figura 1.6. Esquema de célula tensegrital.....	19
Figura 2.1. Caracterización de una partícula.....	23
Figura 2.2. Caracterización de un muelle.....	23
Figura 2.3. Fuerzas ejercidas por un muelle.....	24
Figura 2.4. Prevención de superposición .....	29
Figura 2.5. Inserción de muelles contra la superposición .....	30
Figura 2.6. Choque inelástico.....	31
Figura 2.7. Vector tangente antihorario .....	32
Figura 2.8. Vector normal interior .....	33
Figura 2.9. Vector de normal de contacto .....	33
Figura 2.10. Ventajas de la normal de contacto .....	34
Figura 2.11. Vector de posición relativa .....	34
Figura 2.12. Giro de los vectores .....	35
Figura 2.13. Penalización de velocidades .....	36
Figura 2.14. Velocidades y aceleraciones relativas de aproximación.....	37
Figura 2.15. Armonización de movimientos (1) .....	39
Figura 2.16. Armonización de movimientos (2) .....	39
Figura 2.17. Linealización de la armonización de movimientos.....	41
Figura 2.18. Código de colores .....	45
Figura 3.1. Un proceso de invaginación embrionario .....	47
Figura 3.2. Modelo simplificado de tejido epitelial .....	48
Figura 3.3. Simulaciones de invaginación .....	48
Figura 3.4. Elementos tensegritales para un citoesqueleto.....	50
Figura 3.5. Formación de pseudópodos .....	50
Figura 3.6. Modelo celular detallado .....	51
Figura 3.7. Detalle y modelo de microtúbulos arrollados .....	52
Figura 3.8. Comparación de una simulación con un espermatozoide de <i>Ascaris suum</i> .....	53
Figura 3.9. Comparación de una simulación con un fibroblasto.....	53
Figura 4.1. Célula antes de la mitosis.....	55
Figura 4.2. Célula tras duplicar componentes .....	56
Figura 4.3. Modelado de estructuras citoesqueléticas de la mitosis.....	57
Figura 4.4. Cambios geométricos en el modelo de mitosis.....	58
Figura 4.5. Modificación del grafo.....	60
Figura 4.6. Modelos de envoltura para embriones .....	61
Figura 4.7. Inversión del sentido de detección de superposición.....	62
Figura 4.8. Deformabilidad celular .....	63
Figura 4.9. Desnaturalización del modelo celular .....	65
Figura 4.10. Superposición por asimetría.....	66
Figura 4.11. Desnaturalización por salida de centrosoma.....	66

Figura 4.12. Muelles de membrana auxiliares .....	67
Figura 4.13. Partículas del estrangulamiento citocinético.....	68
Figura 4.14. Efecto de estrangulamiento citocinético .....	69
Figura 4.15. Acortamiento del canal citocinético .....	70
Figura 4.16. Instantes de una simulación .....	71
Figura 4.17. Perfil de rendimiento de la simulación .....	72
Figura 5.1. Genoma secuencial .....	74
Figura 5.2. Gen de mitosis .....	75
Figura 5.3. Simulaciones con mitosis asimétrica .....	76
Figura 5.4. Procesamiento de imágenes .....	77
Figura 5.5. Segmentación basada en nuestro modelo .....	78

## **CUADROS**

Cuadro 2.1. Pseudocódigo para simulación con estabilización del sistema.....	25
Cuadro 2.2. Ecuaciones de giro.....	35
Cuadro 2.3. Ecuaciones de armonización .....	38
Cuadro 2.4. Ecuaciones de linealización de la armonización .....	41
Cuadro 2.5. Pseudocódigo general de la simulación.....	44
Cuadro 4.1. Ecuaciones para el efecto de estrangulamiento citocinético .....	69
Cuadro 5.1. Pseudocódigo de segmentación .....	78





# **1. INTRODUCCIÓN**

## **1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La comunidad científica está en proceso de producir modelos informáticos de sistemas biológicos adecuados como herramientas auxiliares a la biología teórica, y de un modo más general a la investigación del fenómeno que constituye la vida. Dada la extrema complejidad de la vida desde la visión a vista de pájaro que constituye la ecología, hasta los detalles concernientes a la biología molecular, los distintos modelos informáticos usados en cada área han de construirse necesariamente usando un elevado nivel de abstracción que sintetice las características claves que se quieren analizar. Así, estos modelos pueden comprender técnicas tan dispares como sistemas de ecuaciones diferenciales que describen las interacciones químicas de una red de rutas metabólicas, modelos estocásticos de redes de regulación genética o modelos físicos simplificados de tejidos vivos (véase [18] y [26]).

Circunscribiéndonos a un área cercana al objetivo de este proyecto, uno de los muchos problemas abiertos en las ciencias biológicas es el de la multicelularidad, que abarca toda una serie de cuestiones: su evolución a partir de organismos eucariotas unicelulares, la fijación del plan corporal (*body plan*) en etapas tempranas de la evolución, el desarrollo de individuos a partir de cigotos o esporas (con todas las cuestiones asociadas: generación de asimetrías, morfogénesis, organogénesis, etc.), los mecanismos regulatorios que coordinan células, tejidos y órganos...

Tradicionalmente, la forma en que se realiza la investigación en biología celular ha dirigido el pensamiento científico sobre la dinámica de los seres vivos: como los protocolos de investigación suelen requerir pasos que destruyen la organización a nivel celular o de tejido, las teorías biológicas solían tener en cuenta sólo aspectos puramente bioquímicos de los procesos que intentaban describir [9]. Como botón de muestra, destaquemos que ciertamente el desarrollo de un individuo a partir de un cigoto está determinado por su genoma, pero para comprender plenamente el proceso por el cual esto ocurre, es insuficiente conocer cuáles genes, cuándo y cómo se expresan durante el desarrollo embrionario (enfoque primado en las primeras décadas tras el establecimiento del dogma central de la biología molecular: el *ADN* se transcribe en *ARNm*, que a su vez se traduce en proteínas), sino que hay que articular un

modelo coherente de la interacción del genoma con el marco físico que constituyen las células y tejidos del propio embrión [13].

Este hecho se ha puesto de manifiesto especialmente tras la constatación de la asombrosamente pequeña cantidad de genes (del orden de cientos de miles) que poseen los organismos multicelulares avanzados, entre ellos los vertebrados. A primera vista puede parecer que cien mil genes constituyen una cantidad respetable de información genética, pero no si nos paramos a pensar en la tremenda complejidad del funcionamiento y sobre todo del desarrollo de un organismo multicelular, en el que deben de coordinarse espacial y temporalmente una extremadamente compleja serie de eventos. Esta paradoja se resuelve mediante dos vías:

-No es adecuado visualizar el genoma como una capa de control en la que cada gen regula un aspecto específico del organismo y su nivel de expresión queda regulado individualmente, sino como una compleja red de regulación, en la que el nivel de expresión de cada gen se determina conjuntamente mediante los productos de la expresión de otros genes (que pueden promover o inhibir dicha expresión) y procesos de retroalimentación en rutas metabólicas. Así, el genoma controla el organismo no exactamente mediante la expresión de genes individuales que influyen en rasgos específicos del individuo, sino mediante patrones de expresión de múltiples genes.

-Como se comentó anteriormente, para entender el desarrollo embrionario no se puede prescindir de la mecánica de las células y tejidos del embrión. Se está acumulando evidencia creciente sobre el hecho de que el marco físico del desarrollo embrionario es determinante en la producción de seres complejos (por ejemplo, el hecho de que en una región las células proliferen más que en otras, o que un determinado subgrupo tienda a desplazarse sobre un rastro de señalizaciones químicas, todo ello contribuye a que el organismo en desarrollo adquiera formas complejas), usando una cantidad de genes bastante pequeña en comparación con la complejidad resultante. Dicho de otro modo, el entorno físico puede modular la expresión genética para producir desarrollos embrionarios fantásticamente complicados en comparación a la cantidad de información genética portada por el organismo [22].

El objetivo de este proyecto es construir un nuevo modelo biológico que sirva como marco de experimentación en embriología y vida artificial, es decir, que sirva como base para plantear simulaciones en las que se pongan a prueba hipótesis o pruebas de concepto sobre el desarrollo embriológico y la vida artificial.

## **1.2. ESTADO DEL PROBLEMA**

Una vez introducida la problemática de la multicelularidad, retomemos la discusión sobre los modelos biológicos. El nivel de detalle es un factor determinante para medir lo adecuado que es un modelo:

- un modelado demasiado detallado desemboca rápida e inevitablemente en intratabilidad computacional, así como en dificultad para extraer conocimiento relevante de la simulación (por ejemplo, simulando al más bajo nivel la dinámica de las moléculas de agua, sería difícil extraer la forma macroscópica de un bloque de hielo flotante, o el curso de su deriva sobre el líquido).
- un modelado demasiado abstracto provoca que las simulaciones pierdan rápidamente poder predictivo y explicativo, debido a que para que un modelo prediga de forma veraz fenómenos emergentes debe tener en cuenta los procesos que interactúan a bajo nivel para producir los comportamientos no esperados.

Así, para estudiar el desarrollo embrionario se pueden abstraer casi todos los procesos bioquímicos del embrión, quedándonos solamente con una serie de conceptos clave:

- El genoma del individuo.
- Las señales bioquímicas (morfogenes, factores de crecimiento, hormonas reguladoras) que influyen en la red genética de cada célula del organismo.
- El modelo físico en el que se produce el desarrollo.

Actualmente existen toda una serie de modelos propuestos tanto para la representación del genoma como de la señalización bioquímica que éste lleva a cabo para producir cambios morfogénicos en el embrión, pero los modelos físicos subyacentes suelen ser comparativamente toscos, y en consecuencia fallan en proporcionar una adecuada modulación de la expresión genética. Suelen basarse en rejillas (cuadrículas o no) en las que cada posición de la rejilla puede estar o no ocupada por una célula, que a su vez puede moverse,

dividirse o influir en células vecinas [4]. Estos modelos, aunque válidos para experimentos básicos (por ejemplo, establecimiento de ejes de simetría [21]), son demasiado abstractos para describir adecuadamente comportamientos tales como la gastrulación, en el que las fuerzas ejercidas por células o epitelios celulares producen movimientos irreproducibles con esquemas físicos tan abstractos.

### **1.3. APORTACIÓN REALIZADA**

Afinando la descripción del proyecto dada anteriormente, lo que pretendemos es, principalmente, desarrollar un sustrato físico lo bastante abstracto como para ser computacionalmente viable y adecuadamente descriptivo, pero a la vez lo bastante detallado como para proporcionar una mayor riqueza a los modelos embriológicos actuales.

La célula es la unidad organizativa principal en la biología, y las características de los seres multicelulares son rasgos emergentes de la interacción de sus células constituyentes, por lo que nuestro esfuerzo se centrará en obtener un modelo de célula suficientemente abstracto pero que no obstante recoja las características físicas esenciales que permitan al modelo describir el sustrato físico de los procesos de desarrollo multicelular.

### **1.4. LA CÉLULA EN BIOLOGÍA**

Daremos ahora una breve descripción de la célula que nos servirá de punto de partida para explicar con más detalle nuestro modelado.

Nos centraremos en la célula eucariota animal (**Figura 1.1**). Estas células tienen un alto nivel de estructura visible al microscopio:

- una membrana externa delimita su volumen y protege la actividad metabólica del medio extracelular. El medio interno se denomina citosol.
- múltiples membranas y subcompartimentos celulares internos (RE liso, RE rugoso, sus respectivos lúmenes, el aparato de Golgi, los peroxisomas, los lisosomas). En general, estos orgánulos son necesarios debido a que las células eucariotas son enormes (en términos bioquímicos) y requieren una alta compartimentación para

aumentar superficies membranosas (en las que ocurren gran parte de los pasos de las rutas metabólicas) y separar y clasificar los productos del metabolismo celular.

-mitocondrias que transforman la glucosa en ATP, la “gasolina” de los procesos metabólicos.

-un núcleo que contiene el *ADN* que porta la información genética y lo protege de los metabolitos que pudieran dañarlo.

-un citoesqueleto compuesto de redes de tres tipos de fibras: microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios. El citoesqueleto juega un papel clave en la organización de las estructuras intracelulares, regulando su disposición, orientación, y movimiento interno.



**Figura 1.1. Célula eucariota**

Extraído de [http://www.flatrock.org.nz/topics/science/wizard\\_in\\_our\\_genes.htm](http://www.flatrock.org.nz/topics/science/wizard_in_our_genes.htm)

**Se puede apreciar el alto grado de complejidad en su estructura. El citoesqueleto (no visible) juega un papel fundamental en la organización de los distintos compartimentos.**

En el caso de los organismos multicelulares, las características mecánicas de los distintos tejidos del organismo (hueso, tejido conjuntivo, tendones, músculos, etc.) quedan determinadas tanto por la morfología y propiedades de las células que los componen como por las características de la *matriz extracelular*, que se compone de proteínas (que pueden estar altamente modificadas, como en el caso de las glucoproteínas) segregadas por las células del tejido.

### 1.4.1. GENOMA

El genoma de los eucariotas presenta asimismo una organización distintiva que los caracteriza. La metáfora “un gen codifica para una proteína” es demasiado burda y no se ajusta a los hechos cuando intentamos comprender el funcionamiento celular. Los genes pueden tener como producto final proteínas o ribozimas (moléculas de ARN con actividad metabólica). Además, se componen de regiones codificantes (exones) separadas por otras no codificantes (intrones), de modo que al cortar y pegar las secuencias codificantes (*alternative splicing*) se pueden producir gran cantidad de proteínas distintas a partir de un mismo gen. Además, las tasas de transcripción (esto es, el número de veces que se expresa un gen) aparecen reguladas por los factores promotores e inhibidores, sustancias (generalmente proteínas) que regulan los niveles de expresión de distintos genes. Dichas sustancias son producidas por rutas metabólicas y por otros genes, de forma que la metáfora más adecuada al hablar del genoma en acción es la de una *red de regulación genética*, en la que cada nodo es un gen y cada arista define la forma en que el nivel de expresión de un gen afecta a otros genes. Este concepto de red de regulación nos permite modelar múltiples aspectos de la célula eucariota:

- la homeostasis (es decir, tendencia a mantener estabilidad interna ante un medio exterior cambiante), como resultado de procesos de retroalimentación en que excesos o carencias de metabolitos provocan un cambio en los niveles de expresión de distintos genes cuyos productos tienden a restaurar el equilibrio.
- el ciclo de división celular [30]: el proceso de división de la célula eucariota está altamente regulado. En el caso de los organismos multicelulares, la red de regulación genética asegura que las células se reproduzcan ordenadamente (lo contrario sería el cáncer).
- la diferenciación celular: para los organismos multicelulares, se postula que cuando una célula madre se diferencia en una célula madura, el proceso es el resultado de que el estado de la red de regulación genética evolucione, activando genes que producen las estructuras de la célula madura e inactivando los necesarios en la célula madre (por ejemplo, cuando un neuroblasto se diferencia en una neurona, debe desactivar la maquinaria de división y activar los genes que regulan la construcción de dendritas y axones).
- en general, el comportamiento celular ante estímulos externos. Esto es especialmente crítico durante el desarrollo embrionario: células de distintas capas embrionarias

producen señales morfogenéticas (gradientes químicos) a los que otras determinadas células deben responder variando sus propiedades mecánicas, segregando matriz extracelular que cambie las propiedades mecánicas del tejido, o migrando estimuladas por el gradiente. Todos estos comportamientos son los que producen el alto grado de organización espacial que el embrión construye y que sirve como marco para desarrollar el individuo multicelular.

### **1.4.2. EL CITOESQUELETO**

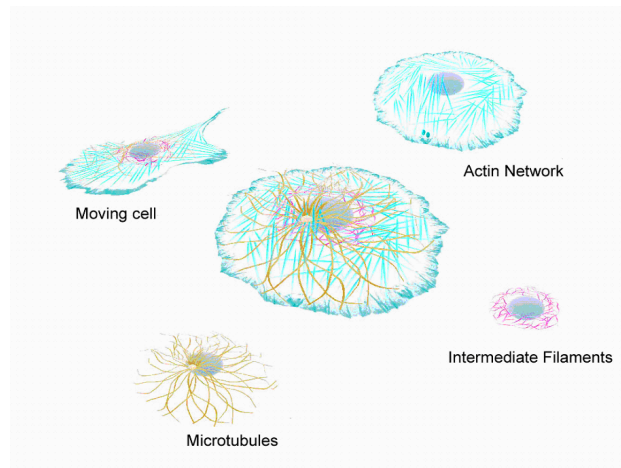
El citoesqueleto (**Figura 1.2**) es vital en múltiples procesos celulares:

-los microfilamentos son el andamiaje mecánico en los procesos de formación y absorción de vesículas intracelulares, de endocitosis y de exocitosis. Son polímeros orgánicos que toman la forma de fibras poco rígidas organizadas en una red. También constituyen el principal componente del córtex, la región del citoesqueleto que proporciona soporte y resistencia a la membrana celular.

-los microtúbulos son de naturaleza parecida a los microfilamentos, pero más gruesos, huecos y más rígidos. La red de microtúbulos es organizada por un orgánulo adyacente al núcleo, el centrosoma. Los distintos orgánulos se organizan espacialmente moviéndose entre los microtúbulos, que determinan su disposición dentro de la célula. Muchas rutas metabólicas se organizan mediante los microtúbulos, y además existen proteínas que actúan como motores que desplazan los orgánulos y originan fuerzas en el seno del citoesqueleto. El alto nivel de organización de la célula eucariota es deudor por tanto de su citoesqueleto.

-los filamentos intermedios son, por el momento, poco comprendidos, aunque se cree que ayudan a fijar y dar consistencia a la morfología celular.

En general, el citoesqueleto es responsable de los cambios activos de forma de las células eucariotas: los axones neuronales tienen como andamiaje un haz de microtúbulos, de forma similar a los microvellos (*microvilli*) de las células de la pared intestinal, los pseudópodos se forman por crecimiento coordinado de microtúbulos y redes de microfilamentos, etc.

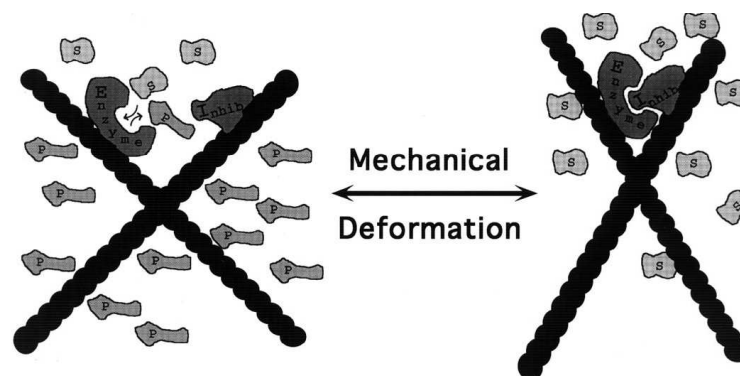


**Figura 1.2. Componentes del citoesqueleto**

Extraído de [http://cellix.imolbio.oeaw.ac.at/video\\_tour\\_1.html](http://cellix.imolbio.oeaw.ac.at/video_tour_1.html)

Se puede apreciar la disposición de las distintas fibras constituyentes del citoesqueleto: microfilamentos, microtúbulos y filamentos intermedios. Cada una tiene una serie de funciones específicas y presenta patrones espaciales característicos.

Otra función importante del citoesqueleto es la de servir de sensor de fuerzas mecánicas para la célula. Así, por ejemplo, en una célula sometida a un fuerte estiramiento, la geometría de las redes de filamentos del citoesqueleto cambian, y proteínas acopladas a las fibras pueden detectar dicho cambio y modificar factores que afecten a la red de regulación genética, reaccionando así la célula a la fuerza impuesta [10] [11]. Esto es especialmente importante durante el desarrollo embrionario, cuando las células deben reaccionar a cambios mecánicos en su entorno de modo preciso para continuar con el desarrollo.



**Figura 1.3. Transducción mecánico-metabólica**

Extraído de [10]. Al aplicarse una fuerza que deforma la célula, el cambio mecánico en el citoesqueleto puede modular las reacciones metabólicas mediadas por enzimas ligadas al mismo.



### 1.4.3. MIGRACIÓN CELULAR

Otro comportamiento celular importante es la migración por lamelipodia [15], que son un tipo especial de pseudópodo muy ancho y aplanado. En este tipo de pseudópodo, se forman redes de microfilamentos en forma de malla que crecen protusionando el córtex celular. Esta red de microfilamentos se caracteriza por su modo de crecimiento: continuamente se polimeriza en el borde de avance y se despolimeriza en el otro extremo.

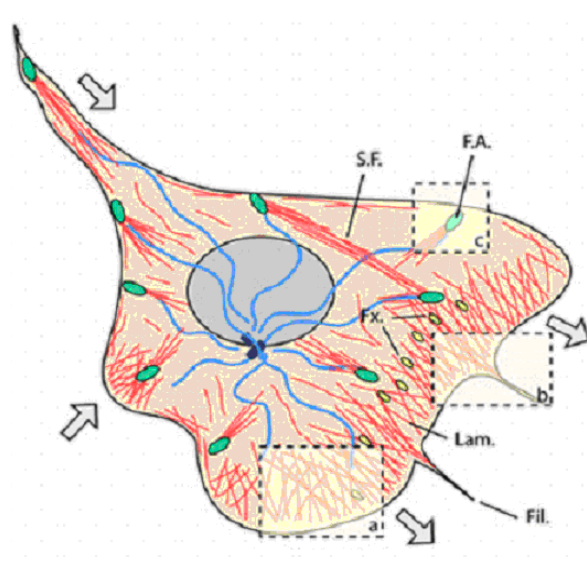


Figura 1.4. Esquema del citoesqueleto en la lamelipodia

Extraído de [http://cellix.imolbio.oeaw.ac.at/video\\_tour\\_2.html](http://cellix.imolbio.oeaw.ac.at/video_tour_2.html)

**La lamelipodia es una estructura plana y ancha formada por una malla de microfilamentos, que crece y hace avanzar la célula. Las adherencias focales son puntos en los que haces de microfilamentos se anclan a través de complejos proteínicos al sustrato por el que se mueve la célula. Los microtúbulos proporcionan puntos de apoyo que se mueven de forma relativamente libre por la célula**

Es importante notar que, aunque el mecanismo biológico subyacente es similar en la mayoría de las células, la forma de locomoción mediante lamelipodia varía enormemente, según

- la adhesividad de la célula al sustrato, o más apropiadamente a ciertas regiones del sustrato. La célula desarrolla adherencias focales (complejos proteínicos que anclan partes del citoesqueleto al sustrato en el que se mueve la célula), que permanecen ancladas al sustrato mientras la célula se mueve y eventualmente quedan desplazadas a la parte trasera de la célula, retardando el movimiento hasta que las lamelipodia desarrollan suficiente fuerza mecánica como para que se desensamblen. Las adherencias focales son importantes principalmente en esta última fase.

- el nivel de organización de la red de microfilamentos. Redes altamente polarizadas y organizadas son típicas de las células con alta nivel de motilidad (a la vez que en éstas

son raras las adhesiones focales), mientras que redes altamente aleatorias son más propias de células de tejido conjuntivo, como los fibroblastos (en los que se forman muchas pequeñas protusiones con un amplio rango de direcciones, la mayoría de las cuales fallan en fijarse y hacer avanzar a la célula).

## 1.5. TENSEGRIDAD

El concepto de tensegridad es difícil de definir de modo exacto. En un principio lo acuñó el arquitecto Fuller para describir algunos trabajos de su alumno Snelson [27], en los que una red compuesta de barras conectadas por cables es capaz de soportar cargas estructurales a pesar de que los elementos capaces de resistir fuerzas compresivas (las barras) no están conectados entre sí directamente sino a través de cables. Es importante que los cables estén tensados, de lo contrario la estructura es incapaz de cumplir lo anterior.



Figura 1.5. Estructura tensegral

**Extraído de [27]. Una de las propiedades más llamativas de las estructuras tensegrales es la maximización de la rigidez con un mínimo de la masa, y carencia de una estructura sólida continua.**

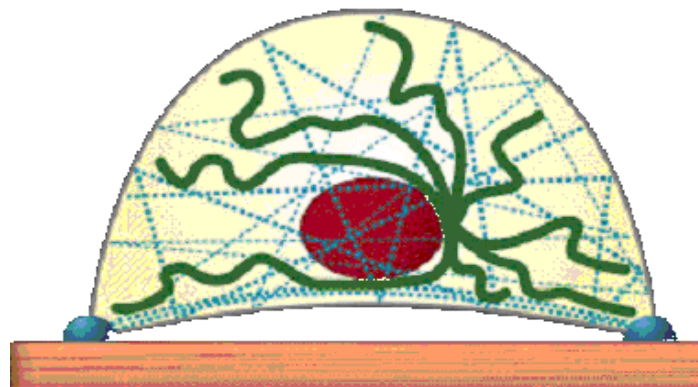
Adecuadamente adaptado a distintas áreas, el concepto de tensegridad se ha revelado fructífero para modelar múltiples sistemas. La clave está en que, aún en estado de reposo, la tensegridad posee una cierta energía interna derivada de la tensión de los cables (y la consecuente compresión de las barras). Este hecho cambia la respuesta mecánica del sistema de formas insospechadas (emergentes). Así, por ejemplo, la columna vertebral humana se ha considerado tradicionalmente como una estructura que soporta fuerzas puramente compresivas (una suerte de andamiaje), pero reinterpretándola como una estructura tensegral en la que músculos y tejido conjuntivo (elementos en tensión) conectan las vértebras

(componentes en compresión) se describe de forma más apropiada y exacta su dinámica [29], que de hecho es más flexible y soporta mayores cargas que las que podría soportar un elemento puramente compresivo como antes se pensaba.

Por otra parte, el mismo hecho de almacenar energía hace valiosas las estructuras tensegritales como modelos de sistemas biológicos, ya que la alteración de la conectividad de la red (por ejemplo, que un cable se suelte) o en las longitudes de cables o barras provoca un cambio de geometría en el que se libera energía cinética.

### 1.5.1. CÉLULA TENSEGRITAL

El trabajo desarrollado por Ingber acumula evidencia que permite visualizar la célula como una estructura tensegrital. En ella, los microtúbulos actúan como elementos compresivos, mientras que los microfilamentos actúan como elementos de tensión. Sobre el paradigma tensegrital se ha modelado la respuesta mecánica de células aisladas [8], de tejidos [13] y del sistema locomotor [29]. Así, por ejemplo, se ha demostrado que los microtúbulos del citoesqueleto deben buena parte de su resistencia a la compresión al refuerzo causado por microfilamentos tensados y atados a su estructura.



**Figura 1.6. Esquema de célula tensegrital**

**Extraído de [7]. Los microfilamentos, relativamente menos rígidos que los microtúbulos, actúan como tensores, mientras que los últimos quedan comprimidos, dando al conjunto del citoesqueleto características tensegritales.**

Es por tanto deseable que un sistema que pretenda modelar el desarrollo embrionario sea lo suficientemente rico como para incluir o por lo menos permitir que se formen estructuras tensegritales.



## **2. MODELO FÍSICO**

Una vez introducida la problemática, pasaremos a describir el modelo físico utilizado. Nuestro objetivo es imitar dentro de ciertos límites el comportamiento mecánico celular, abriendo simultáneamente la posibilidad de usar o generar estructuras tensegritales. Las estructuras tensegritales clásicas se modelan a partir de cables y barras cuya modelización y simulación requiere resolver la dinámica del sólido rígido. Si bien en un primer momento se exploró la posibilidad de usar un modelo de este tipo, se descartó por varias razones:

- la complejidad inherente de la cinemática del sólido rígido es elevada
- alto coste computacional
- inadecuación para modelar los aspectos viscoelásticos de la célula.

### **2.1. SISTEMA DE MUELLES**

Una simplificación natural y muy fructífera, como hemos podido comprobar durante el desarrollo del proyecto, es la de considerar no estructuras tensegritales de cables y barras, sino de muelles en tensión y compresión, respectivamente. Esto permite que el planteamiento del problema sea más sencillo, y la solución numérica menos costosa en términos computacionales (salvo que los muelles sean muy rígidos). Así, en una primera aproximación, nuestro modelo corresponderá a una simulación de la física newtoniana de un conjunto de partículas conectadas entre sí por medio de muelles ideales. De este modo, en esta primera aproximación nuestro modelo será un grafo  $G=\{N,A\}$ , donde:

- $N$  es el conjunto de nodos o vértices. Los nodos se caracterizan como partículas puntuales, y como tales se les atribuye un vector de posición y otro de velocidad. Asimismo, todos poseen masa unitaria, con lo que la aceleración que sufra cada uno será idéntica a la fuerza aplicada. Esta simplificación tomada en primera instancia no restringe en principio las posibilidades del modelo, pero de todas formas sería fácil modificar el modelo para especificar la masa, si esto fuera necesario posteriormente.

- $A$  es el conjunto de aristas. Cada arista es un muelle ideal que obedece la ley de Hooke

$$\vec{F} = -k \cdot \vec{X} \quad (2.1)$$

de modo que se caracteriza por su longitud real, que es la distancia entre las posiciones de los dos nodos que definen la arista, su longitud en reposo (aquella en que la energía potencial es 0), y su rigidez, que se define mediante la constante  $k$  de la ecuación de Hooke. La arista es dirigida, de modo que el par de nodos extremos es ordenado.

Así pues, en nuestras simulaciones los muelles ejercerán en cada momento fuerzas sobre las partículas situadas en sus extremos, que a su vez se traducirán en aceleración que modificará la velocidad de las partículas, que a su vez variará su posición, lo que finalmente afectará a las longitudes de los muelles, alterando el juego de fuerzas que actúa sobre cada partícula. De este modo nuestro sistema es dinámico. No obstante, si la energía inicial del sistema (ya sea debida a velocidades iniciales no nulas, o a longitudes reales iniciales distintas a las longitudes en reposo de los muelles) no se disipa por algún mecanismo, el sistema nunca alcanzará un estado de reposo. Dotando a las partículas de una fricción o viscosidad, manifestada como una fuerza sobre cada partícula opuesta a su velocidad

$$\vec{F} = -c \cdot \vec{V} \quad (2.2)$$

conseguiremos dicha disipación de energía, y de hecho podremos visualizar nuestro grafo como un sistema que evoluciona en el tiempo minimizando su energía. En una primera aproximación la amortiguación será constante para todas las partículas, pero si es necesario podremos hacerla específica para cada partícula, o para diferentes regiones del espacio, por ejemplo.

Los modelos desarrollados durante el proyecto son 2D, con el fin de ahorrar costo computacional y complejidad en algunos de los problemas que habremos de resolver más adelante. No obstante, no hay problema en migrar a 3D en el futuro cuando así se estime necesario, siendo trivial la inclusión de la tercera dimensión en el modelo en casi todos sus aspectos.

Formulándolo matemáticamente, tendremos un modelo definido por una serie de constantes, variables (en el tiempo) y restricciones:

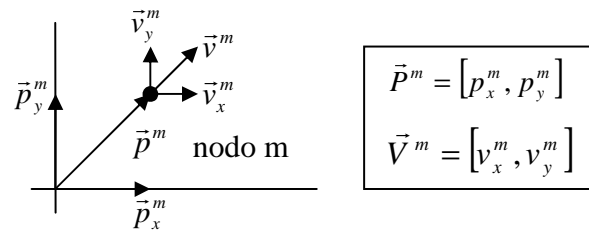


Figura 2.1. Caracterización de una partícula

Una partícula  $m$  se caracteriza por tener masa unitaria, y una posición  $\vec{P}^m$  y velocidad  $\vec{V}^m$  definidas.

- variables de la partícula  $m$ : vectores de posición  $\vec{P}^m$  y velocidad  $\vec{V}^m$
- constante de amortiguamiento de los muelles:  $c$ .

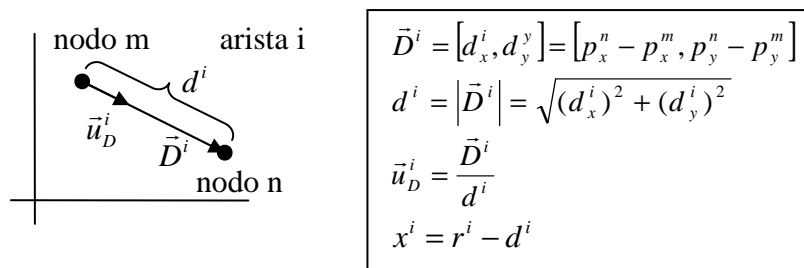


Figura 2.2. Caracterización de un muelle

Un muelle  $i$  se caracteriza por carecer de masa y poseer una longitud en reposo  $r^i$  y una rigidez  $k^i$ , dos partículas  $m$  y  $n$  en los extremos inicial y final, respectivamente, y un vector de dirección  $\vec{D}^i$  definido por las posiciones de dichas partículas

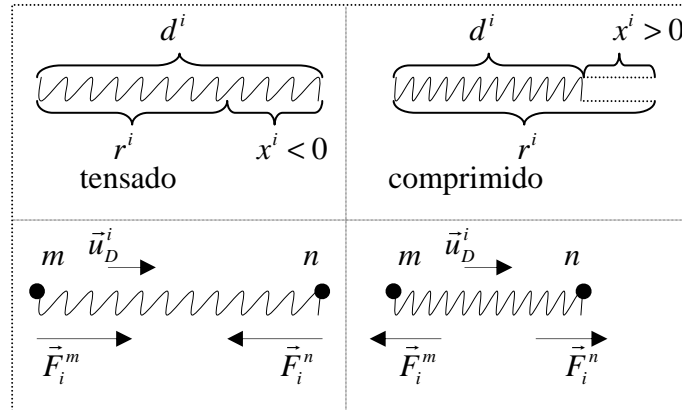
- constantes del muelle  $i$ : longitud en reposo  $r^i$ , rigidez  $k^i$ .
- vector  $\vec{D}^i$  de dirección del muelle  $i$ , cuyas partículas son  $(m,n)$ , en los extremos inicial y final respectivamente. A partir de éste, definimos el vector unitario de misma dirección  $\vec{u}_D^i$
- longitud real del muelle  $d^i$  para el muelle  $i$ , cuyos extremos son las partículas  $m$  y  $n$ .
- diferencia  $x^i$  entre la longitud en reposo y la longitud real del muelle  $i$ .

$$\vec{F}_i^m = -\vec{u}_D^i \cdot k^i \cdot x^i = [F_{xi}^m, F_{yi}^m] \quad (2.3)$$

$$\vec{F}_i^n = \vec{u}_D^i \cdot k^i \cdot x^i = [F_{xi}^n, F_{yi}^n] \quad (2.4)$$

-fuerzas  $\vec{F}_i^m$  y  $\vec{F}_i^n$  (**Figura 2.3**) ejercidas por el muelle  $i$  en las partículas  $(m, n)$  de sus extremos inicial y final respectivamente. Para la fuerza en la partícula del extremo

final invertimos el signo debido a que los cálculos se hacen con un sistema de referencia convencional para la partícula del extremo inicial, de modo que para la partícula del extremo final la fuerza está invertida.



**Figura 2.3. Fuerzas ejercidas por un muelle**

**Las fuerzas ejercidas por el muelle  $i$  sobre las partículas  $m$  y  $n$  de sus extremos son proporcionales a la perturbación  $x^i$  de la longitud en reposo, y de signo contrario a ésta.**

$$\vec{F}^m = \sum_{\forall i} \vec{F}_i^m - c \cdot \vec{V}^m \quad (2.5)$$

-fuerza  $\vec{F}^m$  sufrida por la partícula  $m$ , donde la fuerza que ejerce un muelle sobre una partícula que no es ninguno de sus extremos es nula, donde tenemos en cuenta tanto las fuerzas ejercidas por los muelles como las de amortiguamiento.

-aceleración  $\vec{A}^m = \vec{F}^m = [a_x^m, a_y^m]$  sufrida por la partícula  $m$ , habida cuenta que las partículas tienen masa unitaria.

Una vez caracterizado matemáticamente el modelo, y teniendo en cuenta que para toda partícula  $m$   $\dot{\vec{P}}^m = \vec{V}^m$  y que  $\dot{\vec{V}}^m = \vec{A}^m$  son el conjunto de ecuaciones diferenciales que describen la dinámica del sistema, podemos simular la evolución temporal de un sistema de muelles con cualquier método de integración numérica de ecuaciones diferenciales de primer orden.

Una cuestión importante es la duración de la simulación: Las simulaciones físicas nos interesan en cuanto se produzcan cambios geométricos en el sistema, esto es, en las posiciones de las partículas (en otras palabras, que se establezca el sistema). Es deseable





tipo de variaciones instantáneas producen inestabilidades en el sistema que pueden conducir a comportamientos no deseados. Esto se debe a que se puede introducir en el sistema de manera instantánea la cantidad de energía suficiente para que se produzca un cambio geométrico indeseable.

No obstante, nuestro modelo físico debe servir como sustrato para diseñar agentes (modelos de comportamiento celular) que interaccionen con su entorno físico, no que se limiten a seguir una configuración predeterminada. La idea es que se puedan realizar variaciones en los parámetros del grafo de muelles que engendren cambios geométricos en el mismo. A grandes rasgos, se consideraron las siguientes opciones:

1. cambio y perturbaciones de las longitudes en reposo  $r^i$  de los muelles.
2. cambio y perturbaciones de las constantes de rigidez  $k^i$  de los muelles.
3. cambios y perturbaciones en las posiciones, velocidades y aceleraciones de las partículas.
4. cambios en el grafo de muelles (cambio de conectividad, adición o eliminación de partículas y/o muelles).

La opción 2 se descartó eventualmente debido a que ya se obtenían buenos resultados con la opción 1 y a que complicaba innecesariamente el diseño de los modelos.

Las opciones 1 y 3 se pueden describir como procesos de perturbación, de modo que de forma gradual o instantánea se modifican algunos parámetros del modelo. Se contemplaron en dos modalidades de cambio:

- cambios discretos: presentan los problemas de inestabilidad descritos anteriormente.
- cambios continuos: Disminuyen (aunque no eliminan) los riesgos de inestabilidades que presentan los cambios discretos.

Para los cambios en las partículas, se introducen parámetros en la simulación con los siguientes efectos:

$$\vec{V}^m(t) = \begin{cases} \dot{\vec{P}}(t) & \text{si } t \notin VF_m \\ \vec{V}_F^m & \text{si } t \in VF_m \end{cases} \quad (2.7)$$

$$\vec{A}^m(t) = \begin{cases} \dot{\vec{V}}(t) & \text{si } t \notin VF_m \\ 0 & \text{si } t \in VF_m \end{cases} \quad (2.8)$$

-aplicar a las partículas velocidades forzadas uniformes (que pueden ser nulas, para inmovilizar la partícula) durante periodos acotados de tiempo. Es decir, aplicar a las partículas una cinemática uniforme sin tener en cuenta las leyes newtonianas del movimiento. Esto se implementa modificando la integración numérica en el intervalo forzado  $VF_m$ , durante el cual se asigna directamente la velocidad forzada  $\vec{V}_F^m$  y no se aplica aceleración alguna.

$$\vec{A}^m(t) = \begin{cases} \dot{\vec{V}}(t) & \text{si } t \notin AP_m \\ \dot{\vec{V}}(t) + \vec{A}_F^m & \text{si } t \in AP_m \end{cases} \quad (2.9)$$

-aplicar a las partículas perturbaciones en su aceleración durante periodos acotados de tiempo, sumadas a las aceleraciones newtonianas del sistema. Esto se implementa modificando la integración numérica en el intervalo perturbado  $AP_m$ , durante el cual se suma una perturbación  $\vec{A}_F^m$  a la aceleración.

Para los cambios en las longitudes en reposo de los muelles, hace falta introducir en el modelo un nuevo conjunto de ecuaciones diferenciales, una por cada muelle, que describan la evolución temporal de sus longitudes en reposo:  $\dot{r}^i = f(t, sistema)$ . Así podemos implementar toda una variedad de efectos físicos, que introduciremos más adelante cuando sea necesario. Mientras tanto, asumiremos que salvo perturbación explícita las ecuaciones describen  $r^i$  estáticas, esto es, que por defecto  $\dot{r}^i = 0$ . Las modificaciones en las  $r^i$  se implementan entonces mediante el sencillo expediente de aplicar perturbaciones en sus respectivas derivadas  $\dot{r}^i$  (es decir, sumarles determinados coeficientes) durante periodos acotados de tiempo. Naturalmente, esta flexibilidad añadida tiene un coste: la simulación será computacionalmente más costosa debido a las variables extra que tendrá que manejar el integrador numérico, incluso aunque no se varíen las  $r^i$ .

En cuanto a la opción 4, es de naturaleza puramente discreta, y además sólo cabe implementarla mediante cambios discretos, debido a que modificar el grafo de muelles comporta modificar los parámetros de la simulación así como la cantidad de variables simuladas, lo cual no podemos realizar con las herramientas estándar de integración que nos proporciona *MATLAB*®.

### **2.3. SUPERPOSICIÓN DE OBJETOS**

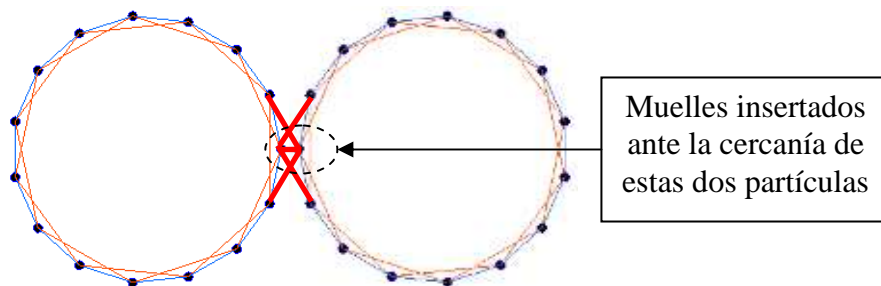
El modelo descrito hasta ahora permite representar estructuras ideales, de modo que un objeto puede describirse mediante un conjunto de partículas conectadas mediante muelles. Pero no nos hemos ocupado de un aspecto muy importante en la interacción entre objetos: tal y como se ha descrito hasta ahora, el sistema no impide que varios objetos ocupen el mismo espacio simultáneamente, superponiéndose entre sí. Claramente esto no es realista, hemos de incluir algún medio para que no suceda, de forma que cuando dos objetos se acerquen entre sí choquen en vez de seguir avanzando. Éste fue uno de los aspectos más complicados del modelado, por cuanto no hemos encontrado en la bibliografía modelos de choque totalmente satisfactorios para las características de nuestro modelo de muelles y por el contrario hemos debido desarrollar uno a la medida. Ciertamente la dinámica del choque entre sólidos está ampliamente desarrollada y hay buena bibliografía sobre la misma [25] [2], pero en su inmensa mayoría está pensada para otro tipo de simulaciones mucho más minuciosas y pesadas, además de no usar abstracciones similares a las nuestras (y por añadidura buena parte de la bibliografía está enfocada hacia sólidos rígidos, no hacia deformables basados en mallas de partículas).

Dado nuestro modelo de simulación, nuestras soluciones deben estar enfocadas al nivel del choque entre las partículas constituyentes del objeto, mezclando en cierta medida enfoques discretos y continuos. La estrategia básica para impedir la superposición de objetos en nuestro modelo es impedir que las partículas de cada objeto invadan el espacio interior del otro. A nivel de mecánica newtoniana, esto debe traducir en un mecanismo que iguale las velocidades de dichas partículas cercanas entre sí cuando estén a punto de o hayan penetrado ya el otro objeto.



fuerza de otros efectos, para contrarrestarlos (aquí reside la principal falta de linealidad). Esto presenta un importante problema en costo computacional, debido a que a menos que el mecanismo contra la superposición se diseñe cuidadosamente, la no linealidad del sistema provocará fuertes variaciones en las variables simuladas que obligarán al algoritmo de integración numérica a usar pasos excesivamente pequeños, arruinando la eficiencia.

-No sólo se debe actuar para impedir la superposición, estorbando que ésta se produzca, sino influyendo activamente el movimiento de las partículas para que éstas se alejen si están demasiado cerca. Esto es deseable debido a que la integración numérica puede introducir errores sistemáticos que conduzcan a la superposición, si no se corrigen activamente.



**Figura 2.5. Inserción de muelles contra la superposición**

**Un primer enfoque contra la superposición consiste en interponer muelles muy rígidos entre las partículas lo bastante cercanas como para estar en riesgo de superposición, y entre éstas y sus respectivas vecinas, para dar resistencia contra las fuerzas de cizalladura que puedan forzar una superposición.**

En un principio se pensó como mecanismo contra la superposición en la inserción de muelles entre partículas próximas de objetos distintos. Se trata de una elección habitual en simulaciones de sólido rígido. Estos muelles deben ser considerablemente más rígidos que los de los objetos en colisión, y para evitar fuerzas de cizalladura en condiciones de gran compresión, deben insertarse entre las partículas en peligro de superposición y entre éstas y las vecinas inmediatas. Esta solución tiene varios problemas que nos llevaron a desecharla:

-Se trata de un mecanismo estrictamente lineal (a no ser que variáramos dinámicamente la rigidez de los muelles insertados), que en situaciones de alta compresión falla para evitar fuerzas de cizalladura que eventualmente conducen a la superposición de los objetos.

- Cuando se produce una pequeña superposición los muelles insertados, al tender a separar las partículas que conectan, tienden a agrandarla, empeorando el problema.
- Los muelles estorban no sólo la superposición de objetos, sino cualquier tipo de movimiento relativo entre los objetos: desplazamiento lateral, alejamiento...

### 2.3.1. MECANISMO DISEÑADO: ARMONIZACIÓN

Después se probaron sucesivamente varios esquemas contra la superposición, que se fueron refinando sucesivamente desde soluciones mediocres y físicamente extrañas hasta conseguir un compromiso entre un razonable costo computacional, eficacia contra la superposición y fundamentos físicos sólidos.

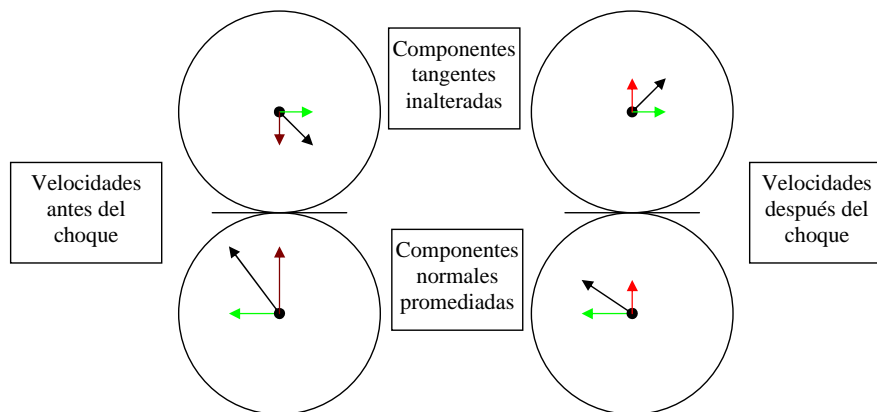


Figura 2.6. Choque inelástico

**En el choque inelástico, los objetos comparten su movimiento en la normal de la superficie de choque. Podemos extrapolar este comportamiento de los sólidos rígidos a nuestro modelo de partículas, definiendo la superficie de choque entre dos partículas según las superficies de los objetos de los que forman parte.**

Finalmente se llegó a diseñar un mecanismo que modela en cierta medida el choque inelástico entre dos partículas. Los detalles son sumamente prolijos, por lo que antes describiremos brevemente el choque inelástico para mostrar la idea general. Cuando dos objetos sufren este tipo de choque, sus velocidades cambian de tal modo que las componentes quedan inalteradas en la dirección tangente a la superficie de contacto y promediadas en la dirección normal.

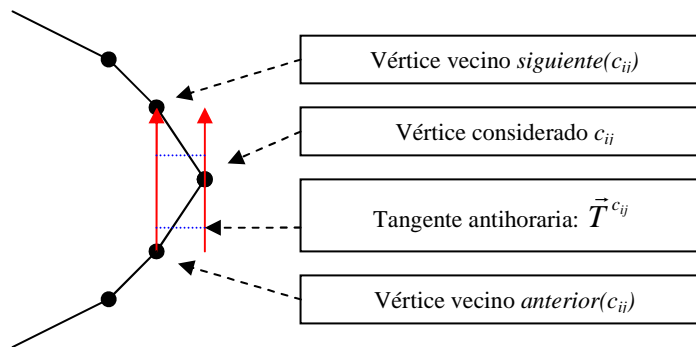
Partimos de un enfoque discretizado, en el que se trocea la simulación física en intervalos uniformes. Al comienzo de cada intervalo se determinan las partículas de objetos distintos que

están excesivamente cercanas entre sí, obteniéndose una lista de pares de índices de partículas:

$$\begin{bmatrix} c_{11} & c_{12} \\ c_{21} & c_{22} \\ \dots & \dots \\ c_{N1} & c_{N2} \end{bmatrix}$$

que luego será usada durante la simulación física para comprobar si las partículas de dichos pares están en riesgo de superposición.

A continuación describiremos el procedimiento contra la superposición realizado en cada paso de integración del sistema:



**Figura 2.7. Vector tangente antihorario**

**Definimos un vector tangente a la superficie del objeto en la posición de la partícula en cuestión, realizando una aproximación discreta de la curvatura local.**

$$\vec{T}^{c_{ij}} = \vec{P}^{sig(c_{ij})} - \vec{P}^{ant(c_{ij})} = (t_x^{c_{ij}}, t_y^{c_{ij}})$$

-determinamos el vector tangente  $\vec{T}^{c_{ij}}$  (**Figura 2.7**) de cada partícula ( $c_{ij}$ ) considerada respecto a la superficie exterior del objeto al que pertenece. Dado que el objeto es de naturaleza discreta, la tangente se aproxima como el vector entre las partículas vecinas de la partícula considerada, tomando la convención (salvo excepciones que describiremos posteriormente) de que tenga sentido antihorario.

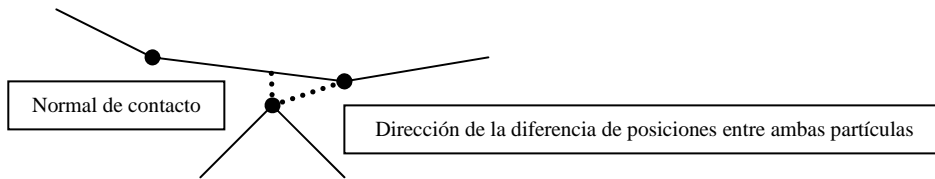
$$\vec{N}^{c_{ij}} = (-t_y^{c_{ij}}, -t_x^{c_{ij}})$$

-giramos dicho vector  $90^\circ$  en sentido antihorario (**Figura 2.8**), dando lugar a un vector normal  $\vec{N}^{c_{ij}}$  que apunta al interior del objeto.



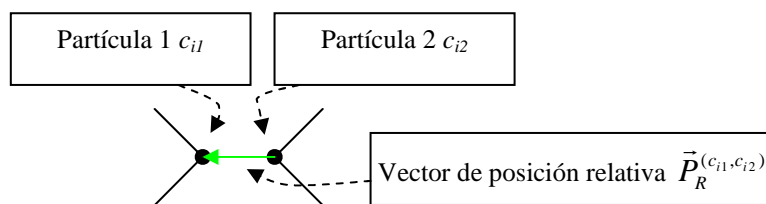


acierta en más casos en describir la dirección en la que las partículas no pueden avanzar para que no se produzca la superposición.



**Figura 2.10. Ventajas de la normal de contacto**

Si la curvatura de la superficie del objeto es lo bastante suave como para ser discretizada sin excesivo error por las tangentes definidas en la Figura 1.1, el vector de normal de contacto proporciona información más exacta sobre el riesgo de superposición que el vector de diferencia de posiciones entre ambas partículas. Esto se debe a que cuando una partícula de un objeto se halla aproximadamente entre otras dos de otro objeto, el vector diferencia no permite discernir sobre una posible penetración en el interior del objeto, mientras que el vector normal sí.



**Figura 2.11. Vector de posición relativa**

Al contrario de lo que pueda parecer en el dibujo, el vector de posición relativa de un par de partículas no tiene por qué ser exactamente antiparalelo a la normal de contacto, aunque sí aproximadamente antiparalelo.

$$\vec{P}_R^{(c_{i1}, c_{i2})} = \vec{P}^{c_{i1}} - \vec{P}^{c_{i2}}$$

-para cada par de partículas obtenemos la posición relativa  $\vec{P}_R^{(c_{i1}, c_{i2})}$ .

-giramos el vector de posición relativa (**Figura 1.1** y Cuadro 2.2), y las velocidades y aceleraciones de cada partícula de cada par según el negativo del ángulo  $\alpha^{(c_{i1}, c_{i2})}$  del vector normal de contacto de cada par. Mediante esta maniobra conseguimos descomponer fácilmente dichos vectores en componentes paralelas y perpendiculares (traducidas tras el giro en sus componentes  $X$  e  $Y$ ) a la normal de contacto de cada par, ya que el giro tiene el efecto de hacer coincidir la dirección de dicho vector con la del eje  $X$ . Por lo tanto, para evitar la superposición de los objetos vamos a actuar sobre las componentes  $X$  de estos vectores.

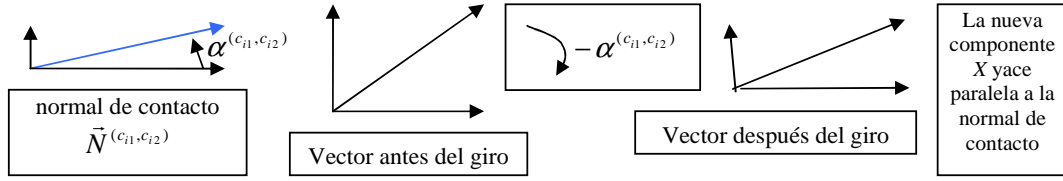


Figura 2.12. Giro de los vectores

Rotamos nuestro sistema de coordenadas según la orientación de la normal de contacto. Esto nos permite saber fácilmente, en función de la magnitud y el signo de las componentes  $X$  de los distintos vectores rotados, si las partículas ya se han aproximado demasiado (posiciones), se están aproximando (velocidades), o tienden a aproximarse (aceleraciones). Por ejemplo, al ser aproximadamente antiparalelos los vectores normal de contacto y posición relativa (Figura 2.11), la componente  $X$  de este último debe ser negativa en condiciones normales, o positiva si hay riesgo grave o ya se ha producido superposición.

## Cuadro 2.2. Ecuaciones de giro

En este cuadro presentamos las ecuaciones que usamos para girar el sistema de coordenadas. El vector  $\vec{N}^{(c_{i1},c_{i2})}$  tiene un ángulo  $\alpha^{(c_{i1},c_{i2})}$ . Definimos *GIRO*, un operador que gira vectores, y lo usamos para girar los vectores de posición, velocidad y aceleración según  $-\alpha^{(c_{i1},c_{i2})}$ .

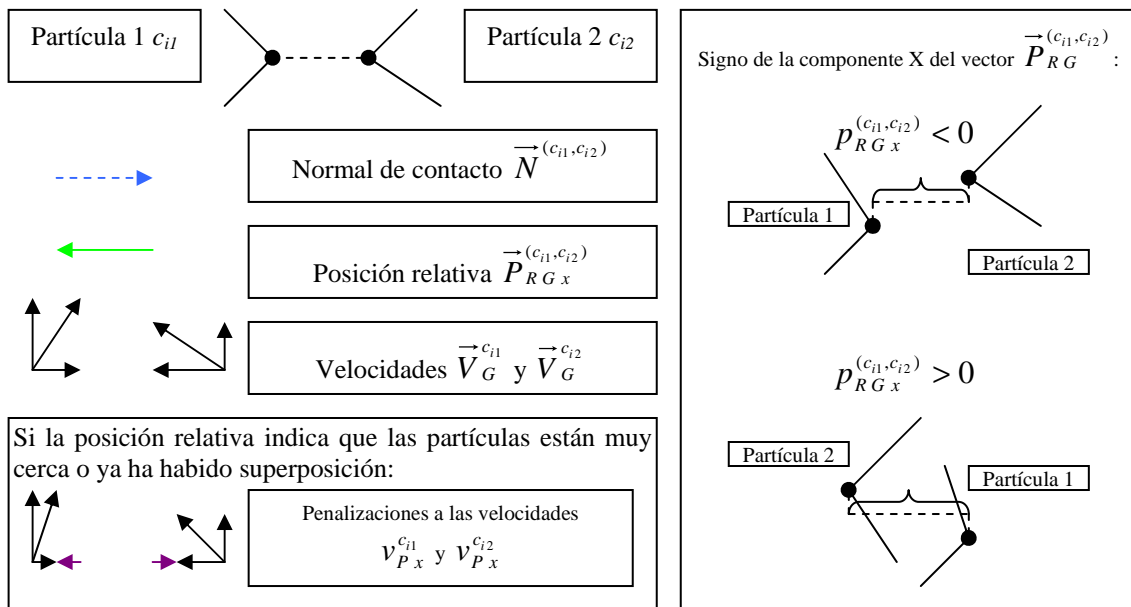
$$\begin{aligned} \sin \alpha^{(c_{i1},c_{i2})} &= \frac{n_y^{(c_{i1},c_{i2})}}{|\vec{N}^{(c_{i1},c_{i2})}|} \\ \cos \alpha^{(c_{i1},c_{i2})} &= \frac{n_x^{(c_{i1},c_{i2})}}{|\vec{N}^{(c_{i1},c_{i2})}|} \\ \text{GIRO}(\vec{Vector}, \alpha) &= \begin{bmatrix} \cos \alpha & -\sin \alpha \\ \sin \alpha & \cos \alpha \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \text{vector}_x \\ \text{vector}_y \end{bmatrix} \\ \vec{P}_{RG}^{(c_{i1},c_{i2})} &= \text{GIRO}(\vec{P}_R^{(c_{i1},c_{i2})}, -\alpha^{(c_{i1},c_{i2})}) = (p_{RGx}^{(c_{i1},c_{i2})}, p_{RGy}^{(c_{i1},c_{i2})}) \\ \vec{V}_G^{c_{ij}} &= \text{GIRO}(\vec{V}^{c_{ij}}, -\alpha^{(c_{i1},c_{i2})}) = (v_{Gx}^{c_{ij}}, v_{Gy}^{c_{ij}}) \\ \vec{A}_G^{c_{ij}} &= \text{GIRO}(\vec{A}^{c_{ij}}, -\alpha^{(c_{i1},c_{i2})}) = (a_{Gx}^{c_{ij}}, a_{Gy}^{c_{ij}}) \end{aligned}$$

$$v_{Px}^{c_{i1}} = \begin{cases} 0 & \text{si } p_{RGx}^{(c_{i1},c_{i2})} + L_{\min} \leq 0 \\ 0.1 \cdot (p_{RGx}^{(c_{i1},c_{i2})} + L_{\min}) & \text{si } p_{RGx}^{(c_{i1},c_{i2})} + L_{\min} > 0 \end{cases} \quad (2.10)$$

$$v_{Px}^{c_{i2}} = \begin{cases} 0 & \text{si } (p_{RGx}^{(c_{i1},c_{i2})} + L_{\min} \leq 0) \vee (c_{i2} \in VF) \\ -0.1 \cdot (p_{RGx}^{(c_{i1},c_{i2})} + L_{\min}) & \text{si } (p_{RGx}^{(c_{i1},c_{i2})} + L_{\min} > 0) \wedge (c_{i2} \notin VF) \end{cases} \quad (2.11)$$

-en el caso de las posiciones relativas  $\vec{P}_R^{(c_{i1},c_{i2})}$ , éstas deben tener una componente  $X$  negativa (ya que el vector está orientado aproximadamente de la segunda partícula a la primera, al

revés que la orientación de la normal de contacto, de la primera partícula a la segunda). Si los valores negativos son inferiores en valor absoluto a una distancia mínima  $L_{\min}$  o son positivos es que hay riesgo de superposición o ésta se ha producido ya. En tales casos, añadimos a las velocidades de cada partícula una pequeña perturbación en la componente  $X$  que tiendan a separarlos,  $v_{P_x}^{c_{ij}}$  (**Figura 2.13**). Dicha componente tendrá un valor proporcional a la distancia entre ambas partículas (es decir, a su distancia en la normal de contacto). Además, en el caso de que la segunda partícula tenga velocidades forzadas (perezca al conjunto  $VF$ ), no le aplicamos velocidad de penalización para no variar la cinemática programada (más adelante explicaremos que la primera partícula de cada par nunca tiene velocidades forzadas).



**Figura 2.13. Penalización de velocidades**

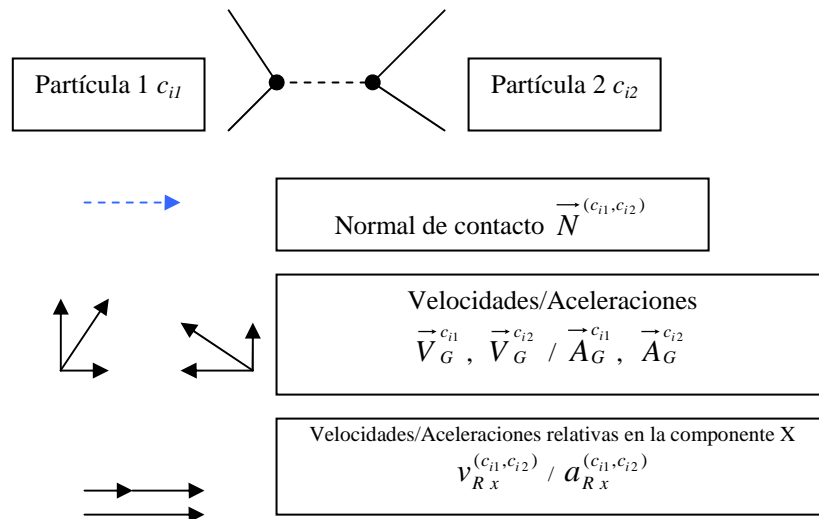
**Acción de corrección para un par de partículas cuya posición relativa en la dirección de la normal de contacto (componente  $X$  tras el giro de la Figura 2.12) indique que están muy próximas o que puede que ya haya ocurrido interpenetración (valores negativos pequeños o positivos, respectivamente). En tal caso, incluimos una corrección manipulando directamente la velocidad de las partículas, de modo que tiendan a alejarse. Esta corrección se realiza en velocidad en lugar de en aceleración para controlarla de modo más exacto.**

$$v_{R_x}^{(c_{i1}, c_{i2})} = v_{G_x}^{c_{i1}} - v_{G_x}^{c_{i2}}$$

$$a_{R_x}^{(c_{i1}, c_{i2})} = a_{G_x}^{c_{i1}} - a_{G_x}^{c_{i2}}$$

-obtenemos  $v_{R_x}^{(c_{i1}, c_{i2})}$  y  $a_{R_x}^{(c_{i1}, c_{i2})}$  (**Figura 2.14**), las velocidades y aceleraciones relativas en la nueva componente  $X$  (dirección de la normal de contacto) entre cada par de partículas

restando cada valor de la segunda partícula a la primera, de modo que estos valores indican las velocidades y aceleraciones con las que la primera partícula tiende o no a acercarse a la segunda. Cuando dichos valores sean positivos es que tienden a la superposición (ya que si son positivos en la normal de contacto, es que se están aproximando), y por lo tanto habrá que actuar sobre ellos, para hacerlos nulos, armonizando los movimientos de ambas partículas.



**Figura 2.14. Velocidades y aceleraciones relativas de aproximación**

**Tras girar el sistema de coordenadas, la velocidad y aceleración relativas en la componente X indica si las partículas se están aproximando (velocidad) o tienden a aproximarse (aceleración). Por el convenio escogido para calcularlas, valores positivos indican peligro de aproximación, ya que en caso de ser positivos, tendrán el mismo sentido que la normal de contacto.**

En este momento hay que distinguir varios casos posibles (sintetizados en el Cuadro 2.3) según las velocidades de las partículas sean forzadas o no:

-ambas partículas del par tienen velocidades forzadas:  $c_{i1}, c_{i2} \in VF$ . Este caso nunca lo contemplaremos, pues en principio no será necesario, ni tampoco está claro cómo debería tratarse.

-la segunda partícula tiene velocidad forzada y la primera no (**Figura 2.15**), invertimos si es necesario los papeles para que no se dé la situación simétrica:  $c_{i1} \notin VF, c_{i2} \in VF$ . En este caso, la partícula forzada debe ejercer una perturbación irresistible sobre la no forzada, de modo que no se produzca superposición. Esto se traduce en que para la primera partícula, en la componente paralela a la normal de contacto, eliminamos la

aceleración y asignamos a su velocidad el mismo valor que la de la forzada. De este modo nos aseguramos de que ambas partículas no se puedan seguir acercando.

-ambas partículas carecen de velocidades forzadas (**Figura 2.16**). En tal caso, para que no haya riesgo de superposición, hemos de armonizar el movimiento de ambas partículas en la dirección de la normal de contacto, lo que se traduce en promediar sus velocidades y aceleraciones sobre el eje  $X$ .

### Cuadro 2.3. Ecuaciones de armonización

En este cuadro presentamos las ecuaciones de armonización de velocidades y aceleraciones para los pares de partículas  $(c_{i1}, c_{i2})$ , de manera que reemplazando las componentes  $v_{Gx}^{c_{ij}}$  y  $a_{Gx}^{c_{ij}}$  por  $v_{Ax}^{c_{ij}}$  y  $a_{Ax}^{c_{ij}}$ , armonizamos los movimientos de las partículas en el eje  $X$  girado (es decir, en la dirección de la normal de contacto), con lo que eliminamos o por lo menos minimizamos el riesgo de superposición.

$$\begin{aligned}
 v_{Ax}^{c_{i1}} &= \begin{cases} v_{Gx}^{c_{i1}} & \text{si } v_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} \leq 0 \\ v_{Gx}^{c_{i2}} & \text{si } (v_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} > 0) \wedge (c_{i2} \in VF) \\ \frac{v_{Gx}^{c_{i1}} + v_{Gx}^{c_{i2}}}{2} & \text{si } (v_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} > 0) \wedge (c_{i2} \notin VF) \end{cases} \\
 a_{Ax}^{c_{i1}} &= \begin{cases} a_{Gx}^{c_{i1}} & \text{si } a_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} \leq 0 \\ 0 & \text{si } (a_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} > 0) \wedge (c_{i2} \in VF) \\ \frac{a_{Gx}^{c_{i1}} + a_{Gx}^{c_{i2}}}{2} & \text{si } (a_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} > 0) \wedge (c_{i2} \notin VF) \end{cases} \\
 v_{Ax}^{c_{i2}} &= \begin{cases} v_{Gx}^{c_{i2}} & \text{si } (v_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} \leq 0) \vee (c_{i2} \in VF) \\ \frac{v_{Gx}^{c_{i1}} + v_{Gx}^{c_{i2}}}{2} & \text{si } (v_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} > 0) \wedge (c_{i2} \notin VF) \end{cases} \\
 a_{Ax}^{c_{i2}} &= \begin{cases} a_{Gx}^{c_{i2}} & \text{si } (a_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} \leq 0) \vee (c_{i2} \in VF) \\ \frac{a_{Gx}^{c_{i1}} + a_{Gx}^{c_{i2}}}{2} & \text{si } (a_{Rx}^{(c_{i1}, c_{i2})} > 0) \wedge (c_{i2} \notin VF) \end{cases}
 \end{aligned}$$

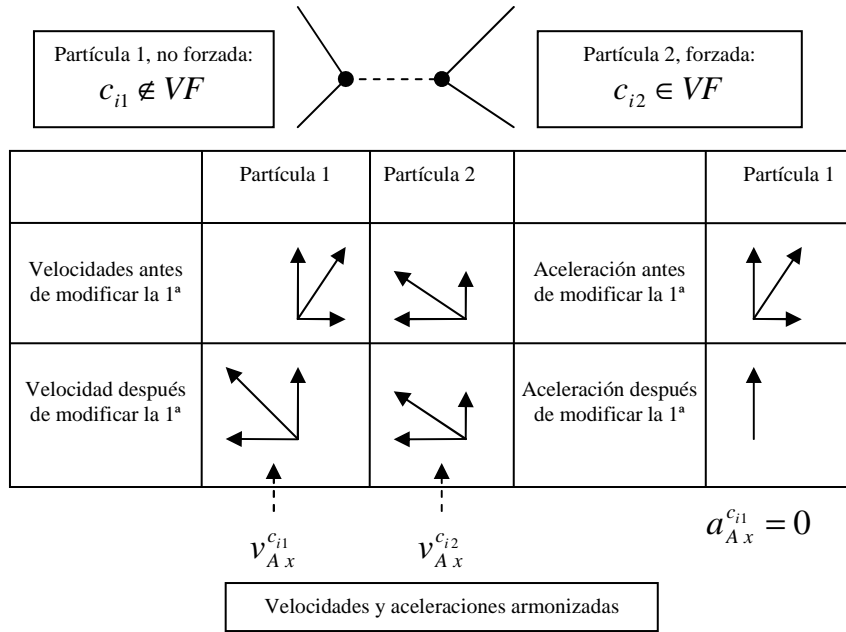


Figura 2.15. Armonización de movimientos (1)

Una partícula con velocidad forzada y otra libre están aproximándose con riesgo de superposición según indican sus velocidades o aceleraciones relativas. Recordemos que a las partículas forzadas se les especifica una cinemática exacta e inamovible sin tener en cuenta las fuerzas y efectos físicos ejercidos sobre ellas. Por tanto, si existe riesgo de superposición, la partícula no forzada debe adoptar la cinemática de la forzada en la dirección de la normal de contacto (componente  $X$  tras el giro), que es la que con más exactitud indica la dirección en la que puede ocurrir la superposición. Esto implica asignarle en la componente  $X$  la velocidad y aceleración (nula) de la partícula forzada.

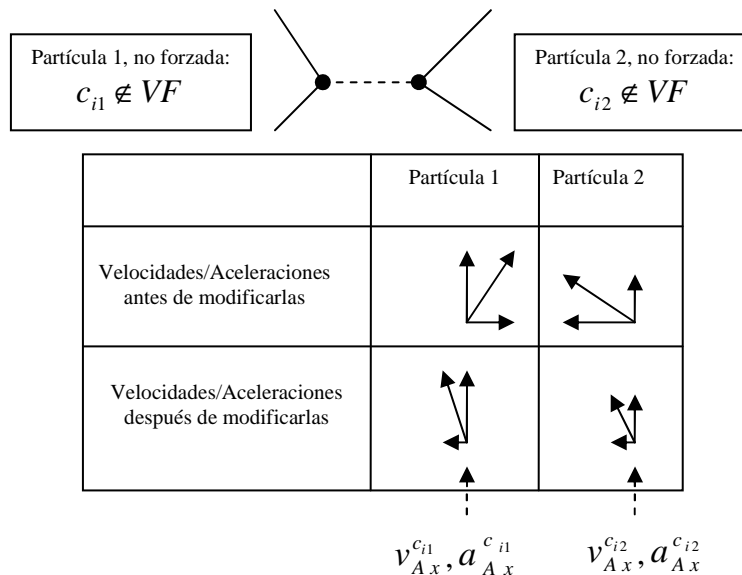


Figura 2.16. Armonización de movimientos (2)

Dos partículas, ambas no forzadas, están aproximándose con riesgo de superposición según indican sus velocidades o aceleraciones relativas. Tratamos por separado velocidades y aceleraciones, de modo que si la velocidad de aproximación relativa es positiva, promediamos la velocidad en la componente  $X$ , y hacemos lo mismo en el caso de las aceleraciones. Si no lo es, no se modifican.

En principio, si sustituimos los valores  $v_{G_x}^{c_{ij}}$  y  $a_{G_x}^{c_{ij}}$  por sus homólogos armonizados  $v_{A_x}^{c_{ij}}$  y  $a_{A_x}^{c_{ij}}$ , y después deshacemos la rotación del sistema de coordenadas, deberíamos de conseguir vectores de velocidad y aceleración tales que impidieran la superposición sin problemas. No obstante, este enfoque tiene el problema de ser altamente no lineal: en un intervalo de simulación física dos objetos pueden estar cerca pero no tanto que se deba prevenir su superposición, y al siguiente estar ya muy cerca y por lo tanto ver drásticamente alterado su movimiento. Esta no linealidad provoca efectos indeseables:

- a veces el cambio es tan brusco que el integrador numérico debe disminuir el paso de simulación física demasiado, arruinando la eficiencia.
- dos objetos pueden oscilar durante varios intervalos de simulación entre estar o no lo suficientemente cerca como para que se les aplique la armonización, dando lugar a cambios de movimiento espurios.

Para minimizar este problema linealizamos la aplicación de la armonización, de forma gradual (**Figura 2.17** y Cuadro 2.4, nótese que en circunstancias normales  $p_{RG_x}^{(c_{11}, c_{12})} < 0$ , por lo que las condiciones pueden a primera vista parecer invertidas). Usamos una combinación lineal entre las velocidades/aceleraciones iniciales ( $v_{G_x}^{c_{ij}}$ ,  $a_{G_x}^{c_{ij}}$ ) y las armonizadas ( $v_{A_x}^{c_{ij}}$ ,  $a_{A_x}^{c_{ij}}$ ) de modo que cuando las partículas están relativamente lejos el efecto de armonización actúa muy levemente, y conforme se acercan las partículas va ganando importancia, hasta que es el efecto dominante si la distancia es muy pequeña o incluso ya se ha producido superposición. Además, incluimos las velocidades de penalización como mecanismo de control de superposición ante errores en el integrador numérico. Es importante destacar que en este marco, cuando nos referimos a “cercanía” o “lejanía” nos estamos refiriendo a la medida sobre la normal de contacto, que como ya explicamos anteriormente es una medida más fiable que la distancia real entre ambas partículas.



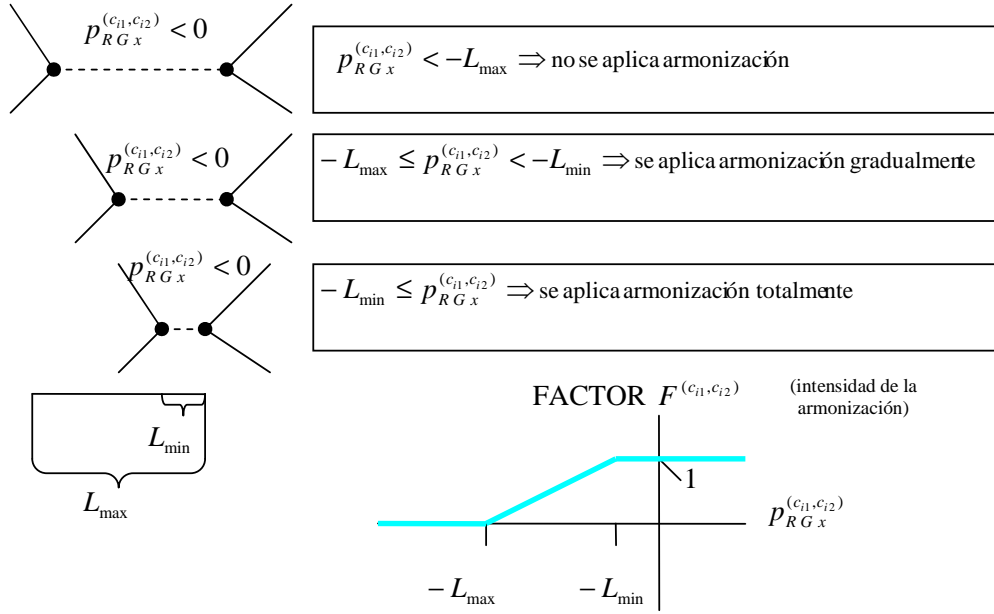


Figura 2.17. Linealización de la armonización de movimientos

El efecto de armonización tiene un carácter marcadamente no lineal, que en nuestra implementación puede manifestarse como importantes cambios en las restricciones cinemáticas de las partículas de un intervalo de simulación al siguiente, lo que implica un aspecto visual poco estético e inestabilidad en los cálculos. Para minimizar este problema, linealizamos el efecto de armonización, aplicándolo de forma progresivamente más intensa conforme las partículas se acercan, hasta que cuando estén lo suficientemente cerca se aplica por completo e impide que continúe el proceso de superposición.

Cuadro 2.4. Ecuaciones de linealización de la armonización

En este cuadro presentamos las ecuaciones mediante las cuales obtenemos  $v_{LGx}^{c_{ij}}$  y  $a_{LGx}^{c_{ij}}$  a partir de  $v_{Ax}^{c_{ij}}$  y  $a_{Ax}^{c_{ij}}$ . Finalmente obtenemos los vectores  $\vec{V}_{LG}^{c_{ij}}$  y  $\vec{A}_{LG}^{c_{ij}}$ , que describen las velocidades y aceleraciones corregidas de las partículas (aunque están expresados en el sistema de coordenadas girado).

$$F^{(c_{i1}, c_{i2})} = \begin{cases} 0 & \text{si } p_{RGx}^{(c_{i1}, c_{i2})} < -L_{\max} \\ \frac{p_{RGx}^{(c_{i1}, c_{i2})} + L_{\max}}{L_{\max} - L_{\min}} & \text{si } -L_{\max} < p_{RGx}^{(c_{i1}, c_{i2})} < -L_{\min} \\ 1 & \text{si } p_{RGx}^{(c_{i1}, c_{i2})} > -L_{\min} \end{cases}$$

$$v_{Lx}^{c_{ij}} = F^{(c_{i1}, c_{i2})} \cdot v_{Ax}^{c_{ij}} + (1 - F^{(c_{i1}, c_{i2})}) \cdot v_{Gx}^{c_{ij}}$$

$$a_{Lx}^{c_{ij}} = F^{(c_{i1}, c_{i2})} \cdot a_{Ax}^{c_{ij}} + (1 - F^{(c_{i1}, c_{i2})}) \cdot a_{Gx}^{c_{ij}}$$

$$\vec{V}_{LG}^{c_{ij}} = (v_{Px}^{c_{ij}} + v_{Lx}^{c_{ij}}, v_{Gy}^{c_{ij}})$$

$$\vec{A}_{LG}^{c_{ij}} = (a_{Lx}^{c_{ij}}, a_{Gy}^{c_{ij}})$$

$$\vec{V}_L^{c_{ij}} = \text{GIRO}(\vec{V}_{LG}^{c_{ij}}, \alpha^{(c_{i1}, c_{i2})}) \quad (2.12)$$

$$\vec{A}_L^{c_{ij}} = \text{GIRO}(\vec{A}_{LG}^{c_{ij}}, \alpha^{(c_{i1}, c_{i2})}) \quad (2.13)$$

Y finalmente obtenemos los vectores corregidos para la velocidad ( $\vec{V}_L^{c_{ij}}$ ) y aceleración ( $\vec{A}_L^{c_{ij}}$ ) tras deshacer la rotación que nos permitió tratar a las componentes  $X$  de los vectores como los valores que había que armonizar para impedir superposiciones. Estos vectores determinan para las partículas una cinemática tal que no se produzca superposición, al menos en términos estrictamente locales.

Así terminamos de describir el mecanismo de armonización de velocidades y aceleraciones, que como ya comentamos al principio está inspirado en el choque inelástico. En principio, la física del choque inelástico no se refiere a la manipulación de aceleraciones sino sólo de velocidades, pero en nuestro modelo sí que las armonizamos para ejercer el control de superposición más eficazmente (al incluir derivadas de mayor orden) y prevenir los errores numéricos en que pueda incurrir el integrador al integrar las velocidades respecto a las aceleraciones.

Aún existen otros mecanismos físicos por explicar, pero dado lo especializado de su necesidad y uso los explicaremos más adelante, cuando sea necesario.

## **2.4. IMPLEMENTACIÓN**

Usamos *MATLAB R2006b* (versión 7.3.0.267) como entorno de desarrollo. Este lenguaje tiene un nivel de abstracción relativamente bajo además de carecer de mecanismos de tipado apropiados, pero aporta como ventajas la rapidez de prototipado y la vectorización implícita de los cálculos. *MATLAB* trae integradas una serie de funciones de integración de sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias (*ODE*) cuya interfaz guiará nuestra implementación del sistema.

La elección de la función de integración dependerá del sistema a simular. Si no necesitamos mucha precisión podemos usar *ode23*, para un nivel de precisión normal *ode45*, y si nuestro modelo es numéricamente rígido (*stiff*), lo cual puede ocurrir ante muelles muy rígidos,

simulaciones en las que la longitud real de un muelle se aproxima a 0, o se introduce gran cantidad de energía en el sistema, *ode15s*.

Las funciones *odeXXX* integran sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias de primer orden definidos mediante funciones que deben ser de la forma

$$salida = sistema(t, entrada, otros\_parámetros)$$

donde  $t$  es la variable de integración (en nuestro caso el tiempo), *entrada* es un vector columna que contiene las variables que se están integrando (en nuestro caso, posiciones y velocidades de partículas y longitudes en reposo de muelles), *salida* es otro vector columna que contiene las derivadas respecto al tiempo de *entrada*, definidas por el sistema de ecuaciones, y *otros\_parametros* son parámetros que podemos configurar para que *odeXXX* los pase a nuestra función (no se pueden modificar durante la ejecución de la *odeXXX*).

La eficiencia es uno de nuestros objetivos prioritarios. Para ello, hemos de vectorizar el código al máximo, esto es, formular los cálculos como operaciones entre matrices evitando los bucles, las sentencias condicionales y los tipos de datos no simples (estructuras, matrices celulares) en la medida de lo posible. No obstante, hemos incluido en nuestro modelo multitud de características, cada una de las cuales requiere desde unos pocos parámetros generales hasta un parámetro por cada partícula o muelle. Por ello, hemos de llegar a un compromiso entre eficiencia y la necesidad de mantener una mínima estructura en la organización de los tipos de datos y en los algoritmos.

Estamos interesados en simular sistemas bajo las siguientes condiciones:

- periodos de tiempo directamente acotados o hasta que el sistema se estabilice.
- obtener sólo el resultado final, o bien todos los pasos de integración usados por la función *odeXXX*, o bien pasos de integración con intervalos temporales fijos.
- visualizar gráficamente los resultados de la simulación ofreciendo la máxima cantidad de información visual relevante.

A continuación describiremos brevemente y a grandes rasgos la implementación del sistema de simulación, mediante un pseudocódigo:

**Cuadro 2.5. Pseudocódigo general de la simulación**

1. Inicializar simulación
  - 1.1. Configurar modo de almacenamiento de resultados intermedios (para simulaciones largas)
  - 1.2. Configurar opciones de salida de la simulación
    - 1.2.1. Opciones de visualización gráfica
    - 1.2.2. Opciones de grabación de vídeo
    - 1.2.3. Número de resultados intermedios por unidad de tiempo
  - 1.3. Crear grafo de muelles
    - 1.3.1. Conexiones entre partículas
    - 1.3.2. Parámetros del grafo de muelles ( $r^i$ ,  $\vec{P}^m$  y  $\vec{V}^m$  iniciales,  $k^i$ )
  - 1.4. Configurar parámetros generales adicionales
    - 1.4.1. Armonización (contra la superposición de objetos)
    - 1.4.2. Velocidades forzadas
    - 1.4.3. Perturbaciones en aceleración
    - 1.4.4. Perturbaciones en las  $r^i$
    - 1.4.5. Otros...
2. Asignar los parámetros  $T_\delta$  y  $E_{MAX}$
3. MIENTRAS *continuar\_simulación*
  - 3.1. Aplicar dinamización (si procede)
    - 3.1.1. Modificar (si procede) el grafo (nº de partículas, nº de muelles, conectividad)
    - 3.1.2. Introducir/eliminar (si procede) velocidades forzadas, perturbaciones en aceleración, perturbaciones en las  $r^i$ , etc.
    - 3.1.3. Modificar (si procede) otros parámetros generales
  - 3.2. Detectar posibles superposiciones o situaciones con riesgo de superposición, y confeccionar la lista de pares de partículas a los que se les aplicará armonización de movimientos.
  - 3.3. Simulación física
    - 3.3.1.  $E_T = E_{MAX}$
    - 3.3.2. MIENTRAS  $E_T \geq E_{MAX}$ 
      - 3.3.2.1.  $E_{inicial} = E(t)$
      - 3.3.2.2. Durante un lapso  $\Delta t$  integrar el sistema con una función *odeXXX* que llamará repetidas veces a una función de evaluación del sistema. La evaluación del sistema consiste en:
        - 3.3.2.2.1. Aplicar dinámica de muelles para obtener  $\dot{\vec{P}}^m$  y  $\dot{\vec{V}}^m$  a partir de  $\vec{P}^m$  y  $\vec{V}^m$
        - 3.3.2.2.2. Asignar por defecto  $\dot{r}^i = 0$
        - 3.3.2.2.3. Modificar los resultados según las velocidades forzadas y perturbaciones programadas
        - 3.3.2.2.4. Modificar los resultados según otros efectos físicos...
        - 3.3.2.2.5. Modificar los resultados según la armonización de movimientos para prevenir la superposición de objetos
      - 3.3.2.3.  $E_{final} = E(t)$
      - 3.3.2.4.  $E_T = |E_{final} - E_{inicial}|$
      - 3.3.2.5.  $E_{inicial} = E_{final}$
  - 3.4. Almacenar los resultados intermedios
  - 3.5. Recolección de estadísticas de simulación (si procede) para *profiling*
  - 3.6. Determinar si continuamos con la simulación
4. Visualizar (si procede) los resultados intermedios (evolución temporal del sistema)

Se han implementado diversas funciones para llevar a cabo algunas de las tareas y subtareas enunciadas, de las que mencionaremos sólo algunas de las más relevantes:

-*setPlottingOptions* para el paso 1.2, debe usarse antes de cada simulación y de cada visualización de resultados para configurar los parámetros de visualización entre otras cosas.

-*buscarVerticesMembranaCercanos* para el paso 3.2, es uno de los puntos donde la eficiencia es crítica, debido a que comprobar la distancia entre partículas es un problema de complejidad cuadrática.

-*buscadorEstadoEstable* para el paso 3.3, tiene entre otros cometidos preparar los parámetros usados por las funciones *odeXXX*, realizar algunas tareas auxiliares previas a la simulación física, y configurar adecuadamente la simulación para obtener los resultados intermedios deseados.

-*evaluadorPasoSistema* para el paso 3.3.2.2, encargándose de calcular la física. Dada la gran cantidad de efectos físicos introducidos, se usan varias funciones auxiliares para aplicar los efectos físicos secundarios tras el principal (la dinámica del sistema de muelles).

-*plotear* se encarga de visualizar el estado del sistema para un instante de tiempo determinado, usando los parámetros de visualización definidos mediante *setPlottingOptions*. Es usada mientras el integrador *odeXXX* calcula la evolución del sistema (si se ha configurado para visualizarlo al vuelo) o posteriormente.

-Para el paso 4., se usa *viewSimulationResults* para simulaciones sencillas, u otras funciones más específicas en caso de simulaciones más complejas. Las visualizaciones pueden grabarse como vídeo.

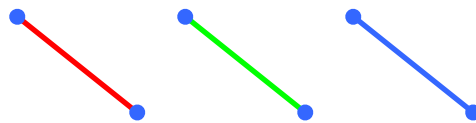


Figura 2.18. Código de colores

**Representamos el estado de compresión/relajación/tensión de los muelles mediante los colores rojo, verde y azul, respectivamente. Se gradúa una escala de colores rojos y azules, de forma que cuanto mayor energía potencial almacene el muelle, más oscuro será el color.**

Para facilitar la comprensión visual de la simulación usamos un código de colores para representar los distintos estados de los muelles: rojo para muelles comprimidos, verde para muelles relajados, y azul para muelles en tensión. A mayor compresión o tensión, más oscuro será el rojo o el azul, respectivamente. Esta representación nos permite visualizar mucho más fácilmente los juegos de fuerzas que actúan en un modelo.

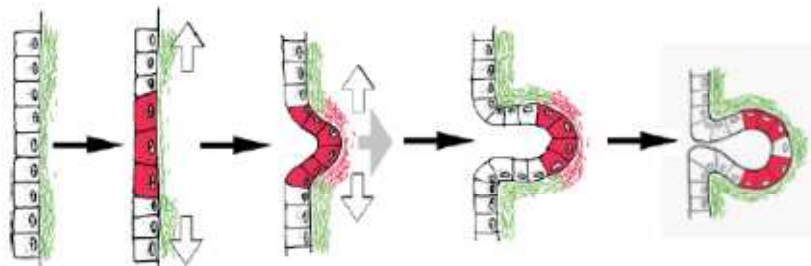


### **3. PRIMEROS EXPERIMENTOS**

Pasaremos ahora a describir algunos experimentos de simulación hechos con nuestro modelo. Hay que destacar que la evolución de los efectos físicos descritos anteriormente ha sido gradual, por lo que estos primeros experimentos no usan algunos de dichos efectos, y de hecho han precisado cambios en el código fuente para adaptarlos a las convenciones y protocolos de implementación implementadas posteriormente.

#### **3.1. INVAGINACION**

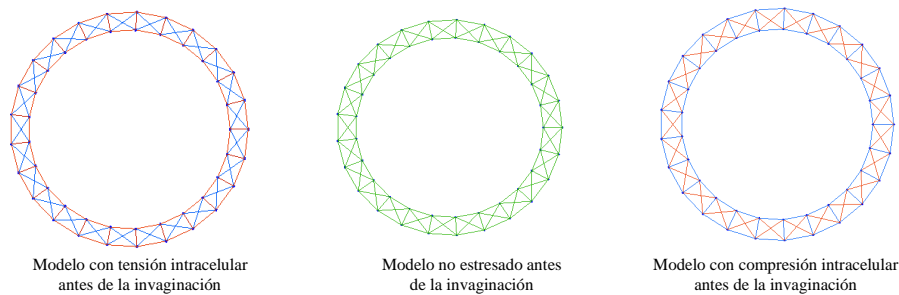
En este experimento nos propusimos explorar el mecanismo de invaginación (*fold*ing), que es un proceso embrionario bien conocido y recurrente [3], en el que un tejido epitelial pliega una sección sobre sí misma para formar un tubo o sección cerrada. Se ha propuesto como mecanismo de invaginación una contracción en las paredes celulares exteriores de una sección del epitelio.



**Figura 3.1. Un proceso de invaginación embrionario**

**Extraído de [13]. En los procesos de invaginación, un epitelio celular se curva formando un pliegue. Se ha propuesto como principal mecanismo de actuación una contracción del citoesqueleto en la zona exterior de las células implicadas en el proceso.**

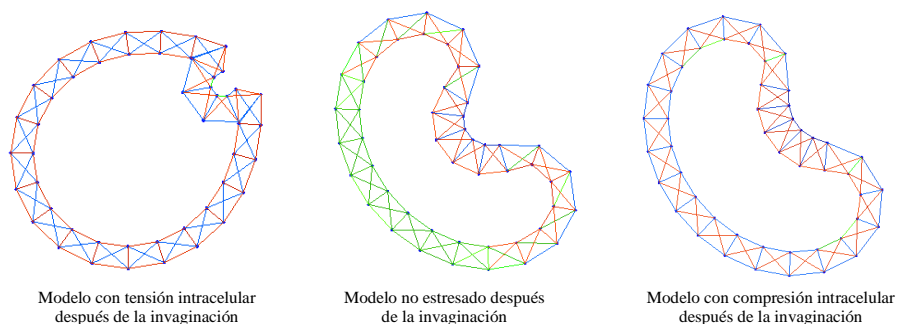
Usamos un modelo de célula altamente simplificado, en el que cada célula es un simple rectángulo con dos diagonales. Los muelles que modelan el perímetro de los rectángulos representan el córtex, mientras que los que conforman las diagonales representan la estructura interna citoesquelética. Las células no son independientes, sino que comparten las paredes laterales, y el epitelio se curva para formar un círculo (en 2D, en 3D sería un cilindro). El experimento no hace uso de características avanzadas del modelo físico, no hay prevención de superposición ni otras sutilezas.



**Figura 3.2. Modelo simplificado de tejido epitelial**

**Modelamos una configuración típica de un tejido epitelial durante las etapas tempranas del desarrollo embrionario, en la que un epitelio tiene forma elipsoidal o cilíndrica. Cada célula se representa por un rectángulo con sus diagonales, donde el perímetro del rectángulo corresponde al córtex celular, y las diagonales al citoesqueleto interno. Presentamos tres variantes, en las que el citoesqueleto interno está respectivamente tensado, relajado o comprimido. Los modelos primero y tercero presentan características tensegritales.**

Ahora bien, es interesante comprobar que si los elementos del epitelio están relajados, no se producen invaginaciones similares a las observadas en embriones reales. Para ello es necesario añadir energía a la estructura (tensando unos elementos y comprimiendo otros), convirtiéndola en tensegrital. Más específicamente, los elementos diagonales que representan el citoesqueleto interno deben estar tensados, mientras que los externos que representan el córtex deben estar comprimidos. Si invertimos la situación (compresión dentro y tensión fuera) tampoco obtenemos los resultados esperados.



**Figura 3.3. Simulaciones de invaginación**

**Reducimos las longitudes en reposo  $r^i$  de los muelles que representan la parte exterior del córtex de las células en un rango de unas 5 células. Los resultados son espectacularmente distintos en función del estado de estrés de los muelles del modelo. Se obtienen resultados similares a la invaginación real con el primer modelo, lo que sugiere que las partes del citoesqueleto interno que transmiten tensión entre las células juegan un papel determinante en este proceso. Asimismo, es un ejemplo ideal de mecanismo morfogénico: un cambio localizado en las propiedades del citoesqueleto, gobernado metabólicamente, puede producir nuevas formas cuando interacciona con el estado físico general.**



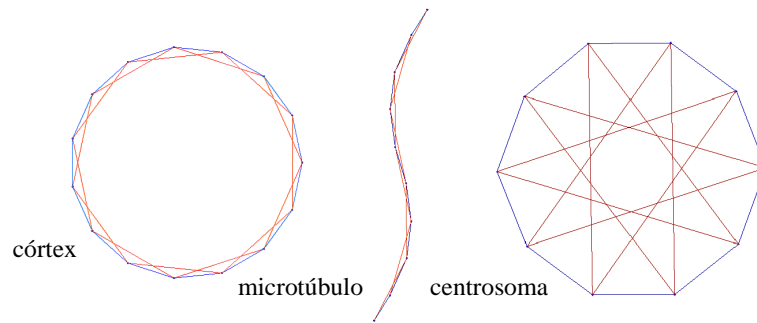
Este experimento es paradigmático sobre la forma en que funciona la morfogénesis: los genes no codifican directamente la forma que va a tener la zona invaginada del epitelio, sino que la red regulatoria genética de las células de un segmento del epitelio modifica el equilibrio de una sección de los citoesqueletos celulares, y los movimientos morfogenéticos se entienden así como la búsqueda de una configuración de energía mínima por parte del sistema físico que constituyen los citoesqueletos de las células epiteliales, en respuesta a un estímulo tan simple como tensar el córtex celular.

### **3.2. ELEMENTOS TENSEGRITALES PARA UN CITOESQUELETO**

El siguiente paso fue encontrar estructuras (tensegritales o capaces de serlo) para modelar los elementos principales del citoesqueleto con un mayor grado de detalle que en el experimento anterior. Se pensó en reproducir a grandes rasgos el córtex celular, el centrosoma y los microtúbulos que emanan del centrosoma y se anclan en el córtex.

Un método sencillo para construir estructuras tensegritales consiste en disponer de una secuencia de partículas o vértices ( $1..N$ ), conectados entre sí por dos tipos de muelles: de un salto ( $n,n+1$ ) y de dos saltos ( $n,n+2$ ). Si la secuencia es lineal, obtenemos una especie de varilla, mientras que si es circular, el resultado es una especie de membrana. También son importantes las relaciones entre las longitudes en reposo de los muelles. Si los muelles de un salto están tensados y los de dos comprimidos, la estructura será altamente estable, mientras que si es al revés, la estructura será sólo metaestable (cambiando de configuración si le añadimos energía en forma de mayor estrés en los muelles, o agitación cinética en las partículas) o incluso inestable.

La aplicación de las membranas tensegritales para modelar el córtex y de las varillas para los microtúbulos es directa. Para el centrosoma usamos un objeto similar a la membrana pero con muelles interiores comprimidos que refuerzan la estructura y facilitan la transmisión de fuerzas de un lado al otro de la célula.

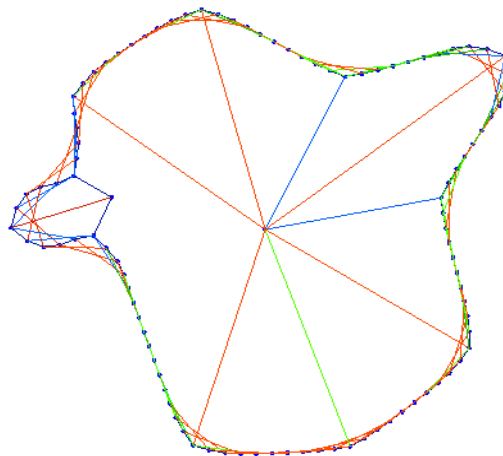


**Figura 3.4. Elementos tensegritales para un citoesqueleto**

**Estos modelos de elementos citoesqueléticos comparten la capacidad para presentar características tensegritales.**

### **3.3. PSEUDÓPODOS**

Para simular la aparición de pseudópodos hemos primero de estudiar los mecanismos por los que se crean en las células reales. Existen varios mecanismos asociados a distintos tipos de pseudópodos, pero en todos los casos involucran un sobrecrecimiento de distintos tipos de filamentos del citoesqueleto justo debajo de la sección de córtex que forma el pseudópodo. Nuestras simulaciones, al ser esquemáticas, modelan esto con unos pocos muelles pero se obtienen resultados satisfactorios.

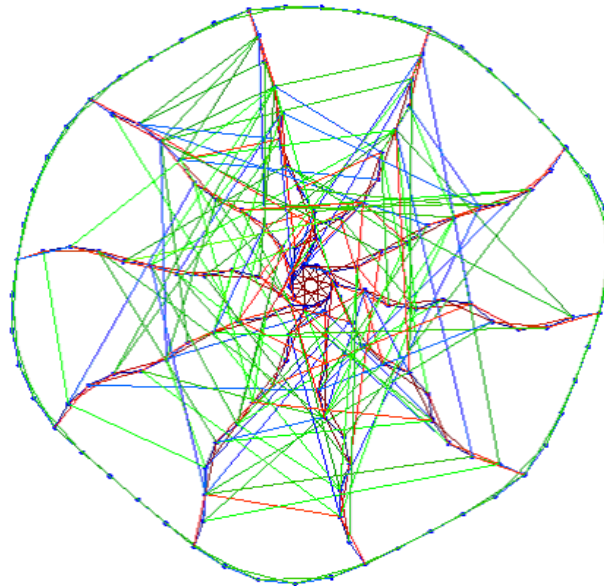


**Figura 3.5. Formación de pseudópodos**

**Se muestran dos clases de pseudópodo, en las que el denominador común es un sobrecrecimiento central del citoesqueleto interno justo debajo de la porción del córtex en la que se forma el pseudópodo**

### **3.4. MODELO CELULAR MÁS DETALLADO**

Para obtener mayor detalle, incluimos la red de microfilamentos, modelándola como una red de muelles pretensados dispuestos aleatoriamente, que unen entre sí los microtúbulos. Esto nos permite simular de forma más realista la forma en que se enrollan los microtúbulos, tal y como se puede apreciar en [17].

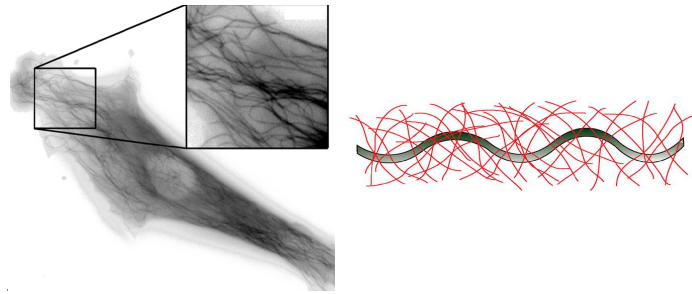


**Figura 3.6. Modelo celular detallado**

**Modelamos el centrosoma en el centro de la célula, los microtúbulos que salen del mismo hasta el córtex, y una red de microfilamentos aleatoria que conecta entre sí distintas secciones de los microtúbulos. Los microfilamentos están tensados, dando lugar a una compresión en los microtúbulos, visible en el leve arrollamiento que sufren. En las células reales este arrollamiento puede ser más severo, y proporciona a los microtúbulos capacidad para soportar mayores cargas que si no estuvieran inmersos en la red de microfilamentos.**

Este enrollamiento se debe a un juego de fuerzas entre los microfilamentos y los microtúbulos, en el que los primeros están tensados y comprimen a los últimos, dando al citoesqueleto características tensegritales que le permiten soportar esfuerzos mecánicos mayores de los que sería capaz una simple estructura de andamiaje.

No obstante, este modelo tiene el inconveniente de que es computacionalmente bastante más costoso, por lo que eventualmente optamos por modelos más simplificados.



**Figura 3.7. Detalle y modelo de microtúbulos arrollados**

**Extraído de [17]. En las células reales los microtúbulos aparecen ondulados bajo ciertas circunstancias. Experimentos cuantitativos señalan a que este arrollamiento se debe a que están inmersos en una red de microfilamentos tensados.**

### **3.5. MIGRACIÓN**

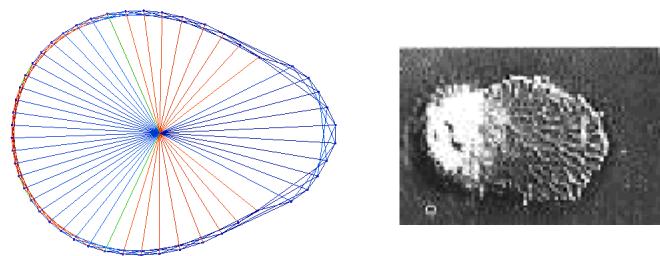
Recordemos que las lamelipodia se forman por la protusión de una espesa malla de microfilamentos en una sección del córtex. Simular este proceso mediante el modelo descrito en el apartado anterior sería en extremo complicado, por lo que abstraemos el uso de la red de microfilamentos y sólo incluimos sus efectos: determinadas porciones del córtex, en la dirección principal o aproximada del movimiento, sufren una perturbación que podemos representar como una velocidad o aceleración radial (que las aleja del centro celular). Asimismo, las adhesiones focales se modelan como secciones del córtex situadas en la parte trasera de la célula que quedan fijadas al sustrato (se les asignan velocidades forzadas nulas).

El modelo de célula usado se simplifica respecto a los experimentos anteriores: el centrosoma pasa a ser una simple partícula, los microtúbulos simples muelles, y el córtex a tener menor cantidad de partículas.

Así, una vez abstraído el mecanismo de protusión, nuestro modelo es capaz de reproducir distintas dinámicas de migración:

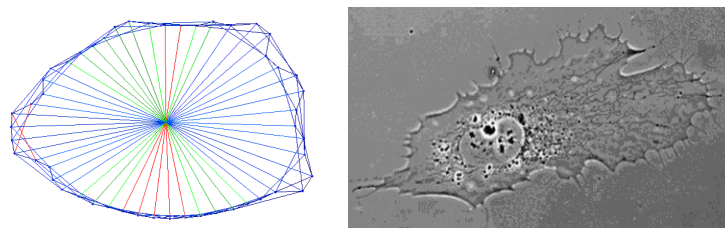
- de células de alta motilidad (**Figura 3.8**), en las no hay adhesiones focales y la lamelipodia es una estructura grande y bien definida, que impulsa rápidamente hacia delante a la célula. Esto lo conseguimos dando una velocidad o aceleración constante a una región del córtex más o menos amplia.

-de células conjuntivas (**Figura 3.9**), como los fibroblastos, en los que la función locomotora es importante principalmente como control de proliferación. En éstas células se desarrollan numerosas adhesiones focales y lamelipodia en direcciones aleatorias aunque orientadas en una dirección general del movimiento. Esto lo conseguimos definiendo una dirección general de movimiento, y seleccionando al azar porciones del córtex en la parte trasera que quedan fijas durante periodos aleatorios prolongados (adhesiones focales) y de la parte delantera que sufren una velocidad o aceleración altas durante un periodo relativamente pequeño en dirección radial respecto el centro celular.



**Figura 3.8. Comparación de una simulación con un espermatozoide de *Ascaris suum***

Extraído de [32]. Los espermatozoides de este tipo de nematodos son un modelo de estudio de las lamelipodia debido entre otras cosas a que presentan una extraordinariamente desarrollada. Nuestras simulaciones abstraen el mecanismo que impulsa el avance de la lamelipodia, modelando sólo el avance mecánico bien ordenado de una porción del córtex, que a su vez arrastra hacia delante al resto de la célula.



**Figura 3.9. Comparación de una simulación con un fibroblasto**

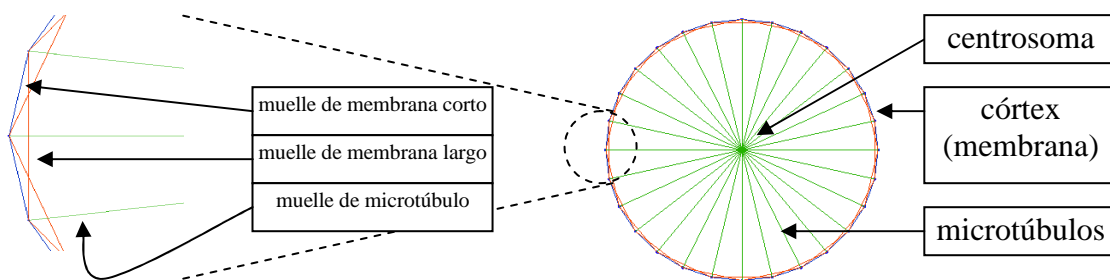
Extraído de [http://cellix.imolbio.oeaw.ac.at/video\\_tour\\_11.html](http://cellix.imolbio.oeaw.ac.at/video_tour_11.html)

Las lamelipodia de células de tejido conjuntivos se diferencian notablemente de las de las células de alta motilidad. Estas células desarrollan adhesiones focales fuertemente adheridas al sustrato, que quedan fijas y estorban mecánicamente el movimiento cuando el avance celular las deja en la parte trasera. Las lamelipodia no están tan altamente organizadas como en las células de alta motilidad, produciéndose protusiones en direcciones aleatorias pero con una orientación general en la dirección de avance.



## 4. MITOSIS

Dado el objetivo de este proyecto, la simulación de la mitosis o división celular ha sido uno de nuestros objetivos centrales, ya que los primeros momentos del desarrollo embrionario se caracterizan por una serie de divisiones celulares bien reguladas. Usaremos el mismo modelo celular que para las simulaciones de células migratorias, que podemos ver en la **Figura 4.1**:



**Figura 4.1. Célula antes de la mitosis**

**Usamos un modelo celular simplificado: el centrosoma es un simple punto en el centro de la célula, los microtúbulos se modelan cada uno mediante un único muelle, y el córtex tiene una cantidad de partículas relativamente pequeña, conectadas formando una estructura tensegrital.**

Para facilitar la implementación, es conveniente etiquetar cada partícula y registro con

- el índice de la célula a la que pertenece (indicando además si no pertenece a ninguna célula)
- el tipo (función que desempeña en el grafo): núcleo (partícula del centrosoma) o partícula del córtex para las partículas; muelle de tipo microtúbulo (radio celular), membrana corta o membrana larga para los muelles.

Y además, para cada célula, registramos:

- el índice de partícula de su centrosoma
- suponiendo una forma perfectamente circular (en 3D, esférica), las longitudes en reposo  $r^i$  canónicas para cada uno de los tipos de muelle (radio/microtúbulo, membrana corta, membrana larga) de los que se compone.

### 4.1. MITOSIS AISLADA

Describiremos en primer lugar cómo hemos implementado la mitosis de células aisladas. Biológicamente, la división celular consta de una serie de fases bien caracterizadas, en las que

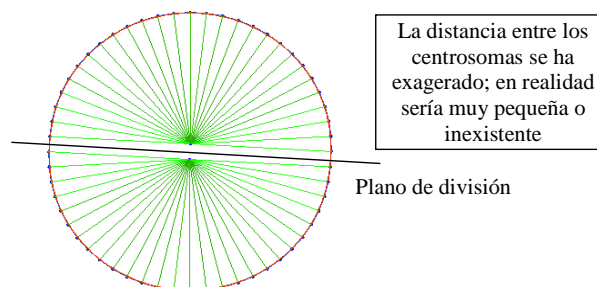
se replica y reparte el *ADN*. Nos interesa modelarla físicamente, por lo que sólo nos ocuparemos de las últimas fases: redistribución del citoesqueleto entre las dos células hijas y citocinesis (estrechamiento de la membrana en la mitad del eje de división).

El plan básico para conseguir un modelo de mitosis comprende los siguientes pasos:

- duplicar los componentes del citoesqueleto, para repartirlos entre las células hijas.
- modificar la geometría de la célula para que se formen dos células espacialmente diferenciadas.
- eliminar las conexiones entre las células hijas para completar su separación

#### 4.1.1. DUPLICACION DE COMPONENTES

Tras la mitosis, las células hijas deben presentar aproximadamente una morfología similar a la célula madre. Por ello, se deben duplicar los componentes, modificando profundamente el modelo celular, como se aprecia en la **Figura 4.2**:



**Figura 4.2. Célula tras duplicar componentes**

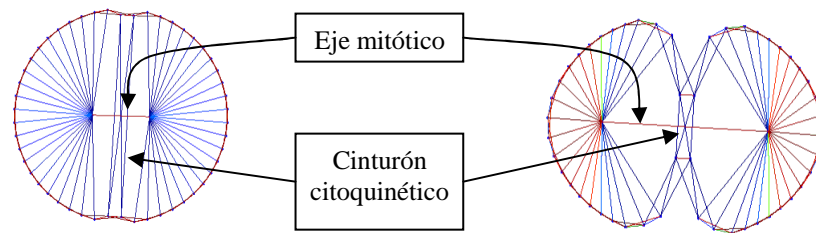
**Se duplica la cantidad de microtúbulos y de partículas del córtex. Una vez escogido el plano de división, se duplica el centrosoma, repartiendo los microtúbulos entre ambos centrosomas. La célula está lista para dividirse.**

- duplicamos el número de componentes del córtex. Es decir, insertamos nuevas partículas entre cada par de partículas adyacentes del córtex, y reorganizamos y aumentamos la malla de muelles que las interconecta. Las longitudes en reposo de dichos muelles deben reducirse a la mitad.
- duplicamos el número de microtúbulos, insertando los extremos finales de los nuevos en las partículas recién añadidas al córtex.



-escogemos un plano de división y creamos un nuevo centrosoma (inicialmente en la misma posición que el inicial), repartiendo los microtúbulos entre ambos centrosomas según la orientación del plano de división.

En los primeros experimentos se incluyeron también dos estructuras típicas de las células reales en las últimas fases de la mitosis, que son las principales responsables de los cambios morfológicos de dichas fases. Podemos verlas en la **Figura 4.3**:



**Figura 4.3. Modelado de estructuras citoesqueléticas de la mitosis**

**El eje mitótico es una estructura que tiende a separar las dos mitades de la célula en división: se modela mediante un muelle rígido y comprimido interpuesto entre los dos centrosomas. El cinturón citocinético estrangula la célula en división por la mitad: se modela mediante un sistema de muelles rígidos y tensados, insertados en la zona del córtex que debe sufrir el estrangulamiento.**

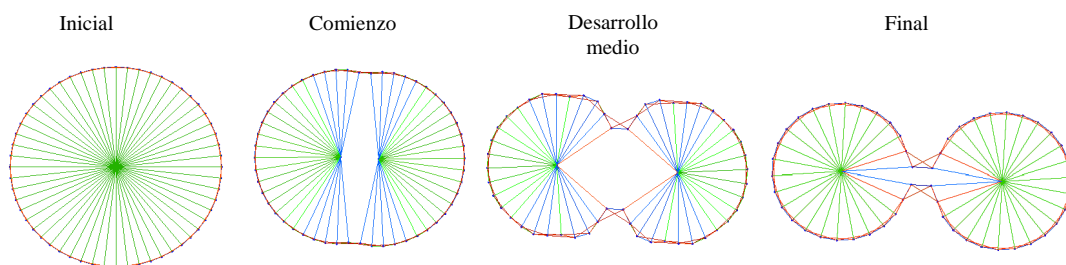
-el eje mitótico, una configuración de microtúbulos que tiende a separar en particular los cromosomas de cada célula hija, y en general a desplazar mecánicamente los componentes celulares. Lo modelamos como un muelle altamente comprimido insertado entre los dos centrosomas.

-el cinturón citocinético, una estructura de microfilamentos adherida al córtex a lo largo del plano de división que va estrechándose para crear la separación entre las dos células hijas, e ir estrangulándola progresivamente. Lo modelamos mediante varios muelles fuertemente tensados, insertados entre las partículas cercanas al plano de división.

No obstante, pronto se comprobó que no eran necesarios para que se produjeran los cambios geométricos en nuestro modelo de mitosis, por lo que dejaron de incluirse.

### 4.1.2. CAMBIOS GEOMÉTRICOS

Una vez hemos realizado las modificaciones descritas en el apartado anterior, estamos en disposición de variar los parámetros del grafo para reproducir el característico plegamiento de la mitosis. En un principio, como se señalaba en el apartado anterior, dicho cambio era gobernado por el eje mitótico y el cinturón citocinético. No obstante, hace falta además acomodar las longitudes en reposo  $r^i$  de los muelles que modelan los microtúbulos y el córtex a la nueva geometría, y como ya hemos dicho se comprobó que el propio proceso de acomodar las  $r^i$  producía los cambios geométricos deseados, como se puede apreciar en la **Figura 4.4**:



**Figura 4.4. Cambios geométricos en el modelo de mitosis**

**La mitosis progresa según se van adaptando progresivamente las longitudes en reposo de los muelles que modelan las distintas partes del citoesqueleto. Los de los microtúbulos se acortan y los del córtex se alargan. Si la transición ocurre de una manera lo suficientemente gradual, los cambios geométricos del modelo reproducen los de las células reales en su última fase de mitosis.**

Estas variaciones de las  $r^i$  deben ser graduales y estar bien orquestadas, o de lo contrario se introduce en demasiado poco tiempo una gran cantidad de energía en el modelo físico de célula, lo que puede distorsionar gravemente su forma. Asimismo, la duración del cambio debe ser aproximadamente el doble para los muelles del córtex que para los de los microtúbulos, de forma que el cambio inducido en los segundos guíe el plegamiento del primero.

Si llamamos  $m_o$ ,  $m_a$ ,  $m_b$ ,  $c_o$ ,  $c_a$ ,  $c_b$  a las longitudes en reposo  $r^i$  de los muelles de los microtúbulos y el córtex para las células original, hija A e hija B respectivamente, y  $n_o$ ,  $n_a$ ,  $n_b$  al número de microtúbulos de cada una (evidentemente  $n_o = n_a + n_b$ ), entonces podemos definir cuatro sencillas ecuaciones que describen cómo deben variar las  $r^i$  para que se produzca la mitosis:

$$m_a = m_o \cdot \sqrt{\frac{n_a}{n_o}}$$

$$m_b = m_o \cdot \sqrt{\frac{n_b}{n_o}}$$

$$c_a = c_o \cdot \sqrt{\frac{n_o}{n_a}}$$

$$c_b = c_o \cdot \sqrt{\frac{n_o}{n_b}}$$

Estas ecuaciones se derivan de las siguientes restricciones:

-la suma de las áreas (en 3D, volúmenes) de las células hijas debe ser igual al área de la célula original.

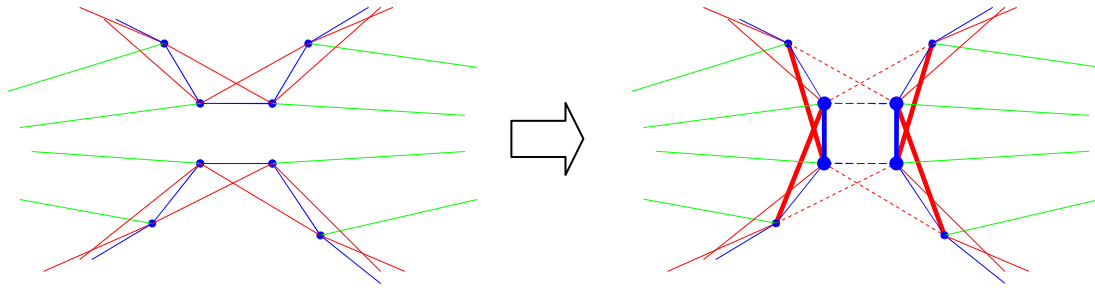
-admitiendo la posibilidad de divisiones asimétricas (lo cual es un mecanismo morfogénico registrado en una amplia variedad de procesos embrionarios, por ejemplo [23]), tomamos la proporción de microtúbulos heredada por cada hija como una medida de la repartición del material celular.

En caso de que la repartición de microtúbulos sea equitativa, los coeficientes son  $(\sqrt{2})^{-1}$  para los muelles de los microtúbulos y  $\sqrt{2}$  para los muelles del córtex.

### **4.1.3. FINALIZACIÓN DE LA CITOCINESIS**

Podemos dar por terminada la citocinesis cuando el estrangulamiento es casi completo, esto es, cuando detectamos que los vértices opuestos de cada célula hija están lo suficientemente cerca entre sí. En dicha situación hemos de modificar el grafo para terminar la mitosis. Se investigaron varias formas de hacerlo, decantándonos finalmente por la que describiremos a continuación, por su sencillez y simetría sobre las otras alternativas.

Para completar la mitosis hemos de alterar el grafo, en concreto, la zona de unión que se va estrechando, tal y como se aprecia en la **Figura 4.5**:



**Figura 4.5. Modificación del grafo**

**Para terminar la citocinesis, se modifica el grafo de muelles, separando totalmente las dos células hijas del proceso de mitosis.**

Esta transformación ocurre cuando las partículas de la zona estrangulada (en citocinesis) están lo suficientemente cerca entre sí. Hay que destacar que haciendo uso de las etiquetas de muelles y partículas (célula a la que pertenecen y tipo) es posible definir reglas basadas en la conectividad local que implementen la modificación del grafo, formulándola como los cambios necesarios para que se preserve el patrón de conectividad entre los distintos tipos de muelles del modelo celular.

## **4.2. MULTICELULARIDAD**

Una vez conseguida la simulación de la mitosis de forma aislada y sin influencias exteriores, nuestro objetivo es simularla en las condiciones del embrión temprano (mórula).

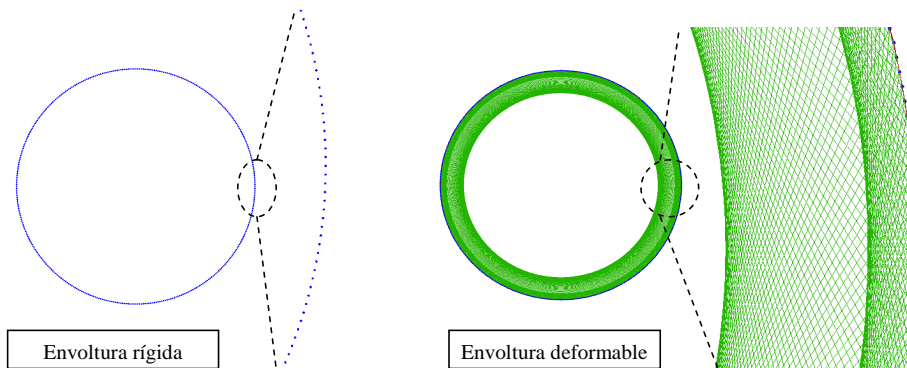
### **4.2.1. ENVOLTURA**

En muchos tipos de embriones el cigoto está cubierto por una capa de matriz extracelular densa y relativamente rígida, que proporciona soporte mecánico para algunos de los movimientos morfogénicos tempranos. Por ejemplo, en los mamíferos, esta envoltura se denomina *zona pellucida* [3].

La mitosis que hemos descrito en el apartado anterior modela relativamente bien la mitosis real de células aisladas en placas de cultivo, pero para que se parezca más a la observada en los estadios tempranos del embrión hemos de introducir de alguna manera influencias que

tiendan a mantener juntas las células hijas durante el proceso de división. Esto se consigue adecuadamente mediante el uso de una envoltura en torno al cigoto.

Una vez establecida la conveniencia de introducir en el modelo una envoltura, se barajaron dos posibilidades de implementación:



**Figura 4.6. Modelos de envoltura para embriones**

**Los embriones suelen estar rodeados de una envoltura relativamente rígida en su fase temprana, que condiciona la disposición de sus células en las etapas iniciales. En esta figura mostramos dos alternativas para modelar esta estructura: una disposición circular de partículas inamovibles (velocidades forzadas nulas) y una estructura circular tensegrital con alta conectividad para darle rigidez y consistencia frente a las deformaciones. La sencillez y eficiencia computacional de la primera opción son las razones determinantes para preferirla sobre la segunda.**

-usar un conjunto de partículas equiespaciadas en una circunferencia, inmóviles (es decir, con sus velocidades forzadas a 0 durante toda la simulación). De esta forma conforman una pared rígida e inamovible contra la que se apoyan las células del interior.

-usar una estructura similar a la del córtex celular, pero con muchas más partículas, y gran cantidad de muelles insertos entre partículas de zonas relativamente alejadas para darle mayor consistencia, usando constantes de rigidez  $k^i$  muy altas.

La segunda opción es indudablemente más realista, pero en realidad no difiere en sus resultados mucho de la primera opción, y como ésta es mucho más eficiente, fue la escogida.

Una cuestión importante es cómo impiden las envolturas que las células salgan fuera. El efecto de armonización de movimientos para prevenir la superposición de objetos es obviamente la solución, pero este mecanismo está en principio diseñado para que las partículas de un objeto no puedan penetrar dentro de otro objeto, no para que no puedan

escapar de dentro (de hecho, se intenta que escapen de dentro para minimizar la superposición).

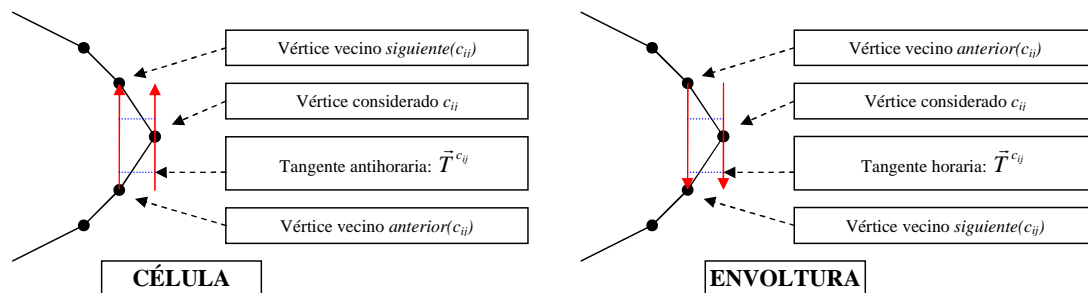


Figura 4.7. Inversión del sentido de detección de superposición

El efecto de prevención de superposición está orientado a impedir que dos objetos se solapen. Por el contrario, la envoltura rodea completamente a las células y nuestro objetivo es que éstas no se salgan de la envoltura. Mediante el sencillo procedimiento de invertir las nociones de partícula anterior y siguiente en la envoltura respecto a las células, cambiamos la forma en que funciona el efecto físico (véase el apartado 2.3.1), de forma que evita que las células escapen del interior de la envoltura.

Este dilema se resuelve fácilmente invirtiendo en las envolturas el concepto de partículas vecinas anterior y siguiente: mientras que en los objetos que no deben superponerse (las células) la vecina anterior está en sentido horario y la siguiente en sentido antihorario, en los objetos que deben actuar como envolturas debe ser al revés. De esta forma, la normal de contacto está invertida respecto a la situación usual, y el mecanismo de armonización impide que las células salgan de la envoltura.

#### 4.2.2. DEFORMABILIDAD CELULAR

El modelo de célula que hemos presentado hasta ahora para simular la mitosis tiene el inconveniente de que adquiere demasiada energía si lo deformamos desviándolo de la circularidad (por ejemplo, para tomar una forma ovalada). Esta elevada energía potencial se traduce en una fuerte inestabilidad en condiciones de deformación, con lo que los modelos celulares fácilmente pueden quedar desnaturalizados (es decir, con su geometría alterada hasta el punto de que ya no representen adecuadamente una célula real).

La manera más directa de reducir ese riesgo es disminuir la energía potencial adquirida por la célula en la deformación, mediante la adaptación de las longitudes en reposo  $r^i$  de los muelles de los microtúbulos a sus longitudes reales  $d^i$ . Pensando en clave biológica, en las células

reales ciertamente los microtúbulos se adaptan, dentro de ciertos límites, a la morfología de la célula [3].

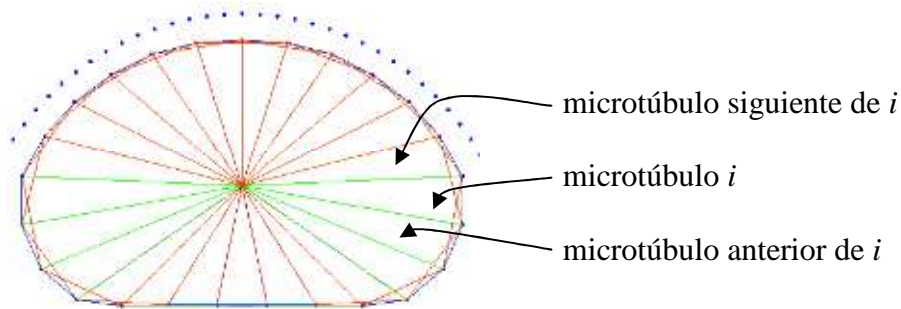


Figura 4.8. Deformabilidad celular

El modelo celular debe ser capaz de deformarse sin ganar una excesiva cantidad de energía, que se traduce en inestabilidad de la forma del modelo. Los efectos que hemos implementado para impedirlo hacen uso de la noción de vecinos anterior y siguiente aplicada a los microtúbulos.

$$\forall t. \sum_{\forall j \in k} r^j(t) = \sigma \Leftrightarrow \forall t. \sum_{\forall j \in k} \dot{r}^j(t) = 0 \quad (4.1)$$

Pero antes de describir los efectos físicos, presentamos una restricción que deben cumplir: la suma de las longitudes en reposo de todos los microtúbulos de la célula debe permanecer invariante en el tiempo. Esto es necesario porque de lo contrario la célula podrá variar de área (en 3D, volumen) sin control, mientras que en una simulación razonable esperamos que la cantidad de espacio ocupado por una célula no varíe demasiado. Una forma de asegurarnos de que se cumple la restricción es controlar que en cada célula la suma de las  $\dot{r}^i$  (derivadas de las longitudes en reposo) es siempre 0. Una vez descrita esta restricción, podemos presentar los efectos implementados.

$$\dot{r}_D^i = x^i \cdot \lambda_D^k - \frac{\lambda_D^k \cdot \sum_{\forall j \in k} x^j}{M^k} \quad (4.2)$$

Para un microtúbulo  $i$  perteneciente a una célula  $k$  se expresa una perturbación  $\dot{r}_D^i$  de su longitud en reposo  $r^i$ . Esta perturbación tiende a aproximar la  $r^i$  a la longitud real  $d^i$ , pero preservando la restricción (4.1).  $\lambda_D^k$  es la constante de acoplo (coeficiente de intensidad) del efecto para la célula  $k$ , de modo que a mayor  $\lambda_D^k$  más rápido varían las  $r^i$  de los microtúbulos.  $M^k$  es el número de microtúbulos de la célula  $k$ . Este efecto disminuye la

energía potencial de los microtúbulos fuertemente estresados, a la vez que proporciona al modelo un comportamiento físicamente plausible: si la célula es comprimida en una región, tiende a expandirse en el resto de su perímetro.

$$\dot{r}_C^i = \lambda_C^k \cdot \left( \frac{\sum_{\forall j \in k} r^j}{M^k} - r^i \right) \quad (4.3)$$

No obstante, el efecto de deformación definido arriba sólo permite que la célula sea *plástica*, lo cual es solamente la mitad del comportamiento deseado: cuando se disminuye el estrés es necesario que la célula tienda de nuevo a la circularidad. Este es el comportamiento esperado para una célula que no modifique activamente su morfología, lo cual es una aproximación inicial bastante buena para las células del embrión temprano. Para ello definimos otra perturbación a las  $\dot{r}^i$  que tiende a igualar las  $r^i$  de todos los microtúbulos de una misma célula, o sea, tiende a darle una forma circular. Esta perturbación,  $\dot{r}_C^i$ , se define para cada radio como proporcional a la discrepancia entre su  $r^i$  y la media de las  $r^i$  de todos los microtúbulos de la célula. Debe usarse una constante de acoplo  $\lambda_C^k$  pequeña para que  $\dot{r}_C^i$  no predomine sobre el efecto  $\dot{r}_D^i$ .

$$\dot{r}_N^i = \lambda_N^k \cdot \frac{\mu_{N\ ant}^k \cdot r^{ant(i)} + \mu_N^k \cdot r^i + \mu_{N\ sig}^k \cdot r^{sig(i)}}{\mu_{N\ ant}^k + \mu_N^k + \mu_{N\ sig}^k} \quad (4.4)$$

Pero aún debe incluirse un tercer efecto, debido a que en ocasiones un microtúbulo puede sufrir una variación importante de su  $r^i$  por el efecto de  $\dot{r}_D^i$ , mientras que los microtúbulos vecinos no sufren dicho estrés o incluso sufren uno inverso, que hace que localmente haya gran variabilidad en las  $r^i$ . Esta variabilidad introduce inestabilidad en el modelo, es decir, que facilita la desnaturalización del modelo celular con la consecuente pérdida de validez para la simulación. Para disminuir esta variabilidad, se introduce un efecto de nivelación  $\dot{r}_N^i$  que tiende a igualar las  $r^i$  de cada microtúbulo con las de sus vecinos anterior y siguiente.  $\dot{r}_N^i$  consiste en una perturbación proporcional al promedio ponderado de las  $r^i$  de los microtúbulos del entorno local, donde la constante  $\lambda_N^k$  modula la intensidad del efecto, y donde  $\mu_{N\ ant}^k$ ,  $\mu_N^k$  y  $\mu_{N\ sig}^k$  son las constantes de ponderación.

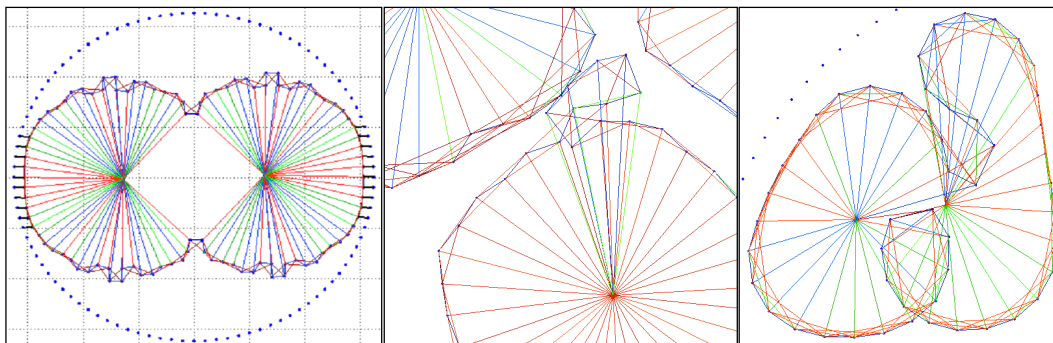


$$\dot{r}^i = \dot{r}_D^i + \dot{r}_C^i + \dot{r}_N^i \quad (4.5)$$

Así, combinando los tres efectos, obtenemos una  $r^i$  variable para los microtúbulos, con una dinámica que minimiza la inestabilidad asociada a las deformaciones, y que dotan a nuestro modelo celular de un comportamiento físico coherente. Hay que destacar que cada uno de los tres efectos cumple la restricción (4.1) independientemente de los demás, lo que facilita el ajuste de los parámetros.

### 4.2.3. MITOSIS EN SITUACIONES DE COMPRESIÓN

El modelo de mitosis aislada descrito anteriormente es inadecuado en el marco del desarrollo embrionario, pues en tal situación es fácil que la célula en división se halle comprimida leve o fuertemente, lo que facilita que durante la mitosis se adopten configuraciones erróneas, algunas de las cuales se pueden ver en la **Figura 4.9**:



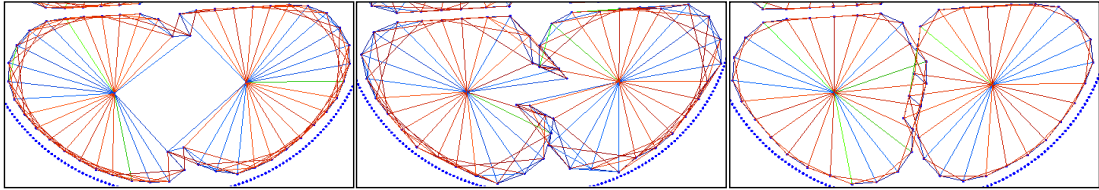
**Figura 4.9. Desnaturalización del modelo celular**

**La desnaturalización es la alteración de la geometría del modelo hasta el punto de que deja de representar adecuadamente una abstracción de las células reales. Puede ocurrir por múltiples causas, asociadas a una compresión que añade demasiada energía a los muelles, o por efecto de la discretización espacial y temporal de la simulación.**

-tras la duplicación de los componentes celulares, el córtex celular se convierte en una estructura más dúctil. La energía suministrada mediante la variación de las  $r^i$  se puede invertir en la aparición de arrugas en el córtex en vez de en el plegado y estrangulamiento citocinético.

-otra posible consecuencia es la formación de rizos en la estructura espacial del córtex celular, con lo que ésta deja de ser el modelo de una célula real.

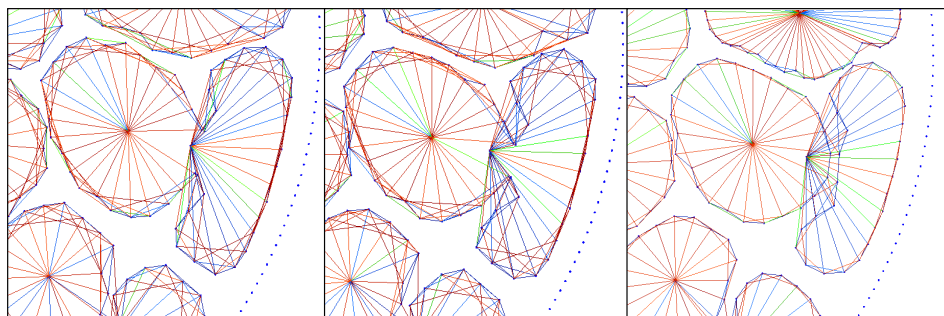
-si el grado de compresión es muy alto, el estrangulamiento citocinético puede no ocurrir debido a que energéticamente sea más favorable para el córtex adoptar una forma alargada o sinuosa en la zona de citocinesis.



**Figura 4.10. Superposición por asimetría**

**La fuerte compresión a la que se somete el modelo durante la mitosis puede generar asimetrías y pares de fuerzas que desnaturalizan el proceso de división, y que en el mejor de los casos desembocan en superposiciones imposibles de detectar que arruinan la simulación. Nuestra solución para prevenir estos problemas consiste en introducir efectos físicos adicionales durante la mitosis.**

-frecuentemente la situación es asimétrica, de modo que una de las células hijas se pliega más fácilmente que la otra, lo que puede desembocar en superposiciones severas que no pueden arreglarse.



**Figura 4.11. Desnaturalización por salida de centrosoma**

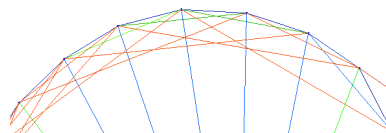
**Otra forma en que se puede desnaturalizar una célula es por una fuerte asimetría durante la división, debida a que una de las células hijas gana anchura mucho más rápidamente que la otra. El juego de fuerzas resultante puede empujar el centrosoma fuera del córtex. Este efecto se previene introduciendo efectos físicos adicionales durante la mitosis**

-también bajo compresiones muy altas es posible que durante la citocinesis las fuerzas que soporta el centrosoma de una de las células hijas sean más altas en el polo opuesto que en la zona de la citocinesis, con lo que en algunos casos el centrosoma sale fuera del córtex, quedando el modelo celular completamente desnaturalizado (ya no puede representar de ninguna manera a una célula).

Estos problemas se pueden presentar en el modelo si se dan situaciones de compresión lo bastante altas. Lo que se precisa es modificar la simulación para que el límite de compresión a partir del cual empiezan los problemas sea mayor. Esto lo conseguimos a través de una serie de modificaciones, de las cuales sólo describiremos las que no hemos ido descartando durante el desarrollo del modelo:

-en la aplicación de la armonización de movimientos para prevenir la superposición, variamos las distancias de actuación  $L_{MIN}$  y  $L_{MAX}$  proporcionalmente al radio de las células en peligro de superposición. De esta manera se hacen más pequeños conforme se dividen las células, aumentando el espacio disponible para cada una y disminuyendo la compresión a la que están sometidas. Esto puede interpretarse en clave biológica como una disminución del grosor de la matriz extracelular conforme las células disminuyen de tamaño.

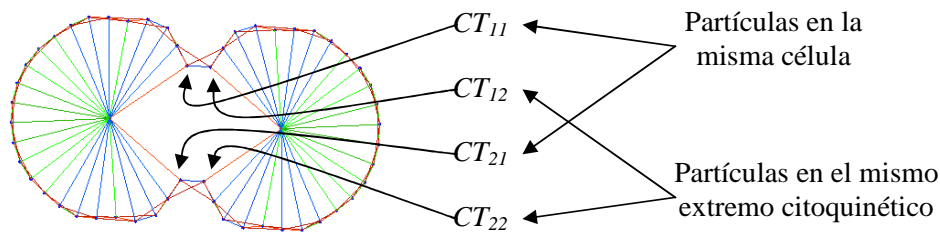
-si la mitosis es muy asimétrica se incrementa el riesgo de desnaturalización del modelo, por lo que intentamos repartir los microtúbulos a partes iguales entre las dos células hijas. Por otra parte, la elección del plano de división debe hacerse cuidadosamente si la célula es alargada: la desnaturalización se hace más probable si se escogen planos de división alargados. Por ello, en estas simulaciones, usaremos el siguiente criterio de elección del plano de división: escoger aquel en el que se minimice la elongación de la forma celular.



**Figura 4.12. Muelles de membrana auxiliares**

**La desnaturalización por arrugamiento del córtex ocurre cuando hay gran cantidad de partículas en el córtex (típicamente justo al comienzo de la mitosis), lo que implica una baja barrera de energía para la formación de arrugas. Este problema se resuelve insertando muelles en el córtex, entre pares de partículas más distantes:  $(n, n+4)$ . El efecto de estos muelles es dificultar la aparición de fuertes curvaturas locales.**

-en lo que se refiere a arrugas y rizos, el problema es que conforme aumenta el número de partículas del córtex, disminuye la barrera energética que los hace desfavorables. Para mantenerlos desfavorables, insertamos muelles adicionales (denominados auxiliares) entre cada par  $(n, n+4)$  de partículas del córtex mientras dura el cambio geométrico de la mitosis. De este modo le damos consistencia al córtex. Cuando se modifica el grafo para terminar la citocinesis, dichos muelles son eliminados.



**Figura 4.13. Partículas del estrangulamiento citocinético**

Se detalla la nomenclatura seguida para las partículas de la zona del córtex en la que se produce el estrangulamiento citocinético, para facilitar la descripción de los efectos físicos representados en las figuras siguientes.

-muchos de los fallos ocurren debido a las asimetrías de plegamiento entre ambas células hijas. Estas asimetrías provocan que los extremos del estrangulamiento citocinético no se acerquen entre sí en posición paralela, o incluso que no se puedan acercar. Para remediar esto, introducimos tres efectos físicos aplicados de forma sucesiva que afectan a las partículas del estrangulamiento citocinético, y combinados contribuyen a un proceso de mitosis mucho más robusto:

-añadimos una fuerza de atracción (que se manifestará como una aceleración adicional, **Figura 4.14** y Cuadro 4.1) entre las partículas  $CT_{1k}$  y  $CT_{2k}$  de una misma célula hija  $k$ . En principio dicha fuerza de atracción podría ser un simple muelle tensado, pero esta solución no es práctica, pues el muelle ejercería mayor fuerza al principio que al final, justo al contrario de lo que queremos. Resulta más sencillo aplicar directamente la fuerza deseada sobre las partículas, expresada como sendas aceleraciones  $\vec{A}_Q^{CT_{1k}}$  y  $\vec{A}_Q^{CT_{2k}}$ . Esta fuerza es proporcional a la mitad del radio celular  $R^k$  pero está modulada por un factor temporal  $F_t$ , de forma que inicialmente es nula, y sólo alcanza su pleno rendimiento cuando los muelles de los microtúbulos terminan de encogerse. Este efecto ayuda a que se produzca la citocinesis la compresión lo impidiera en un principio.

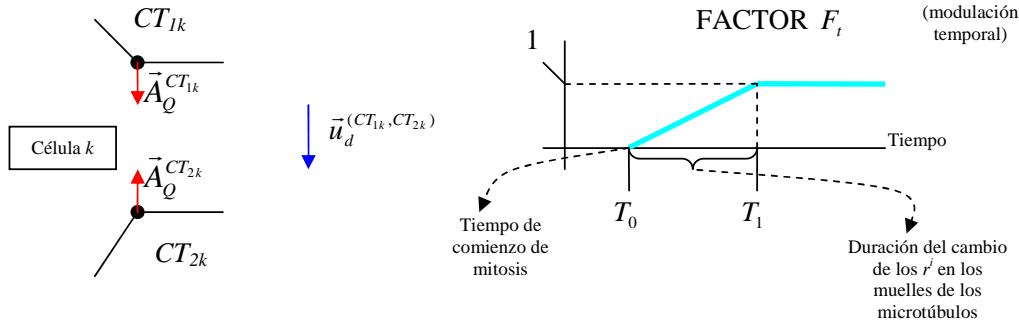


Figura 4.14. Efecto de estrangulamiento citocinético

Se introduce una fuerza de atracción entre partículas citocinéticas de una misma célula hija. Esto tiene el efecto de favorecer el estrangulamiento citocinético. La fuerza es proporcional al tamaño celular y se intensifica desde ser nula al comienzo de la mitosis hasta un valor máximo al finalizar la adaptación de los microtúbulos.

#### Cuadro 4.1. Ecuaciones para el efecto de estrangulamiento citocinético

Las magnitudes definidas se corresponden con las de la Figura 4.14.

$$\vec{u}_d^{(CT_{1k}, CT_{2k})} = \frac{\vec{P}^{CT_{2k}} - \vec{P}^{CT_{1k}}}{|\vec{P}^{CT_{2k}} - \vec{P}^{CT_{1k}}|}$$

$$F_t = \begin{cases} \frac{t - T_0}{T_1 - T_0} & \text{si } T_0 < t < T_1 \\ 1 & \text{si } t > T_1 \end{cases}$$

$$\vec{A}_Q^{CT_{1k}} = \frac{\vec{u}_d^{(CT_{1k}, CT_{2k})} \cdot F_t \cdot R^k}{2}$$

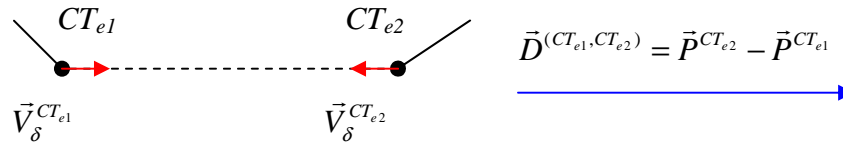
$$\vec{A}_Q^{CT_{2k}} = \frac{-\vec{u}_d^{(CT_{1k}, CT_{2k})} \cdot F_t \cdot R^k}{2}$$

$$\vec{V}^{CT_{e1}} = \vec{V}^{CT_{e2}} = \frac{\vec{V}_{PREVIA}^{CT_{e1}} + \vec{V}_{PREVIA}^{CT_{e2}}}{2} \quad (4.6)$$

$$\vec{A}^{CT_{e1}} = \vec{A}^{CT_{e2}} = \frac{\vec{A}_{PREVIA}^{CT_{e1}} + \vec{A}_{PREVIA}^{CT_{e2}}}{2} \quad (4.7)$$

-promediamos el movimiento (velocidades y aceleraciones) de las partículas  $CT_{e1}$  y  $CT_{e2}$  de un mismo extremo citocinético (cada una pertenece a una célula distinta). Mediante este efecto (Figura 4.15) se incrementa la comunicación de fuerzas entre ambas células hijas, lo que ayuda a disminuir las asimetrías que producen alteraciones en el paralelismo y movimiento unísono de ambos extremos citocinéticos. Además, se estorba que el córtex de una de las células invada el interior de la otra. Esto vuelve

inefectivo el muelle que se sitúa entre ambas partículas (puede incluirse o no en la simulación, a discreción).



**Figura 4.15. Acortamiento del canal citocinético**

**Se introduce un efecto que acorta el canal citocinético, lo que redundará en una mayor estabilidad del proceso de mitosis. Se implementa mediante perturbaciones sumadas a la velocidad, que tienden a acercar las partículas.**

$$\vec{V}_{\delta}^{CT_{e1}} = \vec{D}^{(CT_{e1}, CT_{e2})} \cdot 0.03 \quad (4.8)$$

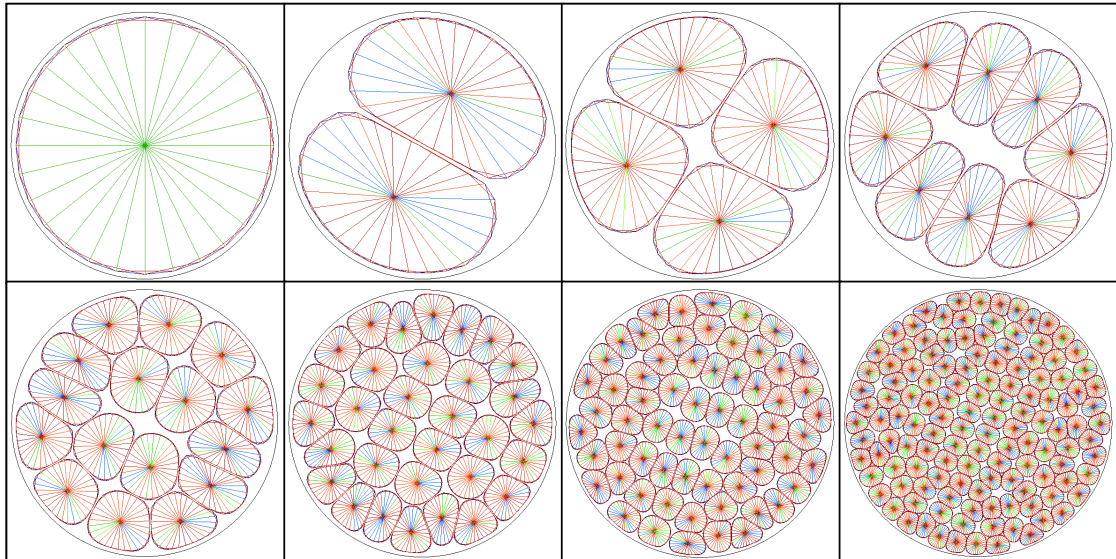
$$\vec{V}_{\delta}^{CT_{e2}} = -\vec{D}^{(CT_{e1}, CT_{e2})} \cdot 0.03 \quad (4.9)$$

-aplicamos  $\vec{V}_{\delta}^{CT_{e1}}$  y  $\vec{V}_{\delta}^{CT_{e2}}$  como sendas perturbaciones en velocidad muy pequeñas a las partículas  $CT_{e1}$  y  $CT_{e2}$  de un mismo extremo citocinético (es decir, sumamos a sus velocidades dichas perturbaciones), cuyos movimientos previamente hemos promediado. Estas perturbaciones son proporcionales a la distancia que separa a las partículas y tienden a acercarlas. Esto mejora los resultados del efecto de promediado, y deja más espacio disponible para que cada célula hija se pliegue.

Aplicando estos efectos físicos (de forma consecutiva) y cambios en el modelo conseguimos que la mitosis pueda tener lugar a pesar de la alta compresión a la que se someten las células.

#### **4.2.4. RESULTADOS**

Así, aplicando estas modificaciones al modelo original de mitosis, se pudieron obtener simulaciones sencillas en las que las instrucciones celulares se reducían a dividirse una y otra vez. Partiendo de un único cigoto original, se iban consiguiendo cada vez mayor número de células. De este modo, obtenemos un marco a partir del cual poder modelar embriones en sus primeros estadios. En la **Figura 4.16** podemos ver distintos instantes de una simulación en la que se producen siete rondas de división (128 células):

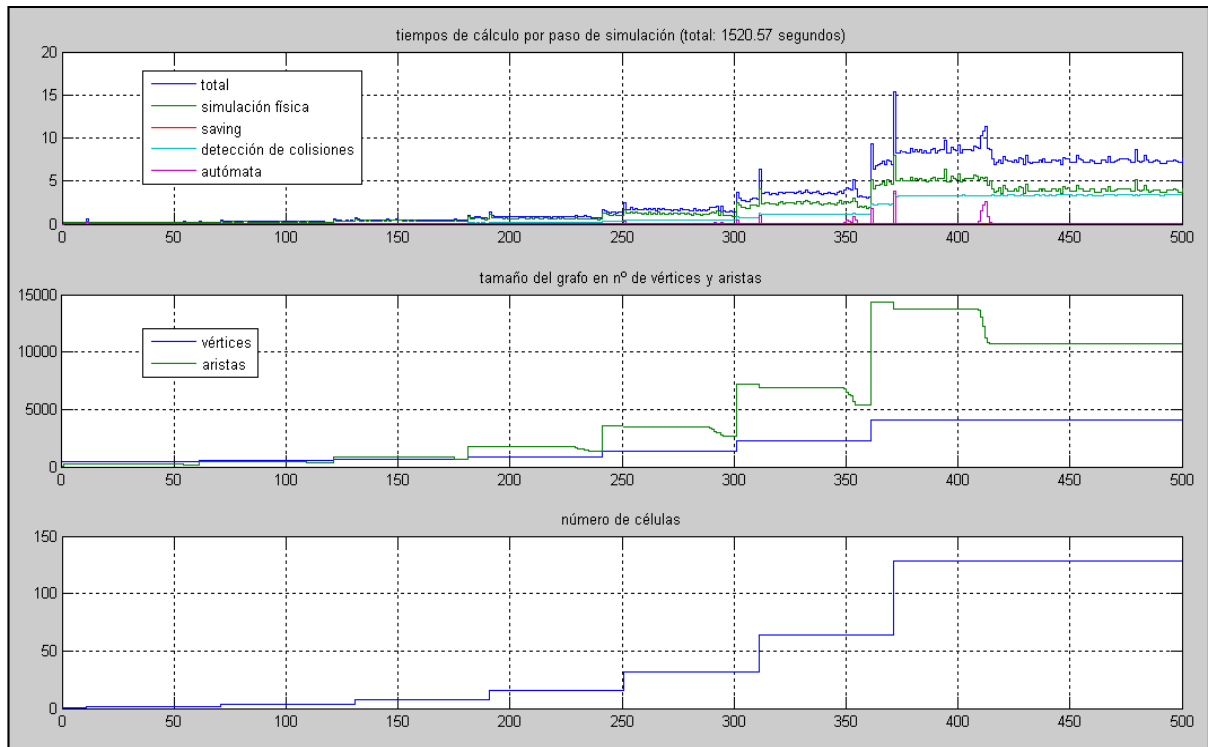


**Figura 4.16. Instantes de una simulación**

**En esta simulación, cada célula simplemente sufre una mitosis tan pronto como ha finalizado la anterior, conduciendo a un crecimiento exponencial del número de células simuladas. El límite práctico de simulación se sitúa alrededor de las 100 células.**

No obstante, el costo computacional impone límites prácticos al número de células que se pueden simular simultáneamente, tanto en términos de tiempo como de memoria, más allá de los cuales no es conveniente la simulación. Esto pone el límite práctico en la simulación simultánea de alrededor de unas 100 células.

En el perfil de rendimiento de la **Figura 4.17** podemos ver cómo los tiempos de cómputo por paso de simulación se aumentan conforme se incrementa la cantidad de células simuladas, desde aproximadamente 0.1 segundos cuando sólo está el cigoto hasta 7 u 8 segundos cuando el embrión llega a la etapa de 128 células.



**Figura 4.17. Perfil de rendimiento de la simulación**

Gráficas de rendimiento para la simulación de la Figura 4.16. En los ejes horizontales se representa el tiempo de simulación (500 unidades de tiempo), y en los verticales tiempos desglosados, número de partículas/muelles y de células, respectivamente. En la primera gráfica se desglosa el tiempo total de cada paso de simulación (azul): simulación de la física (verde), escritura a disco de resultados (rojo), detección de superposición (celeste) y modificación del grafo (rosa).



## **5. EXPERIMENTOS SOBRE MODELOS DE EMBRIONES**

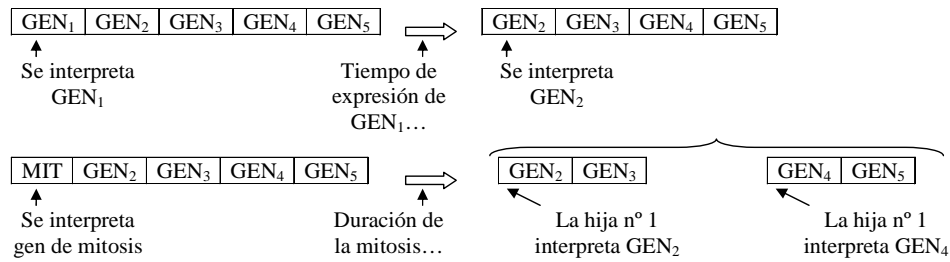
Describiremos ahora algunas experiencias realizadas tomando como base el modelo básico de proceso embrionario desarrollado en el apartado anterior.

### **5.1. CONTROL GENÉTICO**

Una vez que hemos conseguido desarrollar simulaciones de individuos multicelulares, el siguiente paso natural es introducir un mecanismo que controle la forma en que se desarrolla, es decir, un genoma. En las células reales, el genoma conforma redes de regulación genética, como hemos explicado anteriormente en el apartado 1.4.1. La dinámica temporal de dichas redes de regulación interacciona con el estado mecánico-químico de la célula, provocando diversos cambios, como la migración o la mitosis (por mencionar sólo algunos de los que hemos modelado desde una perspectiva puramente física).

Así pues, si queremos mejorar la utilidad de nuestro modelo de embrión multicelular para la exploración de las maneras en que las características biofísicas del embrión cooperan a determinar su patrón de desarrollo, es muy conveniente introducir un genoma como mecanismo de control del desarrollo, de forma que idealmente podríamos plantear experimentos en los que explorar cómo determinados efectos inducidos por el genoma afectan al patrón de desarrollo embrionario.

Aunque sería deseable implementar directamente un modelo de genoma que permita usar redes de control genético, como primera aproximación resulta tener una complejidad excesiva. Mientras no se necesite modelar un comportamiento muy complicado y/o que esté basado parcialmente en información exterior (sensores mecánicos o químicos), se puede abstraer el genoma como una serie de comandos aplicados secuencialmente a la célula.



**Figura 5.1. Genoma secuencial**

**En este modelo de genoma, los genes codifican cambios en el comportamiento celular, expresados de forma secuencial. Ante la mitosis, la secuencia de genes de la célula madre se divide entre las hijas.**

Denominaremos esta simplificación como *genoma secuencial*. Básicamente, la idea de este tipo de genoma consiste en que la célula es un autómatas que ejecuta los comandos de su genoma uno a uno. Denominaremos a cada uno de estos comandos *genes*, y al acto de ejecutarlos como *expresarlos*. Los genes pueden tener parámetros. Cuando la célula se encuentra con un gen que la impulsa a desarrollar una mitosis, reparte la lista de genes que quedan por expresar entre las dos células hijas.

Un importante mecanismo morfogénico en una amplia variedad de organismos es la división asimétrica en los estadios iniciales del embrión [3]. Por tanto, antes de incluir otros efectos más sofisticados como cambios de tamaño, de forma o migraciones celulares, se implementó un gen de mitosis que permitiera divisiones asimétricas, de modo que los genomas en un principio constan simplemente de una secuencia de genes de mitosis, posiblemente cada uno con distintos parámetros.

Los parámetros son (**Figura 5.2**):

- $REP \in [0..1]$ , que decide qué tanto por ciento de genoma se reparte a cada célula hija tras la mitosis.
- $s_\delta$ , que regula la intensidad de la asimetría. Cada célula  $k$  tiene un factor de asimetría  $s_k$ , cuyo valor es regulado dentro de ciertos límites por  $s_\delta$ . En ausencia de este mecanismo la mitosis produciría dos células de radios (suponiéndolas libres de presiones externas)  $R_1$  y  $R_2$ . Este mecanismo de asimetría perturba dichos radios de forma que se conserve la suma de las áreas de ambas células, convirtiéndolos en  $R'_1$  y  $R'_2$ . El valor de  $s_k$  tiene que estar regulado dentro de un margen relativamente

estrecho debido a que nuestro modelo de mitosis funciona mal cuando existen fuertes asimetrías.

$-d_\delta$ , que regula la duración de la mitosis. La mitosis tiene una duración estándar  $T_0^M$ , y cada célula  $k$  tiene un factor  $d_k$  perturbado por  $d_\delta$  de tal manera que la duración efectiva de la mitosis  $T_k^M$  varía entre la mitad y el cuádruplo de  $T_0^M$ .

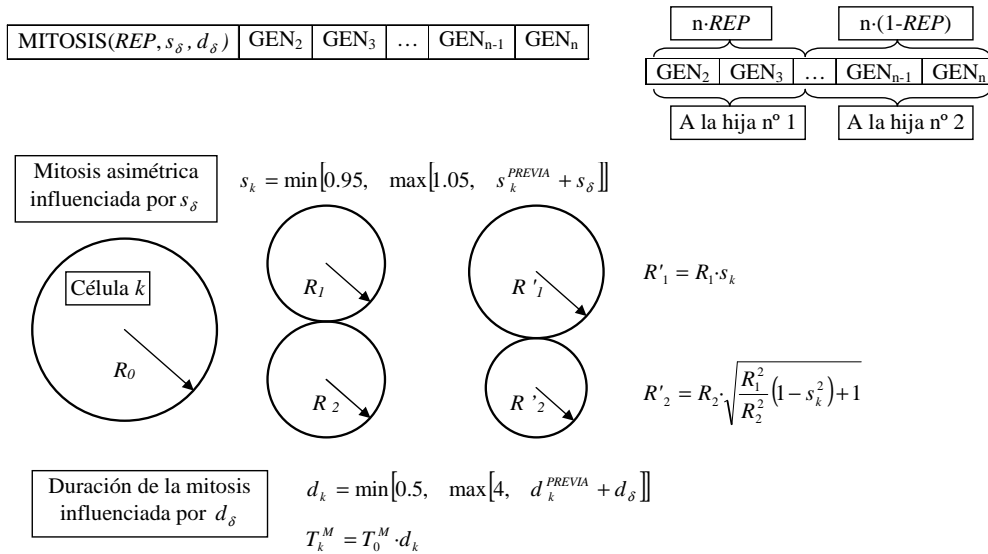


Figura 5.2. Gen de mitosis

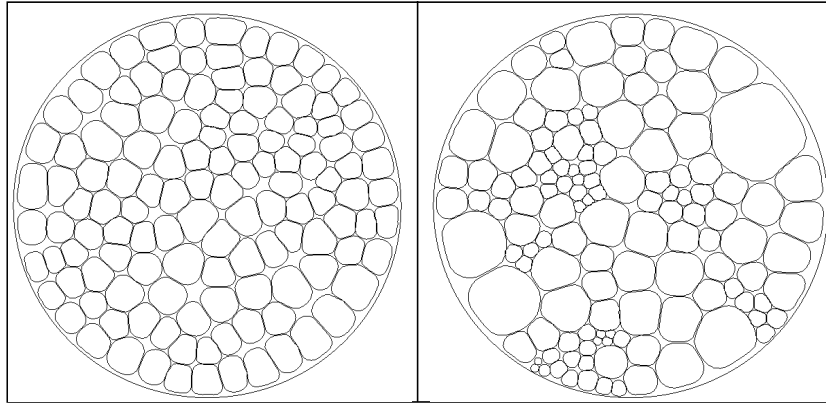
El gen de mitosis toma tres parámetros, que regulan cómo se repartirán las dos células hijas el resto de la secuencia de genes, cómo de asimétrica será la división y cuánto durará el proceso de mitosis.

La forma en que se especifica el funcionamiento de los parámetros para la asimetría y la duración se denomina, en la terminología del control de sistemas, *control en velocidad*. Tiene la ventaja de que se puede considerar como abstracción de un modelo más complejo, en el que distintas subredes de regulación genética determinan la asimetría y duración de la mitosis, de manera que podemos ver los parámetros del gen de mitosis como perturbaciones en el funcionamiento de dichas redes regulatorias.

Por sencillez, en la implementación se usa un formato de cadena de caracteres para especificar el genoma. El gen de mitosis se especifica mediante una 'M' seguida de tres números terminados en punto y coma que son cada uno de los tres parámetros del gen de mitosis. Así, por ejemplo, 'M0.5;0.01;-0.3;M0.75;-0.02;1.1;' sería un genoma válido.

Asimismo, se introdujeron modificaciones en el sistema de visualización para mejorar las imágenes obtenidas y obtener información adicional por vía visual:

- posibilidad de dibujar las siluetas de las células y la envoltura en vez de todas las partículas y muelles.
- posibilidad de visualizar el estado de cada célula (expresando un gen, ociosa, etc)
- posibilidad de visualizar el linaje de las células.



**Figura 5.3. Simulaciones con mitosis asimétrica**

**Se pueden ver los resultados finales de dos simulaciones distintas, que en los que representamos las siluetas de las células en vez de todos los muelles del modelo, para apreciar mejor sus formas.**

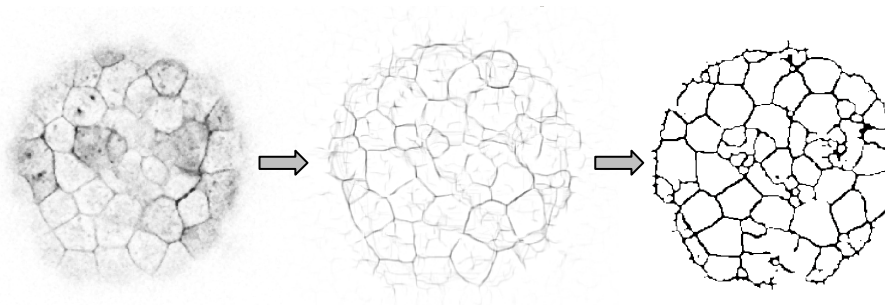
Los resultados son prometedores, se aprecian estructuras que pueden ser precursoras del establecimiento de ejes de crecimiento y patrones de desarrollo (el nematodo *C. elegans* proporciona un ejemplo en este sentido, véase [23]). En la **Figura 5.3**, la simulación de la izquierda se corresponde a un genoma simple, en el que el gen '*M0.5;0.05;-0.5*' se repite 127 veces, de modo que el efecto es el de 7 divisiones en cada célula, cada vez con una pequeña asimetría. La simulación de la derecha se corresponde a un genoma aleatorio en el que se producen también 127 divisiones, pero con amplias variaciones en el reparto del genoma, las asimetrías y las temporizaciones.

## **5.2. BIOEMERGENCES**

*BioEmergences* es un proyecto de investigación a nivel internacional incluido en el VI programa MARCO de la Unión Europea (nº contrato NEST-028892). Se celebró un *workshop* incluido en dicho proyecto en Torremolinos, entre el 7 y el 20 de mayo de 2007. Tuve la

oportunidad de asistir al mismo, aplicando una modificación del modelo embrionario descrito en el apartado 4.2 como prueba de concepto a uno de los problemas tratados en el *workshop*.

A grandes rasgos, *Bioemergences* pretende salvar toda una serie de desafíos científico-técnicos, desarrollando un método automatizado para obtener información detallada del desarrollo embrionario (a nivel celular, registrando la posición de cada célula individual con una resolución temporal del orden del minuto). Como organismo modelo se ha escogido el pez cebra.



**Figura 5.4. Procesamiento de imágenes**

**Se muestra una imagen de una sección de embrión de pez cebra, y el comienzo del proceso de obtención de bordes. Éste presenta importantes dificultades técnicas en el desarrollo del proyecto *BioEmergences*.**

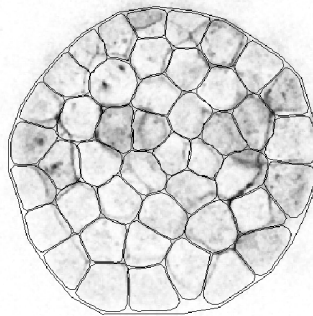
El problema en concreto al que se le ha aplicado la prueba de concepto es la segmentación de imágenes a rodajas (*slices*) del embrión temprano. Las imágenes de embriones de pez cebra al microscopio proporcionan información sobre las membranas y los núcleos de las células, y deben segmentarse de forma automatizada usando técnicas de procesamiento de imágenes, lo cual presenta problemas técnicos importantes.

Puesto que durante la fase de embrión temprano las células no varían activamente su forma, se pensó que podría usarse nuestro modelo celular de modo que aproximara las formas celulares. El algoritmo sería sencillo (Cuadro 5.1).

La idea es que las fronteras entre las células obtenidas de esta forma se asemejarán a las reales, suponiendo que nuestro modelo celular abstraiga adecuadamente la física real de las células embrionarias.

**Cuadro 5.1. Pseudocódigo de segmentación**

1. Se determinan posiciones aproximadas para los centros celulares.
2. Se implementa una simulación en la que en cada una de las posiciones definidas en el paso anterior se sitúan células inicialmente muy pequeñas.
3. Las células se hacen crecer lentamente, incrementando las  $r^i$  de sus muelles.
4. Cuando la compresión general de una célula (medida como la suma de las compresiones de cada uno de los muelles de sus microtúbulos) supera cierto umbral, la célula deja de crecer.
5. Cuando todas las células acaban de crecer o llegan a un tamaño máximo se termina la simulación.

**Figura 5.5. Segmentación basada en nuestro modelo**

**En este experimento se asignan manualmente las posiciones aproximadas de los centros celulares y la forma de la envoltura. Haciendo crecer las células desde un tamaño inicial pequeño hasta que están comprimidas entre sí, se consiguen notables coincidencias entre los límites reales de las células y los calculados por la simulación.**

En una primera aproximación se asignaron manualmente las posiciones aproximadas de los centros celulares, obteniendo una segmentación aproximada de mejor calidad que procesos equivalentes usados por los participantes del *workshop*, basados únicamente en procesamiento de imágenes (en concreto, usando regiones de Voronoi análogamente a nuestras células “en crecimiento”).

Aunque la prueba de concepto se había superado (dada información perfecta sobre las posiciones celulares, la física de nuestro modelo ofrece resultados similares a la física real del embrión), se intentó diseñar un algoritmo que obtuviera la segmentación automáticamente, usando como centros celulares aproximados las posiciones de los núcleos detectadas mediante procesamiento de imágenes. No obstante, dadas las limitaciones temporales y las dificultades técnicas, no se llegó al mismo grado de fiabilidad de segmentación que en el caso de la asignación manual de posiciones.

## **6. CONCLUSIONES**

El perfil de este proyecto no ha sido tanto el de un trabajo bien delimitado y cerrado, sobre el cual se puede trazar un plan de trabajo claro siguiendo metodologías clásicas de ingeniería del software, como el de un proceso en el que se han buscado los conocimientos y las herramientas necesarias para conseguir nuestro objetivo de encontrar modelos que sirvan como línea base para nuevos desarrollos que permitan profundizar en la comprensión de los procesos embrionarios.

Por dicha razón algunos aspectos aparecen inacabados, como el del control genético, pues lo que se ha descrito ha sido una instantánea tomada de un proceso todavía no acabado. No se ha podido esperar a terminar todas las líneas de desarrollo, pues éstas se amplían conforme avanzan y surgen otras nuevas, continuamente.

Durante el desarrollo del proyecto he aprendido a usar el entorno de desarrollo *MATLAB*, alcanzando un buen grado de conocimiento en algunos aspectos del mismo, tales como:

- técnicas de programación y visualización de datos en lenguaje *MATLAB*, entre las cuales las más importantes son las de vectorización de operaciones.
- evaluación del perfil de rendimiento (*profiling*) para detectar los cuellos de botella en flujo de instrucciones y de datos.
- manejo de grandes cantidades de datos.
- uso de entornos distribuidos (cluster) con *MATLAB* para acelerar y/o paralelizar la ejecución de las simulaciones.

Asimismo, de forma más general he profundizado en el conocimiento de técnicas de simulación. Durante la carrera este tema apenas se tocó, si acaso de forma muy transversal, por lo que este proyecto ha constituido toda una oportunidad para profundizar en este tema. En particular, durante el desarrollo del modelo, he aprendido a analizar el comportamiento de los mecanismos de actuación lineales y no lineales así como comprender sus ventajas e inconvenientes.

A pesar de que hemos constreñido nuestras simulaciones a un modelo determinado, durante la primera fase de recopilación de datos he tenido oportunidad de aprender sobre otras posibles alternativas:

- modelos de física discreta basados en enrejados de Potts (*Potts lattice models*, [4]).
- modelos de elementos finitos.
- modelos híbridos discreto-continuos [18].
- diversas variantes de modelos de redes genéticas (sistemas de ODEs [30], discretos [31], estadísticos [18]).

También he ampliado notablemente mis conocimientos en biología. Tangencialmente, he aprendido algo sobre algoritmos genéticos, siendo éste un tema que durante la carrera se desarrolla muy poco, apenas un poco más que el de la simulación.

Por otro lado, este proyecto me ha brindado la oportunidad de asistir a un *workshop* de *Bioemergences*, ayudando a y compartiendo impresiones con investigadores de múltiples disciplinas y países, siendo naturalmente una experiencia enriquecedora.

## **6.1. LÍNEAS DE TRABAJO ABIERTAS**

Dado el carácter abierto del proceso de desarrollo, han quedado numerosas cuestiones pendientes de posterior desarrollo. Mencionaremos algunas de las mismas:

- implementar mecanismos mediante los cuales las células reaccionen de forma activa al entorno físico, controlados por el genoma:
  - adherencia celular diferencial, de modo que se puedan formar epitelios celulares capaces de soportar fuerzas tanto de tensión como de compresión.
  - cambio activo de la forma celular, tanto en general (células extendidas, ovaladas, etc.) como en detalle (formación de cilios, pseudópodos, etc.).
- sería conveniente mejorar la estabilidad del modelo celular cuando hay células en contacto con tamaños muy dispares, y en general bajo condiciones muy estresadas.
- modelar explícitamente redes de regulación genética en la representación del genoma.
- aplicar algoritmos genéticos al modelo para obtener desarrollos morfogenéticos en el embrión.



## 7. BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. WUENSCHÉ, *Genomic regulation modeled as a network with basins of attraction*, in , *Proc. Pacific Symposium on Biocomputing (PSB '98)*, Maui, Hawaii, USA, 1998, pp. 89-102.
- [2] B. MIRTICH AND J. CANNY, *Impulse-based Dynamic Simulation*, in , *Workshop on Algorithmic Foundations of Robotics*, Stanford, California, 1994.
- [3] BRUCE ALBERTS, ALEXANDER JOHNSON, JULIAN LEWIS, MARTIN RAFF, KEITH ROBERTS, PETER WALTER, *Molecular Biology of the Cell*, Garland;, 1989.
- [4] C. ATTOLINI, P. STADLER AND C. FLAMM, *CelloS: a Multi-level Approach to Evolutionary Dynamics*, in , *Proc. 8th European Congress on Artificial Life*, 2005, pp. 500-509.
- [5] C. S. CHEN, M. MRKSICH, S. HUANG, G. M. WHITESIDES AND D. E. INGBER, *Geometric control of cell life and death*, *Science*, 276 (1997), pp. 1425-1428.
- [6] D. BOTTINO, M. A. T. ROBERTS, M. STEWART AND G. OSTER, *How nematode sperm crawl*, *Journal of Cell Science*, 115 (2002), pp. 367-384.
- [7] D. E. INGBER, *Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again*, *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20 (2006), pp. 811-827.
- [8] D. E. INGBER, *Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton*, *Journal of cell science*, 104 ( Pt 3) (1993), pp. 613-627.
- [9] D. E. INGBER, *Putting the cell biology establishment on the stand*, *Cell*, 109 (2002), pp. 668-669.
- [10] D. E. INGBER, *Tensegrity: the architectural basis of cellular mechanotransduction*, *Annual review of physiology*, 59 (1997), pp. 575-599.
- [11] F. G. SHAFRIR Y, *Mechanotransduction through the cytoskeleton*, *AJP - Cell Physiology*, 283 (2002), pp. 479-486.
- [12] F. HAROLD, *Molecules into Cells: Specifying Spatial Architecture*, *Microbiology And Molecular Biology Reviews* (2005), pp. 544-564.
- [13] I. D. E., *Mechanical control of tissue morphogenesis during embryological development*, *Developmental Biology*, 50 (2006), pp. 255-266.
- [14] J. HALLINAN AND J. WILES, *Evolving genetic regulatory networks using an artificial genome*, in , *Second Asia-Pacific Bioinformatics Conference*, Dunedin, New Zealand, 2004, pp. 291-296.
- [15] J. SMALL, T. STRADA, E. VIGNAL AND K. ROTTNER, *The lamellipodium: where motility begins*, *TRENDS in Cell Biology*, 12 (2002).

- [16] K. WILLADSEN AND J. WILES, *Dynamics of gene expression in an artificial genome*, in , *Proceedings of the IEEE 2003 Congress on Evolutionary Computation*, IEEE Press, 2003, pp. 199-206.
- [17] M. F. BRANGWYNNE CP, KUMAR S, GEISSE NA, TALBOT J, MAHADEVAN L, PARKER KK, INGBER DE, WEITZ DA, *Microtubules can bear enhanced compressive loads in living cells because of lateral reinforcement*, *Cell biology*, 173 (2006), pp. 733-745.
- [18] N. GEARD, *Modelling Gene Regulatory Networks: Systems Biology to Complex Systems*, in , *ARC Centre for Complex Systems Technical Report*, citeseer.ist.psu.edu/geard04modelling.html, 2004.
- [19] P. BENTLEY AND S. KUMAR, *Three Ways to Grow Designs: A Comparison of Embryogenies for an Evolutionary Design Problem*, in W. Banzhaf, J. Daida, A. E. Eiben, M. H. Garzon, V. Honavar, M. Jakiela and R. E. Smith, eds., *Proceedings of the Genetic and Evolutionary Computation Conference*, Morgan Kaufmann, 1999, pp. 35-43.
- [20] P. EGGENBERGER, *Creation of neural networks based on developmental and evolutionary principles*, in , *Proc. of the International Conference on Artificial Neural Networks ICANN'97*, Lausanne, Switzerland, 1997.
- [21] P. EGGENBERGER, *Evolving morphologies of simulated 3D organisms based on differential gene expression*, in P. Husbands, and Harvey, I., ed., *Proceedings of the 4th European Conference on Artificial Life*, MIT Press, Cambridge, MA, 1997, pp. 205-213.
- [22] P. EGGENBERGER, *Genome-Physics Interaction as a New Concept to Reduce the Number of Genetic Parameters in Artificial Evolution*, in , *Congress of Evolutionary Computation*, Canberra, Australia, 2003.
- [23] P. G. ROSE, *Asymmetric cell division and axis formation in the embryo*, in , *WormBook.org*, 2005.
- [24] R. CONELLY AND A. BACK, *Mathematics and Tensegrity*, in , *American Scientist*, 1998, pp. 142.
- [25] R. KEISER, M. MULLER, B. HEIDELBERGER, M. TESCHNER AND M. GROSS, *Contact Handling for Deformable Point-Based Objects*, in , *Vision, Modelling and Visualization*, Stanford, California, 2004, pp. 339-347.
- [26] R. SMALLWOOD, *From complexity to order: modelling the social behaviour of cells*, in , *Mathematical Institute Seminars*, Oxford University, 2003.
- [27] R. W. BURKHARDT, *A Practical Guide to Tensegrity Design*, Tensegrity Solutions, Cambridge, Massachusetts, 2004.
- [28] S. KUMAR, *Multicellular Development, Self-Organization, and Differentiation*, in , *Genetic and Evolutionary Computation Conference*, Seattle, Washington, 2004.
- [29] S. LEVIN, *The Importance of Soft Tissues for Structural Support of the Body, Spine: State of the Art Reviews*, 9 (1995).

- [30] T. J. NOVAK B, *A model for restriction point control of the mammalian cell cycle*, *Journal of theoretical biology*, 230 (2004), pp. 563-579.
- [31] T. REIL, *Dynamics of gene expression in an artificial genome - Implications for biological and artificial ontogeny*, in , *European Conference on Artificial Life*, 1999, pp. 457-466.
- [32] T. ROBERTS AND M. STEWART, *Nematode sperm locomotion*, *Current opinion in cell biology*, 7 (1995), pp. 13-17.