



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Trabajo de Tesis Doctoral:

MODELADO DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR DURANTE LA REGENERACIÓN Y EL DESARROLLO: UNA APROXIMACIÓN DE BIOLOGÍA DE SISTEMAS.

Tesista: Lic. Alberto Sebastián Ceccarelli

Director/a: Prof. Dr. Osvaldo Chara

Año: 2024

Trabajo realizado en el Systems Biology Group (SysBio)

Instituto de Física de Líquidos y Sistemas Biológicos (IFLySiB)

Calle 59 Número 789 (entre 10 y 11)

B1900BTE La Plata - Buenos Aires

Argentina

<https://sysbioiflysib.wordpress.com/>

<http://iflysib.unlp.edu.ar>

RESUMEN

En este trabajo, exploraremos como la proliferación celular puede ser controlada en el tiempo y en el espacio, afectando de esta forma el crecimiento de tejidos, y consecuentemente, el dominio espacial en el que operan las señales que, a su vez, controlan la proliferación celular. Para cumplir este objetivo, llevaremos a cabo teoría y simulaciones que compararemos con ejemplos de tejidos del ajolote durante su desarrollo y la regeneración. Primero, estudiamos el crecimiento del ajolote. Para ello desarrollamos un modelo matemático tipo logístico para analizar la proliferación celular y su impacto en su crecimiento. Descubrimos que existe un periodo de transición en la tasa de proliferación del ajolote que distingue las etapas en las que el ajolote crece más rápidamente de aquellas en las que lo hace más lentamente. Además, al extrapolar nuestro modelo a tiempos mayores a los medidos, concluimos que el ajolote no detiene su crecimiento en ningún momento. A continuación, abordamos el estudio de la regeneración en ajolotes. Elaboramos un modelo matemático similar al anterior para la proliferación celular en la regeneración de las extremidades del ajolote. Observamos que la regulación de la tasa de proliferación no solo se manifiesta en el tiempo, sino también en el espacio, ya que la información posicional en la extremidad del ajolote influye en su crecimiento dependiendo de la ubicación de la amputación. Después, investigamos teóricamente la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido. Desde un enfoque teórico, desarrollamos y validamos mediante simulaciones computacionales un formalismo matemático que relaciona la duración del ciclo celular con la velocidad de crecimiento del tejido. Posteriormente, estudiamos las señales que pueden influir en la proliferación celular, mediante un modelo matemático de reacción-difusión que examina cómo la distribución espaciotemporal de los morfógenos se ve afectada por el tamaño del tejido. Descubrimos que esta distribución depende de la relación entre el tamaño del tejido y la longitud característica del morfógeno. Además, identificamos dos regímenes de reacción-difusión separados por un tamaño de transición en el que el tamaño del tejido es aproximadamente tres veces la longitud característica del morfógeno. Finalmente, como parte de una síntesis integral, combinamos todos estos elementos en un modelo híbrido que combina la división celular y las señales que la regulan para analizar la regeneración de la médula espinal del ajolote. Desarrollamos un modelo multiescala, implementando una aproximación de campo medio a partir de un modelo de agentes para estudiar la regeneración de la médula espinal del ajolote, la cual implementamos y validamos

numéricamente. En síntesis, a lo largo de esta tesis doctoral comprenderemos como la proliferación celular es controlada espaciotemporalmente, afectando de esta forma el crecimiento de tejidos, y, en consecuencia, al dominio espacial en el que difunden los morfógenos que, a su vez, son responsables la proliferación celular. Es de esperar que futuros trabajos puedan utilizar esta tesis para contribuir a echar más luz al fenómeno de la proliferación celular en ajolotes y en otros modelos animales.

PUBLICACIONES DURANTE LA TESIS

Los siguientes trabajos fueron publicados en revistas internacionales con referato o se encuentran en bioRxiv durante el transcurso de la tesis:

1) Ceccarelli Alberto S., Borges Augusto, Chara Osvaldo. Size matters: tissue size as a marker for a transition between reaction–diffusion regimes in spatio-temporal distribution of morphogens. 2022. **R. Soc. Open Sci.** 9: 211112. <http://doi.org/10.1098/rsos.211112>

2) Riquelme-Guzmán Camilo, Schuez Maritta, Böhm Alexander, Knapp Dunja, Edwards- Jorquera Sandra, Ceccarelli Alberto S., Chara Osvaldo, Rauner Martina, Sandoval-Guzmán Tatiana. Postembryonic development and aging of the appendicular skeleton in *Ambystoma mexicanum*. **Developmental Dynamics**. 2022; 251(6): 1015-1034. <https://doi.org/10.1002/dvdy.407>

3) Borges Augusto, Miranda-Rodriguez Jerónimo R., Ceccarelli Alberto S., Ventura Guilherme, Sedzinski Jakub, López-Schier Hernán, Chara Osvaldo. Forsys: Una herramienta computacional que permite inferir fuerzas en los tejidos a partir de imágenes y videos de microscopia. **BioRxiv**. <https://doi.org/10.1101/2024.05.28.595800>. Este trabajo esta publicado como preprint en BioRxiv y se encuentra actualmente en proceso de revisión en una revista científica internacional con referato.

Trabajos próximos a publicarse:

4) Ceccarelli Alberto S., Peurichard Diane, Chara Osvaldo. The relation between cell cycle length and tissue growth rate in growing tissues. MS en preparación.

5) Ceccarelli Alberto S., Peurichard Diane, Chara Osvaldo. On the conditions for morphogen scaling. MS en preparación.

6) Ceccarelli Alberto S., Valeria Caliaro, Chara Osvaldo, Peurichard Diane. Un modelo de campo medio de un modelo de agentes para ser utilizado en el problema de la regeneración de la médula espinal del ajolote.

7) Edwards-Jorquera Sandra, Murali Shankar Nivedha, Muñoz Ovalle Angela, Schlüßler Raimund, Ceccarelli Alberto S., Gentleman Kyle, Freudenberg Uwe,

Werner Carsten, Chara Osvaldo, Taubenberger Anna, Sandoval-Guzmán Tatiana. Positional information in ajolote limb regeneration. MS en preparación.

8) Binagui-Casas Anahi, Granes Coll Anna, Ceccarelli Alberto S., Chara Osvaldo, Wilson Valerie. Neuro-mesodermal progenitors cells' lineage determination. MS en preparación.

9) Cura Costa Emanuel, Ceccarelli Alberto S., Chara Osvaldo. Sysvert: a Python implementation to simulate tissues using Vertex model. MS en preparación.

10) Arce Hernan, Ceccarelli Alberto S., Rodrigo Cordoba, Oliveira Catarina, Yun Maximina, Chara Osvaldo. Cell migration during ajolote limb regeneration. MS en preparación.

AGRADECIMIENTOS

A mi director Osvaldo Chara por su ayuda y enseñanzas durante estos años.

A los miembros de mi grupo Sysbio, Emanuel Cura Costa, Natalia Lavallo, Augusto Borges, Hernan Sanchez y Ariel Alvarez por su apoyo y el trabajo que hicimos juntos.

A mis colaboradores de otros grupos de investigación durante el transcurso de esta tesis, Sandra Edwards, Tatiana Sandoval-Guzmán, Valeria Caliaro, Diane Peurichard, Anahi Binagui-Casas, Anna Granes Coll, Valerie Wilson y Marcelo Ozu por el trabajo que hicimos juntos.

Al Conicet y la Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación por el financiamiento que me proporcionaron para poder realizar esta tesis.

A la Universidad Nacional de La Plata por formarme académicamente.

A la doctora Alicia Enrico y a todos sus colaboradores en el Hospital Italiano de La Plata por la invaluable ayuda que me proporcionaron.

A mis amigos de la vida, que son demasiados para nombrarlos uno por uno, pero que me acompañaron durante tantos años.

A mi familia, en particular a mi mama, Gabriela Fernández y a mi papa Carlos Ceccarelli y a Ricardo Salton, por el apoyo y cariño que me tienen desde siempre.

¡¡¡¡A todos ellos, muchas gracias!!!!

ÍNDICE

Resumen.....	2
Publicaciones durante la tesis.....	4
Agradecimientos.....	6
Índice.....	7
Parte 1: Introducción.....	8
1 Introducción.....	9
Parte 2: Resultados y métodos.....	19
2 El ajolote crece con una cinética bifásica durante su desarrollo: modelo de proliferación celular edad-dependiente.....	20
3 La proliferación celular depende de la información posicional durante la regeneración de la extremidad del ajolote.....	27
4 La relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido.....	35
5 La distribución espaciotemporal de morfógenos es afectada por el tamaño del tejido.	52
6 Modelo matemático de campo medio de reclutamiento celular de la regeneración de la médula espinal del ajolote.....	71
Parte 3: Discusión, conclusiones, perspectivas y referencias.....	86
7 Discusión, conclusiones y perspectivas.....	87
8 Referencias.....	102
9 Material suplementario.....	113

PARTE 1: INTRODUCCIÓN.

1 INTRODUCCIÓN

Los organismos pluricelulares sufren un crecimiento que se sustancia durante el desarrollo que, en general, es conducido por la proliferación celular (Conlon y Raff, 1999). Otro tipo de crecimiento de tejido se puede observar en algunos organismos que son capaces de regenerar sus tejidos luego de una herida extrema como una amputación (Tanaka y Reddien, 2011). Ya Morgan en 1906 clasificó los mecanismos celulares responsables de la regeneración de tejidos en morphalaxis y epimorphis (Morgan, 1906; Agata, Saito, & Nakajima, 2007). Mientras los primeros involucran la migración de células desde tejidos no injuriados, los segundos, más prevalentes, se caracterizan por un incremento de la proliferación celular en regiones cercanas a la amputación. Como veremos a continuación, el estudio de la proliferación celular se vio particularmente favorecido por el enfoque de modelado matemático. Uno de los primeros y más sencillos modelos matemáticos de proliferación celular para el estudio de poblaciones de células fue el modelo de crecimiento exponencial (ver, por ejemplo, el review de Charlebois y Balázs para este y otros modelos, Charlebois y Balázs, 2019), el cual describe un crecimiento exponencial en el número de células en el tejido debido a la libre división de las células. El problema de este modelo simple recae en que la proliferación celular es un proceso que necesita ser controlado para lograr una correcta formación de los tejidos y distintos grados de regulación pueden tener resultados muy diferentes. Por ejemplo, como caso extremo de un tejido con poca regulación de su proliferación celular podemos mencionar a los tejidos cancerosos que muestran un crecimiento explosivo que avanza sin algunos de los mecanismos reguladores habituales (Vogelstein y Kinzler, 1993). Un caso intermedio de regulación lo constituyen los tejidos en animales maduros que logran alcanzar un tamaño finito durante la adultez (Conlon y Raff, 1999). Finalmente, en el otro extremo, en especies capaces de regeneración, como la planaria (Newmark y Alvarado, 2022; Ivankovic et al., 2019), el pez cebra (Becker y Becker, 2022), el ajolote (Tanaka, 2016), y la hidra (Vogg et al., 2016), los tejidos que se regeneran tras una amputación o ablación experimentan una expansión inicialmente explosiva, pero controlada. Cuando consideramos estos dos elementos (la proliferación celular y el control de esta), el proceso deja de ser simple e intuitivo y los modelos matemáticos más complejos que el de crecimiento exponencial cobran especial relevancia.

Durante el siglo 20 se impuso una importante tradición basada en la comprensión de fenómenos observados en el campo de la biología mediante el desarrollo y

uso de modelado matemático. Un ejemplo destacable son los trabajos de D'Arcy Thompson quien sostenía en su libro "On growth and form" que para estudiar la forma final de los organismos no es suficiente con estudiar los aspectos genéticos del proceso, sino que además es necesario considerar los efectos de las leyes físicas (Thompson, 1917). Nicolas Rashevsky es otro antecedente, quien aplicó métodos matemáticos para el estudio de la dinámica del transporte en tejidos (Rashevsky, 1938). En el campo de la ecología podemos encontrar a Alfred Lotka o Vito Volterra (Murray, 2003) que propusieron sus famosas ecuaciones para modelar la dinámica predador-presa de poblaciones de animales. En el campo de la neurociencia podemos mencionar a Alan Lloyd Hodgkin y Andrew Fielding Huxley (Hodgkin y Huxley, 1952) y su modelo de potenciales de acción en células excitables. Finalmente, resaltaremos los trabajos de Alan Turing (Turing, 1952), Hans Meinhardt y Alfred Gierer (Gierer y Meinhardt, 1972) en el estudio de patrones durante el desarrollo o regeneración de tejidos mediante la formulación de modelos de reacción-difusión, tal como veremos en la sección 1.3. Estos modelos se caracterizan matemáticamente por ser continuos, involucrando ODEs y PDEs (ecuaciones diferenciales ordinarias y ecuaciones diferenciales en derivadas parciales, respectivamente). Posteriormente, se fueron proponiendo además de ODEs y PDEs, distintos tipos de modelos basados en agentes, conocidos como modelos de base celular. Por ejemplo, podemos mencionar el trabajo de Morelli y colaboradores (Morelli et al., 2009) donde realizan un modelo capaz de explicar, mediante el uso de ODEs no lineales que explican el funcionamiento del reloj segmentador, cómo se forma el patrón periódico durante la formación de somitas (precursoras de la columna vertebral).

En esta tesis doctoral estudiaremos desarrollo y regeneración de tejidos que involucran la proliferación celular y su control mediante el uso de distintos modelos matemáticos y computacionales.

1.1. Crecimiento de tejidos: el ejemplo del ajolote.

La proliferación celular, así como su regulación juegan un papel importante en la formación de tejidos que tiene lugar durante el desarrollo, así como la regeneración en los animales capaces de esta característica como, por ejemplo, la hidra (Vogg et al., 2019), planaria (Newmark y Alvarado, 2022; Ivankovic et al., 2019), pez cebra (Becker y Becker, 2022) y urodelos (Tanaka, 2016). Los

urodelos son los únicos vertebrados con la capacidad de regenerar una extremidad completa en la edad adulta; por lo tanto, ofrecen la oportunidad única de obtener conocimientos importantes para avanzar en la medicina regenerativa. El ajolote (*Ambystoma mexicanum* Fig. 1.1.) es un modelo ideal para estudiar la regeneración de las extremidades en vertebrados. Las células progenitoras del blastema, una estructura clave para la regeneración epimórfica, son una población heterogénea que permanece restringida a su origen embrionario (Kragl et al., 2009). Dada la heterogeneidad celular del blastema, la contribución de poblaciones celulares específicas durante la regeneración ha sido el foco de importantes investigaciones en la última década. Una excepción interesante es el esqueleto: las células incrustadas en la matriz esquelética no participan en la regeneración; en cambio, el esqueleto es restaurado por células periesqueléticas y fibroblastos dérmicos (Currie et al., 2016; McCusker et al., 2016; Gerber et al., 2018). Mientras que los mamíferos nacen con huesos parcialmente osificados que concluirán posnatalmente, la osificación en la mayoría de los anfibios va acompañada de metamorfosis (Miura et al., 2008; Rozenblut et al., 2005; Quilhac et al., 2014). Sin embargo, los ajolotes siguen siendo neoténicos y, por lo tanto, mantienen características juveniles durante toda la vida y rara vez sufren metamorfosis. Su edad adulta se caracteriza por alcanzar la madurez sexual, una tasa de crecimiento más lenta y la osificación del esqueleto apendicular (Vieira et al., 2020; Malacinski, 1978). El contexto fisiológico en el que se produce la osificación apendicular en los ajolotes, así como las transiciones celulares dentro del esqueleto, no están claros. En el anfibio anuro, *Xenopus laevis*, el grado de osificación se correlaciona negativamente con el potencial regenerativo de la extremidad. Durante la metamorfosis y a medida que el hueso se osifica, la capacidad regenerativa disminuye en las áreas de osificación, mientras que la amputación de las articulaciones cartilagosas aún se regenera (Wolfe et al., 2000). La regeneración de las extremidades en las salamandras sigue siendo una característica de los animales adultos; sin embargo, la regeneración también disminuye con la edad y después de la metamorfosis (Monaghan et al., 2014). Aún no está claro si el crecimiento del ajolote tiene final o si continúa creciendo durante toda su vida. Finalmente, se desconoce cuán relevante es la proliferación para el comportamiento del ajolote como un todo.



Figura 1.1. Ajolote (*Ambystoma mexicanum*). Fotografía obtenida de la página web Unsplash, realizada por el usuario “T K”: <https://unsplash.com/es/fotos/un-par-de-animales-que-estan-en-el-agua-H837qHe2Qj4>.

1.2. ¿Cuál es el rol de la información posicional en la regeneración de las extremidades de los ajolotes?

El ajolote es capaz de regenerar extremidades completas después de la amputación y la extremidad regenerada crece hasta que alcanza el desarrollo de la contralateral intacta (Wells et al., 2021). Este es un ejemplo notable de control del crecimiento, ya que la extremidad regenerada debe crecer hasta alcanzar un tamaño que sea mayor que el que tenía en el momento de la amputación para adaptarse al cuerpo en crecimiento del animal. Como ya mencionamos, este proceso requiere la formación de lo que se conoce como blastema, una estructura que contiene células precursoras para la formación de todos los tejidos perdidos, que, a través de fases superpuestas de crecimiento, diferenciación celular y formación de patrones, reconstruye la extremidad perdida (revisado en (Bassat y Tanaka, 2021; Stocum, 2017)). La amputación en

cualquier lugar a lo largo de la extremidad de la salamandra produce la regeneración solo de la porción faltante, que está distal al nivel de la amputación. Esto indica que las células maduras dentro del muñón de la extremidad retienen una memoria de su ubicación a lo largo del eje proximal-distal (P/D), que las células del blastema son capaces de interpretar para regenerar solo las partes faltantes, una propiedad denominada identidad posicional (revisado en ([Flowers y Crews, 2020](#))).

Llama la atención que, cuando a una salamandra se le realiza una amputación completa en una extremidad y una amputación de un dedo en la otra, la regeneración de ambas estructuras se completa en el mismo período de tiempo, independientemente del volumen del tejido que deba reformarse ([Spallanzani, 1769](#)). Por lo tanto, la velocidad de regeneración es proporcional al nivel de amputación. Este fenómeno también se ha reportado para amputaciones de extremidades superiores e inferiores en salamandras ([Goss, 1969](#); [Iten y Bryant, 1973](#)) y diferentes partes del cuerpo en diferentes especies, incluyendo *Xenopus*, teleosteos, lagartos y estrellas de mar ([El-Karim, 1994](#); [Hayashi et al., 2014](#); [Iten y Bryant, 1976](#); [Lee et al., 2005](#); [Morgan, 1906](#); [Tassava y Goss, 1966](#)). Aunque este fenómeno fue observado por primera vez hace siglos, los mecanismos subyacentes que regulan la tasa de crecimiento durante la regeneración aún son desconocidos.

1.3. La relación entre la duración del ciclo celular y el crecimiento del tejido.

Hemos visto que existen diversos interrogantes sobre cómo los tejidos regulan su tasa de proliferación, pero la pregunta inversa es igualmente importante, cómo la proliferación afecta al tejido. La relación entre la duración del ciclo celular y el crecimiento del tejido es un elemento importante en el estudio del desarrollo ([Conlon y Raff, 1999](#)), la regeneración de tejidos ([Vogg et al., 2019](#); [Tanaka, 2016](#); [Newmark y Alvarado, 2022](#); [Ivankovic et al., 2019](#); [Becker y Becker, 2022](#), [Chara et al., 2014](#)) y el estudio de tejidos cancerosos ([Vogelstein y Kinzler, 1993](#)), ya que todos ellos implican tejidos en crecimiento. Esta relación fue estudiada por [Averbukh](#) y sus colaboradores en el contexto de un tejido unidimensional que solo crece en una dirección inmerso en un modelo multiescala con una escala de morfógenos que escala con el tamaño del tejido. Modelaron la relación entre la duración del ciclo celular y el crecimiento de tejido para este problema ([Averbukh et al., 2014](#)). No obstante, el papel que la

dimensión espacial y la geometría tienen en el crecimiento del tejido aún no se ha dilucidado por completo.

1.4. Papel del tamaño de los tejidos en los regímenes de reacción-difusión.

La regulación de la proliferación durante la regeneración y el desarrollo tiene un papel fundamental. En estas instancias, los tejidos son regulados por moléculas conocidas como morfógenos, cuya precisa distribución espacio-temporal es responsable por cambios en la expresión de proteínas responsables de la creación de patrones de diferenciación exactos. Sin embargo, los tejidos no tienen únicamente un rol pasivo al permitir que los morfógenos se distribuyan a través de ellos, sino que tienen un rol activo al absorberlos o transformarlos mediante reacciones bioquímicas específicas. El problema de cómo un morfógeno se propaga a través de un tejido mientras el mismo está siendo eliminado, fue descrito matemáticamente en el exquisito modelo de reacción-difusión por el gran Alan Turing, quien fue el que creó el neologismo “morfógeno” para ilustrar el carácter de “generador de forma” del mismo ([Turing, 1952](#)).

El modelo de reacción-difusión constituye uno de los más influyentes enfoques cuantitativos dentro del campo de la biología del desarrollo. Desde el artículo seminal de Turing, pasando por los estudios de Gierer & Meinhardt ([Gierer y Meinhardt, 1972](#)), una progresiva gama de modelos de reacción-difusión fueron desarrollados, allanando el camino para convertirse en un concepto esencial para entender la morfogénesis de tejidos ([Pally et al., 2019](#); [Landge et al., 2020](#); [Morelli et al., 2012](#); [Kondo y Miura, 2010](#)). Este modelo fue usado extensamente para estudiar la distribución de morfógenos en una variedad de tejidos y organismos como el disco imaginal de *Drosophila melanogaster* ([Wartlick et al. 2011](#)), la pata de polluelos ([Dillon y Othmer, 1999](#)) y el patrón de rayas de Danio rerio ([asai et al., 1999](#)), entre otros ejemplos.

Estudios anteriores han investigado analíticamente este modelo suponiendo un dominio infinito ([Bergmann et al., 2007](#); [Berezhevskii et al., 2010](#)). Aunque el modelo se basó en la idea de que la longitud característica de reacción-difusión del patrón morfógeno era razonablemente menor que el dominio, está claro que los tejidos biológicos no son infinitos. Otros autores investigaron el modelo asumiendo un dominio finito mediante el uso de enfoques numéricos ([Wartlick et al. 2011](#); [Michon et al., 2008](#)) y analíticos ([Umulis, 2009](#); [Kang et al., 2012](#); [Ellery](#)

et al., 2013; Rasolonjanahary y Vasiev, 2016). Hasta donde sabemos, el papel que desempeña el tamaño del dominio en el patrón espaciotemporal predicho por este modelo aún no se ha dilucidado.

1.5. Regeneración de la médula espinal del ajolote provocada por una aceleración de la división celular.

Como ya hemos visto, el ajolote es un animal con grandes propiedades regenerativas. Ahora centraremos nuestra atención en la regeneración de su médula espinal. Esta no es muy diferente de la de otros vertebrados (Benraiss et al., 1999; Zhang et al., 2003). Está compuesta por materia gris, conteniendo los somas de las células endimarias, neuronas y astrocitos, y está rodeada por la materia blanca, que alberga las fibras ascendentes y descendentes, así como oligodendrocitos (Chernoff et al., 2003). Los protagonistas principales en los procesos de regeneración de la médula espinal en el ajolote son las células endimarias. Estas células recubren el canal central de la médula espinal, presentan polaridad apico-basal y forman un neuroepitelio pseudoestratificado que imita el tubo neural embrionario de los mamíferos. Además, expresan marcadores de células madre como SOX2 y Musashi-1 (Kaneko et al., 2000), así como marcadores de pluripotencia como OCT4 (McHedlishvili et al., 2012). Estas células presentan características de auto-renovación prácticamente ilimitada (Margotta et al., 2002; Margotta, 2008). Las impresionantes propiedades neurogénicas y reconstructivas del ajolote contrastan con los resultados de los experimentos de trasplante de neuroesferas en mamíferos que usualmente resultan en la generación de células de la glía y neurogénesis limitada (Shihabuddin et al., 2000). Como mencionamos anteriormente, nuestro grupo demostró que la regeneración de la médula espinal del ajolote durante las dos semanas siguientes a la amputación se debe a la aceleración del ciclo celular de las células endimarias en una región de 800 μm (en el eje anteroposterior) justo anterior al plano de amputación (Rost et al., 2016). Esta longitud sería compatible con procesos de señalización extracelular mediados por BMP o Wnt. En esta línea, la expresión de los miembros de la cascada de señalización de PCP se encuentra aumentada un día después de la amputación del tejido (Rodrigo Albors et al., 2015). Más recientemente, se identificó a AxMLP como el factor extracelular responsable de inducir la proliferación celular durante la regeneración de la médula espinal del ajolote (Sugiura et al., 2016). Sin embargo, aún no sabemos si estos procesos de señalización son los que regulan

específicamente la longitud del ciclo celular de las células endimarias en la región de 800 μm anterior al plano de amputación. Nuestro grupo demostró recientemente que una señal que viaja desde la posición de la amputación y que disminuye la duración del ciclo celular es suficiente para explicar la regeneración de la médula espinal del ajolote (Cura Costa et al., 2021) y posteriormente en otro trabajo del grupo se demostró que esa señal puede ser entendida con un mecanismo de reacción difusión sencillo (Caliaro et al., 2024). Estos modelos de base celular nos permitieron entender aspectos fundamentales de la regeneración de la médula espinal del ajolote pero sería deseable contar con modelos continuos más tratables matemáticamente que permitieran exploraciones exhaustivas de los espacios paramétricos correspondientes.

1.6. Hipótesis de la tesis.

Durante este trabajo de tesis doctoral se estudia cómo la proliferación celular puede ser controlada en el tiempo y en el espacio, afectando el crecimiento de tejidos, y consecuentemente, el dominio espacial en el que operan los morfógenos que, a su vez, controlan la proliferación celular. En particular, llevamos a cabo aproximaciones teóricas y computacionales que serán contrastadas en algunos casos con ejemplos de tejidos del ajolote durante su desarrollo y la regeneración. Nuestras **hipótesis de trabajo específicas** son:

1) Durante el desarrollo en el ajolote, los tejidos crecen en forma bifásica con la edad, como consecuencia de una proliferación celular promedio cuya regulación es edad-dependiente.

2) La proliferación celular promedio que desencadena la respuesta regenerativa observada en las extremidades del ajolote luego de una amputación depende de la información posicional brindada por la posición espacial de la amputación.

3) La velocidad a la que crece un tejido en general (por ejemplo, durante el desarrollo, la regeneración, o en procesos patológicos como el cáncer), sigue una relación formal con la duración de ciclo celular. Esta relación depende de la dimensionalidad del espacio físico en el que el tejido está inmerso y de la densidad celular.

4) La proliferación celular que determina el crecimiento de un tejido está controlado en general por morfógenos y en particular por cómo estos se

distribuyen en el tiempo y en el espacio conformado por dominio del tejido. El tamaño de este dominio es crucial para determinar la distribución espaciotemporal de morfógenos en un tejido, aquí modelada como un proceso de reacción-difusión.

5) La regeneración de la médula espinal del ajolote está fundamentalmente controlada por la proliferación de células madre neurales (Rost et al., 2016), a su vez controlada por un proceso de señalización aún no del todo esclarecido (Caliaro et al., 2024; Cura Costa et al., 2021). Esta respuesta regenerativa ha sido estudiada con éxito mediante modelos computacionales multi-escala de base celular (Caliaro et al., 2024; Cura Costa et al., 2021). Nosotros hipotetizamos aquí que dadas la relación entre las escalas del tejido regenerado (aproximadamente 2 mm) y los tamaños de las células involucradas (aproximadamente 10 μm a lo largo del eje anteroposterior (Rost et al., 2016)), este proceso regenerativo proliferación-dependiente puede ser modelado efectivamente mediante una aproximación de campo medio, dado por un sistema de ecuaciones diferenciales en derivadas parciales.

1.7. Objetivos.

El objetivo general de esta tesis doctoral consiste en comprender cómo la proliferación celular puede ser controlada en el tiempo y en el espacio, afectando de esta forma el crecimiento de tejidos, y consecuentemente, el dominio espacial en el que operan los morfógenos que, a su vez, controlan la proliferación celular. Como fuera mencionado previamente, llevaremos a cabo teoría y simulaciones que compararemos con ejemplos de tejidos del ajolote durante su desarrollo y la regeneración. Proponemos cinco objetivos específicos.

Objetivos específicos

1) Estudiar distintos tipos de modelado matemático de la proliferación celular durante la regeneración y el desarrollo del ajolote. Utilizaremos ecuaciones diferenciales ordinarias para modelar el largo total del ajolote como función del tiempo y lo aplicaremos a datos experimentales obtenidos por nuestros colaboradores para obtener información temporal sobre la tasa de proliferación en ajolote. Este objetivo se desarrollará durante el capítulo 2.

2) Luego realizaremos un modelo matemático similar al anterior para extraer información espacial acerca de la distribución espacial de la tasa de

proliferación en ajolote durante la regeneración y desarrollo de sus extremidades al aplicar el modelo a datos experimentales proporcionados por nuestros colaboradores. Este objetivo se desarrollará durante el capítulo 3.

3) Realizaremos un estudio teórico de la relación de la duración del ciclo celular con la tasa de división del tejido. Para ello desarrollaremos un modelo matemático consistente en ecuaciones diferenciales en derivadas parciales que explique la relación entre ambas magnitudes. Este objetivo se desarrollará durante el capítulo 4.

4) Estudiar la formación de patrones de señalización química desencadenados durante la regeneración de la médula espinal del ajolote, incluyendo explícitamente el efecto del tamaño del tejido en la distribución espaciotemporal de dicha señal. Este objetivo se abordará con modelos de reacción-difusión utilizando ecuaciones en derivadas parciales. Este objetivo se desarrollará durante el capítulo 5.

5) Estudiar los eventuales vínculos entre los procesos de señalización estudiados en 4) con la proliferación celular que fue estudiada en 1), 2) y 3). Para ello se desarrollará el primer modelo de médula espinal multi-escala, incluyendo una capa celular compuesta por las células ependimarias y una capa de señalización, que emulará cascadas estudiadas recientemente ([Rodrigo Albers et al., 2015](#); [Sugiura et al., 2015](#)). Este modelo a su vez se abordará con una aproximación de campo medio. Este objetivo se desarrollará durante el capítulo 6.

PARTE 2: RESULTADOS Y MÉTODOS.

2 EL AJOLOTE CRECE CON UNA CINÉTICA BIFÁSICA DURANTE SU DESARROLLO: MODELO DE PROLIFERACIÓN CELULAR EDAD-DEPENDIENTE.

En este capítulo nos preguntamos si el ajolote crece continuamente o si en algún momento para de crecer durante su vida. Para ello, estudiamos en este capítulo datos experimentales del tamaño total del ajolote provistos por nuestros colaboradores liderados por Tatiana Sandoval-Guzmán en CRTD, Dresden y los analizamos mediante una aproximación de modelado matemático. Los animales provistos por nuestros colaboradores fueron criados en condiciones totalmente estandarizadas ([Khattak et al. 2014](#)) y su desarrollo apendicular fue evaluado en relación con su etapa de maduración.

2.1. Durante el crecimiento del ajolote, la longitud del hocico a la cola es proporcional a la longitud desde el hocico a la cloaca.

Usando las longitudes del hocico a la cola (ST del inglés Snout to tail) y del hocico a la cloaca (SV del inglés snout to vent), registramos el tamaño y la edad en 220 ajolotes. En los normogramas, cada punto representa un solo animal. Nuestros resultados muestran que las longitudes de ST y SV están altamente correlacionadas (coeficiente de Pearson $r = 0,9937$, $P = 3,1 \times 10^{-209}$, Figura 2.1. panel A) y sus normogramas presentaron una tendencia similar: una fase de crecimiento rápido seguida de una fase de crecimiento más lento (Figura 2.1. paneles B y C). Esto nos indica que el crecimiento es uniforme a lo largo del ajolote y que su forma se conserva a lo largo del tiempo.

2.2. El crecimiento en el ajolote puede describirse en términos de una cinética bilineal.

Al mirar los nomogramas de crecimiento en las longitudes ST y SV con la edad, distinguimos que las dos fases aparentes de crecimiento son aproximadamente lineales (Figura 2.1. paneles B y C). Para analizar estos nomogramas

cuantitativamente, seguimos un enfoque similar al usado en otros trabajos previos del grupo (Rost et al., 2016; Cura Costa et al., 2022). En estos trabajos se determinaron dos comportamientos diferentes separados por una distancia característica. Inspirados por esta aproximación, decidimos estudiar si los nomogramas que informan el crecimiento de ST y SV con la edad pueden entenderse como un modelo de dos segmentos lineales separados por una edad característica o de transición. En particular propusimos el siguiente modelo matemático.

$$L(a) = L_0 + m_1 a \quad \text{si } a < a_t^{TL} \quad \text{Ec. 2.1.}$$

$$L(a) = L_0 + m_1 a_t^{TL} + m_2 (a - a_t^{TL}) \quad \text{si } a \geq a_t^{TL} \quad \text{Ec. 2.2.}$$

Donde, $L(a)$ es la longitud de ST o SV a la edad a . Los cuatro parámetros libres del modelo son L_0 es la longitud de ST o SV a la edad cero, m_1 es la pendiente de la primera línea, a_t^{TL} es el tiempo de transición de este modelo y m_2 es la pendiente de la segunda línea.

Ajustamos este simple modelo matemático (Ecs. 2.1. y 2.2.) a los datos experimentales y utilizamos bootstrapping para estimar los valores de los parámetros junto con sus errores para los nomogramas de las longitudes de ST (Tabla 2.1.) y SV (Tabla 2.2.):

TABLA 2.1. Estimación de los parámetros del modelo de bilineal a partir del normograma de longitudes de ST

Parámetros del modelo de dos líneas	Valor \pm error (unidades)
L_0	0 ± 1 (10^{-14} cm)
m_1	$1,144 \pm 0,003$ (cm/mes)
m_2	$0,0325 \pm 0,0006$ (cm/mes)
a_t^{TL}	$19,87 \pm 0,07$ (mes)

TABLA 2.2. Estimación de los parámetros del modelo de bilineal a partir del normograma de longitudes de SV

Parámetros del modelo de dos líneas	Valor \pm error (unidades)
L_0	8 ± 2 (10^{-16} cm)
m_1	$0,618 \pm 0,002$ (cm/mes)
m_2	$0,0202 \pm 0,0004$ (cm/mes)
a_t^{TL}	19.00 ± 0.07 (mes)

A partir del ajuste de los normogramas ST y SV (Figura 2.1. paneles B y C, línea continua), estimamos la edad de transición entre las dos fases lineales (a_t^{TL}): $19,87 \pm 0,07$ y $19,00 \pm 0,07$ meses para los normogramas ST y SV, respectivamente (donde los errores se estimaron mediante bootstrapping). La pendiente de la primera línea (m_1) fue mayor que la pendiente de la segunda línea (m_2) para el normograma ST ($m_1 = 1.144 \pm 0.003 \text{ cm/mes}$ vs $m_2 = 0.0325 \pm 0.0006 \text{ cm/mes}$, sin superposición dentro de tres veces el error) así como para los normogramas SV ($m_1 = 0,618 \pm 0,002 \text{ cm/mes}$ vs $m_2 = 0,0202 \pm 0,0004 \text{ cm/mes}$, sin superposición dentro de tres veces el error). Curiosamente, la pendiente de la segunda línea fue mayor que cero (es decir, cero era menor que la pendiente de la segunda línea menos tres veces su error, tanto para las longitudes ST como SV), lo que indica que después del tiempo de transición, el ajolote continúa creciendo.

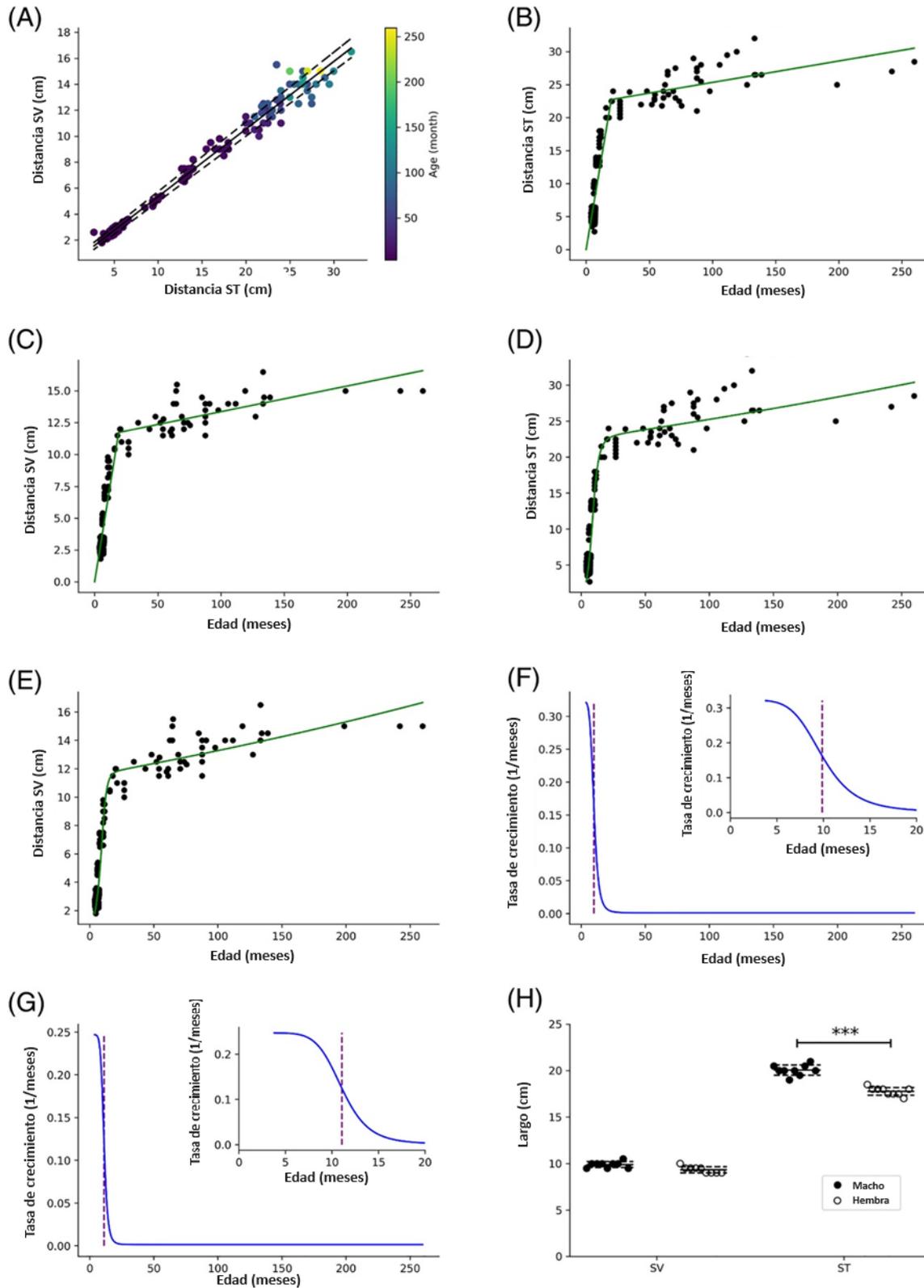


FIGURA 2.1. Los ajolotes pasan de una fase de crecimiento rápido a una más lenta alrededor de los 10 meses de edad. (A) La longitud del hocico a la cola (ST) se correlaciona linealmente con la longitud del hocico a la cloaca (SV) en $n = 220$ ajolotes de diferentes edades (puntos). El código de color representa la edad en meses. La línea muestra una regresión lineal a los datos experimentales. Normograma de longitudes de ST (B) y SV (C) en función de la edad

del ajolote (puntos, los mismos datos que se muestran en A). Se ajustó un modelo bilineal a los datos experimentales (las líneas continuas representan la simulación del mejor ajuste). Se ajustó el modelo con proliferación celular edad-dependiente a las longitudes experimentales ST (D) y SV (E) (puntos, los mismos datos que se muestran en A, B y C; las líneas continuas representan la simulación del mejor ajuste). Curso temporal de la tasa de crecimiento predicha por el modelo de crecimiento ajustado a ST (F) y SV (G). Los recuadros muestran una ampliación de la edad cercana a la edad de transición (líneas verticales) de $9,87 \pm 0,05$ y $11,07 \pm 0,05$ meses para las longitudes ST (F) y SV (G), respectivamente. (H) Cuantificación de las longitudes de ST y SV en cm en hermanos de un año en función de su sexo ($n = 18$, 9 machos y 9 hembras. *** $P < 0,001$, prueba t de Student).

2.3. El crecimiento del ajolote como un resultante de una proliferación celular edad-dependiente.

Para abordar mecanísticamente los resultados descriptivos obtenidos con el modelo de dos líneas, probamos si los normogramas podrían recapitularse mediante un modelo de crecimiento lineal con el largo del tejido suponiendo una tasa de crecimiento dependiente del tiempo. En particular, asumimos que la tasa de crecimiento sigue una expresión de Hill dependiente de la edad.

$$\frac{dL}{da} = r(a) * L \quad \text{Ec. 2.3.}$$

Donde L es la longitud ST o SV a la edad a y $r(a)$ es la tasa de crecimiento (dependiendo de la edad a), definida de la siguiente manera:

$$r(a) = r_{\infty} + \frac{r_0 - r_{\infty}}{1 + \left(\frac{a}{a_t^{GR}}\right)^n} \quad \text{Ec. 2.4.}$$

Los parámetros libres del modelo son r_0 , r_{∞} , n y a_t^{GR} , la tasa de crecimiento a la edad cero, la tasa de crecimiento a la edad infinita, el exponente de Hill que denota sigmoidicidad y la edad de transición de la tasa de crecimiento, respectivamente.

Al ajustar el modelo a los datos experimentales y utilizar bootstrapping, estimamos los valores de los parámetros junto con sus errores a partir de las longitudes de ST (Tabla 4) y SV (Tabla 5).

TABLA 2.3. Estimación de los parámetros del modelo con proliferación celular edad-dependiente a partir del normograma de longitudes de ST

Parámetros del modelo de crecimiento	Valor \pm error (unidades)
r_0	$0,323 \pm 0,002$ (1/mes)
r_∞	$0,00116 \pm 0,00003$ (1/mes)
n	$5,6 \pm 0,07$ (-)
a_t^{GR}	$9,87 \pm 0,05$ (mes)

TABLA 2.4. Estimación de los parámetros del modelo con proliferación celular edad-dependiente a partir del normograma de longitudes de SV

Parámetros del modelo de crecimiento	Valor \pm error (unidades)
r_0	$0,247 \pm 0,001$ (1/mes)
r_∞	$0,00142 \pm 0,00002$ (1/mes)
n	$7,8 \pm 0,1$ (-)
a_t^{GR}	$11,07 \pm 0,05$ (mes)

El modelo se ajustó con éxito a ambos normogramas (Figura 2.1. paneles D y E) y nos permitió predecir la tasa de crecimiento dependiente de la edad ($r(a)$ en las ecuaciones 2.3. y 2.3), un indicador de la tasa de proliferación global en el ajolote (Figura 2.1. paneles F y G). Este modelo permite predecir la tasa de crecimiento para animales de edades muy grandes (r_∞), lo que resultó en (1/mes): 0.00116 ± 0.00003 y 0.00142 ± 0.00002 para longitudes ST y SV, respectivamente, siendo ambas superiores a cero, de acuerdo con el resultado obtenido con el modelo de bilineal. Más importante aún, determinamos dos regímenes de tasa de crecimiento separados por una edad de transición de la tasa de crecimiento (a_t^{GR}) dada por el punto de inflexión, estimado en 9.87 ± 0.05 y 11.07 ± 0.05 meses para las longitudes ST y SV, respectivamente. Por lo tanto, nuestro análisis sugiere que la edad de transición obtenida del modelo bilíneal de aproximadamente 20 meses es un fenómeno emergente resultante de la edad de transición de la tasa de crecimiento de aproximadamente 10 meses.

Es de destacar que, en los hermanos de un año, el ST fue significativamente más largo en los varones que en las mujeres (varones: $20,06 \pm 0,6$ cm, mujeres: $17,78 \pm 0,4$ cm, $n = 9$), mientras que el SV permaneció constante (varones: $9,8 \pm 0,3$ cm), hembras: $9,3 \pm 0,3$ cm, $n = 9$) (Figura 2.1. panel H). A su vez, en hermanos juveniles de 2,5 meses de edad, el ST no difirió (machos: $4,7 \pm 0,2$ cm, hembras: $4,7 \pm 0,2$ cm, $n = 12$) (datos no mostrados). Esto indica que las diferencias en la longitud total entre sexos se deben a un mayor crecimiento de la cola en los machos durante la maduración sexual.

Es importante destacar que si extrapolamos nuestro modelo matemático a edades mayores a las estudiadas experimentalmente predice que el ajolote crecerá indefinidamente (con tasas de crecimiento cada vez más pequeñas).

3 LA PROLIFERACIÓN CELULAR DEPENDE DE LA INFORMACIÓN POSICIONAL DURANTE LA REGENERACIÓN DE LA EXTREMIDAD DEL AJOLOTE.

En el capítulo anterior, estudiamos cómo el crecimiento del ajolote se puede comprender en términos de una proliferación celular que depende con el tiempo. En este capítulo nos enfocamos en cómo el crecimiento de los tejidos es afectado por la proliferación celular cuando esta depende del espacio. Para ello, estudiamos aquí si la proliferación celular promedio que participa de la respuesta regenerativa, así como del desarrollo normal de las extremidades del ajolote es función de la información posicional obtenida a partir de la posición espacial de la amputación. De esta manera, estudiamos en este capítulo datos experimentales del tamaño de la pata del ajolote luego de ser amputada (y sin amputar, utilizada como control) provistos por nuestros colaboradores liderados por Tatiana Sandoval-Guzmán en el CRTD, Dresden y los analizamos mediante una aproximación de modelado matemático.

Como es sabido, al amputar una extremidad (o un dígito) del ajolote, la misma se regenera (Fig 3.1. panel A). Se amputó la extremidad del ajolote en diferentes posiciones y se cuantificó el tamaño de la misma medida desde la articulación más cercana a la posición de la amputación (Fig 3.1. panel B). Se puede observar que la extremidad crece rápidamente luego de la amputación pero que ese crecimiento se desacelera a tiempos posteriores. Para explicar este fenómeno, desarrollamos un modelo matemático en el que asumimos que a medida que se producen divisiones celulares, el tejido comienza a expandirse. Si la densidad celular puede considerarse aproximadamente constante, entonces el número de células es proporcional al tamaño del tejido. El número de divisiones en un momento dado depende del número de células presentes en el tejido en ese momento. En particular, el cambio en el número de células es proporcional al número de células. Si este proceso no se regula, el tejido podría crecer hasta alcanzar un tamaño arbitrariamente grande. De esta forma, modelamos explícitamente la regulación del crecimiento del tejido pidiendo que la tasa de crecimiento disminuya linealmente con el tamaño del tejido. El modelo logístico propuesto para el área del tejido en función del tiempo es:

$$\frac{dA(t)}{dt} = R_0 \left(1 - \frac{A(t)}{k}\right) A(t) \quad \text{Ec. 3.1.}$$

$$A(t = 0) = A_0$$

Ec. 3.2.

Donde A_0 es una constante y representa el área del tejido en el momento inicial. El factor $R_0 \left(1 - \frac{A(t)}{k}\right)$ puede interpretarse como la tasa de crecimiento tisular efectiva. R_0 es la tasa de crecimiento máxima posible, k es el área en la que hay un punto de inflexión y $\left(1 - \frac{A(t)}{k}\right)$ es la regulación que se produce a medida que el tejido crece.

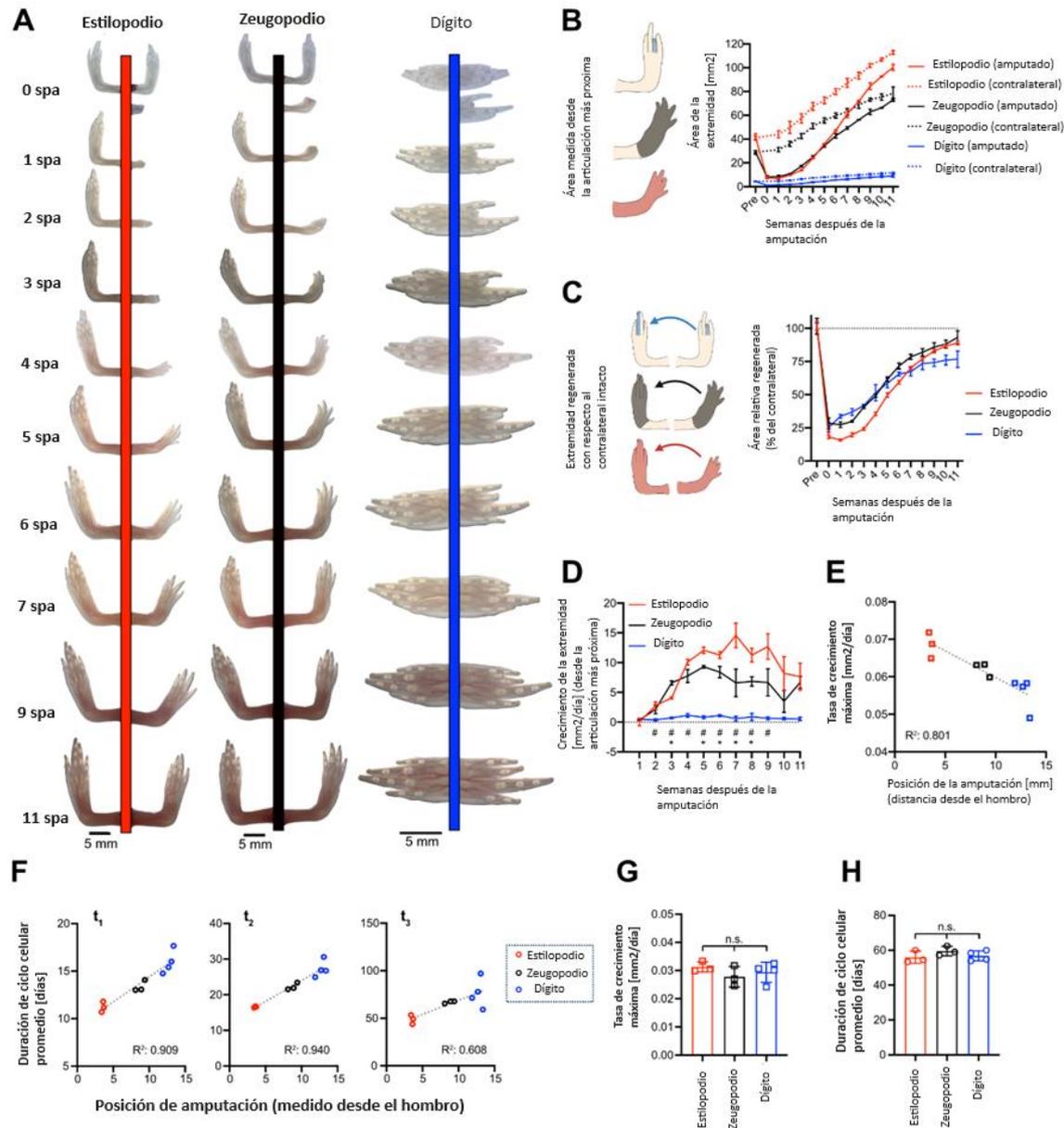


Figura 3.1. El crecimiento del tejido durante la regeneración es más rápido después de amputaciones proximales. Se amputaron animales de 4 meses de edad en la extremidad superior (Estilopodio), extremidad inferior (Zeugopodio) o dedo, y se evaluó la regeneración semanalmente. A) Imágenes representativas de extremidades amputadas (derecha) e intactas (izquierda) durante 11 semanas. spa: semanas post-amputación. B) Izquierda: Se midió el área del

tejido desde la articulación más próxima al sitio de amputación. Derecha: Área de la extremidad en regeneración (amputada) e intactas (contralateral) ($n \geq 3$ animales/condición). C) Área relativa de la extremidad en regeneración con respecto a la contralateral intacta. D) Crecimiento semanal calculado a partir de los valores en B. Análisis de varianza de dos vías con prueba de comparaciones múltiples de Tukey, * $p < 0,05$ (Extremidad superior vs. dedo), # $p < 0,05$ (Extremidad superior vs. Extremidad inferior). E) Correlación de la tasa de crecimiento máxima (R_0) con respecto al sitio de amputación. F) Duración media del ciclo celular con respecto al sitio de amputación durante diferentes fases de la regeneración. Se dividió todo el curso temporal de regeneración en 3 segmentos equivalentes (t_1 , t_2 y t_3). G-H) Tasa máxima de crecimiento (G) y longitud media del ciclo celular (H) de las extremidades contralaterales intactas. Análisis de varianza con prueba de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis, n.s. no hay diferencias estadísticamente significativas. Para B-D, G-H: Se muestra la media \pm desviación estándar. Para E-H: Cada punto representa un animal. Para E-F: Las líneas representan la regresión lineal y se indica el coeficiente de determinación R^2 .

El sistema compuesto por las Ecs. 3.1. y 3.2. tiene la siguiente solución analítica:

$$A(t) = \frac{k}{1 + \left(\frac{k}{A_0} - 1\right)e^{-R_0 t}} \quad \text{Ec. 3.3.}$$

Un ejemplo ilustrativo del área en función del tiempo obtenido por la ecuación 3.3. se puede ver en la Fig. 3.2.

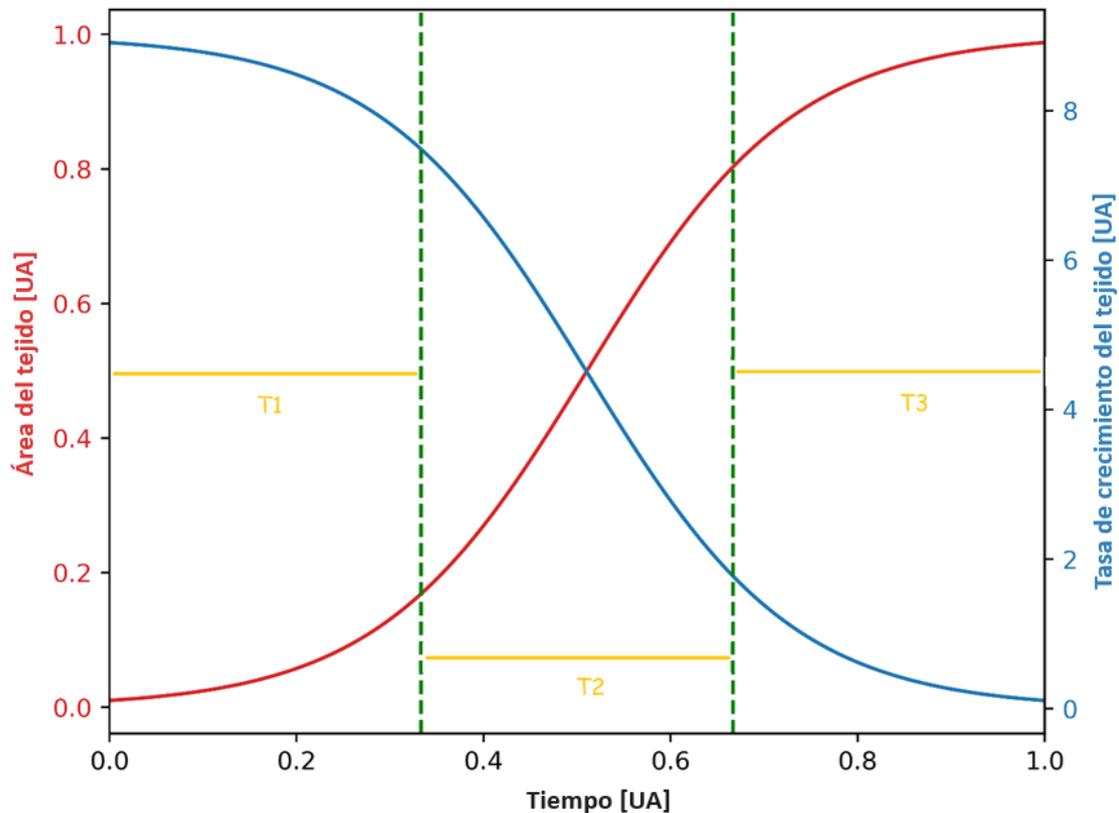


Figura 3.2. Ejemplo ilustrativo del área del tejido en función del tiempo predicho por la ecuación 3.3. La curva roja y azul es el área del tejido en función del tiempo y la tasa de crecimiento del tejido en función del tiempo, respectivamente. En períodos cortos el área aumenta casi exponencialmente porque la tasa de crecimiento no está regulada. En tiempos mayores se produce regulación y se observa un menor crecimiento del tejido. Las líneas horizontales amarillas marcan las regiones temporales T1, T2 y T3, definidas como uno, dos y tres tercios del tiempo total. Las líneas discontinuas verdes verticales separan estas regiones. Los valores de los parámetros elegidos para simular esta curva fueron $k = 1$, $A_0 = 0.01$ y $R_0 = 9$.

3.1. Ajuste del modelo a datos experimentales.

Desarrollamos un programa en Python para realizar el análisis de los datos. Usamos la función `curve_fit` de la biblioteca `scipy` (Virtanen et al., 2020) para encontrar los valores óptimos de los parámetros de nuestro modelo de acuerdo con los datos de los experimentos. El modelo matemático se ajustó a cada animal individual. Para evitar mínimos locales durante la estimación de parámetros, se desarrolló un algoritmo de inicio múltiple personalizado que elige aleatoriamente la estimación inicial del algoritmo de ajuste entre valores de parámetros de 4 órdenes de magnitud diferentes.

La longitud del ciclo celular $\theta(t)$ se calculó a partir del crecimiento celular efectivo del tejido ($R_0 \left(1 - \frac{A(t)}{k}\right)$) como:

$$\theta(t) = \frac{\ln(2)}{R_0 \left(1 - \frac{A(t)}{k}\right)} \quad \text{Ec. 3.4.}$$

Donde $\ln(x)$ es el logaritmo natural de x .

Con el objetivo de comparar la duración del ciclo celular, se definieron tres fases temporales diferentes: T1, T2 y T3. El tiempo total que transcurrió el experimento T_f se dividió por tres. La duración media del ciclo celular en las fases T1, T2 y T3 se definió como la integral de tiempo de $\theta(t)$ entre los tiempos 0 y $\frac{T_f}{3}$, $\frac{T_f}{3}$ y $\frac{2T_f}{3}$ y $\frac{2T_f}{3}$ y T_f , respectivamente.

3.2. La proliferación celular involucrada en la respuesta regenerativa de las extremidades del ajolote depende de la posición espacial de la amputación.

Se amputaron animales de 4 y 2 meses de edad en la extremidad superior (Estilopodio), extremidad inferior (Zeugopodio) o dedo (Fig. 3.1. panel A y Fig. 3.3. panel A, respectivamente), y se evaluó la regeneración semanalmente (Fig. 3.1. panel B, C y D y Fig. 3.3. panel B, C y D, respectivamente). Se calcularon los parámetros de nuestro modelo matemático a partir del resultado del ajuste. R_0 puede ser visto en (Fig. 3.1. E y Fig. 3.3. panel E, respectivamente), T1, T2 y T3 en (Fig. 3.1. F y Fig. 3.3. panel F, respectivamente) y la longitud media del ciclo celular en (Fig. 3.1. H y Fig. 3.3. panel H, respectivamente). En el caso de T1 y T2 vemos que ambos son fuertemente lineales con la posición de amputación con coeficiente R cuadrado alto ($R^2 \sim 0.9$). Sin embargo, la linealidad no es tan clara para T3 ya que su coeficiente R cuadrado baja ($R^2 \sim 0.6$). Si analizamos entre grupo de animales, vemos que los animales de 4 meses tienen un coeficiente R cuadrado para T1, T2 y T3 ligeramente superior al obtenido para los animales de 2 meses. En los experimentos con animales de 2 meses también se dejó un grupo de animales sin amputar (que llamaremos intactos) como control. Vemos que existe una información posicional en el tejido ya que el ciclo celular disminuye en zonas donde se necesita mayor regeneración, es decir, a medida que la posición de la amputación se acerca más al hombro (Fig. 3.1. F y Fig. 3.3. panel F, respectivamente). La misma conclusión se puede obtener al mirar R_0 , el cual aumenta al acercarnos al hombro (Fig. 3.1. E y Fig. 3.3. panel E, respectivamente).

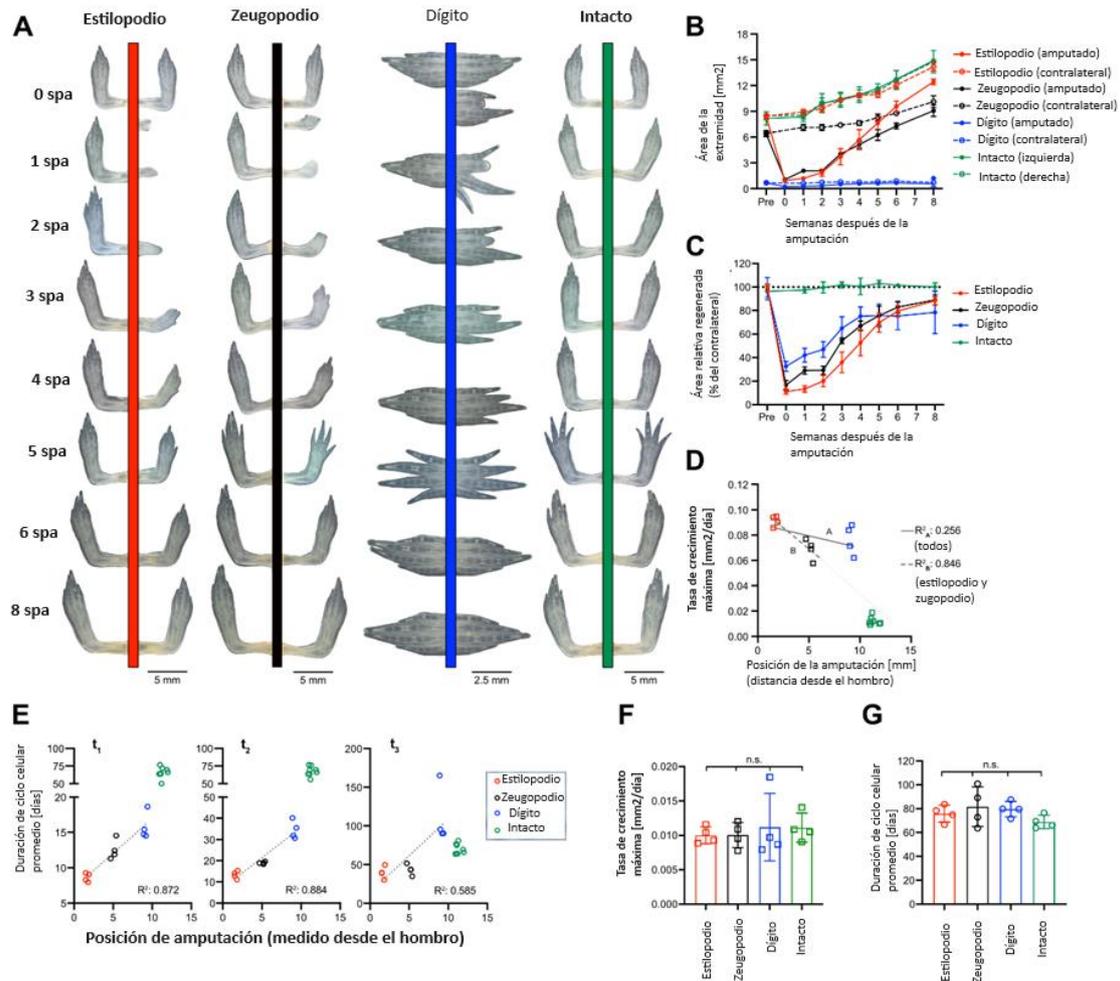


Figura 3.3. El crecimiento del tejido durante la regeneración es más rápido después de amputaciones proximales en pequeños ajolotes juveniles. Animales de 2 meses de edad fueron amputados en la extremidad superior (Estilopodio), extremidad inferior (Zeugopodio) o dedo, y la regeneración fue evaluada semanalmente. Un grupo de hermanos se dejó intacto. A) Imágenes representativas de extremidades amputadas e intactas durante 8 semanas. spa: semanas post-amputación. B) Área de las extremidades en regeneración e intactas (n = 4 animales/condición). C) Área relativa de la extremidad en regeneración con respecto a la contralateral intacta. D) Correlación de la tasa de crecimiento máxima (R_0) con respecto al sitio de amputación. E) Duración media del ciclo celular con respecto al sitio de amputación durante diferentes fases de la regeneración. Se dividió todo el curso temporal de regeneración en 3 segmentos equivalentes (t_1 , t_2 y t_3). F-G) Tasa máxima de crecimiento (F) y longitud media del ciclo celular (G) de las extremidades contralaterales intactas. Análisis de varianza con prueba de comparaciones múltiples de Kruskal-Wallis, n.s. no hay diferencias estadísticamente significativas. Para B-C, F-G: Se muestra la media \pm desviación estándar. Para D-G: Cada punto representa un animal. Para D-E: Las extremidades intactas se representaron según su longitud desde el hombro hasta la punta del dedo más largo. Las líneas representan la regresión lineal y se indica el coeficiente de determinación respectivo (R^2) (solo se incluyeron las extremidades amputadas en las correlaciones lineales).

Las predicciones de nuestro modelo parametrizado con los parámetros obtenidos del ajuste de los datos experimentales para el largo del tejido pueden observarse en la Fig. 3.4. A y C. Vemos que a pesar de que el área inicial de la extremidad inferior (medida desde la articulación más próxima a la amputación) es mayor que en el caso de la extremidad superior, a 80 días esta relación se invirtió y la longitud de la extremidad superior fue mayor a la de la inferior (para ambos conjuntos de animales). Dentro de nuestro modelo, esto se debe a, como ya hemos visto, la duración del ciclo celular promedio es menor para la extremidad superior que para la inferior (Fig. 3.4. B y D). Con respecto al dígito, vemos que su crecimiento es mucho más lento y en consecuencia la duración del ciclo celular es mayor a la de las extremidades (Fig. 3.4. A, B, C y D). Es interesante notar que la duración del ciclo celular promedio del dígito es muy parecida a la del intacto (extremidad contralateral utilizada como control (Fig. 3.4. D)). Sin embargo, al ver el curso temporal de la duración del ciclo celular (Fig. 3.4. E y F), vemos que en todos los casos la duración es pequeña al momento de la amputación y luego aumenta cuasi exponencialmente con el tiempo.

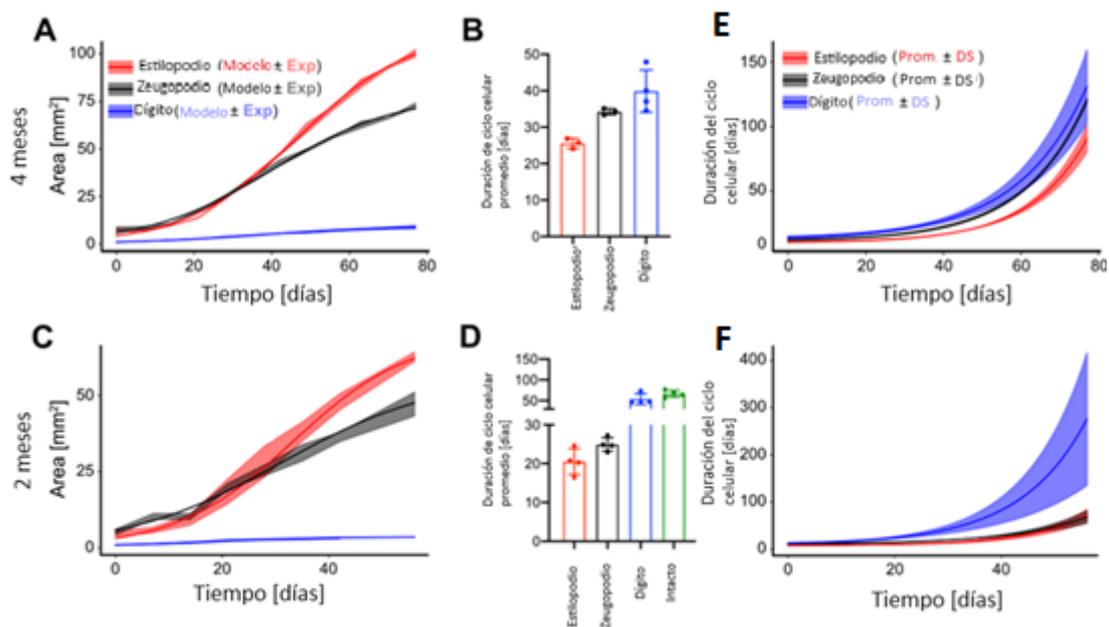


Figura 3.4. Modelo matemático del crecimiento del tejido. Se utilizó una regresión logística para modelar el crecimiento de la extremidad en 2 dimensiones durante la regeneración.

A) Ajuste del modelo a datos experimentales para animales de 4 meses de edad. B) Izquierda: Duración promedio del ciclo celular durante todo el curso temporal de regeneración. Derecha: Duración media del ciclo celular durante la regeneración de animales de 4 meses de edad. C)

Ajuste del modelo a datos experimentales para animales de 2 meses de edad. D) Izquierda: Duración promedio del ciclo celular durante todo el curso temporal de regeneración. Derecha: Duración media del ciclo celular durante la regeneración de animales de 2 meses de edad.

4 LA RELACIÓN ENTRE LA DURACIÓN DEL CICLO CELULAR Y LA VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DEL TEJIDO.

En los capítulos 2 y 3 nos centramos en analizar cómo es la regulación de la proliferación celular con el tiempo (capítulo 2) y con la posición (capítulo 3) en tejidos del ajolote. En este capítulo nuestro objetivo es comprender cómo la proliferación determina el crecimiento de los tejidos. En particular, nuestro objetivo es dilucidar el impacto de la duración del ciclo celular (θ , el tiempo transcurrido entre el momento en que nace una célula y el momento en que se divide) sobre la velocidad de crecimiento de un tejido generico y, por tanto, sobre la evolución del tamaño de dicho tejido.

4.1. Modelo celular de Potts en 2D de un tejido confluyente con longitud de ciclo celular constante muestra un crecimiento con el tiempo monotónico.

Dado que el crecimiento tisular podría depender de las complejas interacciones entre las células y también de la geometría irregular del tejido en estudio, en este capítulo decidimos emular un tejido utilizando un modelo celular de Potts (CPM del inglés *cellular potts model*, ver material suplementario para más detalles). Simulamos un tejido 2D donde las células tienen afinidad positiva consigo mismas y con el medio. Implementamos la división celular de la siguiente manera: se definió un reloj interno en cada celda como un contador celular que mide la posición del ciclo celular y se actualiza en cada paso de tiempo, dado un θ definido previamente. Cuando la posición del ciclo celular supera θ , la célula se divide en dos nuevas células hijas que se ubican en direcciones espaciales aleatorias. Establecemos arbitrariamente θ igual a 15.000 pasos de Monte Carlo (MCS) de modo que las células hijas tengan tiempo suficiente para relajarse mecánicamente después de la división celular y puedan alcanzar el tamaño y la forma de su madre dentro del tiempo de simulación. Para obtener al menos 2 generaciones de células, simulamos la evolución del tejido en 40.000 MCS. Como se esperaba, el tejido simulado crece (como se observa entre los tiempos 20.000 y 40.000, Fig. 4.1 A y B respectivamente). Como alternativa al crecimiento

del tejido (el cual es difícil de calcular numéricamente), cuantificamos la evolución temporal del límite superior e inferior del radio del tejido, calculado a partir de las distancias entre los centros celulares en la interfaz tejido-medio y el centro de masa del tejido. Como era de esperar, observamos un aumento monótono en el crecimiento del tejido para ambos observables (como se ve en las curvas roja y amarilla en la Fig. 4.1. C, respectivamente).

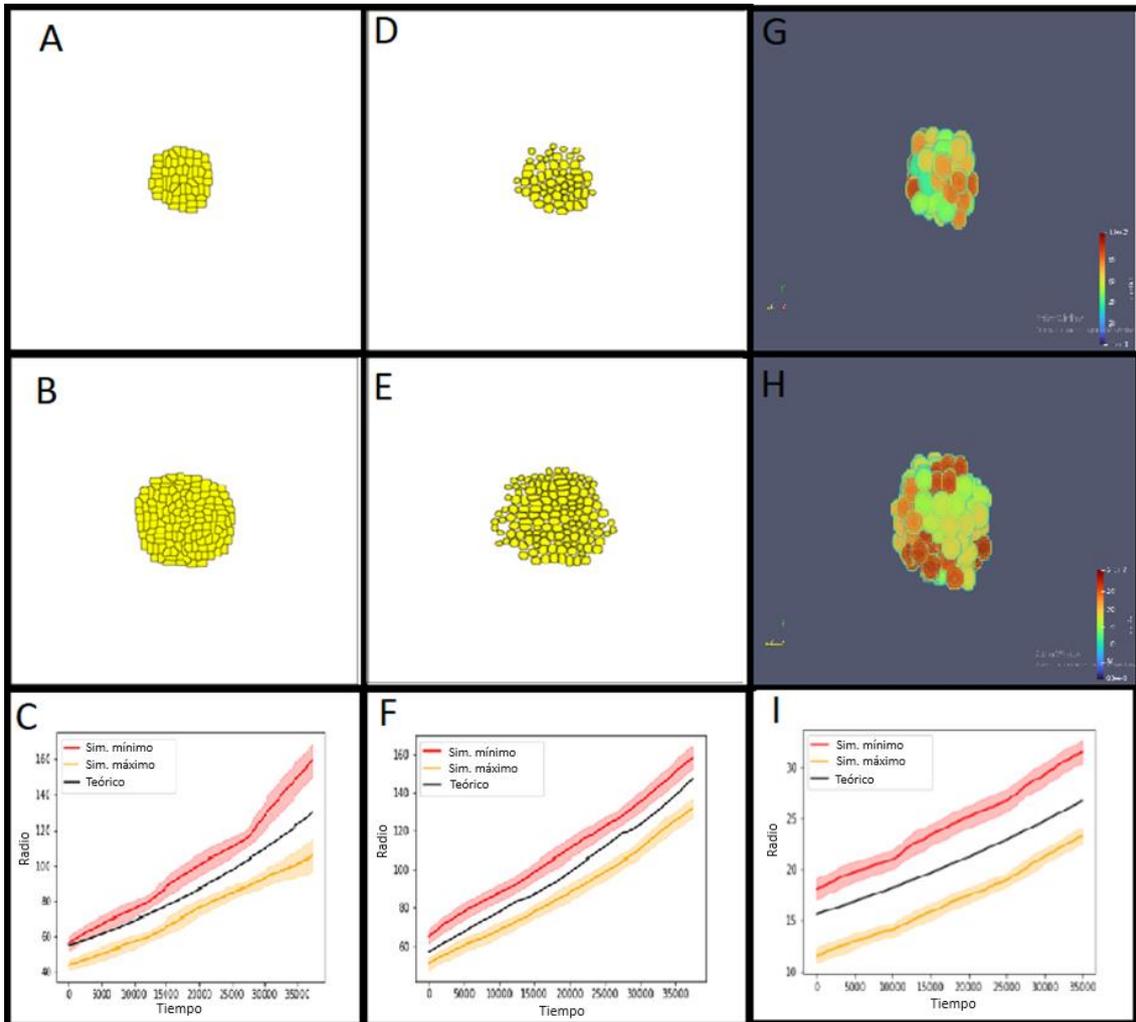


Fig 4.1. Crecimiento de tejido en 2D y 3D. El estado de un tejido 2D sin agujeros, un tejido 2D con agujeros y el casco de un tejido 3D sin agujeros que se obtuvieron a partir de simulaciones por computadora en los tiempos 20000 y 40000 se muestran en los paneles A y B, D y E y G y H, respectivamente. El código de color en G y H es el número de identificación de las células, que solo se muestra con fines ilustrativos y no tiene relevancia física. El radio en función del tiempo se muestra en los paneles C, F e I; respectivamente. La línea roja es el resultado obtenido para el radio máximo medio del tejido y la línea borrosa muestra una desviación estándar para 100 simulaciones. La línea amarilla es el resultado obtenido para el radio mínimo medio del tejido y la línea borrosa muestra una desviación estándar para 100 simulaciones. La línea negra muestra los resultados del ajuste del modelo teórico a los valores obtenidos del radio máximo y mínimo. El radio inicial fue el único parámetro libre y se obtuvo ajustando la función a los datos

de simulación porque no era posible controlar en simulaciones CPM debido a su naturaleza estocástica.

4.2. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 1D.

Con el objetivo de comprender este proceso cuantitativamente, desarrollamos un marco matemático para estudiar el papel de la duración del ciclo celular en la velocidad de crecimiento del tejido (consulte el material suplementario para más detalles). Comenzamos con el caso más simple posible, un tejido 1D que crece en ambas direcciones. Cuando una célula se divide, las dos hijas ocupan el doble del volumen de su madre y empujan y expanden el tejido. En 1D, obtuvimos la relación entre la velocidad de crecimiento del tejido y la duración general del ciclo celular que depende tanto del espacio como del tiempo (consulte el material suplementario para obtener más detalles):

$$\frac{dv(x,t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{\theta(x,t)} \quad \text{Ec. 4.1.}$$

Donde $v(x,t)$ es la velocidad de la celda ubicada en la posición x en el tiempo t .

Para el caso particular donde θ es constante, integramos la expresión anterior en el tiempo para obtener la longitud total del tejido R en función del tiempo (consulte el material suplementario para más detalles):

$$R(t) = R_0 2^{\frac{t}{\theta}} \quad \text{Ec. 4.2.}$$

Siendo R_0 una constante igual a la longitud inicial del tejido.

Ec. 4.1. y la ecuación. 4.2. coinciden con los ya publicados por Barkai (ver [Averbukh et al. 2014](#))

Hasta ahora, estudiamos el papel de la duración del ciclo celular en un tejido en crecimiento unidimensional que carecía de límites físicos. El siguiente paso lógico sería pensar qué pasaría si el crecimiento del tejido estuviera limitado en alguna dirección (por ejemplo, por la presencia de otro tejido que limite su movimiento). Para estudiar este problema se podría utilizar el método de las imágenes ([Jackson 1999](#)) que consiste en concebir la frontera fija del tejido como una interfaz que separa el tejido de un tejido imaginario que refleja el tejido original, anulando cualquier movimiento generado por este sobre la interfaz. El

empuje del tejido real y el empuje de este tejido imaginario se cancelarían exactamente en el límite porque ambos son iguales y opuestos. Este método es bastante general y se puede aplicar en dominios de cualquier dimensión (para más detalles, consulte el material suplementario).

4.3. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 2D y predice correctamente los resultados obtenidos a través de simulaciones numéricas.

Posteriormente estudiamos el caso de un tejido en crecimiento 2D cuyas células se dividen en direcciones aleatorias. Para este escenario, obtuvimos la velocidad de crecimiento del tejido en la dirección x en función de la duración del ciclo celular (el mismo resultado exacto se aplica a la dirección y y reemplazando x por y):

$$\frac{dv(x,t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{2\theta(x,t)} \quad \text{Ec. 4.3.}$$

Los detalles sobre la derivación se pueden encontrar en el material suplementario. Al integrar la Ec. 4.3. con x es posible obtener $v(x,t)$, que se puede integrar en t para obtener el tamaño del tejido en la dirección x , $L_x(t)$, (medido desde el centro del tejido):

$$\frac{dx}{dt} = v(x, t) \quad \text{Ec. 4.4.}$$

Siempre que la longitud inicial del tejido en la dirección x sea:

$$L_x(t = 0) = L_{x0} \quad \text{Ec. 4.5.}$$

Se puede realizar exactamente el mismo procedimiento para obtener el tamaño del tejido en la dirección y y $L_y(t)$ (medido desde el centro del tejido). A partir de $L_x(t)$ y $L_y(t)$ el radio del tejido se puede estimar como:

$$R(t) = \sqrt{(L_x(t))^2 + (L_y(t))^2} \quad \text{Ec. 4.6.}$$

Por tanto, la evolución temporal del radio del tejido para el caso de una duración del ciclo celular constante (θ), se puede calcular de la siguiente manera (para más detalles, consulte el material suplementario):

$$R(t) = R_0 2^{\frac{t}{2\theta}} \quad \text{Ec. 4.7.}$$

Donde R_0 es el radio inicial.

Para probar si el modelo teórico finalmente descrito por la Ec. 4.7. puede explicar el modelo computacional presentado en la sección 4.1., comparamos el radio teórico del tejido con los límites superior e inferior del radio del tejido calculado a partir de 100 simulaciones por computadora (Fig. 1C). Cabe destacar que nuestro modelo supone implícitamente que todas las direcciones de división son equiprobables y, como resultado, la forma del tejido predicha debería ser un círculo. En las simulaciones, algunas direcciones de división se ven ligeramente favorecidas por el azar y otras no. Esto significa que algunas partes del borde del tejido están más cerca del centro que otras y viceversa. Por lo tanto, nuestra predicción del radio del tejido debe estar en algún punto entre el radio máximo posible desde el centro y el radio mínimo desde el centro. Nuestra predicción teórica concuerda cuantitativamente con los resultados de la simulación del modelo computacional (Fig. 4.1. C).

4.4. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 2D en coordenadas polares.

Dependiendo de la geometría del problema que se esté estudiando, se podrían preferir las coordenadas polares del sistema de coordenadas cartesianas utilizado en la sección anterior. Como posible escenario, podríamos imaginar una duración del ciclo celular que dependa de la distancia radial desde el centro del tejido. Por lo tanto, en coordenadas polares, la derivada radial de la velocidad de crecimiento del tejido en función de la duración del ciclo celular se puede describir mediante la siguiente ecuación (consulte el material suplementario para obtener detalles de la derivación):

$$\frac{dv}{dr} = \frac{\ln(2)}{\theta(r,t)} - \frac{1}{r} \frac{dr}{dt} \quad \text{Ec. 4.9.}$$

Lo que integrado en r representa la velocidad del tejido en función del tiempo y la posición en coordenadas polares:

$$v(r, t) = \frac{\int_0^r \frac{\ln(2)}{\theta(r,t)} dr}{r} \quad \text{Ec. 4.10.}$$

Un ejemplo particular que utiliza coordenadas polares se discutirá más adelante en este capítulo.

4.5. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 2D incorporando la posibilidad de añadir huecos en el tejido.

En las secciones anteriores, modelamos tejidos completamente empaquetados, es decir, sin huecos entre sus células. Sin embargo, los tejidos biológicos suelen tener células rodeadas de áreas importantes ocupadas por espacio extracelular. Podemos ampliar nuestra teoría para reconocer el espacio extracelular utilizando una fracción de empaquetamiento $\rho(x,t)$, definida como la relación entre el área ocupada por las células y el área total del tejido, que en general puede depender tanto del espacio como del tiempo. Para un tejido 2D, calculamos la relación entre la duración del ciclo celular y la derivada de la velocidad de crecimiento del tejido con la siguiente ecuación en coordenadas cartesianas (consulte el material suplementario para obtener detalles de la derivación):

$$\frac{dv(x,t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{2\theta(x,t)} - \frac{d\{\ln[\sqrt{\rho(x,t)}]\}}{dt} \quad \text{Ec. 4.11.}$$

Donde x en la derivada se puede reemplazar por y y la ecuación aún se mantiene.

Para ilustrar esta expresión podríamos considerar un caso particular en el que la duración del ciclo celular es constante mientras que la fracción de empaquetamiento solo depende del tiempo. En este escenario, el radio del tejido dependiente del tiempo se puede calcular exactamente:

$$R(t) = \frac{R_0}{\sqrt{\rho(t)}} 2^{2\theta t} \quad \text{Ec. 4.12.}$$

Comparando la Ec. 4.12. con la Ec. 4.7., podemos ver que la fracción de empaquetamiento solo controla la amplitud de la fórmula sin afectar la exponencial. Además, la Ec. 4.7. es un caso particular de la Ec. 4.12., que representa un tejido completamente empaquetado con una fracción de empaquetado constante igual a 1.

4.6. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 2D con empaquetamiento celular variable y predice

correctamente lo obtenido mediante simulaciones computacionales.

Para probar el modelo teórico que describe la dependencia de la duración del ciclo celular en el crecimiento del tejido bajo el supuesto de que la fracción de empaquetamiento no es invariante en el tiempo o el espacio, decidimos utilizar un modelo computacional 2D similar al ya presentado en este capítulo. Decidimos introducir agujeros entre las celdas para tener una fracción de empaquetamiento inferior a uno. Esto se hizo simulando células que interactúan con otras células y el medio con afinidad negativa y positiva, respectivamente. Como resultado, las células tienden a evitar estar en contacto entre sí, creando agujeros entre ellas. Para aumentar aún más la falta de homogeneidad del tejido, definimos dos tipos de células con áreas objetivo distintas y, como resultado, obtenemos heterogeneidad en el tamaño de las células y los agujeros. La fluctuación térmica intrínseca al CPM junto con la división celular aleatoria utilizada en las simulaciones nos permitió generar una fracción de empaquetamiento dependiente del tiempo en el tejido. Realizamos 100 simulaciones de este modelo estableciendo la duración del ciclo celular para todas las células en 15.000 pasos de tiempo. Como se esperaba, el tejido simulado crece a medida que avanza el tiempo (como se observa entre los tiempos 20.000 y 40.000, Fig. 4.1. D y E, respectivamente), lo que se refleja en el aumento monótono de los límites superior e inferior del radio del tejido (Fig. 4.1.F). Estos observables concuerdan con la predicción de nuestro modelo teórico codificado en la Ec. 4.12. (como se muestra en la Fig. 4.1. F).

4.7. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 3D.

Decidimos ampliar el modelo a una geometría 3D donde las celdas se dividen de forma aleatoria. Obtuvimos la velocidad de crecimiento del tejido en la dirección x en función de la duración del ciclo celular (el mismo resultado se obtiene para las direcciones y y z cambiando x por y o z respectivamente):

$$\frac{dv(x,t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{3\theta(x,t)} \quad \text{Ec. 4.13.}$$

Cabe destacar la ecuación 4.13. se parece a Ec. 4.3. y Ec. 4.1. en 2 y 1 dimensiones, respectivamente, con la excepción de un factor 3 en el denominador (a diferencia de un factor 2 o 1, respectivamente). Los detalles sobre la derivación se pueden encontrar en el material suplementario (estableciendo $\rho(x,t)=1$). De manera similar a como lo hicimos para una geometría 2D, el radio del tejido se puede obtener como:

$$R(t) = \sqrt{(L_x(t))^2 + (L_y(t))^2 + (L_z(t))^2} \quad \text{Ec. 4.14.}$$

Donde $L_x(t)$, $L_y(t)$ y $L_z(t)$ son el tamaño del tejido en x, y y z, respectivamente.

Por lo tanto, la fórmula cerrada para el curso temporal del radio del tejido, suponiendo una duración del ciclo celular constante (θ), es la siguiente:

$$R(t) = R_0 2^{\frac{t}{3\theta}} \quad \text{Ec. 4.15.}$$

Donde R_0 es el radio en el momento inicial.

4.8. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 3D y predice correctamente los resultados obtenidos a través de simulaciones computacionales.

Para probar el modelo teórico que describe la dependencia de la duración del ciclo celular en el crecimiento del tejido en 3D codificado en la Ec. 4.13., decidimos desarrollar un modelo computacional 3D similar al presentado previamente en 2D. Ampliamos nuestro CPM a una geometría 3D donde las células tienen afinidad positiva consigo mismas y con el medio, mientras que la división celular se implementó como se describe en el escenario 2D. Realizamos 100 simulaciones de tejidos en crecimiento en 3D con una duración constante del ciclo celular de 15.000 pasos de tiempo. Como se esperaba, el tejido simulado se expande (como se observa al observar la cáscara del tejido entre los tiempos 20.000 y 40.000, Fig. 4.1. G y F, respectivamente). Esta expansión también se puede observar en el aumento monótono de los límites superior e inferior del radio del tejido (Fig. 4.1. F). Como antes, la predicción de nuestro modelo teórico codificado en la Ec. 4.12. concuerda con estos observables (como se muestra en la Fig. 4.1. F).

4.9. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en 3D en coordenadas esféricas.

Cuando la duración del ciclo celular depende radialmente del centro del tejido, podemos reescribir la Ec. 4.13. en coordenadas esféricas como lo hicimos en el escenario 2D (consulte el material suplementario para obtener detalles de la derivación).

$$\frac{dv}{dr} = \frac{\ln(2)}{\theta(r,t)} - \frac{2}{r} \frac{dr}{dt} \quad \text{Ec. 4.16.}$$

Integramos esta expresión en r y llegamos a la siguiente ecuación para la velocidad del tejido que depende tanto del tiempo como del espacio en coordenadas polares:

$$v(r, t) = \frac{\int_0^r r^2 \frac{\ln(2)}{\theta(r,t)} dr}{r^2} \quad \text{Ec. 4.17.}$$

4.10. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en árboles ramificados.

Hasta ahora, hemos estudiado el impacto de la duración del ciclo celular en el crecimiento de tejidos con geometrías 1-3 D relativamente simples. Sin embargo, varios tejidos se caracterizan por estructuras ramificadas que estas geometrías no pueden describir con precisión. Ejemplos de estos tejidos constituyen epitelios de las vías respiratorias o vasos sanguíneos. Por lo tanto, decidimos ampliar nuestro marco de modelado para incluir árboles ramificados. En particular, desarrollamos un modelo de un árbol ramificado en crecimiento en 2D. El árbol comienza con una sola rama principal que puede pensarse como un tejido unidimensional de máxima longitud posible a . A medida que el tejido crece con una duración del ciclo celular θ , habrá un momento en el que se alcanzará la máxima longitud posible y, en ese momento, se crearán dos nuevas subramas mientras están unidas a la rama principal. Suponemos que estas nuevas subramas tendrán una longitud máxima que es r veces la longitud máxima de la

rama principal (es decir, la longitud de las subramas es $r \cdot a$). Este proceso se repite con cada nueva rama (como se muestra en un boceto del tejido en la Fig. 4.2. A). Como observable, definimos la distancia máxima desde el punto inicial del árbol en el tiempo t al que llamamos $L(t)$.

4.11. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular y la velocidad de crecimiento del tejido en árboles ramificados y sus predicciones coinciden con las obtenidas por simulaciones computacionales.

Usamos el hecho de que en cada rama individual las células se mueven como si estuvieran en un tejido 1D para obtener la distancia máxima desde el punto inicial del árbol en el tiempo t en función de la duración del ciclo celular (consulte la sección 3 para obtener detalles sobre la derivación):

$$L(t) = \frac{L_0}{2^{n+1}} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} - a \frac{[(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}]}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \quad \text{Ec. 4.18.}$$

Donde t es el tiempo, L_0 es la longitud inicial de la rama principal, a es la longitud máxima posible de la rama principal, r es la relación entre dos ramas posteriores y n es el número de ramas que tiene el camino más largo en el tejido en el momento t (consulte el material suplementario para obtener detalles sobre su cálculo).

Para evaluar este modelo teórico que describe la dependencia de la duración del ciclo celular en el crecimiento del árbol ramificado, implementamos computacionalmente el modelo en Python. Suponemos que existe un diseño preexistente del árbol ramificado en el momento 0. En la condición inicial, el árbol tiene algunas celdas en la rama principal mientras que las ramas restantes están vacías. En el modelo, la división celular está controlada por un reloj celular interno que se inicializa aleatoriamente dentro del ciclo celular. Cuando una célula determinada se divide, una hija ocupa su posición y la otra se coloca en la siguiente posición, expandiendo el árbol. Si esa siguiente posición ya estaba ocupada por otra celda, esta última también se mueve a la siguiente posición y este proceso se repite tantas veces como sea necesario hasta que no se empujen más celdas. Si durante este proceso se alcanza la última posición de

una rama, entonces la celda elige aleatoriamente entre las dos posibles siguientes subramas y la celda se coloca en su posición inicial. Realizamos 100 simulaciones por computadora con este modelo y calculamos la distancia máxima desde el punto inicial del árbol en cada paso de tiempo. Nuestros resultados muestran que, aunque el modelo computacional muestra una respuesta periódica en la desviación estándar de este observable, la media sigue una tendencia continua que concuerda razonablemente con la predicción de nuestro modelo matemático codificado en la Ec. 4.18. (Figura 4.2 B).

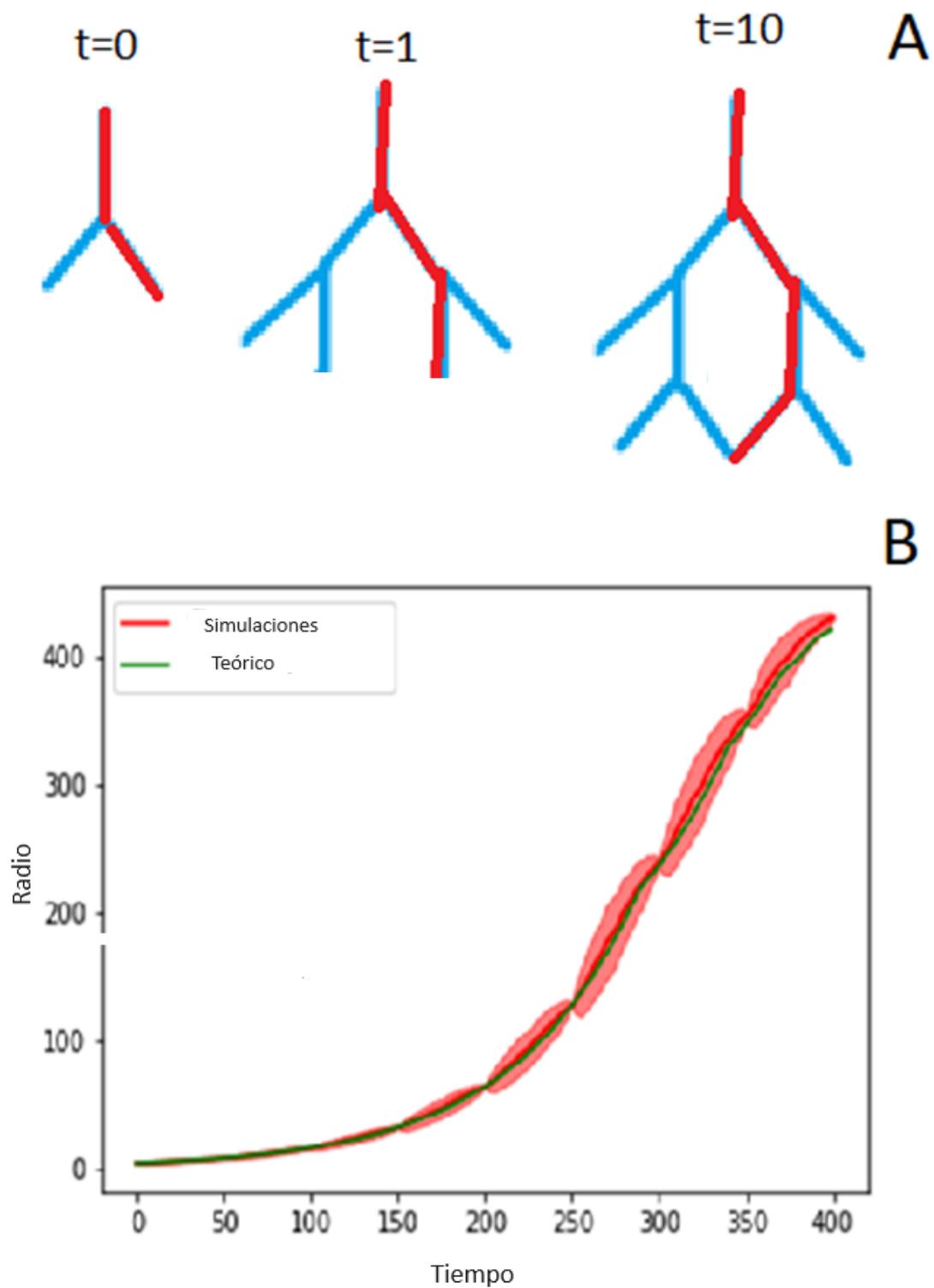


Fig 4.2. Simulaciones de un árbol ramificado. El panel A muestra un boceto del árbol ramificado. En rojo se resalta cómo se calcula la longitud máxima de la rama. El panel A muestra la longitud máxima de rama obtenida de 100 simulaciones en rojo, la línea borrosa muestra una desviación estándar y la longitud máxima de rama prevista en verde.

4.12. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular (que depende del tiempo y el espacio) y la velocidad de crecimiento del tejido en 2D.

Hasta ahora, todos los modelos computacionales simulados en este estudio consideraban una duración del ciclo celular invariante en el espacio. Por lo tanto, en esta sección, decidimos explorar nuestro marco teórico asumiendo una duración del ciclo celular que depende de la posición espacial dentro del tejido. Suponemos un tejido 2D con forma discoide en el que las células se dividen más lentamente (y, como consecuencia, tienen una mayor duración del ciclo celular) cuanto más cerca están del centro del tejido. En particular:

$$\theta(r) = \theta_0 \frac{k}{k+r} \quad \text{Ec. 4.19.}$$

Donde θ_0 es la duración del ciclo celular en el centro del tejido y k modula la rapidez con la que θ decae con r . Usando la definición de la Ec. 4.19., integramos la Ec. 4.10. para obtener la velocidad de crecimiento del tejido, la cual se integró para obtener el radio del tejido en función del tiempo:

$$R(t) = \frac{\frac{k}{2}}{\left(\frac{1}{3} + \frac{k}{2R_0}\right) e^{\frac{-\ln(2)t}{2\theta_0}} - \frac{1}{3}} \quad \text{Ec. 4.20.}$$

Con R_0 el radio del tejido inicial.

4.13. Formalismo matemático describe la relación entre la duración del ciclo celular (que depende del tiempo y el espacio) y la velocidad de crecimiento del tejido en 2D y sus predicciones coinciden con las obtenidas por métodos numéricos.

Para probar la precisión de las predicciones de nuestro modelo, simulamos un tejido en crecimiento 2D similar al presentado en previamente en este capítulo en el que la duración del ciclo celular de sus células disminuyó radialmente, siguiendo la Ec. 4.19. (Figura 4.3. A). Como se esperaba, el tejido simulado crece (como se observa entre los tiempos 20.000 y 40.000, Fig. 4.3. B y C, respectivamente), como se muestra en el aumento monótono de los límites

superior e inferior del radio del tejido (Fig. 4.3. D). Nuestros resultados indican una buena concordancia entre las simulaciones computacionales y el modelo teórico descrito por la Ec. 4.20. (Fig. 4.3. D). Es de destacar que el tejido con esta dependencia radial de la duración del ciclo celular crece más rápido que en el caso en el que la duración del ciclo celular es invariante en el espacio descrito por la Ec. 4.7. (línea verde en la figura 4.3. D).

En este capítulo dilucidamos el impacto de la duración del ciclo celular sobre la velocidad de crecimiento de un tejido y, consecuentemente, sobre el curso temporal de su tamaño.

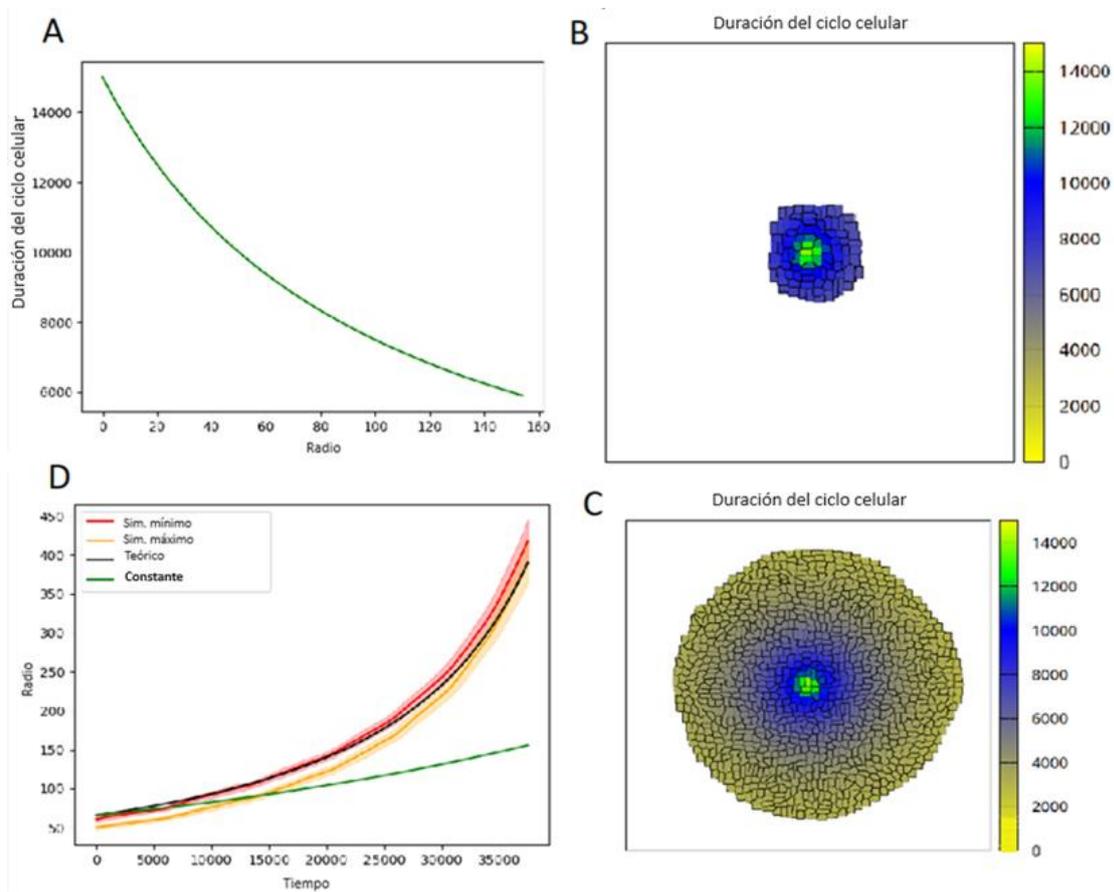


Fig 4.3. Tejido en 2D sin agujeros y con una duración del ciclo celular dependiente de la distancia desde el centro del dominio. La duración del ciclo celular en función de la posición utilizada en este modelo se muestra en el panel a. El estado del tejido obtenido a partir de simulaciones por computadora en los momentos 20000 y 40000 se muestra en los paneles b y c. Las células se colorearon según la duración de su ciclo celular. El radio del tejido en función del tiempo se muestra en el panel d. La línea roja es el resultado obtenido para el radio máximo medio del tejido y la línea borrosa muestra una desviación estándar para 100 simulaciones. La

línea amarilla es el resultado obtenido para el radio mínimo medio del tejido y la línea borrosa muestra una desviación estándar para 100 simulaciones. La línea negra muestra los resultados del ajuste del modelo teórico a los valores obtenidos del radio máximo y mínimo. La línea verde muestra el resultado de ajustar el modelo con una longitud de ciclo de celda constante a los valores obtenidos del radio máximo y mínimo. El radio inicial se obtuvo ajustando la función a los datos de simulación porque no era posible controlar en simulaciones CPM debido a su naturaleza estocástica.

4.14. Métodos.

4.14.1. Simulaciones en 2D y 3D con y sin agujeros.

Para testear las predicciones del formalismo matemático presentado en este capítulo, se eligió el *cellular potts model* (CPM) como modelo para realizar las simulaciones. El CPM es un modelo en la retícula (del inglés “on-lattice”) donde la dinámica del tejido está definida por un Hamiltoniano previamente elegido. Cada nodo en la grilla tenía una variable asociada y todos los nodos con el mismo valor de esta variable se identificaban como una célula. Cada célula tenía un tipo y las células de diferentes tipos tenían propiedades diferentes. El Hamiltoniano elegido estuvo compuesto por dos términos. Un término de “presión interna” que fue responsable de mantener el área celular (2D) o el volumen (3D) casi constante durante la simulación (pero permitiendo cierta plasticidad para permitir el rearrreglo celular) y un término de interacción que fue responsable de los rearrreglos celulares. En cada paso de tiempo, se elegía aleatoriamente un nodo en la retícula y se intentó copiar su estado a uno de sus vecinos. Si el Hamiltoniano del nuevo estado fue menor que el Hamiltoniano anterior, entonces el cambio se aceptó. Si no, se aceptó con cierta probabilidad. Para más detalles ver ([Graner y Glazier, 1992](#)).

En un tejido real, la distribución y forma de las células no es uniforme. Las células en las simulaciones de CPM son deformables y esto nos permitió probar nuestras predicciones teóricas en escenarios no tan ideales como en otros formalismos (por ejemplo, un modelo basado en agentes con esferas duras). Además, no todos los tejidos reales están completamente empaquetados y algunos tienen agujeros entre las células. Con el modelo CPM fue posible utilizar un potencial

de interacción que nos permitió ajustar qué tan cerca estuvieron las células durante la simulación.

Utilizamos Morpheus ([Starruß et al., 2014](#)) para realizar las simulaciones de CPM. Se eligió una retícula de N puntos y T número de pasos de tiempo. Como condición inicial, una pequeña porción de la retícula se inicializó con células ordenadas aproximadamente en un círculo (2D) o una esfera (3D). El resto del tejido se definió como medio. Cada célula tenía propiedades internas definidas. Una propiedad fue la longitud del ciclo celular que se definía antes de la simulación. Otra propiedad fue un reloj interno. Para inicializar el reloj se asignó un valor al azar y en cada paso de tiempo ese valor se incrementaba en uno. Cuando el valor fue mayor que la longitud del ciclo celular de esa célula entonces ocurría una división y ambas células hijas reiniciaban su temporizador a 0. La división celular se realizó utilizando el código proporcionado dentro de Morpheus. El área objetivo A_{obj} era el área que las células intentaban alcanzar dentro de la simulación.

Durante las simulaciones fue necesario controlar si el tejido tenía agujeros o no. El potencial de interacción entre células se utilizó para lograr este objetivo. La adhesión celular es parte del Hamiltoniano y podría ser positiva o negativa. El CPM evoluciona de manera no determinista a configuraciones que minimizan el Hamiltoniano. Esto significa que aquellos términos con valores negativos de adhesión celular se maximizarán y aquellos con uno positivo se minimizarán. En nuestras simulaciones sin agujeros, la fuerza de adhesión entre células era negativa y en las simulaciones con agujeros era positiva. En ambos casos, la adhesión entre células y medio era negativa.

Algunas de las simulaciones con agujeros necesitaban células de diferentes tamaños para lograr un tejido con una densidad de empaquetamiento diferente. Se utilizaron células de diferentes tipos para simular poblaciones de diferentes tamaños seleccionando áreas objetivo diferentes (2D) o volumen (3D).

Con el objetivo de calcular los radios del tejido, la posición del centro de la célula se exportó desde Morpheus y se analizó en Python mediante nuestro propio código. Se obtuvo el casco convexo (del inglés “convex hull”) de esos centros celulares y con ellos se calculó los radios. El radio mínimo (o máximo) es la distancia del centro del tejido al centro de la célula más cercana (o más lejana) perteneciente al casco convexo.

4.14.2. Simulaciones del árbol ramificado.

El árbol ramificado se simuló mediante nuestro propio código. El tejido estuvo compuesto por ramas caracterizadas por su número de generación g que tenían una longitud de l nodos. La longitud l de la rama se calculó mediante la ecuación $l = a * r^{g-1}$ al entero más cercano. Cada nodo en la rama podía ser 1 o 0. Si era 1, significaba que había una célula en esa posición y si era 0 estaba vacío. El tejido se inicializó con algunas posiciones consecutivas en la primera rama iguales a 1 y el resto del tejido igual a 0. La simulación estaba compuesta por t pasos de tiempo. La longitud del ciclo celular se definía globalmente al inicio de la simulación. Cada célula tenía un reloj interno. Para inicializarlo, se asignó un valor al azar y en cada paso de tiempo ese valor se incrementaba en uno. Cuando el valor fue mayor que la longitud del ciclo celular de esa célula entonces ocurrió una división. Cuando esto sucedió, se creó una nueva célula a en la siguiente posición de la célula madre y los relojes celulares de ambas células se reiniciaban a 0. Si esa posición estaba vacía, entonces se colocó allí a la nueva célula y el paso de tiempo terminó. Si no lo estaba, entonces se colocaba a la nueva célula en dicha posición y la célula que ya estaba en allí fue empujada a la siguiente posición. Si la siguiente posición se encontraba vacía entonces se colocaba ahí a la célula empujada y terminó el paso temporal. Si no lo estaba, se colocaba allí la célula empujada y la misma empujaba a su vez a la célula que originalmente se encontraba en la esa posición. Este proceso se repitió tantas veces como sea necesario hasta encontrar una ubicación vacía. Si una célula en la última posición disponible de la rama era empujada (la rama se llenó), entonces esa célula se empujó hacia una de las dos ramas de la próxima generación unida a ella. Se generó un número aleatorio, se eligió una nueva rama y todo el proceso se volvió a aplicar en la nueva rama. La longitud de las ramas en cada momento se almacenó para ser analizada después de la simulación y poder medir el radio del árbol ramificado.

5 LA DISTRIBUCIÓN ESPACIOTEMPORAL DE LOS MORFÓGENOS ES AFECTADA POR EL TAMAÑO DEL TEJIDO.

En los capítulos anteriores estudiamos diferentes formas en las que la proliferación celular afecta al tamaño de los tejidos. En este capítulo nos interesamos en general por la pregunta inversa, cómo el tamaño del tejido afecta a la tasa de proliferación. Dado que se conoce un número de sistemas en los cuales la proliferación celular depende de la distribución espaciotemporal de señales químicas que afectan la proliferación celular conocidas como morfógenos en este capítulo nos enfocaremos en su estudio. De esta forma en este capítulo indagaremos cómo la distribución espaciotemporal de morfógenos depende del tamaño del tejido del que forman parte. Para modelar la distribución de morfógenos, acudiremos a una variante del modelo de reacción-difusión reseñado en la introducción.

5.1. Modelo de reacción-difusión en el dominio infinito.

Aquí resumimos brevemente el conocido modelo de reacción-difusión asumiendo un dominio infinito y su solución analítica (Bergmann et al., 2007; Berezhkovskii et al., 2010). Dentro de este modelo, se supone que la dinámica del morfógeno es más rápida que la tasa de proliferación de las células del tejido y, como consecuencia, los efectos advectivos pueden despreciarse. De lo contrario, se podría incluir un término advectivo en el modelo (Crampin et al., 1999). Dado que durante el proceso de desarrollo los tejidos suelen organizarse a lo largo de un eje particular (Gregor et al., 2005; Kicheva et al., 2007), este modelo se estudia en un entorno unidimensional (Bergmann et al., 2007; Berezhkovskii et al., 2010). Se supone que la concentración de morfógenos $C_1(x, t)$ difunde con un coeficiente de difusión D y se degrada linealmente con una tasa k .

$$\frac{\partial C_1(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_1(x, t)}{\partial x^2} - k C_1(x, t) \quad \text{Ec. 5.1.}$$

En la ecuación anterior, el primer término $D \frac{\partial^2 C_1(x, t)}{\partial x^2}$, es el término “difusivo” mientras que el segundo término $-k C_1(x, t)$ representa el término de “reacción”, que en este caso es lineal y simula un proceso de degradación o absorción. Se

considera que al inicio no existe ningún morfógeno, es decir, la condición inicial es:

$$C_1(x, t = 0) = 0 \quad \text{Ec. 5.2.}$$

La única fuente de morfógeno es un flujo constante q ubicado en el origen, representado por la primera condición de frontera:

$$\frac{dC_1}{dx}(x = 0, t) = \frac{-q}{D} \quad \text{Ec. 5.3.}$$

Este modelo de reacción-difusión también se conoce como Síntesis-Difusión-Degradación (Gregor et al., 2007), Difusión-decaimiento (Rasolonjanahary et al., 2016) o ecuación de difusión con modelo de degradación lineal (Wartlick et al., 2009), destacando el papel de la fuente, así como el término de reacción particular.

En este modelo, se puede suponer que el dominio espacial es infinito y que existe una condición de frontera de Dirichlet en la punta del tejido que representa un sumidero que absorbe el morfógeno:

$$\lim_{x \rightarrow \infty} C_1(x, t) = 0 \quad \text{Ec. 5.4.}$$

Alternativamente, se puede asumir una condición de frontera de Neumann en la punta del tejido:

$$\lim_{x \rightarrow \infty} \frac{dC_1}{dx}(x, t) = 0 \quad \text{Ec. 5.4'.$$

Este modelo fue investigado exhaustivamente por otros autores y la solución, independientemente de la condición de contorno asumida en la punta, es (Bergmann et al., 2007; Berezhkovskii et al., 2010; Umulis, 2009):

$$C_1(x, t) = \frac{q}{\sqrt{Dk}} e^{\frac{-x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \left[1 - \frac{1}{2} \operatorname{erfc}\left(\sqrt{kt} - \frac{x}{2\sqrt{Dt}}\right) - \frac{1}{2} e^{\frac{2x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \operatorname{erfc}\left(\sqrt{kt} + \frac{x}{2\sqrt{Dt}}\right) \right] \quad \text{Ec. 5.5.}$$

Donde $\operatorname{erfc}(x)$ es la función error complementaria.

Las variables de espacio y tiempo se pueden reescribir en términos de las siguientes variables adimensionales $\varepsilon = \frac{x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y $\tau = kt$. En consecuencia, el flujo de morfógeno en el origen del tejido se puede reescribir como $S = \frac{q}{\sqrt{Dk}}$ y la concentración como $C(\varepsilon, \tau) = \frac{C_1(\varepsilon, \tau)}{S}$. Con esta adimensionalización, las ecuaciones del modelo (Ec. 5.1.-5.4.) toman la forma:

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} - C \quad \text{Ec.5.6.}$$

$$C(\varepsilon, \tau = 0) = 0 \quad \text{Ec. 5.7.}$$

Donde la fuente de morfógeno en el origen del tejido, en unidades adimensionales, $\varepsilon = 0$, es:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \tau) = -1 \quad \text{Ec. 5.8.}$$

Y las condiciones de contorno de sumidero de morfógeno y de no flujo en ε tendiendo a infinito en las unidades no dimensionalizadas son:

$$\lim_{\varepsilon \rightarrow \infty} C(\varepsilon, \tau) = 0 \quad \text{Ec. 5.9.}$$

$$\lim_{\varepsilon \rightarrow \infty} \frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon, \tau) = 0 \quad \text{Ec. 5.9'.$$

Lo que lleva a esta solución:

$$C(\varepsilon, \tau) = e^{-\varepsilon} \left[1 - \frac{1}{2} \operatorname{erfc} \left(\sqrt{\tau} - \frac{\varepsilon}{2\sqrt{\tau}} \right) - \frac{1}{2} e^{2\varepsilon} \operatorname{erfc} \left(\sqrt{\tau} + \frac{\varepsilon}{2\sqrt{\tau}} \right) \right] \quad \text{Ec. 5.10.}$$

5.2. El modelo de reacción-difusión en dominios finitos: una solución analítica.

La variante del modelo anterior implica un dominio infinito (Ecs. 5.4., 5.4', 5.9. y 5.9'). Dado que los tamaños de tejido biológico requieren un dominio finito, decidimos reemplazar la condición de límite del sumidero impuesta por la Ec. 5.4. con:

$$C_1(x = L, t) = 0 \quad \text{Ec. 5.11.}$$

y la condición de frontera sin flujo dada por la Ec. 5.4'. con:

$$\frac{dC_1}{dx}(x = L, t) = 0 \quad \text{Ec. 5.11'.$$

Donde L es la longitud del tejido.

Definimos la cantidad $R = \frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$, que es el único parámetro del modelo. Esta cantidad representa la longitud del tejido L en unidades de la longitud característica de reacción-difusión λ , definida como $\lambda = \sqrt{(D/k)}$ (Wartlick et al. 2009).

Por lo tanto, la condición de frontera del sumidero en $\varepsilon = R$ para este modelo en unidades no dimensionalizadas es:

$$C(\varepsilon = R, \tau) = 0 \quad \text{Ec. 5.12.}$$

Mientras que la condición de frontera sin flujo en $\varepsilon = R$ en unidades no dimensionalizadas es:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = R, t) = 0 \quad \text{Ec. 5.12'.$$

Estas ecuaciones reemplazan la Ec. 5.9. y 5.9', asumiendo la finitud del tejido.

Encontramos que la solución analítica del modelo general para tejidos finitos asumiendo una condición de frontera de sumidero en $\varepsilon = R$ (ecuaciones 5.6.-5.8. y 5.12.) en las unidades no dimensionalizadas es la siguiente (consulte el material suplementario para la demostración):

$$C(\varepsilon, \tau) = \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}} \right) + \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} \quad \text{Ec. 5.13.}$$

Mientras que para la condición de frontera sin flujo en $\varepsilon = R$ (Ecs. 5.6.-5.8. y 5.12'), la solución en unidades no dimensionalizadas es la siguiente:

$$C(\varepsilon, \tau) = -\left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1} \right) - \frac{e^{-\tau}}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} \quad \text{Ec. 5.13'.$$

Esta solución fue obtenida previamente por Umulis ([Umulis, 2013](#)).

Además, también encontramos la solución para el modelo suponiendo una concentración fija no nula en $\varepsilon = 0$ y una concentración nula en $\varepsilon = R$ (consulte la información complementaria). Finalmente, resolvimos el modelo de dominio finito para diferentes condiciones de contorno en dos ejemplos simples en 2D (consulte Información complementaria).

Para corroborar aún más las soluciones analíticas, implementamos el modelo numéricamente, utilizando un esquema de diferencias finitas (ver material suplementario). Nuestros resultados indican que las soluciones analíticas concuerdan con las simulaciones numéricas, tanto en 1D como en 2D (Fig. S.5.1. y Fig. S.5.2. en el material suplementario).

5.3. Las distribuciones de morfógenos transitorios son cualitativamente diferentes entre el modelo de dominio infinito y el modelo de dominio finito cuando son del orden de la longitud característica λ o menores.

Decidimos comparar el modelo de reacción-difusión asumiendo un tejido finito versus un dominio infinito. Con la adimensionalización seleccionada, este último no tiene parámetros libres. En contraste, el modelo finito tiene solo un parámetro libre, R , que representa el tamaño del tejido en unidades de la longitud característica del perfil morfógeno λ . Al utilizar nuestra solución analítica para el modelo de tejidos finitos (Ec. 5.13.), exploramos los perfiles espaciales de morfógenos predichos en diferentes tamaños de tejido (es decir, R variable) y los comparamos con los calculados a partir de la solución previamente conocida asumiendo un dominio infinito (Ec. 5.10.), en tres puntos de tiempo diferentes (Fig. 5.1.). Observamos que las concentraciones de morfógeno predichas por el modelo que asume un dominio infinito son mayores o menores que las predichas por el modelo que asume un dominio finito, dependiendo de la condición de contorno asumida en $\varepsilon = R$ (Fig. 5.1. A, B). Para longitudes de tejido suficientemente grandes, los perfiles morfógenos predichos por ambos modelos son indistinguibles en cada momento, como se esperaba (Fig. 5.1. C-F). Por lo tanto, el modelo informado anteriormente que supone un dominio infinito es una descripción razonable de la dinámica de los perfiles morfógenos para tejidos más grandes. Sin embargo, cuando se trata de un tejido cuya longitud es del orden de la longitud característica λ o menor, el modelo introducido en el presente trabajo es una descripción más precisa.

Además, observamos que los tejidos grandes conducen a distribuciones espaciales de morfógenos temporalmente separadas cuando se asume una condición de límite de sumidero en $\varepsilon = R$. Por el contrario, las distribuciones espaciales en diferentes puntos temporales son indistinguibles en tejidos más cortos, lo que sugiere que ya se acercaron al estado estacionario (Fig. 5.1. A). Este resultado indicaría que cuanto más grande sea el tejido, mayor será el tiempo necesario para alcanzar la distribución espacial de morfógenos en el estado estacionario. Por el contrario, asumir una condición de frontera sin flujo en $\varepsilon = R$ conduce a distribuciones espaciales de morfógenos más separadas temporalmente, lo que sugiere que el tiempo necesario para alcanzar el estado estacionario es mayor en tejidos pequeños.

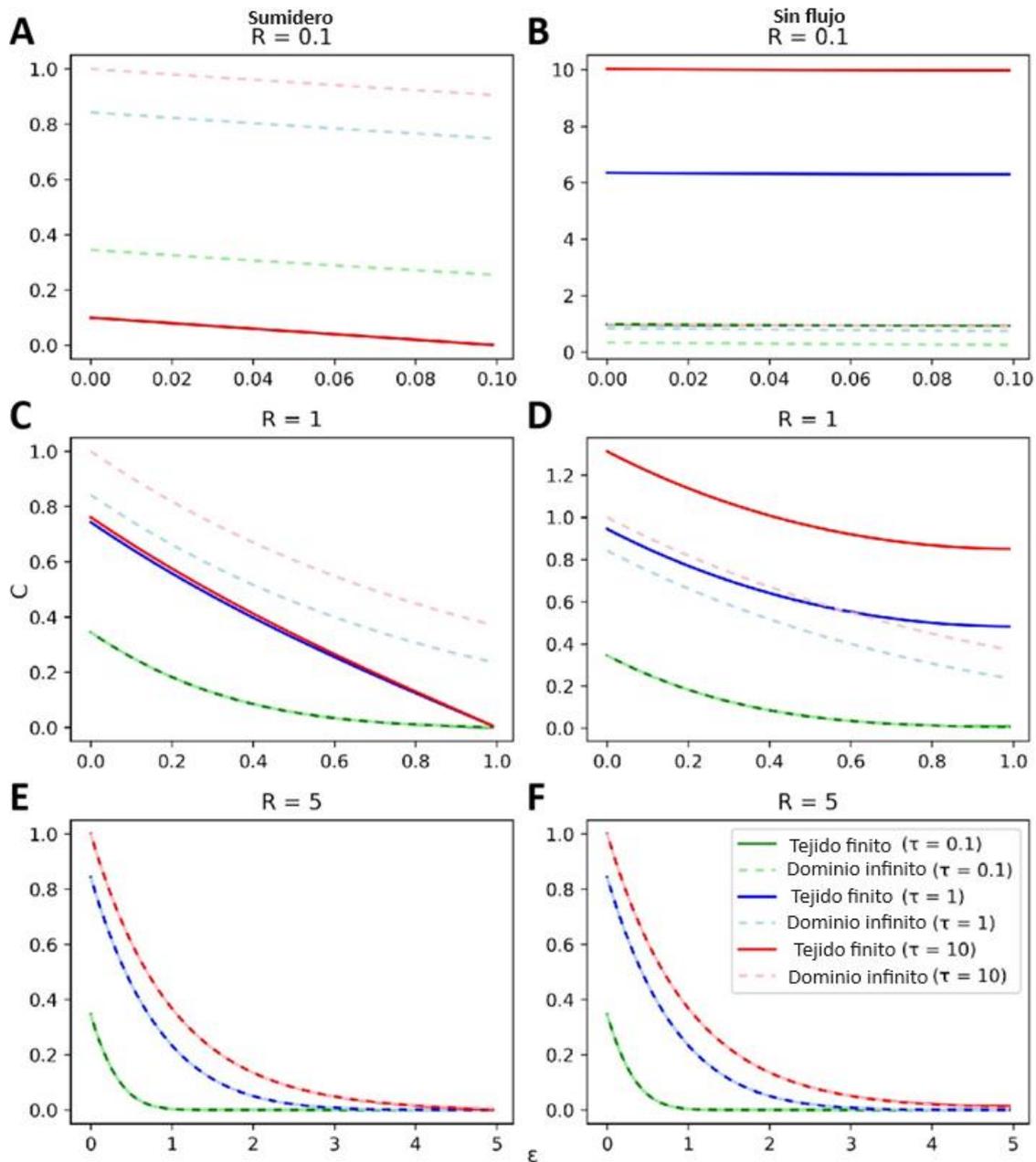


Figura 5.1. Los perfiles espaciales de morfógenos predichos por el modelo de dominio finito de reacción-difusión convergen con el perfil predicho por el modelo de dominio infinito, para grandes longitudes de tejido. Perfiles espaciotemporales de morfógeno del modelo de dominio finito de reacción-difusión en tres tamaños de tejido no dimensionalizados $R = 0,1$ (A, B), 1 (C, D) y 5 (E, F) y en tres tiempos diferentes no dimensionalizados $\tau = 0,1$, 1 y 10 (líneas continuas), suponiendo una condición de frontera de sumidero (A, C y E) o una condición de frontera sin flujo (B, D y F) en la posición no dimensionalizada $\varepsilon = R$. El dominio infinito también se muestra al mismo tiempo (líneas discontinuas). C y ε representan la concentración y posición de morfógenos no dimensionalizados, respectivamente.

2.4. Distribuciones espaciales de morfógenos en estado estacionario.

La distribución espacial del morfógeno que asume un dominio infinito en el estado estacionario ($C_{SS}^{infinite}(\varepsilon)$) es bien conocida (Bergmann et al., 2007; Berezhkovskii et al., 2010) y con nuestra adimensionalización obtenemos la siguiente exponencial espacial decreciente:

$$C_{SS}^{infinite}(\varepsilon) = e^{-\varepsilon} \quad \text{Ec. 5.14.}$$

Calculamos la solución de estado estacionario para nuestro modelo de tejidos finitos, $C_{SS}^{finite}(\varepsilon)$, suponiendo una condición de frontera de sumidero en $\varepsilon = R$ (ver material suplementario):

$$C_{SS}^{finite}(\varepsilon) = \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}} \right) \quad \text{Ec. 5.15.}$$

Aumentar el tamaño del tejido en este modelo modifica el perfil de estado estacionario, aumentando la concentración máxima en el origen y provocando una transición de una curva lineal a una exponencial (Fig. 5.2. A), de acuerdo con los resultados observados en cada momento (Fig. 5.1. A, C y E). Precisamente, para estimar el límite cuando el tamaño del tejido tiende a cero, calculamos la expansión en serie de Taylor de la solución en estado estacionario (Ec. 5.15.) en R al primer orden. Como ε está restringido por R , posteriormente obtuvimos la expansión en serie de Taylor para la expresión resultante en ε de primer orden:

$$\lim_{R \rightarrow 0} C_{SS}^{finite}(\varepsilon) \cong \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} [-\sinh(\varepsilon) + R \cosh(\varepsilon)] \cong R - \varepsilon \quad \text{Ec. 5.16.}$$

Se calculó el límite cuando el tamaño del tejido tiende a infinito:

$$\lim_{R \rightarrow \infty} C_{SS}^{finite}(\varepsilon) = e^{-\varepsilon} = C_{SS}^{infinite}(\varepsilon) \quad \text{Ec. 5.17.}$$

La distribución de morfógenos en estado estacionario del modelo finito converge a la distribución exponencial predicha por el dominio infinito cuando la longitud del tejido tiende al infinito.

El modelo de tejidos finitos que supone que no hay condición de frontera de flujo en $\varepsilon = R$ tiene la siguiente solución en estado estacionario:

$$C_{SS}^{finite}(\varepsilon) = - \left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1} \right) \quad \text{Ec. 5.15'.$$

Con esta condición límite, la cantidad total de morfógeno acumulado en el tejido en el estado estacionario (N_{ss}) se conserva y, en consecuencia, es independiente de R (consulte material suplementario):

$$N_{ss} = \int_0^R C_{ss}^{finite}(\varepsilon) d\varepsilon = 1 \quad \text{Ec. 5.18.}$$

Este resultado se puede interpretar de la siguiente manera. En estado estacionario, el flujo neto de morfógeno en el tejido debe ser igual a cero. Sólo existe un influjo de morfógeno dado por la fuente, situada en el origen, que es constante e igual a -1. Dado que el término de degradación lineal $-C$ (ver Ec. 5.6.) es el único responsable del agotamiento del morfógeno, la integral de este término en todo el tejido da como resultado un flujo de salida de morfógeno igual a $-N_{ss}$. Por lo tanto, el flujo neto cero requiere que la entrada equilibre la salida, lo que implica que $N_{ss} = 1$.

Para tejidos pequeños, calculamos el primer orden de la expansión en serie de Laurent de $C_{ss}^{finite}(\varepsilon)$ en $R = 0$ y, como ε está restringido por R , obtuvimos $C_{ss}^{finite} \sim 1/R$ para valores pequeños de R . Por tanto, cuanto más pequeño sea el tejido, mayor será la concentración promediada sobre el tejido. Esto explica por qué los perfiles de concentración estacionaria del modelo de tejidos finitos que suponen que no hay flujo en $\varepsilon = R$ son mayores que el perfil de estado estacionario del modelo de dominio infinito, en contraste con el resultado obtenido con la condición de contorno del sumidero (Fig. 5.1. B, D, F y Fig. 5.2.). Como se esperaba, el perfil de estado estacionario del modelo de tejido finito converge a la distribución espacial predicha con el modelo de dominio infinito cuando el tamaño del tejido tiende a infinito (es decir, la Ec. 5.17. también se cumple para esta condición de contorno).

Además, al comparar la solución en estado estacionario suponiendo una condición de frontera sumidero en $\varepsilon = R$ (Ec. 5.15.) con su solución completa (Ec. 5.13.), podemos reescribir la Ec. 5.13. de la siguiente manera:

$$C(\varepsilon, \tau) = C_{ss}^{finite}(\varepsilon) + \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} \quad \text{Ec. 5.19.}$$

De manera análoga, suponiendo que no haya condiciones límite de flujo en $\varepsilon = R$ se obtiene:

$$C(\varepsilon, \tau) = C_{ss}^{finite}(\varepsilon) - \left[\frac{e^{-\tau}}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} \right] \quad \text{Ec. 5.19'}$$

El segundo término de la Ec. 5.19. y 5.19'. desaparece cuando el tiempo τ tiende a infinito. Por lo tanto, la concentración de morfógeno se puede expresar como la solución en estado estacionario más un término que describe una contribución transitoria.

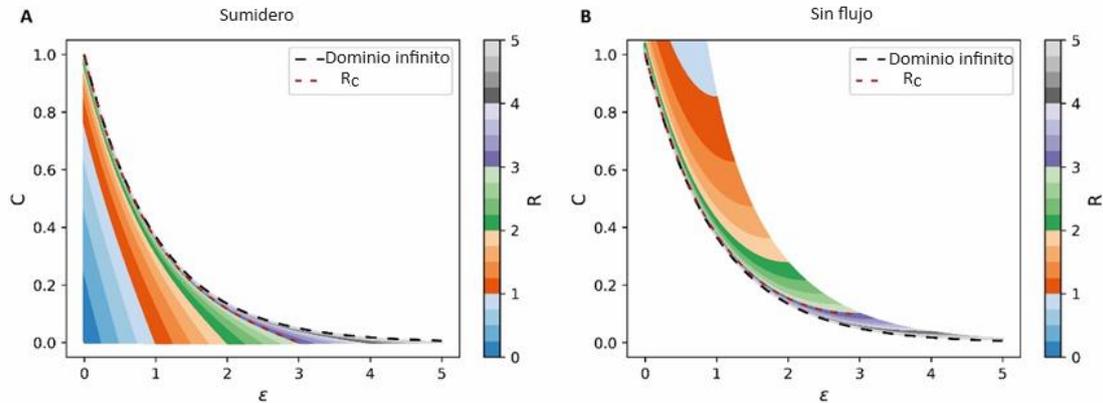


Figura 5.2. Los perfiles espaciales en estado estacionario predichos por el modelo de dominio finito de reacción-difusión convergen con el perfil predicho por el modelo de dominio infinito, para grandes longitudes de tejido. Perfiles espaciales morfógenos del modelo de reacción-difusión en estado estacionario asumiendo dominios finitos que representan diferentes longitudes de tejido no dimensionalizados (R , barra de colores) con una condición de límite de sumidero (A) o una condición de límite sin flujo (B) en la posición no dimensionalizada $\varepsilon = R$. El perfil de estado estacionario del modelo que supone un dominio infinito y el tamaño del tejido cruzado R_c (definido en la sección 2.5) se muestran como líneas discontinuas negras y rojas, respectivamente.

5.5 Caracterización geométrica de las distribuciones espaciales de morfógenos.

Los perfiles de estado estacionario predichos por el modelo de tejidos finitos cambiaron al aumentar el tamaño del tejido. Para caracterizar geoméricamente la forma de los perfiles espaciales en el régimen de estado estacionario, definimos ε_{10} como la posición espacial adimensional ε en la que la concentración de morfógeno es el 10% de la concentración en el origen. Cuando utilizamos esta definición en el modelo asumiendo dominios infinitos, obtenemos (consulte el material suplementario para obtener más detalles):

$$\varepsilon_{10} = \ln(10) \cong 2.3 \quad \text{Ec. 5.20.}$$

Mientras que para el modelo de tejidos finitos se supone una condición de frontera de sumidero en $\varepsilon = R$ (consulte el material suplementario para obtener más detalles):

$$\varepsilon_{10} = R - \operatorname{arcsinh} \left(\frac{\sinh(R)}{10} \right) \quad \text{Ec. 5.21.}$$

Así, en el límite de tejidos pequeños, ε_{10} muestra una dependencia lineal con el tamaño del tejido. Sin embargo, cuando el tejido tiende al infinito, ε_{10} se vuelve independiente del tamaño preciso del tejido, alcanzando una meseta (Fig. 5.3. A). Además, cuando el tamaño del tejido tiende a infinito, en la Ec. 5.21., ε_{10} recupera el valor del modelo infinito calculado en la Ec. 5.20.

Nos preguntamos si es posible establecer un límite para distinguir ambos regímenes. Para responder a esta pregunta, exploramos en qué condiciones la forma de la distribución espacial del morfógeno depende del tamaño del tejido. Más precisamente, preguntamos bajo qué tamaño de tejido cruzado R_c el observable geométrico ε_{10} pasaría de ser lineal dependiendo del tamaño del tejido a volverse independiente de él. Con este fin, expandimos Taylor ε_{10} y buscamos arbitrariamente $R = R_c$ sobre el cual el segundo término distinto de cero de la serie sería aproximadamente el 20 % del primer término lineal (consulte la información complementaria para obtener más detalles). Nuestros resultados muestran que el tamaño del tejido cruzado que separa ambos regímenes es aproximadamente 3 veces la longitud característica λ ($R_c \approx 3$). Un análisis similar con el modelo de tejidos finitos asumiendo una condición de límite sin flujo en $\varepsilon = R$ genera un tejido cruzado similar de aproximadamente 3λ (Fig. 5.30 B y material suplementario).

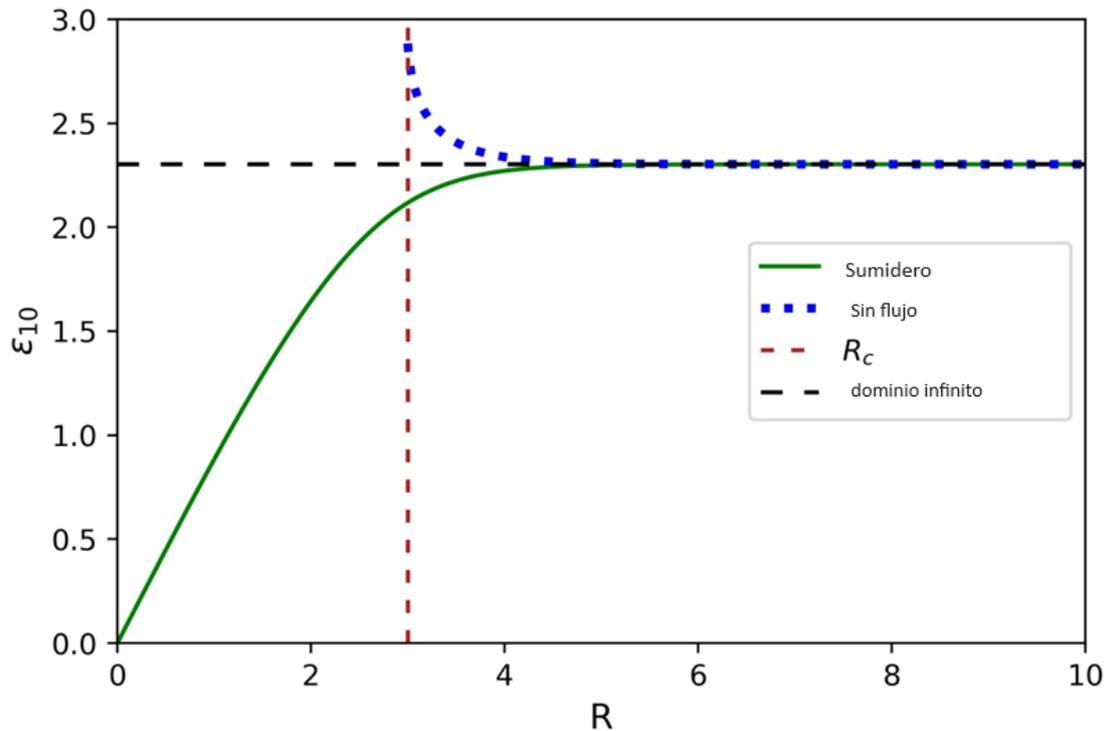


Figura 5.3. Tamaño de tejido cruzado que separa dos regímenes de modelos de reacción-difusión. ε_{10} , definida como la posición espacial no dimensionalizada donde la concentración de morfógeno es el 10 % de su valor en el origen, se calculó para el modelo de dominio finito para diferentes tamaños de tejido no dimensionalizados (R), asumiendo una condición de límite de sumidero (curva punteada azul superior) o una condición de frontera sin flujo (curva verde continua inferior) en la posición $\varepsilon = R$. El modelo de tamaño finito conduce a valores de ε_{10} diferentes de los predichos por el modelo de dominio infinito (curva negra horizontal discontinua), para longitudes de tejido menores que la longitud del tejido cruzado (R_c , curva roja discontinua vertical): la condición de límite del sumidero (sin flujo) da como resultado valores de ε_{10} más pequeños (más altos) que el valor predicho por el modelo de dominio infinito. Por el contrario, ε_{10} predicho por el modelo de dominio finito es indistinguible de la predicción del modelo de dominio infinito, para tejidos más grandes que la longitud del tejido cruzado.

El análisis de la dependencia de ε_{10} con el tamaño del tejido también se puede realizar antes de que la distribución de morfógenos alcance el estado estacionario. Aunque no pudimos encontrar una expresión analítica para este observable en el caso general, exploramos esta dependencia numéricamente (Fig. 5.4.). Para ambas condiciones de contorno, observamos que ε_{10} cambia en el tiempo hasta alcanzar una meseta, lo que indica que el perfil espacial se estabiliza en el estado estacionario. Además, para la condición de límite del sumidero, el tiempo necesario para alcanzar la meseta aumenta monótonamente con el tamaño del tejido hasta $R \sim R_c$. Por el contrario, para la condición de frontera sin flujo ocurre lo contrario: el tiempo necesario para alcanzar la meseta

disminuye monótonamente con el tamaño del tejido hasta $R \sim R_c$. Para tamaños de tejido más grandes, el tiempo para alcanzar la meseta converge con la predicción del modelo para dominios infinitos (Fig. 5.4. A y B).

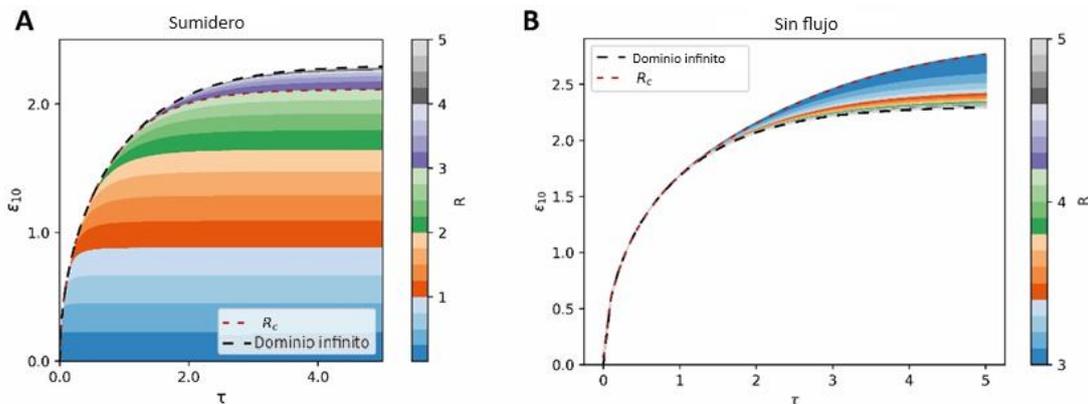


Figura 5.4. Cinética del factor geométrico ε_{10} calculada a partir del modelo de dominio finito de reacción-difusión para diferentes tamaños de tejido. Cinética del factor geométrico ε_{10} predicha a partir del modelo de dominio finito para diferentes tamaños de tejido no dimensionalizados (R , longitud del tejido en unidades no dimensionalizadas), suponiendo una condición de frontera de sumidero (A) o una condición de frontera sin flujo (B) en la posición no dimensionalizada $\varepsilon = R$. También se muestra el curso temporal del factor ε_{10} correspondiente al modelo de dominio infinito (línea negra discontinua). ε_{10} se define como la posición espacial donde la concentración de morfógeno es el 10 % de su valor en el origen. La línea roja discontinua muestra la longitud del tejido cruzado R_c .

5.6 Tiempo para alcanzar la distribución de morfógenos en estado estacionario.

Los resultados previamente obtenidos sugieren que cuanto más grande es el tejido, más tiempo (más corto) le toma al modelo alcanzar el estado estacionario cuando se supone una condición de frontera de sumidero (sin flujo) en $\varepsilon = R$. Para probar esta hipótesis, aprovechamos un método desarrollado por Berezhkovskii y colaboradores (Berezhkovskii et al., 2010) para cuantificar el tiempo medio ($\mu_t(\varepsilon)$) que le toma a un perfil morfógeno alcanzar su estado estacionario. En su estudio, los autores definieron una función de relajación local como la relación entre la diferencia entre los valores actuales y en estado estacionario de la cantidad total de morfógeno acumulado en el tejido. Interpretan la derivada negativa de la función de relajación como la densidad de probabilidad

para el tiempo del proceso de acumulación local a partir de la cual podrían calcular el tiempo medio. Aplicaron este método al modelo de reacción-difusión asumiendo un dominio infinito y obtuvieron (en nuestras unidades adimensionales):

$$\mu_{\tau}(\varepsilon) = \frac{\varepsilon+1}{2} \quad \text{Ec. 5.22.}$$

Es decir, el tiempo medio para alcanzar el estado estacionario es lineal con la posición dentro del dominio infinito. Aplicamos el mismo método a nuestro modelo de reacción-difusión de tejidos finitos asumiendo una condición de contorno de sumidero en $\varepsilon = R$ y obtuvimos (consulte el material suplementario para obtener más detalles):

$$\mu_{\tau}(\varepsilon) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]^2} \frac{1}{\left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right)} \quad \text{Ec. 5.23.}$$

Si bien se supone una condición de límite sin flujo en $\varepsilon = R$, se representa (consulte el material suplementario para obtener más detalles):

$$\mu_{\tau}(\varepsilon) = \frac{1}{-\left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right)} \left[\frac{1}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right)^2} \right] \quad \text{Ec. 5.23'.$$

Por lo tanto, para nuestro modelo, el tiempo medio para alcanzar el estado estacionario no sólo depende de la posición dentro del tejido sino también del tamaño del tejido.

Para comparar formalmente los tiempos medios calculados a partir de ambos modelos de reacción-difusión también necesitamos estimar una medida del error. Por lo tanto, calculamos la desviación estándar del tiempo para alcanzar el estado estable, $\sigma_{\tau}(\varepsilon)$ (consulte la información complementaria para obtener más detalles). Para el modelo que asume un dominio infinito, se lee:

$$\sigma_{\tau}(\varepsilon) = \frac{\sqrt{\varepsilon+2}}{2} \quad \text{Ec. 5.24.}$$

Lo que coincide con el resultado ya informado por Ellery y colaboradores ([Ellery et al., 2013](#)). Por el contrario, para el modelo de reacción-difusión para tejidos finitos suponiendo una condición de frontera de sumidero en $\varepsilon = R$, obtenemos (consulte la información complementaria para obtener más detalles):

$$\sigma_{\tau}(\varepsilon) = \sqrt{\sum_{j=0}^{\infty} \frac{4}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]^3} \frac{1}{\left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right)} - \left(\sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]^2} \frac{1}{\left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right)}\right)^2} \quad \text{Ec. 5.25.}$$

Si bien se supone una condición de contorno sin flujo en $\varepsilon = R$, se representa (consulte la información complementaria para obtener más detalles):

$$\sigma_{\tau}(\varepsilon) = \sqrt{\frac{2}{-\left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right)} \left[\frac{1}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1} \right] - \left(\frac{1}{-\left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right)} \left[\frac{1}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1} \right] \right)^2} \quad \text{Ec. 5.25'}$$

Al igual que con la media, la desviación estándar del tiempo necesario para alcanzar el estado estacionario no sólo depende de las posiciones a lo largo del tejido sino también del tamaño del tejido. En el origen del tejido ($\varepsilon = 0$), tanto $\mu_{\tau}(\varepsilon)$ como $\sigma_{\tau}(\varepsilon)$ aumentan o disminuyen con R (dependiendo de si hay una condición de contorno de sumidero o sin flujo en $\varepsilon = R$) hasta que convergen hacia $1/2$ y $\sqrt{2}/2$, respectivamente, cuando R tiende a infinito (Fig. 5.5. A). Estos son precisamente los valores esperados del modelo que supone dominios infinitos evaluados en el origen del tejido (ecuaciones 5.22. y 5.24.). Curiosamente, la transición entre los dominios en los que $\mu_{\tau}(\varepsilon)$ y $\sigma_{\tau}(\varepsilon)$ dependen del tamaño del tejido y donde son independientes de él coincide con el tamaño del tejido cruzado de aproximadamente 3λ determinado en la sección anterior (compárese la Fig. 5.5. A con la Fig. 5.3.).

Para tejidos más pequeños que el tamaño cruzado, el tiempo medio para alcanzar el estado estacionario y su error en cada posición dependen en gran medida del tamaño del tejido (Fig. 5.5. B). Por el contrario, para tamaños de tejido superiores al tamaño del tejido cruzado, ambas magnitudes se vuelven independientes del tamaño (Fig. 5.5. C). Es importante destacar que, para tejidos más pequeños que el tamaño de cruce, el estado estacionario se alcanzará significativamente más rápido o lento que la predicción del modelo asumiendo un dominio infinito, dependiendo de si hay una condición límite de sumidero o sin flujo, respectivamente, en $\varepsilon = R$. Para tejidos más grandes que el tamaño cruzado, ambos modelos coinciden en el tiempo para alcanzar el estado estacionario (Fig. 5.5. B y C).

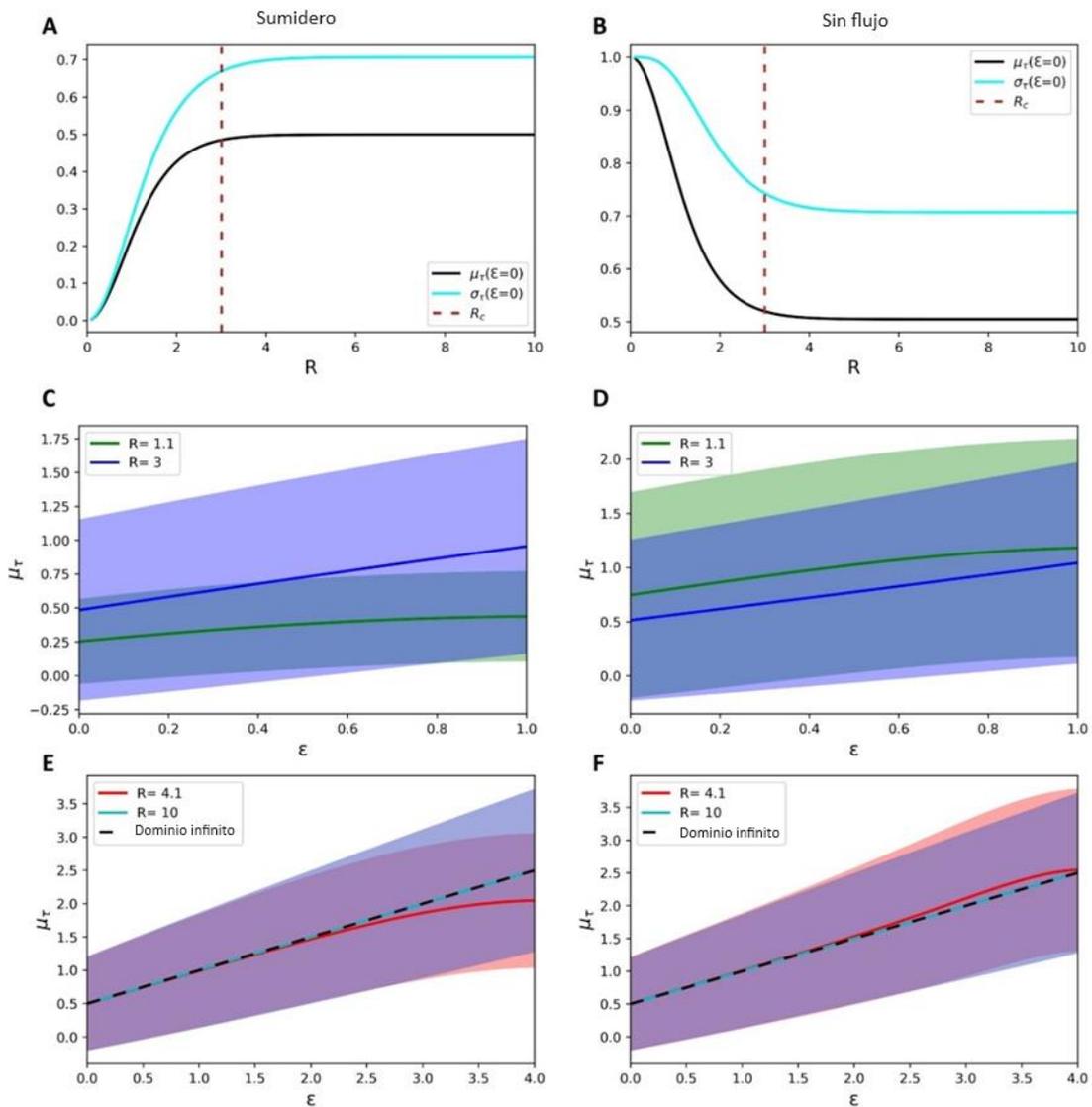


Figura 5.5. El tamaño del tejido cruzado separa dos regímenes de cinética para alcanzar el estado estacionario. (A, B) El tiempo medio para alcanzar el estado estacionario ($\mu_\tau(\varepsilon)$, línea negra) y la desviación estándar ($\sigma_\tau(\varepsilon)$, línea azul claro) en la posición no dimensionalizada $\varepsilon = 0$ en función de la longitud del tejido no dimensionalizado (R) predicho por el modelo de dominio finito de reacción-difusión suponiendo un sumidero (A) o una condición de contorno sin flujo (B) en $\varepsilon = R$. La línea roja discontinua vertical indica el tamaño del tejido cruzado R_c . (C-F) Perfiles espaciales del tiempo medio para alcanzar el estado estacionario para el modelo de dominio finito suponiendo $R = 1,1$ (línea verde, C, D), $R = 3$ (línea azul, C, D), $R = 4,1$ (línea roja, E y F) y $R = 10$ (línea azul claro, E, F). Suponemos un sumidero (B, E) o una condición de frontera sin flujo (D, F) en $\varepsilon = R$. La desviación estándar está representada por las áreas sombreadas que rodean las curvas. El resultado correspondiente al modelo de dominio infinito se muestra en una línea negra discontinua (E, F).

5.7. Dominios finitos versus infinitos en el modelo de reacción-difusión utilizado en la determinación de parámetros de difusión basada en FRAP.

Los parámetros de difusión de morfógenos se pueden determinar experimentalmente en tejidos mediante experimentos de recuperación de fluorescencia después de fotoblanqueo (FRAP) (Kicheva et al., 2012; Müller et al., 2012). A partir de esta técnica, el coeficiente de difusión D y la constante de degradación k se obtienen indirectamente ajustando a las mediciones de concentración experimentales la solución analítica del modelo asumiendo un dominio finito (Kicheva et al., 2012; Müller et al., 2012) así como un dominio infinito (Kicheva et al., 2007; Axelrod et al., 1976). Por tanto, nos preguntamos si la elección del modelo tiene un impacto en un escenario típico de FRAP. Para responder a esta pregunta, simulamos un experimento FRAP con nuestro modelo de dominio finito usando como condición inicial la distribución en estado estacionario y recreamos el blanqueamiento multiplicando el perfil en estado estacionario por un factor arbitrario b entre las posiciones d y $d + h$, siguiendo Kicheva y colegas (Kicheva et al., 2007). Es de destacar que para modelar un experimento FRAP, se puede asumir una distribución uniforme antes del blanqueo de la sustancia en difusión (Axelrod et al., 1976). Como nuestro modelo implica un gradiente de morfógeno generado por una fuente mientras sufre difusión y degradación, centramos nuestro análisis en un caso no uniforme. Luego evaluamos la distribución espaciotemporal del morfógeno predicha por el modelo de dominio finito, suponiendo un sumidero y una condición de límite sin flujo en $\varepsilon = R$. A medida que pasa el tiempo, el gradiente de morfógeno recuperó el perfil de estado estacionario (Fig. 5.6. A y B). Calculamos una curva de recuperación típica definida como la integral espacial de la concentración entre las posiciones d y $d + h$, dividida por la longitud de la zona blanqueada h (Fig. 5.6. C y D). Calculamos las curvas de recuperación con nuestro modelo de dominio finito asumiendo una condición de frontera de sumidero o sin flujo en $\varepsilon = R$. (ver las ecuaciones S.5.31. y S.5.32., respectivamente, en el material suplementario) y las comparamos con las curvas de recuperación predichas por el modelo 1D de dominio infinito, previamente calculado por Kicheva y colaboradores (Kicheva et al., 2007) (Ec. S.5.33 en el material suplementario). Nuestros resultados muestran que las curvas de recuperación predichas por tejidos mayores que R_c son indistinguibles de la curva predicha por el modelo de dominio infinito (Fig. 5.6. C y D). Por el contrario, los tejidos más pequeños que

R_c dan lugar a cinéticas de recuperación que difieren de las predichas por el modelo de dominio infinito. Mientras que una condición de frontera de sumidero en $\varepsilon = R$ da lugar a cinéticas más rápidas que las predichas por el modelo de dominio infinito, ocurre lo contrario con la condición de frontera sin flujo, de acuerdo con los resultados mostrados en la sección anterior.

A continuación, nos preguntamos si la elección del modelo utilizado en FRAP tiene un impacto en los valores calculados de D y k . Con ese fin, como prueba de principio, evaluamos si el modelo de dominio infinito podría generar una estimación precisa de los parámetros cinéticos D y k , cuando se ajustan a una curva de recuperación, a su vez generada con el modelo de dominio finito utilizado como proxy para una curva de recuperación experimental.

Después de reescribir las ecuaciones de la curva de recuperación (Ecs. 5.27. y 5.27'.) en la coordenada original $x = \lambda\varepsilon$ y establecer arbitrariamente $\lambda = 1$, ejecutamos simulaciones del modelo de dominio finito, para diferentes valores de L . Luego, realizamos una curva ajuste de cada una de las curvas de recuperación simuladas utilizando la expresión correspondiente al modelo de dominio infinito como función de ajuste y λ como parámetro libre.

Obtuvimos el valor predicho de λ en función de $R = L$ (Fig. 5.6. E y F). Para valores grandes de R , el λ predicho es aproximadamente 1, lo que concuerda con el valor realmente utilizado para generar los datos. En contraste, para valores de R menores que R_c , el valor predicho de λ se desvía de 1, convergiendo a 0 u obteniendo valores de órdenes de magnitud superiores a 1, dependiendo de la condición de frontera en $\varepsilon = R$. En conjunto, estos resultados indican que ambos Los modelos se pueden utilizar para inferir los parámetros cinéticos D y k a partir de experimentos FRAP, siempre que los tamaños de tejido sean superiores a R_c . Por el contrario, para tejidos más pequeños que este valor de cruce, el modelo que asume dominios finitos es la mejor alternativa.

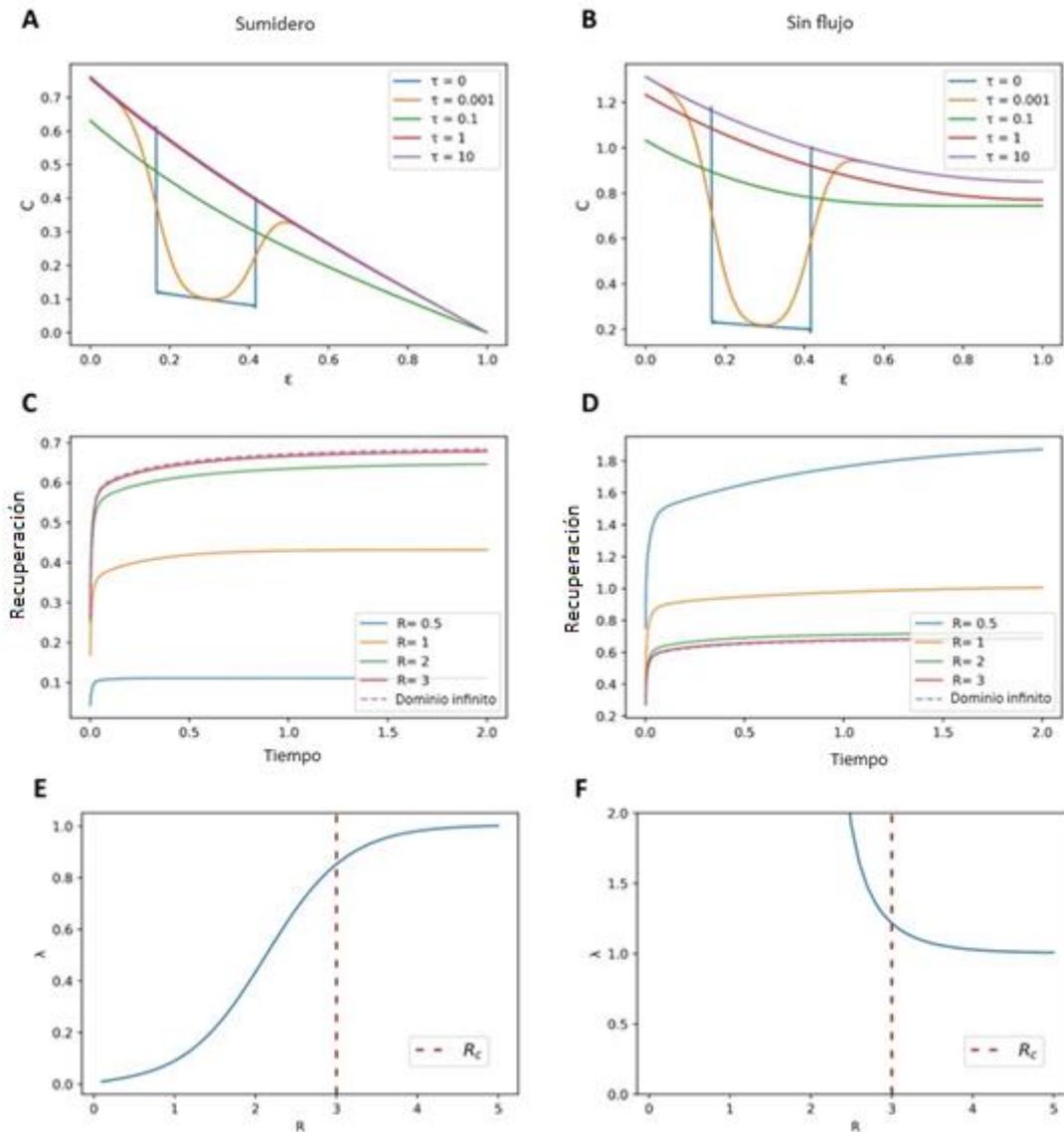


Figura 5.6. El modelo de reacción-difusión que supone un dominio infinito no predice correctamente la longitud característica para tejidos más pequeños que el tamaño de cruce en un escenario FRAP simulado. (A, B) Perfiles espaciales morfógenos del modelo de reacción-difusión en un dominio finito de tamaño de tejido no dimensionalizado $R = 1$ en diferentes tiempos no dimensionalizados (τ). En la condición inicial ($\epsilon = 0$), la concentración de morfógeno está en estado estacionario excepto entre las posiciones no dimensionalizadas $\epsilon = \frac{1}{6}$ y $\epsilon = \frac{5}{12}$, donde la concentración de morfógeno es 0,2 veces la concentración en estado estacionario, para emular un blanqueamiento. (C, D) Evolución temporal simulada de las curvas de recuperación de FRAP predichas por el modelo finito para diferentes tamaños de tejido (líneas continuas) y comparadas con el modelo de dominio infinito (línea discontinua). (E, F) Longitud característica (λ) predicha por el modelo de dominio infinito al ajustar las curvas de recuperación generadas por el modelo de dominio finito donde λ se fijó en 1. El tamaño del tejido cruzado (R_c) se indica como la línea vertical discontinua en E, F. El modelo de dominio finito se simuló

asumiendo una condición de frontera de sumidero (A, C, E) o una condición de frontera sin flujo (B, D, F) en $\varepsilon = R$.

5.8. Métodos computacionales.

En este trabajo se estudió el modelo de reacción-difusión asumiendo un dominio finito y su comparación con el modelo asumiendo un dominio infinito. La derivación analítica del modelo de reacción-difusión suponiendo un dominio finito para diferentes condiciones de contorno en 1D y 2D se presenta en la sección 9.2.1. en el material suplementario. La comparación entre soluciones analíticas y numéricas en 1D y 2D se describe en la sección 9.2.2. en el material suplementario. Los cálculos en estado estacionario, la caracterización geométrica de los perfiles de distribución espacial dados por ε_{10} y la estimación del tamaño del tejido cruzado R_c se muestran en las secciones 9.2.3., 9.2.4. y 9.2.5. en el material suplementario, respectivamente. El tiempo medio para alcanzar el estado estacionario junto con su desviación estándar se encuentran en la sección 9.2.6. del material suplementario. El cálculo de las curvas de recuperación FRAP del modelo 1D de dominio finito se encuentra en la sección 9.2.7. del material suplementario. Los detalles sobre el error de asumir un dominio infinito en lugar de un dominio finito en las soluciones de estado estacionario se encuentran en la sección 9.2.8. en el material suplementario. Finalmente, la eficiencia de la solución analítica frente a las simulaciones numéricas se analiza en la sección 9.2.9. del material suplementario.

Todos los cálculos del modelo se codificaron en Python 3.7.3 y se realizaron utilizando NumPy [Harris et al. 2020] y SciPy [Virtanen et al. 2020] mientras que la visualización se ejecutó con matplotlib [Hunter 2007] y seaborn [Waskom et al. 2017]. Los códigos fuente de todos los cálculos y cifras se implementaron en cuadernos complementarios utilizando Jupyter Notebook (<http://jupyter.org/>) y se pueden encontrar en: <http://doi.org/10.5281/zenodo.4421327> [Ceccarelli et al. 2021].

6 MODELO MATEMÁTICO DE CAMPO MEDIO DE RECLUTAMIENTO CELULAR DE LA REGENERACIÓN DE LA MÉDULA ESPINAL DEL AJOLOTE.

En los capítulos 2 y 3 estudiamos diferentes modelos de proliferación celular en ajolote. A su vez, en el capítulo 4, describimos la relación matemática entre la tasa de proliferación y la velocidad de expansión de los tejidos. En el capítulo 5, vimos como el tamaño del tejido afecta la distribución espacio temporal de los morfógenos, los cuales por su parte son responsable de cambios en la tasa de proliferación de los tejidos. Sin embargo, debido a la complejidad de los sistemas biológicos es necesario estudiar las interacciones de estos elementos simultáneamente ya que podrían existir comportamientos emergentes que no puedan ser descritos simplemente por la suma de sus partes. En esta dirección, en este capítulo describiremos un modelo multiescala que combina la proliferación celular, una señal en el tejido (como por ejemplo los morfógenos) y el tamaño del tejido.

Con el objetivo de estudiar la evolución espaciotemporal de la médula espinal del ajolote durante su regeneración, desarrollamos un modelo matemático continuo en una dimensión. Para obtenerlo, partimos de un modelo discreto de agentes interactuantes para modelar a las células ependimales del tejido, ya descritas en la introducción, y tomamos su aproximación de campo medio en el límite de infinitas partículas. Este tipo de aproximación nos permite estudiar zonas del espacio paramétrico las cuales no son posibles de estudiar con un modelo de agentes por cuestiones de tiempo de cálculo computacional. El trabajo realizado en este capítulo se llevó a cabo en colaboración con Valeria Caliaro y Diane Peurichard de Sorbone Universite, INRIA, Paris.

Este capítulo se divide en tres secciones. En la sección 6.1. describiré al modelo de agentes interactuantes. En la sección 6.2. tomaré la aproximación de campo medio en el límite de muchas partículas del modelo presentado en la sección 6.1. Finalmente, en la sección 6.3. compararemos los resultados obtenidos al realizar simulaciones con el modelo de las secciones 6.1. y 6.2.

6.1. Modelo de agentes interactuantes de la regeneración de la médula espinal del Ajolote.

La médula espinal del ajolote puede ser modelada como un cilindro hueco de pequeño espesor cuya altura corresponde al eje anatómico anteroposterior (Fig. 6.1.). Para describir matemáticamente dicho objeto es útil realizar un corte imaginario en la dirección de su radio de esta y extenderla de modo de obtener un prisma rectangular de pequeño espesor. Dicho prisma rectangular puede ser descrito como un objeto en dos dimensiones cartesianas donde la tercera dimensión en la dirección del espesor es despreciada por tener un tamaño pequeño comparado con las otras dos dimensiones (como se demuestra esquemáticamente en la Fig. 6.1.). Se impondrán condiciones de contorno periódicas en la dirección del corte para poder modelar al corte imaginario. Debido a la simetría inicial de nuestro modelo, este puede ser simplificado aún más y podemos estudiar lo que sucede en una sola dimensión. Esto se debe a que, al tener condiciones periódicas de contorno y simetría inicial, ninguna posición está favorecida sobre otra y por lo tanto podemos pensar que todas se comportarán de manera similar y por ello podemos estudiar este problema en solo una dimensión.

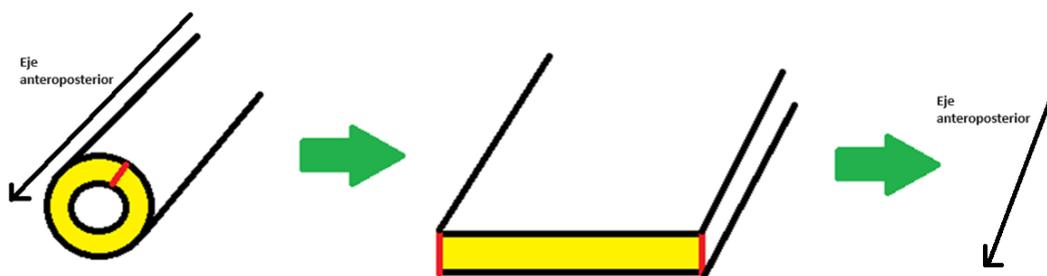


Fig. 6.1. Esquema del modelado geométrico de médula espinal del ajolote. A la izquierda se muestra el modelo cilíndrico de la médula espinal del ajolote. Se realiza un corte imaginario en la dirección radial (línea roja). En el centro se encuentra dicho tejido desplegado. En la dirección perpendicular al corte imaginario (línea roja) se impondrán condiciones de contorno periódicas. Luego a la izquierda se simplifica el problema a una dimensión.

Para modelar a las células del tejido utilizaremos un modelo de agentes interactuantes de corto alcance en una dimensión. Las células se modelan como agentes sin estructura interna descritos únicamente por la posición de sus centros. Dos partículas interactúan repulsivamente entre sí cuando sus centros estén a una distancia menor a $2R$ donde R es una magnitud predeterminada que

simboliza el “radio” de la célula. Por lo tanto, definimos un potencial de interacción V de la siguiente manera:

$$V(x_i, r_j) = c|Dist(x_i, x_j) - 2R| \quad \text{Ec. 6.1.}$$

Donde c es una constante, x_i y x_j son las posiciones de los centros de las células i y j y $Dist(x_i, x_j)$ es la distancia euclídea entre los centros de las células i y j .

Suponemos que las células se encuentran en un régimen sobreamortiguado (viscoso) de poca aceleración. También supondremos que la fuerza disipativa es lineal con la velocidad. Las ecuaciones de Newton para la célula i nos quedan:

$$-\nabla \sum_{j \neq i} V(x_i, x_j) - \mu \vec{v}_i = m \vec{a}_i \quad \text{Ec. 6.2.}$$

Donde μ es la constante de viscosidad, m la masa de la célula i , \vec{v}_i la velocidad de la célula i y \vec{a}_i su aceleración.

Tomamos el límite de baja aceleración y escribimos explícitamente \vec{v}_i :

$$\frac{dx_i}{dt} = -\nabla \sum_{j \neq i} V(x_i, x_j) \quad \text{Ec. 6.3.}$$

Donde hemos tomado $\mu = 1$ por simplicidad ya que el potencial puede ser rescrito para absorber dicha constante.

Como queremos estudiar tejidos en crecimiento, introduciremos dos nuevos elementos a este modelo: La división celular y la posibilidad de controlar la misma.

Definiremos dos tipos o estados de células de acuerdo con que tan rápido ellas dividen. Las células que dividen frecuentemente las llamaremos células reclutadas y las células que dividen más lentamente las llamaremos no reclutadas (estos nombres tendrán sentido cuando expliquemos cómo se pasa de un tipo celular a otro). Las células reclutadas tienen una tasa de proliferación ϑ_R y las no reclutadas ϑ_N . Las células dividirán siguiendo un proceso aleatorio de Poisson de frecuencias ϑ_R y ϑ_N , respectivamente.

Inicialmente, todas las células se encuentran en el estado no reclutado. Luego ocurre una amputación en la médula espinal del ajolote y este animal la empieza a regenerar. Siguiendo las ideas planteadas en trabajos anteriores del grupo [Cura costa et al. 2021], hipotetizamos la existencia de una señal, posiblemente química, que se produce en las células de la región anterior al plano de amputación que difunde al resto del tejido reduciendo la longitud del ciclo celular de las células a su paso. A este proceso se lo conoce como reclutamiento. En este modelo suponemos que las células censan la concentración de dicha

sustancia y siguiendo un proceso de Poisson pueden cambiar del estado no reclutado al estado reclutado, de esta manera dividiendo más rápido para poder regenerar al tejido. De esta manera, suponemos que la tasa de reclutamiento (ω) de las células ependimales de la médula espinal del ajolote durante la regeneración depende de la hipotética señal con la siguiente formula:

$$\omega = \vartheta_{rec} \frac{\frac{1}{1+e^{-h_0(s-\rho_{min})}} - \frac{1}{1+e^{-h_0\rho_{min}}}}{\frac{1}{1+e^{-h_0(s_0-\rho_{min})}} - \frac{1}{1+e^{-h_0\rho_{min}}}} \quad \text{Ec. 6.4.}$$

Donde ϑ_{rec} , h_0 , s_0 y ρ_{min} son constantes y s es la concentración de la señal en una posición del tejido. La forma de la función ω para distintos valores de h_0 se puede ver en la Fig. 6.2.

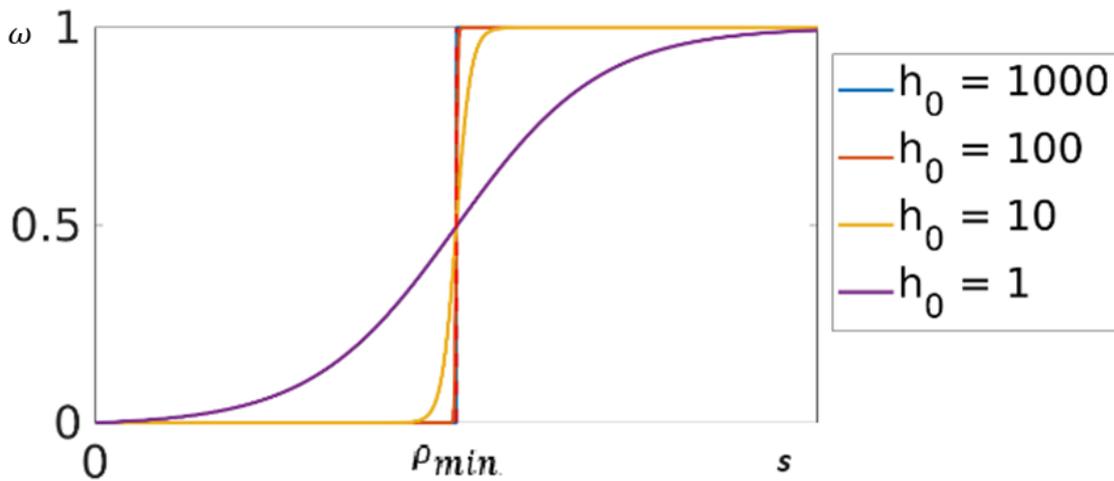


Fig. 6.2. ϑ en función de s para distintos valores de h_0 . La forma de la función $\vartheta(s)$ para $h_0 = 1, 10, 100, 1000$ se puede ver en las líneas violeta, amarilla, naranja y azul, respectivamente.

A lo largo del eje dorsoventral es suficiente estudiar la concentración de la señal en la dirección perpendicular al plano de amputación (eje anteroposterior), reduciendo la complejidad del problema de dos dimensiones a una dimensión.

Para describir matemáticamente la concentración de la señal utilizaremos un modelo de reacción difusión muy similar al estudiado en la sección 5 con la única diferencia que en este caso el largo del tejido incrementa con el tiempo:

$$\frac{\partial s(x,t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 s(x,t)}{\partial x^2} - ks(x,t) \quad \text{Ec. 6.5.}$$

$$s(x, t = 0) = 0 \quad \text{Ec. 6.6.}$$

$$\frac{\partial s(x=0,t)}{\partial x} = 0 \quad \text{Ec. 6.7.}$$

$$s(x = L(t), t) = 0 \quad \text{Ec. 6.8.}$$

Donde D es el coeficiente de difusión de la señal, k el coeficiente de degradación de la señal y $L(t)$ es el largo del tejido a tiempo t .

En la región del espacio paramétrico que queremos estudiar vemos que la señal llega al estado estacionario muy rápido (ver el capítulo 5 para más detalles sobre el tiempo necesario para alcanzar el estado estacionario). Para optimizar el tiempo de cálculo computacional, decidimos utilizar la solución de estado estacionario para un tejido de largo $L(t)$ en lugar de calcular numéricamente la solución transiente del Sistema Eqs. 6.5-6.8. La misma se puede calcular analíticamente como:

$$s(x, t) = S_0 \frac{\cosh\left(\frac{x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\cosh\left(\frac{L(t)}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)} \quad \text{Ec. 6.9.}$$

6.2. Modelo de campo medio de la regeneración de la médula espinal del ajolote.

Para calcular la aproximación de campo medio del modelo planteado en la sección 6.1. me basaré en la deducción hecha por Motsch y Peurichard [[Motsch y Peurichard 2018](#)]. Por simplicidad y para poder transmitir mejor los conceptos, primero haremos la deducción del modelo de campo medio para el caso con un solo tipo celular y luego presentaremos la solución para el caso con dos tipos celulares.

Combinando Ec.6.3. y 6.1 obtenemos:

$$\frac{dx_i}{dt} = -\nabla \sum_{j \neq i} c |Dist(x_i, x_j) - 2R| \quad \text{Ec. 6.10.}$$

Definiremos la densidad de células $\delta(x, t)$ como:

$$\rho(x, t) = \sum_i \delta(x - x_i) \quad \text{Ec. 6.11.}$$

Donde $\delta(x)$ es la delta de Dirac.

Integramos $\rho(x, t)$ con respecto a una función de prueba arbitraria $\varphi(x)$.

$$\langle \rho, \varphi \rangle = \int \varphi(x) \rho(x, t) dx = \sum_i \varphi(x_i) \quad \text{Ec. 6.12.}$$

Derivamos con respecto al tiempo:

$$\frac{d\langle \rho, \varphi \rangle}{dt} = \sum_i \frac{\partial \varphi(x_i)}{\partial x} \frac{\partial x_i}{\partial t} = - \sum_i \frac{\partial \varphi(r_i)}{\partial x} \sum_{j \neq i} c \frac{\partial |Dist(x_i, x_j) - 2R|}{\partial x} \quad \text{Ec. 6.13.}$$

Definimos:

$$F[\rho](x) = \int \rho(y) \frac{d(c|Dist(x,y)-2R|)}{dx} dy = \sum_{j \neq i} c \frac{\partial |Dist(x, x_j) - 2R|}{\partial x} \quad \text{Ec. 6.14.}$$

Entonces usando el teorema de Green:

$$\frac{d\langle \rho, \varphi \rangle}{dt} = - \left\langle \rho, \frac{d\varphi}{dx} F \right\rangle = - \left\langle \rho F, \frac{d\varphi}{dx} \right\rangle = \left\langle \frac{dF\rho}{dx}, \varphi \right\rangle \quad \text{Ec. 6.15.}$$

$$\left\langle \frac{d\rho}{dt} - \frac{dF\rho}{dx}, \varphi \right\rangle = 0 \quad \text{Ec. 6.16.}$$

Entonces ρ es una solución débil de:

$$\frac{d\rho}{dt} - \frac{dF\rho}{dx} = 0 \quad \text{Ec. 6.17.}$$

Tomando el cambio de variables $z = \frac{x-y}{2R}$:

$$F[\rho](x) = -2Rc \int \rho(x - 2Rz) \frac{z}{|z|} dz \quad \text{Ec. 6.18.}$$

Consideraremos el caso en el cual el radio de las células R es pequeño comparado con el dominio en el que estamos trabajando. Por ello podemos tomar la aproximación de R pequeño y expandir en Taylor ρ , obtenemos:

$$F[\rho](x) = (2R)^2 c \frac{d\rho}{dx} + O(R^2) \quad \text{Ec. 6.19.}$$

Si definimos $(2R)^2 c = \alpha$, de las Ec. 6.17 y 6.19. obtenemos:

$$\frac{d\rho}{dt} - \alpha \frac{d\rho}{dx} = 0 \quad \text{Ec. 6.20.}$$

Definiremos $h(x, t)$ a la densidad de células no reclutadas en la posición x a tiempo t y $g(x, t)$ a la densidad de células reclutadas en la posición x a tiempo t .

Reescribiremos la Ec. 6.3. para el caso en que tenemos dos tipos de células de la siguiente manera:

$$\frac{dx_i^h}{dt} = - \sum_{j \neq i} \nabla V(x_i^h, x_j^h) - \sum_{j \neq i} \nabla V(x_i^h, x_j^g) \quad \text{Ec. 6.21.}$$

$$\frac{dx_i^g}{dt} = - \sum_{j \neq i} \nabla V(x_i^g, x_j^g) - \sum_{j \neq i} \nabla V(x_i^g, x_j^h) \quad \text{Ec. 6.22.}$$

Donde x_i^h es la posición del centro de una célula reclutada y x_i^g el de una no reclutada. Hemos dividido a la sumatoria del potencial en dos sumatorias mas pequeñas, una que tiene en cuenta interacciones de células del mismo tipo y la otra que considera las interacciones con células de diferente tipo.

Tomando las mismas consideraciones usadas en las Ec. 6.11.-6.20. obtenemos:

$$\frac{dh}{dt} - \alpha \frac{dh \frac{d(h+g)}{dx}}{dx} = 0 \quad \text{Ec. 6.23.}$$

$$\frac{dg}{dt} - \alpha \frac{dg \frac{d(h+g)}{dx}}{dx} = 0 \quad \text{Ec. 6.24.}$$

Finalmente, complejizaremos un poco el modelo para agregar la división celular y el reclutamiento. Como ambos son procesos de Poisson, los agregaremos como un término lineal con la densidad de células. Nos queda:

$$\frac{dh}{dt} = \alpha \frac{dh \frac{d(h+g)}{dx}}{dx} + \vartheta_N h - \vartheta_{rec} \frac{\frac{1}{1+e^{-h_0(s-\rho_{min})}} - \frac{1}{1+e^{-h_0\rho_{min}}}}{\frac{1}{1+e^{-h_0(s_0-\rho_{min})}} - \frac{1}{1+e^{-h_0\rho_{min}}}} h \quad \text{Ec. 6.23.}$$

$$\frac{dg}{dt} = \alpha \frac{dg \frac{d(h+g)}{dx}}{dx} + \vartheta_R g + \vartheta_{rec} \frac{\frac{1}{1+e^{-h_0(s-\rho_{min})}} - \frac{1}{1+e^{-h_0\rho_{min}}}}{\frac{1}{1+e^{-h_0(s_0-\rho_{min})}} - \frac{1}{1+e^{-h_0\rho_{min}}}} h \quad \text{Ec. 6.24.}$$

Las condiciones de contorno elegidas para este problema fueron de no flujo en x igual a 0 e infinito y como condición inicial una función escalón para h y ausencia de g (todas las células ependimales en el tejido no estaban reclutadas).

Matemáticamente:

$$\frac{dh}{dx}(x = 0, t) = 0 \quad \text{Ec. 6.25.}$$

$$\frac{dh}{dx}(x = \infty, t) = 0 \quad \text{Ec. 6.26.}$$

$$\frac{dg}{dx}(x = 0, t) = 0 \quad \text{Ec. 6.27.}$$

$$\frac{dg}{dx}(x = \infty, t) = 0 \quad \text{Ec. 6.28.}$$

$$h(x, t = 0) = h_0 \theta(x - x_0) \quad \text{Ec. 6.29.}$$

$$g(x, t = 0) = 0 \quad \text{Ec. 6.30.}$$

Donde h_0 y x_0 son constantes y $\theta(x)$ es la función escalón.

6.3. Implementaciones numéricas.

6.3.1. Aspectos numéricos.

Realizamos una implementación numérica del sistema de ecuaciones diferenciales del modelo de campo medio con la señal producida en la punta del tejido que involucra a las ecuaciones Ec. 6.9 y Ecs. 6.23.-6.30.

Para simular dicho sistema discretizamos el tiempo y el espacio tomando puntos separados una distancia Δx y Δt entre sí, respectivamente. Lo natural en estos casos es tomar un esquema de diferencias finitas para aproximar las derivadas en las ecuaciones diferenciales. Sin embargo, como nuestras ecuaciones diferenciales involucran un término de difusión no lineal con respecto a la concentración, al simularlo, ocurren oscilaciones indeseadas debido a que las células ependimales en el sistema se trasladan mucho más rápido de lo deseado. Es decir, entre un tiempo y el siguiente las células que estaban en la posición arbitraria i se trasladaron a la posición $i+2$ debido a la fuerte difusión. Sin embargo, el esquema utilizado asume que las células se trasladan a lo sumo una posición, lo cual da origen a las oscilaciones. Esto se puede evitar tomando Δt más pequeños ya que ello conlleva a movimientos mas pequeños. Sin embargo, tomar Δt más pequeños implica simular más pasos y en consecuencia la necesidad de mayor tiempo de cálculo. En la práctica, esto hizo que no se pudiera simular el sistema con los recursos computacionales que se disponían utilizando este método. Para circunscribir este problema, utilizamos el esquema conocido como “upwind” [ver, por ejemplo, [Falco et al., 2023](#); [Motsch y Peurichard 2018](#)], el cual trata a los flujos de masa del sistema con mayor cuidado, siendo más eficiente al momento de evitar oscilaciones.

Seguimos la implementación del método de “upwind” propuesta por Motsch y Peurichard [[Motsch y Peurichard 2018](#)]. Primero discretizamos el tiempo y el espacio. Definiremos a h_i^n a la función h evaluada en la posición discreta i a tiempo discreto n . Este esquema funciona para ecuaciones diferenciales de la siguiente forma:

$$\frac{dh}{dt} = \frac{-d(hG)}{dx} \quad \text{Ec. 6.31.}$$

Notar que en nuestro caso:

$$G = \alpha \frac{d(h+g)}{dx} \quad \text{Ec. 6.32.}$$

Luego se discretiza Ec. 6.31. de la siguiente manera:

$$\frac{h_i^{n+1} - h_i^n}{\Delta t} = \frac{-(hG)_{i+\frac{1}{2}}^n - (hG)_{i-\frac{1}{2}}^n}{\Delta x} \quad \text{Ec. 6.33.}$$

Donde $(hG)_{i+\frac{1}{2}}^n$ es el valor de hg en la interfaz $x_{i+\frac{1}{2}}$ a tiempo n . Para estimar este valor definimos:

$$G_{i+\frac{1}{2}} = \frac{G_i + G_{i+1}}{2} \quad \text{Ec. 6.34.}$$

Entonces definimos:

$$(hG)_{i+\frac{1}{2}} = \begin{cases} h_i G_{i+\frac{1}{2}} \text{ si } G_{i+\frac{1}{2}} > 0 \\ h_{i+1} G_{i+\frac{1}{2}} \text{ si } G_{i+\frac{1}{2}} < 0 \end{cases} \quad \text{Ec. 6.35.}$$

Este esquema tiene asociada una condición de CFL (condición de no negatividad) $\frac{2\max(|G|)\Delta t}{\Delta x} < 1$, la cual es mejor que la del método usual que tiene una condición $\frac{2\Delta t}{\Delta x^2} < 1$.

Consideremos primero las funciones “parte positiva” de f $(f)_+$ y “parte negativa” de f $(f)_-$ definidas como:

$$(f)_+ = \begin{cases} f \text{ si } f > 0 \\ 0 \text{ si no lo es} \end{cases} \quad \text{Ec. 6.36.}$$

$$(f)_- = \begin{cases} f \text{ si } f < 0 \\ 0 \text{ si no lo es} \end{cases} \quad \text{Ec. 6.37.}$$

Definimos también la función auxiliar:

$$v_{i+\frac{1}{2}}^n = -\alpha \frac{(h_{i+1}^n + g_{i+1}^n) - (h_i^n + g_i^n)}{\Delta x} \quad \text{Ec. 6.38.}$$

La condición de CFL nos queda:

$$\Delta t \leq C_{max} \quad \text{Ec. 6.39.}$$

Donde la constante C fue elegida como 10^{-3} para evitar oscilaciones a prueba y error (la condición de CFL garantiza no negatividad, pero no siempre garantiza que la solución no oscile). El paso Δt entonces fue adaptativo, calculando su valor en cada paso temporal de simulación.

Es importante notar que los términos lineales de producción no los incluimos dentro del esquema “upwind” y no fueron incluidos en la G ya que no involucran un flujo espacial de células endimales. Los mismos fueron considerados de la manera en la que se consideran usualmente dentro de un esquema de diferencias finitas.

Discutamos ahora sobre el frente del tejido. La posición del frente del tejido $L(t)$ es importante en este modelo ya que allí es donde se produce la señal que es responsable del reclutamiento. La forma intuitiva de definir dicha posición es mediante la última posición en la que tenemos densidad de células no nula. Sin embargo, esto tiene un problema. En las simulaciones obtenemos densidades muy pequeñas en el borde del tejido (menores a 10^{-3}). Las mismas no tienen un

sentido físico ya que la señal se producirá en alguna posición en la que tengamos una suficiente cantidad de células capaces de producir dicha señal. Es por esto por lo que implementamos un umbral para el cual considerar la posición del frente. Pedimos que el frente se encuentre en la última posición en la que la densidad de células sea mayor a dicho umbral, el cual será tomado en 0.001 (ver Fig. 6.3. para mas detalles).

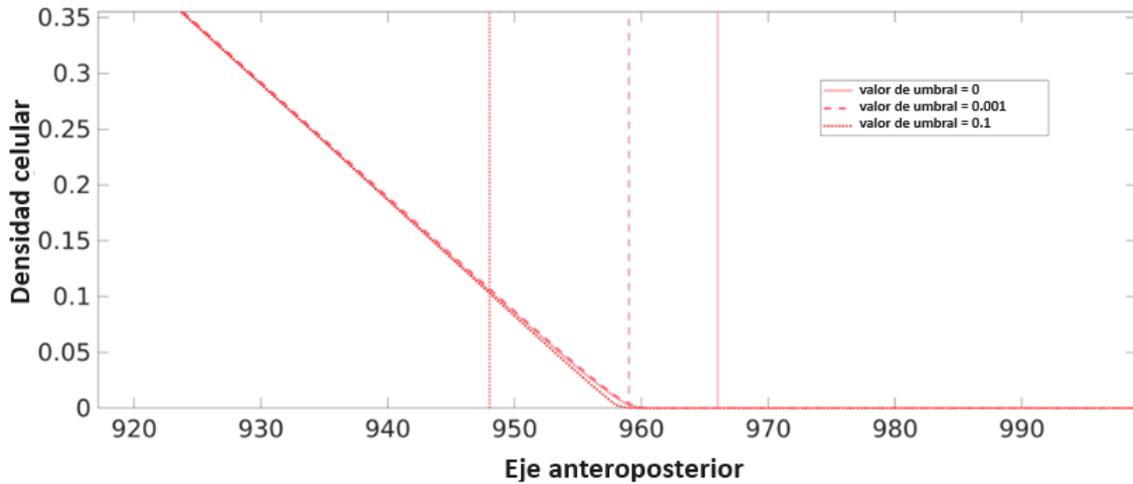


Fig. 6.3. Posición del frente del tejido como función del valor del umbral. Simulaciones a tiempo 4 realizadas con $\alpha = 10000$, $\sqrt{\frac{D}{k}} = 150$, $h_0 = 5$, $\vartheta_R = 0.2$, $\vartheta_N = 0.07$ y $\vartheta_{rec} = 10$. La posición del frente se puede observar como una línea vertical para distintos valores del umbral en el número de células (0, 0.001, 0.1). El valor de 0.001 fue el que mejor se acercó a la posición deseada.

6.3.2. Comparación con una solución analítica conocida.

Para validar nuestra implementación numérica, la comparamos con una solución analítica conocida de la misma. El sistema de ecuaciones que involucra a las ecuaciones Ecs. 6.23.-6.30. tiene solución analítica conocida en una versión simplificada del mismo. Para ello, se impone que la condición inicial sea una delta de Dirac, que haya un solo tipo celular (en lugar de 2) y no haya señal ni reclutamiento (Barenblatt, 1952). El modelo a considerar es el siguiente:

$$\frac{dh}{dt} = \frac{\alpha}{2} \frac{d^2h}{dx^2} \quad \text{Ec. 6.40.}$$

Con condición inicial:

$$h(x, t = 0) = \delta(x) \quad \text{Ec. 6.41.}$$

La solución a dicho problema es:

$$h(x, t) = \frac{1}{t^\alpha} \left(C - k \frac{|x|^2}{t^{2\beta}} \right)_+ \quad \text{Ec. 6.42.}$$

Donde C es una constante arbitraria, $\alpha = \frac{d}{d+2}$, $\beta = \frac{\alpha}{d}$, $k = \frac{\alpha}{4d}$ y d es 1 (número de dimensiones del problema).

Para evitar simular una delta de Dirac se tomó como tiempo inicial un tiempo arbitrario pequeño y se usó Ec. 6.42. en ese tiempo como condición inicial de la simulación. Nuestra implementación numérica y la solución analítica coinciden como se puede ver en la Fig. 6.4. Con esto concluimos que el esquema numérico utilizado funciona correctamente.

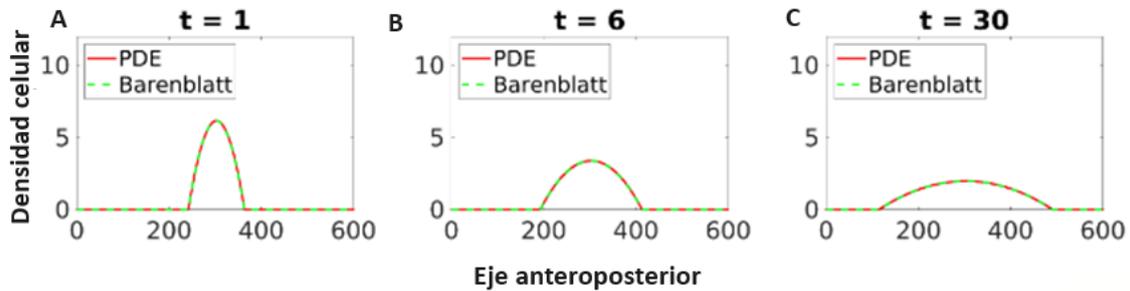


Fig. 6.4. Comparación de la implementación numérica con la solución de Barenblatt. Las predicciones de la implementación numérica (línea continua roja) se comparan con lo obtenido por la solución analítica de Barenblatt (línea punteada verde) a diferentes tiempos ($t=1, 6, 30$, paneles A, B y C, respectivamente) para $\alpha = 100$. Las mismas tienen un buen acuerdo entre ellas.

6.3.3. Comparación entre implementación numérica del modelo de campo medio y el modelo de agentes.

Con el objeto de validar el modelo de campo medio, comparamos este modelo con simulaciones del modelo de agentes introducido en la sección 6.1. Este modelo de agentes es una versión simplificada del modelo de agentes recientemente publicado por nuestro grupo (Caliaro et al., 2024).

6.3.3.1. Implementación numérica del modelo de agentes.

El modelo de agentes sigue las ecuaciones descritas en la sección 6.1. Inicialmente N células se distribuyen de manera aleatoria en el eje x . Se discretiza el tiempo y se simula utilizando un esquema de Euler para calcular las

derivadas. Al comenzar cada paso de tiempo, se calculan las distancias entre las células y si hay dos células a una distancia menor a $2R$ entre sí, se calculan las fuerzas repulsivas siguiendo la Ec. 6.3. y se procede a mover a las células correspondientes. Luego, se calcula la división y el reclutamiento. Para la división cada célula sigue un proceso de Poisson con probabilidad $1 - e^{-\vartheta_N \Delta t}$ (ϑ_N en el caso de las células no reclutadas y ϑ_R en el de las reclutadas). Se lanza un número aleatorio entre 0 y 1 para cada célula y si es ese número es menor a la probabilidad de dividir entonces la división ocurre y una nueva célula es creada aleatoriamente en un disco de radio $2R$ centrado en el centro de la madre. Similarmente se asigna una probabilidad de Poisson con ω en lugar de ϑ_N definido en la Ec. 6.4. y si la probabilidad de Poisson es menor al número aleatorio entonces las células no reclutadas pasan a ser reclutadas (nada sucede con las células ya reclutadas). Para ello se debe calcular la concentración de señal en la posición del centro de la célula. Esto se hace tomando la posición de la célula en cuestión (X) y la máxima posición de todas las células (posición de la punta del tejido) X_m y se calcula la concentración de la señal evaluando la Ec. 6.9. en $X_m - X$. Este modelo se adaptó a partir del modelo desarrollado en Caliaro et al. 2024.

6.3.3.2. Comparación entre implementación numérica del modelo de campo medio y el modelo de agentes.

Con el modelo de agentes y con la aproximación de campo medio, simulamos un tejido sin señal ni proliferación compuesto por dos poblaciones de células adyacentes una a la otra. Al avanzar el tiempo las células se empujan unas contra otras dando lugar a un estiramiento del tejido. Comparamos las densidades de células predichas por el modelo de agentes y por el modelo de campo medio. Ambos modelos presentan un buen acuerdo entre ellos como se puede ver en la Fig. 6.5. De estas simulaciones concluimos que el modelo de campo medio es una buena aproximación del modelo de agentes.

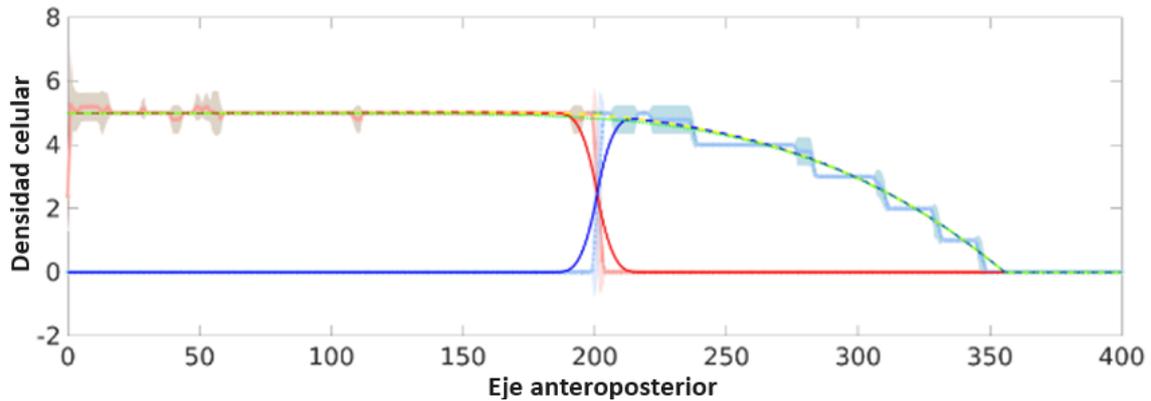


Fig. 6.5. Comparación de las simulaciones de un tejido con dos tipos de células sin señal ni proliferación para el modelo de agentes y para el modelo de campo medio a diferentes tiempos. Evolución del tejido para $\alpha = 40$ a tiempo 10. La densidad de células reclutadas, no reclutadas y la suma de ambos para el modelo de campo medio se puede ver como las líneas continuas azul y roja y línea punteada amarilla, respectivamente. En el modelo de agentes se realizaron 3 replicados. La densidad de células reclutadas, no reclutadas y la suma de ambos para el modelo de agentes se puede ver como la línea continua rosa, celeste y verde, respectivamente (promedio entre replicados). En difuminado se encuentra el rosa y celeste se puede ver el promedio más y menos el desvío estándar. Hay buen acuerdo entre la densidad de células para ambos modelos.

6.3.4. Distribución espaciotemporal de un tejido inicialmente formado por una población de células que es reclutada por una señal externa generada en su punta.

Con el objetivo de ir a un modelo que nos permita simular lo que sucede durante la médula espinal del ajolote, agregamos la señal dada por la Ec. 6.9. al modelo de campo medio. Simulamos el sistema de ecuaciones compuesto por las Ecs. 6.9 y 6.23-6.30. En estas simulaciones el tejido comienza solamente con células que proliferan lentamente (no reclutadas). Luego, en tiempos posteriores aparece una señal dada por la Ec. 6.9. en la punta del tejido, que recluta a las células, transformándolas en células que dividen más rápido (reclutadas). En tiempos largos, la mayor tasa de proliferación de las células reclutadas hace que su densidad supere a la densidad de las células reclutadas. La evolución espaciotemporal de la densidad de células reclutadas, no reclutadas, la suma de ambas y la señal se puede ver en la Fig. 6.6. paneles A, B y C. De esta manera, en este capítulo logramos desarrollar y validar un modelo multiescala de la regeneración de la médula espinal del ajolote en donde el tamaño del tejido

depende de la proliferación de las células endimarias estimulada por una señal/morfógeno en el tejido.

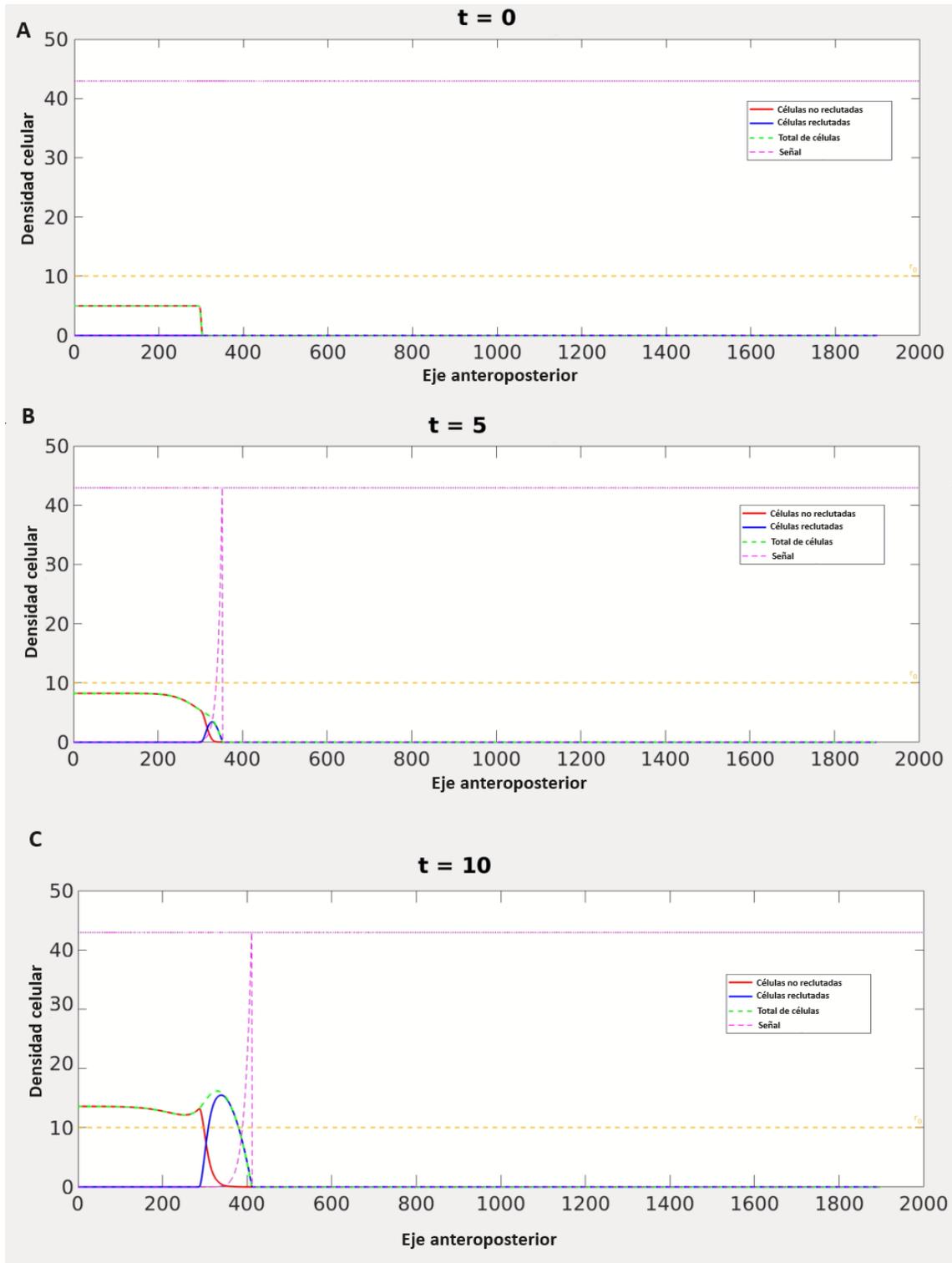


Fig. 6.6. Distribución espaciotemporal de un tejido inicialmente formado por una población de células que es reclutada por una señal externa generada en su punta. Evolución del tejido para $\alpha = 40$, $\vartheta_N = 0.1$, $\vartheta_R = 0.5$ y $\vartheta_{rec} = 0.5$ a tiempos 0, 5 y 10 se muestra en los paneles a, b y c, respectivamente. La densidad de células reclutadas, no reclutadas y la suma de ambos para

el modelo de campo medio se puede ver como las líneas continuas azul y roja y línea punteada verde, respectivamente. La línea punteada violeta muestra la distribución de la señal.

PARTE 3: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES,
PERSPECTIVAS Y REFERENCIAS.

7 DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Esta tesis doctoral se enfocó en comprender cómo la proliferación celular en un tejido durante el desarrollo y la regeneración puede ser controlada en el tiempo y en el espacio, afectando el dominio espacial en el que operan los morfógenos que, a su vez, controlan dicha proliferación celular. A tal fin, llevamos a cabo teoría y simulaciones que estudiamos en el contexto del desarrollo y la regeneración de tejidos del ajolote.

7.1. Los ajolotes tienen dos fases de crecimiento y este nunca se detiene.

Aunque los ajolotes son un clásico ejemplo de neotenia entre los vertebrados ([Safi et al., 2004](#)), antes de este trabajo doctoral, a juicio de los autores, se desconocía si los ajolotes crecen indefinidamente o si en algún momento paran de crecer. De esta forma, en este trabajo, nos abocamos a estudiar el curso temporal de la proliferación celular en ajolote como un todo durante el desarrollo. Inspirados en trabajos previos del grupo en donde se determinó un switchpoint separando dos dominios espaciales de comportamiento diferente ([Cura Costa et al., 2021](#); [Rost et al., 2016](#)), propusimos primero un modelo fenomenológico dado por dos fases de crecimiento del tamaño del ajolote con diferente velocidad, en las cuales el ajolote crece linealmente, y separadas por un tiempo de transición. Este modelo satisfactoriamente describe los nomogramas obtenidos experimentalmente y predice una transición en el largo del animal aproximadamente a los 20 meses de edad (Figura 2.1. paneles B y C). Con la finalidad de comprender el porqué de esta transición, investigamos el crecimiento del ajolote por medio de un modelo mecanístico que asume una proliferación celular promedio que cambia con el tiempo. Para eso, asumimos que la tasa de proliferación promedio de todas las células del organismo sigue con la edad del animal una función de Hill. El ajuste de este segundo modelo fue muy satisfactorio (Figura 2.1. paneles D y E) y nos permitió definir una transición en la tasa de proliferación dado por el punto de inflexión de la función de Hill que es a los 10 meses de edad. De esta forma, este trabajo nos permite entender al modelo fenomenológico como un emergente del modelo mecanístico, lo que nos

lleva a comprender que la tasa de proliferación celular promedio sufre una transición a los 10 meses que resulta en una transición en el largo del animal a los 20 meses de edad. Sorprendentemente, encontramos que los primeros signos de características sexuales secundarias en los machos aparecen alrededor de los 10 meses de edad, y a los 12 meses estas características están completamente desarrolladas. Sin embargo, un apareamiento exitoso comienza sólo entre los 11 y 12 meses de edad. Las hembras desarrollan los primeros rasgos sexuales secundarios un poco más tarde que los machos (entre los 10 y los 11 meses de edad), pero al igual que los machos, a los 12 meses estos rasgos están completamente desarrollados. La fertilidad es exitosa por primera vez en las hembras entre 12 y 14 meses de edad. Por lo tanto, la concordancia entre el tiempo de transición que separa la tasa de crecimiento más rápida de la siguiente, más lenta, y la edad de aparición de las características sexuales secundarias sugiere un probable vínculo causal.

7.2. La proliferación celular involucrada en la respuesta regenerativa de las extremidades del ajolote depende de la posición espacial de la amputación.

El mecanismo exacto que controla el crecimiento de los tejidos sigue siendo una gran incógnita en la biología del desarrollo y la medicina regenerativa. Como vimos en el capítulo 2, los ajolotes son organismos con crecimiento indeterminado, lo que significa que continúan creciendo a lo largo de su ciclo de vida, con una tasa de crecimiento bifásica. Esto implica que, independientemente del tamaño/edad del animal, las extremidades regeneradas deben volverse más grandes que al momento de la amputación, a los fines de poder adaptarse al crecimiento corporal del animal, destacando el refinado ajuste del crecimiento alométrico en esta especie (revisado en [Wells et al., 2021](#)).

Además de la regulación temporal que observamos en la proliferación de los tejidos del ajolote, encontramos una interesante regulación espacial. En efecto, en el capítulo 3 estudiamos un fenómeno interesante que sucede durante la regeneración de las extremidades del ajolote, en donde la velocidad de crecimiento escala con la extensión de la remoción de tejido a lo largo del eje P/D (próximo-distal) de la extremidad de este. En este capítulo, demostramos que cuanto más proximal es la amputación (es decir, más cerca del torso), menor es la duración del ciclo celular. Se mostró que la información posicional

correlaciona directamente con la duración del ciclo celular y, consecuentemente, con el crecimiento del tejido. El fenómeno de escalamiento entre la velocidad de crecimiento y la extensión de la remoción de tejido que estudiamos aquí ha sido reportado previamente para otras partes del cuerpo y especies. En la cola del lagarto gecónido luego de su amputación El-Karim encontró que la longitud final del regenerado y la tasa de elongación en colas amputadas a niveles más proximales fueron mayores que en los regenerados provenientes de niveles más distales. Las longitudes totales de los regenerados de diferentes niveles fueron proporcionales a las longitudes de las partes de la cola removidas por amputación (El-Karim, 1994). Iten y Bryant estudiaron la regeneración del miembro del tritón y encontraron que, durante la fase de diferenciación y morfogénesis, la tasa de elongación de los regenerados del nivel proximal es significativamente mayor que la de los regenerados del nivel distal. Además, la longitud total de los regenerados desde niveles proximales y distales a lo largo del miembro es significativamente diferente. (Iten y Bryant, 1973; Iten y Bryant, 1976). Lee y colaboradores identificaron diferencias dependientes de la posición en la tasa de crecimiento durante la regeneración de la aleta caudal en peces cebras (Lee et al., 2005). Esto sugiere un origen ancestral del fenómeno de escalamiento. Aún queda por explorar si los mismos mecanismos están conservados entre especies.

Propusimos un modelo matemático para explicar la regulación del crecimiento de las extremidades del ajolote similar al utilizado durante el capítulo 2. Mientras que en el modelo utilizado en el capítulo 2 la regulación es dependiente del tiempo (Ecs. 2.4.), en el modelo del capítulo 3, la tasa de crecimiento celular se encuentra regulada de forma decreciente con el tamaño de la extremidad (Ec. 3.1. y 3.2.). Ajustamos el modelo a datos experimentales de extremidades amputadas (en regeneración) y no amputadas (en desarrollo, las cuales fueron usadas de control). La duración media del ciclo celular en las tres fases temporales consecutivas (T1, T2 y T3) disminuyó a medida que la distancia entre la posición de amputación y punta de la extremidad aumento. En contraste, la máxima tasa de proliferación posible aumento a medida que la distancia entre la posición de amputación y punta de la extremidad aumento. Estos resultados nos indican que existe una distinta respuesta regenerativa que depende de la posición de la amputación. Hipotetizamos que debe existir algún tipo de señal que sea responsable de las distintas respuestas regenerativas pero la descripción precisa de su naturaleza queda para futuros trabajos.

A partir de las respuestas regenerativas del ajolote observadas en los capítulos 2 y 3, podemos determinar la longitud de ciclo celular de los tejidos estudiados.

En nuestro estudio de la regulación temporal de la respuesta proliferativa de los tejidos del ajolote calculamos (a partir del promedio de los parámetros obtenidos) que el ciclo celular mide 3 (SV) y 2 (ST) meses al comenzar el experimento. Luego de 250 meses el mismo aumenta a 500 (SV) y 600 (ST) meses. En cambio, cuando estudiamos la regulación espacial de la regeneración de las extremidades del ajolote, obtuvimos (en promedio) en los dígitos una duración de ciclo celular de 13 (animales de dos meses) y 14 días (animales de 4 meses) al comenzar el experimento y de 300 y 100 días al finalizar el mismo, respectivamente. En la extremidad inferior obtuvimos una duración de ciclo celular de 11 (animales de dos meses) y 12 días (animales de 4 meses) al comenzar el experimento y de 70 y 120 días al finalizar el mismo, respectivamente. Finalmente, en la extremidad superior obtuvimos una duración de ciclo celular de 8 (animales de dos meses) y 11 días (animales de 4 meses) al comenzar el experimento y de 72 y 91 días al finalizar el mismo, respectivamente. Es interesante comparar estos valores con los obtenidos (en promedio) durante la regeneración de la médula espinal del ajolote. Las células endoneurales tienen una duración del ciclo celular de 10 a 14 días en ajolotes no injuriados que se reduce a 5 días cuando la médula espinal regenera ([Rodrigo Albors et al., 2015](#); [Rost et al., 2016](#)). Vemos que estos valores son consistentes con los obtenidos en esta tesis al estudiar la regeneración de las extremidades a tiempos cortos (poca regulación). Esto sugiere que existe una cota mínima en la duración del ciclo celular en el ajolote. Especulamos que esta cota mínima está relacionada con el tiempo necesario para copiar el ADN durante la división.

7.3. El formalismo matemático propuesto para describir la relación entre la duración del ciclo celular y el crecimiento del tejido predice los mismos resultados que los obtenidos por simulaciones computacionales y tiene distintas aplicaciones prácticas.

Por otro lado, previo a esta tesis, era claro que la duración del ciclo celular local determina la velocidad de crecimiento global del tejido. Sin embargo, el vínculo exacto entre ellos y su dependencia de la geometría y la dimensión espacial aún no estaban completamente dilucidados. Por esta razón, en el capítulo 4 hemos desarrollado un marco matemático que permitió el estudio de este vínculo para diversas dimensiones espaciales y geometrías. Hemos resuelto el problema en

una, dos y tres dimensiones. Es de destacar que nuestro resultado coincide con el trabajo de Averbukh y colaboradores que estudiaron un tejido delimitado unidimensional en el contexto de un modelo multiescala que implica escalar morfógenos y crecimiento de tejido ([Averbukh et al., 2014](#)). Notablemente, nuestro formalismo matemático también funciona para dimensiones mayores, pero nos hemos restringido a una, dos y tres porque son las que tienen relevancia física y consecuentemente biológica. También hemos estudiado los casos de aplicación a problemas de simetrías polares y esféricas. Además, hemos estudiado el caso de tejidos acotados y no acotados. Es más, también hemos incluido la posibilidad de tener distintos grados de empaquetamiento en el tejido. Finalmente, nos hemos aventurado en tejidos aún más complejos con nuestro modelo de árbol ramificado. Este modelo podría aplicarse, por ejemplo, para estudiar el desarrollo del sistema respiratorio. Para que se forme un pulmón funcional, se necesitan dos procesos de desarrollo: la morfogénesis ramificada, que crea una red tubular similar a un árbol, y la diferenciación alveolar, que produce células epiteliales especializadas en el intercambio de gases ([Chang et al., 2013](#)). Dado que en las ecuaciones 4.1., 4.3. y 4.13. aparece la dimensión espacial como un parámetro, podría ser interesante extender este modelo a distintos tipos de fractales, pero esto está fuera del alcance de este trabajo.

Es importante señalar que la proliferación celular no es el único elemento que contribuye al crecimiento del tejido. La apoptosis, la migración celular, la diferenciación celular, entre otras, también podrían afectar el crecimiento del tejido ([Chara et al., 2014](#)). Algunos de estos elementos podrían incorporarse a nuestro marco de manera efectiva. Por ejemplo, la apoptosis podría agregarse al modelo reinterpretando la duración del ciclo celular como un ciclo celular efectivo que tenga en cuenta el número de células nacidas menos el número de células muertas, como fuera discutido en otro trabajo ([Lavalle et al., 2023](#)).

Hemos creado un modelo de juguete para ilustrar la posible aplicación de estos resultados a la vida real. Consideramos un tejido en el que la duración del ciclo celular es menor cuanto más lejos estamos del centro geométrico del tejido ([ver Fig. 4.3. en el capítulo 3](#)). Esto podría modelar una hipotética disminución en la división celular debido a la ausencia de recursos como el oxígeno en el centro del tejido ([ver los reviews de Chen et al., 2023](#) y [Wicks et al., 2022](#) para más detalles sobre la relación de la hipoxia y cáncer). De esta manera, nuestro formalismo matemático podría ayudar a describir la fenomenología general observada durante el crecimiento tumoral.

Sin embargo, las posibles aplicaciones de esto no sólo se limitan a cómo la duración del ciclo celular afecta la longitud del tejido, sino que también es interesante estudiar lo contrario. El crecimiento de tejido afecta las vías de señalización en un tejido, lo que a su vez también podría cambiar la duración del ciclo celular de esas células (ver, por ejemplo, [Averbukh et al., 2014](#)). El morfógeno Decapentaplegic (Dpp) en el disco imaginal de la mosca de fruta es un claro ejemplo de una señal que varía al cambiar el tamaño del tejido y que a su vez controla la división celular ([Wartlick et al., 2011](#)). En particular, mencionaremos el efecto de advección que ocurre debido a que cuando los tejidos crecen, arrastran consigo el morfógeno (ver [Crampin et al., 1999](#) para más detalles). Para modelar la advección se necesita la tasa de crecimiento del tejido, y ésta se puede obtener con los resultados de este trabajo.

Una aplicación posible del formalismo matemático descrito en el capítulo 4 podría ser la inferencia de la longitud del ciclo celular de un tejido a partir de medidas del tamaño de este a distintos tiempos. Este método tendría la ventaja de que eludiría la dificultad y complejidad a las habituales mediciones que utilizan BrdU ([Nowakowski et al., 1989](#)) o BrdU/EdU ([Harris et al., 2018](#)) y se basaría únicamente en análisis de videomicroscopía de tejidos. El método consistiría en la medición de la velocidad de crecimiento del tejido y posterior análisis mediante las ecuaciones 4.1., 4.3. o 4.13. descritas en esta tesis para inferir la duración del ciclo celular. Es importante señalar que, con este método propuesto, estamos midiendo la duración del ciclo celular promediada sobre todos los tejidos observados en la imagen. Alternativamente, en lugar de medir la velocidad de crecimiento del tejido, se podría medir la longitud total del tejido y a partir de las ecuaciones 4.2, 4.7. o 4.15. inferir la duración del ciclo celular promedio. La principal ventaja de esta alternativa es que es más fácil y económica que medir directamente la velocidad de crecimiento del tejido. La principal desventaja es que no existe una relación biyectiva entre la longitud del tejido y la velocidad de crecimiento del tejido. Si bien es cierto que por cada velocidad de crecimiento de tejido existe sólo una longitud de tejido (que se puede obtener integrándola), para cada longitud de tejido existen múltiples velocidades de crecimientos de tejido que corresponden a esa longitud de tejido.

7.4. En un modelo de reacción difusión para describir la distribución espaciotemporal de morfógenos existen dos regímenes de reacción difusión separados por un tamaño del tejido de aproximadamente tres veces la distancia característica.

Hemos discutido en este capítulo sobre diversas maneras en que la proliferación celular influye en el tamaño de los tejidos. Ahora es momento de centrarnos en la pregunta opuesta: cómo el tamaño del tejido afecta a la tasa de proliferación.

En el capítulo 5, investigamos la distribución espaciotemporal de un morfógeno con un modelo mínimo de reacción-difusión en un dominio finito, como sustituto de un tejido. La solución del modelo asumiendo un dominio infinito ya ha sido reportada ([Bergmann et al., 2007](#); [Berezkhovskii et al., 2010](#)). Anteriormente se consideraron varios modelos de reacción-difusión para investigar gradientes de morfógenos en dominios finitos, mediante simulaciones numéricas (ver, por ejemplo, ([Wartlick et al., 2011](#); [Michon et al., 2008](#))). Un modelo de reacción-difusión que asume dominios finitos se resolvió exactamente asumiendo condiciones de contorno de Neumann para investigar el escalamiento de morfógenos en tejidos por parte de Umulis ([Umulis, 2009](#)) y la solidez de la formación de patrones en el desarrollo ([Kang et al., 2012](#)), entre otros ejemplos. Se consideró un modelo similar para investigar la migración celular y la proliferación de una población de células precursoras en un tejido de crecimiento uniforme de Simpson ([Simpson, 2015](#)), basada en el modelo de colonización celular en dominios de crecimiento uniforme ([Landman et al., 2003](#)). En su modelo, Simpson ([Simpson, 2015](#)) exploró un caso más general de un dominio en crecimiento, que puede recapitular el caso de un dominio fijo estableciendo la velocidad de crecimiento en cero. Sin embargo, debido a que el modelo se centró en células en lugar de morfógenos, asumió un término de reacción positivo para explicar la proliferación celular y una condición inicial distinta de cero, en contraste con nuestro término de reacción negativo y nuestra condición inicial cero. Por lo tanto, imponer una condición inicial cero en este modelo informado anteriormente produce la solución nula.

La solución analítica presentada en el capítulo 5 podría ser fundamental en paquetes computacionales dedicados al modelado de múltiples escalas, que involucran una escala de señalización junto con una escala celular. Aunque su capa celular podría implicar un modelo celular de Potts (CPM) ([Glazier y Graner, 1993](#); [Savill y Hogeweg, 1996](#)) en CompuCell3D ([Swat et al., 2012](#)) y MORPHEUS ([Starruß et al., 2014](#)), o un modelo de vertex ([Nagai y Honda, 2001](#); [Farhadifar et al., 2007](#)) en CHASTE ([Mirams et al., 2013](#)), su escala de señalización suele modelarse mediante un esquema de reacción-difusión. Dado que en estos paquetes un dominio finito es la única opción posible, utilizan implementación numérica. Si bien nuestros resultados numéricos del capítulo 5,

basados en un algoritmo de diferencias finitas, no se pueden distinguir de la solución analítica (Fig. 9.2.1. y Fig. 9.2.2. en material suplementario), la última es naturalmente más precisa y computacionalmente más eficiente (ver material suplementario), que podría resultar útil para implementaciones de modelado de múltiples escalas en 1D, 2D (consulte dos ejemplos del modelo de dominio finito en 2D en el material suplementario) o 3D. Asimismo, esta nueva solución podría ayudar a mejorar el cálculo de las curvas de recuperación en experimentos FRAP, ya que para tejidos por debajo del tamaño de cruce R_c , el modelo que asume dominios finitos es una mejor aproximación.

Nuestros resultados del capítulo 5 mostraron que las distribuciones espaciales de morfógenos predichas por nuestro modelo asumiendo dominios finitos dependen del único parámetro relevante del modelo: el tamaño del tejido normalizado R . Al determinar la posición espacial a lo largo del tejido donde la concentración de morfógeno es el 10% de la concentración de la fuente (ϵ_{10}), caracterizamos geoméricamente la distribución espacial en estado estacionario. Esta caracterización nos llevó a encontrar dos regímenes dentro del espacio de parámetros, separados por un tamaño de tejido cruzado R_c (Fig. 5.3. y Fig. 7.1. C y 7.1. D). Para tejidos más largos que R_c , las distribuciones son exponenciales y no se pueden distinguir de las predichas por el modelo que supone un dominio infinito (Fig. 5.2. y Fig. 7.1. B). En este régimen del espacio de parámetros, la media y la desviación estándar del tiempo para alcanzar el estado estacionario (evaluado en el origen del tejido) no cambian mucho con el tamaño del tejido y convergieron hacia los valores correspondientes del modelo asumiendo un dominio infinito (Fig. 5.5. y Fig. 7.1. F). Al comparar las concentraciones de morfógeno predichas por ambos modelos, encontramos que la diferencia entre ellos es en su mayor parte insignificante (Fig. 7.2. A y B). Por lo tanto, el modelo que asume un dominio infinito puede considerarse una buena aproximación del modelo que asume dominios finitos para tamaños de tejido mayores que R_c .

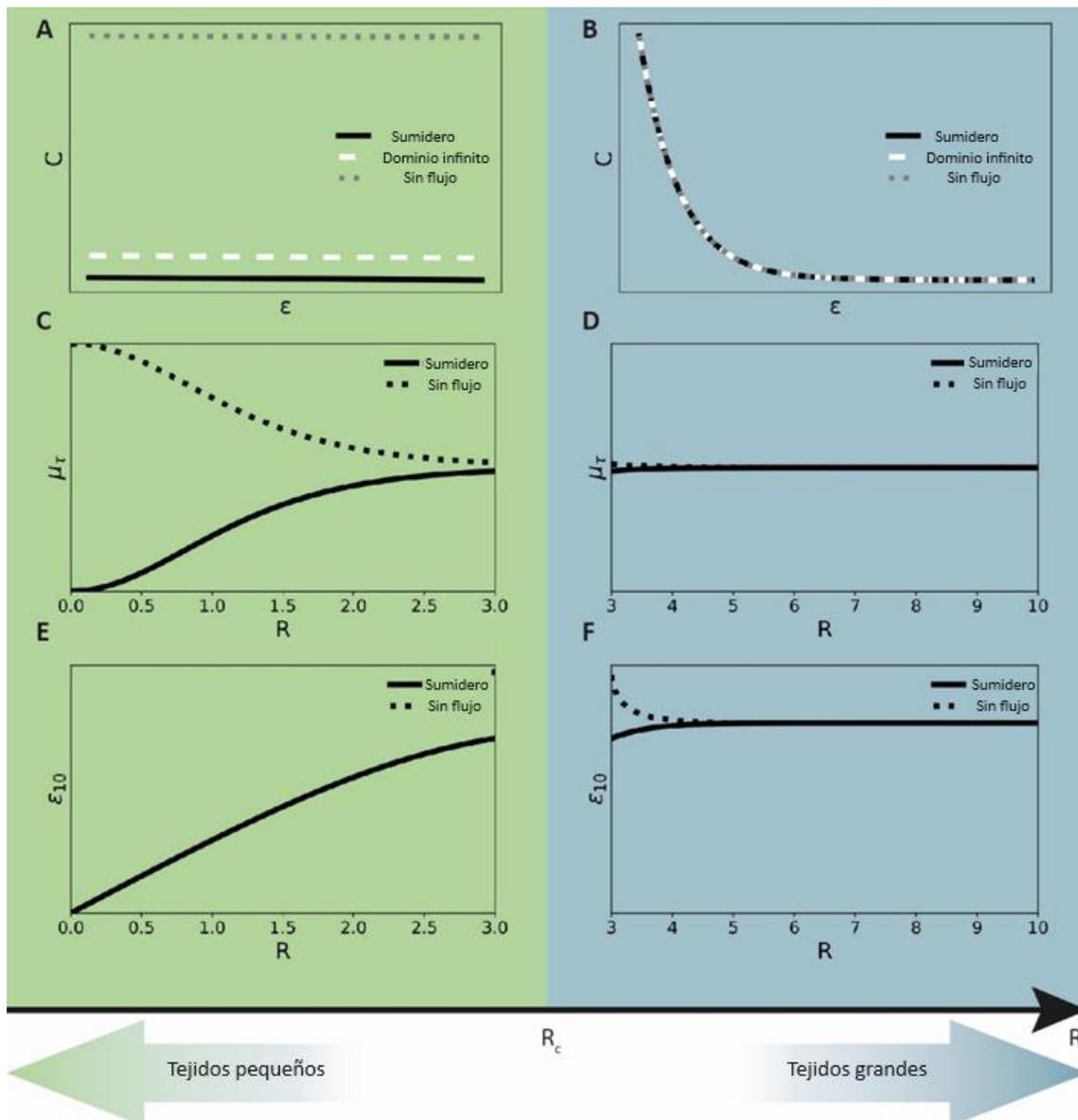


Figura 7.1. Transición entre tejidos pequeños y grandes: dos regímenes de reacción-difusión separados por un tamaño de tejido cruzado. Croquis que resume las principales diferencias entre tamaños de tejido pequeños y grandes separados por un tamaño de tejido cruzado (R_c). Perfiles espaciales de la concentración de morfógeno C (A, B) y dependencia del factor geométrico ϵ_{10} (C, D) y el tiempo medio para alcanzar el estado estacionario μ_τ (E, F) con el tamaño de tejido no dimensionalizado R, para pequeños (A, C, E) y tejidos grandes (B, D, F).

Por el contrario, para tejidos más pequeños que R_c , las distribuciones están claramente separadas de las predichas y el modelo asume un dominio infinito (Fig. 5.2. y Fig. 7.1. A). Además, el tiempo para alcanzar el estado estacionario depende en gran medida del tamaño del tejido en este régimen y de la condición límite particular en $\epsilon = R$ (Fig. 5.5. y Fig. 7.1. E). En particular, el error de usar el modelo asumiendo un dominio infinito aumenta cuando ϵ tiende a R y cuanto más pequeño es el tejido, mayor es el error acumulado en todo el tejido (Fig. 7.2. C y D) (consulte la información complementaria para obtener más detalles). Por

lo tanto, nuestros resultados indican que para investigar tejidos más pequeños que aproximadamente 3 veces la longitud característica λ , se debe utilizar el modelo que asume dominios finitos.

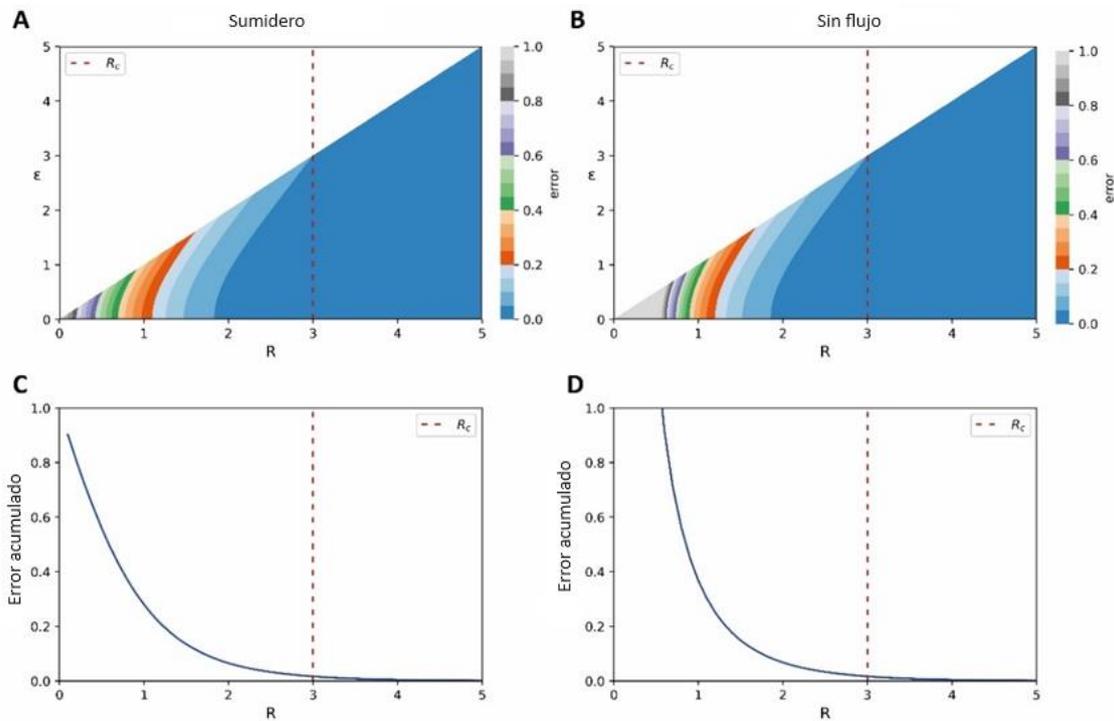


Figura 7.2. El modelo de reacción-difusión que supone un dominio finito es una mejor aproximación que el modelo que supone un dominio infinito cuando el tamaño del tejido es menor que el tamaño del tejido cruzado. (A, B) Mapa de calor que muestra la diferencia de concentración de morfógeno predicha a partir del modelo de dominio finito de reacción-difusión y el modelo de dominio infinito en función de la posición no dimensionalizada dentro del tejido (ϵ) y el tamaño del tejido no dimensionalizado (R). Esta diferencia podría considerarse como el error cometido al utilizar el modelo asumiendo el dominio infinito en una posición dada ϵ de un tejido de tamaño R . (C, D) La diferencia calculada en A y B, integrada sobre el tejido y no dimensionada con R , como función de R , representa el error global al usar el modelo de dominio infinito cuando el tamaño del tejido es R . El modelo de dominio finito se simuló asumiendo una condición de límite de sumidero (A, C) o una condición de límite sin flujo. (B, D) en $\epsilon = R$. Las líneas discontinuas verticales indican el tamaño del tejido cruzado (R_c).

En este estudio, hemos analizado dos condiciones de contorno diferentes en la punta del tejido simulado con el modelo de dominio finito. Para tejidos más pequeños que R_c , la elección de esta condición límite es determinante para la amplitud de la distribución espacial del morfógeno y el tiempo para alcanzar el estado estacionario. Al asumir una condición de límite de sumidero, obtuvimos valores de concentración inferiores a los predichos por el modelo de dominio infinito (Fig. 5.1. A, 5.1. C y 5.2. A). Por lo tanto, esta condición de contorno conduce a una reducción en el tiempo para alcanzar el estado estacionario, en comparación con el modelo de dominio infinito (Fig. 5.5. A). Por el contrario, una

condición de frontera sin flujo conduce a concentraciones más altas que las calculadas al asumir un dominio infinito (Fig. 5.1. B, 5.1. D y 5.2. B), lo que aumenta comparativamente el tiempo para acercarse al estado estacionario (Fig. 5.5. B).

El tamaño del tejido cruzado proporciona un criterio sencillo para decidir cuándo utilizar cualquiera de los dos modelos presentados aquí. Como ejemplo, la longitud característica de Wg se estimó en $6\ \mu\text{m}$ en el disco del ala de *Drosophila*, donde el tamaño del tejido era de aproximadamente $50\ \mu\text{m}$ [Kicheva et al. 2007]. El resultado $R \sim 8 > R_c$ indica que el modelo que asume un dominio infinito es una aproximación razonable en este escenario. Se puede llegar a una conclusión similar al estudiar Dpp en el haltere de *Drosophila*. Para este morfógeno, la longitud característica y el tamaño del tejido se pueden estimar en ~ 10 y $\sim 100\ \mu\text{m}$, respectivamente [Wartlick et al., 2011], lo que conduce a $R \sim 10 > R_c$. Por el contrario, el último morfógeno, Dpp, pero en el disco del ala de *Drosophila* tiene una longitud característica de $20\ \mu\text{m}$ [Kicheva et al. 2007], lo que implica $R \sim 2,5 < R_c$. Como consecuencia, el modelo que asume tejidos finitos es la aproximación más correcta para describir la propagación de morfógenos en este escenario. Algo similar ocurre con Fgf8 en el embrión de *Danio rerio*, cuya longitud característica se estimó en $200\ \mu\text{m}$ mientras que el tamaño del tejido es de unos $200\ \mu\text{m}$ [Yu et al., 2009], a partir de lo cual se puede calcular un $R \sim 1 < R_c$. Con solo mirar los ejemplos anteriores, queda claro que no existe correlación entre la selección del modelo y el morfógeno bajo estudio, ya que la dinámica del mismo morfógeno, Dpp, se explica mejor con el modelo asumiendo dominios finitos en el disco del ala de *Drosophila* mientras que en el *Drosophila* haltere el modelo que supone un dominio infinito es en realidad suficiente. Se puede observar la misma falta de correlación entre la selección del modelo y el tejido de interés. De hecho, en el mismo tejido, disco imaginal de *Drosophila*, Wg podría describirse con el modelo asumiendo un dominio infinito, mientras que Dpp requiere el modelo más preciso de dominios finitos.

De esta manera, en el capítulo 5, encontramos dos regímenes de reacción-difusión para tejidos grandes y pequeños, separados por un tamaño de tejido cruzado. Si bien por encima de este cruce el modelo de dominio infinito constituye una buena aproximación, se rompe por debajo de este cruce, mientras que el modelo de dominio finito describe fielmente todo el espacio de parámetros. Se necesitarán más estudios para revelar la distribución espaciotemporal de los morfógenos en tejidos cuyo tamaño no es fijo. Nuestro hallazgo del tamaño de tejido cruzado delineado podría ser fundamental para seleccionar el modelo de reacción-difusión adecuado en estudios futuros destinados a abordar la

morfogénesis del tejido y otros problemas relevantes relacionados con la formación de patrones en biología y medicina.

7.5. Un modelo de campo medio para el estudio de la regeneración de la médula espinal del ajolote predice los mismos resultados que el modelo de agentes original y permite explorar el espacio paramétrico de forma más eficiente computacionalmente.

Si bien existen muchos modelos matemáticos utilizados para estudiar tejidos en desarrollo hay muy pocos en tejidos en regeneración (ver por ejemplo el review de [Morelli et al., 2012](#) sobre desarrollo y [Chara et al., 2014](#) sobre regeneración). Dentro de estos pocos ejemplos encontramos el trabajo de Rost y colaboradores que desarrollaron un modelo matemático sin dimensión espacial para abordar la compleja respuesta regenerativa observada en la médula espinal del ajolote ([Rost et al., 2016](#)). Este modelo se centró en la dinámica de las células proliferantes y quiescentes, representado por un sistema de dos ecuaciones diferenciales ordinarias no autónomas. Posteriormente, Cura Costa y colaboradores crearon un modelo computacional unidimensional en el que las células se simulaban como esferas rígidas y la señal se modelaba mediante un enfoque fenomenológico ([Cura Costa et al., 2021](#)). Este trabajo fue refinado por Caliaro y colaboradores que desarrollaron un modelo de agentes donde las células eran representadas por esferas blandas y la señal se obtuvo a través de una ecuación en derivadas parciales mediante un modelo de reacción-difusión similar al estudiado en el capítulo 5 ([Caliaro et al., 2024](#)). Siguiendo en esta línea de trabajo, en el capítulo 6 estudiamos un modelo matemático que vincula los procesos de señalización con la proliferación celular para describir la regeneración de la médula espinal del ajolote. Para ello se desarrolló un modelo de médula espinal multi-escala, incluyendo una capa celular compuesta por las células ependimarias y una capa de señalización, que emula cascadas estudiadas recientemente ([Rodrigo Albors et al., 2015](#); [Sugiura et al., 2015](#)). Debido a que la relación entre las escalas del tejido regenerado (aproximadamente 2 mm) y los tamaños de las células involucradas (aproximadamente 10 μm a lo largo del eje anteroposterior ([Rost et al., 2016](#))), se desarrolló una aproximación de campo medio de un modelo de agentes interactuantes (similar al estudiado por [Caliaro et al., 2024](#)) para simular al tejido.

Este tipo de modelado tiene ventajas y desventajas con respecto al modelo original. El modelo de campo medio solo puede describir lo que le pasa al tejido en promedio, es decir, perdemos información sobre lo que sucede con la varianza del modelo más general (agentes interactuantes). Sin embargo, ganamos mucho en capacidad descriptiva ya que podemos explorar partes del espacio paramétrico que no era posible estudiar con el otro modelo. Esto se debe a que el modelo de campo medio mira la densidad de células cuando el modelo de agentes interactuantes mira las células mismas. Al aumentar el número de células el modelo de agentes interactuantes aumenta casi exponencialmente el tiempo de cálculo requerido mientras que en el modelo de campo medio se mantiene aproximadamente constante. No obstante, es importante señalar que el tiempo de cálculo en el modelo de agentes no es constante ya que, al movernos en el espacio paramétrico, la condición de no oscilación (CFL) nos impondrá la condición de tener que simular más puntos temporales. Aun así, el tiempo de simulación computacional requerido es mucho menor al requerido por el modelo de agentes interactuantes.

El siguiente punto por discutir son las simulaciones donde se agrega la señal descrita por la Ec. 6.9. Desde un punto de vista numérico, incorporar la señal es sencillo ya que poseemos una fórmula explícita y no necesitamos simular nada. El problema está en que para incorporar la señal necesitamos determinar con gran precisión el largo del tejido ($L(t)$). Una incorrecta determinación de esta posición implica que más (o menos) células van a ser reclutadas y, por lo tanto, dividirán más (o menos) rápido. Debido al carácter exponencial con respecto al tiempo de este proceso, pequeños errores se incrementarán exponencialmente en el tiempo dando lugar a predicciones erróneas (sobre todo a tiempos grandes). Es por esto por lo que hicimos énfasis en la correcta determinación del frente como se puede ver en la Fig. 6.3.

Previamente, otros trabajos han seguido un enfoque parecido al utilizado en esta tesis para realizar aproximaciones de campo medio en el campo de la biología matemática para estudiar poblaciones celulares. Debemos mencionar principalmente dos trabajos en los cuales esta tesis ha usado como base para su desarrollo, el trabajo de Motsch y Peurichard ([Motsch y Peurichard, 2017](#)) y el trabajo de Carrillo y colaboradores ([Carrillo et al., 2019](#)). En el primer trabajo, los autores aplicaron realizaron una aproximación de campo medio de un modelo de una población de células muy similar al sistema dado por las Ecuaciones 6.1.-6.3. para estudiar el problema de crecimiento de tumores. Sin embargo, en su modelo, en la ecuación 6.1. tomaron al potencial repulsivo como proporcional al cuadrado de la distancia en lugar de serlo solo lineal con la distancia, dando

como resultado un factor de 2 extra en el término difusivo de la ecuación 6.20. Esto tiene sentido ya que de la manera que los autores definieron el potencial da lugar a fuerzas más “fuertes” que las de nuestro modelo y por lo tanto es de esperar que el término difusivo sea más grande que el obtenido por nosotros. Por otro lado, en el trabajo de Carrillo y colaboradores estudiaron el problema del ordenamiento de células (del inglés cell sorting). Extendieron el modelo al estudio de dos poblaciones y agregaron otros elementos extras como por ejemplo la adhesión celular lo que les permite controlar como es la mezcla de ambas poblaciones de células. Sin embargo, nosotros modelamos al proceso de reclutamiento como un proceso que cambia la duración del ciclo celular pero no cambia otras propiedades de las células. En consecuencia, no esperamos que haya ningún efecto de adhesión diferencial distinto entre células reclutadas y no reclutadas que entre dos del mismo tipo y por lo tanto no incluimos este elemento en nuestro modelo. Del trabajo de Motsch y Peurichard ([Motsch y Peurichard, 2017](#)) tomamos el formalismo matemático, del de Carrillo y colaboradores ([Carrillo et al., 2019](#)) tomamos la extensión a dos poblaciones celulares y le agregamos una nueva escala mediante la señal que recluta a las células dando así lugar a un modelo multiescala que no había sido estudiado previamente.

7.6. Conclusiones de la tesis.

Durante esta tesis doctoral, encontramos que existe un tiempo de transición en la tasa de proliferación del ajolote que separa las edades en las que el ajolote crece más rápido de aquellas en las que crece más lento. Al extrapolar nuestro modelo a tiempos mayores que los medidos, concluimos que el ajolote nunca detiene su crecimiento. Notablemente, observamos que la regulación de la tasa de proliferación no solo ocurre en el tiempo, sino también en el espacio, ya que existe información posicional en la extremidad del ajolote que afecta su crecimiento dependiendo de la posición en la que se amputa.

En el desarrollo de nuestro estudio, abordamos la proliferación celular desde un punto de vista teórico, al desarrollar y validar mediante simulaciones computacionales un formalismo matemático que vincula la duración del ciclo celular con la velocidad de crecimiento del tejido. Asimismo, investigamos las señales que afectan a la proliferación celular y estudiamos un modelo de reacción-difusión para analizar la distribución espaciotemporal de morfógenos en un tejido. Descubrimos que esta distribución depende de la relación entre el

tamaño del tejido y la longitud característica del morfógeno. Interesantemente, hallamos que existen dos regímenes de reacción-difusión separados por un tamaño de transición en el que el tamaño del tejido es aproximadamente tres veces el tamaño de la longitud característica del morfógeno.

Finalmente, como síntesis, estudiamos un modelo multiescala para combinar todos estos elementos. Desarrollamos una aproximación de campo medio de un modelo de agentes para investigar la regeneración de la médula espinal del ajolote y la implementamos y validamos numéricamente.

7.7. Perspectivas.

Esta tesis ha estudiado diferentes aspectos de la proliferación celular, pero quedan aún muchos por dilucidar. Los modelos propuestos en los capítulos 2 y 3 tratan al sistema de estudio en su conjunto. Creemos que sería interesante extender dichos modelos para que puedan tener en consideración aspectos más locales de cada parte del tejido. Por otro lado, es interesante realizar una exploración del espacio paramétrico del modelo de campo medio introducido en el capítulo 6 y comparar los resultados obtenidos con datos experimentales de la médula espinal del ajolote en regeneración, prestando especial atención a las regiones del espacio paramétrico que no pudieron ser analizadas utilizando el modelo de agentes original debido a limitaciones en el tiempo de cálculo. En un trabajo posterior, nuestra intención es comparar los resultados obtenidos con datos experimentales de la regeneración de la médula espinal del ajolote para entender los mecanismos que rigen este proceso y proporcionar información útil para futuras aplicaciones en medicina regenerativa. A su vez, este modelo no tiene en cuenta la advección, que es importante en el modelado de señales en tejidos en crecimiento, donde las señales sufren dilución y convección debido a la expansión del dominio en el que se encuentran. Creemos que la advección se podría agregar al modelo y modelarla de manera sencilla utilizando el formalismo matemático introducido en el capítulo 4. Es de esperar que futuros trabajos puedan utilizar esta tesis para contribuir a echar más luz al fenómeno de la proliferación celular en ajolotes y en otros modelos animales.

8 REFERENCIAS

Agata K, Saito Y, Nakajima E. Unifying principles of regeneration I: Epimorphosis versus morphallaxis. *Dev Growth Differ.* 2007 Feb;49(2):73-8. Doi: 10.1111/j.1440-169X.2007.00919.x.

Asai R, Taguchi E, Kume Y, Saito M, Kondo S. Zebrafish leopard gene as a component of the putative reaction-diffusion system. *Mech Dev.* 1999 Dec;89(1-2):87-92. doi: 10.1016/s0925-4773(99)00211-7.

Averbukh I, Ben-Zvi D, Mishra S, Barkai N. Scaling morphogen gradients during tissue growth by a cell division rule. *Development.* 2014 May;141(10):2150-6. doi: 10.1242/dev.107011. PMID: 24803660.

Axelrod D, Koppel DE, Schlessinger J, Elson E, Webb WW. Mobility measurement by analysis of fluorescence photobleaching recovery kinetics. *Biophys J.* 1976 Sep;16(9):1055-69. doi: 10.1016/S0006-3495(76)85755-4.

Barenblatt GI. On some unsteady motions of a liquid or a gas in a porous medium. *Prikl. Mat. Meh.* 1952; pages 67–78.

Bassat E, Tanaka EM. The cellular and signaling dynamics of salamander limb regeneration. *Curr Opin Cell Biol.* 2021 Dec;73:117-123. doi: 10.1016/j.ceb.2021.07.010. Epub 2021 Sep 11.

Becker T, Becker CG. Regenerative neurogenesis: the integration of developmental, physiological and immune signals. *Development.* 2022 Apr 15;149(8):dev199907. doi: 10.1242/dev.199907. Epub 2022 May 3.

Benraiss A, Arsanto JP, Coulon J, Thouveny Y. Neurogenesis during caudal spinal cord regeneration in adult newts. *Dev Genes Evol.* 1999 Jun;209(6):363-9. doi: 10.1007/s004270050265.

Berezhevskii AM, Sample C, Shvartsman SY. How long does it take to establish a morphogen gradient? *Biophys J.* 2010 Oct 20;99(8):L59-61. doi: 10.1016/j.bpj.2010.07.045. Erratum in: *Biophys J.* 2010 Nov 17;99(10):3505.

Bergmann S, Sandler O, Sberro H, Shnider S, Schejter E, Shilo BZ, Barkai N. Pre-steady-state decoding of the Bicoid morphogen gradient. *PLoS Biol.* 2007 Feb;5(2):e46. doi: 10.1371/journal.pbio.0050046.

Caliaro V, Peurichard D, Chara O. How a reaction-diffusion signal can control spinal cord regeneration in axolotls: A modeling study, *iScience.* 2024; Volume 27, Issue 7, 110197, ISSN 2589-0042, <https://doi.org/10.1016/j.isci.2024.110197>.

Carrillo JA, Murakawa H, Sato M, Togashi H, Trush O. A population dynamics model of cell-cell adhesion incorporating population pressure and density saturation. *J Theor Biol.* 2019 Aug 7;474:14-24. doi: 10.1016/j.jtbi.2019.04.023. Epub 2019 May 3. PMID: 31059713.

Ceccarelli A, Borges A, Chara O. 2021 Supplementary notebooks for Size matters: an analytical study of the role of tissue size in spatiotemporal distribution of morphogens unveils a transition between different Reaction-Diffusion regimes (Version v. 1.4); 2021 November 13. Zenodo. (doi:10.5281/zenodo.4421327)

Chara O, Tanaka EM, Bruschi L. Mathematical modeling of regenerative processes. *Curr Top Dev Biol.* 2014;108:283-317. doi: 10.1016/B978-0-12-391498-9.00011-5. PMID: 24512713.

Charlebois DA, Balázsi G. Modeling cell population dynamics. *In Silico Biol.* 2019;13(1-2):21-39. doi: 10.3233/ISB-180470.

Chang DR, Martinez Alanis D, Miller RK, Ji H, Akiyama H, McCrea PD, Chen J. Lung epithelial branching program antagonizes alveolar differentiation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013 Nov 5;110(45):18042-51. doi: 10.1073/pnas.1311760110.

Chen Z, Han F, Du Y, Shi H, Zhou W. Hypoxic microenvironment in cancer: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Signal Transduct Target Ther.* 2023 Feb 17;8(1):70. doi: 10.1038/s41392-023-01332-8.

Chernoff EA, Stocum DL, Nye HL, Cameron JA. Urodele spinal cord regeneration and related processes. *Dev Dyn.* 2003 Feb;226(2):295-307. doi: 10.1002/dvdy.10240.

Crampin EJ, Gaffney EA, Maini PK. Reaction and diffusion on growing domains: scenarios for robust pattern formation. *Bull Math Biol.* 1999 Nov;61(6):1093-120. doi: 10.1006/bulm.1999.0131.

Conlon I, Raff M. Size Control in Animal Development. *Cell.* 1999; Volume 96, Issue 2, Pages 235-244, ISSN 0092-8674, [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)80563-2](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)80563-2).

Cura CE, Otsuki L, Rodrigo AA, Tanaka EM, Chara O. Spatio-temporal control of cell cycle acceleration during axolotl spinal cord regeneration. *eLife*. 2021;10. <http://doi.org/10.7554/elife.55665>.

Currie JD, Kawaguchi A, Traspas RM, Schuez M, Chara O, Tanaka EM. Live Imaging of Axolotl Digit Regeneration Reveals Spatiotemporal Choreography of Diverse Connective Tissue Progenitor Pools. *Developmental Cell*. 2016;39(4):411-423. <http://doi.org/10.1016/j.devcel.2016.10.013>.

Dillon R, Othmer HG. A mathematical model for outgrowth and spatial patterning of the vertebrate limb bud. *J Theor Biol*. 1999 Apr 7;197(3):295-330. doi: 10.1006/jtbi.1998.0876.

El-Karim A. E. A. Regeneration from different levels along the tail of the geckonid lizard. *Qatar Univ Sci* 14. 1994; 82–89.

Ellery AJ, Simpson MJ, McCue SW, Baker RE. Simplified approach for calculating moments of action for linear reaction-diffusion equations. *Phys. Rev. E Stat. Nonlin. Soft Matter. Phys*. 2013; 88, 054102. doi:10.1103/PhysRevE.88.054102

Falcó C, Baker R, Carrillo J. A Local Continuum Model of Cell-Cell Adhesion. *SIAM Journal on Applied Mathematics*. 2023; 84. S17-S42. 10.1137/22M1506079.

Farhadifar R, Röper JC, Aigouy B, Eaton S, Jülicher F. The influence of cell mechanics, cell-cell interactions, and proliferation on epithelial packing. *Curr Biol*. 2007 Dec 18;17(24):2095-104. doi: 10.1016/j.cub.2007.11.049.

Flowers, G. P. and Crews, C. M. Remembering where we are: Positional information in salamander limb regeneration. *Dev. Dyn*. 2020; 249, 465–482.

Gerber T, Murawala P, Knapp D, et al. Single-cell analysis uncovers convergence of cell identities during axolotl limb regeneration. *Science*. 2018;362(6413):eaq0681. <https://doi.org/10.1126/science.aq0681>

Gierer A, Meinhardt H. "A theory of biological pattern formation". *Kybernetik*. 1972; 12(1):30-9.

Glazier JA, Graner F. Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells. *Phys Rev E Stat Phys Plasmas Fluids Relat Interdiscip Topics*. 1993 Mar;47(3):2128-2154. doi: 10.1103/physreve.47.2128.

Graner F, Glazier JA. Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended Potts model. *Phys Rev Lett.* 1992 Sep 28;69(13):2013-2016. doi: 10.1103/PhysRevLett.69.2013.

Goss, R. J. The Amphibian Limb. In *Principles of Regeneration*. New York and London: Academic Press Inc.1969; pp. 140–190.

Gregor T, Bialek W, de Ruyter van Steveninck RR, Tank DW, Wieschaus EF. Diffusion and scaling during early embryonic pattern formation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2005 Dec 20;102(51):18403-7. doi: 10.1073/pnas.0509483102.

Gregor T, Wieschaus EF, McGregor AP, Bialek W, Tank DW. Stability and nuclear dynamics of the bicoid morphogen gradient. *Cell.* 2007 Jul 13;130(1):141-52. doi: 10.1016/j.cell.2007.05.026.

Harris CR et al. Array programming with NumPy. *Nature.* 2020;585, 357–362. doi:0.1038/s41586-020-2649-2

Harris L, Zalucki O, Piper M. BrdU/EdU dual labeling to determine the cell-cycle dynamics of defined cellular subpopulations. *J Mol Histol.* 2018 Jun;49(3):229-234. doi: 10.1007/s10735-018-9761-8. Epub 2018 Feb 14. Erratum in: *J Mol Histol.* 2018 Aug;49(4):447. doi: 10.1007/s10735-018-9783-2.

Hayashi S, Ochi H, Ogino H, Kawasumi A, Kamei Y, Tamura K, Yokoyama H. Transcriptional regulators in the Hippo signaling pathway control organ growth in *Xenopus* tadpole tail regeneration. *Dev Biol.* 2014 Dec 1;396(1):31-41. doi: 10.1016/j.ydbio.2014.09.018. Epub 2014 Oct 2.

Hodgkin, A.L.; Huxley, A.F. "Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of *Loligo*". *J. of Physiology.* 1952; 116: 449-472.

Hunter JD. Matplotlib: a 2D graphics environment. *Comput. Sci. Eng.* 2007; 9, 90–95. doi:10.1109/MCSE.2007.55

Iten LE, Bryant SV. Forelimb regeneration from different levels of amputation in the newt, *Notophthalmus viridescens*: Length, rate, and stages. *Wilhelm Roux Arch Entwickl Mech Org.* 1973 Dec;173(4):263-282. doi: 10.1007/BF00575834.

Iten LE, Bryant SV. Regeneration from different levels along the tail of the newt, *Notophthalmus viridescens*. *J Exp Zool*. 1976 Jun;196(3):293-306. doi: 10.1002/jez.1401960304.

Ivankovic M, Haneckova R, Thommen A, Grohme MA, Vila-Farré M, Werner S, Rink JC. Model systems for regeneration: planarians. *Development*. 2019 Sep 11;146(17):dev167684. doi: 10.1242/dev.167684.

Jackson JD. *Classical Electrodynamics*. New York :Wiley, 1999.

Kang HW, Zheng L, Othmer HG. The effect of the signalling scheme on the robustness of pattern formation in development. *Interface Focus*. 2012 Aug 6;2(4):465-86. doi: 10.1098/rsfs.2011.0116. Epub 2012 Mar 21.

Kaneko Y, Sakakibara S, Imai T, Suzuki A, Nakamura Y, Sawamoto K, Ogawa Y, Toyama Y, Miyata T, Okano H. Musashi1: an evolutionally conserved marker for CNS progenitor cells including neural stem cells. *Dev Neurosci*. 2000;22(1-2):139-53. doi: 10.1159/000017435.

Khattak S, Murawala P, Andreas H, et al. Optimized axolotl (*Ambystoma mexicanum*) husbandry, breeding, meta-morphosis, transgenesis and tamoxifen-mediated recombination. *Nat Protoc*. 2014;9(3):529-540. <https://doi.org/10.1038/nprot.2014.040>

Kicheva A, Bollenbach T, Wartlick O, Jülicher F, Gonzalez-Gaitan M. Investigating the principles of morphogen gradient formation: from tissues to cells. *Curr Opin Genet Dev*. 2012 Dec;22(6):527-32. doi: 10.1016/j.gde.2012.08.004.

Kicheva A, Pantazis P, Bollenbach T, Kalaidzidis Y, Bittig T, Jülicher F, González-Gaitán M. Kinetics of morphogen gradient formation. *Science*. 2007 Jan 26;315(5811):521-5. doi: 10.1126/science.1135774. PMID: 17255514.

Kondo S, Miura T. Reaction-diffusion model as a framework for understanding biological pattern formation. *Science*. 2010 Sep 24;329(5999):1616-20. doi: 10.1126/science.1179047.

Kragl M, Knapp D, Nacu E, Khattak S, Maden M, Epperlein HH, Tanaka EM. Cells keep a memory of their tissue origin during axolotl limb regeneration. *Nature*. 2009 Jul 2;460(7251):60-5. doi: 10.1038/nature08152.

Landge AN, Jordan BM, Diego X, Müller P. Pattern formation mechanisms of self-organizing reaction-diffusion systems. *Dev Biol*. 2020 Apr 1;460(1):2-11. doi: 10.1016/j.ydbio.2019.10.031. Epub 2020 Jan 30.

Landman KA, Pettet GJ, Newgreen DF. Mathematical models of cell colonization of uniformly growing domains. *Bull Math Biol.* 2003 Mar;65(2):235-62. doi: 10.1016/S0092-8240(02)00098-8.

Lavalle NG, Chara O, Grigera TS. Fluctuations in tissue growth portray homeostasis as a critical state and long-time non-Markovian cell proliferation as Markovian. *R Soc Open Sci.* 2023 Sep 13;10(9):230871. doi: 10.1098/rsos.230871.

Lee Y, Grill S, Sanchez A, Murphy-Ryan M, Poss KD. Fgf signaling instructs position-dependent growth rate during zebrafish fin regeneration. *Development.* 2005 Dec;132(23):5173-83. doi: 10.1242/dev.02101. Epub 2005 Oct 26.

Malacinski GM. The Mexican axolotl, *Ambystoma mexicanum*: its biology and developmental genetics, and its autonomous cell-lethal genes. *Integr Comp Biol.* 1978;18(2):195-206. <https://doi.org/10.1093/icb/18.2.195>

Margotta V, Filoni S, Merante A, Chimenti C. Analysis of morphogenetic potential of caudal spinal cord in *Triturus carnifex* adults (Urodele amphibians) subjected to repeated tail amputations. *Ital J Anat Embryol.* 2002 Apr-Jun;107(2):127-44. PMID: 12113527.

Margotta V. Further amputations of the tail in adult *Triturus carnifex*: contribution to the study on the nature of regenerated spinal cord. *Ital J Anat Embryol.* 2008 Jul-Sep;113(3):167-86. PMID: 19205589.

McCusker CD, Diaz-Castillo C, Sosnik J, Phan AQ, Gardiner DM. Cartilage and bone cells do not participate in skeletal regeneration in *Ambystoma mexicanum* limbs. *Dev Biol.* 2016; 416(1):26-33. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.05.032>

McHedlishvili L, Mazurov V, Grassme KS, Goehler K, Robl B, Tazaki A, Roensch K, Duemmler A, Tanaka EM. Reconstitution of the central and peripheral nervous system during salamander tail regeneration. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2012 Aug 21;109(34):E2258-66. doi: 10.1073/pnas.1116738109.

Michon F, Forest L, Collomb E, Demongeot J, Dhouailly D. BMP2 and BMP7 play antagonistic roles in feather induction. *Development.* 2008 Aug;135(16):2797-805. doi: 10.1242/dev.018341.

Mirams GR, Arthurs CJ, Bernabeu MO, Bordas R, Cooper J, Corrias A, Davit Y, Dunn SJ, Fletcher AG, Harvey DG, Marsh ME, Osborne JM, Pathmanathan P, Pitt-Francis J, Southern J, Zenzemi N, Gavaghan DJ. Chaste: an open source C++ library for computational

physiology and biology. PLoS Comput Biol. 2013;9(3):e1002970. doi: 10.1371/journal.pcbi.1002970.

Miura S, Hanaoka K, Togashi S. Skeletogenesis in *Xenopus tropicalis*: characteristic bone development in an anuran amphibian. *Bone*. 2008;43(5):901-909. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2008.07.005>

Monaghan JR, Stier AC, Michonneau F, et al. Experimentally induced metamorphosis in axolotls reduces regenerative rate and fidelity. *Regeneration*. 2014;1(1):2-14. <https://doi.org/10.1002/reg2.8>

Morelli LG, Ares S, Herrgen L, Schröter C, Jülicher F, Oates AC. Delayed coupling theory of vertebrate segmentation. *HFSP J*. 2009;3(1):55-66. doi: 10.2976/1.3027088. Epub 2008 Dec 10. PMID: 19492022; PMCID: PMC2689616.

Morelli LG, Uriu K, Ares S, Oates AC. Computational approaches to developmental patterning. *Science*. 2012 Apr 13;336(6078):187-91. doi: 10.1126/science.1215478.

Morgan, T. H. The physiology of regeneration. *J. Exp. Zool.* 1906; 3, 457–500.

Motsch S, Peurichard D. From short-range repulsion to Hele-Shaw problem in a model of tumor growth. *J Math Biol.* 2018 Jan;76(1-2):205-234. doi: 10.1007/s00285-017-1143-4.

Müller P, Rogers KW, Jordan BM, Lee JS, Robson D, Ramanathan S, Schier AF. Differential diffusivity of Nodal and Lefty underlies a reaction-diffusion patterning system. *Science*. 2012 May 11;336(6082):721-4. doi: 10.1126/science.1221920.

Murray, J. D. "Mathematical Biology I: An Introduction". New York: Springer. 2003.

Nagai T, Honda H. A dynamic cell model for the formation of epithelial tissues. *Phil. Mag. B*. 2001; 81, 699–719. doi:10.1080/13642810108205772

Newmark PA, Alvarado AS. Schmidtea happens: re-establishing the planarian as a model for studying the mechanisms of regeneration. In *Current topics in developmental biology*. 2022; pp. 307–344. Amsterdam, The Netherlands: Elsevier. doi:10.1016/bs.ctdb.2022.01.002

Nowakowski RS, Lewin SB, Miller MW. Bromodeoxyuridine immunohistochemical determination of the lengths of the cell cycle and the DNA-synthetic phase for an anatomically

defined population. *J Neurocytol.* 1989 Jun;18(3):311-8. doi: 10.1007/BF01190834. PMID: 2746304.

Oates AC, Gorfinkiel N, González-Gaitán M, Heisenberg CP. Quantitative approaches in developmental biology. *Nat Rev Genet.* 2009 Aug;10(8):517-30. doi: 10.1038/nrg2548.

Pally D, Pramanik D, Bhat R. An Interplay Between Reaction-Diffusion and Cell-Matrix Adhesion Regulates Multiscale Invasion in Early Breast Carcinomatosis. *Front Physiol.* 2019 Aug 13;10:790. doi: 10.3389/fphys.2019.00790.

Quilhac A, Ricqlès A, Lamrous H, Zylberberg L. Globuli ossei in the long limb bones of *Pleurodeles waltl* (Amphibia, Urodela, Salamandridae). *J Morphol.* 2014;275(11):1226-1237. <https://doi.org/10.1002/jmor.20296>

Rashevsky N. "Mathematical biophysics: physico-mathematical foundations of biology". Chicago: University of Chicago Press. 1938.

Rasolonjanahary M, Vasiev B. Scaling of morphogenetic patterns in reaction-diffusion systems. *J Theor Biol.* 2016 Sep 7;404:109-119. doi: 10.1016/j.jtbi.2016.05.035. Epub 2016 May 31.

Rodrigo Albors A, Tazaki A, Rost F, Nowoshilow S, Chara O, Tanaka EM. Planar cell polarity-mediated induction of neural stem cell expansion during axolotl spinal cord regeneration. *Elife.* 2015 Nov 14;4:e10230. doi: 10.7554/eLife.10230.

Rost F, Rodrigo Albors A, Mazurov V, Brusch L, Deutsch A, Tanaka EM, Chara O. Accelerated cell divisions drive the outgrowth of the regenerating spinal cord in axolotls. *Elife.* 2016 Nov 25;5:e20357. doi: 10.7554/eLife.20357.

Rozenblut B, Ogielska M. Development and growth of long bones in European water frogs (*Amphibia: Anura: Ranidae*), with remarks on age determination. *J Morphol.* 2005;265(3):304-317. <https://doi.org/10.1002/jmor.10344>

Safi R, Bertrand S, Marchand O, Duffraisse M, de Luze A, Vanacker JM, Maraninchi M, Margotat A, Demeneix B, Laudet V. The axolotl (*Ambystoma mexicanum*), a neotenic amphibian, expresses functional thyroid hormone receptors. *Endocrinology.* 2004 Feb;145(2):760-72. doi: 10.1210/en.2003-0913. Epub 2003 Oct 23. PMID: 14576183.

Savill NJ, Hogeweg P. Modelling Morphogenesis: From Single Cells to Crawling Slugs. *J Theor Biol.* 1997 Feb 7;184(3):229-235. doi: 10.1006/jtbi.1996.0237.

Shihabuddin LS, Horner PJ, Ray J, Gage FH. Adult spinal cord stem cells generate neurons after transplantation in the adult dentate gyrus. *J Neurosci*. 2000 Dec 1;20(23):8727-35. doi: 10.1523/JNEUROSCI.20-23-08727.2000.

Simpson MJ. Exact solutions of linear reaction-diffusion processes on a uniformly growing domain: criteria for successful colonization. *PLoS One*. 2015 Feb 18;10(2):e0117949. doi: 10.1371/journal.pone.0117949. PMID: 25693183; PMCID: PMC4333356.

Spallanzani, L. Reproduction of the legs in the Aquatic Salamander. In *An Essay on Animal Reproduction [Prodrómo Di Un'Opera Da Imprimersi Sopra Le Riproduzioni Animalij]*. 1769; pp. 68–82.

Starruß J, de Back W, Brusch L, Deutsch A. Morpheus: a user-friendly modeling environment for multiscale and multicellular systems biology. *Bioinformatics*. 2014 May 1;30(9):1331-2. doi: 10.1093/bioinformatics/btt772. Epub 2014 Jan 17.

Stocum DL. Mechanisms of urodele limb regeneration. *Regeneration (Oxf)*. 2017 Dec 26;4(4):159-200. doi: 10.1002/reg2.92.

Sugiura T, Wang H, Barsacchi R, Simon A, Tanaka EM. MARCKS-like protein is an initiating molecule in axolotl appendage regeneration. *Nature*. 2016 Mar 10;531(7593):237-40. doi: 10.1038/nature16974.

Swat MH, Thomas GL, Belmonte JM, Shirinifard A, Hmeljak D, Glazier JA. Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. *Methods Cell Biol*. 2012;110:325-66. doi: 10.1016/B978-0-12-388403-9.00013-8. PMID: 22482955; PMCID: PMC3612985.

Tanaka EM, Reddien PW. The cellular basis for animal regeneration. *Dev Cell*. 2011 Jul 19;21(1):172-85. doi: 10.1016/j.devcel.2011.06.016.

Tanaka EM. The Molecular and Cellular Choreography of Appendage Regeneration. *Cell*. 2016 Jun 16;165(7):1598-1608. doi: 10.1016/j.cell.2016.05.038.

Tassava RA, Goss RJ. Regeneration rate and amputation level in fish fins and lizard tails. *Growth*. 1966 Mar;30(1):9-21.

Thompson D., *On growth and form*, Cambridge : University Press, 1917.

Turing AM. "The Chemical Basis of Morphogenesis". *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*. 1952; 237 (641): 37–72.

Umulis DM. Analysis of dynamic morphogen scale invariance. *J R Soc Interface*. 2009 Dec 6;6(41):1179-91. doi: 10.1098/rsif.2009.0015.

Vieira WA, Wells KM, McCusker CD. Advancements to the Axolotl Model for Regeneration and Aging. *Gerontology*. 2020; 66(3):212-222. <http://doi.org/10.1159/000504294>.

Virtanen P, Gommers R, Oliphant TE, Haberland M, Reddy T, Cournapeau D, Burovski E, Peterson P, Weckesser W, Bright J, van der Walt SJ, Brett M, Wilson J, Millman KJ, Mayorov N, Nelson ARJ, Jones E, Kern R, Larson E, Carey CJ, Polat I, Feng Y, Moore EW, VanderPlas J, Laxalde D, Perktold J, Cimrman R, Henriksen I, Quintero EA, Harris CR, Archibald AM, Ribeiro AH, Pedregosa F, van Mulbregt P, and SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: Fundamental Algorithms for Scientific Computing in Python. *Nature Methods* . 2020; 17(3), 261-272.

Virtanen P, Gommers R, Oliphant TE, Haberland M, Reddy T, Cournapeau D, Burovski E, Peterson P, Weckesser W, Bright J, van der Walt SJ, Brett M, Wilson J, Millman KJ, Mayorov N, Nelson ARJ, Jones E, Kern R, Larson E, Carey CJ, Polat I, Feng Y, Moore EW, VanderPlas J, Laxalde D, Perktold J, Cimrman R, Henriksen I, Quintero EA, Harris CR, Archibald AM, Ribeiro AH, Pedregosa F, van Mulbregt P; SciPy 1.0 Contributors. SciPy 1.0: fundamental algorithms for scientific computing in Python. *Nat Methods*. 2020 Mar;17(3):261-272. doi: 10.1038/s41592-019-0686-2. Epub 2020 Feb 3. Erratum in: *Nat Methods*. 2020 Mar;17(3):352. doi: 10.1038/s41592-020-0772-5.

Vogelstein B, Kinzler KW. The multistep nature of cancer. *Trends Genet*. 1993 Apr;9(4):138-41. doi: 10.1016/0168-9525(93)90209-z.

Vogg MC, Galliot B, Tsiairis CD. Model systems for regeneration: Hydra. *Development*. 2019 Nov 1;146(21):dev177212. doi: 10.1242/dev.177212.

Wartlick O, Kicheva A, González-Gaitán M. Morphogen gradient formation. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2009 Sep;1(3):a001255. doi: 10.1101/cshperspect.a001255.

Wartlick O, Mumcu P, Kicheva A, Bittig T, Seum C, Jülicher F, González-Gaitán M. Dynamics of Dpp signaling and proliferation control. *Science*. 2011 Mar 4;331(6021):1154-9. doi: 10.1126/science.1200037.

Waskom M et al. 2017 mwaskom/seaborn: v. 0.8.1 (September 2017), Zenodo. (doi:10.5281/zenodo.883859)

Wells KM, Kelley K, Baumel M, Vieira WA, McCusker CD. Neural control of growth and size in the axolotl limb regenerate. *Elife*. 2021 Nov 15;10:e68584. doi: 10.7554/eLife.68584.

Wicks EE, Semenza GL. Hypoxia-inducible factors: cancer progression and clinical translation. *J Clin Invest*. 2022 Jun 1;132(11):e159839. doi: 10.1172/JCI159839.

Wolfe A, Nye H, Cameron J. Extent of ossification at the amputation plane is correlated with the decline of blastema formation and regeneration in *Xenopus laevis* hindlimbs. *Dev Dyn*. 2000;218(4):681-697. [https://doi.org/10.1002/1097-0177\(2000\)9999:99993.0.CO;2-6](https://doi.org/10.1002/1097-0177(2000)9999:99993.0.CO;2-6)

Yu SR, Burkhardt M, Nowak M, Ries J, Petrásek Z, Scholpp S, Schwille P, Brand M. Fgf8 morphogen gradient forms by a source-sink mechanism with freely diffusing molecules. *Nature*. 2009 Sep 24;461(7263):533-6. doi: 10.1038/nature08391.

Zhang F, Ferretti P, Clarke JD. Recruitment of postmitotic neurons into the regenerating spinal cord of urodeles. *Dev Dyn*. 2003 Feb;226(2):341-8. doi: 10.1002/dvdy.10230.

9 MATERIAL SUPLEMENTARIO

9.1. Material suplementario al capítulo 4.

9.1.1 Demostraciones principales

Resultado 1D:

En este modelo sencillo, vamos a considerar un tejido 1D con células que no son capaces de deformarse. Las células pueden dividirse. Cuando pasa el tiempo $\theta(x,t)$, una célula se divide y sus hijas ocupan el doble del espacio que ocupaba su madre. $\theta(x,t)$ es una función del tiempo y el espacio. Cuando una célula se divide, empujará todo el tejido restante para dejar espacio para las nuevas células. Cuando ocurre una división celular en el punto x_0 , todas las celdas en las posiciones $x > x_0$ serán empujadas hacia x tendiendo a infinito (a esto lo llamaremos empuje hacia la derecha) y todas las celdas en las posiciones $x < x_0$ será empujado hacia x tendiendo a menos infinito (a esto lo llamaremos empuje hacia la izquierda). Vamos a suponer que es posible que las celdas no ocupen todo el espacio disponible, sino solo una fracción llamada $\rho(x, t)$. En este trabajo, se supone que $\rho(x,t)$ es una cantidad previamente conocida y podría ser función del espacio y el tiempo.

Teorema 1:

Considere una sección infinitesimal del tejido que va desde el punto x_1 al x_2 . Si hay una división celular en esta sección del tejido, las células empujarán el tejido restante en alguna dirección desconocida para dejar espacio para la nueva célula. Dentro de este modelo, todas las direcciones son igualmente probables, por lo que consideraremos el caso promedio, que es que la mitad de las divisiones están a la izquierda y la otra mitad a la derecha.

Debido a que estamos trabajando en una sección infinitesimal del tejido, podemos suponer que la longitud del ciclo celular $\theta(x,t)$ no cambiará con la posición dentro de esta porción. Cuando pasa el tiempo $\theta(x,t)$, esta porción del tejido duplicará su tamaño. Esto significa que si $L'(t)$ es la longitud infinitesimal del tejido ocupado, tenemos:

$$L'(t) = L_0 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x,t_0)}}$$

Durante algún tiempo t_0 en el que empezamos a mirar el tejido y L_0 es la longitud del tejido en t_0 .

Si miramos una sección del dominio de longitud L , la fracción de este llena será:

$$\rho(x, t) = \frac{L'(L)}{L}$$

La longitud total del dominio infinitesimal será:

$$L = \frac{L'(L)}{\rho(x, t)} = \frac{L_0}{\rho(x, t)} 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x, t_0)}}$$

$$L = dx(t) = \frac{L_0}{\rho(x, t = t_0)} \frac{\rho(x, t = t_0)}{\rho(x, t)} 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x, t_0)}} = dx(t = t_0) \frac{\rho(x, t = t_0)}{\rho(x, t)} 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x, t_0)}}$$

$$dx(t) = dx(t = t_0) 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x, t_0)}} \frac{\rho(x, t = t_0)}{\rho(x, t)}$$

Podemos calcular la derivada en t_0 :

$$\frac{dL(x_2, t=t_0)}{dt} = \frac{d2^{\frac{t-t_0}{\theta(x_2, t_0)}}}{dt} dx(t = t_0) \frac{\rho(x_2, t=t_0)}{\rho(x_2, t)} - dx(t = t_0) \frac{\rho(x_2, t=t_0)}{\rho(x_2, t=t_0)^2} \frac{d\rho(x_2, t=t_0)}{dt}$$

$$\frac{dL(x_2, t = t_0)}{dt} = \ln(2) \frac{dx(t = t_0)}{\theta(x_2, t = t_0)} - dx(t = t_0) \frac{1}{\rho(x_2, t = t_0)} \frac{d\rho(x_2, t = t_0)}{dt}$$

$$\frac{dL(x_2, t = t_0)}{dt} = \ln(2) \frac{x_2 - x_1}{\theta(x_2, t = t_0)} - (x_2 - x_1) \frac{d\{\ln[\rho(x_2, t = t_0)]\}}{dt}$$

Esto será igual al cambio relativo de velocidad en el punto x_2 relativo a x_1 .

$$v_{x_2} - v_{x_1} = \ln(2) \frac{x_2 - x_1}{\theta(x_1, t = t_0)} - (x_2 - x_1) \frac{d\{\ln[\rho(x_2, t = t_0)]\}}{dt}$$

Con este resultado podemos calcular la derivada de v con x :

$$\frac{dv}{dx} = \lim_{x_1 \rightarrow x_2} \frac{\Delta v}{\Delta x}$$

$$\frac{dv}{dx} = \lim_{x_1 \rightarrow x_2} \ln(2) \frac{x_2 - x_1}{\theta(x_2, t)} \frac{1}{x_2 - x_1} - (x_2 - x_1) \frac{d\{\ln[\rho(x_2, t = t_0)]\}}{dt} \frac{1}{x_2 - x_1}$$

$$\frac{dv}{dx} = \frac{\ln(2)}{\theta(x_2, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x_2, t = t_0)]\}}{dt}$$

Y llegamos a la relación entre el crecimiento del tejido y la duración del ciclo celular:

$$\frac{dv(x, t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt}$$

Ahora miramos un punto arbitrario x . Las celdas que quedan desde esa posición empujarán la celda ubicada en x hacia la derecha y las que están a la derecha de x la empujarán hacia la izquierda. Para saber la velocidad a la que se mueve x , necesitamos integrar desde todas las celdas a la izquierda hasta esa posición x y luego restar la velocidad de todas las celdas a la derecha de x hasta x . A medida que las celdas se dividen por la mitad en cada dirección, debemos agregar un factor de $\frac{1}{2}$ tener en cuenta que sólo la mitad del empuje de la celda es en esa dirección.

El empujón desde la izquierda:

$$\int_{x_{izq}}^x x dv(x, t) = \frac{1}{2} \int_{x_{izq}}^x x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$v(x, t) = v$$

Donde x_{izq} es la posición en el límite izquierdo del tejido.

El empujón desde la derecha:

$$\int_x^{x_{der}} dv(x, t) = \frac{1}{2} \int_x^{x_{der}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$v(x, t) = v(x_{der}, t) - \frac{1}{2} \int_x^{x_{der}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

Donde x_{der} es la posición en el límite derecho del tejido.

Entonces la velocidad final será la suma de ambas aportaciones:

$$v(x, t) = v$$

Debido a que la célula en el tejido se divide en ambas direcciones entonces tenemos que pedir que en el borde las velocidades sean iguales y en diferentes direcciones:

$$v$$

De este modo:

$$v(x, t) = \frac{1}{2} \int_{x_{izq}}^x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx - \frac{1}{2} \int_x^{x_{right}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

Corolario 1:

El caso acotado:

Consideremos que tenemos una restricción en x_{izq} que impone $v(x_{izq}) = 0$. En este caso, podemos usar el método de la imagen y suponer que tenemos una

imagen de tejido a la izquierda de x_{izq} de largo $x_{der} - x_{izq}$ y $\theta(x, t)$ refleja el tejido original. Entonces:

$$v(x, t) = \frac{1}{2} \int_{2x_{izq}-x_{der}}^x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx - \frac{1}{2} \int_x^{x_{der}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$v(x, t) = \frac{1}{2} \int_{2x_{izq}-x_{der}}^{x_{izq}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx + \frac{1}{2} \int_{x_{izq}}^x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$- \frac{1}{2} \int_x^{x_{der}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$v(x, t) = \frac{1}{2} \int_{2x_{izq}-x_{der}}^{x_{izq}-x} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx + \frac{1}{2} \int_{x_{izq}-x}^{x_{izq}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$+ \frac{1}{2} \int_{x_{izq}}^x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx - \frac{1}{2} \int_x^{x_{der}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$v(x, t) = -\frac{1}{2} \int_{x_{der}}^x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx - \frac{1}{2} \int_x^{x_{izq}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$+ \frac{1}{2} \int_{x_{izq}}^x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx - \frac{1}{2} \int_x^{x_{der}} \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

$$v(x, t) = \int_{x_{izq}}^x \frac{\ln(2)}{\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

Corolario 1.1:

Veamos el caso particular de un tejido acotado con $\rho(x, t) = 1$ y $\theta(x, t) = \theta$ con $x_{izq} = 0$, $x_{right} = L$ y $x = L$. Entonces:

$$v(L, t) = \int_0^L \frac{\ln(2)}{\theta} dx$$

$$v(L, t) = \frac{\ln(2)}{\theta} (L - 0)$$

$$v(L, t) = L \frac{\ln(2)}{\theta}$$

Podemos obtener la longitud total del tejido en función del tiempo que se puede obtener mediante integración:

$$v(L, t) = \frac{dL(t)}{dt}$$

$$\frac{dL(t)}{dt} = L(t) \frac{\ln(2)}{\theta}$$

$$L(t) = L_0 e^{\frac{\ln(2)}{\theta} t} = L_0 2^{\frac{t}{\theta}}$$

Caso 2D, 3D y en general n dimensiones:

Teorema 2:

Exactamente los mismos argumentos que en el caso 1D también se aplican a 2D y 3D. Vamos a resaltar sólo las diferencias. En 2D, vamos a mirar una superficie infinitesimal del tejido de área:

$$A'(t) = A'_0 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x,t_0)}}$$

Tenemos una superficie infinitesimal del tejido:

$$\rho(x, t) = \frac{A'}{A}$$

Entonces:

$$A = dx(t)^2 = \frac{A_0}{\rho(x, t = t_0)} \frac{\rho(x, t = t_0)}{\rho(x, t)} 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x,t_0)}} = dx(t = t_0)^2 \frac{\rho(x, t = t_0)}{\rho(x, t)} 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x,t_0)}}$$
$$dx(t) = dx(t = t_0) 2^{\frac{t-t_0}{2\theta(x,t_0)}} \sqrt{\frac{\rho(x, t = t_0)}{\rho(x, t)}}$$

La velocidad nos da:

$$\frac{ddx(t)}{dt} = \ln(2) \frac{x_2 - x_1}{2\theta(x_2, t = t_0)} - (x_2 - x_1) \frac{d\{\ln[\sqrt{\rho(x_2, t = t_0)}]\}}{dt}$$

Y llegamos a la relación entre el crecimiento del tejido y la duración del ciclo celular:

$$\frac{dv(x, t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{2\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\sqrt{\rho(x, t)}]\}}{dt}$$

En 3D, vamos a mirar una porción infinitesimal del tejido de volumen:

$$Vol'(t) = Vol_0 2^{\frac{t-t_0}{\theta(x,t_0)}}$$

Y siguiendo el mismo razonamiento llegamos a:

$$\frac{dv(x, t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{3\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\sqrt{\rho(x, t)}]\}}{dt}$$

Podemos escribir estos resultados de forma compacta como:

$$\frac{dv(x, t)}{dx} = \frac{\ln(2)}{n\theta(x, t)} - \frac{d\{\ln[\sqrt{\rho(x, t)}]\}}{dt}$$

Donde n es la dimensión del problema.

Corolario 2:

El caso acotado:

El mismo argumento de utilizar el método de la imagen se puede aplicar al caso 2D y 3D observando lo que sucede en las direcciones x , y , z . Obtenemos:

$$v(x, t) = \int_{x_{\text{right}}} x \frac{\ln(2)}{n\theta(x, t)} - \frac{1}{n} \frac{d\{\ln[\rho(x, t)]\}}{dt} dx$$

Donde n es la dimensión buscada y x es la dirección que nos interesa estudiar (x , y o z).

Corolario 2.1:

Si tenemos un tejido acotado en 2D o 3D con $\rho(x, t) = \rho(t)$ y $\theta(x, t) = \theta$ con $x=0$, $x_{\text{right}} = L$ y $x = L$, donde x es la dirección que estamos estudiando (x , y o z). De este modo:

$$L(t) = \frac{L_0}{\sqrt[n]{\rho(t)}} 2^{\frac{t}{n\theta}}$$

Donde n es la dimensión del problema.

A partir de este resultado podemos calcular el radio del cuadrado (2D) o del cubo (3D) como:

$$R(t) = \frac{R_0}{\sqrt[n]{\rho(t)}} 2^{\frac{t}{n\theta}}$$

Corolario 3:

Simetría radial:

Supongamos que θ tiene simetría polar o esférica y solo depende del radio $\theta = \theta(r, t)$ (crece en la dirección radial). En 2D, veremos un anillo infinitesimal de ancho dr y radio r . El área del anillo infinitesimal es:

$$A = 2\pi r dr$$

Si el área se duplica:

$$A(t) = A_0 2^{\frac{t-t_0}{\theta(r, t_0)}}$$

Lo que significa que:

$$2\pi r(t) dr(t) = 2\pi r(t = t_0) dr(t = t_0) 2^{\frac{t-t_0}{\theta(r, t_0)}}$$

$$dr(t) = dr(t = t_0) \frac{r(t = t_0)}{r(t)} 2^{\frac{t-t_0}{\theta(r, t_0)}}$$

Siguiendo el mismo razonamiento que antes llegamos a:

$$\frac{dv}{dr} = \frac{\ln(2)}{\theta(r, t_0)} - \frac{1}{r} \frac{dr}{dt}$$

Y podemos integrar para obtener:

$$v = \frac{\int_0^r r \frac{\ln(2)}{\theta(r, t_0)} dr}{r} + \frac{C_0}{r}$$

La integración anterior se puede realizar definiendo una función auxiliar $u(r, t) = rv(r, t)$ y resolviendo para $u(r, t)$.

Pero tenemos que pedir $v(r = 0) = 0$, entonces $C_0 = 0$. Por lo tanto:

$$v(r) = \frac{\int_0^r r \frac{\ln(2)}{\theta(r, t_0)} dr}{r}$$

En 3D veremos una capa infinitesimal de ancho dr y radio r . El volumen de la capa infinitesimal es:

$$Vol = 4\pi r^2 dr$$

Siguiendo el mismo razonamiento que antes llegamos a:

$$\frac{dv}{dr} = \frac{\ln(2)}{\theta(r, t_0)} - \frac{2}{r} \frac{dr}{dt}$$

Y por integración llegamos a:

$$v(r) = \frac{\int_0^r r^2 \frac{\ln(2)}{\theta(r, t_0)} dr}{r^2}$$

La integración anterior se puede realizar definiendo una función auxiliar $u(r, t) = r^2v(r, t)$ y resolviendo para $u(r, t)$.

Teorema 3:

Árbol ramificado

Considere un árbol ramificado donde la longitud de la rama perteneciente a la generación 0 es igual a r . Cuando pasamos de una generación a la siguiente, la rama se divide en dos subramas y la longitud de una rama en la siguiente generación es multiplicada por la longitud de una rama perteneciente a la generación anterior (fig. 4.2. panel A). Se puede pensar como un problema 1D

pero en cada subrama tenemos una mayor duración del ciclo celular. Por simplicidad vamos a considerar los casos en los que $\rho(x,t)=1$ y $\theta(x,t)=\theta$. Cuando tenemos una bifurcación de una rama a dos ramas, la rama original solo empujará con la mitad de su potencia en cada una de las nuevas ramas. Esto sucede porque suponemos que existe la misma probabilidad de que las células sean empujadas en cualquiera de las nuevas direcciones. Esto significa:

$$\theta_{n+1} = \frac{\theta_n}{2}$$

Donde θ_n es la duración efectiva del ciclo celular que debemos usar cuando calculamos el empuje desde la subrama n hacia la subrama $n+1$. En general:

$$\theta_n = 2^{-n}\theta_0$$

Donde θ_0 es la primera subrama. Observe que como no hay una rama preferida, en promedio, todas las ramas de la misma generación se llenan al mismo tiempo.

La ley local sigue siendo válida dentro de cada rama porque cada rama es un tejido 1D:

$$\frac{dv}{dx} = \frac{\log(2)}{\theta(x,t)}$$

Calculemos la longitud total de una rama en función del tiempo para un ciclo celular constante. Tenemos un árbol de n subramas. La longitud de cada subrama es:

$$l_n = ar^n$$

La longitud del tejido hasta la subrama n es:

$$L_n = \sum_{i=0}^n l_i$$

$$L_n = \sum_{i=0}^n ar^i$$

Y esta es la serie geométrica:

$$L_n = a \left(\frac{1 - r^{n+1}}{1 - r} \right)$$

Si integramos:

$$\frac{dv}{dx} = \frac{\log(2)}{\theta(x,t)}$$

$$v = \int_0^x \frac{\log(2)}{\theta(x,t)} dx$$

$$v = \int_0^{L_0} \frac{\log(2)}{\theta(x,t)} dx + \int_{L_0}^{L_1} \frac{\log(2)}{\theta(x,t)} dx + \dots + \int_{L_{n-1}}^{L_n} \frac{\log(2)}{\theta(x,t)} dx + \int_{L_n}^x \frac{\log(2)}{\theta(x,t)} dx$$

$$v = \sum_{i=0}^n \int_{L_{i-1}}^{L_i} \frac{\log(2)}{\theta(x,t)} dx + \int_{L_n}^x \frac{\log(2)}{\theta(x,t)} dx$$

Donde definimos $L_{-1} = 0$. Ahora que el árbol se está ramificando, el empuje efectivo se reduce a la mitad.

$$v = \sum_{i=0}^n \int_{L_{i-1}}^{L_i} \frac{\log(2)}{2^{n+1-i}\theta} dx + \int_{L_n}^x \frac{\log(2)}{\theta} dx$$

$$v = \sum_{i=0}^n \frac{\log(2)}{2^{n+1-i}\theta} (L_i - L_{i-1}) + \frac{\log(2)}{\theta} (L(t) - L_n)$$

$$v = \sum_{i=0}^n \frac{\log(2)}{2^{n+1-i}\theta} \left(a \left(\frac{1-r^{i+1}}{1-r} \right) - a \left(\frac{1-r^i}{1-r} \right) \right) + \frac{\log(2)}{\theta} \left(x - a \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right)$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\sum_{i=0}^n \frac{1}{2^{n+1-i}} \left(\left(\frac{1-r^{i+1}}{1-r} \right) - \left(\frac{1-r^i}{1-r} \right) \right) + \left(\frac{x}{a} - \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right) \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\sum_{i=0}^n \frac{1}{2^{n+1-i}} \left(\left(\frac{1-r^{i+1} - 1 + r^i}{1-r} \right) \right) + \left(\frac{x}{a} - \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right) \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\sum_{i=0}^n \frac{1}{2^{n+1-i}} \left(\left(\frac{r^i - r^{i+1}}{1-r} \right) \right) + \left(\frac{x}{a} - \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right) \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\sum_{i=0}^n \frac{r^i}{2^{n+1-i}} + \left(\frac{x}{a} - \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right) \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\frac{1}{2^{n+1}} \sum_{i=0}^n \frac{r^i}{2^{-i}} + \left(\frac{x}{a} - \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right) \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\frac{1}{2^{n+1}} \sum_{i=0}^n (2r)^i + \left(\frac{x}{a} - \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right) \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\frac{1}{2^{n+1}} \left(\frac{1 - (2r)^{n+1}}{1-2r} \right) + \left(\frac{x}{a} - \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r} \right) \right) \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\frac{1 - (2r)^{n+1}}{2^{n+1} - 2^{n+2}r} - \frac{1-r^{n+1}}{1-r} + \frac{x}{a} \right]$$

$$v = \frac{a\log(2)}{\theta} \left[\frac{(1 - (2r)^{n+1})(1-r) - (1-r^{n+1})(2^{n+1} - 2^{n+2}r)}{(2^{n+1} - 2^{n+2}r)(1-r)} + \frac{x}{a} \right]$$

$$v = \frac{alog(2)}{\theta} \left[\frac{1 - r - (2r)^{n+1} + r(2r)^{n+1} - 2^{n+1} + 2^{n+2}r + 2^{n+1}r^{n+1} - 2^{n+2}r^{n+2}}{(2^{n+1} - 2^{n+2}r)(1 - r)} + \frac{x}{a} \right]$$

$$v = \frac{alog(2)}{\theta} \left[\frac{1 - 2^{n+1} + 2^{n+2}r - r + 2^{n+1}r^{n+1} - (2r)^{n+1} + r(2r)^{n+1} - 2^{n+2}r^{n+2}}{(2^{n+1} - 2^{n+2}r)(1 - r)} + \frac{x}{a} \right]$$

$$v = \frac{alog(2)}{\theta} \left[\frac{1 - 2^{n+1} + 2^{n+2}r - r + r(2r)^{n+1} - 2^{n+2}r^{n+2}}{2^{n+1}(1 - 2r)(1 - r)} + \frac{x}{a} \right]$$

$$v = \frac{alog(2)}{\theta} \left[\frac{(1 - r) - 2^{n+1}(1 - 2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1 - 2r)(1 - r)} + \frac{x}{a} \right]$$

Ahora calculemos la longitud del tejido:

$$v = \frac{dx}{dt}$$

$$\frac{dx}{dt} = \frac{alog(2)}{\theta} \frac{(1 - r) - 2^{n+1}(1 - 2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1 - 2r)(1 - r)} + \frac{xlog(2)}{\theta}$$

$$\frac{dx}{\frac{alog(2)}{\theta} \frac{(1 - r) - 2^{n+1}(1 - 2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1 - 2r)(1 - r)} + \frac{xlog(2)}{\theta}} = dt$$

Si $n = 0$ (estamos en la primera rama):

$$\frac{dx}{\frac{xlog(2)}{\theta}} = dt$$

$$L(t) = L_0 e^{\frac{tlog(2)}{\theta}}$$

Obtenemos el resultado de un tejido no ramificado en 1D. Si $n \neq 0$:

$$L_n = a \left(\frac{1 - r^{n+1}}{1 - r} \right)$$

$$\int_{L_n}^{L(t)} \frac{dx}{\frac{alog(2)}{\theta} \frac{(1 - r) - 2^{n+1}(1 - 2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1 - 2r)(1 - r)} + \frac{xlog(2)}{\theta}} = t - t_n$$

Con t_n siendo el tiempo que tardó en llenar la rama n .

$$\frac{\log \left(\frac{\frac{alog(2)}{\theta} \frac{(1 - r) - 2^{n+1}(1 - 2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1 - 2r)(1 - r)} + \frac{L(t)log(2)}{\theta}}{\frac{alog(2)}{\theta} \frac{(1 - r) - 2^{n+1}(1 - 2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1 - 2r)(1 - r)} + a \left(\frac{1 - r^{n+1}}{1 - r} \right) \frac{log(2)}{\theta}} \right)}{\frac{log(2)}{\theta}} = t - t_n$$

$$\frac{\log \left(\frac{\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} + \frac{L(t)}{a}}{\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} + \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r}\right)} \right)}{\frac{\log(2)}{\theta}} = t - t_n$$

$$\frac{\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} + \frac{L(t)}{a}}{\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} + \left(\frac{1-r^{n+1}}{1-r}\right)} = e^{(t-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}}$$

$$\frac{\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2} + \frac{L(t)}{a} 2^{n+1}(1-2r)(1-r)}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)}}{\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2} + (1-r^{n+1})2^{n+1}(1-2r)}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)}} = e^{(t-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}}$$

$$\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2} + \frac{L(t)}{a} 2^{n+1}(1-2r)(1-r)}{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2} + (1-r^{n+1})2^{n+1}(1-2r)} = e^{(t-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}}$$

$$\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2} + \frac{L(t)}{a} 2^{n+1}(1-2r)(1-r)}{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2} + (1-r^{n+1})2^{n+1} - (1-r^{n+1})2^{n+2}r} = e^{(t-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}}$$

$$\frac{(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2} + \frac{L(t)}{a} 2^{n+1}(1-2r)(1-r)}{(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}} = e^{(t-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}}$$

$$L(t) = \frac{a}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

Podemos obtener t_n de acá pidiendo:

$$L_{n+1} = L(t_{n+1})$$

$$a \left(\frac{1-r^{n+2}}{1-r} \right) = \frac{a}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

$$1 - r^{n+2} = \frac{1}{2^{n+1}(1-2r)} \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

$$\begin{aligned} & (1-r^{n+2})2^{n+1}(1-2r) \\ &= \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
& (2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}(1-2r)r^{n+2}) \\
= & \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} \right. \\
& \left. - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\} \\
& -2^{n+1}r^{n+2} + 2^{n+2}r^{n+3} \\
= & \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} + [-(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2}] \right\} \\
-2^{n+2}r^{n+2} + 2^{n+2}r^{n+3} + (1-r) = & [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} \\
-2^{n+2}r^{n+2}(1-r) + (1-r) = & [(1-r) - r^{n+1}2^{n+1}(1-r)] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} \\
-2^{n+2}r^{n+2} + 1 = & [1 - r^{n+1}2^{n+1}] e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} \\
\frac{1 - 2^{n+2}r^{n+2}}{1 - 2^{n+1}r^{n+1}} = & e^{(t_{n+1}-t_n)\frac{\log(2)}{\theta}} \\
\log\left(\frac{1 - 2^{n+2}r^{n+2}}{1 - 2^{n+1}r^{n+1}}\right) = & (t_{n+1} - t_n) \frac{\log(2)}{\theta} \\
t_{n+1} = t_n + \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{1 - 2^{n+2}r^{n+2}}{1 - 2^{n+1}r^{n+1}}\right) \\
t_n = t_{n-1} + \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{1 - 2^{n+1}r^{n+1}}{1 - 2^n r^n}\right)
\end{aligned}$$

Por simplicidad, asumiremos que el tejido comenzó en la rama 0 con una longitud L_0 , pedimos la misma condición para la rama 0:

$$\begin{aligned}
a &= L(t_0) \\
a &= L_0 e^{t_0 \frac{\log(2)}{\theta}} \\
t_0 &= \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{a}{L_0}\right)
\end{aligned}$$

Entonces:

$$\begin{aligned}
t_n &= t_0 + \sum_{i=1}^n \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{1 - 2^{i+1}r^{i+1}}{1 - 2^i r^i}\right) \\
t_n &= \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{a}{L_0}\right) + \frac{\theta}{\log(2)} \sum_{i=1}^n \log\left(\frac{1 - 2^{i+1}r^{i+1}}{1 - 2^i r^i}\right) \\
t_n &= \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{a}{L_0}\right) + \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{1 - 2^{n+1}r^{n+1}}{1 - 2r}\right)
\end{aligned}$$

$$L(t) = \frac{a}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] \frac{L_0}{a} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} \frac{1 - 2^{n+1}r^{n+1}}{1-2r} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

$$L(t) = a \left[1 - r^{n+1} \frac{r-1}{2r-1} \right]$$

Lo que nos da:

$$e^{(t-t_n) \frac{\log(2)}{\theta}} = \frac{L_0}{a} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} \frac{1-2r}{1-2^{n+1}r^{n+1}}$$

Por lo tanto:

$$L(t) = \frac{a}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \left\{ [(1-r) + 2^{n+1}r^{n+2} - r^{n+1}2^{n+1}] \frac{L_0}{a} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} \frac{1-2r}{1-2^{n+1}r^{n+1}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

$$L(t) = \frac{a}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \left\{ [(1-r) - r^{n+1}2^{n+1}(1-r)] \frac{L_0}{a} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} \frac{1-2r}{1-2^{n+1}r^{n+1}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

$$L(t) = \frac{a}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \left\{ (1-r)[1 - r^{n+1}2^{n+1}] \frac{L_0}{a} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} \frac{1-2r}{1-2^{n+1}r^{n+1}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

$$L(t) = \frac{a}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)} \left\{ (1-r)(1-2r) \frac{L_0}{a} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} - [(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}] \right\}$$

$$L(t) = \frac{L_0}{2^{n+1}} e^{t \frac{\log(2)}{\theta}} - a \frac{[(1-r) - 2^{n+1}(1-2r) - 2^{n+1}r^{n+2}]}{2^{n+1}(1-2r)(1-r)}$$

Finalmente, es importante señalar que n es función de t , dada por la siguiente regla:

$$t_n < t \leq t_{n+1}$$

Entonces:

$$\begin{aligned} & \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{a}{L_0}\right) + \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{1-2^{n+1}r^{n+1}}{1-2r}\right) < t \\ & \leq \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{a}{L_0}\right) + \frac{\theta}{\log(2)} \log\left(\frac{1-2^{n+2}r^{n+2}}{1-2r}\right) \end{aligned}$$

$$0 < \frac{\log(2)}{\theta} t - \log\left(\frac{a}{L_0}\right) - \log\left(\frac{1 - 2^{n+1}r^{n+1}}{1 - 2r}\right) \leq \log\left(\frac{1 - 2^{n+2}r^{n+2}}{1 - 2^{n+1}r^{n+1}}\right)$$

Esto es particularmente útil cuando se calcula una implementación numérica de esta solución porque nos permite calcular en qué rama se encuentra el tejido en el tiempo t .

9.2. Material suplementario al capítulo 6.

9.2.1. Solución analítica del modelo de Reacción-Difusión unidimensional asumiendo un dominio finito, condiciones de contorno de fuente y sumidero en $\varepsilon = 0$ y $\varepsilon = R$, respectivamente.

Consideramos un tejido unidimensional de longitud L donde un morfógeno es producido en $x = 0$, difunde hasta la punta del tejido con una constante de difusión D y degrada linealmente a una tasa k . Suponemos que en la punta del tejido en $x = L$ hay un sumidero. En $t = 0$ no hay morfógeno en el tejido. Los cambios en la distribución del morfógeno C_1 en el tiempo y el espacio se expresan matemáticamente como la ecuación de reacción-difusión.

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_1}{\partial x^2} - kC_1 \quad \text{Ec. 9.2.1.}$$

Con las siguientes condiciones:

Sin morfógeno en el tiempo inicial:

$$C_1(x, t = 0) = 0$$

Producción de morfógeno en $x = 0$:

$$\frac{dC_1}{dx}(x = 0, t) = \frac{-q}{D}$$

Donde q es la tasa de producción de morfógeno en $x = 0$.

Y un sumidero en la punta del tejido $x = L$:

$$C_1(x = L, t) = 0$$

Reescribimos la Ec. 9.2.1 en términos de las variables adimensionales $\varepsilon = \frac{x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y

$\tau = kt$. Definimos las cantidades R y S como $R = \frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y $S = \frac{q}{\sqrt{Dk}}$ y reescribimos la

concentración como $(\varepsilon, \tau) = \frac{C_1(\varepsilon, \tau)}{S}$:

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} - C$$

Ec. 9.2.2.

Con las siguientes condiciones. Sin morfógeno en el tiempo inicial:

$$C(\varepsilon, \tau = 0) = 0$$

Producción de morfógeno en $\varepsilon = 0$:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \tau) = -1$$

Y un sumidero en la punta del tejido $\varepsilon = R$:

$$C(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

Para resolver esta ecuación, redefinimos C en términos de una función auxiliar C_2 definida como:

$$C = C_2 e^{-\tau}$$

Calculamos las derivadas de C_2 en términos de las derivadas de C . La segunda derivada espacial es:

$$\frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} = e^{-\tau} \frac{\partial^2 C_2}{\partial \varepsilon^2}$$

Y la derivada temporal es:

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = e^{-\tau} \frac{\partial C_2}{\partial \tau} - C_2 e^{-\tau}$$

Esto conduce a la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial C_2}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_2}{\partial \varepsilon^2}$$

Ec. 9.2.3.

Con las siguientes condiciones de contorno:

$$C_2(\varepsilon, \tau = 0) = 0$$

$$\frac{\partial C_2(\varepsilon = 0, \tau)}{\partial \varepsilon} = -e^{\tau}$$

$$C_2(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

Para resolver la Ec. 9.2.3, simplemente realizar una separación de variables no sería suficiente con esta condición inicial particular. Hacerlo así daría como resultado la única solución como la trivial, $C_2(\varepsilon, \tau) = 0$. Para superar esta dificultad, redefinimos C_2 utilizando las funciones auxiliares $C_3(\varepsilon, \tau)$, $f(\tau)$ y $g(\varepsilon)$. La definición explícita de las funciones auxiliares $g(\varepsilon)$ y $f(\tau)$ se definirá más adelante.

$$C_2(\varepsilon, \tau) = C_3(\varepsilon, \tau) + g(\varepsilon)f(\tau)$$

La derivada con respecto a τ es:

$$\frac{\partial C_2(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} + g(\varepsilon) \frac{\partial f(\tau)}{\partial \tau}$$

Y la derivada con respecto a ε es:

$$\frac{\partial^2 C_2(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} = \frac{\partial^2 C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 g(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} f(\tau)$$

Reescribimos la ecuación de reacción-difusión en C_3 como:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 g(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} f(\tau) - g(\varepsilon) \frac{\partial f(\tau)}{\partial \tau}$$

La condición inicial:

$$C_3(\varepsilon, \tau = 0) = -g(\varepsilon)f(\tau = 0)$$

Con las siguientes condiciones de contorno:

La fuente:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon = 0, \tau)}{\partial \varepsilon} = -e^\tau - \frac{\partial g(\varepsilon = 0)}{\partial \varepsilon} f(\tau)$$

Y el sumidero:

$$C_3(\varepsilon = R, \tau) = -g(\varepsilon = R)f(\tau)$$

Es deseable que la condición inicial sea diferente de 0 y que las condiciones de contorno sean iguales a 0. Definimos $f(\tau)$ y $g(\varepsilon)$ como:

$$f(\tau) = -e^\tau, \quad g(\varepsilon) = \varepsilon - R$$

Con esta elección, la Ec. 9.2.3. resulta ser:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + (\varepsilon - R)e^\tau \tag{Ec. 9.2.4.}$$

La condición inicial:

$$C_3(\varepsilon, \tau = 0) = (\varepsilon - R)$$

Con las siguientes condiciones de contorno:

La fuente:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon = 0, \tau)}{\partial \varepsilon} = 0$$

Y el sumidero:

$$C_3(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

La solución a sistemas del tipo de la Ec. 9.2.4. se puede encontrar mediante (Pinchover y Rubinstein, 2005). En esta referencia, los autores definieron un método para encontrar la solución para sistemas con el siguiente aspecto:

$$r(x)m(t)\frac{\partial u(x,t)}{\partial t} - \left[\frac{\partial \left(p(x)\frac{\partial u(x,t)}{\partial x} \right)}{\partial x} + q(x)u(x,t) \right] = F(x,t)$$

$$\alpha u(x=a,t) + \beta \frac{\partial u(x=a,t)}{\partial x} = 0$$

$$\gamma u(x=b,t) + \delta \frac{\partial u(x=b,t)}{\partial x} = 0$$

$$u(x,t=0) = f(x)$$

Donde $u(x,t)$, $r(x)$, $m(t)$, $p(x)$, $q(x)$, $F(x,t)$ y $f(x)$ son funciones y a , b , α , β , γ y δ son constantes.

Los autores definieron las siguientes cantidades:

$$f_j = \int_a^b f(x) v_j(x) r(x) dx$$

$$F_j(t) = \int_a^b F(x,t) v_j(x) dx$$

Donde $v_j(x)$ y λ_j se obtienen a partir de la solución del siguiente problema:

$$\frac{\partial \left(p(x)\frac{\partial v_j(x)}{\partial x} \right)}{\partial x} + q(x)v_j(x) + \lambda_j v_j(x) = 0$$

Con las condiciones:

$$\alpha v(x=a,t) + \beta \frac{\partial v(x=a,t)}{\partial x} = 0$$

$$\gamma v(x=b,t) + \delta \frac{\partial v(x=b,t)}{\partial x} = 0$$

La solución al problema es:

$$u(x,t) = \sum_{j=0}^{\infty} f_j v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} + \sum_{j=0}^{\infty} v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} \int_0^t \frac{F_j(s)}{m(s)} e^{\lambda_j \int_0^s \frac{1}{m(w)} dw} ds$$

En nuestro problema, resolvimos Ec. 9.2.4. identificando las siguientes cantidades:

$$m(\tau) = 1, r(\varepsilon) = 1, q(\varepsilon) = 0, p(\varepsilon) = 1, F(\varepsilon, \tau) = (\varepsilon - R)e^\tau$$

$$f(\varepsilon) = (\varepsilon - R), \quad a = 0, \quad b = R, \quad \alpha = 0, \quad \beta = 1, \quad \gamma = 1, \quad \delta = 0$$

Primero resolvimos el problema homogéneo asociado:

$$\frac{\partial^2 v_j(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} + \lambda_j v_j(\varepsilon) = 0$$

$$\frac{\partial v_j(\varepsilon = 0)}{\partial \varepsilon} = 0$$

$$v_j(\varepsilon = R) = 0$$

La solución a este problema es:

$$v_j(\varepsilon) = \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right)$$

Y:

$$\sqrt{\lambda_j} = \frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}$$

Es importante notar que dado que $v_j(\varepsilon)$ son los elementos de una base del espacio de funciones, necesitan ser normalizados. Esto significa que $\int_0^R v_j(\varepsilon)^2 d\varepsilon = 1$.

Nosotros calculamos f_j :

$$f_j = \frac{-\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}\right]^2}$$

También calculamos $F_j(\tau)$:

$$F_j(\tau) = \frac{-\sqrt{\frac{2}{R}} e^\tau}{\left[\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}\right]^2}$$

La solución a la ecuación es:

$$C_3(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right) e^\tau}{\left[\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}\right]^2} \left[\frac{\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right)^2 e^{\left[\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}}{\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right)^2 + 1} \right]_{+1} \quad \text{Ec. 9.2.5.}$$

Obtuvimos la función original:

$$C(\varepsilon, \tau) = [C_3(\varepsilon, \tau) - (\varepsilon - R)e^\tau]e^{-\tau}$$

$$C(\varepsilon, \tau) = [C_3(\varepsilon, \tau)e^{-\tau} - (\varepsilon - R)]$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2} \left[\frac{\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)^2 e^{-\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}}{\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)^2 + 1} - (\varepsilon - R) \right]$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2} \frac{1}{\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)^2 + 1} - (\varepsilon - R)$$

$$+ \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2} e^{-\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}$$

Reescribimos $(\varepsilon - R)$ en la base de $\sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)$ en el intervalo $\varepsilon \in (0, R)$ como:

$$(\varepsilon - R) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2}$$

Para hacer este cálculo, escribimos $(\varepsilon - R)$ como:

$$(\varepsilon - R) = \sum_{j=0}^{\infty} \alpha_j \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)$$

Y obtenemos α_j tomando el producto interno como la integral:

$$\alpha_j = \int_0^R (\varepsilon - R) \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right) d\varepsilon$$

$$\alpha_j = -\sqrt{\frac{2}{R} \frac{1}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2}}$$

Escribimos $C(\varepsilon, \tau)$ como:

$$C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2 + 1} + \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}$$

Escribimos $\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}$ en la base de $\sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)$ en el intervalo $\varepsilon \in (0, R)$

como:

$$\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}} = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2 + 1}$$

Para realizar este cálculo, escribimos $\left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right)$ como:

$$\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}} = \sum_{j=0}^{\infty} \alpha_j \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)$$

Y obtuvimos α_j tomando el producto interno como la integral:

$$\alpha_j = \int_0^R \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right) \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right) d\varepsilon$$

$$\alpha_j = \sqrt{\frac{2}{R} \frac{1}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2 + 1}}$$

Finalmente, escribimos $C(\varepsilon, \tau)$ como:

$$C(\varepsilon, \tau) = \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right) + \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}$$

Ec. 9.2.6.

9.2.2. Solución analítica del modelo de difusión-reacción unidimensional asumiendo un dominio finito, condiciones de fuente y condiciones de no flujo en $\varepsilon = 0$ y $\varepsilon = R$, respectivamente.

Consideramos un tejido unidimensional de longitud L donde un morfógeno es producido en $x = 0$, difunde hacia la punta del tejido con una constante de difusión D y se degrada linealmente a una tasa k . Supusimos que en la punta del tejido en $x = L$ hay una condición de no flujo en la frontera. En $t = 0$ no hay morfógeno en el tejido. Los cambios en la distribución del morfógeno C_1 en el tiempo y el espacio se expresan matemáticamente como la ecuación de reacción-difusión. (Ec. 9.2.1.):

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_1}{\partial x^2} - kC_1$$

Con las siguientes condiciones:

Sin morfógeno en el tiempo inicial:

$$C_1(x, t = 0) = 0$$

Producción de morfógeno en $x = 0$:

$$\frac{dC_1}{dx}(x = 0, t) = \frac{-q}{D}$$

Donde q es la tasa de producción de morfógeno en $x = 0$.

Y sin condiciones de frontera de flujo en el extremo del tejido $x = L$:

$$\frac{dC_1}{dx}(x = L, t) = 0$$

Seguimos el mismo procedimiento que se utilizó en la sección 9.2.1.

Reescribimos Ec. 9.2.1. En términos de las variables adimensionales $\varepsilon = \frac{x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y $\tau =$

kt . Definimos las cantidades R y S como $R = \frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y $S = \frac{q}{\sqrt{Dk}}$ y definimos la

concentración como $C(\varepsilon, \tau) = \frac{C_1(\varepsilon, \tau)}{S}$. Obtuvimos la siguiente ecuación (Ec. 9.2.2.):

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} - C$$

Con las siguientes condiciones:

No hay morfógeno en el tiempo inicial:

$$C(\varepsilon, \tau = 0) = 0$$

Producción de morfógeno en $\varepsilon = 0$:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \tau) = -1$$

Y sin condición de flujo en la frontera del extremo del tejido $\varepsilon = R$:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

Usamos una función auxiliar para resolver la Ec. 9.2.2. siguiendo el mismo procedimiento que en la sección 9.2.1. En esa sección, utilizamos tres funciones auxiliares y las combinamos en una sola función auxiliar C_4 :

$$C(\varepsilon, \tau) = \left[C_4(\varepsilon, \tau) e^{-\tau} - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) \right]$$

Con esta elección, obtuvimos para Ec. 9.2.2.:

$$\frac{\partial C_4(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_4(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{e^\tau}{R} \left(1 + R\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2} \right) \quad \text{Ec. 9.2.7.}$$

Con las siguientes condiciones de contorno:

La condición inicial:

$$C_4(\varepsilon, \tau = 0) = \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right)$$

La fuente:

$$\frac{\partial C_4(\varepsilon = 0, \tau)}{\partial \varepsilon} = 0$$

Y el extremo:

$$\frac{\partial C_4(\varepsilon = R, \tau)}{\partial \varepsilon} = 0$$

Usamos el método presentado en (Pinchover y Rubinstein, 2005) como se define en la sección 9.2.1. Identificamos las siguientes cantidades:

$$m(\tau) = 1, r(\varepsilon) = 1, q(\varepsilon) = 0, p(\varepsilon) = 1, F(\varepsilon, \tau) = \frac{e^\tau}{R} \left(1 + R\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2} \right)$$

$$f(\varepsilon) = \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right), a = 0, b = R, \alpha = 0, \beta = 1, \gamma = 1, \delta = 0$$

Primero, resolvimos el problema homogéneo asociado:

$$\frac{\partial^2 v_j(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} + \lambda_j v_j(\varepsilon) = 0$$

$$\frac{\partial v_j(\varepsilon = 0)}{\partial \varepsilon} = 0$$

$$\frac{\partial v_j(\varepsilon = R)}{\partial \varepsilon} = 0$$

La solución a este problema es:

Si $\lambda_j \neq 0$:

$$v_j(\varepsilon) = \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)$$

Y:

$$\sqrt{\lambda_j} = \frac{j\pi}{R}$$

Y si $\lambda_j = 0$:

$$v_0(\varepsilon) = \sqrt{\frac{1}{R}}$$

Calculamos f_j :

Si $\lambda_j \neq 0$:

$$f_j = -\sqrt{\frac{2}{R}} \frac{1}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2}$$

Y si $\lambda_j = 0$:

$$f_j = \sqrt{\frac{1}{R}} \frac{R^2}{3}$$

Calculamos $F_j(t)$:

Si $\lambda_j \neq 0$:

$$F_j(\tau) = \frac{-e^\tau}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2} \sqrt{\frac{2}{R}}$$

Y si $\lambda_j = 0$:

$$F_j(\tau) = \sqrt{\frac{1}{R}} e^\tau \left(\frac{R^2}{3} + 1\right)$$

La solución a Ec. S.7. es:

$$C_4(\varepsilon, \tau) = \frac{R}{3} + \frac{1}{R}(e^\tau - 1) \left(\frac{R^2}{3} + 1 \right) + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2} e^{-\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 \tau} \left[1 + \int_0^\tau e^\tau e^{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 \tau} d\tau \right]$$

$$C_4(\varepsilon, \tau) = \frac{-1}{R} + \frac{1}{R} e^\tau \left(\frac{R^2}{3} + 1 \right) + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2} e^{-\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 \tau} \left[1 + \frac{e^{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} - 1}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right]$$

(Ec. S.8.)

Obtuvimos la función original:

$$C(\varepsilon, \tau) = \left[C_4(\varepsilon, \tau) - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) e^\tau \right] e^{-\tau}$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \left[C_4(\varepsilon, \tau) e^{-\tau} - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) \right]$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \frac{-1}{R} e^{-\tau} + \frac{1}{R} \left(\frac{R^2}{3} + 1 \right) + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2} \left[e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} + \frac{1 - e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right] - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right)$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \frac{-1}{R} e^{-\tau} + \left(\frac{R}{3} + \frac{1}{R} \right) + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2\right]} \left[\frac{1}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right] - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right)$$

Escribimos $\left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right)$ en la base de $\sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)$ y $\sqrt{\frac{1}{R}}$ como:

$$\left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) = \frac{R}{3} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{j\pi}{R}\right]^2}$$

Entonces escribimos $C(\varepsilon, \tau)$ como:

$$C(\varepsilon, \tau) = \frac{-1}{R} e^{-\tau} + \frac{1}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]}$$

Escribimos $\frac{e^\varepsilon}{1 - e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R} - 1}$ en la base de $\sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)$ y $\sqrt{\frac{1}{R}}$ como:

$$\frac{e^\varepsilon}{1 - e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R} - 1} = \frac{-1}{R} - \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\frac{j\pi}{R}\right]^2 + 1}$$

Finalmente, escribimos $C(\varepsilon, \tau)$ como:

$$C(\varepsilon, \tau) = -\left(\frac{e^\varepsilon}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right) - \frac{e^{-\tau}}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{-2 \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{R \left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} \quad \text{Ec. 9.2.9.}$$

Desde $C(\varepsilon, \tau)$, calculamos su estado estacionario tomando en la Ec. 9.2.9. el límite de τ hacia el infinito:

$$C_{ss}(\varepsilon) = -\left(\frac{e^\varepsilon}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right) \quad \text{Ec. 9.2.10.}$$

Este resultado previo también se puede obtener a partir de la ecuación diferencial original al resolver para C cuando $\frac{\partial C}{\partial \tau} = 0$.

**9.2.3. Solución analítica del modelo de reacción difusión 1D
asumiendo un dominio finito, una concentración fija y
condiciones de frontera de absorción en $\varepsilon = 0$ y $\varepsilon = R$,
respectivamente.**

De manera similar a las secciones 9.2.1. y 9.2.2., consideramos un tejido 1D de longitud L . Ahora asumimos que la concentración del morfógeno está fija en $x = 0$, Se difunde hacia la punta del tejido con una constante de difusión D y degrada linealmente a una tasa k . Suponemos que en la punta del tejido en $x = L$ hay un sumidero. En $t = 0$, no hay morfógeno en el tejido. Los cambios en la distribución del morfógeno C_1 en el tiempo y el espacio se expresan matemáticamente como la ecuación de reacción-difusión (Ec. 9.2.1.):

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_1}{\partial x^2} - kC_1$$

Con las siguientes condiciones:

No hay morfógeno en el tiempo inicial:

$$C_1(x, t = 0) = 0$$

Concentración fija de morfógeno en $x = 0$:

$$C_1(x = 0, t) = C_0$$

Donde C_0 es una constante.

Y sumidero en la punta del tejido $x = L$:

$$C_1(x = L, t) = 0$$

Seguimos el mismo procedimiento que se utilizó en las secciones 9.2.1. y S.2.

Reescribimos esta ecuación en términos de las variables adimensionales $\varepsilon = \frac{x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$

y $\tau = kt$. Definimos la cantidad R como $R = \frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y definimos la concentración como

$C(\varepsilon, \tau) = \frac{C_1(\varepsilon, \tau)}{C_0}$. Obtuvimos la siguiente ecuación (Ec. 9.2.2.):

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} - C$$

Con las siguientes condiciones:

No hay morfógeno en el tiempo inicial:

$$C(\varepsilon, \tau = 0) = 0$$

Morfógeno fijo en $\varepsilon = 0$:

$$C(\varepsilon = 0, \tau) = 1$$

Y un sumidero en la punta del tejido R :

$$C(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

Utilizamos una función auxiliar para resolver la Ec. 9.2.2. siguiendo la misma idea que en la sección 9.2.1. En esa sección, usamos tres funciones auxiliares y las combinamos en una sola función auxiliar C_4 :

$$C(\varepsilon, \tau) = \left[C_4(\varepsilon, \tau) e^{-\tau} + \left(1 - \frac{\varepsilon}{R} \right) \right]$$

Con esta elección, la Ec. S.2. es:

$$\frac{\partial C_4(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_4(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + e^{\tau} \left(1 - \frac{\varepsilon}{R} \right) \quad \text{Ec. 9.2.11.}$$

Con las siguientes condiciones de frontera:

La condición inicial:

$$C_4(\varepsilon, \tau = 0) = \left(\frac{\varepsilon}{R} - 1 \right)$$

La fuente:

$$C_4(\varepsilon = 0, \tau) = 0$$

Y la punta:

$$C_4(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

Utilizamos el método presentado en (Pinchover y Rubinstein, 2005) como se define en la sección 9.2.1. Identificamos las siguientes cantidades:

$$m(\tau) = 1, r(\varepsilon) = 1, q(\varepsilon) = 0, p(\varepsilon) = 1, F(\varepsilon, \tau) = e^{\tau} \left(\frac{\varepsilon}{R} - 1 \right)$$

$$f(\varepsilon) = \left(\frac{\varepsilon}{R} - 1 \right), a = 0, b = R, \alpha = 0, \beta = 1, \gamma = 1, \delta = 0$$

Primero, resolvimos el problema homogéneo asociado:

$$\frac{\partial^2 v_j(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} + \lambda_j v_j(\varepsilon) = 0$$

$$v_j(\varepsilon = 0) = 0$$

$$v_j(\varepsilon = R) = 0$$

La solución a este problema es:

$$v_j(\varepsilon) = \sqrt{\frac{2}{R}} \sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)$$

y:

$$\sqrt{\lambda_j} = \frac{j\pi}{R}$$

Calculamos f_j :

$$f_j = -\sqrt{\frac{2}{R}} \frac{1}{\frac{j\pi}{R}}$$

Calculamos $F_j(t)$:

$$F_j(\tau) = -\sqrt{\frac{2}{R}} \frac{e^\tau}{\frac{j\pi}{R}}$$

La solución a Ec. S.11. es:

$$C_4(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \sqrt{\frac{2}{R}} \sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right) e^{-\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 \tau} \left[-\sqrt{\frac{2}{R}} \frac{1}{\frac{j\pi}{R}} + \int_0^t -\sqrt{\frac{2}{R}} \frac{e^\tau}{\frac{j\pi}{R}} e^{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 \tau} d\tau \right]$$

$$C_4(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\frac{j\pi}{R}} e^{-\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 \tau} \left[1 + \frac{e^{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right] \tau} - 1}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right] \quad \text{Ec. 9.2.12.}$$

Obtuvimos la función original:

$$C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\frac{j\pi}{R}} \left[e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right] \tau} + \frac{1 - e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right] \tau}}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right] + \left(1 - \frac{\varepsilon}{R}\right)$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\frac{j\pi}{R}} \left[\frac{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right] \tau} + 1}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right] + \left(1 - \frac{\varepsilon}{R}\right)$$

Escribimos $\left(1 - \frac{\varepsilon}{R}\right)$ en la base de $\sqrt{\frac{2}{R}} \sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)$ como:

$$\left(1 - \frac{\varepsilon}{R}\right) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\frac{j\pi}{R}}$$

Escribimos $C(\varepsilon, \tau)$ como:

$$C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\frac{j\pi}{R}} \left[\frac{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} + 1}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} - 1 \right]$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\frac{j\pi}{R}} \left[\frac{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} - \left(\frac{j\pi}{R}\right)^2}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right]$$

Escribimos $\frac{e^{\varepsilon-R} - e^{-\varepsilon+R}}{e^{-R} - e^R}$ en la base de $\sqrt{\frac{2}{R}} \sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)$ como:

$$\frac{e^{\varepsilon-R} - e^{-\varepsilon+R}}{e^{-R} - e^R} = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right) \frac{j\pi}{R}}{\left[\frac{j\pi}{R}\right]^2 + 1}$$

Finalmente, escribimos $C(\varepsilon, \tau)$ como:

$$C(\varepsilon, \tau) = \frac{e^{\varepsilon-R} - e^{-\varepsilon+R}}{e^{-R} - e^R} + \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \sin\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right) \left[\frac{\frac{j\pi}{R} e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}}{\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]} \right] \quad \text{Ec. 9.2.13.}$$

Calculamos su estado estacionario a partir de $C(\varepsilon, \tau)$ tomando, en la ecuación S.13, el límite de τ hacia lo infinito:

$$C_{ss}(\varepsilon) = \frac{e^{\varepsilon-R} - e^{-\varepsilon+R}}{e^{-R} - e^R} \quad \text{Ec. 9.2.14.}$$

Este resultado anterior también se puede obtener a partir de la ecuación diferencial original al resolver para C cuando $\frac{\partial C}{\partial \tau} = 0$.

9.2.4 Solución analítica del modelo de dominio finito en geometrías simples 2D.

Consideramos un tejido 2D de longitud L_1 y L_2 donde un morfógeno es producido en $x = 0$, se difunde hacia la punta del tejido con una constante de difusión D y degrada linealmente a una tasa k . Supusimos que en la punta del tejido en $x = L_1$ la punta del tejido hay un sumidero y no hay flujos en $y = 0$ y $y = L_2$. En $t = 0$ el tejido tiene $C(x, y, t = 0) = f(x, y)$ y resolvimos para el caso particular en el que $f(x, y) = 0$. Los cambios en la distribución del morfógeno C en el tiempo y el espacio se expresan matemáticamente como la ecuación de reacción-difusión:

Tenemos:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + D \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} - kC$$

Con las siguientes condiciones:

En el tiempo inicial:

$$C(x, y, t = 0) = f(x, y)$$

Y:

$$\frac{dC}{dx}(x = 0, y, t) = -Q$$

$$C(x = L_1, y, t) = 0$$

$$\frac{dC}{dy}(x, y = 0, t) = 0$$

$$\frac{dC}{dy}(x, y = L_2, t) = 0$$

En unidades normalizadas ($\tau = kt$, $\varepsilon = \frac{x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y $\rho = \frac{y}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$):

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 C}{\partial \rho^2} - C$$

Con las siguientes condiciones:

Al tiempo inicial:

$$C(\varepsilon, \rho, \tau = 0) = f(x, y)$$

Y:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \rho, \tau) = -1$$

$$C(\varepsilon = R_1, \rho, \tau) = 0$$

$$\frac{dC}{d\rho}(\varepsilon, \rho = 0, \tau) = 0$$

$$\frac{dC}{d\rho}(\varepsilon, \rho = R_2, \tau) = 0$$

Podemos escribir C como:

$$C(\varepsilon, \rho, \tau) = C_1(\varepsilon, \rho, \tau) + C_{ss}(\varepsilon, \rho)$$

Y $C_{ss}(\varepsilon, \rho)$ es la solución en estado estacionario.

$$0 = \frac{\partial^2 C_{ss}(\varepsilon, \rho)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 C_{ss}(\varepsilon, \rho)}{\partial \rho^2} - C_{ss}(\varepsilon, \rho)$$

Y:

$$\frac{dC_{ss}}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \rho) = -1$$

$$C_{ss}(\varepsilon = R_1, \rho) = 0$$

$$\frac{dC_{ss}}{d\rho}(\varepsilon, \rho = 0) = 0$$

$$\frac{dC_{ss}}{d\rho}(\varepsilon, \rho = R_2) = 0$$

La ecuación original ahora es:

$$\frac{\partial C_1}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_1}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 C_1}{\partial \rho^2} - C_1$$

Con las siguientes condiciones:

En el tiempo inicial:

$$C(\varepsilon, \rho, \tau = 0) = f(\varepsilon, \rho)$$

$$C_1((\varepsilon, \rho, \tau = 0)) = f(\varepsilon, \rho) - C_{ss}(\varepsilon, \rho)$$

Y:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \rho, \tau) = -1$$

$$C(\varepsilon = R_1, \rho, \tau) = 0$$

$$\frac{dC}{d\rho}(\varepsilon, \rho = 0, \tau) = 0$$

$$\frac{dC}{d\rho}(\varepsilon, \rho = R_2, \tau) = 0$$

Va hacia:

$$\frac{dC_1}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \rho, \tau) = 0$$

$$C_1(\varepsilon = R_1, \rho, \tau) = 0$$

$$\frac{dC_1}{d\rho}(\varepsilon, \rho = 0, \tau) = 0$$

$$\frac{dC_1}{d\rho}(\varepsilon, \rho = R_2, \tau) = 0$$

Podemos elegir:

$$C_1 = X(\varepsilon)Y(\rho)T(\tau)$$

Por lo tanto:

$$\frac{1}{T(\tau)} \frac{\partial T(\tau)}{\partial \tau} - \frac{1}{X(\varepsilon)} \frac{\partial^2 X(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} - \frac{1}{Y(\rho)} \frac{\partial^2 Y(\rho)}{\partial \rho^2} = -1$$

Preguntamos:

$$\frac{1}{T(\tau)} \frac{\partial T(\tau)}{\partial \tau} = j_t$$

$$\frac{1}{X(\varepsilon)} \frac{\partial^2 X(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} = -j_x$$

$$\frac{1}{Y(\rho)} \frac{\partial^2 Y(\rho)}{\partial \rho^2} = -j_y$$

Y:

$$j_t + j_x + j_y = -1$$

Entonces:

$$T(\tau) = a_t e^{j_t \tau}$$

$$X(\varepsilon) = a_{x1} \cos(\sqrt{j_x} \varepsilon) + a_{x2} \sin(\sqrt{j_x} \varepsilon)$$

$$Y(\rho) = a_{y1} \cos(\sqrt{j_y} \rho) + a_{y2} \sin(\sqrt{j_y} \rho)$$

Las condiciones de contorno nos dan:

$$X(\varepsilon) = \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R_1} \varepsilon\right)$$

Y para $j_y \neq 0$:

$$Y(\rho) = \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right)$$

Y para $j_y = 0$:

$$Y(\rho) = \sqrt{\frac{1}{R_2}}$$

La solución es:

$$C_1(\varepsilon, \rho, \tau) = \sum_{j,n} \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) a_{jn} e^{\left(-1 - \left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R_1}\right)^2 - \left(\frac{n\pi}{R_2}\right)^2\right) \tau}$$

En $\tau=0$:

$$C_1(\varepsilon, \rho, \tau = 0) = \sum_{j,n} \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) a_{jn}$$

Y sabíamos:

$$C_1(\varepsilon, \rho, \tau = 0) = f(\varepsilon, \rho) - C_{ss}(\varepsilon, \rho)$$

Así, a_{jn} puede obtenerse al preguntar:

$$a_{jn} = \iint [f(\varepsilon, \rho) - C_{ss}(\varepsilon, \rho)] \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) d\varepsilon d\rho$$

La solución general es:

$$C_1(\varepsilon, \rho, \tau) = \sum_{j,n} \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) e^{\left(-1 - \left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R_1}\right)^2 - \left(\frac{n\pi}{R_2}\right)^2\right)\tau} \iint [f(\varepsilon, \rho) - C_{ss}(\varepsilon, \rho)] \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) d\varepsilon d\rho$$

Cabe destacar que hay un abuso de notación en el resultado anterior. Para $n=0$, el prefactor es $\sqrt{\frac{1}{R_2}}$ en lugar de $\sqrt{\frac{2}{R_2}}$.

Finalmente, necesitamos calcular el estado estacionario:

$$0 = \frac{\partial^2 C_{ss}(\varepsilon, \rho)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 C_{ss}(\varepsilon, \rho)}{\partial \rho^2} - C_{ss}(\varepsilon, \rho)$$

Y:

$$\frac{dC_{ss}(\varepsilon = 0, \rho)}{d\varepsilon} = -1$$

$$C_{ss}(\varepsilon = R_1, \rho) = 0$$

$$\frac{dC_{ss}(\varepsilon, \rho = 0)}{d\rho} = 0$$

$$\frac{dC_{ss}(\varepsilon, \rho = R_2)}{d\rho} = 0$$

Proponemos:

$$C_{ss}(\varepsilon, \rho) = \alpha(\varepsilon)$$

Así, obtenemos:

$$0 = \frac{\partial^2 \alpha(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} - \alpha(\varepsilon)$$

Y:

$$\frac{d\alpha(\varepsilon = 0)}{d\varepsilon} = -1$$

$$\alpha(\varepsilon = R_1) = 0$$

Elegimos:

$$\alpha(\varepsilon) = ae^\varepsilon + be^{-\varepsilon}$$

$$\frac{d\alpha(\varepsilon = 0)}{d\varepsilon} = a - b = -1$$

$$a = -1 + b$$

$$\alpha(\varepsilon = R_1) = (-1 + b)e^{R_1} + be^{-R_1} = 0$$

$$b(e^{R_1} + e^{-R_1}) = e^{R_1}$$

$$b = \frac{e^{R_1}}{e^{R_1} + e^{-R_1}}$$

$$a = -1 + \frac{e^{R_1}}{e^{R_1} + e^{-R_1}} = \frac{-e^{-R_1}}{e^{R_1} + e^{-R_1}}$$

Entonces:

$$\alpha(\varepsilon) = \frac{-e^{-R_1}}{e^{R_1} + e^{-R_1}} e^\varepsilon + \frac{e^{R_1}}{e^{R_1} + e^{-R_1}} e^{-\varepsilon}$$

$$\alpha(\varepsilon) = \frac{-e^{\varepsilon - R_1} + e^{R_1 - \varepsilon}}{e^{R_1} + e^{-R_1}} = \frac{\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)}$$

Entonces:

$$C_{ss}(\varepsilon, \rho) = \frac{\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)}$$

Así, la solución original es:

$$C(\varepsilon, \rho, \tau) = C_1(\varepsilon, \rho, \tau) + C_{ss}(\varepsilon, \rho)$$

Con:

$$C_1(\varepsilon, \rho, \tau) = \sum_{j,n} \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) e^{\left(-1 - \left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1}\right)^2 - \left(\frac{n\pi}{R_2}\right)^2\right)\tau}$$

$$\iint \left[f(\varepsilon, \rho) - \frac{\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)} \right] \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) d\varepsilon d\rho$$

Para $f(\varepsilon, \rho) = 0$:

$$\iint \left[\frac{-\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)} \right] \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) d\varepsilon d\rho$$

Como $f(\varepsilon, \rho) = \frac{\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)}$ no depende de ρ , la integral en ρ es 0 excepto por $n=0$, por lo tanto:

$$\begin{aligned} \iint \left[\frac{-\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)} \right] \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) d\varepsilon d\rho = \\ \sqrt{R_2} \int_0^{R_1} \left[\frac{-\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)} \right] \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) d\varepsilon = \\ -\sqrt{\frac{2}{R_1}} \frac{\sqrt{R_2}}{\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1}\right)^2 + 1} \end{aligned}$$

Por lo tanto:

$$C_1(\varepsilon, \rho, \tau) = \sum_{j,n} -\sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{1}{R_2}} e^{-\left(1 + \left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1}\right)^2\right)\tau} \sqrt{\frac{2}{R_1}} \frac{\sqrt{R_2}}{\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1}\right)^2 + 1}$$

Así, obtenemos:

$$C(\varepsilon, \rho, \tau) = \frac{\sinh(R_1 - \varepsilon)}{\cosh(R_1)} + \sum_{j,n} \frac{-2}{R_1} \frac{\cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1} \varepsilon\right)}{\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1}\right)^2 + 1} e^{-\left(1 + \left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R_1}\right)^2\right)\tau} \quad \text{Ec. 9.2.15.}$$

A continuación, consideramos un tejido 2D de longitud L_1 y L_2 donde un morfógeno es producido en $x = 0$ y $y = 0$, difunde hacia la punta del tejido con una constante de difusión D y se degrada linealmente a una tasa k . Supusimos que en la punta del tejido en $x = L_1$ y $y = L_2$ no hay flujos saliendo del tejido. En $t = 0$ el tejido tiene $C(x, y, t = 0) = f(x, y)$ y resolvimos para el caso particular en el que $f(x, y) = 0$. Los cambios en la distribución del morfógeno C_1 en el tiempo y el espacio se expresan matemáticamente como la ecuación de reacción-difusión:

Tenemos:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + D \frac{\partial^2 C}{\partial y^2} - kC$$

Con las siguientes condiciones:

En el tiempo inicial:

$$C(x, y, t = 0) = f(x, y)$$

Y:

$$\frac{dC}{dx}(x = 0, y, t) = -Q$$

$$\frac{dC}{dx}(x = L_1, y, t) = 0$$

$$\frac{dC}{dy}(x, y = 0, t) = -Q$$

$$\frac{dC}{dy}(x, y = L_2, t) = 0$$

Seguimos el mismo procedimiento que en el ejemplo anterior y obtuvimos (en unidades normalizadas ε, ρ y τ):

$$C_1(\varepsilon, \rho, \tau) = \sum_{j,n} \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{j\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) a_{jn} e^{\left(-1 - \left(\frac{j\pi}{R_1}\right)^2 - \left(\frac{n\pi}{R_2}\right)^2\right)\tau} \iint [f(\varepsilon, \rho) - C_{ss}(\varepsilon, \rho)] \sqrt{\frac{2}{R_1}} \cos\left(\frac{j\pi}{R_1} \varepsilon\right) \sqrt{\frac{2}{R_2}} \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right) d\varepsilon d\rho$$

Aquí hay un abuso de notación. Para $j=0$ el prefactor es $\sqrt{\frac{1}{R_1}}$ en lugar de $\sqrt{\frac{2}{R_1}}$ y para $n=0$ el prefactor es $\sqrt{\frac{1}{R_2}}$ en lugar de $\sqrt{\frac{2}{R_2}}$.

Para el estado estacionario obtuvimos:

$$C_{ss}(\varepsilon, \rho) = \frac{\cosh(R_1 - \varepsilon)}{\sinh(R_1)} + \frac{\cosh(R_2 - \rho)}{\sinh(R_2)}$$

Y para $f(\varepsilon, \rho) = 0$ calculamos las integrales y finalmente obtenemos:

$$C(\varepsilon, \rho, \tau) = \frac{\cosh(R_1 - \varepsilon)}{\sinh(R_1)} - \frac{e^{-\tau}}{R_1} - \sum_{j=1} \frac{2 \cos\left(\frac{j\pi}{R_1} \varepsilon\right)}{R_1 \left(\frac{j\pi}{R_1}\right)^2 + 1} e^{\left(-1 - \left(\frac{j\pi}{R_1}\right)^2\right)\tau} + \frac{\cosh(R_2 - \rho)}{\sinh(R_2)} - \frac{e^{-\tau}}{R_2} - \sum_{n=1} \frac{2 \cos\left(\frac{n\pi}{R_2} \rho\right)}{R_2 \left(\frac{n\pi}{R_2}\right)^2 + 1} e^{\left(-1 - \left(\frac{n\pi}{R_2}\right)^2\right)\tau} \quad \text{Ec. 9.2.16.}$$

9.2.5. La comparación entre las soluciones analíticas y numéricas del modelo de Reacción-Difusión 1D asumiendo un dominio finito.

Probamos las soluciones analíticas en 1D para el modelo finito con un sumidero y sin flujo en $\varepsilon = 0$ mediante una integración numérica de la ecuación 9.2.6 para diferentes valores de R (ver Figura 9.2.1.). Utilizamos un esquema de diferencias finitas mediante el método de Euler con un paso espacial fijo de $\Delta x = \frac{R}{100}$ y un paso de tiempo de $\Delta t = \frac{\Delta x^2}{3}$, que garantiza la estabilidad numérica del método. Además, probamos numéricamente las soluciones analíticas en 2D (ver Figura 9.2.2.).

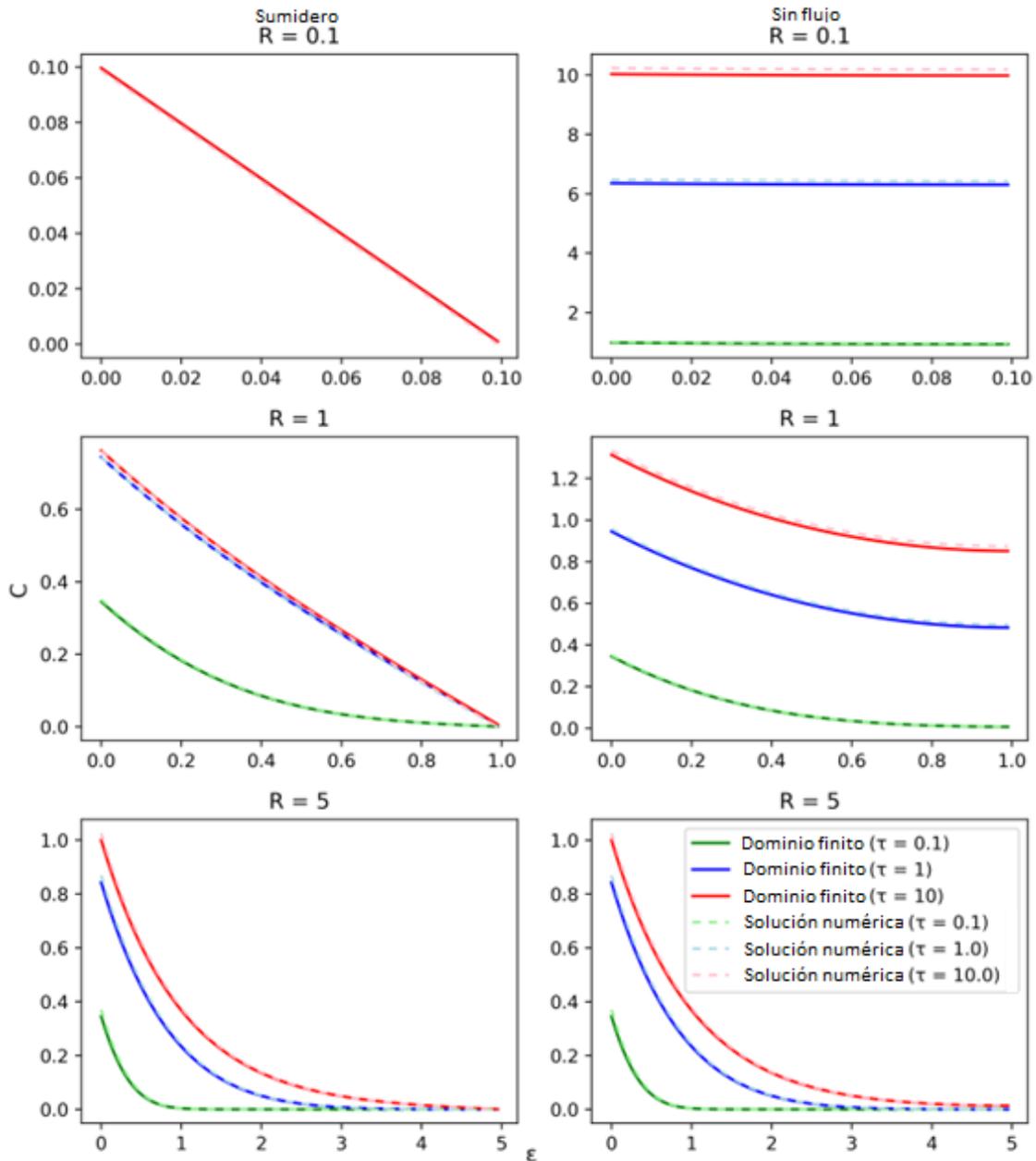


Figura 9.2.1. Comparación entre la solución numérica y analítica para la concentración en función de la posición espacial en 1D para diferentes tiempos. A), C) y E) mostrar la distribución del morfógeno para el modelo con un sumidero en $\varepsilon = R$ para R igual a 0.1, 1 y 5, respectivamente. B), D) y F) muestran la distribución del morfógeno para el modelo sin flujo en

$\varepsilon = R$ para R igual a 0.1, 1 y 5, respectivamente. Las líneas rectas en estos paneles son las soluciones analíticas en el tiempo igual a 0.1, 1 y 10. Las líneas punteadas son la solución numérica en esos tiempos.

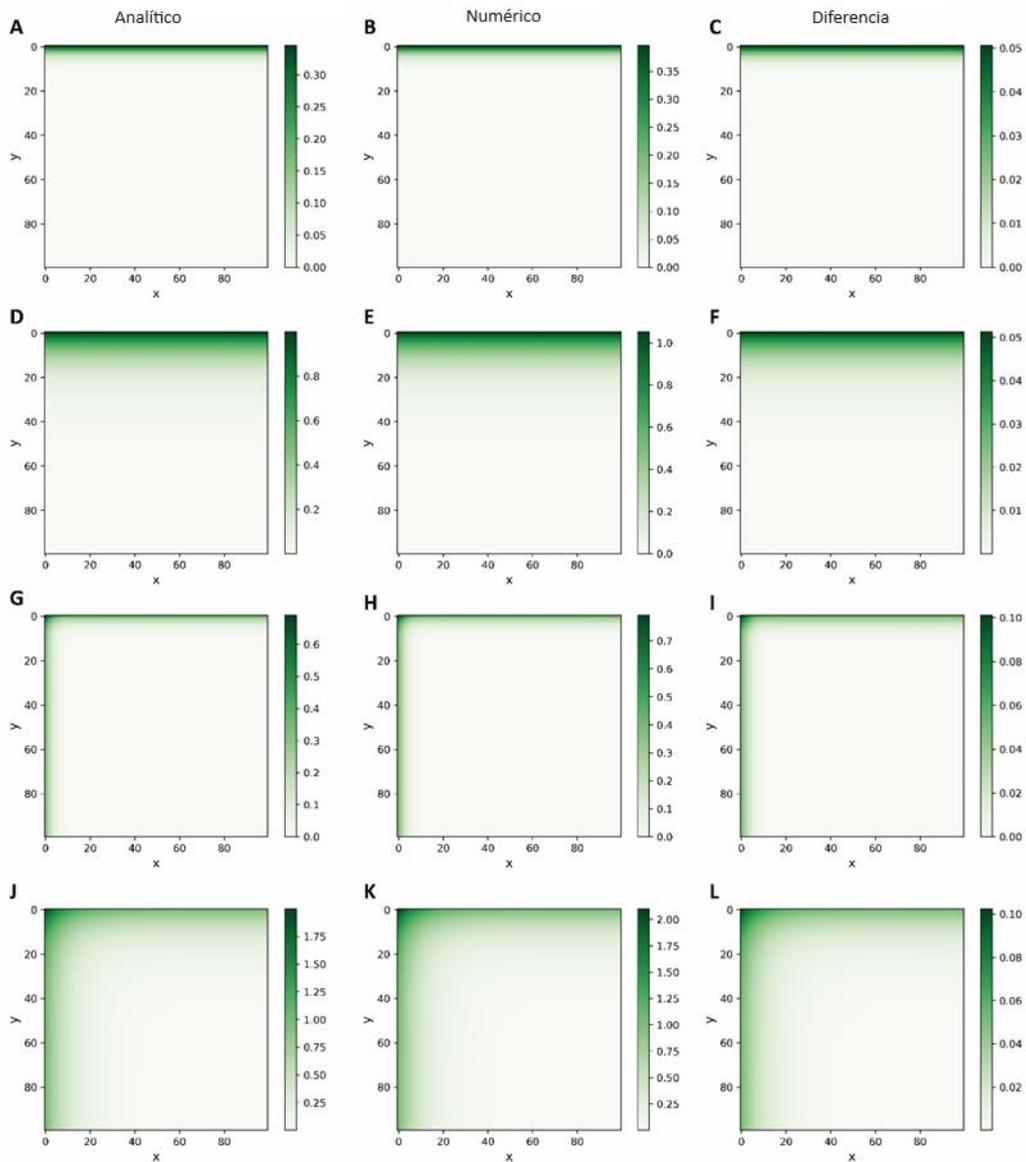


Figura 9.2.2. Comparación entre la solución numérica y analítica para la concentración en función de la posición espacial en 2D para diferentes tiempos. A) a F) muestran la distribución del morfógeno para el modelo 2D con una fuente, un sumidero y dos no flujos. A) y D) son la solución analítica en el tiempo 0.1 y 10, respectivamente. B) y E) muestran la solución numérica en el tiempo 0.1 y 10, respectivamente. C) y F) muestran el valor absoluto de la diferencia entre las soluciones analíticas y numéricas en el tiempo 0.1 y 10, respectivamente. G) a L) muestran la distribución del morfógeno para el modelo 2D con dos fuentes y dos no flujos. G) y J) muestran la solución analítica en el tiempo 0.1 y 10, respectivamente. H) y K) muestran la solución numérica en el tiempo 0.1 y 10, respectivamente. I) y L) muestran el valor absoluto de la diferencia entre las soluciones analíticas y numéricas en el tiempo 0.1 y 10, respectivamente.

9.2.6. Estado estacionario del modelo de Reacción-Difusión 1D asumiendo un dominio finito.

Ya calculamos en la Ec. 9.2.6, que la concentración del morfógeno depende de ε y τ para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$ como sigue:

$$C(\varepsilon, \tau) = \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1 + e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1 + e^{2R}} \right) + \sum_{j=0}^{\infty} \frac{-2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right) e^{-\left[\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}}{\left(\frac{(j + \frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1}$$

A partir de $C(\varepsilon, \tau)$ calculamos su estado estacionario tomando en la Ec. 9.2.6 el límite de τ hacia el infinito:

$$C_{ss}(\varepsilon) = \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1 + e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1 + e^{2R}} \right) \quad \text{Ec. 9.2.16.}$$

Siguiendo el mismo procedimiento para la condición de contorno sin flujo en $\varepsilon = R$ se obtiene:

$$C_{ss}(\varepsilon) = - \left(\frac{e^{\varepsilon}}{1 - e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R} - 1} \right)$$

Calculamos la cantidad total de morfógeno en el tejido $N_{ss}(\varepsilon)$:

$$N_{ss}(\varepsilon) = \int_0^R C_{ss}^{finite}(\varepsilon) d\varepsilon$$

Para lograrlo, es útil integrar directamente desde la ecuación diferencial:

$$\frac{d^2C}{d\varepsilon^2} - C = 0$$

$$\int_0^R \frac{d^2C_{ss}^{finite}(\varepsilon)}{d\varepsilon^2} d\varepsilon - \int_0^R C_{ss}^{finite}(\varepsilon) d\varepsilon = 0$$

$$\frac{dC_{ss}^{finite}(\varepsilon = R)}{d\varepsilon} - \frac{dC_{ss}^{finite}(\varepsilon = 0)}{d\varepsilon} - N_{ss}(\varepsilon) = 0$$

$$N_{ss}(\varepsilon) = 1 \quad (\text{Ec. S.17.})$$

Para continuar nuestro análisis, expandimos usando series de Laurent $C_{ss}^{finite}(\varepsilon)$ para R en $R=0$:

$$C_{ss}^{finite}(\varepsilon) = \frac{\cosh(\varepsilon)}{R} - \sinh(\varepsilon) + \frac{1}{3}R\cosh(\varepsilon) + O(R^3)$$

Si buscamos valores pequeños de R , podemos ver que también tenemos valores pequeños de ε . En este caso:

$$\sinh(\varepsilon) \sim 0$$

$$\cosh(\varepsilon) \sim 1$$

Por lo tanto, obtenemos:

$$C_{ss}^{finite}(\varepsilon) \sim \frac{1}{R} \quad \text{Ec. 9.2.18.}$$

9.2.7 Cálculo de ε_{10} .

Hemos definido ε_{10} como la posición en el espacio en la que la concentración es el 10 % de la concentración en la fuente. Calculamos este valor analíticamente para el estado estacionario. Para un dominio infinito, el estado estacionario es:

$$C_{ss}(\varepsilon) = e^{-\varepsilon} \quad \text{Ec. 9.2.19.}$$

Encontramos ε_{10} resolviendo la siguiente ecuación:

$$C_{ss}(\varepsilon_{10}) = \frac{C_{ss}(0)}{10}$$

$$e^{-\varepsilon_{10}} = \frac{1}{10}$$

$$\varepsilon_{10} = \ln(10) \quad \text{Ec. 9.2.20.}$$

Donde $\ln(x)$ es el logaritmo natural de x .

También calculamos ε_{10} analíticamente para el estado estacionario en un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$. Primero, reescribimos el estado estacionario (Ec. 9.2.16.) como:

$$C_{ss}(\varepsilon) = \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1 + e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1 + e^{2R}} \right) = \frac{\sinh(R - \varepsilon)}{\cosh(R)}$$

Donde $\sinh(\varepsilon)$ y $\cosh(\varepsilon)$ son el seno y el coseno hiperbólicos de ε , respectivamente.

Encontramos ε_{10} al resolver la siguiente ecuación:

$$C_{ss}(\varepsilon_{10}) = \frac{C_{ss}(0)}{10}$$

$$\frac{\sinh(R - \varepsilon_{10})}{\cosh(R)} = \frac{1}{10} \frac{\sinh(R)}{\cosh(R)}$$

$$\varepsilon_{10} = R - \operatorname{arcsinh} \left(\frac{\sinh(R)}{10} \right) \quad \text{Ec. 9.2.21.}$$

En el límite de R tendiendo a infinito en la ecuación anterior, obtuvimos:

$$\lim_{R \rightarrow \infty} \varepsilon_{10} = \lim_{R \rightarrow \infty} \left[R - \operatorname{arcsinh} \left(\frac{\sinh(R)}{10} \right) \right] = \ln(10) \quad 2.3$$

Esto está en acuerdo con la solución obtenida anteriormente.

Seguimos el mismo procedimiento con el modelo asumiendo un dominio finito sin flujo en $\varepsilon = R$ y obtuvimos:

$$\varepsilon_{10} = R - \operatorname{arccosh} \left(\frac{\cosh(R)}{10} \right) \quad \text{Ec. 9.2.22.}$$

9.2.8. Cálculo de R_c .

A partir de ε_{10} en el estado estacionario del modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$ como función de R (Ecuación 9.2.21.), identificamos dos regímenes: mientras que, para valores grandes de R , ε_{10} alcanza una meseta, para valores pequeños de R , ε_{10} tiene un comportamiento lineal. Para caracterizar la transición entre ambos regímenes, realizamos una expansión en serie de Taylor de ε_{10} y buscamos arbitrariamente el valor $R = R_c$ en el cual el segundo término no nulo de la serie fuera aproximadamente el 20 % del primer término lineal. Primero, calculamos la serie de Taylor de ε_{10} alrededor de $R = 0$:

$$\varepsilon_{10}(R) = \varepsilon_{10}(0) + \frac{d\varepsilon_{10}(0)}{dR} R + \frac{d^2\varepsilon_{10}(0)}{dR^2} \frac{R^2}{2} + \frac{d^3\varepsilon_{10}(0)}{dR^3} \frac{R^3}{6} + O(R^4)$$

Donde los coeficientes son:

$$\varepsilon_{10}(0) = 0, \frac{d\varepsilon_{10}(0)}{dR} = 0.9, \frac{d^2\varepsilon_{10}(0)}{dR^2} = 0, \frac{d^3\varepsilon_{10}(0)}{dR^3} = -0.099$$

Buscamos un valor de R_{crit} tal que $\frac{d\varepsilon_{10}(0)}{dR} R_{crit}$ no sea mucho mayor en módulo que el primer término no nulo de orden superior a R . Definimos arbitrariamente “no mucho mayor” en este contexto como un término siendo una quinta parte del otro. Esto significa:

$$\frac{1}{5} \left| \frac{d\varepsilon_{10}(0)}{dR} \right| R_c = \left| \frac{d^3\varepsilon_{10}(0)}{dR^3} \right| \frac{R_{crit} R_c^3}{6}$$

$$R_c = \sqrt{\frac{6 \left| \frac{d\varepsilon_{10}(0)}{dR} \right|}{5 \left| \frac{d^3\varepsilon_{10}(0)}{dR^3} \right|}} = \sqrt{\frac{6 \cdot 0.9}{5 \cdot 0.099}} \approx 3.3 \quad \text{Ec. 9.2.23.}$$

Con el modelo finito con una condición de frontera sin flujo en $\varepsilon = R$, seguimos el mismo procedimiento, pero expandimos la Ecuación 9.2.22 alrededor de $R = 3$:

$$\varepsilon_{10}(R) = \varepsilon_{10}(3) + \frac{d\varepsilon_{10}(3)}{dR} (R - 3) + \frac{d^2\varepsilon_{10}(3)}{dR^2} \frac{(R - 3)^2}{2} + O((R - 3)^3)$$

Donde los coeficientes son:

$$\varepsilon_{10}(0) = 2.88, \frac{d\varepsilon_{10}(0)}{dR} = -7.6, \frac{d^2\varepsilon_{10}(0)}{dR^2} = 629.9$$

Entonces:

$$\frac{1}{5} \left| \varepsilon_{10}(3) + \frac{d\varepsilon_{10}(3)}{dR} (R_c - 3) \right| = \left| \frac{d^2\varepsilon_{10}(3)}{dR^2} \right| \frac{(R_c - 3)^2}{2}$$

$$R_c \approx 3.04$$

9.2.8. Cálculo de $\mu_\tau(\varepsilon)$ y $\sigma_\tau(\varepsilon)$.

Berezhkovskii et al. han desarrollado un método para estimar el tiempo medio que tarda un morfógeno en alcanzar su estado estacionario [Berezhkovskii et al., 2010].

Definieron la función de relajación local $\alpha(x, t)$ como:

$$\alpha(x, t) = 1 - \frac{C(x, t)}{C_{ss}(x)}$$

Donde $C(x, t)$ es la concentración de morfógeno en la posición x en el tiempo t y $C_{ss}(x)$ es la concentración del morfógeno en su estado estacionario en la posición x . Es importante señalar que, en el artículo mencionado anteriormente, $\alpha(x, t)$ se define como $R(x, t)$.

A partir de la función de relajación, obtuvieron la densidad de probabilidad:

$$\varphi(t \vee x) = \frac{-\partial \alpha(x, t)}{\partial t}$$

A partir de la densidad de probabilidad, obtuvieron el tiempo medio que tarda en establecerse un gradiente de morfógeno como:

$$\tau(x) = \int_0^{\infty} t \varphi(t \vee x) dt = \int_0^{\infty} \alpha(x, t) dt$$

Utilizamos esta definición para estimar cuánto tiempo tarda en establecerse un gradiente de morfógeno en un tejido finito con un sumidero en $\varepsilon = R$ mediante la solución analítica presentada en este trabajo (Ecuación 9.2.6.).

$$\alpha(\varepsilon, t) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1} \frac{e^{-\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau}}{\left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right)}$$

Con el modelo suponiendo que no hay flujo en $\varepsilon = R$:

$$\alpha(\varepsilon, t) = \frac{1}{-\left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right)} \left[\frac{e^{-\tau}}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1} e^{-\left[\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right]\tau} \right]$$

El tiempo medio del modelo suponiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$ es:

$$\mu_{\tau}(\varepsilon) = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right)^2 + 1\right]^2} \frac{1}{\left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right)} \quad \text{Ec. 9.2.24.}$$

Y con el modelo suponiendo un dominio finito sin flujo en $\varepsilon = R$:

$$\mu_{\tau}(\varepsilon) = \frac{1}{-\left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right)} \left[\frac{1}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right)^2} \right] \quad \text{Ec. 9.2.25.}$$

Es importante saber cuán buena es la estimación obtenida previamente. Para lograrlo, calculamos la desviación estándar:

$$\sigma_{\tau}(\varepsilon) = \sqrt{E[\varepsilon^2] - \mu_{\tau}(\varepsilon)^2}$$

Donde $E[\tau^2]$ esta definida como:

$$E[\tau^2] = \int_0^{\infty} t^2 \varphi(t \vee x) dt = 2t \int \alpha(x, t) dt \Big|_{t=0}^{t=\infty} - 2 \int_0^{\infty} \left(\int \alpha(x, t) dt \right) dt$$

Para el modelo suponiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$, obtuvimos:

$$E[\varepsilon\tau^2] = \sum_{j=0}^{\infty} \frac{4}{R} \frac{\cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left[\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}\right)^2 + 1\right]^3} \frac{1}{\left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}}\right)}$$

Y para el modelo suponiendo un dominio finito sin flujo en $\varepsilon = R$, obtuvimos:

$$E[\tau^2] = \frac{2}{-\left(\frac{e^{\varepsilon}}{1-e^{2R}} + \frac{e^{-\varepsilon}}{e^{-2R}-1}\right)} \left[\frac{1}{R} + \sum_{j=1}^{\infty} \frac{2}{R} \frac{\cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)}{\left(\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2 + 1\right)^3} \right]$$

Y para un tejido infinito obtuvimos:

$$\sigma(\varepsilon) = \frac{\sqrt{\varepsilon+2}}{2} \quad \text{Ec. 9.2.26.}$$

9.2.9. Dominios finitos versus infinitos en el modelo de reacción-difusión utilizado en la determinación de parámetros de difusión basada en FRAP.

Consideramos un tejido unidimensional de longitud L en el que un morfógeno se produce en $x = 0$, se difunde hacia el extremo del tejido con una constante de difusión D y se degrada linealmente a una tasa k . Supusimos que en el extremo del tejido en $x = L$ hay un sumidero o una condición de no flujo. En $t = 0$, el tejido está en estado estacionario excepto entre $x = d$ y $x = d + h$, donde está descolorido y tiene una concentración b veces la concentración en estado estacionario. Los cambios en la distribución del morfógeno C_1 en el tiempo y el espacio se expresan matemáticamente mediante la ecuación de reacción-difusión:

$$\frac{\partial C_1}{\partial t} = D \frac{\partial^2 C_1}{\partial x^2} - kC_1 \quad \text{Ec. 9.2.27.}$$

Con las siguientes condiciones:

Morfógeno en el tiempo inicial:

Tiempo inicial para x entre d y $d+h$:

$$C_1(x, t = 0) = bC_{ss}(x)$$

Tiempo inicial para x en otros lugares:

$$C_1(x, t = 0) = C_{ss}(x)$$

O:

$$C_1(x, t = 0) = C_{ss}(x) + (b - 1)C_{ss}(x)\theta(x - d)\theta(-x + d)$$

Producción de morfógeno en $x = 0$:

$$\frac{dC_1}{dx}(x = 0, t) = \frac{-q}{D}$$

Donde q es la tasa de producción del morfógeno en $x = 0$.

Y un sumidero en el extremo del tejido $x = L$:

$$C_1(x = L, t) = 0$$

O una condición de frontera sin flujo en $x = L$:

$$\frac{dC_1}{dx}(x = L, t) = 0$$

Reescribimos la Ecuación 9.2.27 en términos de las variables adimensionales

$\varepsilon = \frac{x}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y $\tau = kt$. Definimos las cantidades R y S como $R = \frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}$ y $S = \frac{q}{\sqrt{Dk}}$, y

reescribimos la concentración como $C(\varepsilon, \tau) = \frac{C_1(\varepsilon, \tau)}{S}$:

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} - C$$

Con las siguientes condiciones. Sin morfógeno en el tiempo inicial:

$$C_1(\varepsilon, t = 0) = C_{ss}(\varepsilon) + (b - 1)C_{ss}(\varepsilon)\theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\theta\left(-\varepsilon + \frac{d + h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)$$

Producción de morfógeno en $\tau = 0$:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = 0, \tau) = -1$$

Y un sumidero en el extremo del tejido $\varepsilon = R$:

$$C(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

O sin flujo en $\varepsilon = R$:

$$\frac{dC}{d\varepsilon}(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

Calculamos $C_{ss}(x)$ para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$C_{ss}(x) = \frac{\sinh(R - \varepsilon)}{\cosh(R)}$$

Para el modelo asumiendo un dominio finito con no flujo en $\varepsilon = R$:

$$C_{ss}(x) = \frac{\cosh(R - \varepsilon)}{\sinh(R)}$$

Para resolver esta ecuación, redefinimos C en términos de una función auxiliar C_2 definida como:

$$C = C_2 e^{-\tau}$$

Calculamos las derivadas de C_2 en términos de las derivadas de C . La segunda derivada espacial es:

$$\frac{\partial^2 C}{\partial \varepsilon^2} = e^{-\tau} \frac{\partial^2 C_2}{\partial \varepsilon^2}$$

Y la derivada temporal es:

$$\frac{\partial C}{\partial \tau} = e^{-\tau} \frac{\partial C_2}{\partial \tau} - C_2 e^{-\tau}$$

Esto lleva a la siguiente ecuación:

$$\frac{\partial C_2}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_2}{\partial \varepsilon^2}$$

Con las siguientes condiciones de frontera:

$$C_2(\varepsilon, \tau = 0) = C_{ss}(\varepsilon) + (b - 1)C_{ss}(\varepsilon)\theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)$$

$$\frac{\partial C_2(\varepsilon = 0, \tau)}{\partial \varepsilon} = -e^\tau$$

$$C_2(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

O sin flujo:

$$\frac{dC_2}{d\varepsilon}(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

Redefinimos C_2 usando las funciones auxiliares $C_3(\varepsilon, \tau)$, $f(\tau)$ y $g(\varepsilon)$. La definición explícita de las funciones auxiliares $g(\varepsilon)$ y $f(\tau)$ se dará más adelante.

$$C_2(\varepsilon, \tau) = C_3(\varepsilon, \tau) + g(\varepsilon)f(\tau)$$

La derivada con respecto a τ es:

$$\frac{\partial C_2(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} + g(\varepsilon)\frac{\partial f(\tau)}{\partial \tau}$$

La derivada con respecto a ε es:

$$\frac{\partial^2 C_2(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} = \frac{\partial^2 C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 g(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2}f(\tau)$$

Reescribimos la ecuación de reacción-difusión en C_3 como:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{\partial^2 g(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2}f(\tau) - g(\varepsilon)\frac{\partial f(\tau)}{\partial \tau}$$

La condición inicial:

$$C_3(\varepsilon, \tau = 0) = C_{ss}(\varepsilon) + (b - 1)C_{ss}(\varepsilon)\theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - g(\varepsilon)f(\tau = 0)$$

Con las siguientes condiciones de frontera:

La fuente:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon = 0, \tau)}{\partial \varepsilon} = -e^\tau - \frac{\partial g(\varepsilon = 0)}{\partial \varepsilon} f(\tau)$$

Y el sumidero:

$$C_3(\varepsilon = R, \tau) = -g(\varepsilon = R)f(\tau)$$

O sin flujo:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon = R, \tau)}{\partial \varepsilon} = \frac{-\partial g(\varepsilon = R)}{\partial \varepsilon} f(\tau)$$

Es deseable que la condición inicial sea diferente de 0 y que las condiciones de frontera sean iguales a 0. Definimos $f(\tau)$ y $g(\varepsilon)$ como:

Para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$f(\tau) = -e^\tau, g(\varepsilon) = \varepsilon - R$$

Para el modelo asumiendo un dominio finito con no flujo en $\varepsilon = R$:

$$f(\tau) = -e^\tau, g(\varepsilon) = \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right)$$

Con esta elección:

Para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + (\varepsilon - R)$$

Para el modelo asumiendo un dominio finito con no flujo en $\varepsilon = R$:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \tau} = \frac{\partial^2 C_3(\varepsilon, \tau)}{\partial \varepsilon^2} + \frac{e^\tau}{R} + \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) e^\tau$$

Con las siguientes condiciones de frontera:

La condición inicial:

Para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$C_3(\varepsilon, \tau = 0) = C_{ss}(\varepsilon) + (b - 1)C_{ss}(\varepsilon)\theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + (\varepsilon - R)$$

Para el modelo asumiendo un dominio finito con no flujo en $\varepsilon = R$:

$$C_3(\varepsilon, \tau = 0) = C_{ss}(\varepsilon) + (b - 1)C_{ss}(\varepsilon)\theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right)$$

La fuente:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon = 0, \tau)}{\partial \varepsilon} = 0$$

Y el sumidero:

$$C_3(\varepsilon = R, \tau) = 0$$

O sin flujo:

La fuente:

$$\frac{\partial C_3(\varepsilon = R, \tau)}{\partial \varepsilon} = 0$$

La solución para sistemas de este tipo se puede encontrar en (Pinchover y Rubinstein, 2004). En esta referencia, los autores definieron un método para encontrar la solución para sistemas con el siguiente aspecto:

$$r(x)m(t)\frac{\partial u(x,t)}{\partial t} - \left[\frac{\partial \left(p(x)\frac{\partial u(x,t)}{\partial x} \right)}{\partial x} + q(x)u(x,t) \right] = F(x,t)$$

$$\alpha u(x=a,t) + \beta \frac{\partial u(x=a,t)}{\partial x} = 0$$

$$\gamma u(x=b,t) + \delta \frac{\partial u(x=b,t)}{\partial x} = 0$$

$$u(x,t=0) = f(x)$$

Donde $u(x,t)$, $r(x)$, $m(t)$, $p(x)$, $q(x)$, $F(x,t)$ y $f(x)$ son funciones y a , b , α , β , γ y δ son constantes.

Definieron las siguientes cantidades:

$$f_j = \int_a^b f(x) v_j(x) r(x) dx$$

$$F_j(t) = \int_a^b F(x,t) v_j(x) dx$$

Donde $v_j(x)$ y λ_j se obtienen de la solución del siguiente problema:

$$\frac{\partial \left(p(x)\frac{\partial v_j(x)}{\partial x} \right)}{\partial x} + q(x)v_j(x) + \lambda_j v_j(x) = 0$$

Con las siguientes condiciones:

$$\alpha v(x=a,t) + \beta \frac{\partial v(x=a,t)}{\partial x} = 0$$

$$\gamma v(x = b, t) + \delta \frac{\partial v(x = b, t)}{\partial x} = 0$$

La solución de este problema es:

$$u(x, t) = \sum_{j=0}^{\infty} f_j v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} + \sum_{j=0}^{\infty} v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} \int_0^t \frac{F_j(s)}{m(s)} e^{\lambda_j \int_0^s \frac{1}{m(w)} dw} ds$$

En nuestro problema, $u(\varepsilon, \tau) = C_3(\varepsilon, \tau)$ e identificamos las siguientes

cantidades:

Para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$m(\tau) = 1, r(\varepsilon) = 1, q(\varepsilon) = 0, p(\varepsilon) = 1, F(\varepsilon, \tau) = (\varepsilon - R)e^\tau$$

$$f(\varepsilon) = C_{ss}(\varepsilon) + (b - 1)C_{ss}(\varepsilon)\theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + (\varepsilon - R), a = 0, b = R,$$

$$\alpha = 0, \beta = 1, \gamma = 1, \delta = 0$$

Para el modelo asumiendo un dominio finito con no flujo en $\varepsilon = R$:

$$m(\tau) = 1, r(\varepsilon) = 1, q(\varepsilon) = 0, p(\varepsilon) = 1, F(\varepsilon, \tau) = \frac{e^\tau}{R} + \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right)e^\tau$$

$$f(\varepsilon) = C_{ss}(\varepsilon) + (b - 1)C_{ss}(\varepsilon)\theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right), a = 0, b = R,$$

$$\alpha = 0, \beta = 1, \gamma = 0, \delta = 1$$

Primero resolvimos el problema homogéneo asociado:

$$\frac{\partial^2 v_j(\varepsilon)}{\partial \varepsilon^2} + \lambda_j v_j(\varepsilon) = 0$$

$$\frac{\partial v_j(\varepsilon = 0)}{\partial \varepsilon} = 0$$

$$v_j(\varepsilon = R) = 0$$

Aquí λ_j es el autovalor asociado a $v_j(\varepsilon)$, no debe confundirse con la longitud característica del morfógeno λ .

La solución a este problema es:

Para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$v_j(\varepsilon) = \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right)$$

Y:

$$\sqrt{\lambda_j} = \frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}$$

Para el modelo asumiendo un dominio finito con no flujo en $\varepsilon = R$:

$$v_j(\varepsilon) = \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right)$$

y:

$$\sqrt{\lambda_j} = \frac{j\pi}{R}$$

O si $j=0$:

$$v_j(\varepsilon) = \sqrt{\frac{1}{R}}$$

Es importante notar que, dado que $v_j(\varepsilon)$ son los elementos de una base del espacio de funciones, necesitan ser normalizados. Esto significa que

$$\int_0^R v_j(\varepsilon)^2 d\varepsilon = 1.$$

Calculamos f_j :

Para el modelo asumiendo un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$f_j = \int_0^R \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right) \left[\frac{\sinh(R - \varepsilon)}{\cosh(R)} \right. \\ \left. + (b - 1) \frac{\sinh(R - \varepsilon)}{\cosh(R)} \theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + (\varepsilon - R) \right] d\varepsilon$$

$$f_j = \int_0^R \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right) \frac{\sinh(R - \varepsilon)}{\cosh(R)} d\varepsilon \\ + (b - 1) \int_{\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}^{\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi\varepsilon}{R}\right) b \frac{\sinh(R - \varepsilon)}{\cosh(R)} d\varepsilon - \frac{\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}\right]^2}$$

$$f_j = \frac{\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}\right]^2 + 1} - \frac{\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{\left(j + \frac{1}{2}\right)\pi}{R}\right]^2}$$

$$\begin{aligned}
& + (b-1) \frac{\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2 + 1} \left(\frac{\frac{-(j+\frac{1}{2})\pi}{R} \sin\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi d}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \sinh\left(R - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\cosh(R)} + \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi d}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \cosh\left(R - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\cosh(R)} - \right. \\
& \left. \frac{\frac{-(j+\frac{1}{2})\pi}{R} \sin\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi(d+h)}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \sinh\left(R - \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\cosh(R)} - \frac{\cos\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi(d+h)}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \cosh\left(R - \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\cosh(R)} \right) \quad \text{Ec. 9.2.28.}
\end{aligned}$$

Para el modelo asumiendo un dominio finito con no flujo en $\varepsilon = R$:

Si $\lambda_j \neq 0$:

$$\begin{aligned}
f_j &= \int_0^R \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right) \left[\frac{\cosh(R-\varepsilon)}{\sinh(R)} \right. \\
& \left. + (b-1) \frac{\cosh(R-\varepsilon)}{\sinh(R)} \theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right) \right] d\varepsilon
\end{aligned}$$

$$f_j = \int_0^R \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right) \frac{\cosh(R-\varepsilon)}{\sinh(R)} d\varepsilon +$$

$$\int_{\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}^{\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} (b-1) \sqrt{\frac{2}{R}} \cos\left(\frac{j\pi\varepsilon}{R}\right) \frac{\cosh(R-\varepsilon)}{\sinh(R)} d\varepsilon$$

$$- \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{1}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2}$$

$$f_j = \frac{\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{j\pi}{R}\right]^2 + 1} - \frac{\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{j\pi}{R}\right]^2}$$

$$(b-1) \frac{\sqrt{\frac{2}{R}}}{\left[\frac{j\pi}{R}\right]^2 + 1} \left(\frac{\cos\left(\frac{j\pi d}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \sinh\left(R - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\sinh(R)} - \frac{\frac{j\pi}{R} \sin\left(\frac{j\pi d}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \cosh\left(R - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\sinh(R)} - \right.$$

$$\left. \frac{\cos\left(\frac{j\pi d+h}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \sinh\left(R - \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\sinh(R)} + \frac{\frac{j\pi}{R} \sin\left(\frac{j\pi d+h}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \cosh\left(R - \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\sinh(R)} \right)$$

Ec. 9.2.29.

Y si $\lambda_j = 0$:

$$f_j = \int_0^R \sqrt{\frac{1}{R}} \left[\frac{\cosh(R - \varepsilon)}{\sinh(R)} + (b-1) \frac{\cosh(R - \varepsilon)}{\sinh(R)} \theta\left(\varepsilon - \frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) \theta\left(-\varepsilon + \frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right) \right] d\varepsilon$$

$$f_j = \sqrt{\frac{1}{R}} \int_0^R \frac{\cosh(R - \varepsilon)}{\sinh(R)} d\varepsilon +$$

$$\int_{\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}^{\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} (b-1) \sqrt{\frac{1}{R}} \frac{\cosh(R - \varepsilon)}{\sinh(R)} d\varepsilon$$

$$+ \sqrt{\frac{1}{R}} \frac{R^2}{3}$$

$$f_j = \sqrt{\frac{1}{R}} + \sqrt{\frac{1}{R}} \frac{R^2}{3}$$

$$+(b-1)\sqrt{\frac{1}{R}}\left(\frac{\cosh(R)}{\sinh(R)}\left(\sinh\left(\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)-\sinh\left(\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\right)+\cosh\left(\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)-\cosh\left(\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\right)$$

Ec. 9.2.30.

También calculamos $F_j(\tau)$:

Para el modelo que asume un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$F_j(\tau) = \frac{-\sqrt{\frac{2}{R}}e^\tau}{\left[\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}\right]^2}$$

Para el modelo que asume un dominio finito sin flujo en $\varepsilon = R$:

Si $\lambda_j \neq 0$:

$$F_j(\tau) = \frac{-e^\tau}{\left(\frac{j\pi}{R}\right)^2}\sqrt{\frac{2}{R}}$$

Y si $\lambda_j = 0$:

$$F_j(\tau) = \sqrt{\frac{1}{R}}e^\tau\left(\frac{R^2}{3}+1\right)$$

Obtuvimos la función original:

Para el modelo que asume un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$C(\varepsilon, \tau) = [C_3(\varepsilon, \tau) - (\varepsilon - R)e^\tau]e^{-\tau}$$

$$C(\varepsilon, \tau) = [C_3(\varepsilon, \tau)e^{-\tau} - (\varepsilon - R)]$$

Para el modelo que asume un dominio finito sin flujo en $\varepsilon = R$:

$$C(\varepsilon, \tau) = \left[C_3(\varepsilon, \tau) - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right)e^\tau\right]e^{-\tau}$$

$$C(\varepsilon, \tau) = \left[C_3(\varepsilon, \tau)e^{-\tau} - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R}\right)\right]$$

Calculamos la recuperación de la concentración promedio $f(t)$ en la región blanqueada. Para lograrlo, utilizamos las coordenadas originales x y t en lugar de las normalizadas ε y τ :

$$f(t) = \frac{1}{h} \int_d^{d+h} C(x, t) dx$$

Para el modelo que asume un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$:

$$f(t) = \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} \int_{\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}^{\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} C(\varepsilon, t) d\varepsilon$$

$$f(t) = \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} \int_{\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}^{\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \left[\sum_{j=0}^{\infty} f_j v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} + \sum_{j=0}^{\infty} v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} \int_0^{kt} \frac{F_j(s)}{m(s)} e^{\lambda_j \int_0^s \frac{1}{m(w)} dw} ds \right] e^{-kt} - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) d\varepsilon$$

$$= \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} \left[\sum_{j=0}^{\infty} f_j \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi d+h}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi d}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}} e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} + \sum_{j=0}^{\infty} \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi d+h}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{(j+\frac{1}{2})\pi d}{R\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\frac{(j+\frac{1}{2})\pi}{R}} e^{-\lambda_j \int_0^t \frac{1}{m(s)} ds} \int_0^{kt} \frac{F_j(s)}{m(s)} e^{\lambda_j \int_0^s \frac{1}{m(w)} dw} ds e^{-kt} - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) \right]$$

Por lo tanto, la expresión de la curva de recuperación ($f(t)$) para el modelo que asume una condición de frontera de sumidero en $\varepsilon = R$ es la siguiente:

$$\begin{aligned}
f(t) = \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} & \left[\sum_{j=0}^{\infty} f_j \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi\frac{d+h}{L}\right) - \sin\left(\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi\frac{d}{L}\right)}{\frac{\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi}{\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}} e^{-\left(\left(\frac{\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi}{\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)+1\right)kt} + \right. \\
& \sum_{j=0}^{\infty} \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi\frac{d+h}{L}\right) - \sin\left(\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi\frac{d}{L}\right)}{\frac{\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi}{\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}} e^{-\left(\left(\frac{\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi}{\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)+1\right)kt} \int_0^{kt} F_j(s) e^{\left(\frac{\left(j+\frac{1}{2}\right)\pi}{\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)s} ds - \\
& \left. \frac{-3\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\left(\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + 3\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\left(\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + \left(\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^3 - \left(\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^3}{6\frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \right]
\end{aligned}$$

Ec. 9.2.31.

Con f_j definida en Ec. 9.2.28.

Para el modelo que asume un dominio finito sin flujo en $\varepsilon = R$:

$$f(t) = \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} \int_{\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}^{\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} C(\varepsilon, t) d\varepsilon$$

$$\begin{aligned}
f(t) = \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} \int_{\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}}^{\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} & \left[\sum_{j=0}^{\infty} f_j v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^{kt} \frac{1}{m(s)} ds} + \sum_{j=0}^{\infty} v_j(x) e^{-\lambda_j \int_0^{kt} \frac{1}{m(s)} ds} \int_0^{kt} \frac{F_j(s)}{m(s)} e^{\lambda_j \int_0^s \frac{1}{m(w)} dw} ds e^{-kt} \right. \\
& \left. - \left(\varepsilon - \frac{\varepsilon^2}{2R} \right) \right] d\varepsilon
\end{aligned}$$

$f(t)$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} \left[e^{-kt} f_0 e^{-\lambda_0 \int_0^{kt} \frac{1}{m(s)} ds} \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} \sqrt{\frac{1}{R}} + \sqrt{\frac{1}{R}} \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} e^{-\lambda_0 \int_0^{kt} \frac{1}{m(s)} ds} \int_0^{kt} \frac{F_0(s)}{m(s)} e^{\lambda_j \int_0^s \frac{1}{m(w)} dw} ds e^{-kt} \right. \\
 &+ \sum_{j=1}^{\infty} f_j \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\frac{j\pi d + h}{R} \frac{1}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{j\pi d}{R} \frac{1}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\frac{j\pi}{R}} e^{-\lambda_j \int_0^{kt} \frac{1}{m(s)} ds} e^{-kt} \\
 &+ \sum_{j=1}^{\infty} \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\frac{j\pi d + h}{R} \frac{1}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{j\pi d}{R} \frac{1}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\frac{j\pi}{R}} e^{-\lambda_j \int_0^{kt} \frac{1}{m(s)} ds} \int_0^{kt} \frac{F_j(s)}{m(s)} e^{\lambda_j \int_0^s \frac{1}{m(w)} dw} ds e^{-kt} \\
 &\left. - \left(\frac{\left(\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2}{2} - \frac{\left(\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2}{2} - R \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} \right) \right]
 \end{aligned}$$

$f(t)$

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} \left[e^{-kt} f_0 \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} \sqrt{\frac{1}{R}} + \sqrt{\frac{1}{R}} \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} e^{-kt} \int_0^{kt} F_0(s) ds \right. \\
 &+ \sum_{j=1}^{\infty} f_j \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\frac{j\pi d+h}{R \sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{j\pi d}{R \sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \left(\left(\frac{j\pi}{L \sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + 1\right) kt}{\frac{j\pi}{R}} e^{-\left(\left(\frac{j\pi}{L \sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + 1\right) kt} \\
 &+ \sum_{j=1}^{\infty} \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\frac{j\pi d+h}{R \sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{j\pi d}{R \sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \left(\left(\frac{j\pi}{L \sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + 1\right) kt}{\frac{j\pi}{R}} e^{-\left(\left(\frac{j\pi}{L \sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + 1\right) kt} \int_0^{kt} F_j(s) e^{-\left(\frac{j\pi}{L \sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 s} ds \\
 &\left. - \left(\frac{\left(\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2}{2} - \frac{\left(\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2}{2} - R \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} \right) \right]
 \end{aligned}$$

Por lo tanto, la expresión de la curva de recuperación ($f(t)$) para el modelo que asume una condición de frontera de no flujo en $\varepsilon = R$ es la siguiente:

$$\left[\begin{aligned}
f(t) &= \frac{\sqrt{\frac{D}{k}}}{h} e^{-kt} f_0 \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} \sqrt{\frac{1}{R} + \frac{1}{R} \left(\frac{R^2}{3} + 1 \right)} \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}} (1 - e^{-kt}) + \\
&+ \sum_{j=1}^{\infty} f_j \sqrt{\frac{2}{R}} \frac{\sin\left(\frac{j\pi d+h}{R \sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{j\pi d}{R \sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\frac{j\pi}{R}} e^{-\left(\left(\frac{j\pi}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + 1\right) kt} + \\
&+ \sum_{j=1}^{\infty} \frac{\frac{2}{\sqrt{\frac{D}{k}}} \frac{\sin\left(\frac{j\pi d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \sin\left(\frac{j\pi d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)}{\frac{j\pi}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \frac{1 - e^{-\left(\left(\frac{j\pi}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2 + 1\right) kt}}{\left(\frac{j\pi}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^4} - \left(\frac{\left(\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2}{2} - \frac{\left(\frac{d}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)^2}{2} - \frac{L}{\sqrt{\frac{D}{k}}} \frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)
\end{aligned} \right] \quad \text{Ec. 9.2.32.}$$

Con f_0 definida en la Ec. 9.2.30 y f_j definida en Ec. 9.2.29.

Finalmente, la expresión de la curva de recuperación ($f(t)$) predicha por el modelo de dominio infinito como calculado por Kicheva y colaboradores (Kicheva et al., 2007) es la siguiente:

$$\begin{aligned}
f(t) &= \frac{q\sqrt{\frac{D}{k}}}{2h} \left\{ e^{-\frac{d+h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \left[e^{\frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \sqrt{\frac{D}{k}} (b + (b-1)\varphi + 1) - 2\sqrt{\frac{D}{k}} ((b-1)\varphi + 1) \right] + (b-1) e^{-\frac{Dt+(d+h)\sqrt{\frac{D}{k}}}{\frac{D}{k}}} \sqrt{\frac{D}{k}} (\varphi - 1) \right. \\
&\left. \left[e^{\frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \operatorname{erf}\left(\frac{d}{\sqrt{Dt}}\right) + e^{\frac{Dt+h\sqrt{\frac{D}{k}}}{\frac{D}{k}}} - e^{\frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \operatorname{erf}\left(\frac{h}{2\sqrt{Dt}}\right) + \operatorname{erf}\left(\frac{h}{2\sqrt{Dt}}\right) + \operatorname{erf}\left(\frac{d+h}{\sqrt{Dt}}\right) - \right. \right. \\
&\left. \left. e^{\frac{h}{\sqrt{\frac{D}{k}}}} \operatorname{erf}\left(\frac{2d+h}{2\sqrt{Dt}}\right) + e^{\frac{Dt}{\frac{D}{k}}} \operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{Dt}}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + e^{\frac{Dt+h\sqrt{\frac{D}{k}}}{\frac{D}{k}}} \operatorname{erf}\left(\frac{\sqrt{Dt}}{\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + e^{\frac{Dt}{\frac{D}{k}}} \operatorname{erf}\left(\frac{h\sqrt{\frac{D}{k}}-2Dt}{2\sqrt{Dt}\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - \right. \right.
\end{aligned}$$

$$e^{\frac{Dt+h\sqrt{\frac{D}{k}}}{\frac{D}{k}}} \operatorname{erf}\left(\frac{h\sqrt{\frac{D}{k}}+2Dt}{2\sqrt{Dt}\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + e^{\frac{Dt+h\sqrt{\frac{D}{k}}+2d\sqrt{\frac{D}{k}}}{\frac{D}{k}}}\left(-\operatorname{erf}\left(\frac{d\sqrt{\frac{D}{k}}+Dt}{\sqrt{Dt}\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) - e^{\frac{h}{\sqrt{k}}}\operatorname{erf}\left(\frac{(d+h)\sqrt{\frac{D}{k}}+Dt}{\sqrt{Dt}\sqrt{\frac{D}{k}}}\right) + \left(1 + e^{\frac{h}{\sqrt{k}}}\operatorname{erf}\left(\frac{(2d+h)\sqrt{\frac{D}{k}}+2Dt}{2\sqrt{Dt}\sqrt{\frac{D}{k}}}\right)\right) - \operatorname{erf}\left(\frac{2d+h}{2\sqrt{Dt}}\right)\right) \quad \text{Ec. 9.2.33.}$$

Donde $\operatorname{erf}(x)$ es la función error de x y φ es la fracción inmóvil. En este trabajo hemos obtenido la solución para un tejido finito cuando $\varphi = 0$ (no hay partículas inmóviles).

9.2.10. Error de asumir un dominio infinito en lugar de uno finito en los cálculos del estado estacionario.

Definimos el error de utilizar el modelo infinito en el estado estacionario (E) como:

$$E(\varepsilon) = \left| C_{ss\text{infinito}}(\varepsilon) - C_{ss\text{finito}}(\varepsilon) \right| = \left| e^{-\varepsilon} - \left(\frac{e^{-\varepsilon}}{1+e^{-2R}} - \frac{e^{\varepsilon}}{1+e^{2R}} \right) \right| \quad \text{Ec. 9.2.34.}$$

Hemos definido el error acumulado de utilizar el modelo infinito en el estado estacionario (E_{acc}) como la integral sobre el tejido del error de utilizar el modelo infinito en estado estacionario (Ec. 9.2.35) dividida por la longitud del tejido. Para el modelo que asume un dominio finito con un sumidero en $\varepsilon = R$ obtuvimos:

$$E_{acc}(R) = \frac{1}{R} \int_0^R E(\varepsilon) d\varepsilon = \frac{(1-\tanh(R)) * \sinh(R)}{R} \quad \text{Ec. 9.2.35.}$$

Donde $\tanh(R)$ es la función tangente hiperbólica de R y $\sinh(R)$ es el seno hiperbólico de R .

Para el modelo que asume un dominio finito con una condición de no flujo en $\varepsilon = R$ obtuvimos:

$$E(\varepsilon) = \left| C_{ss\text{infinito}}(\varepsilon) - C_{ss\text{finito}}(\varepsilon) \right| = \left| e^{-\varepsilon} - \frac{\cosh(R-\varepsilon)}{\sinh(R)} \right| \quad \text{Ec. 9.2.22.}$$

Y:

$$E_{acc}(R) = \frac{1}{R} \int_0^R E(\varepsilon) d\varepsilon = \frac{\sinh(R) - \cosh(R)}{R} \quad \text{Ec. 9.2.23.}$$

Donde $\cosh(R)$ es la función coseno hiperbólico de R y $\sinh(R)$ es el seno hiperbólico de R .

9.2.11. Comparación entre la eficiencia computacional de las soluciones numéricas y analíticas.

Modelos computacionales multiescala que implican gradientes de morfógenos, codificados en un esquema de difusión-reacción (Swat et al., 2012; Mirams et al., 2013; Starrauß et al., 2014), combina diferentes escalas acopladas, lo que puede resultar en largos tiempos de simulación. Típicamente, este esquema se implementa numéricamente. Por lo tanto, nos preguntamos si nuestra nueva solución analítica podría mejorar la eficiencia en comparación con un enfoque numérico. Para lograr ese objetivo, comparamos el tiempo computacional necesario para obtener la concentración de morfógeno utilizando la solución analítica con respecto a la solución numérica.

Utilizamos dominios de longitudes $R = 0.1$, $R = 1$ y $R = 10$, y calculamos la concentración de morfógeno en cada posición del tejido en diferentes momentos $\tau = 0.1$, $\tau = 1$ y $\tau = 10$. Discretizamos el dominio en 100 partes iguales de longitud $\frac{R}{100}$.

Para la solución analítica, primero determinamos el número óptimo de términos en la suma. Para ello, solicitamos que:

$$\frac{\sum_{j=0}^{jmax+1} a_j(\varepsilon, \tau) - \sum_{j=0}^{jmax} a_j(\varepsilon, \tau)}{\sum_{j=0}^{jmax} a_j(\varepsilon, \tau)} < \varphi \quad \text{Ec. 9.2.36.}$$

Con $a_j(\varepsilon, \tau)$ obtenida de $C(\varepsilon, \tau) = \sum_{j=0}^{\infty} a_j(\varepsilon, \tau)$. De esta manera, añadir más términos por encima de $jmax$ tiene poco impacto en la solución. Elegimos φ igual a 0.00001.

Para la solución numérica, realizamos una simulación de diferencias finitas.

Elegimos la longitud del paso de tiempo como $\Delta t = \frac{\Delta x^2}{3} = \frac{\left(\frac{R}{100}\right)^2}{3}$ para evitar oscilaciones en la solución (Crank, 1975).

Nuestro cálculo de la solución analítica es más rápido que la implementación numérica (Tabla 9.2.1). Observamos que, para valores pequeños de R , el tiempo necesario para ejecutar las simulaciones numéricas es mayor. El paso de tiempo Δt debe cumplir con la condición de que $\Delta t < \frac{\Delta x^2}{2}$. Por lo tanto, para valores pequeños de R , Δx es pequeño y, en consecuencia Δt es aún más pequeño. Esto conduce a un aumento en el número de pasos de tiempo necesarios para realizar la simulación.

	Analytical solution			Numerical Solution		
	$R = 0.1$	$R = 1$	$R = 10$	$R = 0.1$	$R = 1$	$R = 10$
$\tau = 0.1$	0.002 sec	0.003 sec	0.002 sec	81.454 sec	0.831 sec	0.010 sec
$\tau = 1$	0.004 sec	0.005 sec	0.005 sec	815.204 sec	8.355 sec	0.084 sec
$\tau = 10$	0.007 sec	0.008 sec	0.007 sec	8150.534 sec	81.688 sec	0.822 sec

Tabla 9.2.1. Comparación entre el tiempo computacional necesario para realizar la simulación utilizando la solución numérica y analítica para la concentración en función del espacio para diferentes tiempos con diferentes longitudes de dominio (R). Las simulaciones se realizaron en Python en un Intel Core i7-7700k con 16 GB de RAM y se pueden encontrar en ([Ceccarelli et al., 2021](#)).

9.3. Referencias suplementarias.

Berezhkovskii AM, Sample C, Shvartsman SY. How long does it take to establish a morphogen gradient? *Biophys J*. 2010 Oct 20;99(8):L59-61. DOI: 10.1016/j.bpj.2010.07.045. Erratum in: *Biophys J*. 2010 Nov 17;99(10):3505.

Ceccarelli A, Borges A, Chara O. Supplementary notebooks for Size matters: An analytical study of the role of tissue size in spatiotemporal distribution of morphogens unveils a transition between different Reaction-Diffusion regimes (Version v1.4); 2021 November 13. Zenodo. <http://doi.org/10.5281/zenodo.4421327>.

Crank J. *The Mathematics of Diffusion*. 2nd Edition. Oxford; 1975.

Kicheva A, Pantazis P, Bollenbach T, Kalaidzidis Y, Bittig T, Jülicher F, et al. Kinetics of morphogen gradient formation. *Science*. 2007 Jan 26;315(5811):521-5. doi: 10.1126/science.1135774.

Mirams GR, Arthurs CJ, Bernabeu MO, Bordas R, Cooper J, Corrias A, et al. Chaste: An Open Source C++ Library for Computational Physiology and Biology. *PLoS Comput Biol*. 2013;9(3): e1002970. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1002970

Pinchover Y. and Rubinstein J. *An introduction to partial differential equations*. Cambridge University Press; 2005.

Swat MH, Thomas GL, Belmonte JM, Shirinifard A, Hmeljak D, Glazier JA. Multi-scale modeling of tissues using CompuCell3D. *Methods Cell Biol*. 2012;110:325-66. DOI: 10.1016/B978-0-12-388403-9.00013-8.