



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

POSGRADO EN CIENCIAS APLICADAS

Grafos en el árbol vascular arterial del riñón

Tesis que presenta

Aurora Espinoza Valdez

Para obtener el grado de

Doctor Ciencias Aplicadas

En la opción de

Control y Sistemas Dinámicos

Director de la Tesis:

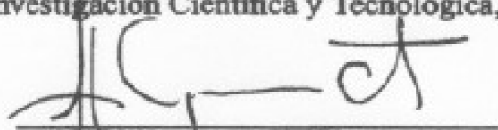
Dr. Alejandro Ricardo Femat Flores

San Luis Potosí, S.L.P., Septiembre de 2010

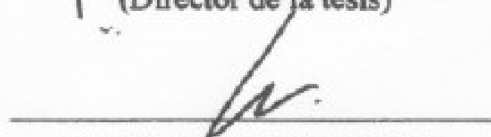


Constancia de aprobación de la tesis


La tesis Grafos en el árbol vascular arterial del riñón, presentada para obtener el Grado de Doctor en Ciencias Aplicadas en la opción Control y Sistemas Dinámicos fue elaborada por **Aurora Espinoza Valdez** y aprobada el **3 de Septiembre de 2010** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Matemáticas Aplicadas del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.



Dr. Alejandro Ricardo Femat Flores
(Director de la tesis)



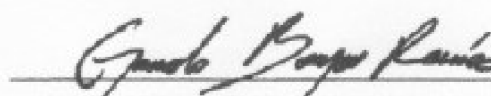
Dr. Edgardo Ugalde Saldaña
(Sinodal)



Dr. Alvaro Alvarez Parrilla
(Sinodal)



Dr. Hugo Cabrera Ibarra
(Sinodal)



Dr. Juan Gonzalo Barajas Ramirez
(Sinodal)



Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en la División de Matemáticas Aplicadas del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la dirección del Dr. Alejandro Ricardo Femat Flores.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (204215), apoyos financieros de los proyectos con No. de referencia 55951, y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C.



Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Acta de Examen de Grado

El Secretario Académico del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., certifica que en el Acta 010 del Libro Primero de Actas de Exámenes de Grado del Programa de Doctorado en Ciencias Aplicadas en la opción de Control y Sistemas Dinámicos está asentado lo siguiente:

En la ciudad de San Luis Potosí a los 3 días del mes de septiembre del año 2010, se reunió a las 12:00 horas en las instalaciones del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., el Jurado integrado por:

Dr. Edgardo Ugalde Saldaña	Presidente	UASLP
Dr. Alejandro Ricardo Femat Flores	Secretario	IPICYT
Dr. Alvaro Alvarez Parrilla	Sinodal externo	UABC
Dr. Hugo Cabrera Ibarra	Sinodal	IPICYT
Dr. Juan Gonzalo Barajas Ramirez	Sinodal	IPICYT

a fin de efectuar el examen, que para obtener el Grado de:

**DOCTORA EN CIENCIAS APLICADAS
EN LA OPCIÓN DE CONTROL Y SISTEMAS DINÁMICOS**

sustentó la C.

Aurora Espinoza Valdez

sobre la Tesis intitulada:

Grafos en el árbol vascular arterial del riñón

que se desarrolló bajo la dirección de

Dr. Alejandro Ricardo Femat Flores

El Jurado, después de deliberar, determinó

APROBARLA

Dándose por terminado el acto a las 13:45 horas, procediendo a la firma del Acta los integrantes del Jurado. Dando fe el Secretario Académico del Instituto.

A petición de la interesada y para los fines que a la misma convengan, se extiende el presente documento en la ciudad de San Luis Potosí, S.L.P., México, a los 3 días del mes de septiembre de 2010.

Mtra. Ivonne Lizette Cuevas Vélez
Jefa del Departamento de Asuntos Escolares



A mis padres...

Agradecimientos

Agradezco al Concejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca No. 204215 para realizar mis estudios de doctorado, así como la beca de formación de doctores No. 55951.

Agradezco a la Comisión de Becas del IPICYT por apoyos para asistir a congresos.

Agradezco a la Sociedad Matemática Mexicana-Fundación Sofia Kovalévskaja por el apoyo financiero para concluir mi doctorado.

Agradezco al Dr. Ricardo Femat por haber dirigido esta tesis y por compartir conmigo el complejo e interesante proceso de aprendizaje de las Biomatemáticas.

Agradezco al Dr. Francisco Ordaz Salazar por trabajar en esta tesis.

Agradezco a los Doctores de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí por permitirme tomar el curso de Fisiología Humana.

Agradezco a los sinodales: Dr. Edgardo Ugalde Saldaña, Dr. Alvaro Alvarez Parrilla, Dr. Hugo Cabrera Ibarra y Dr. Juan Gonzalo Barajas Ramírez, por sus comentarios sobre esta tesis.

Agradezco a los miembros regulares del seminario de Biomatemáticas: Crescencio Hernández, Claudia Flores, Martín Méndez, Karla Cuellar, Eric Campos, Imelda Bonifas y Francisco Cárdenas por sus comentarios. A la Lic. Elizabeth Ruiz por su apoyo en un sinfín de cosas.

Agradezco de una manera muy especial a mi familia por estar siempre a mi lado en el momento justo y el más anhelado, por su apoyo incondicional y entender que encontré vida en mi forma de vivir.

Son muchas las personas especiales a las que me gustaría agradecer su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en el corazón: Dr. Manzano, Minerva Muñoz, Alejandro González, Adina Jordán, Aixa Aube, Mario Cetina, Griselda Quiróz, Julio Rodríguez, Eduardo Cruz, Ana Laura Elias, Claudia González, Gabriela Uribe, Beatriz Tristán y Ruby Mendoza.

Y ¿porqué no? A ti por ese pacto sin firmar que tenemos...

Contenido

Constancia de aprobación de la tesis	ii
Créditos Institucionales	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Contenido	vii
Lista de Figuras	ix
Notación	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
1 Introducción	1
1.1 Función del árbol vascular	1
1.2 ¿Por qué el riñón?	2
1.3 Estudios de la vasculatura renal	4
1.4 Desarrollo del árbol vascular en el riñón	6
1.5 Contenido de la presente tesis	7
2 Vascularización	9
2.1 Desarrollo vascular	9
2.2 Angiogénesis	10
2.2.1 Angiogénesis por brote	11
2.2.2 Angiogénesis por partición	13
2.2.3 Diferencias básicas entre angiogénesis por brote y por partición	13
2.3 Árbol vascular arterial del riñón	14
2.3.1 Desarrollo de la bifurcación arterial	15
3 Representación del árbol vascular arterial del riñón en un grafo G_R	17
3.1 Conceptos básicos	17
3.2 Grafo G_R	18
3.3 Parámetros fisiológicos en G_R	19
3.4 Angiogénesis: a_b y a_p	20
3.5 Análisis de angiogénesis en G_R	22
4 Modelado del desarrollo del árbol vascular arterial del riñón	26
4.1 Función del vértice en la bifurcación arterial	26
4.2 Incorporación de información fisiológica en G_R	27

4.3	Algoritmo recursivo estocástico	29
4.3.1	Ejemplo	31
4.4	Estadísticas de G_R	32
4.5	Dimensión fractal del árbol vascular arterial del riñón	38
5	Conclusiones y trabajo futuro	42
5.1	Conclusiones	42
5.2	Trabajo futuro	44
A	Algoritmo de programa en Mathematica	46

Lista de figuras

1.1	Árboles vasculares en el cuerpo humano: árbol arterial (rojo) y árbol venoso (azul).	2
1.2	Riñón, imagen a partir de http://www.hepatitisc2000.com.ar	3
1.3	Árbol vascular del riñón de una rata (Zamir y Phipps, 1987).	4
1.4	Árboles vasculares generados por L-sistemas, variando el índice de simetría con respecto al diámetro (Zamir, 2001).	5
1.5	Reconstrucción del árbol vascular arterial y venoso de rata (Nordsletten, <i>et. al.</i> , 2006).	6
2.1	Vasculogénesis, angiogénesis y ambos procesos.	10
2.2	Vaso sanguíneo con estímulo angiogénico.	11
2.3	Angiogénesis por brote.	12
2.4	Angiogénesis por partición.	14
2.5	Riñón: Árbol vascular arterial (rojo), árbol vascular venoso (blanco) y uréter (amarillo) (http://www.bioeng.auckland.ac.nz).	15
2.6	Bifurcación arterial	16
3.1	(a) Árbol vascular arterial del riñón humano, <i>i. e.</i> , un angiograma (Pérez, <i>et. al.</i> (2002)) (b) Un grafo conexo acíclico representando un árbol cualitativo; <i>i. e.</i> , no existe información fisiológica en él.	18
3.2	Árbol de G_R que tiene vértices con aristas orientadas y etiquetadas.	20
3.3	Representación de una bifurcación arterial en G_R con aristas etiquetadas y orientadas.	20
3.4	Angiogénesis por brote.	21
3.5	Angiogénesis por partición.	21
3.6	Cuando la angiogénesis es activada, el desarrollo de la bifurcación arterial puede ser por brote (a_b) o por partición (a_p).	22
3.7	Existen seis posibles combinaciones para angiogénesis por a_b y a_p en el desarrollo de la vasculatura arterial renal. Para más claridad en la figura denotamos con (<i>i, ii, iii</i>) los casos donde el vaso sanguíneo pre-existente es a_b y denotamos con (<i>I, II, III</i>) para cuando el vaso sanguíneo pre-existente es a_p .	23
4.1	Vaso pre-existente en G_R , donde el vértice tiene la información si la bifurcación arterial se va a desarrollar por a_b o a_p .	26

4.2	Izquierda: Muestra el comportamiento de cómo se da el aumento y disminución de la cantidad de brotes con respecto al comportamiento de C_{gf} . Derecha: Muestra el comportamiento de la longitud en el brote en base a C_{gf} (Nakatsu, <i>et. al.</i> , 2003).	28
4.3	l_e es una aproximación basada en datos experimentales para $C_{gf} = \text{VEGF}_{121}$ (Nakatsu, <i>et. al.</i> , 2003)	29
4.4	(a) Árbol vascular arterial del riñón en G_R donde a_b y a_p tienen 50% de probabilidad en el desarrollo. (b) Histograma con el ancho del riñón para todos los caminos en G_R	32
4.5	Ejemplos del desarrollo en el árbol vascular arterial del riñón usando diferentes probabilidades para los procesos de angiogénesis. (a) a_p es más probable que a_b en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón (80% y 20%, respectivamente). (b) a_p es más probable que a_b en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón (70% y 30%, respectivamente). (c) Ambos procesos a_b y a_p tienen la misma probabilidad en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón (50% y 50%, respectivamente).	33
4.6	Longitud en cada segmento $j > 0$ de G_R para cada una de las 5 diferentes probabilidades en a_b , donde a_p tiene la probabilidad $P_{ap} = 1 - P_{ab}$	34
4.7	La longitud promedio en cada uno de los segmentos de G_R para cada una de las las 5 diferentes probabilidades de a_b y a_p en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón.	35
4.8	Comparación de resultados. Línea sólida: Media para la longitud promedio en la Figura 4.6. Línea punteada: Resultado experimental de Nordsletten, <i>et. al.</i> , (2006).	35
4.9	Ancho promedio de 5000 árboles generados para cada una de las 5 diferentes probabilidades de a_b y a_p	37
4.10	El teorema del conteo de cajas se utilizó para obtener la dimensión fractal del árbol vascular arterial del riñón.	40
4.11	Dimensión fractal promedio para cada una de las 5 diferentes probabilidades para a_b y a_p en cada uno de los 5000 árboles vasculares arteriales renales G_R generados para las diferentes probabilidades.	40
4.12	Ejemplos de árboles que representan la vasculatura arterial del riñón con: P_{ab} , ancho promedio y dimensión fractal.	41
5.1	Bifurcación \mathbb{R}^3 : Φ es el ángulo del vaso sanguíneo pre-existente, α es el ángulo de rotación y θ es el ángulo de bifurcación.	45
A.1	Algoritmo utilizado para modelar el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón.	47

Notación

\mathbb{N}	Conjunto de los números naturales.
G_R	Grafo.
$V(G_R)$	Conjunto de vértices.
$E(G_R)$	Conjunto de aristas.
Ψ_{G_R}	Función de incidencia.
s	Proceso utilizado para desarrollar la bifurcación arterial.
C_{gf}	Concentración del factor de crecimiento endotelial en el vaso sanguíneo.
l	Longitud del vaso sanguíneo.
d	Diámetro del vaso sanguíneo.
$\theta_{(m-1)} + \theta_m$	Ángulo de bifurcación arterial.
a_b	Angiogénesis por brote.
a_p	Angiogénesis por partición.
P_{ab}	Probabilidad de angiogénesis por brote.
P_{ap}	Probabilidad de angiogénesis por partición.
b_v	Número total de vasos sanguíneos.
α	Grado diámetral de asimetría en una bifurcación arterial.
l_e	Longitud experimental del vaso sanguíneo.
l_j	Longitud para cada segmento j .
λ_b	Factor de contracción para angiogénesis por brote.
λ_p	Factor de contracción para angiogénesis por partición.
A_{G_R}	Acho promedio del riñón.
D	Dimensión fractal.

Resumen

En esta tesis, se modela el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón utilizando la teoría de grafos e incluyendo información fisiológica de la bifurcación arterial. El riñón es uno de los órganos más complicados en términos de estructura y fisiología, en parte por su vascularización. El desarrollo del árbol vascular arterial del riñón ocurre mediante angiogénesis; esto es, la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos pre-existentes. Existen dos procesos de angiogénesis: por brote y por partición. Se modela el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón incorporando parámetros fisiológicos en base a datos experimentales previamente publicados. Los resultados muestran que es posible incluir la función angiológica en el grafo para modelar la morfología del árbol vascular arterial renal. La longitud promedio en cada segmento en la morfología de los árboles generados tienen intersección con resultados experimentales. El ancho promedio del árbol vascular arterial del riñón de los árboles generados está dentro del rango experimental. La dimensión fractal de la morfología del árbol vascular arterial del riñón depende de la contribución de angiogénesis por brote y por partición, *i. e.*, de la distribución de los vasos sanguíneos. Esto es, puede proporcionar información si el riñón cuenta con la morfología apropiada para desarrollar sus funciones.

Palabras clave: Árbol vascular arterial del riñón, Angiogénesis por brote, Angiogénesis por partición, Grafo, Dimensión fractal.

Abstract

In this thesis, we model the development of the arterial vascular tree of the kidney using the graph theory and including physiological information of the arterial bifurcation. The kidney is one of the most complex organ in terms of structure and physiology, in part because of its vascularity. The development of the arterial vascular tree of the kidney occurs through angiogenesis, *i. e.*, the formation of new blood vessels from pre-existing vessels. There are two processes of angiogenesis: sprouting and splitting. The development of the arterial vascular tree of the kidney is modeled incorporating physiological parameters on bases of experimental data previously published. The results show that it is possible to include the angiological function in the graph to model the morphology of the renal arterial vascular tree. The average length in each segment of the morphology of the trees have intersection with experimental results. The average width of the arterial vascular tree of the kidney of the trees generated is within the experimental range. The fractal dimension of the arterial vascular tree of the kidney depends of the contribution of sprouting and splitting angiogenesis, *i. e.*, of the distribution of blood vessels. That is, the fractal dimension can provide information if the kidney has the appropriate morphology to perform their functions.

Keywords: Arterial vascular tree of the kidney, Sprouting angigenesis, Splitting angiogenesis, Graph, Fractal dimension.

Capítulo 1

Introducción

En los últimos años, el entendimiento de cómo se forman los vasos sanguíneos ha pasado a ser un objetivo primordial y desafiante en la actividad científica, ya que terapias podrían basarse en el control localizado de su crecimiento. En el presente capítulo se explicará porque es importante modelar la vasculatura arterial renal. Iniciaremos con generalidades para arribar al problema: El estudio de la vasculatura renal. También se esbozarán algunos de los esfuerzos que la comunidad científica ha hecho para comprender dicho problema, específicamente desde el punto de vista de las matemáticas. Se discutirá el potencial que tiene la teoría de grafos para modelar el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón.

1.1 Función del árbol vascular

Dentro del cuerpo humano abundan las estructuras complejas como es el caso de las arborescentes. Un ejemplo de ellas es el sistema de tubos por el que fluye la sangre, llamados *vasos sanguíneos* (Guyton y Hall, 2000). Los vasos sanguíneos comprenden arterias, que llevan la sangre desde el corazón hasta los órganos; las venas, que llevan la sangre desde los órganos hacia el corazón; y los capilares, que sirven de puente entre las arterias y las venas. Esto es, la sangre es un órgano fluido complejo que circula a través del árbol vascular. Un *árbol vascular* está formado de arterias y venas a manera de las ramas de un árbol, y los capilares forman una red de vasos sanguíneos (véase Figura 1.1). Todos los órganos del cuerpo humano funcionan gracias a la sangre que circula por el árbol vascular.

El paradigma actual es que la formación del árbol vascular está programada genéticamente y controlada por determinantes celulares locales. Si durante la vida embrionaria los vasos sanguíneos no se desarrollan adecuadamente en órganos vitales; *i. e.*, si crecen desordenadamente se originan graves problemas congénitos, de igual manera, cuando crecen en exceso se forman tumores vasculares. Cuando los órganos empiezan a formarse, los vasos sanguíneos crecen con características y distribuciones particulares para cada uno de ellos. Todavía no está claro si cada órgano emite señales propias o si lo que varía es la secuencia de las señales y su orientación espacial, lo cual parece ser lo más probable, ya que el desarrollo del órgano depende directamente de los factores involucrados.

Es fundamental analizar los mecanismos involucrados en el desarrollo vascular a nivel celular y molecular, para así después poder utilizar herramientas matemáticas en el control de

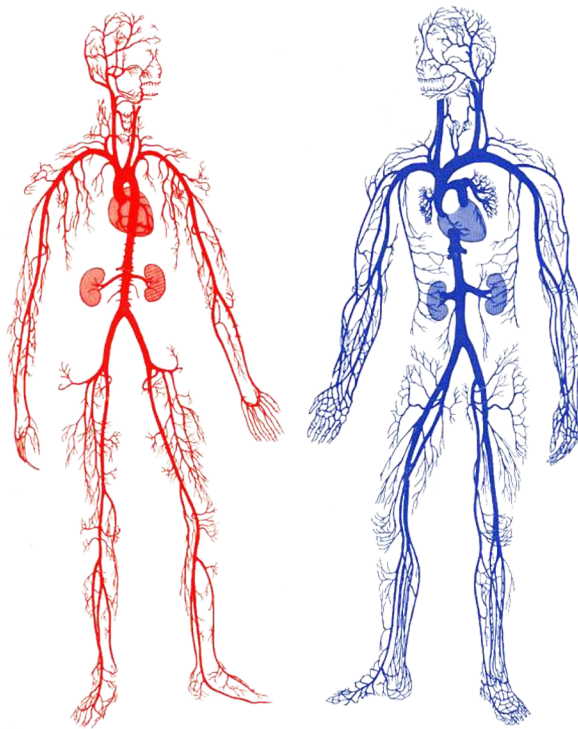


Figura 1.1: Árboles vasculares en el cuerpo humano: árbol arterial (rojo) y árbol venoso (azul).

enfermedades y promover el desarrollo de órganos artificiales. Sin embargo, la modelación matemática de sistemas biomédicos no es una tarea fácil. De hecho, hasta donde sabemos no existe ningún formalismo matemático que incluya información fisiológica para modelar el desarrollo de la vasculatura arterial renal.

1.2 ¿Por qué el riñón?

Los riñones son órganos sumamente vascularizados y constituyen el principal medio de que dispone el organismo para purificar y mantener el equilibrio químico en la sangre. Estos regulan la concentración de sustancias químicas en el cuerpo, de las cuáles se necesita un equilibrio para mantener la vida, ya que las concentraciones excesivas pueden ser perjudiciales. Los riñones son dos órganos en forma de frijol y cada uno tiene el tamaño aproximado de una mano cerrada (ver Figura 1.2).

El árbol vascular del riñón tiene la siguiente estructura: La arteria renal entra en el riñón a través del hilio y luego se ramifica sucesivamente dando lugar, en orden de profundidad, a las arterias interlobulares, arterias arciformes, arterias interlobulillares y a las arteriolas aferentes, que dan lugar a los capilares glomerulares (Guyton y Hall, 2000), donde se filtra gran cantidad de líquido y de solutos (excepto las proteínas del plasma) para empezar a formar la orina. Estos capilares confluyen para formar las arteriolas eferentes, que da origen a una segunda red capilar, los capilares peritubulares, que irrigan la nefrona. Los vasos del sistema venoso discurren paralelos a los arteriales y forman venas interlobulillares, arciformes, in-

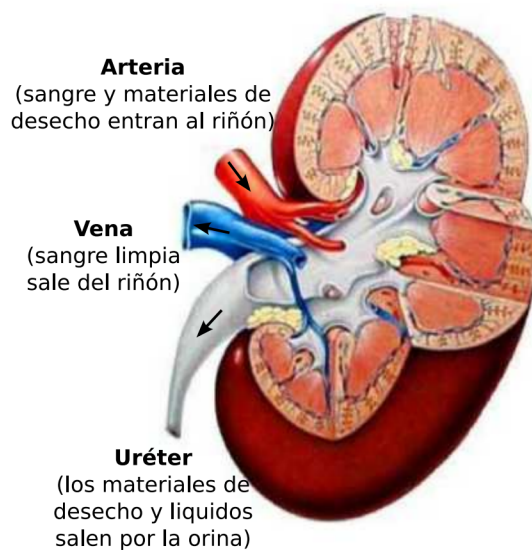


Figura 1.2: Riñón, imagen a partir de <http://www.hepatitisc2000.com.ar>

terlobulares y la vena renal (Guyton y Hall, 2000). La circulación renal es peculiar por tener dos redes capilares, la glomerular y la peritubular, cuyos capilares están en serie y separados por las arteriolas aferentes y eferentes, las cuales ayudan a regular la presión hidrostática en las dos redes capilares. Durante el desarrollo del árbol vascular renal, el ensamblado preciso en tiempo y espacio es un evento crucial que dirige la formación de un riñón normal preparado para la vida extraordinaria. La anatomía apropiada de la microvasculatura renal con sus varios segmentos es importante para la regulación de las distintas funciones que tiene que llevar a cabo.

Los riñones son un sistema complejo que incluye mecanismos de: filtración, absorción y excreción. Entre las principales funciones que desempeñan los riñones destaca el procesar la sangre limpia, filtrar el agua y desechos extras; liberar hormonas; regular el agua y electrolitos de la sangre, como sodio, potasio y remover toxinas de la misma. De esta manera, diariamente nuestros riñones filtran 200 litros de sangre para remover unos dos litros de desechos y de agua remanente (orina). El patrón de distribución de los vasos sanguíneos en el riñón es muy preciso, constante, genéticamente determinado y se reproduce en forma casi idéntica en todas las especies; incluyendo a los humanos.

De acuerdo a datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), una de cada diez personas en el mundo tiene algún desorden en el riñón, lo que provoca que cada año mueran prematuramente de ataques al corazón asociado a la Insuficiencia Renal Crónica. Las causas más comunes son la diabetes mellitus y la hipertensión, ambas enfermedades muy prevalentes entre la población. La tasa de crecimiento de la insuficiencia renal crónica ha sido 11% anual en los últimos 10 años.

Con todo lo anterior, el estudio de la vasculatura es motivada en las áreas biomédicas emergentes.

1.3 Estudios de la vasculatura renal

La estructura vascular renal ha sido objeto de una serie de estudios, esto porque los riñones son órganos vitales que realizan funciones de limpieza y equilibrio químico de la sangre. Los primeros estudios de Zamir y Phipps (1987) en el árbol vascular de riñón consistieron en meticulosas observaciones morfológicas de la distribución de los vasos sanguíneos del riñón. Zamir y Phipps observaron y midieron experimentalmente los ángulos y diámetros de ramificación renal en rata. La rata fue anestesiada para posteriormente inyectarle una solución de Tyrode, con la que se obtiene el árbol vascular arterial sólido para poderlo estudiar en el Proyector de Perfiles Mitutoyo. Se puede observar en la Figura 1.3 que la distribución de los vasos sanguíneos tiene un patrón de ramificación homólogo a los árboles. El árbol vascular del riñón se partió en pedazos más pequeños, los cuales permitieron maniobrar cada sitio de la ramificación y así tomar las medidas. El análisis morfométrico de la distribución de los vasos sanguíneos en el riñón de rata indica que las características de ramificación de estos son determinadas por condiciones de carácter fisiológico, específicamente por la función angiológica.



Figura 1.3: Árbol vascular del riñón de una rata (Zamir y Phipps, 1987).

Más recientemente, Zamir (2001) utilizó los sistemas paramétricos de Lindenmayer para generar estructuras arborescentes de ramificación arterial. Un modelo de L-sistemas consiste en bifurcaciones repetidas, con el axioma ω y la regla de producción ρ dados por: $\omega : F$, $\rho : F \rightarrow F[-F][+F]$, donde F representa una línea de longitud unidad en la dirección horizontal y los corchetes representan la salida [y el regreso] a un punto de ramificación, mientras que el signo más y menos representan la dirección hacia la derecha e izquierda, respectivamente (ver Figura 4 en Zamir (2001)). Zamir generó aleatoriamente árboles con diferentes grados de simetría con respecto al diámetro; véase Figura 1.4, donde una selección aleatoria del grado de asimetría no reproduce el patrón de vascularización observada en el árbol vascular

arterial del riñón. Sus resultados sugieren que los L-sistemas se pueden utilizar para producir estructuras arborescentes fractales pero no para la ramificación observada en los árboles vasculares del riñón, esto debido a que tienen que incorporar las leyes fisiológicas de la ramificación arterial.

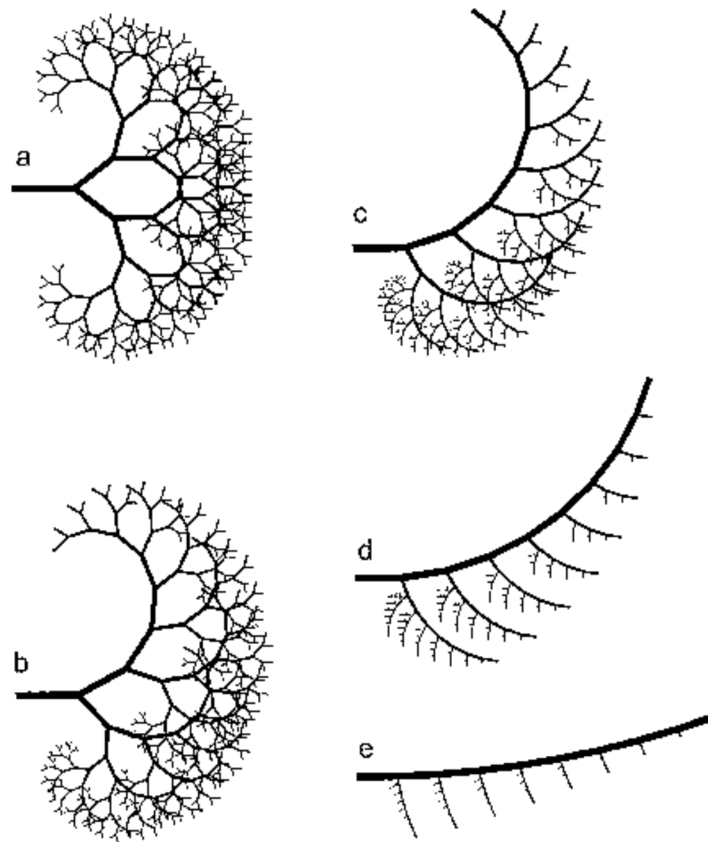


Figura 1.4: Árboles vasculares generados por L-sistemas, variando el índice de simetría con respecto al diámetro (Zamir, 2001).

Posteriormente, Wahl, *et. al.* (2004) analizaron las redes microvasculares renales previamente publicadas y compararon las gráficas, utilizando la teoría de grafos para analizar la topología de la red glomerular en ratas en clasificaciones: adultas normales, recién nacidas y adultas urémicas. Wahl y sus colaboradores, muestran que la mayoría de los vértices en el glomérulo renal son bifurcaciones; *i. e.*, vértices de grado 3. El porcentaje promedio de vértices de grado 3 es 82.4% en adultas normales, 95.5% en recién nacidas y 64.1% en adultas urémicas. También sugieren que la información obtenida en estudios de angiogénesis, el cual describe el crecimiento de los vasos sanguíneos, puede ser útil en el desarrollo de un modelo de teoría de grafos para generar en condiciones normales redes microvasculares renales.

En uno de los estudios más recientes Nordsletten, *et. al.*, (2006) reconstruyeron numéricamente el árbol arterial y venoso del riñón de rata, utilizando Tomografía Computalizada (micro-CT, por sus siglas en inglés). El árbol vascular tiene una profundidad hasta llegar a las arteriolas aferentes y se utiliza el método de Strahler (Strahler, 1962), obteniendo la siguiente

estructura en el árbol vascular: aferentes, orden 0-1; interlobulillares, orden 2-6; arciformes, orden 6-7; interlobulares, orden 8-9 y arteria renal, orden 9-10. La Figura 1.5 muestra el modelo reconstruido del árbol vascular arterial y venoso del riñón de $20\mu m$ datos en micro-CT. La limitación de este proceso es que requiere de imágenes suficientemente claras de las paredes vasculares y los límites. Los datos morfológicos obtenidos proporcionan una base estadística a partir de la cual la topología de la vasculatura renal puede ser generada. Previo a nuestra propuesta, reusaremos los aspectos fisiológicos de la vasculatura renal y su desarrollo.

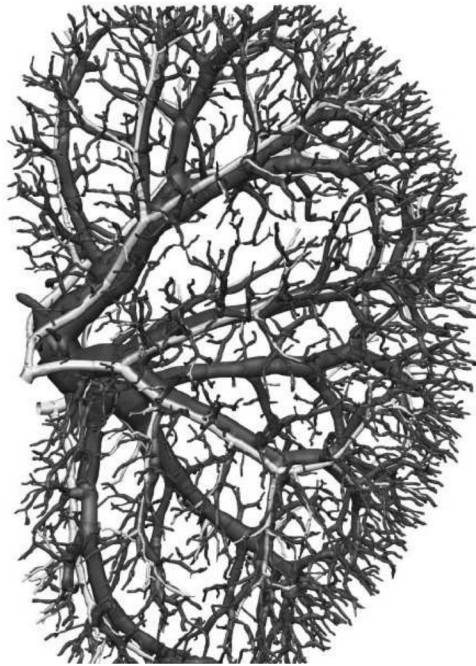


Figura 1.5: Reconstrucción del árbol vascular arterial y venoso de rata (Nordsletten, *et. al.*, 2006).

Se puede observar en los estudios previos que no existe un modelo matemático que incorpore información de los parámetros fisiológicos encargados del desarrollo del árbol vascular del riñón. Esto a pesar de los avances que se han realizado para el entendimiento de la morfogénesis del árbol vascular del riñón (Tomanek, 2001).

1.4 Desarrollo del árbol vascular en el riñón

Los mecanismos involucrados en el desarrollo vascular renal han comenzado a ser dilucidados. La formación de vasos sanguíneos es un proceso complejo que implica la interacción perfectamente coordinada de múltiples pasos. Existen muchos procesos implicados en la regulación de este proceso que deben actuar armoniosamente para que se formen los vasos sanguíneos funcionales. Datos experimentales indican que el control de la diferenciación

de los vasos sanguíneos está determinada en gran parte por el órgano en cuestión, *i. e.*, los factores involucrados en el desarrollo del órgano (Tomanek, 2001).

Por ejemplo, durante la embriogénesis, la creciente necesidad de oxígeno impulsa el desarrollo del sistema cardiovascular. El principal factor que controla la formación de los vasos sanguíneos es la falta de oxígeno. La carencia de oxígeno produce una respuesta local que se caracteriza por la liberación de factores de crecimiento especializados:

VEGF
TGF β 1
Efrinas A 1-2
B
PDGR-B
Familia Ets (Ets-1, TEL)
Angiopoyetinas 1-2
Sistema renina-angiotensina

el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF, por sus siglas en inglés) es el principal factor que estimula la formación de nuevos vasos sanguíneos para suplir esa necesidad. Otros factores involucrados en el desarrollo vascular renal son el factor de crecimiento transformador β 1 (TGF β 1), las efrinas (A 1-2, B), el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF-B), familia Ets, angiopoyetinas 1-2 y el sistema renina-angiotensina. Una vez restablecida la tensión de oxígeno se inhibe la producción de factores pro-angiogénicos.

El crecimiento de los vasos sanguíneos renales depende de la regulación que ejerce la concentración tisular de oxígeno sobre el VEGF, el cual es responsable de la diferenciación, migración, proliferación y ensamblado de células endoteliales (Tomanek, 2001). El desarrollo del árbol vascular comprende dos procesos distintos: a) vasculogénesis y b) angiogénesis, los cuales son responsables del desarrollo vascular renal, esto dependiendo del potencial de las células utilizadas (Tomanek, 2001). a) Vasculogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos cuando no existen vasos sanguíneos pre-existentes, mientras que b) angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pre-existentes (en el siguiente capítulo se detallarán ambos procesos). El VEGF es el principal motor de la vasculogénesis y angiogénesis, para establecer que el sistema vascular sea normal tanto en su morfología como en su funcionamiento. Entre sus principales funciones están: estimular la vasculogénesis, la remodelación angiogénica y la formación de brotes angiogénicos. Se desconoce cuál es la contribución de la vasculogénesis versus la angiogénesis en la formación de vasos sanguíneos específicos para un determinado órgano.

1.5 Contenido de la presente tesis

Ha habido aproximaciones a la morfología de árboles vasculares renales utilizando herramientas matemáticas (Nordsletten, *et. al.*, 2006; Wahl, *et. al.*, 2004; Zamir, 2001), pero sin incorporar la información fisiológica de cómo se va dando el desarrollo del árbol vascular renal. En este trabajo nos enfocaremos al desarrollo del árbol vascular arterial del riñón mediante el proceso de angiogénesis. Existen dos tipos de angiogénesis: por brote y por partición. Ambos procesos de angiogénesis generan estructuras arborescentes, las cuales se

pueden representar mediante la teoría de grafos. Es decir, la teoría de grafos puede proporcionar una base matemática para modelar el desarrollo de la vasculatura arterial renal incorporando las leyes fisiológicas de la ramificación arterial.

El objetivo principal de esta de tesis es modelar el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón utilizando teoría de grafos e incorporando información fisiológica. El contenido de este trabajo es el siguiente:

- **Capítulo 2:** Se estudiará cómo ocurre el desarrollo vascular, específicamente el del árbol vascular arterial del riñón. Se describirá el proceso de angiogénesis, el cual puede ocurrir de dos formas: por brote y por partición para el desarrollo de la vasculatura arterial renal. Así mismo, se detallarán ambos procesos de angiogénesis desde el punto de vista fisiológico, y enfocando las diferencias entre ellos mediante herramientas matemáticas.
- **Capítulo 3:** Se definirá la estructura del grafo y se encontrará la función que describa el fenómeno de vascularización arterial renal. Así mismo, se definirán las principales variables fisiológicas involucradas en el desarrollo del árbol vascular arterial renal. Se analizarán matemáticamente los dos procesos de angiogénesis y las condiciones necesarias para el desarrollo de una vasculatura en condiciones normales. Esto es, se generarán estructuras arborescentes incorporando las leyes fisiológicas de la ramificación arterial renal. Se realizará un análisis del proceso de angiogénesis en el grafo que represente el árbol vascular arterial del riñón.
- **Capítulo 4:** Se desarrollará un programa en Mathematica de Wolfram versión 6, para modelar el crecimiento del árbol vascular arterial del riñón incorporando la información fisiológica y morfológica en el grafo. Se realizarán diferentes estudios estadísticos para los procesos de angiogénesis por brote y por partición en el grafo.
- **Capítulo 5:** Se presentarán las conclusiones sobre los resultados obtenidos en esta tesis, así como también se expondrá el trabajo futuro a realizar.

A continuación se muestra la producción científica de esta tesis:

Aurora Espinoza-Valdez, R. Femat and Francisco C. Ordaz-Salazar. A model for renal arterial branching based on graph theory. *Mathematical Biosciences* 225 (2010) 36-43.

Aurora Espinoza-Valdez, R. Femat and Francisco C. Ordaz-Salazar (2009). Applying Graph Theory to Arterial Vascular Tree of the Kidney. *Boletín de la Sociedad Matemática Mexicana*, ENVIADO.

Francisco C. Ordaz-Salazar, Aurora Espinoza-Valdez and R. Femat (2010). Fractal dimension of the arterial vascular tree of the kidney. *Journal of Theoretical Biology*, ENVIADO.

Versión completa del artículo publicado puede ser consultada en el Anexo.

Capítulo 2

Vascularización

El riñón es un órgano complicado en términos de estructura y fisiología debido en parte a que está sumamente vascularizado. En este capítulo abordaremos la pregunta fundamental que nos hacemos ¿Cómo se desarrolla el árbol vascular del riñón?; misma que requiere ser contestada a varios niveles. Explicaremos cuales son los procesos encargados de desarrollar los árboles vasculares, específicamente del árbol vascular arterial del riñón.

2.1 Desarrollo vascular

El desarrollo vascular ocurre por medio de dos mecanismos que a veces se superponen: vasculogénesis y angiogénesis. Vasculogénesis es el proceso de formación de los vasos sanguíneos a partir de células endoteliales progenitoras (angioblastos), las cuales migran y se fusionan con otras células endoteliales y se diferencian mientras forman nuevos vasos sanguíneos (Tomanek, 2001). Los angioblastos emigran en respuesta a señales locales, tales como el factor de crecimiento y la matriz extracelular, para formar nuevos vasos sanguíneos. Estos árboles vasculares después se podan y se extienden con angiogénesis para dar la estructura arborescente. Angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pre-existentes, por proliferación y migración de células endoteliales previamente diferenciadas (Tomanek, 2001). Vasculogénesis y angiogénesis son procesos complejos que involucran remodelación de la matriz extracelular, migración y proliferación de células endoteliales, formación del lumen y maduración funcional de los vasos sanguíneos.

En la Figura 2.1 se puede observar lo siguiente: 1) La vasculogénesis, la cual es la formación de vasos sanguíneos *in situ* a partir de precursores endoteliales tales como los angioblastos. 2) La angiogénesis consta de distintas etapas que tienen lugar a partir de vasos sanguíneos surgidos mediante vasculogénesis. 3) También se puede observar que ambos procesos, angiogénesis y vasculogénesis pueden suceder en forma simultánea (Tomanek, 2001).

Así, podemos decir que la angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pre-existentes, mientras que la vasculogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos cuando no existen vasos sanguíneos pre-existentes. Ambos procesos, tanto la angiogénesis como la vasculogénesis son posibles en el desarrollo de la vasculatura renal. No es claro todavía cuanto contribuye cada uno de estos procesos en

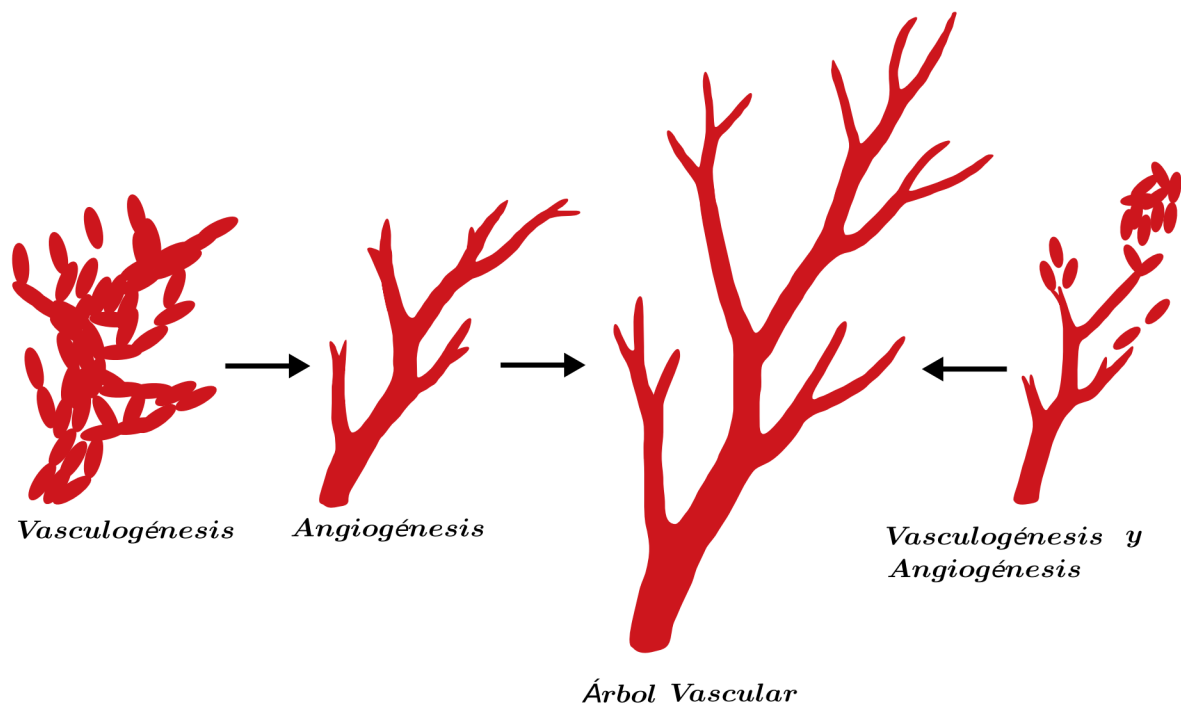


Figura 2.1: Vasculogénesis, angiogénesis y ambos procesos.

el desarrollo de la vasculatura del riñón en condiciones normales (Tomanek, 2001). Sin embargo, las arteriolas más pequeñas y los capilares se forman por vasculogénesis mientras que las arterias lo hacen por angiogénesis (Tomanek, 2001).

Puesto que estamos interesados en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón, nos enfocaremos en el proceso de angiogénesis.

2.2 Angiogénesis

La angiogénesis es definida como la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos pre-existentes, existen dos tipos de angiogénesis en el desarrollo vascular: por brote y por partición. En ambos procesos de angiogénesis, ya sea bajo condiciones fisiológicas o patológicas, la activación de las células endoteliales en reposo es el primer evento que tiene lugar (véase la Figura 2.2). Las células endoteliales activadas luego migran, proliferan y remodelan la membrana basal (por la síntesis, degradación y la reordenación de los componentes en la matriz) para formar nuevos vasos sanguíneos. La importancia de las células endoteliales en la angiogénesis ha alentado los esfuerzos para aislar y purificar factores de crecimiento en células endoteliales. La mayoría de los factores angiogénicos identificados a la fecha actúan directamente sobre las células endoteliales.

El crecimiento y desarrollo normal del árbol vascular depende de la angiogénesis. Este proceso es complejo en la producción de nuevos vasos sanguíneos para garantizar que células y tejidos reciban oxígeno y nutrientes suficientes. La regulación molecular de la angiogénesis es controlada por distintos pasos. Esto es, una molécula angiogénica promueve la proliferación de células endoteliales, migración o formación del tubo, mientras un inhibidor interfiere

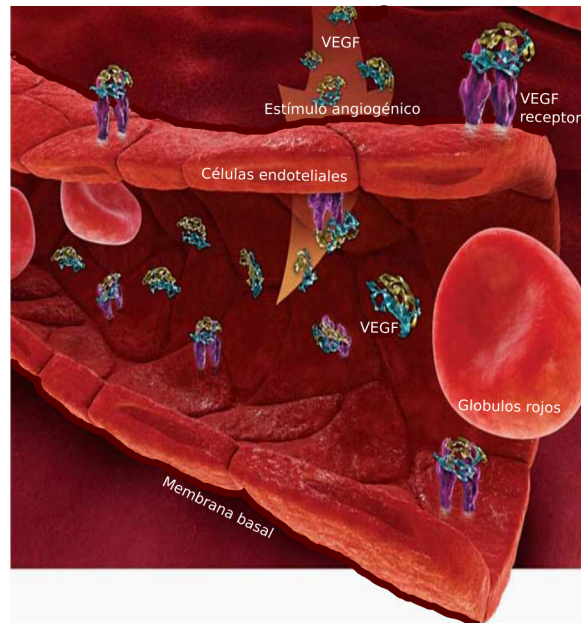


Figura 2.2: Vaso sanguíneo con estímulo angiogénico.

en esos pasos (Patan, 2000).

El proceso de angiogénesis consta de distintas etapas que tienen lugar a partir de vasos surgidos mediante vasculogénesis. El control de la angiogénesis por el VEGF es uno de los mecanismos por los que el grado de vascularización de los tejidos se mantienen en condiciones fisiológicas normales. Algunos estudios demuestran *in vitro* que el VEGF promueve la migración, proliferación y formación del tubo en células endoteliales para el proceso de angiogénesis (Patan, 2000).

En conclusión, angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pre-existentes y consiste de dos procesos: brote y partición. Angiogénesis involucra degradación de la membrana basal, remodelación de la matriz extracelular, migración de células endoteliales en dirección del estímulo angiogénico, proliferación de células endoteliales y formación del vaso sanguíneo. Nuestra discusión y resultados están basados en los dos procesos de angiogénesis como se detallan a continuación.

2.2.1 Angiogénesis por brote

La angiogénesis por brote se refiere al proceso en el cual se activan las células endoteliales ramificándose hacia afuera de un vaso sanguíneo pre-existente, para formar una estructura con un brote (Figura 2.3). Las células endoteliales se transforman en un tubo unido a la matriz extracelular. El brote requiere activación de células endoteliales, la membrana basal y matriz extracelular, deben ser degradadas para permitir la migración de células endoteliales y la extensión del vaso.

Debe existir una coordinación múltiple para que se lleve a cabo el proceso de angiogénesis por brote. Por ejemplo en la embriogénesis del riñón, inhibiendo la degradación de la matriz extracelular se limita la migración de las células endoteliales y por lo tanto la formación del

vaso sanguíneo. El brote ocurre en un ritmo de varios milímetros por día y permite a los nuevos vasos sanguíneos crecer a través de boquetes en la vasculatura (Tomanek, 2001).

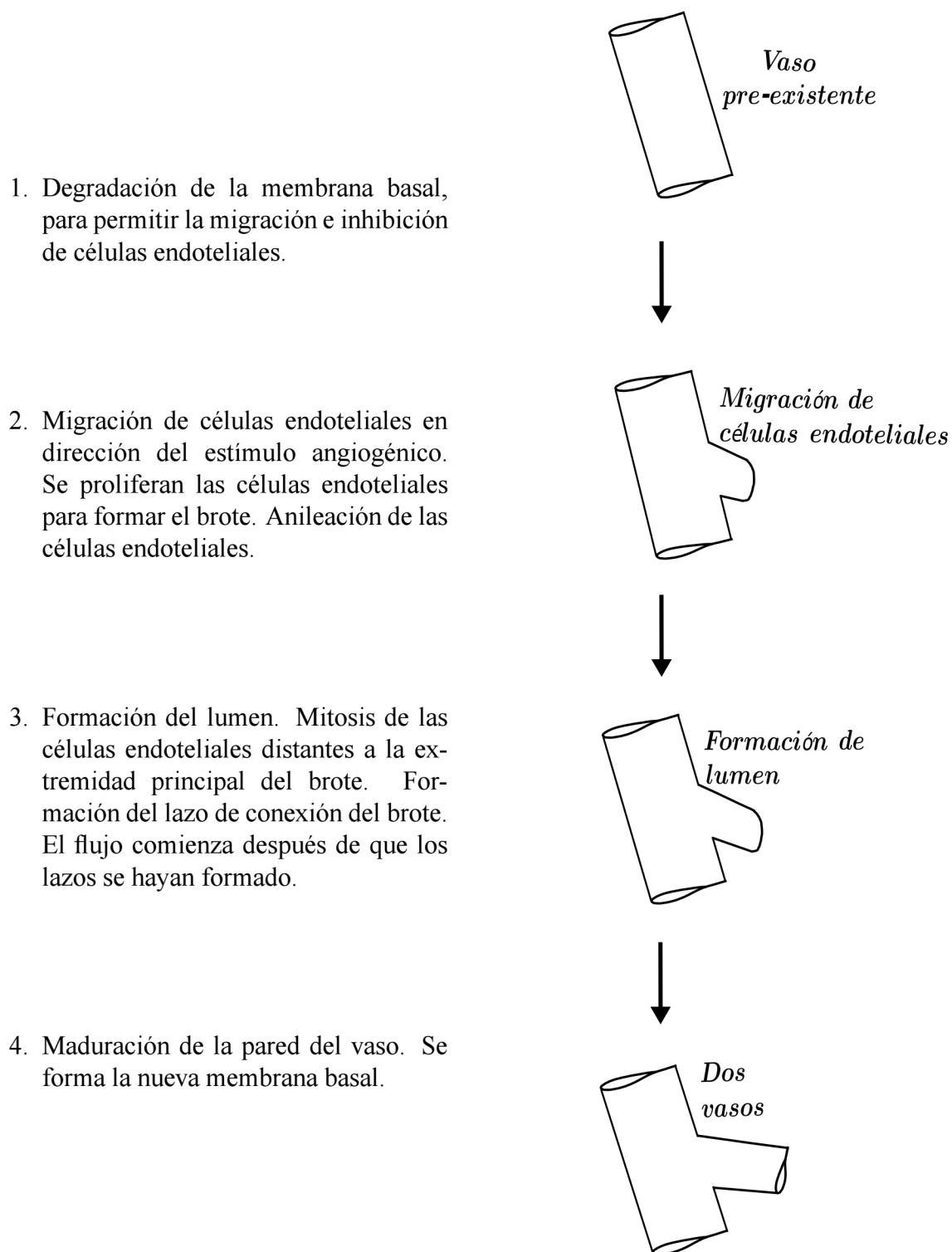


Figura 2.3: Angiogénesis por brote.

2.2.2 Angiogénesis por partición

La angiogénesis por partición se refiere al proceso en el cual un vaso sanguíneo se parte en dos nuevos vasos. Las células endoteliales se extienden con eficacia formando dos vasos sanguíneos a través de los cuales la sangre pueda fluir. Este proceso es importante porque es una reorganización de células endoteliales existentes, ya que permite un aumento en el número de vasos sanguíneos sin un incremento correspondiente en el número de células endoteliales. Esto es especialmente importante pues en el desarrollo embrionario no existen suficientes recursos para crear una microvascularización con las nuevas células que un nuevo vaso sanguíneo desarrolla cada vez.

En la angiogénesis por partición al realizarse el proceso de ramificación, *i. e.*, los diámetros de los dos nuevos vasos sanguíneos dependen del diámetro del vaso que salieron. En la Figura 2.4 se puede observar cómo es que se lleva a cabo el crecimiento del árbol vascular mediante angiogénesis por partición.

2.2.3 Diferencias básicas entre angiogénesis por brote y por partición

Observaciones y mediciones han demostrado que angiogénesis por brote y por partición son procesos que tienen algunos pasos en común, pero también diferencias. En angiogénesis por brote la extensión del lumen da lugar a un nuevo vaso, mientras que en angiogénesis por partición la matriz extracelular determina la extensión del lumen. Otra diferencia es que durante el proceso de brote el nuevo vaso sanguíneo tiene un diámetro en el rango del tamaño capilar. Por el contrario, durante el proceso de partición el vaso sanguíneo se divide en su centro para una formación inmediata de dos nuevos vasos sanguíneos, lo que provoca vasos sanguíneos de igual diámetro (Patan, 2000).

El tipo de proceso de angiogénesis utilizado en el desarrollo en un determinado órgano puede depender del número de vasos sanguíneos que ya estaban presentes para cuando este empieza a crecer rápidamente. Estudios recientes sugieren que la angiogénesis por partición es más probable que angiogénesis por brote durante la formación del árbol vascular. La angiogénesis por partición está presente en áreas vasculares donde el flujo sanguíneo es ramificado en dos direcciones divergentes. El brote tiende a crecer (en longitud y diámetro) para concentraciones bajas de VEGF y disminuye en concentraciones más altas. En partición aún se encuentran realizando estudios experimentales de cómo afecta la concentración de VEGF.

Se conjetura que los procesos de brote y partición ocurren con una diferente probabilidad en el árbol vascular arterial renal, para obtener la morfología tan particular del riñón. Es más probable el proceso de angiogénesis por partición que angiogénesis por brote, esto debido a requiere sólo reorganización de las células endoteliales existentes y no migración de las mismas; es decir, tiene menos requerimiento energético.

1. Degradación de la membrana basal para tener en cuenta el movimiento organizado de la capa endotelial.

2. Estiramiento y adelgazamiento de células endoteliales. Esto permite la extensión del lumen del vaso.

3. Formación de la base de la estructura del tejido intervascular y estabilización.

4. Formación de la membrana basal.

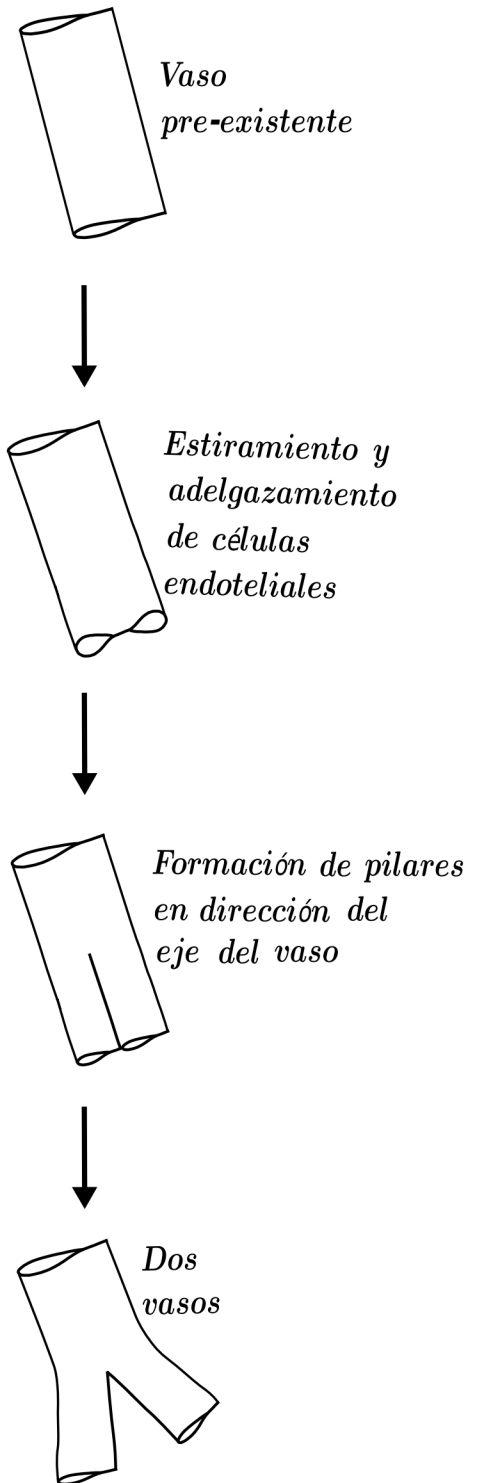


Figura 2.4: Angiogénesis por partición.

2.3 Árbol vascular arterial del riñón

La estrechez de los riñones y de su vasculatura están íntimamente relacionadas con su función. El riñón consta de tres árboles vasculares: arterial, venoso y uréter (ver Figura

2.5). El patrón de distribución de los vasos sanguíneos en el riñón es el resultado del órgano en sí ya que las características y ubicación de los vasos son necesarias para la secreción y reabsorción de moléculas de filtrado glomerular y para la regulación de la presión arterial, esto es, para la función normal del riñón.

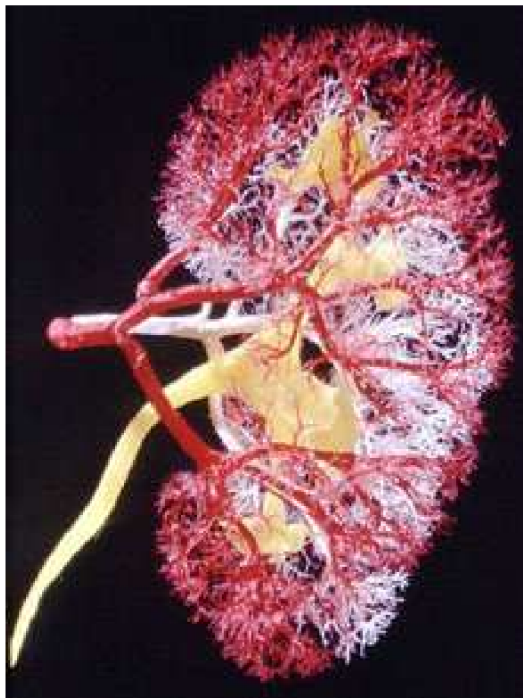


Figura 2.5: Riñón: Árbol vascular arterial (rojo), árbol vascular venoso (blanco) y uréter (amarillo) (<http://www.bioeng.auckland.ac.nz>).

El árbol vascular del riñón tiene la siguiente estructura: La arteria renal entra en el riñón a través del hilio y, luego se ramifica sucesivamente dando lugar a las arterias interlobulares, arterias arciformes, arterias interlobulillares. De acuerdo a estudios experimentales en el árbol vascular del riñón (Guyton y Hall, 2000), podemos concluir que la vasculatura arterial llega hasta la profundidad de las arterias interlobulillares. Esto es, está formado por arterias interlobulares, arciformes e interlobulillares.

2.3.1 Desarrollo de la bifurcación arterial

El desarrollo del árbol vascular arterial del riñón ocurre mediante angiogénesis. El proceso de angiogénesis es la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pre-existentes. Existen dos tipos de angiogénesis: por brote y por partición. En resumen, como premisas de la presente tesis, el desarrollo de la bifurcación arterial del riñón depende de:

- El proceso utilizado para generar la bifurcación arterial, esto es, angiogénesis por brote o por partición.

- La concentración del factor de crecimiento endotelial en el vaso sanguíneo pre-existente, ya que del VEGF depende la longitud y el diámetro de los dos nuevos vasos sanguíneos generados en la bifurcación.
- La longitud del vaso sanguíneo pre-existente. En la bifurcación arterial la longitud de los nuevos vasos sanguíneos generados depende de la longitud del vaso pre-existente, así como también del tipo de arterias a desarrollarse.
- El diámetro del vaso sanguíneo pre-existente. Dependiendo del proceso utilizado en el desarrollo de la bifurcación arterial se determinan los diámetros de los nuevos vasos sanguíneos.
- El ángulo de bifurcación depende del proceso por el cual se desarrolle la bifurcación arterial.



Figura 2.6: Bifurcación arterial

De acuerdo a datos experimentales, estos son los principales parámetros fisiológicos involucrados en el desarrollo de la bifurcación arterial del riñón, además de la relación tiempo-espacial entre la renina y la ramificación arterial (Nakatsu, *et. al.*, 2003; Patan, 2000; Reddi, *et. al.*, 1998; Tomanek, 2001). Así partiendo de lo anterior, a continuación se desarrolla la propuesta del modelo.

Capítulo 3

Representación del árbol vascular arterial del riñón en un grafo G_R

En este capítulo se analizará cómo es que el árbol vascular arterial del riñón se puede representar en un grafo G_R en el cual se incluye la información fisiológica necesaria para que se lleve a cabo el desarrollo del árbol vascular en condiciones normales. Esto es, el grafo prescribe la topología de la vasculatura arterial renal e incluye la regla del fenómeno de vascularización.

3.1 Conceptos básicos

A continuación, mencionaremos definiciones básicas de la teoría de grafos (Bondy y Murty, 1976; Diestel, 2005).

Un *grafo* G es una terna ordenada $(V(G), E(G), \psi_G)$ que consiste de un conjunto no vacío $V(G)$ de vértices, de un conjunto $E(G)$ de aristas y de una función de incidencia ψ_G que asocia a cada arista un par ordenado (no necesariamente distintos) de vértices de G . $\psi_G : E(G) \rightarrow V(G) \times V(G)$ donde si $e \in E(G)$, $\psi_G(e) = \{u, v\}$, entonces se dice que e une a u y v ; los vértices u y v son los extremos de e .

Un grafo es finito si tanto su conjunto de vértices y aristas son finitos. En esta tesis hablamos solamente de grafos finitos, por lo que el término grafo siempre significa grafo finito.

El *orden* de G es dado por el número de vértices, denotado como $|V(G)|$. Sea $v \in V(G)$, el *grado* de v , denotado $deg(v)$, es igual al número de aristas que son incidentes a v . Una arista es incidente a un vértice si ésta lo une a otro. Un grafo es *k -regular* si $deg(v) = k \forall v \in V(G)$ ($k \in \mathbb{N}$).

Una *caminata* en G es una secuencia alternante finita $W = v_0 e_1 v_1 e_2 \dots v_{n-1} e_n v_n$ de vértices y aristas, tales que para $1 \leq i \leq n$ los extremos de e_i son v_{i-1} y v_i . Los vértices v_0 y v_n son llamados origen y terminación de W respectivamente y v_1, \dots, v_{n-1} son vértices internos. El entero n denota la longitud de W . Si las aristas e_1, e_2, \dots, e_n son distintas y los vértices v_0, v_1, \dots, v_n también son distintos en la caminata W , decimos que W es un *camino*.

Una caminata es cerrada si su origen y terminación son el mismo vértice. Una caminata cerrada en la que todas sus aristas y vértices internos son distintos decimos que es un *ciclo*.

El grafo G es *conexo* si, y sólo si, dados cualesquiera dos vértices $v, w \in V(G)$ existe una caminata de v a w . Un grafo *acíclico* es un grafo que no tiene ciclos.

Un *árbol* es un grafo conexo y acíclico.

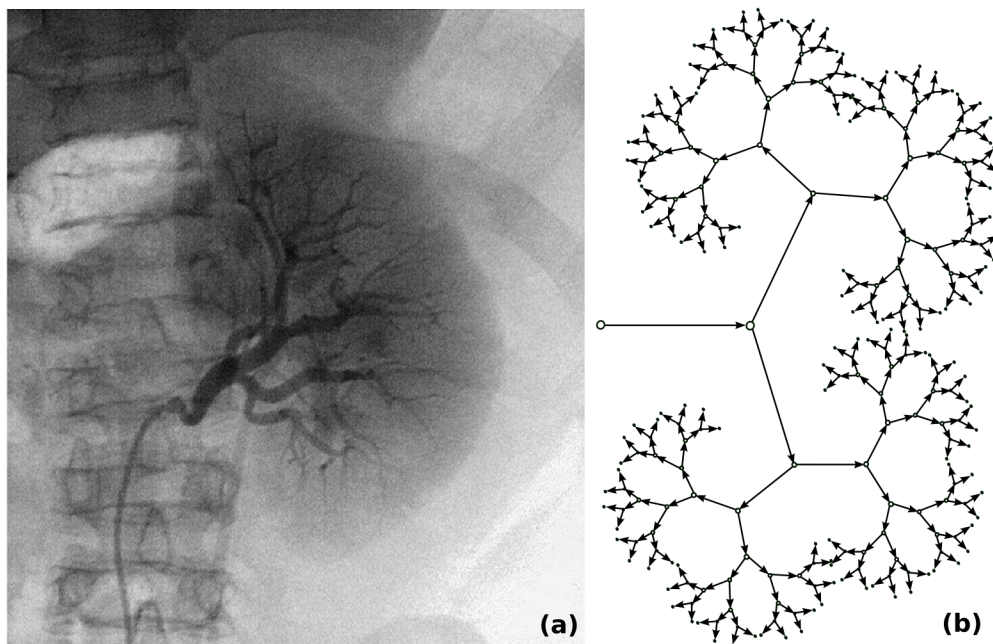


Figura 3.1: (a) Árbol vascular arterial del riñón humano, *i. e.*, un angiograma (Pérez, *et. al.* (2002)) (b) Un grafo conexo acíclico representando un árbol cualitativo; *i. e.*, no existe información fisiológica en él.

Existe una similitud morfológica entre el árbol (grafo) y el árbol vascular arterial del riñón (angiograma). Aunque ambos, el árbol y la vasculatura renal son muy similares (véase la Figura 3.1), un árbol tal cómo se definió anteriormente no incluye los datos fisiológicos en vértices o aristas. Por lo tanto, a fin de modelar un árbol G para visualizar la topología del árbol vascular arterial del riñón en el cual se pueda incluir la información fisiológica, redefinimos un grafo. Nuestra nueva definición sólo modifica la función de incidencia, lo que nos permite asociar a cada arista uno o a lo más dos vértices e introducir algunos parámetros fisiológicos en el grafo. Una ventaja de la re-definición de grafo, es que la vasculatura arterial renal puede terminar en aristas, ya que los vértices son el lugar donde se presenta el estímulo angiogénico para que se genere la bifurcación arterial. Esto es importante porque permite tener información fisiológica en el grafo sobre los recursos genéticos tal cómo se describen a continuación.

3.2 Grafo G_R

Definición 1. Un *grafo* G_R es una terna ordenada $(V(G_R), E(G_R), \psi_{G_R})$ que consiste de un conjunto no vacío $V(G_R)$ de vértices, de un conjunto $E(G_R)$ de aristas y de una función de incidencia $\psi_{G_R} : E(G_R) \rightarrow K_{\leq 2}^{V(G_R)}$, donde $K_{\leq 2}^{V(G_R)} = V(G_R) \cup (V(G_R) \times V(G_R))$. Entonces, para cada arista $e \in E(G_R)$ se cumple alguna de las dos siguientes condiciones:

1. Ψ_{G_R} asocia la arista e a un par de elementos de $V(G_R)$, $\Psi_{G_R}(e) = \{u, v\}$. La arista e tiene dos vértices extremos.
2. Ψ_{G_R} asocia la arista e a un elemento de $V(G_R)$, $\Psi_{G_R}(e) = \{u\}$. La arista e tiene un vértice extremo.

Sea G_R un árbol y con las siguientes características:

- G_R representa el árbol vascular arterial del riñón.
- Cada arista es un vaso sanguíneo de la vasculatura arterial renal.
- G_R tiene vértices con todas sus aristas orientadas en tal forma que de cada vértice salen dos aristas y llega una, la orientación simboliza la dirección de la circulación del flujo sanguíneo en las arterias.
- Cada arista e es etiquetada como $e_{i(j-1)}$ donde $i \geq 0$ y $j \geq 1$ ($i, j \in \mathbb{N}$), y además cada etiqueta contiene la información fisiológica del vaso sanguíneo.

La etiqueta de las aristas en el árbol G_R es a favor de las manecillas del reloj para ambos subíndices i y j . En G_R el subíndice i indica que arista genera cuales aristas en la bifurcación arterial. El árbol G_R tiene una profundidad j , donde cada j es un segmento en G_R . La etiqueta en los vértices, también es a favor de las manecillas del reloj y es denotada por el subíndice t ($t \in \mathbb{N}$) en el vértice en G_R , además de ser el que marca la bifurcación arterial. Así, dadas cualesquiera de las aristas de una bifurcación arterial de la Figura 3.2 ($m > 2$, $m \in \mathbb{N}$ y $j \geq 2$), estas están relacionadas con i de la siguiente forma:

$$i = \begin{cases} \frac{(m-1)}{2} & \text{si el subíndice } m \text{ es impar} \\ \frac{m-2}{2} & \text{si el subíndice } m \text{ es par} \end{cases},$$

donde i denota la arista que genera las otras dos aristas en la bifurcación, en G_R el subíndice $j - 1$ denota la profundidad del vaso sanguíneo pre-existente en el árbol de la vasculatura arterial renal.

3.3 Parámetros fisiológicos en G_R

De conformidad a lo discutido en el Capítulo 2, procederemos a incluir los parámetros fisiológicos en el grafo G_R . Sea G_R un árbol con aristas orientadas y etiquetadas, donde cada arista representa un vaso sanguíneo del árbol vascular arterial del riñón. Una etiqueta en el árbol G_R es una función $f : E(G_R) \rightarrow (R_+ \cup \{0\})^p$, donde p es el número de parámetros fisiológicos considerados para el desarrollo del árbol vascular arterial renal. A continuación, se definen los parámetros fisiológicos utilizados en el desarrollo de la bifurcación arterial de acuerdo a la Subsección 2.3.1.

Ahora cada arista es etiquetada como $e_{i(j-1)}(s, C_{gf}, l, d, \theta)$ donde s es el proceso utilizado en el desarrollo de la bifurcación arterial: angiogénesis por brote o por partición; C_{gf} es la concentración de VEGF en el vaso sanguíneo; l es la longitud del vaso sanguíneo; d es el diámetro del vaso sanguíneo y $\theta_{(m-1)} + \theta_m$ el ángulo de bifurcación arterial, ver Figura 3.3. Nótese que cada arista incluye información fisiológica del i -ésimo vaso sanguíneo que generará la bifurcación arterial mediante angiogénesis que ocurre por brote o por partición.

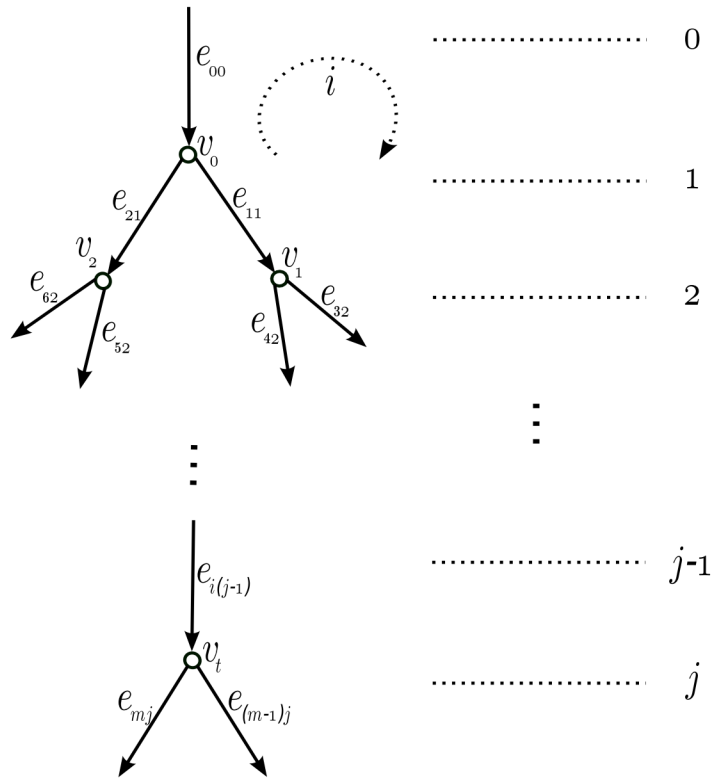


Figura 3.2: Árbol de G_R que tiene vértices con aristas orientadas y etiquetadas.

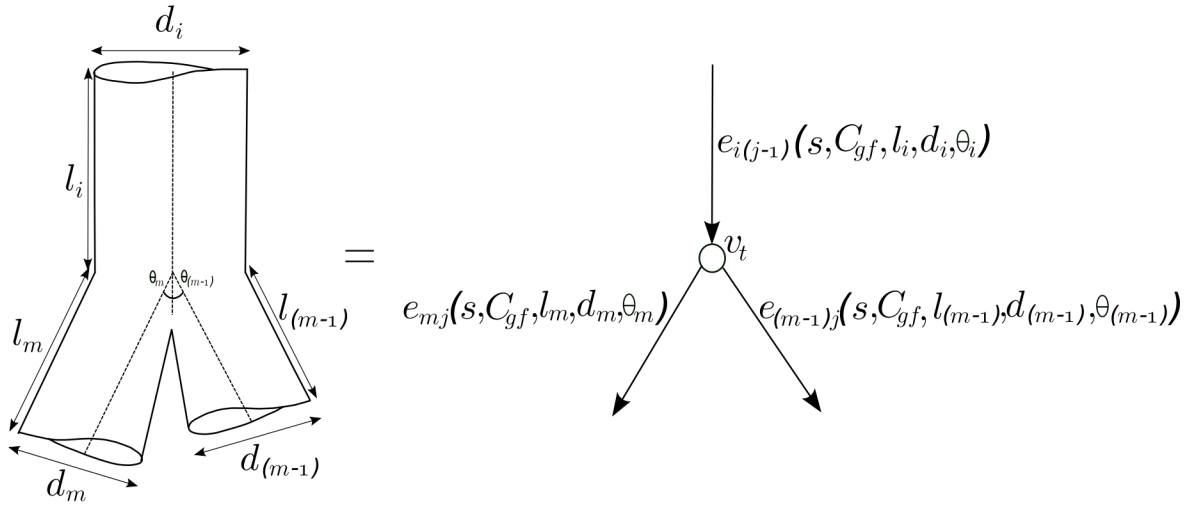


Figura 3.3: Representación de una bifurcación arterial en G_R con aristas etiquetadas y orientadas.

3.4 Angiogénesis: a_b y a_p

Definición 2. Sea a_b el proceso de angiogénesis por brote. Entonces, $s = a_b$ genera un nuevo vaso sanguíneo en la arista $e_{i(j-1)}$, el cual es formado por k ($k \in \mathbb{N}$) células endoteliales (ver Figura 3.4).

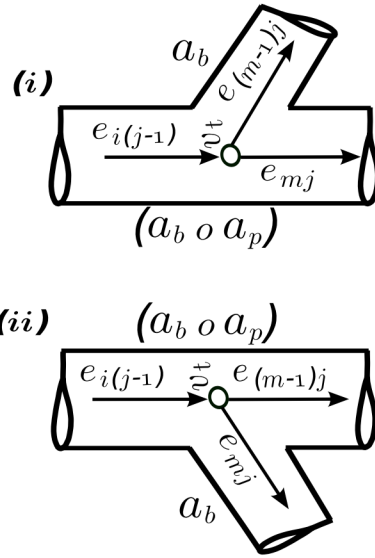


Figura 3.4: Angiogénesis por brote.

Es importante distinguir si el brote ocurre en la arista $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} , ya que esto afecta la geometría de G_R debido a los parámetros fisiológicos utilizados, *i. e.*, afecta la morfología del árbol vascular arterial del riñón. El parámetro d del nuevo vaso generado por brote cumple lo siguiente:

1. Si el nuevo vaso sanguíneo en $e_{i(j-1)}$ (vaso sanguíneo pre-existente) es $e_{(m-1)j}$, formado por a_b , entonces $d_{m-1} < d_m$ y $d_m = d_i$.
2. Si el nuevo vaso sanguíneo en $e_{i(j-1)}$ es e_{mj} , formado por a_b , entonces $d_m < d_{m-1}$ y $d_{m-1} = d_i$.

La relación con respecto al ángulo de bifurcación arterial se obtiene de datos experimentales, donde para $e_{(m-1)j}$ formado por a_b se cumple que $\theta_{m-1} > \theta_m$ y para e_{mj} formado por a_b se cumple que $\theta_m > \theta_{m-1}$ (Gabryś, *et. al.*, 2005; Patan, 2000).

Definición 3. Sea a_p el proceso de angiogénesis por partición. Entonces, $s = a_p$ genera dos nuevos vasos sanguíneos en la arista $e_{i(j-1)}$ (véase Figura 3.5).

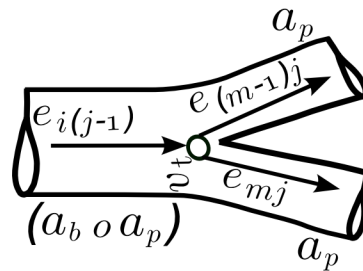


Figura 3.5: Angiogénesis por partición.

El vaso sanguíneo pre-existente $e_{i(j-1)}$ se bifurca en $e_{(m-1)j}$ y e_{mj} . El parámetro d de los dos nuevos vasos generados por partición cumple la siguiente condición:

1. Los diámetros de los nuevos vasos sanguíneos son $d_{m-1} = d_m = \frac{d_i}{2}$.

El ángulo de bifurcación arterial es $\theta_{m-1} + \theta_m = 75^\circ$ (Gabryś, *et. al.*, 2005; Patan, 2000).

El análisis que se hace en a_b y a_p es el siguiente: por definición, angiogénesis implica la generación de nuevos vasos sanguíneos a partir de uno pre-existente. El vaso sanguíneo ya existente puede ser previamente formado por brote o por partición (veáse Figura 3.6).

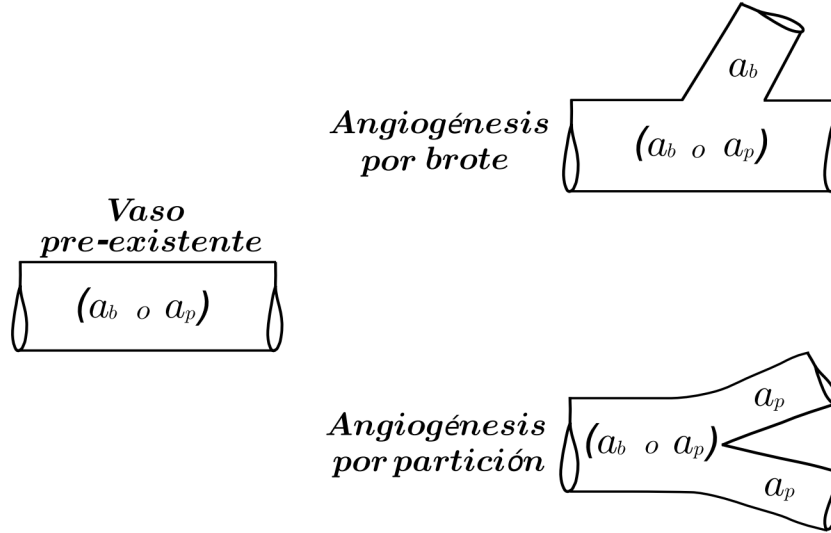


Figura 3.6: Cuando la angiogénesis es activada, el desarrollo de la bifurcación arterial puede ser por brote (a_b) o por partición (a_p).

3.5 Análisis de angiogénesis en G_R

La angiogénesis por brote y por partición tienen pasos en común, pero la más importante diferencia es que en brote existe migración de células endoteliales, mientras que en partición sólo existe reordenación de las ya existentes en el vaso sanguíneo pre-existente. Por definición los procesos de a_b y a_p son mutuamente excluyentes, entonces $a_b \neq a_p$.

Ahora bien, si el nuevo vaso sanguíneo es formado por brote y etiquetado en $e_{(m-1)j}$, con respecto a $d_m = d_i$ tenemos que si el $(m-1)j$ -ésimo vaso sanguíneo es formado por a_b , entonces el mj -ésimo vaso sanguíneo corresponde a una parte del vaso sanguíneo pre-existente $e_{i(j-1)}$, lo cual implica que $d_m = d_i$. De la misma forma si el nuevo vaso sanguíneo es formado por brote y etiquetado en e_{mj} , el vaso $e_{(m-1)j}$ tiene el mismo diámetro que el vaso sanguíneo pre-existente $e_{i(j-1)}$, *i. e.*, $d_{m-1} = d_i$. Nótese que existen dos implicaciones de este análisis: (a) si el nuevo vaso sanguíneo es formado por brote, el diámetro de una de las aristas $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} en la bifurcación es igual al diámetro del vaso sanguíneo pre-existente $e_{i(j-1)}$ y (b) el proceso de brote tiene efecto geométrico en el árbol G_R , *i. e.*, depende de que arista $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} es brote. Complementariamente, si los dos nuevos vasos $e_{(m-1)j}$ y e_{mj} son formados por partición, el vaso sanguíneo pre-existente $e_{i(j-1)}$ puede ser brote o partición.

Existen seis posibles combinaciones para angiogénesis por brote y por partición en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón. Esto es, las combinaciones de la Figura 3.7

son las siguientes: (i) si las aristas $e_{i(j-1)}$ y $e_{(m-1)j}$ son formadas por a_b , entonces e_{mj} es formada por a_b . (ii) si las aristas $e_{i(j-1)}$ y e_{mj} son formadas por a_b , entonces $e_{(m-1)j}$ es formada por a_b . (I) si $e_{i(j-1)}$ es formada por a_p y $e_{(m-1)j}$ es formada por a_b , entonces e_{mj} es formada por a_p . (II) si $e_{i(j-1)}$ es formada por a_p y e_{mj} es formada por a_b , entonces $e_{(m-1)j}$ es formada por a_p . Complementariamente, para (iii) o (III) si $e_{(m-1)j}$ y e_{mj} son formadas por a_p , entonces $e_{i(j-1)}$ puede ser formada por a_b o a_p , respectivamente. Todas las bifurcaciones tienen la misma posibilidad de ocurrir, donde a_b y a_p cada una puede desarrollar tres diferentes estructuras de bifurcación arterial.

$$\begin{aligned} \text{Si } e_{i(j-1)} \text{ es } a_b, &\Rightarrow \text{ pueden generarse las bifurcaciones} = \begin{cases} a_b a_b, \\ a_b a_b, \text{ o} \\ a_p a_p \end{cases} \\ \text{o} \\ \text{Si } e_{i(j-1)} \text{ es } a_p, &\Rightarrow \text{ pueden generarse las bifurcaciones} = \begin{cases} a_b a_p, \\ a_p a_b, \text{ o} \\ a_p a_p \end{cases} . \end{aligned}$$

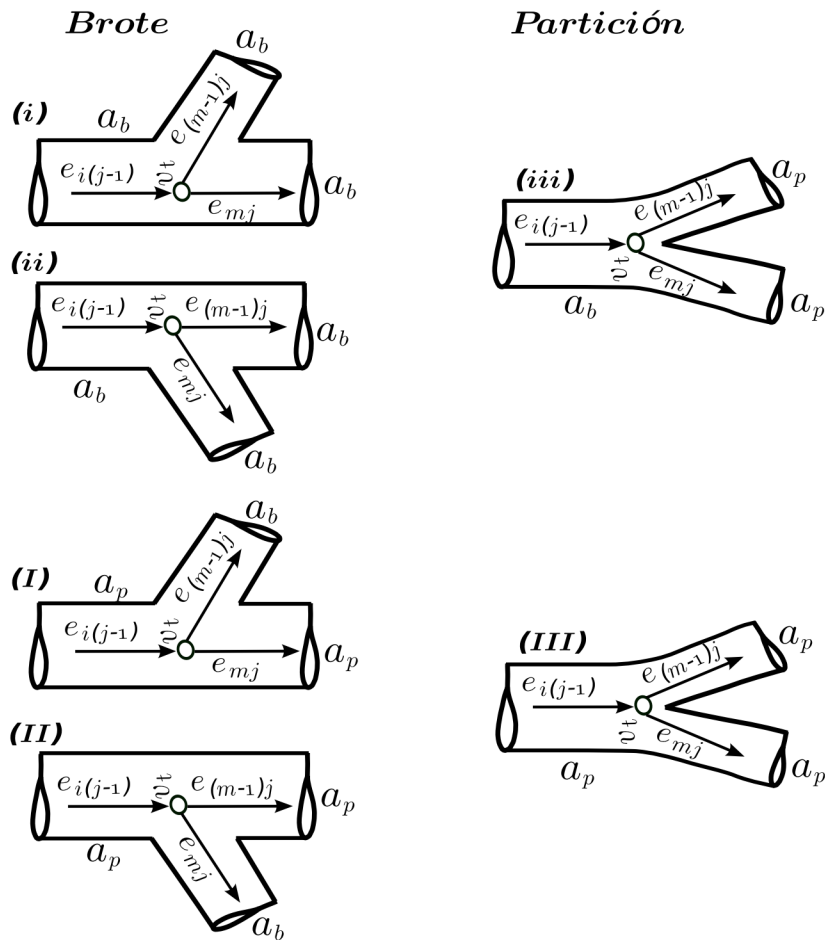


Figura 3.7: Existen seis posibles combinaciones para angiogénesis por a_b y a_p en el desarrollo de la vasculatura arterial renal. Para más claridad en la figura denotamos con (i, ii, iii) los casos donde el vaso sanguíneo pre-existente es a_b y denotamos con (I, II, III) para cuando el vaso sanguíneo pre-existente es a_p .

Entonces, tenemos que a_b genera solo un nuevo vaso sanguíneo en un vaso sanguíneo pre-existente, mientras que a_p genera dos nuevos vasos sanguíneos. Si observamos la estructura de G_R (ver Figura 3.2) podemos asociar a cada ramificación un vértice (v_i) y ver que solo dos aristas se encuentran después de cada vértice. Por lo que, desde el punto de vista de la teoría de grafos podemos concluir que la angiogénesis genera dos aristas en el árbol G_R . Por lo tanto, tenemos bifurcaciones independientemente si el desarrollo ocurre por brote o por partición.

Si el árbol vascular arterial del riñón se desarrolla mediante a_b y a_p , entonces cada segmento de G_R tiene 2^j vasos sanguíneos. La vasculatura arterial renal se desarrolla de la siguiente forma indistintamente si ocurre a_b o a_p en cada vértice:

- Para el segmento $j = 0$, la arteria renal es el único vaso sanguíneo en la vasculatura (es decir, la condición inicial), esto es, es la raíz de G_R , ver Figura 3.2.
- Una vez activado el proceso de angiogénesis en la arteria renal, para $j = 1 \exists 2$ nuevos vasos sanguíneos.
- Para el segmento $j = 2, \exists 4$ vasos sanguíneos, entonces tenemos $2 \cdot 2 = 2^2$.
- Para el segmento $j = 3, \exists 8$ vasos sanguíneos, entonces tenemos $2 \cdot 2 \cdot 2 = 2^3$.

Entonces, inductivamente tenemos para el segmento $j = n, (n \in \mathbb{N}) \exists 2^n$ vasos sanguíneos. Por lo que para el n -ésimo segmento tenemos que $\exists 2 \cdot 2^{n-1} = 2^n$ vasos sanguíneos.

Consecuentemente, todos los vértices en el árbol G_R representando el árbol arterial renal cumplen lo siguiente: $\deg_{G_R}(v) = 3 \forall v \in V(G_R)$, *i. e.*, G_R es 3-regular. Esto es por definición de cómo ocurren los procesos de a_b y a_p en el desarrollo de G_R . Este resultado es relevante ya que coincide con los datos reportados experimentalmente (Wahl, *et. al.*, 2004).

Cómo se vio en la Sección 3.4, el árbol vascular arterial del riñón tiene profundidad hasta las arterias interlobulillares y de acuerdo a estudios experimentales (Tomanek, 2001) organizamos su estructura de la siguiente forma: arteria renal, segmento 0; arterias interlobulares, segmentos 1-2; arterias arciformes, segmentos 3-4; arterias interlobulillares, segmentos 5-9. Por lo tanto, tenemos que G_R tiene una profundidad de $0 \leq j \leq 9$.

Lo anterior implica que podemos calcular el número de vasos sanguíneos en cada segmento del árbol G_R cuando esté se desarrolla por a_b y a_p , por ejemplo en el segmento $j = 9$ existen $2^9 = 512$ arterias interlobulillares. Así, el árbol vascular arterial del riñón se desarrolla por a_b y a_p , entonces podemos determinar el número total de vasos sanguíneos denotado por b_v , en el j -ésimo segmento, esto es:

$$b_v = \sum_{k=0}^j 2^{j-k},$$

para $0 < j \leq 9$. Por ejemplo, para el segmento $j = 5 \exists b_v = \sum_{k=0}^5 2^{5-k} = 63$ vasos sanguíneos en G_R , mientras que para $j = 9 \exists b_v = \sum_{k=0}^9 2^{9-k} = 1023$ vasos sanguíneos en G_R .

El grado diámetro de asimetría en una bifurcación es expresado por el índice: $\alpha = \frac{d_{m-1}}{d_m}$, donde $0 < \alpha \leq 1$ y los diámetros d_{m-1} y d_m son como los discutidos en la Figura 3.3. El índice determina la asimetría entre los dos diámetros en la bifurcación. Cuando $\alpha = 1$, los dos diámetros son iguales, *i. e.*, $d_{m-1} = d_m$, y contrariamente un diámetro es más grande

que el otro, *i. e.*, $d_{m-1} < d_m$ cuando $\alpha < 1$. El árbol es simétrico si $\alpha = 1$ en todas las bifurcaciones en cada segmento en todo G_R .

Si existen a_b y a_p en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón, entonces el árbol G_R es asimétrico. Supóngase que existen los procesos de a_b y a_p en G_R , entonces tenemos:

(1) Si el nuevo vaso sanguíneo es generado por a_b , entonces $d_{m-1} < d_m$ lo cual implica que el índice es $\alpha < 1$.

(2) Por otro lado si los dos nuevos vasos sanguíneos son generados por a_p , entonces $d_{m-1} = d_m$ lo cual implica que el índice es $\alpha = 1$.

Por lo tanto, α no es constante en todo el desarrollo de la vasculatura arterial renal, esto es en G_R . El árbol vascular arterial del riñón es asimétrico de acuerdo a lo observado experimentalmente. Al considerar los dos procesos de crecimiento en el desarrollo de la vasculatura arterial renal, por lo que G_R también es asimétrico.

Capítulo 4

Modelado del desarrollo del árbol vascular arterial del riñón

En este capítulo se estudiará un modelo de cómo se genera el árbol vascular arterial renal utilizando el grafo G_R e incorporando la información fisiológica en él. Así también, se realizará un análisis de la contribución de a_b y a_p para el desarrollo de G_R .

4.1 Función del vértice en la bifurcación arterial

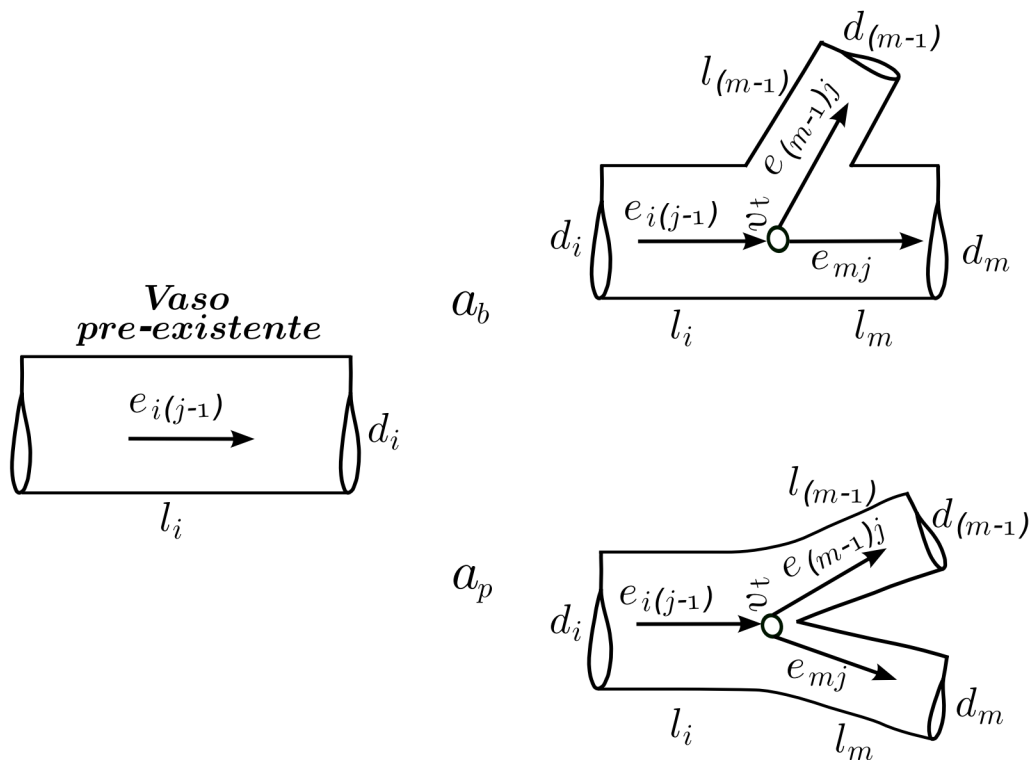


Figura 4.1: Vaso pre-existente en G_R , donde el vértice tiene la información si la bifurcación arterial se va a desarrollar por a_b o a_p .

La dinámica del árbol vascular arterial del riñón, *i. e.*, de G_R está en el vértice (ver Figura 4.1). En términos fisiológicos el vértice es el lugar donde se presenta el estímulo angiogénico para que se lleve a cabo el proceso de angiogénesis ya sea por brote o por partición. Unas preguntas inmediatas a esto son: (1) ¿qué cantidad de C_{gf} en el vaso sanguíneo pre-existente activa la migración de células endoteliales? o (2) contrariamente ¿qué cantidad de C_{gf} en el vaso sanguíneo pre-existente activa la reorganización de células endoteliales? No contamos con la información de datos experimentales al respecto para poder responder estas preguntas ((1) y (2)), motivo por el cual, en este trabajo solo consideramos el desarrollo de la bifurcación arterial probabilísticamente por a_b si existe migración de células endoteliales y por a_p si no. Esto independientemente de la concentración de VEGF existente en el vaso sanguíneo pre-existente, en la siguiente sección se detalla más lo referente a la concentración de VEGF.

4.2 Incorporación de información fisiológica en G_R

El modelo del desarrollo de G_R incluye los parámetros fisiológicos (s, C_{gf}, l, d, θ). Existen dos procesos por los cuales se puede desarrollar la bifurcación arterial en G_R :

$$\text{En } e_{i(j-1)} \text{ s genera la bifurcación arterial por } \begin{cases} a_b \text{ si } \exists ec \\ a_p \text{ si } \nexists ec \end{cases},$$

donde ec es la migración de células endoteliales en dirección del estímulo angiogénico. La probabilidad de angiogénesis por brote es P_{ab} y se selecciona su valor del conjunto $\{0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\}$, donde la probabilidad de angiogénesis por partición es $P_{ap} = 1 - P_{ab}$, se seleccionaron estas probabilidades debido a que no existe información experimental de cual es la aportación de cada uno de los procesos de angiogénesis para el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón. Se conjetura de que existen máximo en una igual probabilidad en el desarrollo de G_R y que a_p es más probable. Esto se debe a que en procesos biológicos se ahorra la mayor cantidad de energía posible, lo cual ocurren por definición en el proceso de angiogénesis por partición (solamente existe reorganización de células endoteliales ya existentes en el vaso sanguíneo pre-existente). Una vez determinado el proceso por el cual se va a desarrollar la bifurcación arterial, necesitamos obtener los valores de los parámetros (C_{gf}, l, d, θ).

C_{gf} es un factor regulador esencial para el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón, esto es, en ambos procesos de angiogénesis. Mientras C_{gf} en brote promueve en las células endoteliales la diferenciación, migración, proliferación y ensamblado, su efecto en angiogénesis por partición aún se está investigando. Durante el proceso de angiogénesis por brote la longitud y el diámetro están relacionados con C_{gf} por una aproximación polinomial (véase Figura 3 de Nakatsu, *et. al.*, 2003). Aquí nos enfocamos en determinar el valor de las longitudes en la bifurcación arterial en función de C_{gf} , esto es, en este trabajo no se discutirá el valor de los diámetros en los vasos sanguíneos. Esto debido a que no contamos con la suficiente información de la influencia de C_{gf} en d para angiogénesis por brote y por partición.

$C_{gf} \in [C_{gf}, \overline{C_{gf}}]$, donde C_{gf} y $\overline{C_{gf}}$ es el valor mínimo y máximo, respectivamente. Experimentalmente, para $C_{gf} \in [0, 35]ng/mL$ el número de brotes tendió a aumentar para C_{gf} bajas $(2.5 - 5)ng/ml$ y disminuyó para C_{gf} altas $(15 - 35)ng/ml$. La longitud del brote

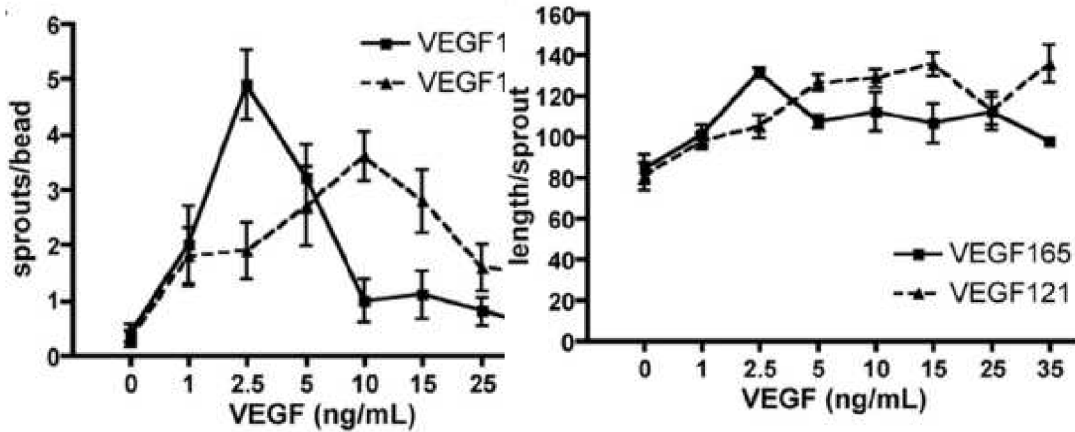


Figura 4.2: Izquierda: Muestra el comportamiento de cómo se da el aumento y disminución de la cantidad de brotes con respecto al comportamiento de C_{gf} . Derecha: Muestra el comportamiento de la longitud en el brote en base a C_{gf} (Nakatsu, *et. al.*, 2003).

también tendió a aumentar ligeramente para C_{gf} bajas (2.5 – 5) ng/ml y disminuyó para C_{gf} altas (15 – 35) ng/ml . Se observó experimentalmente un aumento en el diámetro del vaso sanguíneo para C_{gf} altas, además de determinar que C_{gf} no es requerido para el mantenimiento de los vasos sanguíneos, esto una vez que se hayan formado (Nakatsu, *et. al.*, 2003).

El valor de la longitud adimensional de los datos experimentales l_e , donde $l_e \in [80, 130]$ en base a datos experimentales de la Figura 4.2 (Nakatsu, *et. al.*, 2003). Esto permite derivar la función $l_e : [C_{gf}, \overline{C_{gf}}] \rightarrow [l_e, \overline{l_e}]$, la cual se puede aproximar para VEGF₁₂₁ por:

$$l_e = 0.00878C_{gf}^3 - 0.51326C_{gf}^2 + 8.52128C_{gf} + 81.12064. \quad (4.2.1)$$

El árbol vascular arterial del riñón consiste de múltiples segmentos de vasos sanguíneos con variedad en longitud y diámetros. Se determina el valor de la longitud de él o los dos nuevos vasos sanguíneos desarrollados en la bifurcación arterial, dependiendo del segmento j en el cual se encuentren. Nos basamos en los datos experimentales de Nordsletten, *et. al.*, donde reconstruyeron las longitudes de los vasos sanguíneos para los diferentes segmentos del árbol vascular arterial de riñón de una rata. De aquí en adelante se considerará el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón de rata, esto porque el patrón de distribución de los vasos sanguíneos en el riñón es muy preciso, constante, genéticamente determinado y se reproduce en forma casi idéntica en todas las especies. Es decir, para realizar el modelo del árbol vascular arterial renal para cualquier especie solo se cambiarían los rangos de los segmentos para las diferentes arterias en el árbol. Entonces:

arterias interlobulares: $j \in [1, 2]$, $l \in [0.793, 10.306]mm$,

arterias arciformes: $j \in [3, 4]$, $l \in [0.357, 4.569]mm$ y

arterias interlobulillares: $j \in [5, 9]$, $l \in [0.014, 1.217]mm$

Así partiendo de lo anterior, a continuación se explica el algoritmo utilizado para modelar el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón.

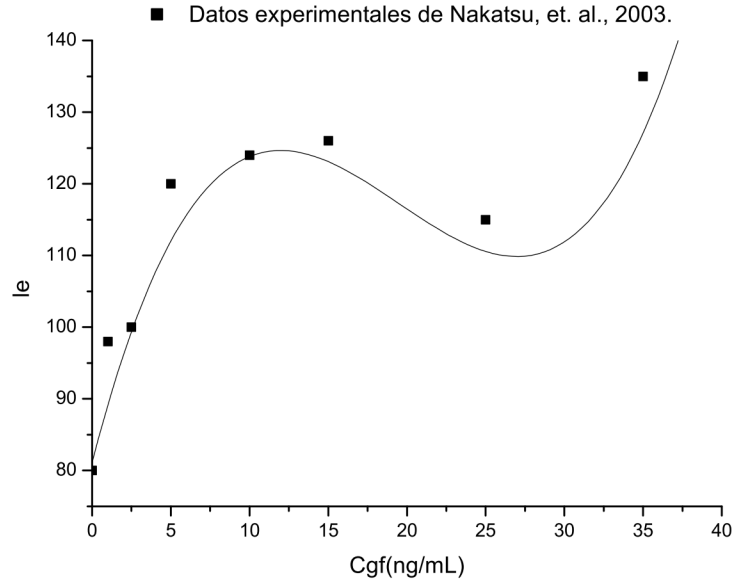


Figura 4.3: l_e es una aproximación basada en datos experimentales para $C_{gf} = \text{VEGF}_{121}$ (Nakatsu, *et. al.*, 2003)

4.3 Algoritmo recursivo estocástico

El programa modela el desarrollo de la morfología del árbol vascular arterial del riñón. El algoritmo propuesto en este trabajo gestiona el desarrollo de la vasculatura arterial renal incorporando información fisiológica para su crecimiento y funcionalidad. El programa se hizo en Mathematica de Wolfram, versión 6, en el cual algunos parámetros están basados en datos experimentales y otros son generados aleatoriamente dentro de un rango de acuerdo a estudios previamente publicados. En el Apéndice A se muestra el algoritmo del programa desarrollado. En general los parámetros $(s, C_{gf}, l, d, \theta)$ en este programa se obtienen de la siguiente forma:

Paso 1: Para el segmento $j = 0$ tenemos la arteria renal, este vaso sanguíneo es la raíz del árbol G_R . Se etiqueta la arista como $e_{00}(s, C_{gf}, l_{00}, d_{00}, \theta_{00})$, donde s es a_b o a_p de acuerdo a P_{ab} y P_{ap} . Entonces, $C_{gf} \in [0, 35] \text{ng/mL}$ se genera aleatoriamente el valor de C_{gf} ; $l_{00} = 5 \text{ mm}$; $d_{00} = 1$ y $\theta = 0^\circ$.

Paso 2: El parámetro s es definido en $e_{i(j-1)}$:

- Si el desarrollo de la bifurcación arterial es por a_b :

1. $C_{gf} \in [C_{gf}, \overline{C_{gf}}]$ es generada aleatoriamente, dentro del rango $[0, 35] \text{ng/mL}$. Entonces, l_e se obtiene de

$$l_e = 0.00878C_{gf}^3 - 0.51326C_{gf}^2 + 8.52128C_{gf} + 81.12064,$$

esto de acuerdo al valor obtenido de C_{gf} .

2. $l : [C_{gf}, \overline{C_{gf}}] \rightarrow [l, \bar{l}]$ donde $l \in \mathbb{R}^+$. La longitud l del nuevo vaso sanguíneo generado por a_b en $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} es determinado en base al valor obtenido de l_e y al segmento en el cual se desarrollará:

arterias interlobulares:

$$j \in [1, 2], l = 0.207078952l_e - 16.00545171, l \in [0.793, 10.306]mm$$

arterias arciformes:

$$j \in [3, 4], l = 0.091686802l_e - 7.08072507, l \in [0.357, 4.569]mm \text{ y}$$

arterias interlobulillares:

$$j \in [5, 9], l = 0.0261869l_e - 2.110307516, l \in [0.014, 1.217]mm.$$

3. La longitud l del vaso sanguíneo en $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} (vaso sanguíneo \neq al vaso sanguíneo del punto 2), depende en dónde se presentó el estímulo angiogénico en $e_{i(j-1)}$, *i. e.*, $l = l_i - a$, $a \in [0.3, 0.7]mm$. Esto es, donde se pone el vértice en G_R para marcar la bifurcación arterial.
4. El diámetro está definido por $d : [C_{gf}, \overline{C_{gf}}] \rightarrow [d, \bar{d}]$ donde $d \in \mathbb{R}^+$. El diámetro d del vaso sanguíneo $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} (vaso sanguíneo = al vaso sanguíneo del punto 2) generado por a_b satisface que $d < d_i$ del vaso pre-existente $e_{i(j-1)}$.
5. El diámetro d para el vaso sanguíneo $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} (vaso sanguíneo = al vaso sanguíneo del punto 3) en la bifurcación arterial satisface que $d = d_i$ del vaso sanguíneo pre-existente $e_{i(j-1)}$.
6. El ángulo de bifurcación arterial de los vasos sanguíneos. El ángulo de $e_{(m-1)j}$ o e_{mj} formado por a_b es más grande que el ángulo del otro vaso sanguíneo, y la suma de estos ángulos cumple que $(\theta_{m-1} + \theta_m) \in [60^\circ, 80^\circ]$.

- Si el desarrollo de la bifurcación es por a_p :

1. $C_{gf} \in [C_{gf}, \overline{C_{gf}}]$ es generada aleatoriamente, dentro del rango $[0, 35]ng/mL$.
2. La longitud de los dos nuevos vasos sanguíneos $e_{(m-1)j}$ y e_{mj} son generados con un factor de reducción 0.67 y también dependiendo en la profundidad en la cual se desarrollarán.

arterias interlobulares:

$$j \in [1, 2], l \in [0.793, 10.306]mm$$

arterias arciformes:

$$j \in [3, 4], l \in [0.357, 4.569]mm \text{ y}$$

arterias interlobulillares:

$$j \in [5, 9], l \in [0.014, 1.217]mm.$$

3. Los diámetros de los dos nuevos vasos sanguíneos cumplen que $d_{m-1} = d_m = \frac{d_i}{2}$.
4. El ángulo de bifurcación es $\theta_{m-1} + \theta_m = 75^\circ$.

Tenemos que C_{gf} esta directamente relacionado con la longitud del nuevo vaso sanguíneo, cuando se desarrolla mediante el proceso de angiogénesis por brote. Para el proceso de angiogénesis por partición no existen datos experimentales de cómo se relaciona C_{gf} en el vaso sanguíneo pre-existente con la longitud de los dos nuevos vasos sanguíneos. En ambos procesos de angiogénesis, los nuevos vasos sanguíneos generados tienden a disminuir sus diámetros conforme aumenta la profundidad en G_R y también depende del segmento de arterias al que pertenecen, ya que estas están dentro de un rango definido.

4.3.1 Ejemplo

Se generaron los parámetros $(s, C_{gf}, l, d, \theta)$ dentro del rango de estudios experimentales previamente reportados. Los siguientes pasos se realizan para el desarrollo de cada una de las bifurcaciones arteriales en G_R :

- Supóngase un 50% de probabilidad de que exista migración de células endoteliales hacia el estímulo angiogénico y un 50% que no exista, *i. e.*, que las células endoteliales del vaso pre-existente solamente se reorganizan para generar la bifurcación arterial. Tenemos que:

$$s \text{ en } e_{i(j-1)} \text{ genera la bifurcación por } \begin{cases} a_b \text{ si } \exists ec \\ a_p \text{ si } \nexists ec \end{cases},$$

entonces $s = a_b$ o $s = a_p$ ocurren en el desarrollo de G_R con igual probabilidad. Esto es, $a_b = 0.5$ y $a_p = 0.5$.

- $C_{gf} \in [0, 35] \text{ ng/mL}$ se genera aleatoriamente, rango basado en los resultados experimentales de Nakatsu, *et. al.*, (2003).
- La función l_e es obtenida en base al valor C_{gf} obtenido, $l_e = 0.00878C_{gf}^3 - 0.513C_{gf}^2 + 8.521C_{gf} + 81.12$. Entonces, l se determina en base a datos experimentales de acuerdo al segmento en el cual se desarrollarán los nuevos vasos sanguíneos en la bifurcación arterial por a_b o a_p .

$$\begin{aligned} \text{arterias interlobulares: } j \in [1, 2], l \in [0.793, 10.306] \text{mm}, \\ l = 0.207078952l_e - 16.00545171, \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{arterias arciformes: } j \in [3, 4], l \in [0.357, 4.569] \text{mm}, \\ l = 0.091686802l_e - 7.08072507 \text{ y} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{arterias interlobulillares: } j \in [5, 9], l \in [0.014, 1.217] \text{mm}, \\ l = 0.0261869l_e - 2.110307516. \end{aligned}$$

- El diámetro para el nuevo vaso sanguíneo o los diámetros de los dos nuevos vasos sanguíneos se generan según el proceso utilizado para desarrollar la bifurcación arterial por a_b o a_p .

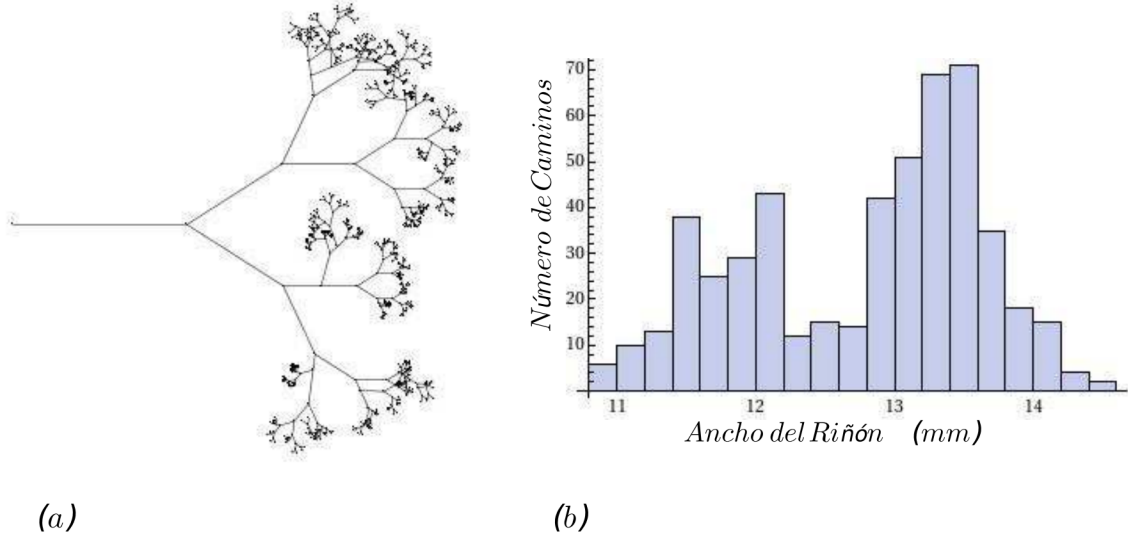


Figura 4.4: (a) Árbol vascular arterial del riñón en G_R donde a_b y a_p tienen 50% de probabilidad en el desarrollo. (b) Histograma con el ancho del riñón para todos los caminos en G_R .

- El ángulo de bifurcación se genera según el proceso utilizado para desarrollar la bifurcación arterial a_b ($\theta_{m-1} + \theta_m \in [60^\circ, 80^\circ]$) o a_p ($\theta_{m-1} + \theta_m = 75^\circ$).

La Figura 4.4 muestra que el árbol vascular arterial del riñón en G_R concuerda con estudios experimentales de Nordsletten, et. al. (ver Tabla 5), donde el camino promedio o ancho del riñón es $17.454 \pm 6.165 \text{ mm}$. El ancho del riñón es la longitud de la raíz de G_R hasta cada una de las aristas que se encuentran en el segmento $j = 9$ (las hojas del árbol). Para este ejemplo tenemos que el ancho del riñón es $12.7898 \pm 0.725 \text{ mm}$.

4.4 Estadísticas de G_R

Se generaron 5000 modelos de la morfología del árbol de la vasculatura arterial renal para cada una de las 5 diferentes probabilidades en a_b y a_p . Esto en base a lo establecido en la Sección 4.2, obteniendo las siguientes gráficas.

La contribución de cada proceso de angiogénesis por brote y por partición en el desarrollo del árbol vascular arterial no se sabe bien aún (Tomanek, 2001). Generamos la vasculatura arterial renal en la Figura 4.5, donde variamos la contribución de a_b y a_p para el desarrollo de G_R . Se observa gráficamente que cuando es más alta la probabilidad de a_p que a_b en el desarrollo de árbol arterial renal, la morfología de G_R es *casi* simétrica solo con respecto a su estructura arborescente sin tomar en cuenta los parámetros fisiológicos. La existencia del proceso de angiogénesis por brote en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón hace que se vuelva asimétrica la morfología de G_R (el análisis se desarrolla en la Sección 3.5).

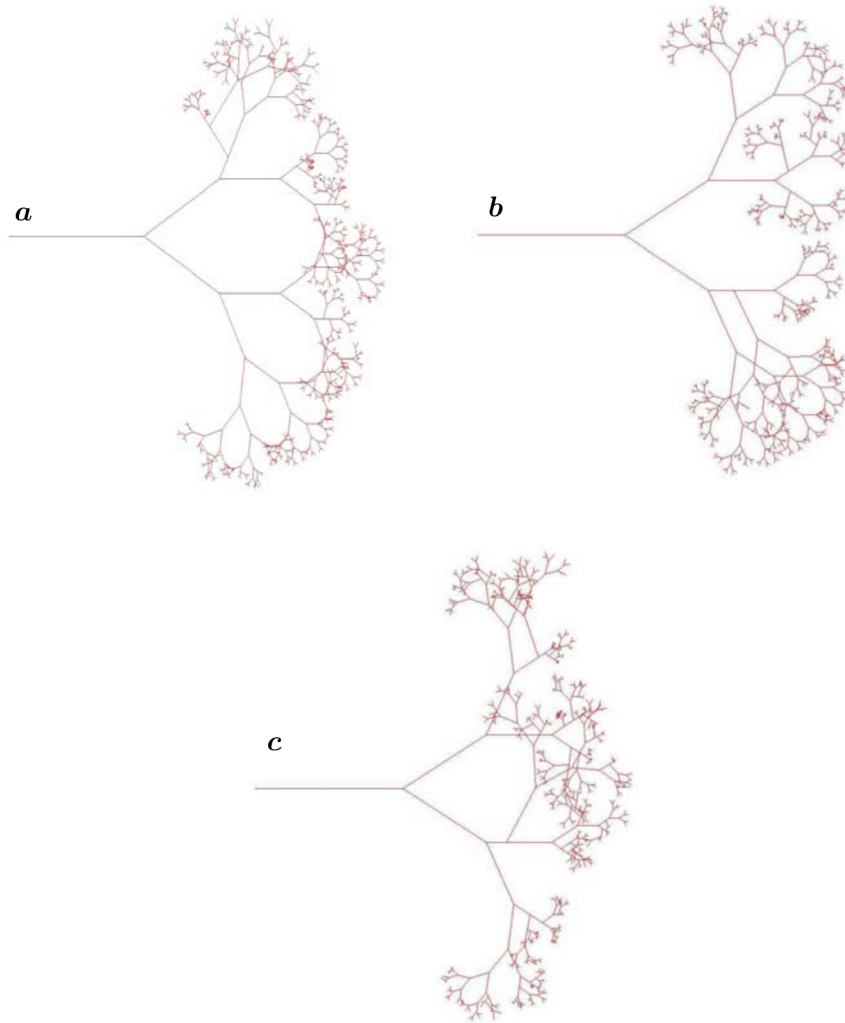


Figura 4.5: Ejemplos del desarrollo en el árbol vascular arterial del riñón usando diferentes probabilidades para los procesos de angiogénesis. (a) a_p es más probable que a_b en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón (80% y 20%, respectivamente). (b) a_p es más probable que a_b en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón (70% y 30%, respectivamente). (c) Ambos procesos a_b y a_p tienen la misma probabilidad en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón (50% y 50%, respectivamente).

La Figura 4.6 muestra la longitud en cada segmento ($1 \leq j \leq 9$) para cada uno de los 5000 G_R para cada una de las 5 diferentes probabilidades. Se puede observar, las longitudes decrecen de forma exponencial, lo cual es de esperarse ya que la longitud en las arterias tiende a decrecer a una mayor profundidad en el árbol vascular arterial del riñón. También se puede observar que conforme aumenta la probabilidad en a_b , la longitud decrece más rápido debido a cómo están definidos los parámetros fisiológicos para el desarrollo en el árbol vascular arterial del riñón.

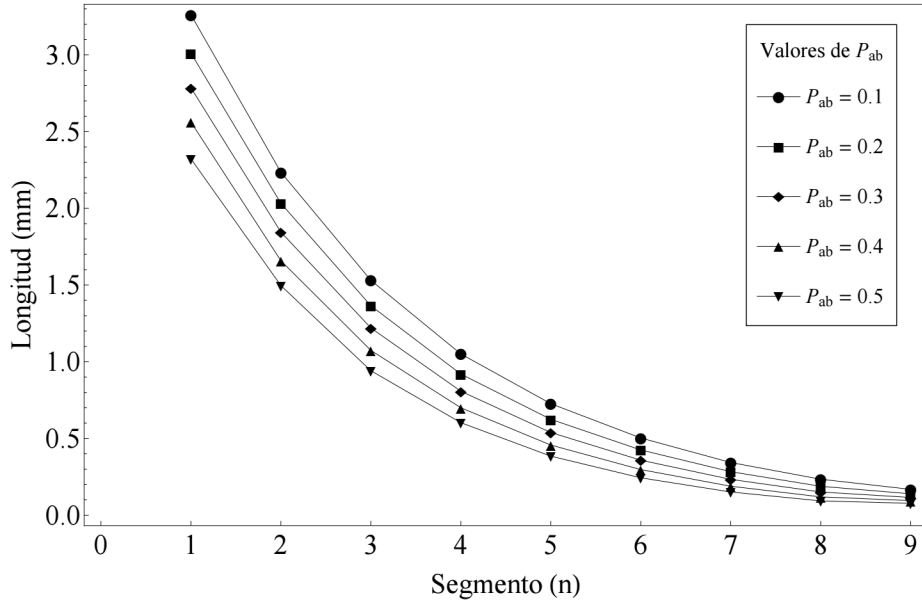


Figura 4.6: Longitud en cada segmento $j > 0$ de G_R para cada una de las 5 diferentes probabilidades en a_b , donde a_p tiene la probabilidad $P_{ap} = 1 - P_{ab}$.

La longitud para cada segmento j denotada por l_j en G_R , se determina analíticamente de la siguiente forma:

$$l_j = l_{00}(P_{ab}\lambda_b + P_{ap}\lambda_p)^j \quad (4.4.1)$$

donde $0 \leq j \leq 9$; $l_{00} = 5mm$ es la longitud de la arteria renal; P_{ab} definida en el conjunto $\{0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\}$ y $P_{ap} = 1 - P_{ab}$; $\lambda_b = 0.5$ es el promedio del factor de contracción para a_b y $\lambda_p = 0.67$ es el factor de contracción para a_p . Entonces la longitud promedio para cada segmento j es:

$l_0 = 5mm$	$l_1 = 3.095mm$
$l_2 = 1.919mm$	$l_3 = 1.191mm$
$l_4 = .741mm$	$l_5 = .462mm$
$l_6 = .287mm$	$l_7 = .179mm$
$l_8 = .112mm$	$l_9 = .070mm$.

Se obtuvo a partir de los experimentos (Figura 4.6) la longitud promedio en cada uno de los segmentos $1 \leq j \leq 9$ para cada una de las 5 diferentes probabilidades en a_b y a_p .

Nuestro modelo se puede observar en la Figura 4.8, para el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón incluyendo los parámetros fisiológicos (s, C_{gf}, l, d, θ). El árbol G_R tiene intersección en diferentes segmentos ($1 \leq j \leq 9$) con los resultados previamente publicados. La más importante diferencia entre el modelo utilizando parámetros fisiológicos y los resultados de Nordsletten, *et. al.*, es en el segmento $j = 2$, donde nuestro modelo tiene una media de longitud más pequeña. Esta diferencia puede deberse a que los árboles arterial y venoso son paralelos y no están bien marcados los límites de los vasos sanguíneos en la Tomografía Computarizada. Nuestros datos son generados considerando parámetros fisiológicos,

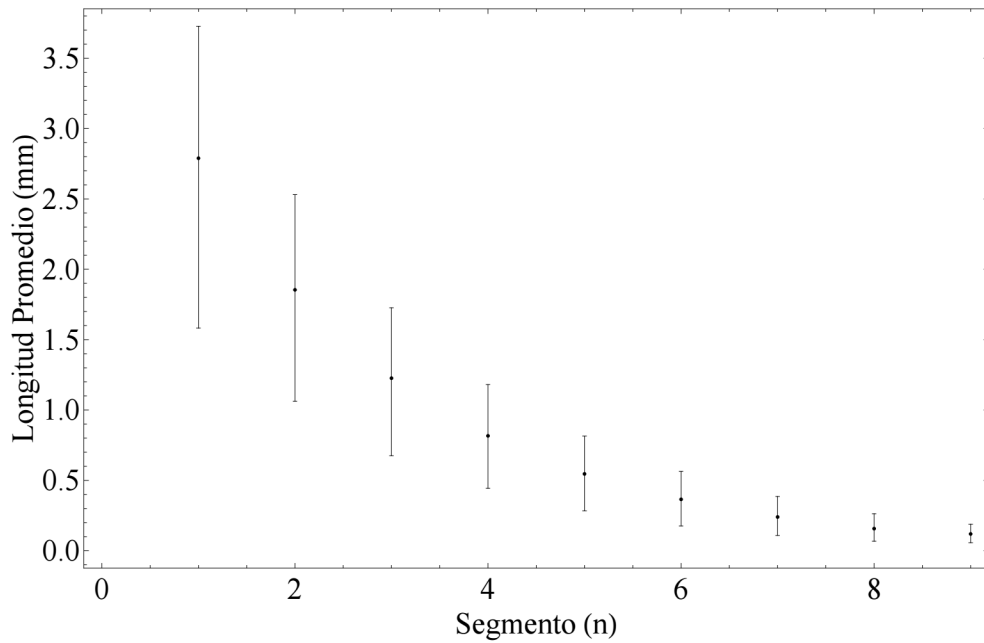


Figura 4.7: La longitud promedio en cada uno de los segmentos de G_R para cada una de las 5 diferentes probabilidades de a_b y a_p en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón.

los cuales concuerdan con el hecho de que los vasos sanguíneos decrecen en el árbol vascular arterial del riñón (Guyton y Hall, 2000).

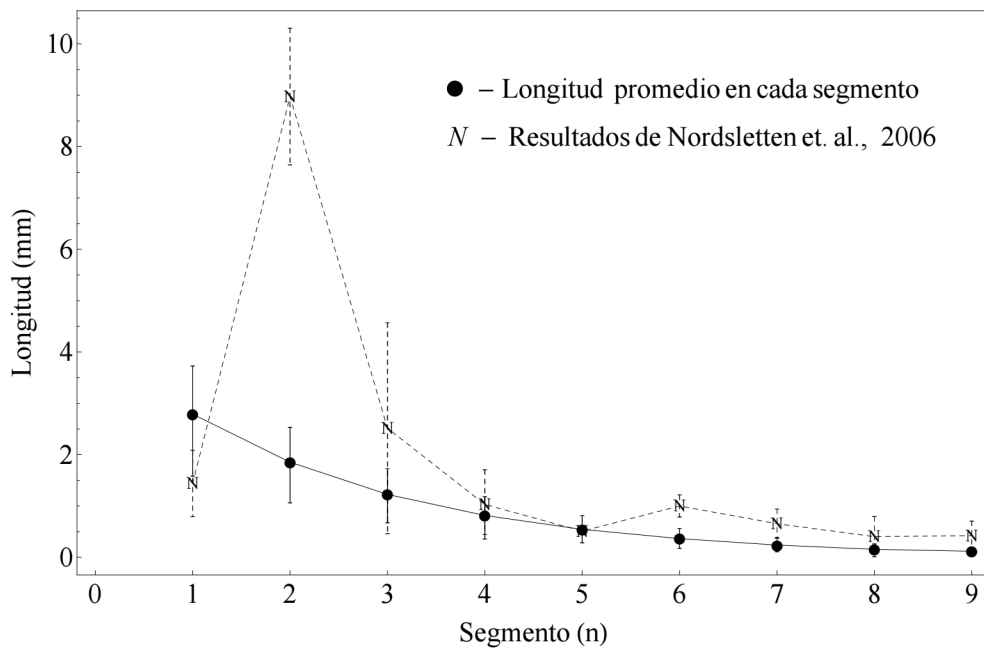


Figura 4.8: Comparación de resultados. Línea sólida: Media para la longitud promedio en la Figura 4.6. Línea punteada: Resultado experimental de Nordsletten, *et. al.*, (2006).

Se obtuvo el ancho promedio del riñón de forma analítica y a cada uno los 5000 árboles G_R generados para las 5 diferentes probabilidades en a_b y a_p . El ancho promedio de G_R denotado por A_{G_R} es la longitud de la raíz (arteria renal, $j = 0$) a las hojas del árbol (aristas interlobulillares, $j = 9$),

$$A_{G_R} = l_{00} \sum_{j=0}^9 (P_{ab}\lambda_b + P_{ap}\lambda_p)^j \quad (4.4.2)$$

donde $l_{00} = 5mm$ es la longitud de la arteria renal (raíz en G_R); P_{ab} es la probabilidad de a_b y $P_{ap} = 1 - P_{ab}$, con P_{ab} definida en el conjunto $\{0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\}$; $\lambda_b = 0.5$ es el promedio del factor de contracción para a_b y $\lambda_p = 0.67$ es el factor de contracción para a_p . Entonces tenemos que:

$$\begin{aligned} P_{ab} = 0.1, A_{G_R} &= 14.20mm \\ P_{ab} = 0.2, A_{G_R} &= 13.59mm \\ P_{ab} = 0.3, A_{G_R} &= 13.01mm \\ P_{ab} = 0.4, A_{G_R} &= 12.48mm \\ P_{ab} = 0.5, A_{G_R} &= 11.99mm. \end{aligned}$$

Lo anterior es considerando el promedio del factor de contracción para λ_b . Ahora bien, si se considera a $\lambda_b \in [0.3, 0.7]$, esto es, obtenemos el promedio con respecto a λ_b de la siguiente forma:

$$\begin{aligned} E_b((P_{ab}\lambda_b + P_{ap}\lambda_p)^j) &= \frac{5}{2P_{ab}} \int_{.3}^{.7} (P_{ab}\lambda_b + P_{ap}\lambda_p)^j P_{ab} d\lambda_b \\ &= \frac{5}{2P_{ab}(j+1)} [(.7P_{ab} + P_{ap}\lambda_p)^{j+1} - (.3P_{ab} + P_{ap}\lambda_p)^{j+1}] \end{aligned}$$

Sea $a = (.7P_{ab} + P_{ap}\lambda_p)^{j+1}$ y $b = (.3P_{ab} + P_{ap}\lambda_p)^{j+1}$, entonces

$$\begin{aligned} A_{G_R} &= \frac{5l_{00}}{2P_{ab}} \sum_{j=0}^9 \left(\frac{a^{j+1}}{j+1} - \frac{b^{j+1}}{j+1} \right) \\ &\simeq \frac{5l_{00}}{2P_{ab}} \sum_{j=0}^{\infty} \left(\frac{a^{j+1}}{j+1} - \frac{b^{j+1}}{j+1} \right) \end{aligned}$$

donde

$$\begin{aligned} \sum_{j=0}^{\infty} \frac{a^{j+1}}{j+1} &= \sum_{j=0}^{\infty} \left(\int_0^a x^j dx \right) = \int_0^a \left(\sum_{j=0}^{\infty} x^j \right) dx \quad (\text{por convergencia uniforme}) \\ &= \int_0^a \frac{dx}{1-x} = -\ln(1-x)|_0^a = \ln\left(\frac{1}{1-a}\right) \end{aligned}$$

De igual forma, tenemos que $\sum_{j=0}^{\infty} \frac{b^{j+1}}{j+1} = \ln\left(\frac{1}{1-b}\right)$, entonces

$$\begin{aligned}
A_{GR} &= \frac{5l_{00}}{2P_{ab}} \ln \left(\frac{1-b}{1-a} \right) \\
&= \frac{5l_{00}}{2P_{ab}} \ln \left(\frac{1 - (.3P_{ab} + P_{ap}\lambda_p)}{1 - (.7P_{ab} + P_{ap}\lambda_p)} \right) \pm .7^{11}
\end{aligned} \tag{4.4.3}$$

Sustituyendo los valores l_{00} , P_{ab} , P_{ap} y $\lambda_p = 0.67$, obtenemos

$$\begin{aligned}
P_{ab} = .1, P_{ap} = .9, \text{ entonces } A_{GR} &= 14.42 \pm .7^{11} \\
P_{ab} = .2, P_{ap} = .8, \text{ entonces } A_{GR} &= 13.79 \pm .7^{11} \\
P_{ab} = .3, P_{ap} = .7, \text{ entonces } A_{GR} &= 13.23 \pm .7^{11} \\
P_{ab} = .4, P_{ap} = .6, \text{ entonces } A_{GR} &= 12.73 \pm .7^{11} \\
P_{ab} = .5, P_{ap} = .5, \text{ entonces } A_{GR} &= 12.28 \pm .7^{11}
\end{aligned}$$

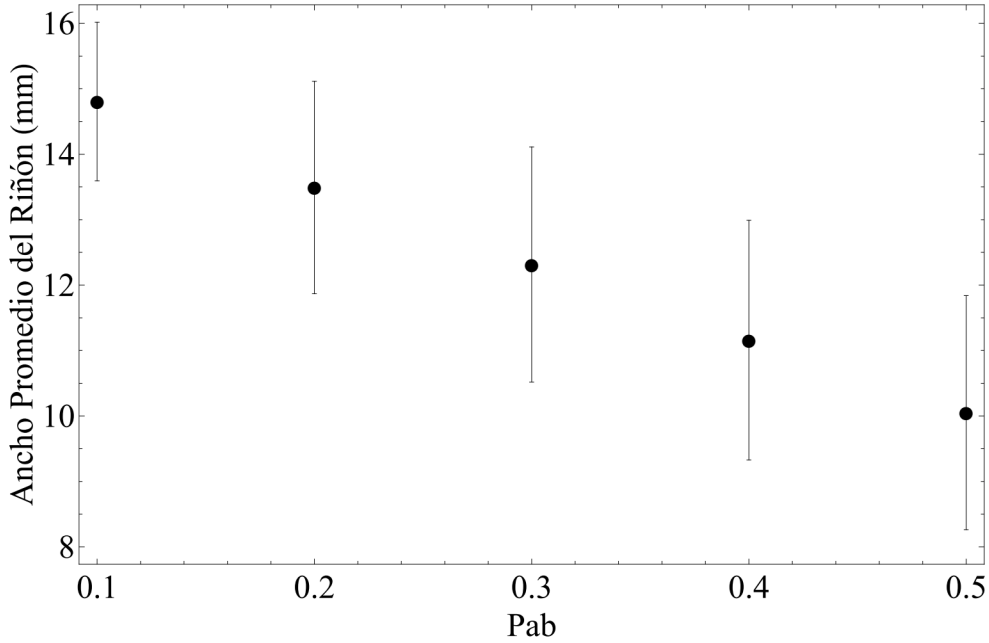


Figura 4.9: Ancho promedio de 5000 árboles generados para cada una de las 5 diferentes probabilidades de a_b y a_p .

Ahora bien, en la Figura 4.9 se puede observar que para cada probabilidad el ancho promedio del riñón está dentro del rango determinado de acuerdo a estudios experimentales reportados, que es de $17.454 \pm 6.165 \text{ mm}$ (Nordsletten, *et. al.*, 2006).

Existe una diferencia en el ancho promedio del árbol vascular arterial de riñón para los diferentes análisis realizados. Esto se debe principalmente al factor de contracción del proceso de angiogénesis por brote (λ_b), ya que valor de $\lambda_b \in [0.3, 0.7]$ se genera de manera aleatoria en el programa para desarrollar la vasculatura arterial renal.

En conclusión se observa que C_{gf} es un regulador esencial para el proceso de angiogénesis por brote específicamente para la longitud de los vasos sanguíneos.

4.5 Dimensión fractal del árbol vascular arterial del riñón

Existen numerosos fenómenos y estructuras cuya geometría exhibe una dimensión fraccional que difiere de la de los objetos de la geometría euclidiana. Generalmente con unos sencillos algoritmos se generan formas y estructuras muy complejas y con unas propiedades sorprendentes. La geometría fractal nos provee de una potente herramienta mediante la cual podemos describir y generar con una reducida cantidad de información, numerosas formas de la naturaleza. La aplicación de la geometría fractal en modelización espacial responde a un método para analizar formas, que permite la comparación entre modelos espaciales y estructuras empíricas. La relación entre topología y sistemas dinámicos ayudan a visualizar el rango de comportamiento de un sistema dinámico. Normalmente consideramos que los puntos tienen dimensión 0, las líneas dimensión 1, las superficies dimensión 2 y los volúmenes dimensión 3, que es lo que llamamos “*dimensión topológica*”. Por otra parte, la dimensión fractal cuantifica mediante la dimensión la capacidad de un objeto de ocupar un espacio.

Un sistema de funciones iteradas (IFS, por sus siglas en inglés) es una colección finita $\{w_1, w_2, \dots, w_n\}$ de aplicaciones contractivas de un espacio métrico completo, con factores de contracción s_n , para $n \in \{1, 2, 3, \dots, N\}$. La dimensión fractal D de un objeto producido por un IFS compuesto de n aplicaciones contractivas de un factor de contracción s_n , ese puede obtener utilizando el teorema de Barnsley (1988). El cual permite cualquier tipo de funciones contractivas, de forma que el conjunto no se descompone en partes idénticas al total, sino que permite deformaciones. De esta forma se amplía notablemente la cantidad de conjuntos y medidas fractales que se pueden obtener con el teorema de Barnsley. Estos conjuntos y medidas no tienen todas las propiedades geométricas y de dimensión que tienen los conjuntos y medidas autosemejantes.

Para obtener de forma analítica la dimensión fractal de la morfología del árbol vascular arterial del riñón, utilizamos el siguiente teorema.

Teorema 4.1 (Barnsley, 1988). *Sea $\{\mathbb{R}^m; w_1, w_2, \dots, w_n\}$ un sistema de funciones iteradas hiperbólica, y denote A su atractor. Suponga que w_n es una semejanza de un factor de contracción s_n , para $n \in \{1, 2, 3, \dots, N\}$. Si el IFS es totalmente desconectado o justo toca entonces el atractor tiene dimensión fractal $D(A)$ que esta dado por la solución única*

$$\sum_{n=1}^N |s_n|^{D(A)} = 1, \quad D(A) \in [0, m]$$

Si el IFS tiene solapamiento entonces $\bar{D} \leq D(A)$ donde \bar{D} es la solución de

$$\sum_{n=1}^N |s_n|^{\bar{D}} = 1, \quad \bar{D} \in [0, \infty).$$

En nuestro caso, tenemos que el factor de contracción para el proceso de angiogénesis por partición es $\lambda_p = 0.67$, mientras que para angiogénesis por brote el promedio del factor de contracción es $\lambda_b = 0.5$, entonces

$$P_{ab}\lambda_b^D + P_{ap}\lambda_p^D = 1$$

esto es,

$$D = \frac{\ln(P_{ap}) - \ln(\frac{1}{2} - P_{ab}\lambda_b^D)}{-\ln(\lambda_p)} \quad (4.5.1)$$

El valor de λ_b hace muy sensible la ecuación para obtener la dimensión fractal de G_R . Esto se debe a que en el modelo para desarrollar el árbol vascular arterial del riñón λ_b se genera de forma aleatoria dentro del rango definido $\lambda_b \in [0.3, 0.7]$.

Adicionalmente, utilizamos el teorema del conteo de cajas para obtener la dimensión fractal a cada uno de los 5000 G_R para cada una de las 5 diferentes probabilidades en a_b y a_p .

Teorema 4.2 (Conteo de cajas, Barnsley, 1988). *Sea $A \in \mathcal{H}(\mathbb{R}^m)$, donde se utiliza la métrica euclidiana. Se cubre \mathbb{R}^m por cajas de ancho $\frac{1}{2^n}$. Sea $N_n(A)$ el número de cajas de ancho que intersectan al conjunto. Si*

$$D = \lim_{n \rightarrow \infty} \frac{\ln(N_n(A))}{\ln(2^n)}$$

entonces A tiene dimensión fractal D .

Este teorema consiste en cubrir la figura con cajas de ancho $\frac{1}{2^n}$ y se seleccionan aquellas cajas que están ocupadas, hasta completar la figura de G_R . Luego, se va cambiando $\frac{1}{2^n}$ progresivamente por otras cajas más pequeñas, siguiendo una proporción (factor de escala) y nuevamente se seleccionan las cajas ocupadas (véase Figura 4.10). Se traza una gráfica de comportamiento escalar donde: en el eje y va el $\ln(N_n(A))$, *i. e.*, el \ln del $N_n(A)$ de las cajas ocupadas en su totalidad (numerador de la fórmula D); en el eje x va el $\ln(2^n)$, *i. e.*, el \ln de las cajas correspondientes al factor escala (denominador de la fórmula D). El cociente entre los valores representa la pendiente de la línea resultante y proporciona el valor de la dimensión fractal.

La dimensión fractal en el árbol vascular arterial del riñón sintetiza información que va más allá de su estructura relacional, incluyendo la disposición espacial de los vértices, donde tienen lugar las ramificaciones. Además, es una medida de la forma en que el árbol G_R ocupa el espacio donde se inscribe. Por consiguiente, emplearla como medida de la morfología del árbol vascular arterial renal G_R , y se aporta información para hacer discriminaciones generales. En la Figura 4.11 se puede observar que la dimensión fractal del árbol vascular arterial de riñón depende de la probabilidad en a_b y a_p , *i. e.*, de la distribución de los vasos sanguíneos en el espacio.

En la Figura 4.12 se pueden observar árboles G_R para diferentes probabilidades en a_b y a_p en el desarrollo del árbol vascular arterial renal. Cada uno de los árboles G_R tiene su probabilidad P_{ab} , ancho y dimensión fractal D . En base a lo observado en las estructuras arborescentes arteriales del riñón, se conjetura que la dimensión fractal puede servir como indicador para determinar si tiene la estructura adecuada para desarrollar sus funciones en óptimas condiciones. Para esto, se podrían obtener las dimensiones fractales de angiogramas en riñones sanos para determinar su rango y así compararlas con los árboles G_R generados.

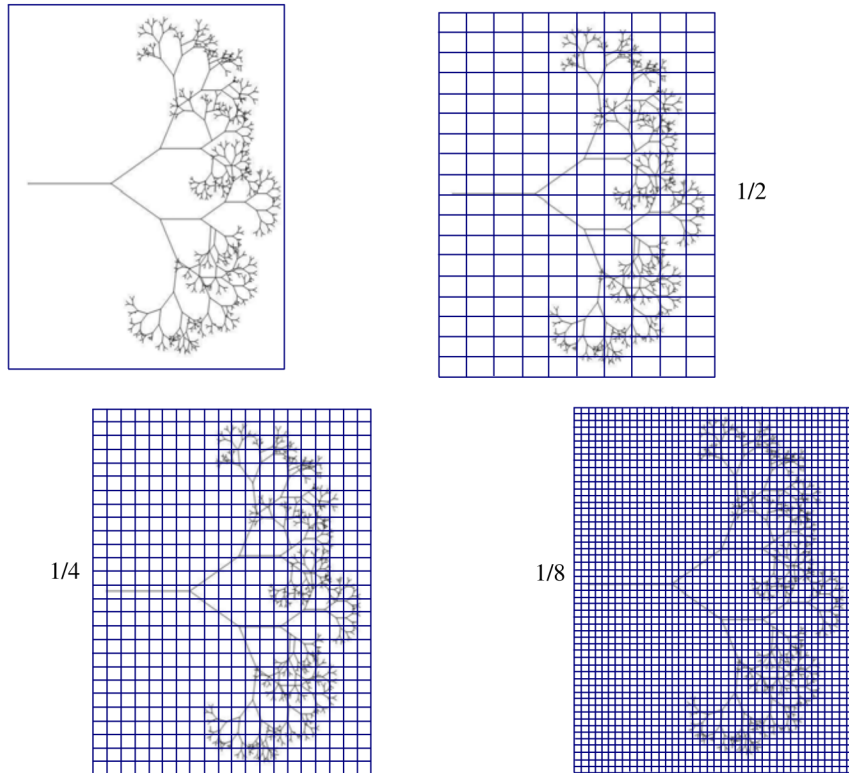


Figura 4.10: El teorema del conteo de cajas se utilizó para obtener la dimensión fractal del árbol vascular arterial del riñón.

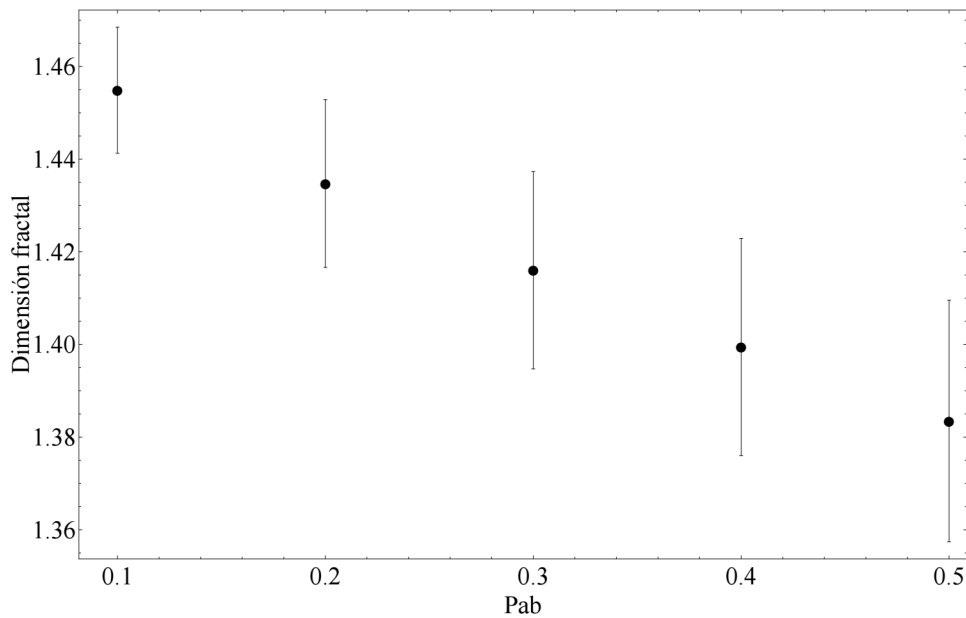


Figura 4.11: Dimensión fractal promedio para cada una de las 5 diferentes probabilidades para a_b y a_p en cada uno de los 5000 árboles vasculares arteriales renales G_R generados para las diferentes probabilidades.

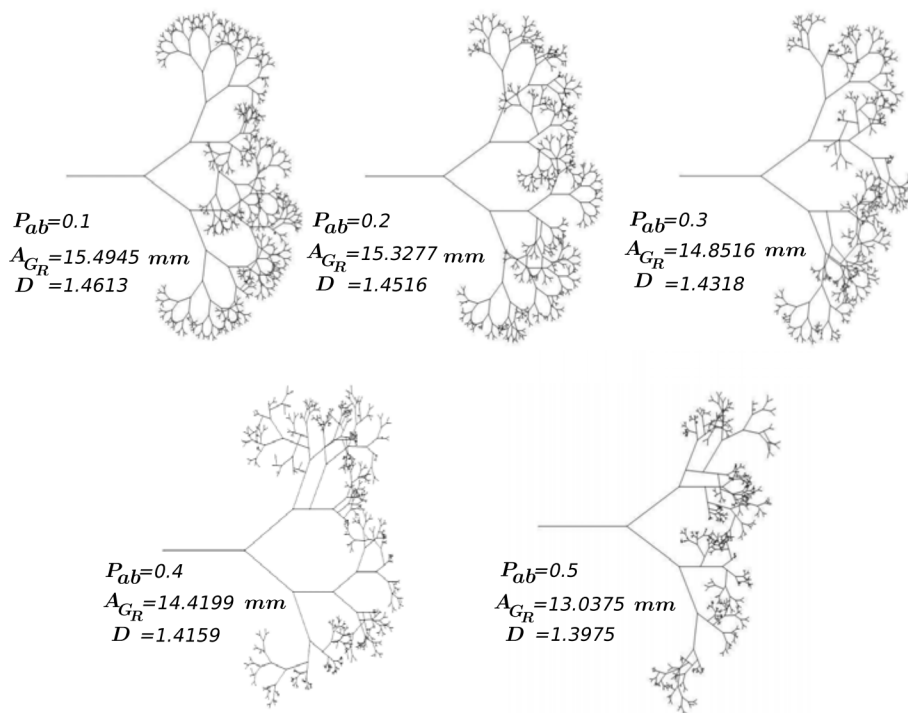


Figura 4.12: Ejemplos de árboles que representan la vasculatura arterial del riñón con: P_{ab} , ancho promedio y dimensión fractal.

Capítulo 5

Conclusiones y trabajo futuro

5.1 Conclusiones

Se estudió el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón usando la teoría de grafos. En este trabajo de tesis se muestra que la vasculatura arterial renal se puede representar mediante un árbol G_R con aristas orientadas y etiquetadas e incluyendo leyes fisiológicas de la vascularización arterial.

El árbol vascular arterial del riñón se genera mediante angiogénesis; esto es, la formación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos sanguíneos pre-existentes. Se observó que los vértices tienen la información de cómo se desarrolla la bifurcación arterial y las aristas contienen la información fisiológica de los vasos sanguíneos. Existen dos tipos de angiogénesis: por brote y por partición, se analizó el desarrollo de la vasculatura arterial renal a través de estos dos procesos. Por definición brote y partición son dos procesos mutuamente excluyentes en G_R . La principal diferencia en estos dos procesos es que en brote existe migración de células endoteliales, mientras que en partición solo existe reorganización de células endoteliales ya existentes en el vaso sanguíneo pre-existente donde se presenta el estímulo angiogénico. Existen seis posibles combinaciones para angiogénesis por brote y por partición en el árbol vascular arterial del riñón para generar la bifurcación arterial. Es importante distinguir cual vaso sanguíneo en la bifurcación arterial se desarrolla por brote, pues la información fisiológica afecta la morfología de la vasculatura arterial renal. El proceso a_b genera un nuevo vaso sanguíneo y el proceso a_p genera dos nuevos vasos sanguíneos, desde el punto de vista de la teoría de grafos, se puede concluir que la angiogénesis genera solamente bifurcaciones en G_R .

El árbol vascular arterial del riñón es hasta las arterias interlobulillares, se determinó la profundidad de G_R entre 0 y 9 (*i. e.*, $0 \leq j \leq 9$). En base a teoría y datos experimentales organizamos su estructura de la siguiente forma: arteria renal, segmento 0; arterias interlobulares, segmentos 1-2; arterias arciformes, segmentos 3-4; arterias interlobulillares, segmentos 5-9.

Consecuentemente, cada segmento j ($0 \leq j \leq 9$) tiene 2^j vasos sanguíneos, $j = 0$ es la arteria renal, *i. e.*, la raíz en G_R . Entonces, $\deg_{G_R} = 3 \forall v \in V(G_R)$, *i. e.*, G_R es 3-regular. Por otro lado, se concluye que G_R es asimétrico cuando el árbol arterial renal se desarrolla mediante angiogénesis por brote y por partición, lo cual concuerda con los datos experimentales en la vasculatura arterial renal. El proceso de angiogénesis por brote es el que más contribuye a incrementar la asimetría en la estructura del árbol vascular arterial del

riñón, por definición de a_b . Todos los parámetros son importantes, pero C_{gf} es un factor regulador esencial para ambos procesos de angiogénesis. Especialmente para a_b , ya que afecta directamente la geometría del vaso sanguíneo, en particular la longitud y diámetro del vaso sanguíneo.

Se Generaron 5000 modelos de la morfología del árbol vascular arterial del riñón para 5 diferentes probabilidades en a_b y a_p . Se analizó la morfología de los árboles obtenidos para compararla con la estructura del árbol vascular arterial del riñón experimental. Se obtuvo la longitud l_j de forma analítica en cada segmento j para cada una de las probabilidades de angiogénesis por brote P_{ab} y angiogénesis por partición $P_{ap} = 1 - P_{ab}$, con P_{ab} definida en el conjunto $\{0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\}$. De igual forma, se obtuvo la longitud promedio en cada segmento a cada uno de los 5000 modelos de G_R para las diferentes probabilidades en a_b y a_p . Se compararon las longitudes promedio para cada segmento de G_R con los datos experimentales de Nordsletten, *et. al.*, (2006), observando intersección en los diferentes segmentos. Adicionalmente, se obtuvo el ancho promedio de forma analítica y a cada uno de los 5000 árboles de G_R para cada una de las 5 diferentes probabilidades de a_b y a_p , donde todos los datos están dentro del rango experimental.

La dimensión fractal cuantifica mediante la dimensión la capacidad de un objeto de ocupar un espacio. En G_R la dimensión fractal depende de la probabilidad de a_b y a_p en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón, o sea de la distribución de los vasos sanguíneos. Se conjetura que el obtener la dimensión fractal de angiogramas en riñones sanos puede proporcionar información, esto es, si el riñón cuenta con la morfología apropiada para desarrollar sus funciones.

Todos estos resultados son válidos si el proceso de angiogénesis es el único proceso involucrado en el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón. La contribución de esta tesis es el modelado del desarrollo del árbol vascular arterial del riñón considerando parámetros fisiológicos. En específico la concentración de VEGF en el vaso sanguíneo pre-existente, el cual es el principal factor para que se lleve a cabo el desarrollo de la vasculatura arterial mediante el proceso de angiogénesis. El programa generado nos permite cuantificar las variaciones de cada uno de los parámetros fisiológicos utilizados para modelar el árbol vascular arterial del riñón. Se tiene información del i -ésimo vaso sanguíneo pre-existente, por lo cual se puede analizar la relación del vaso sanguíneo pre-existente con su vecindad con respecto a los parámetros fisiológicos.

En conclusión, la teoría de grafos permite modelar el desarrollo vascular, *i. e.*, genera la ramificación de estructuras arborescentes incorporando las leyes fisiológicas de la ramificación arterial renal mediante el proceso de angiogénesis.

5.2 Trabajo futuro

El trabajo de investigación realizado en esta tesis permitió corroborar que la teoría de grafos puede modelar el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón incorporando información fisiológica. A continuación se enuncian algunas prospectivas de trabajo a futuro para el mejoramiento ya sea, de las técnicas utilizadas para la comprobación de la hipótesis o del planteamiento del problema:

1. Implementar una función para determinar el diámetro de los vasos sanguíneos con respecto a la concentración de VEGF en el vaso sanguíneo pre-existente, para desarrollar la bifurcación arterial en el árbol vascular arterial del riñón. Es decir, $d : [C_{gf}, \overline{C_{gf}}] \rightarrow [\underline{d}, \overline{d}]$ donde $d \in \mathbb{R}^+$. Así como también analizar si los resultados están dentro del rango de acuerdo a estudios experimentales previamente publicados.
2. Realizar un análisis respecto a la dependencia de un vaso sanguíneo con su vecindad. Esto es, obtener una función general de cómo es la dependencia entre los vasos sanguíneos en el desarrollo de la bifurcación arterial. Aquí la pregunta que se abordará es ¿si una bifurcación arterial en el árbol vascular arterial del riñón es determinada por condiciones locales o está también depende de las condiciones de sus vasos sanguíneos vecinos más próximos?

Por otra parte, se realizará un análisis matemático para incorporar la dinámica de migración y ensamblado preciso de las células endoteliales en la bifurcación arterial. Esto es, el vértice tiene la dinámica de porque proceso se desarrollará la bifurcación. Los vasos sanguíneos son formados por paquetes discretos de células endoteliales en el desarrollo vascular renal, se puede incorporar la dinámica de migración y ensamblado preciso de las células. Esto es, se ha demostrado experimentalmente una relación tiempo-espacial entre la renina y la ramificación de las arterias renales. Estos datos experimentales invitan a especular que la renina podría regular el proceso de bifurcación arterial en el árbol vascular arterial del riñón, directa o indirectamente. Este hecho está relacionado con los vértices en el grafo G_R porque ellos representan los puntos de ramificación, *i. e.*, si la bifurcación se va a desarrollar por a_b o a_p .

3. Generar el árbol vascular arterial de riñón en 3 dimensiones incorporando α el ángulo rotacional en la bifurcación arterial (ver Figura 5.1), así como la longitud y diámetro de los vasos sanguíneos.

En este punto se abordará la pregunta fundamental que nos hacemos ¿de qué factores fisiológicos o variables (C_{gf}, l, d, θ , o Φ) depende el ángulo de rotación en el desarrollo de la bifurcación arterial del riñón?

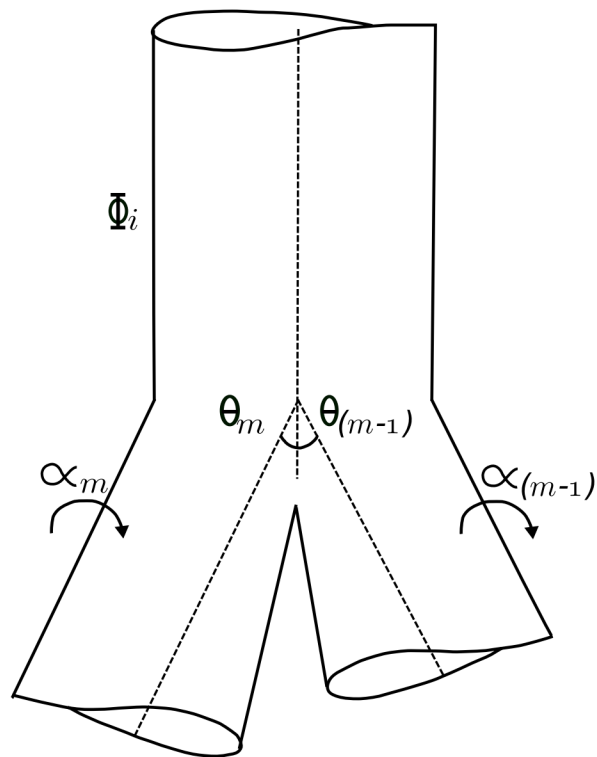


Figura 5.1: Bifurcación \mathbb{R}^3 : Φ_i es el ángulo del vaso sanguíneo pre-existente, α es el ángulo de rotación y θ es el ángulo de bifurcación.

Apéndice A

Algoritmo de programa en Mathematica

El software usado en el modelo del desarrollo para árbol vascular arterial del riñón fue Mathematica de Wolfram, versión 6. Este paquete tiene una estructura de datos para grafos, los cuales en el modelo tienen la capacidad de incluir vértices y aristas etiquetas, así como la posición de cada vértice en \mathbb{R}^2 .

El algoritmo genera paso a paso los parámetros fisiológicos de cada uno de los vasos sanguíneos del árbol vascular arterial del riñón, etiquetando las aristas por $(s, C_{gf}, l, d, \theta)$. Esto es, la estructura de datos incorpora la información fisiológica en las arista. El diagrama de bloques para generar la vasculatura arterial renal de acuerdo al Capítulo 3 es mostrado en la Figura A.1. El algoritmo se inicia con la construcción de la raíz. El proceso de desarrollo de la raíz se define de manera aleatoria con probabilidad de P_{ab} para angiogénesis por brote y $P_{ap} = 1 - P_{ab}$ para angiogénesis por partición, donde P_{ab} toma valores del conjunto $\{0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5\}$; $C_{gf} = [0, 35]ng/mL$; l depende del segmento en el cual se desarrolla; d no se genera en este algoritmo y el ángulo de bifurcación θ depende del proceso por el cual se desarrolla la bifurcación arterial. En el algoritmo se generan las bifurcaciones arteriales del árbol vascular arterial del riñón hasta $j = 9$ (arterias interlobulillares) en función del proceso utilizado para su desarrollo (a_b o a_p) y de cómo se definieron los parámetros fisiológicos.

Mathematica tiene una función para mostrar el árbol vascular arterial del riñón utilizando el árbol generado (grafo) y la estructura con la posición de cada uno de sus vértices.

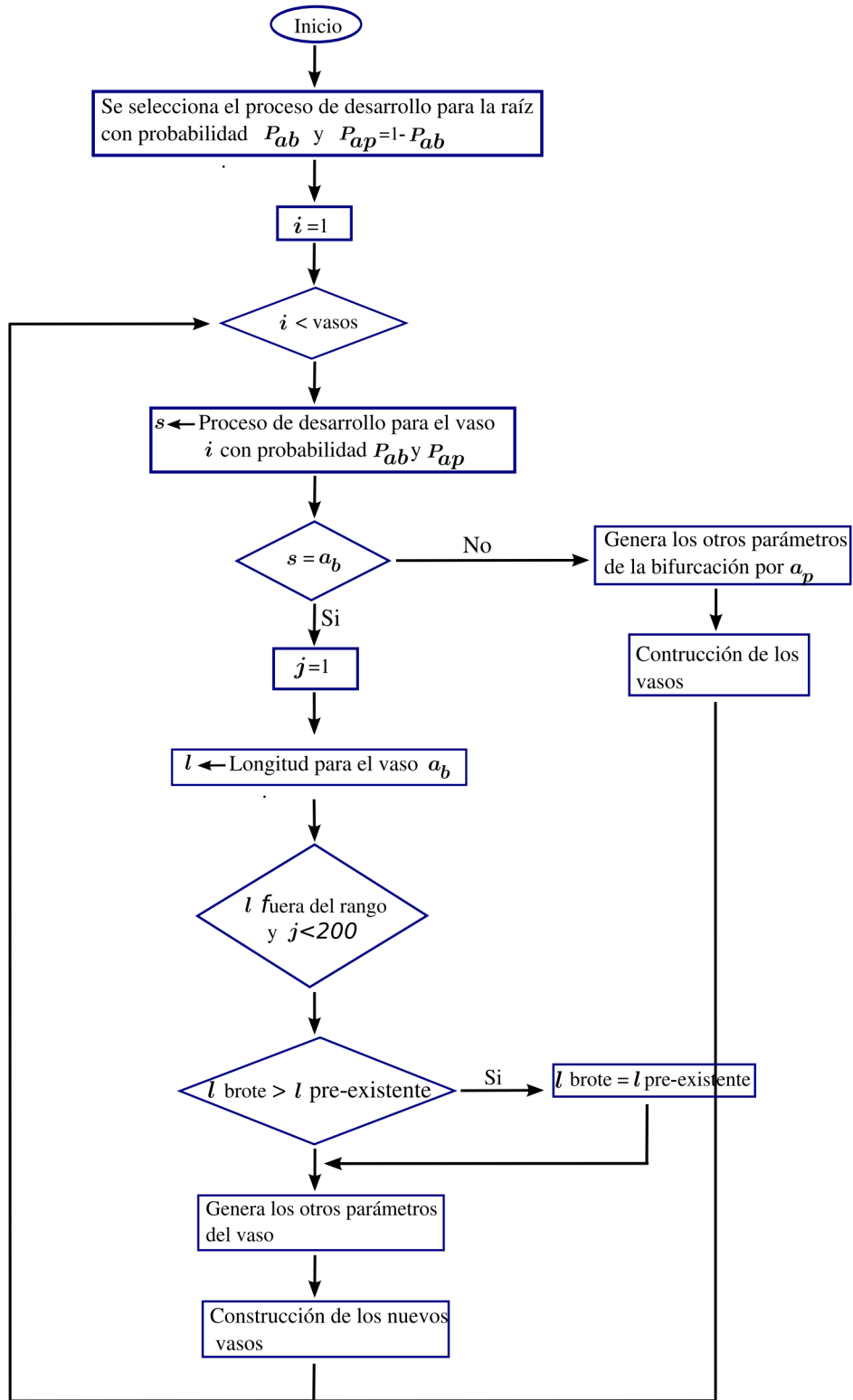


Figura A.1: Algoritmo utilizado para modelar el desarrollo del árbol vascular arterial del riñón.

Bibliografía

- Barnsley M. (1988). Fractals everywhere. *Academic Press Inc.*.
- Bondy J. A. and Murty S. R. (1976). Graph Theory with Applications. *University of Waterloo Ontario, Canada.*
- Diestel R. (2005). Graph Theory. Springer-Verlag Heidelberg, New York.
- Gabryś E., Rybaczuk M., and Kedzia A. (2005). Fractal models of circulatory system. Symmetrical and asymmetrical approach comparison. *Chaos, Solutions and Fractals* **24**:707-715.
- Guyton A. C. and Hall J. E. (2000). Tratado de Fisiología Medica. Décima edición. Editorial McGraw-Hill (In Spanish).
- Nakatsu M. N., Sainson C. A., Pérez-del-Pulgar S., Aoto J. N., Aitenhead M., Taylor K. L., Carpenter P. M., Christopher C. W. (2003). VEGF₁₂₁ and VEGF₁₆₅ regulate blood vessel diameter through vascular endothelial growth factor receptor 2 in an in vitro angiogenesis model. *Laboratory Investigation* **83**:1873-1885.
- Nordsletten D. A., Blackett S., Bentley M. D., Ritman E. L., and Smith N. P. (2006). Structural morphology of renal vasculature. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. **291**:H296-H309.
- Patan S. (2000). Vasculogenesis and angiogenesis as mechanisms of vascular network formation, growth and remodeling. *J. Neuro-Oncology*. **50**: 1-15.
- Pérez F. I., Gómez Campderá F. J., García V. M. S., Goicochea M., Echenagusía A., Gutiérrez Sanchez y Luño. (2002). Hipertensión vasculorrenal y nefropatía isquémica secundaria a radioterapia. *Hipertensión*. **19(2)**:91-4.
- Prior B. M., Yang H. Y., and Terjung R. L. (2004). What makes vessels grow with exercise training?. *Journal of Applied Physiology*, **97**:1119-1128.
- Reddi V., Zaglul A., Pentz ES., and Gomez RA., (1998). Renin-expressing cells are associated with branching of the developing kidney vasculature. *J Am Soc Nephrol*. **9**, pp 63-71.
- Strahler Arthur N. (1962). Hypsometric (area-altitude) analysis of erosional topography. *Bulletin of the geological society of america*. **63**, pp 1117-1142.

- Tomake R. J. editor (2001). Assembly of the vasculature and its regulation. Berlin:Birkhauser.
- Wahl E. M., Daniels, F. H., Leonard E. F., Levinthal C. and Cortell S. (1984). A graph theory model of the glomerular capillary network and its development. *Microvascular Research* **27**: 96-109.
- Wahl E. M., Quintas L. V., Lurie L. L., and Gargano M. L. (2004). A graph theory analysis of renal glomerular microvascular networks. *Microvascular Research*. **67**:223-230.
- Zamir, M. (2001). Arterial branching within the confines of fractal L-syste formalism. *Journal of General Physiology*. **118**:267-275.
- Zamir M. and Phipps S. (1987). Morphometric analysis of the distributing vessels of the kidney. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology* **65**:2433-2440.

Anexo

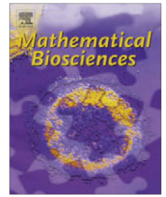
Artículo de investigación:

Aurora Espinoza-Valdez, R. Femat and Francisco C. Ordaz-Salazar. A model for renal arterial branching based on graph theory. *Mathematical Biosciences* 225 (2010) 36-43.



Contents lists available at ScienceDirect

Mathematical Biosciences

journal homepage: www.elsevier.com/locate/mbs

A model for renal arterial branching based on graph theory

Aurora Espinoza-Valdez^a, Ricardo Femat^{a,*}, Francisco C. Ordaz-Salazar^b^aLaboratorio para Biodinámica y Sistemas Alineales, División de Matemáticas Aplicadas, IPICYT. Camino a la Presa San José 2055, Lomas 4a Secc., c.p. 78216, San Luis Potosí, S.L.P., Mexico^bUniversidad Politécnica de San Luis Potosí, S.L.P., Mexico

ARTICLE INFO

Article history:

Received 5 May 2009

Received in revised form 14 January 2010

Accepted 18 January 2010

Available online 25 January 2010

Keywords:

Graph Theory

Sprouting and splitting angiogenesis

Renal vasculature

ABSTRACT

The kidney is one of the most complicated organs in terms of structure and physiology, in part because it is highly vascularized. The renal vascular development occurs through two mechanisms that sometimes overlap: vasculogenesis and angiogenesis. Here, we consider angiogenesis to model the renal arterial tree with the two processes of vascular angiogenesis: sprouting and splitting. We recognize the vessels are not tubes with ends that get glued but physiological factors are relevant into the vascular development. Our contribution integrates the graph theory and physiological information to derive a quantitative model for the vascular tree in the sense that the vertices and edges represent, respectively, a branching point and a vessel. From such a premise, development of the arterial vascular tree of the kidney is mathematically expressed, including physiological processes as the effect of the vascular endothelial growth factor (VEGF) on the vessel length. A definition of the graph is used to visualize the topology of vascular tree in kidney providing physiological information into the edges. Thus, renal arterial branching is modeled as a graph where edges are labeled and oriented.

© 2010 Elsevier Inc. All rights reserved.

1. Introduction

Structure and distribution of the vascular tree of each organ are fixed anatomically, determined genetically, and governed by physiological laws. That is, formation of the vascular tree is programmed genetically and controlled by local determinants [1]. The development of the vascular tree occurs by means of two mechanisms: vasculogenesis and angiogenesis. Vasculogenesis refers to the initial events in the vascular growth on which endothelial cell precursors (named angioblasts) migrate to discrete locations, differentiate *in situ*, and assemble into solid endothelial cords. Angioblasts form a plexus with endocardial tubes. Angiogenesis is the formation of new blood vessels from pre-existing vessels, by proliferation, migration and differentiation of endothelial cells. Angiogenesis suggests two distinct mechanisms: sprouting and splitting. Although the vascular tree has been studied widely, comprehension of the vascular tree development is an open problem whose generalization continues being a challenge for the scientific community.

The kidney is one important organ for diverse homeostatic processes and is one of the most complicated organs in terms of structure and physiology because, in part, it is highly vascularized, consisting of three trees: arterial, venous, and ureter [2]. Because the kidney constitutes the main organ maintaining the chemical

balance in blood, the various branches of the renal vascular tree accomplish specialized regional functions, such as filtration, absorption and excretion. These facts have motivated diverse studies on renal vasculature seeking generalizations from the viewpoint of mathematical and computer sciences [3–5].

A meticulous morphologic observation has recently been reported on experimental measurements for angles and diameters of renal network branching. Zamir and Phipps concluded in [3] that the morphometric analysis of distribution of vessels in rat kidneys indicates that branching characteristics are determined by general angiological functions. After that, Zamir [6] used L-systems to generate branching structures incorporating physiological laws of arterial branching. Although such results open an alternative for studying renal vasculature including physiological laws, these first approaches are not conclusive. In a more recent study, renal vasculature was numerically generated to a depth of afferent arterioles. Nordsletten et al. [5] derived morphologic structures of both arterial and venous trees in the kidney. Their results are relevant because renal vasculature is generated computationally but no physiological phenomena are involved. In summary, we can observe the following in previous studies on renal vasculature: (i) results on renal vasculature are mostly obtained by a fully-developed tree; i.e., vascular genesis is not included. (ii) Graph theory has not been exploited to model the renal venous–arterial tree in its structure and development by including physiological phenomena. Therefore, an arbitrary asymmetry parameter is entered into the computer obeying imposed rules which “*can be used to produce fractal tree structures that have*

* Corresponding author.

E-mail address: rfemat@ipicyt.edu.mx (R. Femat).