



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS FÍSICAS
MAESTRÍA EN CIENCIAS (FÍSICA MÉDICA)

MODELO MATEMÁTICO DE LA DEPENDENCIA DE LA RADIOSENSIBILIDAD
DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL CON EL SEXO

TESIS
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS (FÍSICA MÉDICA)

PRESENTA:
HÉCTOR ANDRÉS FLORES HERNÁNDEZ

TUTORA PRINCIPAL:
DRA. PAOLA BALLESTEROS ZEBADÚA
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
DR. JOSÉ MANUEL LÁRRAGA GUTIÉRREZ
INSTITUTO NACIONAL DE NEUROLOGÍA Y NEUROCIRUGÍA

M. EN C. CÉSAR GUSTAVO RUIZ TREJO
INSTITUTO DE FÍSICA, UNAM

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., MAYO 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

A mis amados padres, gracias por su infinito apoyo y amor. Los amo con todo mi corazón. A Carlos por ser mi mano derecha y traer mucha alegría a mis días. Te amo mucho. A mi familia y amigos de toda la vida por darme confianza, apoyo y alegría. Los quiero mucho.

A la Dra. Paola Ballesteros por su grandioso apoyo académico, orientación, confianza, enseñanza y consejos durante la realización de la tesis. La admiro enormemente.

Al Dr. José Lárraga y al M. en C. César Ruiz por ser parte de mi comité tutorial. Muchas gracias por su apoyo, consejos y aportarme su valiosa experiencia y conocimientos.

A los miembros del jurado sinodal: Dr. Carlos Villarreal, Dra. Karla García, Dr. Alessio Franci, Dra. Isabel Gamboa y Dr. Héctor Morales, por tomarse el tiempo de revisar la tesis y sus valiosos consejos en su revisión.

Gracias a todos mis profesores de posgrado por compartir sus conocimientos y contribuir en mi formación académica.

Al Posgrado en Ciencias Físicas de la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme una formación académica de posgrado gratuita y de alta calidad.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por otorgarme la beca que sustentó mis estudios de maestría.

A mis amigos de la maestría que la hicieron amena y divertida, su apoyo y compañerismo fueron pilar para seguir con mi formación académica.

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS	III
ÍNDICE GENERAL	V
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN	3
II. JUSTIFICACIÓN	5
III. OBJETIVOS	5
IV. ANTECEDENTES	6
4.1. GENERALIDADES DEL SISTEMA NERVIOSO.....	6
4.2. ANATOMÍA DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL	12
4.3. NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL ADULTA	15
4.4. EFECTOS BIOLÓGICOS DE LA RADIACIÓN IONIZANTE EN EL HIPOCAMPO	18
4.5. DIFERENCIAS ASOCIADAS AL SEXO DE RATONES ANTES Y DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN IONIZANTE	20
V. MÉTODOS Y MATERIALES	23
5.1. DINÁMICA DE LAS POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES EN CONDICIONES SIN IRRADIACIÓN [2].....	23
5.2. DINÁMICA DE LAS POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN Y SU RESPUESTA EN FASE AGUDA [2]	25
5.3. DINÁMICA DE LAS POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN Y SU RESPUESTA A LARGO PLAZO [2]	29
5.4. DINÁMICA DE LAS POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN Y SU DEPENDENCIA CON EL SEXO	30
5.5. SOFTWARE	32
5.6. DIAGRAMA DE FLUJO DE SOLUCIÓN DE CADA SECCIÓN.....	33
VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
6.1. DINÁMICA DE LAS POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES EN CONDICIONES SIN IRRADIACIÓN	34
6.2. DINÁMICA DE LAS POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN Y SU RESPUESTA A CORTO PLAZO	38
6.3. DINÁMICA DE LA POBLACIÓN DE CÉLULAS NEURALES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN Y SU RESPUESTA A LARGO PLAZO	43

6.4. DINÁMICA DE LA POBLACIÓN DE CÉLULAS NEURALES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN Y SU DEPENDENCIA CON EL SEXO	49
VII. CONCLUSIONES.....	72
VIII. PERSPECTIVAS.....	74
IX. REFERENCIAS.....	75
APÉNDICE.....	79
1. <i>NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL COMO FUNCIÓN DE LA EDAD DE RATONES MACHO Y HEMBRA C57BL/6J.....</i>	79
2. <i>RESPUESTA A CORTO Y A LARGO PLAZO DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN DE RATONES MACHO Y HEMBRA C57BL/6J.....</i>	81

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 4.1. COMPARACIÓN DE VOLUMEN, MICROGLÍA TOTAL, MICROGLÍA ACTIVADA Y DENSIDAD PARA RATONES C57BL/6J MACHO Y HEMBRA ANTES Y DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. IR: IRRADIACIÓN. C/R: CON RESPECTO.....	22
TABLA 6.1. PARÁMETROS DEL MODELO DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL SIN IRRADIACIÓN DE RATONES MACHO C57BL/6J. ESTOS VALORES FUERON ESTIMADOS DE LOS ESTUDIOS EXPERIMENTALES DE ENCINAS, J.M., <i>ET AL.</i> [28] Y BEN, N., <i>ET AL.</i> [29].	34
TABLA 6.2. POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES DE RATONES MACHO C57BL/6J CON EDAD DE 0 DÍAS.....	35
TABLA 6.3. PARÁMETROS DEL MODELO DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN CEREBRAL DE RATONES MACHO C57BL/6J. ESTOS VALORES SON OBTENIDOS DE ACUERDO CON LOS ESTUDIOS EXPERIMENTALES DE MIZUMATSU, S., <i>ET AL.</i> [26] EN DONDE RATONES MACHO DE 60 DÍAS DE EDAD Y DE LA MISMA CEPA, FUERON IRRADIADOS CON DIFERENTES DOSIS Y MARCADOS INMUNOHISTOQUÍMICAMENTE PARA LA EVALUACIÓN ANTES Y DESPUÉS DEL DAÑO SEGÚN LA DISMINUCIÓN DE LAS POBLACIONES CELULARES.....	38
TABLA 6.4. POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES DE EDADES DE 21 Y 60 DÍAS DE RATONES MACHO C57BL/6J.....	39
TABLA 6.5. PARÁMETROS DE AJUSTE PARA REPRESENTAR EL MODELO DE INCREMENTO DE LA MICROGLÍA Y LA DIMINUCIÓN DEL DESTINO NEUROGÉNICO, DE ACUERDO CON LAS ESTIMACIONES DE CACAO, E., <i>ET AL.</i> [2].	43
TABLA 6.7. RESULTADO DE LAS POBLACIONES DE CÉLULAS NEURALES DE RATONES MACHO Y HEMBRA C57BL/6J CON UNA EDAD DE 4 MESES, SIMULADO CON LA VARIACIÓN DE Ψ HEMBRA QUE REPRESENTA EL AUMENTO EN LA CANTIDAD DE CÉLULAS MADRE NEURALES Y NEURONAS INMADURAS.	51
TABLA 6.8. ECUACIÓN Y VALORES DE LOS PARÁMETROS DE AJUSTE DE LA DISTRIBUCIÓN DE DATOS EXPERIMENTALES DE LA PROPORCIÓN DE MICROGLÍA ACTIVADA COMO FUNCIÓN DE LA EDAD DE RATONES MACHO Y HEMBRA C57BL/6J.	57
TABLA 6.9. CAMBIO EN LOS PARÁMETROS DEL INCREMENTO DE LA MICROGLÍA ACTIVADA EN RATONES HEMBRA C57BL/6J (ECUACIÓN 23).....	60
TABLA 6.10. CAMBIO EN LOS PARÁMETROS DEL DESTINO NEUROGÉNICO DE LOS RATONES MACHO Y HEMBRA C57BL/6J (ECUACIÓN 24).	60
TABLA 6.11. CAMBIO EN LOS PARÁMETROS DEL DESTINO NEUROGÉNICO DE LOS RATONES MACHO Y HEMBRA C57BL/6J (ECUACIÓN 29).	66

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 4.1. NEURONA Y CÉLULAS GLIALES QUE FORMAN PARTE DEL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL. TOMADA Y MODIFICADA DE [10].	7
FIGURA 4.2. BAJO CONDICIONES FISIOLÓGICAS NORMALES LA MICROGLÍA (CÉLULA IZQUIERDA) TIENE FUNCIONES DE SOPORTE A LA NEURONA, POR OTRO LADO, EN CONDICIONES PATOLÓGICAS PIERDE ESTAS FUNCIONES PARA FAVORECER LA SUPERVIVENCIA. TOMADA Y MODIFICADA DE [11].	8
FIGURA 4.3. LA ESTRUCTURA HIPOCAMPAL, FORMADA POR 4 REGIONES: LA CORTEZA ENTORRINAL (CE), EL GIRO DENTADO (GD), EL HIPOCAMPO PROPIAMENTE (DIVIDIDO EN EL CUERPO DE AMÓN CA3, CA2 NO INDICADO Y CA1) Y EL COMPLEJO SUBICULAR NO INDICADO. TOMADA Y MODIFICADA DE [10].	14
FIGURA 4.4. CONEXIÓN UNIDIRECCIONAL DE LAS REGIONES DE LA ESTRUCTURA HIPOCAMPAL. ES UNA CARACTERÍSTICA ÚNICA DEL HIPOCAMPO, CUYO CIRCUITO ESTÁ LIGADO POR PROYECCIONES EXCITATORIAS DE LAS CÉLULAS QUE CONFORMAN LAS REGIONES. CE: CORTEZA ENTORRINAL; GD: GIRO DENTADO; CA1: CUERPO DE AMÓN 1; CA3 CUERPO DE AMÓN 3; COMPLEJO SUBICULAR. TOMADA Y MODIFICADA DE [12].	15
FIGURA 4.5. DIFERENTES ETAPAS DE LA NEUROGÉNESIS EN EL GIRO DENTADO DEL HIPOCAMPO. LA ETAPA INICIAL COMIENZA EN LA ZONA SUBGRANULAR CON LA DIFERENCIACIÓN DE LAS CÉLULAS MADRE NEURALES. SU DIFERENCIACIÓN DA LUGAR A CÉLULAS PROGENITORAS AMPLIFICADAS QUE PRODUCEN NEUROBLASTOS. LOS NEUROBLASTOS MIGRAN A LA CAPA CELULAR GRANULAR Y MADURAN HASTA NEURONAS INMADURAS MOSTRANDO CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS ÚNICAS COMO UN ÁRBOL DENDRÍTICO QUE SE EXTIENDE A TRAVÉS DEL HILUS HACIA LAS REGIONES DEL CA3 Y CA2. TOMADA Y MODIFICADA DE [16].	17
FIGURA 4.6. ESQUEMA DEL MECANISMO DE LAS POSIBLES CAUSAS QUE PROPICIAN LA ALTERACIÓN COGNITIVA INDUCIDA POR RADIACIÓN. TOMADA Y MODIFICADA DE [18].	20
FIGURA 5.1. ESQUEMA DE LA DINÁMICA DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL EN CONDICIONES SIN IRRADIACIÓN. LAS POBLACIONES NEURALES DETERMINADAS POR N_1 , N_2 , N_3 Y N_4 REPRESENTAN LAS CÉLULAS MADRE NEURALES, NEUROBLASTOS, NEURONAS INMADURAS Y GLIOBLASTOS, RESPECTIVAMENTE. LA FLECHA EN CICLO (MARCADA CON COLOR BLANCO) REPRESENTA LA CAPACIDAD DE AUTORREPLICACIÓN DE LAS CMN CON UNA TASA ESPECÍFICA P_1 . LA DIFERENCIACIÓN DE LAS CMN SE LE ASOCIA UNA TASA ESPECÍFICA D_1 Y PUEDE SER HACIA NB (X_A) O GB (X_B) Y LA DIFERENCIACIÓN DE LOS NB A NIN UNA TASA ESPECÍFICA D_2 . LAS FLECHAS RELLENAS INDICAN PROCESOS DE APOPTOSIS CON TASAS A_2 , A_3 Y A_4 CORRESPONDIENTES A NB, NIN Y GB, RESPECTIVAMENTE. SE MUESTRAN DOS CASILLAS QUE REPRESENTAN EL DESTINO FINAL NEUROGÉNICO (NEURONAS MADURAS) Y GLIOGÉNICO (OLIGODENDROCITOS Y ASTROCITOS).	23
FIGURA 5.2. ESQUEMA DEL MODELO DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. UNA VEZ IRRADIADAS, LAS CÉLULAS SON CLASIFICADAS POR CÉLULAS SIN DAÑO (N_j), DÉBILMENTE DAÑADAS (N_{jD}) Y FUERTEMENTE DAÑADAS (N_{jF}), DONDE EL SUBÍNDICE J INDICA LA POBLACIÓN NEURAL. LOS DAÑOS INDUCIDOS POR RADIACIÓN SE DESCRIBEN POR LAS CONSTANTES K_1 , K_2 , K_3 , K_4 (LÍNEAS SÓLIDAS). SE DIVIDEN ENTRE DAÑO DÉBIL (K_{jD}) Y DAÑO FUERTE (K_{jF}). LAS TASAS DE REPARACIÓN SE DETERMINAN POR LAS	

CONSTANTES A1, A2, A3, A4. ESTAS ÚLTIMAS SE DIVIDEN EN LAS TASAS DE CÉLULAS DAÑADAS DÉBILMENTE QUE SON REPARADAS A1R, A2R, A3R, A4R (FLECHA PUNTEADA Y CLARA) Y EN LAS TASAS DE CÉLULAS QUE SON DAÑADAS DÉBILMENTE Y CONDUCEN A UNA MALA REPARACIÓN A1M, A2M, A3M, A4M (FLECHA CONTINUA Y RELLENA). EL NÚMERO DE CÉLULAS APOPTÓTICAS (N_5) TIENDE A AUMENTAR DEBIDO AL DAÑO POR LA IRRADIACIÓN Y SE DETERMINA POR LAS TASAS DE CÉLULAS FUERTEMENTE DAÑADAS QUE CONDUCEN DIRECTAMENTE A APOPTOSIS N1, N2, N3, N4 Y POR AJM. N5 ES LA TASA DE ELIMINACIÓN DE CÉLULAS APOPTÓTICAS. LA RETROALIMENTACIÓN NEGATIVA DE LA PROLIFERACIÓN DE LAS CMN (FLECHAS PUNTEADAS OSCURAS) SE REPRESENTAN CON LAS TASAS DE CONTRIBUCIÓN θ_1 , θ_2 , θ_3 , θ_{MG} POR PARTE DE CMN, NB, NIN Y LA MICROGLÍA ACTIVADA, RESPECTIVAMENTE. LA FRACCIÓN DE DIFERENCIACIÓN DE CMN A NB SE VE AFECTADA POR LA IRRADIACIÓN, REPRESENTADO POR XA, IR. 26

FIGURA 5.3. ESQUEMA DE LA DEPENDENCIA CON EL SEXO DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL ANTES Y DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN CEREBRAL DE RATONES. 31

FIGURA 5.4. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA SOLUCIÓN DE LA DINÁMICA DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL DE RATONES EN LAS DIFERENTES CONDICIONES PROPUESTAS EN CADA SECCIÓN: 1) SIN IRRADIACIÓN, 2) LA RESPUESTA A CORTO PLAZO DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN, 3) LA RESPUESTA A LARGO PLAZO DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN A LA RADIACIÓN Y 4) LA RESPUESTA ASOCIADA CON EL SEXO. 33

FIGURA 6.1. SIMULACIÓN MATEMÁTICA DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL Y SU DEPENDENCIA CON EL TIEMPO DE LA POBLACIÓN DE A) CÉLULAS MADRE NEURALES, B) NEUROBLASTOS, C) NEURONAS INMADURAS Y D) GLIOBLASTOS. SE MUESTRAN LOS VALORES EXPERIMENTALES OBTENIDOS DE ACUERDO CON LOS ESTUDIOS DE ENCINAS, J.M., *ET AL.* [28] Y BEN, N., *ET AL.* [29] Y EL VALOR R2 DE LA RELACIÓN CON EL MODELO. 36

FIGURA 6.2. RESPUESTA A CORTO PLAZO (2 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN) DE LAS POBLACIONES NEURALES DE RATONES MACHO DE 21 DÍAS (GRÁFICAS A-B) Y 60 DÍAS DE EDAD (GRÁFICAS D-E). AUMENTO DE LA POBLACIÓN DE CÉLULAS APOPTÓTICAS NORMALIZADA CON RESPECTO A LA POBLACIÓN DE CÉLULAS APOPTÓTICAS A 1 GY, COMO FUNCIÓN DE LA DOSIS, DE RATONES DE 21 DÍAS (GRÁFICA C) Y 60 DÍAS DE EDAD (GRÁFICA F) 2 DÍAS DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. SE MUESTRAN LOS VALORES EXPERIMENTALES DEL ESTUDIO DE ROLA, R., *ET AL.* [27] PARA RATONES DE 21 DÍAS DE EDAD Y DE MIZUMATSU, S., *ET AL.* [26] PARA RATONES DE 60 DÍAS DE EDAD Y EL VALOR R2 PARA LA RELACIÓN ENTRE EL MODELO Y EL VALOR EXPERIMENTAL. 40

FIGURA 6.3. INCREMENTO DE CÉLULAS APOPTÓTICAS COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO POST IRRADIACIÓN. LA CURVA FUE OBTENIDA A PARTIR DE LA SIMULACIÓN DE RATONES MACHO C57BL/6J CON EDADES DE 21 Y 60 DÍAS, EXPUESTOS A 8 GY DE RADIACIÓN DE BAJA LET. ... 41

FIGURA 6.4. GRÁFICA DEL INCREMENTO DE LA MICROGLÍA Y LA DISMINUCIÓN DEL DESTINO NEUROGÉNICO COMO FUNCIÓN DE LA DOSIS. SE MUESTRAN LOS VALORES EXPERIMENTALES DE ACUERDO CON MIZUMATSU, S., *ET AL.* [26] Y EL VALOR R2 PARA LA RELACIÓN CON EL MODELO. 44

FIGURA 6.5. DAÑO INDUCIDO POR LA RADIACIÓN Y SU RESPUESTA A LARGO PLAZO DE LAS POBLACIONES DE A) NEUROBLASTOS Y B) NEURONAS INMADURAS COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO DESPUÉS DE EXPONERLAS A DIFERENTES DOSIS. 45

FIGURA 6.6. DINÁMICA DE POBLACIONES NEURALES COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO POST IRRADIACIÓN CON LA INFLUENCIA DE LA MICROGLÍA ACTIVADA COMO RESPUESTA A

LARGO PLAZO (GRÁFICAS A-D) Y SIN LA INFLUENCIA DE LA MICROGLÍA ACTIVADA (GRÁFICAS E-H) EN RATONES MACHO C57BL/6J..... 48

FIGURA 6.7. HIPÓTESIS A. COMPARACIÓN DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO (EN CONDICIONES SIN IRRADIACIÓN) ENTRE RATONES MACHO Y HEMBRA DE LAS POBLACIONES DE A) CÉLULAS MADRE NEURALES, B) NEUROBLASTOS, C) NEURONAS INMADURAS Y D) GLIOBLASTOS. LA SIMULACIÓN SE OBTUVO CON EL PARÁMETRO Ψ , PARA MACHOS FUE DE 0.5 Y PARA HEMBRAS DE 4.7; A3 PARA MACHOS FUE DE 0.0220 Y PARA HEMBRAS DE 0.0213. LAS POBLACIONES SE NORMALIZARON POR EL VALOR MÁXIMO DE CADA POBLACIÓN, ES DECIR, PARA EL VALOR DE LA EDAD DE 0 DÍAS, POR LO QUE SE DENOMINAN FRACCIÓN DE POBLACIONES..... 52

FIGURA 6.8. HIPÓTESIS A + B. A) DINÁMICA DE LOS NEUROBLASTOS COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO POST IRRADIACIÓN DE RATONES MACHO Y HEMBRA Y SU RESPUESTA A CORTO Y LARGO PLAZO. B) DINÁMICA DE LAS NEURONAS INMADURAS COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO POST IRRADIACIÓN DE RATONES MACHO Y HEMBRA Y SU RESPUESTA A CORTO Y LARGO PLAZO. LA LEYENDA DE AMBAS GRÁFICAS INDICA EL VALOR DE θ_{MG} EMPLEADOS EN LA DINÁMICA DE LOS RATONES HEMBRA TENIÉNDOSE QUE LAS CURVAS COINCIDEN PARA CADA VALOR..... 56

FIGURA 6.9. PROPORCIÓN DE LA MICROGLÍA ACTIVADA COMO FUNCIÓN DE LA EDAD DE RATONES MACHO Y HEMBRA C57BL/6J EN CONDICIONES SIN IRRADIACIÓN. LOS DOS AJUSTES A LAS DISTRIBUCIONES DE DATOS DAN COMO RESULTADO UNA $R^2 = 0.997$ 58

FIGURA 6.10. INCREMENTO DE LA MICROGLÍA ACTIVADA Y DISMINUCIÓN DEL DESTINO NEUROGÉNICO COMO FUNCIÓN DE LA DOSIS, DE RATONES MACHO Y HEMBRA. LA CANTIDAD DE CÉLULAS FUERON OBTENIDAS 4 MESES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. A) PARA AMBAS ECUACIONES SE EMPLEARON LOS PARÁMETROS DE LA TABLA 6.9, CON $A_{0M} = 0.0789$ PARA RATONES HEMBRA. B) PARA LA ECUACIÓN 23 SE EMPLEARON LOS PARÁMETROS DE LA TABLA 6.9 Y PARA LA ECUACIÓN 24 LOS DE LA TABLA 6.10, CON $A_{0D} = -0.051$, $A_{1D} = 11.5$ Y $\Delta D = 0.054$ PARA RATONES MACHO; $A_{0D} = -0.0693$ Y $A_{1D} = 11.5$ PARA HEMBRAS. SE COLOCARON MARCADORES EN LA DOSIS DE 8 GY PARA VISUALIZAR QUE LA DISMINUCIÓN EN EL DESTINO NEUROGÉNICO FUE 42 % Y 73 % EN RATONES MACHO Y HEMBRA, RESPECTIVAMENTE. LOS DATOS EXPERIMENTALES SE OBTUVIERON DE ACUERDO CON LO REPORTADO POR KALM, M. *ET AL.* [23]. 61

FIGURA 6.11. RESPUESTA A LARGO PLAZO DE LA NEUROGÉNESIS HIPOCAMPAL INDUCIDA POR LA EXPOSICIÓN CEREBRAL A RATONES MACHO Y HEMBRA CON 8 GY DE RADIACIÓN DE BAJA LET. HIPÓTESIS C: A) NEUROBLASTOS Y B) NEURONAS INMADURAS CON LA MISMA TASA DE PROLIFERACIÓN Ψ EN AMBOS SEXOS. HIPÓTESIS A+C: C) NEUROBLASTOS Y D) NEURONAS INMADURAS CON UN AUMENTO EN LA TASA DE PROLIFERACIÓN EN LOS RATONES HEMBRA. LA SIMULACIÓN MATEMÁTICA SE REALIZÓ CON LOS PARÁMETROS DE LAS TABLAS 6.9 Y 6.10, CON $A_{0D} = -0.051$, $A_{1D} = 11.5$ Y $\Delta D = 0.054$ PARA RATONES MACHO; $A_{0D} = -0.0693$ Y $A_{1D} = 11.5$ PARA HEMBRAS. 63

FIGURA 6.12. INCREMENTO DE LA DENSIDAD DE LA MICROGLÍA ACTIVADA (EJE DE LAS ORDENADAS DE COLOR AZUL) Y DISMINUCIÓN DEL DESTINO NEUROGÉNICO (EJE DE LAS ORDENADAS DE COLOR ROJO) COMO FUNCIÓN DE LA DOSIS EN RATONES MACHO Y HEMBRA 4 MESES DESPUÉS DE LA IRRADIACIÓN. A) SE EMPLEARON LOS PARÁMETROS DEL DESTINO NEUROGÉNICO DE LA TABLA 6.9 Y B) EMPLEANDO LOS PARÁMETROS DE LA TABLA 6.11. .. 67

FIGURA 6.13. INCREMENTO DE LA MICROGLÍA ACTIVADA [%] E INCREMENTO DE LA DENSIDAD DE LA MICROGLÍA ACTIVADA [%], COMO FUNCIÓN DE LA DOSIS, DE RATONES MACHO Y HEMBRA. 68

FIGURA 6.14. HIPÓTESIS A + D: INFLUENCIA DEL INCREMENTO DE LA DENSIDAD DE MICROGLÍA ACTIVADA EN LA DENSIDAD DE LAS POBLACIONES DE A) NEUROBLASTOS Y B) NEURONAS INMADURAS, SIN CAMBIO DE LOS PARÁMETROS DE LA ECUACIÓN DEL DESTINO NEUROGÉNICO CONSECUENTE DEL AUMENTO DE LA DENSIDAD DE LA MICROGLÍA ACTIVADA (ECUACIÓN 29). HIPÓTESIS A+D: INFLUENCIA DEL INCREMENTO DE LA DENSIDAD DE MICROGLÍA ACTIVADA EN LA DENSIDAD DE POBLACIONES DE C) NEUROBLASTOS Y D) NEURONAS INMADURAS, PERO CON EL AJUSTE DE LOS PARÁMETROS DE LA ECUACIÓN DEL DESTINO NEUROGÉNICO CONSECUENTE DEL AUMENTO DE LA DENSIDAD DE LA MICROGLÍA ACTIVADA. EN AMBOS GRUPOS DE GRÁFICAS, SE SIMULARON RATONES MACHO Y HEMBRA IRRADIADOS CON 8 GY DE RADIACIÓN DE BAJA LET COMO FUNCIÓN DEL TIEMPO POST IRRADIACIÓN. 69

FIGURA 6.15. GRÁFICAS A) Y B): DIFERENCIA PORCENTUAL ENTRE RATONES MACHO Y HEMBRA DE NEUROBLASTOS Y NEURONAS INMADURAS, RESPECTIVAMENTE, ANTES Y DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN CON 8 GY RADIACIÓN DE BAJA LET, SIMULANDO LA INFLUENCIA DE LA MICROGLÍA ACTIVADA. GRÁFICAS C) Y D): DIFERENCIA PORCENTUAL ENTRE RATONES MACHO Y HEMBRA DE NEUROBLASTOS Y NEURONAS INMADURAS, RESPECTIVAMENTE, ANTES Y DESPUÉS DE LA EXPOSICIÓN CON 8 GY, PERO SIMULANDO LA INFLUENCIA DE LA DENSIDAD DE LA MICROGLÍA ACTIVADA. 70

RESUMEN

En esta tesis se trabajó con un modelo matemático que simula la respuesta de la neurogénesis hipocampal después de la irradiación en ratones macho. El objetivo del presente trabajo fue proponer parámetros de ajuste para ratones macho y hembra que representaran la relación entre la respuesta a la irradiación y el sexo, como son las diferencias reportadas en el número de células neurales de ratones. Este planteamiento surge del poco entendimiento de los mecanismos detrás de las disimilitudes observadas en el detrimento cognitivo dependiente del hipocampo entre ambos sexos después de la irradiación craneal en humanos. El uso de un modelo matemático ofrece la oportunidad de aportar información valiosa sobre las posibles diferencias entre ambos sexos en la dinámica de la respuesta de la radiación y es posible relacionar el detrimento cognitivo observado con las alteraciones en la neurogénesis hipocampal.

Se realizó una revisión bibliográfica para la obtención de datos experimentales que pudieran compararse con los resultados de la simulación modelo. La parametrización de los valores de las ecuaciones del modelo inicial se realizó mediante simulaciones matemáticas. Con este método se calcularon los valores de los parámetros correspondientes para la simulación de la dinámica de la neurogénesis para ratones hembra antes y después de la irradiación.

Una de las hipótesis para evaluar el modelo matemático fue considerar las diferencias publicadas en el volumen del giro dentado del hipocampo que difiere entre ratones macho y hembra tras la irradiación. Esto se modeló como una mayor densidad de microglía activada (número de células por unidad de volumen) en los ratones hembra que en los machos, como se demuestra la literatura.

Se encontró que un incremento de la densidad de la microglía activada generaría un mayor daño en la neurogénesis de ratones hembra después de la irradiación comparado con la de los ratones macho. Esto sugiere que la reducción del volumen del giro dentado sumado al aumento de la microglía activada, ambos hechos reportados en la literatura, afectan a la neurogénesis hipocampal después de la irradiación de manera dependiente con el sexo. La mayor disminución de la neurogénesis hipocampal en ratones hembra pudiera explicar un detrimento cognitivo más severo en este sexo, lo que coincide con los reportes clínicos en humanos.

El modelo matemático permitió proponer entonces hipótesis plausibles sobre los factores que afectan la dinámica de la respuesta a la irradiación que pudieran explicar las diferencias entre machos y hembras. Dichas hipótesis deberían comprobarse a futuro mediante medidas experimentales.

ABSTRACT

In this thesis we worked with a mathematical model that simulates the response of hippocampal neurogenesis after irradiation in male mice. The aim of the present work was to propose fitting parameters for male and female mice that represent the relationship between irradiation response and sex, such as the reported differences in the number of mouse neural cells. This approach arises from the poor understanding of the mechanisms behind the observed dissimilarities in hippocampus-dependent cognitive impairment between the sexes after cranial irradiation in humans. The use of a mathematical model offers the opportunity to provide valuable information on possible sex differences in the dynamics of the radiation response and allow to relate the observed cognitive impairment to alterations in hippocampal neurogenesis.

A literature review was carried out to obtain experimental data that could be compared with the results of the model simulation. Parameterization of the values of the initial model equations was performed by means of mathematical simulations. Using this method, the corresponding parameter values were calculated for the simulation of neurogenesis dynamics for female mice before and after irradiation.

One of the hypotheses for evaluating the mathematical model was to consider published differences in the volume of the hippocampal dentate gyrus that differed between male and female mice after irradiation. This was modeled as a higher density of activated microglia (number of cells per unit volume) in female mice than in male mice, as demonstrated by the literature.

We found that an increased density of activated microglia would generate greater damage to neurogenesis in female mice after irradiation compared to that in male mice. This suggests that the reduction in dentate gyrus volume coupled with the increase in activated microglia, both reported in the literature, affects hippocampal neurogenesis after irradiation in a sex-dependent manner. The greater decrease in hippocampal neurogenesis in female mice could explain a more severe cognitive impairment in this sex, which coincides with clinical reports in humans.

The mathematical model allowed us to propose plausible hypotheses about the factors affecting the dynamics of the response to irradiation that could explain the differences between males and females. These hypotheses should be tested in the future by experimental measurements.

I. INTRODUCCIÓN

Después de un tratamiento de cáncer cerebral con radiación ionizante en infantes y adultos, se observan alteraciones cognitivas, que, dependiendo de la región irradiada, pueden manifestarse como alteraciones progresivas en la memoria, en la atención y funciones de ejecución, en habilidades cuantitativas y en el aprendizaje, que han tomado gran importancia porque afectan profundamente la calidad de vida de los pacientes [1, 2, 3]. Los mecanismos que subyacen al deterioro cognitivo mediado por la irradiación son poco conocidos, realmente, antes de 1970 se pensaba que el cerebro humano era altamente radiorresistente. Ahora se sabe que el síndrome agudo del sistema nervioso central (SNC) ocurre con dosis únicas mayores que 30 Gy [3]. Los cambios en la proliferación y muerte celular de las poblaciones celulares neurales en el giro dentado del hipocampo, incluso con dosis bajas, sugieren ser uno de los diferentes factores asociados en bastantes estudios usando modelos preclínicos de roedores. Los detrimentos cognitivos relacionados con el hipocampo pueden implicar cambios en la neurogénesis donde las células madre neurales están en constante actividad de proliferación a lo largo de la vida, especialmente en niños y adolescentes [2].

A partir del descubrimiento de la neurogénesis (generación de nuevas células neuronales) en humanos adultos, ha habido avances significativos en el estudio de este fenómeno neurobiológico, específicamente en la respuesta a estímulos externos, como es el caso de los efectos producidos por la radiación ionizante. La radiación ionizante puede afectar de manera sustancial la neurogénesis en el hipocampo, ya que es altamente radiosensible tanto en humanos como en roedores, genera una alteración potencial en la supervivencia de las células madre y progenitoras en estas regiones, disminuyendo su capacidad de repoblación o regeneración. Los estudios preclínicos con roedores han proporcionado información sobre la patogénesis del deterioro cognitivo inducido por radiación, por ejemplo, ahora se sabe que la red neuronal del hipocampo es fundamental para el almacenamiento y la recuperación de los recuerdos espaciales y episódicos, lo que sugiere que la disfunción de la señalización del hipocampo podría ser responsable de los déficits de memoria progresivos observados después de la irradiación [1, 4]. Se ha interpretado que estos datos sugieren que proteger el hipocampo evitará el deterioro cognitivo inducido por la radiación clínica.

Los tratamientos con radiación ionizante inevitablemente son llevados a cabo con campos fuera del volumen tumoral que conducen a la irradiación de tejido normal. En el caso de radioterapia craneal, las dosis depositadas en un régimen fraccionado en el hipocampo van desde 1 a 10 Gy, lo cual es razón de preocupación y de principal importancia por la alta susceptibilidad a la radiación ionizante que presenta esta región [1]. Actualmente, no existen tratamientos para prevenir el daño mediado por la irradiación en el tejido cerebral normal y la posterior disfunción cognitiva a largo plazo. Parte de la dificultad es que no se comprenden completamente los cambios neuronales y gliales, en particular, los efectos mediados por la irradiación sobre la estructura neuronal y la activación microglial que podrían afectar la función cognitiva [1].

Gracias a los nuevos protocolos de tratamiento con radioterapia craneal, ha aumentado considerablemente la supervivencia de los pacientes pediátricos. Con ello se tiene evidencia de los efectos tardíos o efectos a largo plazo que presentan estos pacientes como crecimiento perturbado, desequilibrios hormonales, dificultades de aprendizaje y deterioro cognitivo [5]. La edad al momento del diagnóstico y ser de sexo femenino se asocian con un mayor riesgo de deterioro cognitivo [5]. La radioterapia craneal incrementa significativamente la necesidad de educación especial en escuelas debido a las dificultades de aprendizaje. Además, se ha demostrado que la irradiación perturba el microambiente en el cerebro y que parte del daño visto después de la irradiación podría explicarse por la neuroinflamación. Una respuesta inflamatoria incluye la activación de la microglía y la liberación de citocinas y quimiocinas, lo que genera efectos negativos sobre la recuperación después de una lesión [5].

Los estudios de la influencia del sexo de un animal en las respuestas neuronales en el desarrollo, el envejecimiento, las enfermedades y la respuesta a las lesiones, han ido tomando gran importancia. Por ejemplo, se cree que la microglía, célula que forma parte del sistema inmune del SNC, tiene un importante papel en el desarrollo y mantenimiento de la neuroinflamación posterior a una lesión, además de presentar características específicas asociadas al sexo en roedores. La microglía participa en procesos de desarrollo a través de la masculinización inducida por hormonas gonadales en roedores machos. Además, los estudios han demostrado diferencias asociadas al sexo en los genes reguladores de la vía inflamatoria y del complemento en el hipocampo, la amígdala y el hipotálamo [6]. Sin embargo, las diferencias asociadas al sexo antes y después de la irradiación craneal están poco estudiadas en la literatura y proporcionan pocos datos que describan cómo responden los ratones macho y hembra a la radiación. Un estudio reciente del año 2018 utilizó radiación de partículas de baja transferencia de energía lineal (LET, por sus siglas en inglés) demostrando diferencias dependientes del sexo en la población microglial, modificaciones sinápticas y déficits cognitivos, lo que sugiere que los cambios mediados por la irradiación dependen del sexo [6]. La LET es un parámetro que determina la densidad de ionización producida en el medio por una partícula cargada [7].

En este proyecto de tesis se desarrolló un modelo matemático que busca interpretar los resultados de los cambios inducidos por radiación en la neurogénesis centrada en la región hipocampal debido a su importante rol en el aprendizaje y memoria. Se tiene como finalidad comprender los efectos de la exposición a la radiación ionizante y su dependencia con el sexo de ratones, que pudieran afectar la función cognitiva de manera diferencial.

II. JUSTIFICACIÓN

Cada vez se reconoce más que el sexo de un animal puede influir significativamente en las respuestas neurales ante lesiones cerebrales. Sin embargo, los mecanismos detrás de las diferencias asociadas al sexo antes y después de la irradiación craneal están poco estudiados en la literatura y proporcionan pocos datos que describan cómo responden los ratones macho y hembra ante el daño inducido por la radiación.

En el hipocampo, una estructura crítica involucrada en el aprendizaje y la memoria, se han encontrado diferentes efectos producidos por la irradiación sobre la activación microglial y la estructura neuronal entre ratones macho y hembra. Los modelos matemáticos compartimentales han demostrado ser capaces de predecir el proceso de la neurogénesis, por lo que aplicados al daño por radiación pueden aportar información sobre los cambios en las poblaciones celulares y sus diferencias entre pacientes hombres y mujeres.

III. OBJETIVOS

Parametrizar un modelo matemático que represente los cambios inducidos por radiación ionizante en la neurogénesis hipocampal para evaluar la dependencia de la radiosensibilidad con el sexo.

Objetivos particulares

- ❖ Modelar y observar la neurogénesis hipocampal como función de la edad de los ratones sin irradiar.
- ❖ Modelar la neurogénesis hipocampal después de la exposición a la radiación de baja LET y su respuesta a corto y a largo plazo.
- ❖ Proponer parámetros de ajuste diferentes entre machos y hembras que representen la dependencia con el sexo de la respuesta a la irradiación, como es el de la microglía con el sexo y su impacto en la neurogénesis hipocampal de ratones.

IV. ANTECEDENTES

4.1. Generalidades del sistema nervioso

El sistema nervioso está compuesto de una red altamente organizada de miles de millones de neuronas y de células gliales o de sostén. Las señales de entrada llegan a ella a través de las sinapsis situadas fundamentalmente en las dendritas neuronales. La señal de salida viaja por el único axón que abandona la neurona. Entre las estructuras que conforman al sistema nervioso se encuentran el encéfalo, los nervios craneales y sus ramas, la médula espinal, los nervios espinales, los ganglios nerviosos, los plexos entéricos y los receptores sensitivos [8]. El sistema nervioso se divide en sistema nervioso central constituido por el encéfalo y la médula espinal y el sistema nervioso periférico (SNP), que comprende los pares craneales que surgen desde el encéfalo y los nervios espinales que surgen de la médula espinal. Para este proyecto es necesario hablar de las células que conforman al SNC y sus funciones principales [9]:

4.1.1. Neuronas

Las neuronas son las subunidades estructurales y funcionales básicas del sistema nervioso; entre sus principales propiedades está la excitabilidad eléctrica, es decir, la capacidad de responder a un estímulo y convertirlo en un potencial de acción. Por lo general, tienen tres regiones principales (ver la figura 4.1): 1) un cuerpo celular, 2) dendritas y 3) un axón [8, 9]. El cuerpo celular es la porción agrandada de la neurona que contiene el núcleo y su función es ser el centro nutricional de la neurona, donde se producen macromoléculas. Las dendritas son prolongaciones delgadas y ramificadas que se extienden desde el citoplasma del cuerpo celular; por ellas circulan las señales de las neuronas vecinas a través de las sinapsis. El axón es una prolongación más larga que conduce impulsos nerviosos, llamado potencial de acción, desde el cuerpo celular a la periferia [8, 9].

4.1.2. Células gliales

Las células gliales dan soporte a las funciones de las neuronas y la mayoría de las células gliales del sistema nervioso derivan de la misma capa de tejido embrionario (ectodermo) que produce las neuronas. En general, las células gliales tienen menor tamaño que las neuronas, pero son entre 5 y 50 veces más numerosas (ver la figura 4.1). Dentro de sus características están que no generan ni propagan potenciales de acción y que se pueden multiplicar y dividir en el sistema nervioso. De los seis tipos de células gliales, cuatro (astrocitos, oligodendrocitos, microglía y células ependimarias) se encuentran solo en el sistema nervioso central y se describen a continuación [8, 9]:

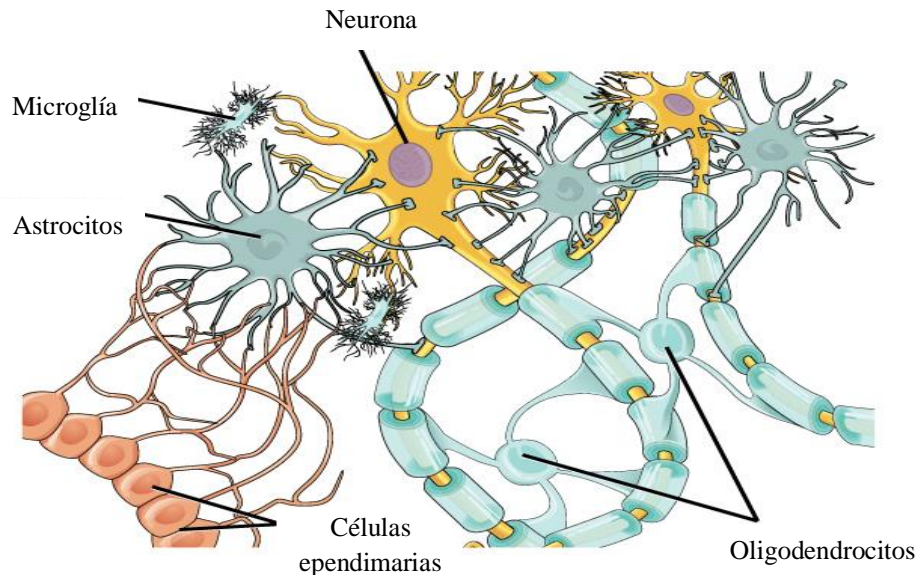


Figura 4.1. Neurona y células gliales que forman parte del sistema nervioso central. Tomada y modificada de [10].

1. Oligodendrocitos: aíslan y aportan soporte trófico a los axones, regulan su desarrollo, mantenimiento, reparación y plasticidad. Además, la membrana plasmática de los oligodendrocitos es la principal componente de la mielina, la cual es una cubierta de múltiples capas, formada de lípidos y proteínas, que envuelve a ciertos axones aislándolos y aumentando la velocidad de transmisión de los impulsos nerviosos, siendo indispensable para la actividad funcional, como la cognición.

2. Astrocitos: células en forma de estrella con prolongaciones celulares, las más largas y numerosas de la neuroglía. Estas prolongaciones hacen contacto con capilares sanguíneos, con neuronas y con la piamadre (delgada membrana que se dispone alrededor del encéfalo y la médula espinal).

Contienen microfilamentos que les dan una resistencia considerable y les permite sostener a las neuronas; las proyecciones de los astrocitos que envuelven a los capilares sanguíneos aíslan a las neuronas del SNC de diferentes sustancias nocivas de la sangre mediante la secreción de compuestos químicos que mantienen la permeabilidad de las células endoteliales de los capilares. Estas células endoteliales forman la barrera hematoencefálica que restringe el paso de sustancias entre la sangre y el líquido intersticial del SNC. Los astrocitos contribuyen a mantener las condiciones químicas propicias para la generación de impulsos nerviosos; también desempeñan un papel en el aprendizaje y la memoria por medio de su contribución a la sinapsis.

3. Células endoteliales: son células con forma cuboidea o cilíndrica y están distribuidas en una monocapa con microvellosidades y cilios. Estas células revisten los ventrículos del cerebro y el conducto central de la médula espinal. Su función es producir y contribuyen a la circulación de líquido cefalorraquídeo. También forman parte de la barrera hematoencefálica.

4. Microglía: son de origen hematopoyético (médula ósea) y durante el desarrollo fetal las células precursoras mieloides migran desde el saco vitelino embrionario al cerebro para convertirse en la microglía residente. Durante el desarrollo, las microglías muestran características de ser reactivas con forma ameboide a medida que migran y proliferan por todo el sistema nervioso en desarrollo. Estas células se diferencian gradualmente en microglías maduras y ramificadas a medida que el cerebro madura. En el cerebro adulto, la microglía mantiene un estado en reposo caracterizado por su fenotipo ramificado y expresa niveles bajos de citocinas y quimiocinas inflamatorias. La microglía responde rápidamente a alteraciones de la homeostasis y cambios patológicos en el parénquima cerebral como excitotoxicidad, agresiones neurodegenerativas, isquemia y daño tisular directo. En su respuesta, la microglía se “activa” y adquiere una morfología ameboide, similar a la de un macrófago, volviéndose fagocítica y capaz de secretar una gran cantidad de moléculas inflamatorias (ver la figura 4.2). También la microglía en este estado muestra una mayor expresión de oxidasa fagocítica y óxido nítrico sintasa inducible, así como una mayor generación de óxido nítrico, el principal mediador citotóxico en casos de respuesta inflamatoria aguda y crónica [1, 6, 8].

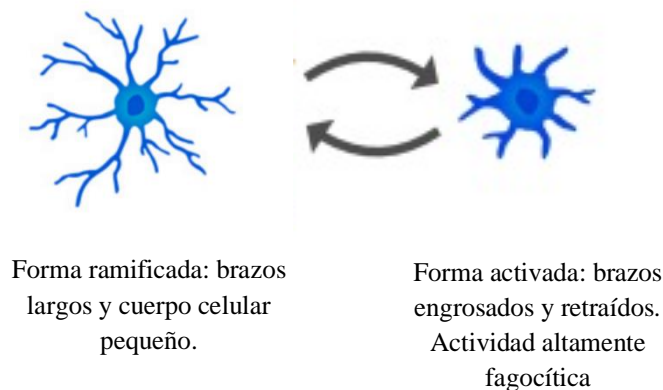


Figura 4.2. Bajo condiciones fisiológicas normales la microglía (célula izquierda) tiene funciones de soporte a la neurona, por otro lado, en condiciones patológicas pierde estas funciones para favorecer la supervivencia. Tomada y modificada de [11].

Entre muchas de sus funciones a lo largo del desarrollo del cerebro, la microglía da soporte a la supervivencia de nuevas neuronas y conexiones sinápticas, elimina las conexiones sinápticas falsas y las células fagocíticas programadas para la muerte. Muchos de estos procesos son sexualmente diferentes en el cerebro de los roedores adultos y jóvenes. Por lo tanto, la microglía es fundamental para el desarrollo neuronal normal, pero también mantiene su papel como célula inmune primaria del SNC [1,8].

4.1.3. Actividad eléctrica de las neuronas [8]

La permeabilidad de la membrana al Na^+ y al K^+ depende de canales con compuerta que se abren en respuesta a la estimulación. La difusión neta de estos iones ocurre en dos etapas: primero, el Na^+ se mueve hacia el axón, después el K^+ se mueve hacia afuera. Este flujo de iones, y los cambios en el potencial de membrana que suceden, constituyen un evento llamado potencial de acción.

Todas las células del cuerpo humano mantienen una diferencia de potencial a través de la membrana o potencial de membrana en reposo, en la cual el interior de la célula tiene carga negativa en comparación con el exterior de la célula. Esta diferencia de potencial depende de la permeabilidad de la membrana plasmática del axón. La difusión selectiva de la membrana genera una distribución desigual de estos iones a través de la membrana. La acción de las bombas de Na^+/K^+ también ayuda a mantener la diferencia de potencial porque bombea hacia fuera tres iones sodio por cada dos iones de potasio que transportan hacia dentro de la célula. Como resultado, la concentración de Na^+ es más alta en el líquido extracelular que dentro de la célula, mientras que la concentración de K^+ es más alta dentro de la célula.

Las alteraciones en el potencial de membrana neuronal se logran al variar la permeabilidad de la membrana a iones específicos en respuesta a la estimulación. Esta capacidad se denomina excitabilidad.

Un cambio en la permeabilidad de la membrana a un ion específico origina la difusión de ese ion a favor de su gradiente electroquímico (gradiente de concentración y eléctrico, considerados en conjunto), sea hacia adentro o hacia afuera de la célula. Estas corrientes de iones ocurren únicamente a través de los canales iónicos.

Si la estimulación apropiada causa flujo de cargas positivas hacia la célula, este cambio se llama despolarización porque la diferencia de potencial entre los dos electrodos de registro se reduce. Un regreso al potencial de membrana en reposo se conoce como repolarización. Si la estimulación hace que el interior de la célula se torne más negativo que el potencial de membrana en reposo, este cambio se conoce como hiperpolarización. La hiperpolarización puede originarse por cargas positivas que abandonan la célula o por cargas negativas que entran a la célula. Estos cambios de la difusión de iones y los cambios resultantes del potencial de membrana producen un evento llamado el potencial de acción o impulso nervioso.

La despolarización de una dendrita o de un cuerpo celular es excitadora, mientras que la hiperpolarización es inhibitoria, en términos de sus efectos sobre la producción de impulsos nerviosos.

4.1.4. Propagación de los impulsos nerviosos [8]

Para transmitir información entre distintos sectores del organismo, los impulsos nerviosos deben trasladarse desde el lugar de origen hasta los terminales axónicos. Un impulso nervioso se propaga en una sola dirección: desde la zona de origen hasta los terminales axónicos.

El tipo de propagación de los impulsos originados en las fibras musculares y en los axones amielínicos es una continua polarización y despolarización de cada segmento adyacente de la membrana plasmática y se conoce como conducción continua. En la conducción continua los iones fluyen a través de sus canales regulados por voltaje en cada segmento adyacente de la membrana. En este tipo de conducción, el impulso nervioso se propaga por una distancia relativamente corta en unos pocos milisegundos.

Los impulsos nerviosos se propagan con mayor rapidez en los axones mielínicos que en los amielínicos. La conducción saltatoria tiene lugar en los axones mielínicos, se produce por la distribución desigual de canales dependientes del voltaje.

Cuando un impulso nervioso se propaga a lo largo de un axón mielínico una corriente eléctrica fluye a través del líquido extracelular que rodea la vaina de mielina y a través del citosol desde un nodo al siguiente. El impulso nervioso del primer nodo origina corrientes iónicas en el citosol y en el líquido extracelular que despolarizan la membrana hasta el valor umbral y causan la apertura de los canales de Na^+ reguladores por voltaje del segundo nodo. La corriente iónica que se establece a través de estos canales abiertos determina un impulso nervioso en el segundo nodo. Luego, el impulso nervioso genera en este una corriente iónica que da lugar a la apertura de los canales de Na^+ reguladores por voltaje del tercer nodo y así sucesivamente. Si el potencial de acción producido en el último nodo tiene la misma amplitud que el que se produce en el primer nodo, se dice que los potenciales de acción se conducen sin decremento.

4.1.5. Sinapsis [9]

Los axones terminan cerca de otra célula o en el punto de contacto con esta. Una vez que los potenciales de acción llegan al final de un axón estimulan o inhiben de manera directa o indirecta a la otra célula. Los potenciales de acción estimulan la liberación de un neurotransmisor químico que afecta la siguiente célula.

A la sinapsis se le conoce como la conexión funcional entre una neurona y una segunda célula. En el SNC, esta otra célula es una neurona. La sinapsis entre neurona y neurona comprende una conexión entre el axón de una neurona y las dendritas, el cuerpo celular o el axón de una segunda neurona. En casi todas las sinapsis, la transmisión solo va en una

dirección: desde el axón de la primera neurona (o presináptica) o hacia la segunda (o postsináptica).

Sinapsis eléctricas: los potenciales de acción se transmiten directamente entre células adyacentes a través de estructuras llamadas uniones comunicantes. Cada unión contiene aproximadamente centenas de conexiones, es decir, canales iónicos que conectan directamente al citosol de las dos células. A medida que los iones fluyen de una célula a la siguiente a través de las conexiones el potencial de acción se propaga de célula en célula. Las ventajas que presentan son una comunicación más rápida y sincronización de la actividad de un grupo de neuronas.

Sinapsis químicas: A pesar de la cercanía entre las membranas plasmáticas de las neuronas presinápticas y postsinápticas en una sinapsis química ambas no se tocan. Están separadas por la hendidura o espacio sináptico, un espacio lleno de líquido intersticial. En respuesta a un impulso nervioso, la neurona presináptica libera un neurotransmisor que se difunde a través del líquido de la hendidura sináptica y se une a receptores específicos en la membrana plasmática de la neurona postsináptica. La neurona postsináptica recibe la señal química y como resultado, produce un potencial postsináptico.

4.1.6. Plasticidad sináptica

A lo largo de la vida el sistema nervioso humano muestra plasticidad, es decir, la capacidad de cambiar sobre la base de la experiencia. A nivel neuronal, los cambios pueden consistir en brotes de nuevas dendritas, cambios epigenéticos y modificaciones en los contactos sinápticos con otras neuronas [9, 10].

El uso repetido de una vía sináptica particular puede aumentar la fuerza de la transmisión sináptica en esa sinapsis o disminuir la fuerza de la transmisión a lo largo de esa vía. Estos efectos se conocen como facilitación y depresión sináptica, respectivamente. Como resultado, la fuerza de la transmisión sináptica puede variar lo cual se conoce como plasticidad sináptica [9, 10].

Cuando una neurona presináptica es estimulada experimentalmente a una frecuencia alta, aun durante solo algunos segundos, la excitabilidad de la sinapsis aumenta o se potencia, cuando esta vía de neurona se estimula después. La eficacia mejorada de la transmisión sináptica puede durar horas o incluso semanas y se llama potenciación a largo plazo (LTP, por sus siglas en inglés). La LTP puede favorecer la transmisión a lo largo de vías neurales usadas con frecuencia y así, puede presentar un mecanismo de aprendizaje neural. La LTP se ha observado en el hipocampo del cerebro, que es un área implicada en el almacenamiento de memoria. Casi todas las vías neurales en el hipocampo usan glutamato como neurotransmisor que activa receptores de N-metil-D-aspartato (NMDA). Esto implica al glutamato y sus receptores NMDA en el aprendizaje y la memoria [9].

Una sinapsis despliega LTP si la neurona presináptica es estimulada a una frecuencia alta para que produzca un potencial de acción y libere su neurotransmisor varios milisegundos antes de que la neurona postsináptica produzca un potencial de acción. La LTP depende de un aumento de la concentración de Ca^{2+} dentro de la neurona postsináptica, un incremento rápido de la concentración de Ca^{2+} causa LTP [9].

4.2. Anatomía del sistema nervioso central

El sistema nervioso central, consta del encéfalo y la médula espinal, recibe aferencias (entrada de información) de neuronas sensoriales y dirige la actividad de neuronas motoras que inervan músculos y glándulas. El SNC de todos los vertebrados tiene la capacidad de al menos formas de aprendizaje y memoria. Esta capacidad permite que la conducta se modifique por la experiencia. Además, las percepciones, el aprendizaje, la memoria, las emociones y quizá incluso la percepción de sí mismo como una entidad individual, que forma la base de la conciencia, son creaciones del encéfalo [8, 9].

El origen embrionario del encéfalo comienza con el ectodermo, donde a lo largo del desarrollo embrionario aparece un surco el cual forma un tubo neural. El tubo neural se convertirá en el SNC y la cresta neural se transformará en ganglios del sistema nervioso periférico, entre otras estructuras [9].

En la cuarta semana después de la concepción se pueden distinguir tres secciones del tubo neural que van a formar el encéfalo: prosencéfalo, mesencéfalo y rombencéfalo. El prosencéfalo se divide en el telencéfalo y el diencefalo; el mesencéfalo permanece sin cambios y el rombencéfalo se divide en metencéfalo y el mielencéfalo [9].

El telencéfalo crece de manera desproporcionada en los seres humanos y forma los dos hemisferios del cerebro que cubren el diencefalo, el mesencéfalo y una porción del rombencéfalo. Las cavidades del encéfalo se conocen como ventrículos y están llenas de líquido cefalorraquídeo (LCR) [9].

4.2.1. Cerebro

El cerebro consta de cinco lóbulos pares dentro de dos hemisferios, contiene sustancia blanca (vainas de mielina de los axones) en su corteza y en núcleos cerebrales más profundos. El cerebro es la única estructura del telencéfalo, es la porción de mayor tamaño del encéfalo y es la principal región del encéfalo que se encarga de las funciones mentales superiores incluyendo al ciclo sueño-vigilia, la atención, la memoria y el aprendizaje. El cerebro consta de hemisferio derecho e izquierdo, conectados internamente por un tracto de fibras grande llamado cuerpo calloso. El cuerpo calloso es el principal tracto de axones que interconecta funcionalmente los hemisferios derecho e izquierdo [8, 9].

El cerebro consta de una corteza cerebral, compuesta de sustancia gris y sustancia blanca. La corteza cerebral se caracteriza por muchos pliegues y surcos llamados convoluciones, los

pliegues elevados de las convoluciones se llaman circunvoluciones y las ranuras deprimidas son los surcos [9].

Cada hemisferio cerebral se subdivide en cuatro lóbulos. Los lóbulos se denominan según los huesos que los cubren: frontal, parietal, temporal y occipital. El surco central (grietas profundas entre las circunvoluciones superficiales) separa el lóbulo frontal del parietal [9].

El lóbulo frontal es la porción anterior de cada hemisferio cerebral. El surco central separa el lóbulo frontal del lóbulo parietal. Los cuerpos celulares de las interneuronas localizadas aquí se llaman neuronas motoras superiores debido a su papel en la regulación muscular. El lóbulo parietal se encuentra en el área primaria de la corteza de la cual depende la percepción de la sensación somatoestésica, sensación que surge a partir de receptores cutáneos, musculares, tendinosos y articulares. El lóbulo temporal contiene centros auditivos que reciben fibras sensitivas desde la cóclea de cada oído. Este lóbulo también participa en la interpretación y la asociación de información auditiva y visual. El lóbulo occipital es el área primaria de la cual dependen la visión y la coordinación de los movimientos oculares [9].

4.2.2. Sistema límbico

El sistema límbico consta de un grupo de núcleos del prosencéfalo y tractos de fibras que forman un anillo alrededor del tronco encefálico. Entre los componentes que lo conforman están la circunvolución dentada, la amígdala, el hipocampo y los núcleos septales. El sistema límbico es el centro de impulsos emocionales básicos [9]. En este trabajo basta con describir a la estructura del hipocampo.

Hipocampo. Es el lugar donde asientan funciones muy importantes y características de la naturaleza humana, tales como la memoria y el aprendizaje. Además, posee una gran plasticidad neuronal, se le ha relacionado con numerosas patologías como la enfermedad de Alzheimer y está ampliamente conectado con otras áreas cerebrales incluyendo la corteza entorrinal, el tálamo, la corteza prefrontal, entre otras [12].

La formación hipocampal se divide en cuatro regiones corticales: el giro dentado, el hipocampo propiamente (dividido en tres regiones: la región superior de la asta de Amón (CA1), la región media (CA2) y la región inferior (CA3)), el complejo subicular (formado por el *presubiculum*, el *subiculum* y el *parasubiculum*) y la corteza entorrinal (ver la figura 4.3). Cada una de estas áreas está conectada mediante conexiones sinápticas. Las regiones del hipocampo están vinculadas por conexiones únicas y en gran parte unidireccionales. La circunvolución dentada recibe su entrada principal de la corteza entorrinal a través de la llamada vía perforante. Las células granulosas de la circunvolución dentada migran al CA3, finalmente se forman conexiones de entrada al CA1 (ver la figura 4.4) [12].

El hipocampo y las estructuras del lóbulo temporal medial son cruciales para la memoria ya que adquieren nueva información acerca de hechos y eventos, además para la consolidación de la memoria a corto plazo hacia la memoria a largo plazo, que se almacena en la corteza cerebral. Hay diferentes clasificaciones de memoria según los estudios en pacientes con daño

cerebral. Se distingue entre memoria a corto plazo y memoria a largo plazo. La memoria a largo plazo depende de cambios epigenéticos (síntesis de proteínas), esta dependencia no se presenta en la memoria a corto plazo. La memoria a largo plazo se clasifica como memoria no declarativa (o implícita) y declarativa (o explícita). La memoria no declarativa se refiere a la memoria de habilidad y acciones. La memoria declarativa es la memoria que puede verbalizarse y se subdivide en memoria semántica (hechos) y episódica (serie de eventos) [12].

Se ha encontrado que la consolidación de la memoria declarativa a corto plazo hacia la memoria declarativa a largo plazo es una función del lóbulo temporal medial, en particular del hipocampo y la amígdala. Además, se ha establecido que el hipocampo es importante para mantener recuerdos recientes, ya que no muestra actividad una vez que la memoria se ha consolidado [9].

Una de las razones por las que se ha demostrado que la memoria y el aprendizaje son llevadas a cabo en el hipocampo es porque se ha detectado gran plasticidad sináptica en esta región mediante la potenciación a largo plazo. Los mecanismos de plasticidad sináptica en el hipocampo son un paso hacia la formación de la memoria a largo plazo y su alteración podría subyacer a los déficits de memoria observados en pacientes de cáncer tratados con radioterapia o sujetos de edad avanzada [13].

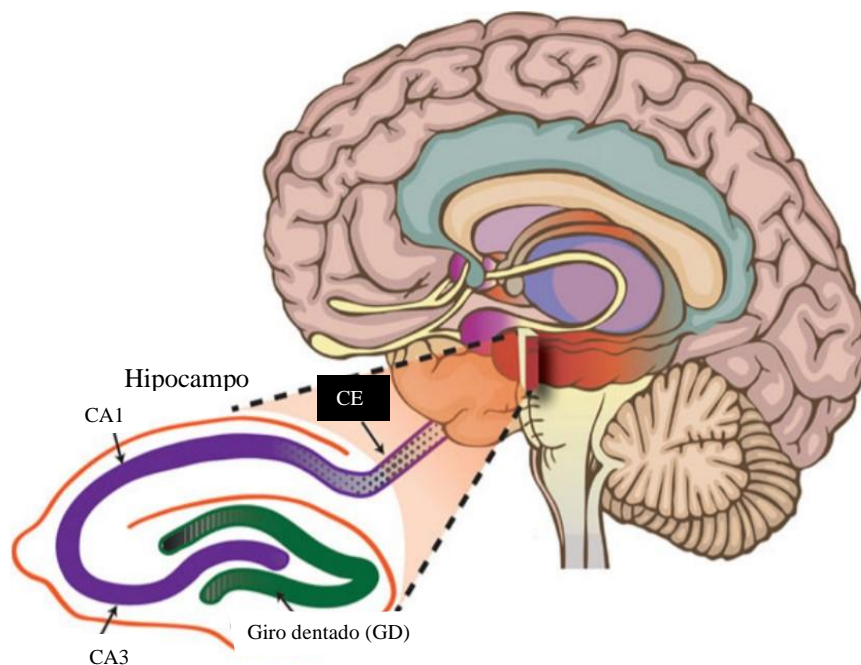


Figura 4.3. La estructura hipocampal, formada por 4 regiones: la corteza entorrinal (CE), el giro dentado (GD), el hipocampo propiamente (dividido en el cuerpo de Amón CA3, CA2 no indicado y CA1) y el complejo subicular no indicado. Tomada y modificada de [10].

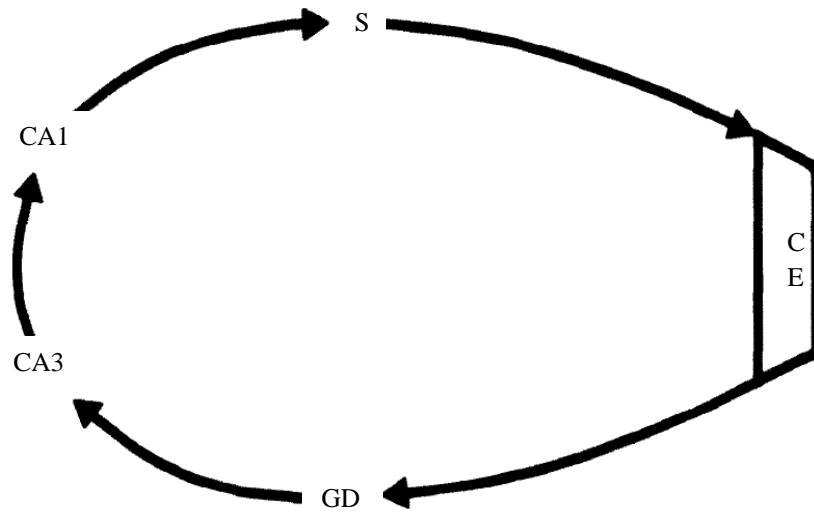


Figura 4.4. Conexión unidireccional de las regiones de la estructura hipocampal. Es una característica única del hipocampo, cuyo circuito está ligado por proyecciones excitatorias de las células que conforman las regiones. CE: corteza entorrinal; GD: giro dentado; CA1: cuerpo de Amón 1; CA3 Cuerpo de Amón 3; Complejo subicular. Tomada y modificada de [12].

4.3. Neurogénesis hipocampal adulta

Además de las células que constituyen al sistema nervioso antes mencionadas, en el cerebro también pueden encontrarse células pluripotenciales llamadas células madre y células progenitoras. Estas células se caracterizan por su capacidad de diferenciarse en neuronas, astrocitos y oligodendrocitos, proceso llamado neurogénesis [14]. Hasta hace poco tiempo, la premisa aceptada para los seres humanos y otros primates era que en el cerebro adulto no se generan nuevas neuronas. Mas adelante, en 1992, se publicó un estudio en el que la estimulación de células obtenidas en el cerebro de ratones adultos con factor de crecimiento epidérmico producía su proliferación y diferenciación tanto en neuronas como en astrocitos. En 1998, los científicos descubrieron que un número significativo de nuevas neuronas se producía en el hipocampo humano, un área del cerebro que es crucial para el aprendizaje y memoria [14, 15].

La neurogénesis es la formación de neuronas nuevas a partir de células madre neurales indiferenciadas. En los cerebros mamíferos adultos, la neurogénesis se lleva a cabo en dos principales regiones: la zona subventricular (ZSV) del ventrículo lateral y la zona subgranular (ZSG) del giro dentado del hipocampo. En la ZSV, las células madre neurales se diferencian a neuronas inmaduras que migran al bulbo olfatorio, donde maduran a neuronas granulares funcionalmente integradas. A diferencia de la ZSG, las células madre neurales se diferencian a neuronas inmaduras que migran una corta distancia a la capa de células granulares del giro

dentado y maduran localmente en células granulares dentadas. Las células granulares dentadas maduran y se integran funcionalmente en los circuitos del hipocampo, reciben entradas sinápticas de la corteza entorrinal y de CA3 [14, 15].

La neurogénesis consta de varios pasos: proliferación de células progenitoras; compromiso con un fenotipo neuronal; maduración morfológica y fisiológica con el desarrollo de características neuronales funcionales; e integración sináptica en circuitos cortico-hipocámpales preexistentes. A partir de técnicas inmunohistoquímicas y electrofisiológicas estándar se han podido caracterizar las propiedades estructurales y fisiológicas de las neuronas generadas por adultos en las diferentes etapas de su maduración [15].

4.3.1. Poblaciones neurales que forman parte de la neurogénesis hipocámpal

El primer tipo de células precursoras son las células madre neurales las cuales son multipotentes y expresan proteína ácido fibrilar glial (GFAP, por sus siglas en inglés), están caracterizadas por un soma triangular localizado en la zona subgranular de la circunvolución dentada. Estas células expresan el filamento intermedio nestina y comparten características con los astrocitos, como es el soma triangular, patas terminales vasculares y algunas propiedades electrofisiológicas como una baja resistencia eléctrica de la pared celular y un potencial de reposo de -80 mV [15].

Las células progenitoras o neuroblastos carecen de características astrocíticas y tiene tasas de división más altas. No expresan GFAP y tienen un soma redondo u ovoide con extensiones de citoplasma cortas orientadas tangencialmente y expresan nestina. Tienen un patrón complejo de características electrofisiológicas como corrientes de Na⁺ que confirman los primeros signos de diferenciación neuronal. Estas células de linaje neuronal restringido parecen madurar con el tiempo, desarrollando primero rasgos morfológicos de neuronas inmaduras, como un núcleo de forma redonda, y extinción de la expresión de nestina incluso si todavía son proliferativas [15].

El proceso de proliferación de múltiples etapas de las células progenitoras da lugar a neuronas inmaduras que han salido del ciclo celular y, por tanto, se vuelven postmitóticas. Estas células granulares dentadas inmaduras expresan de forma transitoria la proteína de migración neuronal doblecortina (DCX, por sus siglas en inglés) asociada a microtúbulos y la proteína de calbindina en neuronas más maduras [15].

Las células granulares dentadas inmaduras migran una distancia corta desde la ZSG a la parte interna de la capa de células granulares donde rápidamente extienden las dendritas a la capa molecular y proyectan axones para alcanzar las células piramidales del CA3 dentro de los 4 a 10 días de nacimiento. Durante las primeras etapas de maduración, es decir, dentro de la primera semana después del nacimiento, las células tienen características morfológicas de neuronas inmaduras, muestran alta tasa de resistencia y baja capacitancia de membrana celular y son electrofisiológicamente silenciosas. En la cuarta semana, las células granulares dentadas nuevas comparten la mayoría de las características morfológicas y

electrofisiológicas con las de las neuronas maduras, aunque tanto la complejidad de la arborización dendrítica como la densidad de la columna siguen aumentando, alcanzando niveles comparables a los de las células granulares completamente maduras a los 4 meses de edad (ver la figura 4.5) [15].

La generación y maduración de las células gliales ocurre también en la circunvolución dentada del hipocampo, de manera que las células madre neurales se diferencian a células precursoras de glía o también llamados glioblastos cuando tienen un compromiso fenotípico glial. Estas células muestran propiedades electrofisiológicas de astrocitos y además expresan marcadores característicos de astrocitos [16].

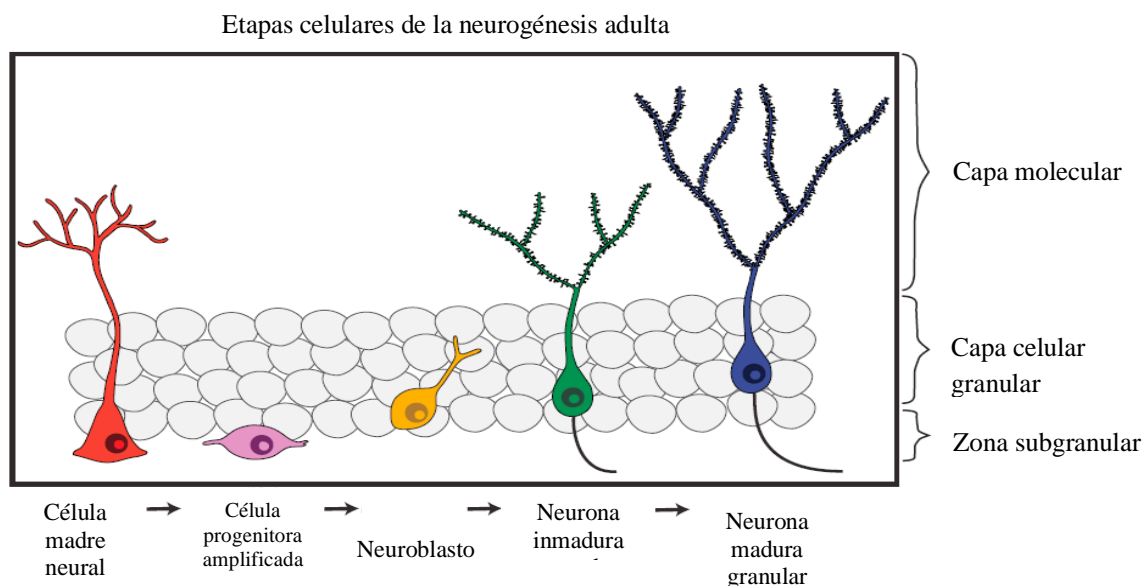


Figura 4.5. Diferentes etapas de la neurogénesis en el giro dentado del hipocampo. La etapa inicial comienza en la zona subgranular con la diferenciación de las células madre neurales. Su diferenciación da lugar a células progenitoras amplificadas que producen neuroblastos. Los neuroblastos migran a la capa celular granular y maduran hasta neuronas inmaduras mostrando características morfológicas únicas como un árbol dendrítico que se extiende a través del hilus hacia las regiones del CA3 y CA2. Tomada y modificada de [16].

4.3.2. Rol de la neurogénesis adulta en funciones hipocampales

Una de las propiedades que definen a una neurona es su capacidad de generar potenciales de acción. Esto se observa en las células producidas en la circunvolución dentada del adulto, además de presentar respuestas excitatorias a neurotransmisores. Además, las neuronas generadas muestran propiedades electrofisiológicas que desaparecen a medida que alcanzan su madurez completa, incluida una plasticidad sináptica con un umbral más bajo para la inducción de potenciación a largo plazo. Esta gran capacidad de plasticidad de las neuronas

ofrece un papel importante de las funciones del hipocampo, como son la memoria y el aprendizaje, la regulación del estrés y la ansiedad y del comportamiento social. Por tanto, debido a la generación de nuevas neuronas en la circunvolución dentada, aumenta la posibilidad de que participen en más de una función del hipocampo. Diferentes estudios han demostrado que la reducción de nuevas neuronas deteriora la cognición en tareas dependientes del hipocampo, como la memoria de reconocimiento y el aprendizaje espacial [13, 16].

4.4. Efectos biológicos de la radiación ionizante en el hipocampo

La mayoría de los pacientes con tumores primarios o metastásicos en el cerebro requieren irradiación como tratamiento, implementando técnicas de irradiación del cerebro completo de manera fraccionada. Esto genera la probabilidad de desarrollar efectos secundarios en términos de deterioro cognitivo en al menos el 90 % de los pacientes con tumores cerebrales que sobreviven más de 6 meses después del tratamiento [17, 18]. Actualmente no existen tratamientos a largo plazo o estrategias preventivas para el deterioro cognitivo inducido por radiación. Esto se debe a que no se comprende completamente cómo se desarrolla la lesión cerebral después de la irradiación, por lo que es fundamental el desarrollo de nuevos enfoques que manejen el desarrollo del deterioro cognitivo inducido por radiación [17, 18].

El daño por radiación involucra diferentes regiones y tipos de células cerebrales, además de una enorme cantidad de factores físicos y biológicos que influyen para la expresión y extensión del daño. Anteriormente, la lesión cerebral tardía inducida por radiación se consideraba resultado del daño al ADN, lo que resultaba en una reducción de la capacidad proliferativa de las células endoteliales vasculares o gliales cerebrales. Esto ha sido refutado gracias a los estudios preclínicos que muestran que los efectos tardíos inducidos por la radiación, incluido el deterioro cognitivo, se producen debido a interacciones entre los diferentes tipos de células cerebrales como los astrocitos, células endoteliales, microglía, neuronas y oligodendrocitos [17, 18].

El deterioro cognitivo inducido por radiación se presenta de forma particular como una disminución de la memoria verbal, la memoria espacial, la atención y la capacidad para la resolución de problemas, todas con la probabilidad de que aumente con el tiempo. Comúnmente, el deterioro cognitivo incluye funciones dependientes del hipocampo como son el aprendizaje, la memoria y el procesamiento de la información espacial. Cabe mencionar que el hipocampo es una región donde se lleva a cabo la neurogénesis que es un sitio de activa diferenciación y proliferación [17].

La radiación altera la neurogénesis del hipocampo, reduciendo significativamente la cantidad de células en pacientes después de tratamiento de tumores cerebrales [17]. A diferencia de la neurogénesis, la gliogénesis se conserva después de la irradiación. La asociación entre la reducción de la neurogénesis después de la irradiación y una variedad de deterioros cognitivos dependientes del hipocampo sugiere ser un vínculo mecanicista entre

la estructura cerebral y el fenómeno neurobiológico. Sin embargo, no todo es provocado por una neurogénesis alterada, el daño inducido por irradiación incluye la pérdida de neuronas maduras en la circunvolución dentada del hipocampo, alteraciones en los receptores neuronales NMDA y factores de riesgo genéticos. Sin descartar la posibilidad del deterioro cognitivo por irradiación debido a la alteración de la función neuronal, en particular la plasticidad sináptica, ya sea a través de daño celular directo o daño mediado por factores del microambiente (como es el cambio en la cantidad de especies reactivas de oxígeno en el tejido) [17].

Otra de las causas de la alteración de la neurogénesis hipocampal es la neuroinflamación y/o la homeostasis redox del microambiente del tejido [17]. En modelos de roedores se ha presentado una elevación de citocinas inflamatorias en el cerebro hasta 6 meses después de la irradiación y un aumento en el número de microglía activada en la zona neurogénica del giro dentado. La alteración de la neurogénesis se refleja como una pérdida de la señalización neurogénica mediada por citocinas microgliales proinflamatorias debido a la interrupción de nichos microvasculares dentro de la ZSG. El daño de este microambiente hace que la mayoría de los progenitores supervivientes adopten destinos gliales en lugar de neuronales por tanto, los efectos de la radiación en la neurogénesis pueden continuar evolucionando durante varios meses a medida que las neuronas inmaduras preexistentes completan su maduración (ver la figura 4.6) [17, 19].

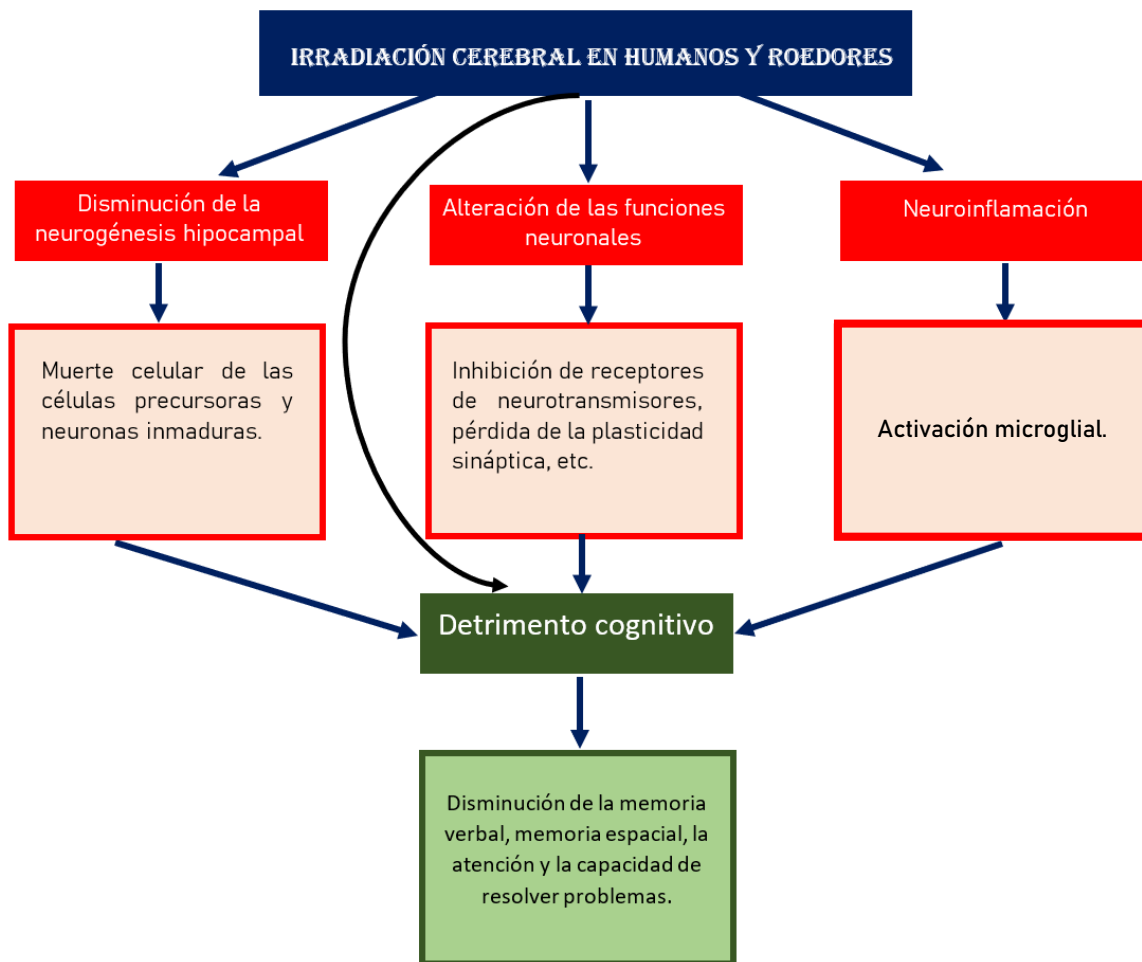


Figura 4.6. Esquema del mecanismo de las posibles causas que propician la alteración cognitiva inducida por radiación. Tomada y modificada de [18].

4.5. Diferencias asociadas al sexo de ratones antes y después de la exposición a la radiación ionizante

Parte del desarrollo de la presente tesis incluyó la revisión de estudios experimentales donde se hayan medido parámetros de las poblaciones celulares similares a los empleados en el modelo matemático de Cacao, E., *et al.* [2] y se pueda extraer información útil para simular la neurogénesis hipocampal de ratones después de la irradiación y una posible diferencia con el sexo. Las condiciones experimentales que se buscaron en la literatura y las empleadas en el modelo matemático son las siguientes:

- Radiación de baja LET lo más similar posible a la empleada clínicamente. Ejemplo: equipos que empleen rayos X de megavoltaje como aceleradores lineales.

- Ratones macho y/o hembra de una misma cepa (C57BL/6J). Se ha comprobado que la radiosensibilidad es dependiente de la cepa de roedores [20].
- Ratones utilizados en estudios preclínicos donde se evalúe la respuesta en el tejido cerebral después de la exposición con radiación ionizante de baja LET.
- La información que se requiere para los parámetros de la simulación es el conteo de células proliferativas en el giro dentado del hipocampo, de neuronas inmaduras, de la microglía en reposo, de la microglía activada y medidas del volumen del giro dentado todo antes y después de la irradiación.

Con base en las condiciones anteriores, se realizó una síntesis de las diferencias encontradas entre ratones macho y hembras de la cepa C57BL/6J (ver la tabla 4.1). Además, se especifica el sexo de ratones y el marcador inmunohistoquímico que utilizó cada autor para determinar el tipo de célula:

- ❖ BrdU: el análogo de bromodeoxiuridina es un marcador que se detecta mediante técnicas inmunohistoquímicas en células en división celular. Si se examina poco después de la administración (horas) el etiquetado de BrdU indica que la célula ha entrado en fase S, sin embargo, si se examina mucho tiempo después de la administración no se puede distinguir la detección de progresión en el ciclo celular [21].
- ❖ DCX: proteína de migración neuronal doble cortina codificada por el gen DCX. Es una proteína asociada a microtúbulos expresada por células precursoras neuronales y neuronas inmaduras en estructuras corticales, embrionarias y adultas [21].
- ❖ Iba-1: la molécula adaptadora de unión a calcio ionizada 1 es una proteína de unión a calcio específica de microglía independiente del estado de activación y macrófagos que participan en la permeabilidad de la membrana y procesos fagocíticos [22].
- ❖ CD68: es una proteína lisosomal expresada en niveles altos por macrófagos y microglía activada y en niveles bajos por microglía en reposo [22].

Tabla 4.1. Comparación de volumen, microglía total, microglía activada y densidad para ratones C57BL/6J macho y hembra antes y después de la irradiación. IR: irradiación. c/r: con respecto.

Característica	Machos control	Hembras control	Machos post-IR	Hembras post-IR
Volumen de la capa celular granular del GD del hipocampo. [5, 23] Baja LET	Volumen igual $1.25 \times 10^8 \mu m^3$ a la edad de 0 días. Volumen igual a $1.7 \times 10^8 \mu m^3$ a la edad de 4 meses.	Igual a machos en la edad de 0 días. Volumen igual a $2.3 \times 10^8 \mu m^3$ a la edad de 4 meses.	Disminución del 16% c/r control 4 meses después de la IR	Disminución 35 % c/r control 4 meses después de la IR
Proliferación celular en la capa granular del GD del hipocampo (BrdU). [5, 23] Baja LET	600 células positivas a BrdU a la edad de 4 meses.	1200 células positivas a BrdU a la edad de 4 meses.	Disminución del 42 % c/r control	Disminución del 73 % c/r control (alcanza la misma cantidad de células positivas a BrdU de machos 4 meses después de la IR).
Microglía en reposo en el GD del hipocampo (Iba-1) [23] Baja LET	5400 células positivas a Iba-1 a la edad de 4 meses.	5400 células positivas a Iba-1 a la edad de 4 meses.	Disminución del 20 % c/r control 4 meses después de IR.	Aumento del 25 % c/r control 4 meses después de IR.
Microglía activada en el hilus del GD del hipocampo (CD68) [24] Alta LET	Dependencia con la edad de los ratones. 20 células positivas a CD68 a la edad de 6 meses.	Dependencia con la edad de ratones. 38 células positivas a CD68 a la edad de 6 meses.	Aumento del 56 % c/r control 12 semanas post-IR.	Sin alteración c/r control 12 semanas post-IR.
Densidad de microglía en reposo en el GD del hipocampo (Iba-1/mm ³) [23] Baja LET	7500 células positivas a Iba-1 por unidad de volumen del GD a la edad de 4 meses.	Misma cantidad que machos de 4 meses de edad	Aumento del 16 % c/r control.	Aumento del 64 % c/r control (significativamente mayor que machos 4 meses después de la IR)

V. MÉTODOS Y MATERIALES

Para el desarrollo de este proyecto se consideran cuatro bloques que describen la dinámica de la neurogénesis en condiciones diferentes: 1) sin irradiación, 2) su respuesta a la irradiación en fase aguda o a corto plazo, 3) su respuesta a la irradiación a largo plazo y 4) su respuesta dependiente con el sexo. A continuación, se describen los métodos a utilizar para el desarrollo de cada bloque.

5.1. Dinámica de las poblaciones de células neurales en condiciones sin irradiación [2]

La condición sin irradiación consiste en modelar mediante un modelo compartimental de 4 casillas la neurogénesis del hipocampo como función de la edad de ratones macho de cepa C57BL/6J. Para ello se emplearon cuatro compartimentos propuestos por Cacao, E. *et al.* [2] que son: 1.- células madre neurales (CMN), 2.- células progenitoras neuronales o neuroblastos (NB), 3.- neuronas inmaduras (NIn) y 4.- glioblastos (GB). El esquema de la dinámica de las poblaciones neurales se muestra en la figura 5.1.

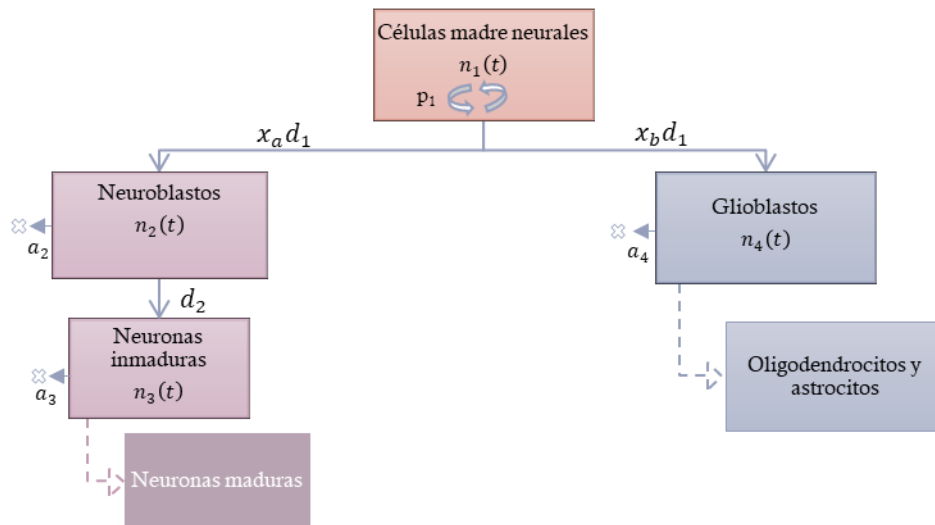


Figura 5.1. Esquema de la dinámica de la neurogénesis hipocampal en condiciones sin irradiación. Las poblaciones neurales determinadas por n_1 , n_2 , n_3 y n_4 representan las células madre neurales, neuroblastos, neuronas inmaduras y glioblastos, respectivamente. La flecha en ciclo (marcada con color blanco) representa la capacidad de autorreplicación de las CMN con una tasa específica p_1 . La diferenciación de las CMN se le asocia una tasa específica d_1 y puede ser hacia NB (x_a) o GB (x_b) y la diferenciación de los NB a NIn una tasa específica d_2 . Las flechas rellenas indican procesos de apoptosis con tasas a_2 , a_3 y a_4 correspondientes a NB, NIn y GB, respectivamente. Se muestran dos casillas que representan el destino final neurogénico (neuronas maduras) y gliogénico (oligodendrocitos y astrocitos).

Para la simulación del modelo compartimental se considera una interacción continua de las poblaciones celulares neurales para lo cual se realizan las siguientes suposiciones [2]:

- a) Las CMN se regulan por su proliferación y diferenciación a NB y GB.
- b) Los NB son generados por la diferenciación de CMN y se considera la apoptosis de NB.
- c) El número de NIn se determina por la diferenciación de NB y se considera la apoptosis de NIn.
- d) Los GB son generados por la diferenciación de CMN y se considera la apoptosis de GB.
- e) No se toma en cuenta la tasa de apoptosis de las CMN ya que es compensada con la alta tasa de proliferación.

La dinámica de las poblaciones de las células neurales en condiciones sin irradiación se describe con el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales:

$$\frac{dn_1(t)}{dt} = p_1 n_1(t) - d_1 n_1(t) \quad (1)$$

$$\frac{dn_2(t)}{dt} = 2x_a d_1 n_1(t) - d_2 n_2(t) - a_2 n_2(t) \quad (2)$$

$$\frac{dn_3(t)}{dt} = d_2 n_2(t) - a_3 n_3(t) \quad (3)$$

$$\frac{dn_4(t)}{dt} = x_b d_1 n_1(t) - a_4 n_4(t) \quad (4)$$

Donde d_1 y d_2 son las tasas de diferenciación de CMN a NB y de NB a NIn, respectivamente; a_2 , a_3 , a_4 son las tasas de apoptosis de NB, NIn y GB, respectivamente; x_a y x_b son las fracciones de diferenciación de las CMN a NB y GB, respectivamente, tal que se cumpla que $x_a + x_b = 1$; p_1 es la tasa de proliferación o autorreplicación de las CMN. En la ecuación (2), el coeficiente 2, considera la proliferación de neuroblastos como la generación de una célula idéntica y una célula que se diferencia a una neurona inmadura.

La manera de limitar la proliferación de las CMN es por el efecto de la retroalimentación negativa, el cual está modelado como función de las poblaciones celulares siguiendo la aproximación usada por Smirnova, O. A. [25] como:

$$p_1 = \frac{\Psi}{1 + (\theta_1 n_1 + \theta_2 n_2 + \theta_3 n_3)} \quad (5)$$

Donde Ψ es la tasa de proliferación máxima y los multiplicadores θ_1 , θ_2 , θ_3 representan la contribución desigual de las CMN, NB y NIn en la retroalimentación negativa de la proliferación de las CMN.

5.2. Dinámica de las poblaciones de células neurales después de la irradiación y su respuesta en fase aguda [2]

Para evaluar los efectos de la irradiación a corto y a largo plazo de las poblaciones neurales se clasificaron por su radiosensibilidad de acuerdo con lo propuesto por Cacao, E., *et al.* [2] como no dañadas (n_j), débilmente dañadas (n_{jd}) y fuertemente dañadas (n_{jf}) según su respuesta a la radiación, donde el subíndice $j = 1 - 4$, determina las cuatro poblaciones de células neurales que se consideran en el modelo. El esquema de la dinámica de las poblaciones neurales post irradiación se muestra en la figura 5.2.

Para modelar la dinámica de la neurogénesis después de la irradiación se consideran las siguientes suposiciones [2]:

- a) Las células débilmente dañadas pueden repararse.
- b) Las células fuertemente dañadas conducen directamente a apoptosis.
- c) Las células débilmente dañadas y mal reparadas conducen a apoptosis.
- d) Debido a la poca susceptibilidad a la radiación ionizante de baja LET de las CMN y GB a dosis entre 1 y 10 Gy y su alta tasa de proliferación, se considera que el daño inducido por radiación es insignificante en ambas poblaciones.

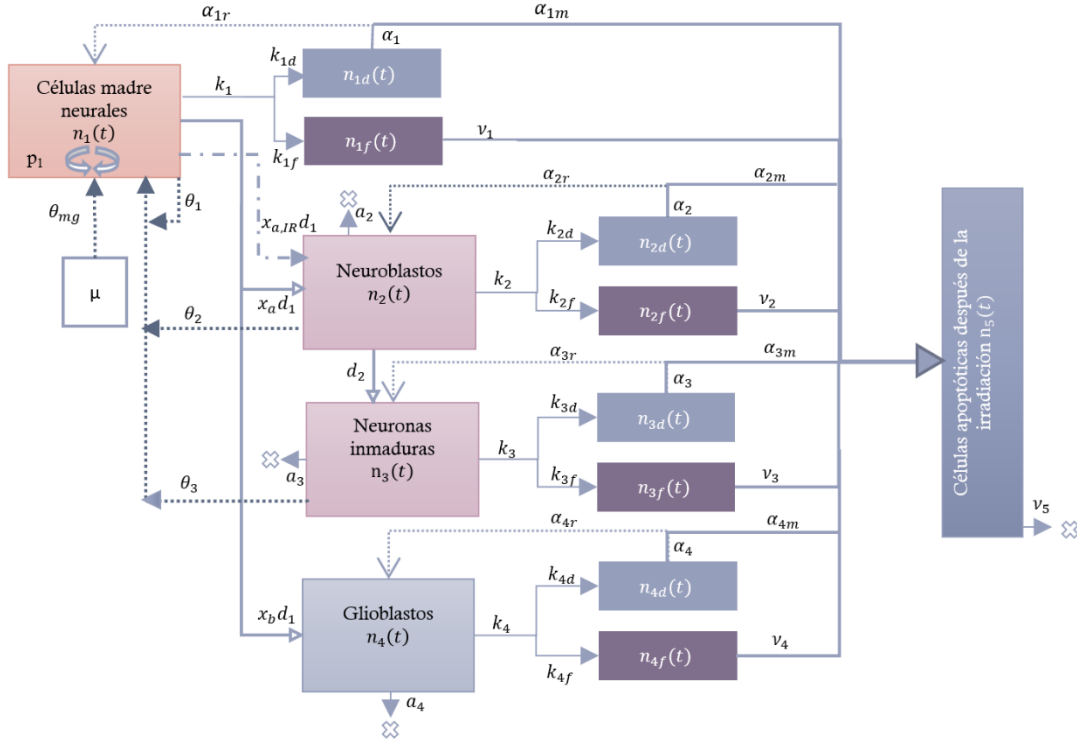


Figura 5.2. Esquema del modelo de la neurogénesis hipocampal después de la irradiación. Una vez irradiadas, las células son clasificadas por células sin daño (n_j), débilmente dañadas (n_{jd}) y fuertemente dañadas (n_{jf}), donde el subíndice j indica la población neural. Los daños inducidos por radiación se describen por las constantes k_1, k_2, k_3, k_4 (líneas sólidas). Se dividen entre daño débil (k_{jd}) y daño fuerte (k_{jf}). Las tasas de reparación se determinan por las constantes $\alpha_1, \alpha_2, \alpha_3, \alpha_4$. Estas últimas se dividen en las tasas de células dañadas débilmente que son reparadas $\alpha_{1r}, \alpha_{2r}, \alpha_{3r}, \alpha_{4r}$ (flecha punteada y clara) y en las tasas de células que son dañadas débilmente y conducen a una mala reparación $\alpha_{1m}, \alpha_{2m}, \alpha_{3m}, \alpha_{4m}$ (flecha continua y rellena). El número de células apoptóticas (n_5) tiende a aumentar debido al daño por la irradiación y se determina por las tasas de células fuertemente dañadas que conducen directamente a apoptosis v_1, v_2, v_3, v_4 y por α_{jm} . v_5 es la tasa de eliminación de células apoptóticas. La retroalimentación negativa de la proliferación de las CMN (flechas punteadas oscuras) se representan con las tasas de contribución $\theta_1, \theta_2, \theta_3, \theta_{mg}$ por parte de CMN, NB, NIn y la microglía activada, respectivamente. La fracción de diferenciación de CMN a NB se ve afectada por la irradiación, representado por $x_{a,IR}$.

La dinámica de las poblaciones de células neurales después de la irradiación se describe mediante las siguientes 13 ecuaciones diferenciales ordinarias no lineales:

$$\frac{dn_1(t)}{dt} = p_1 n_1(t) - d_1 n_1(t) - k_1 n_1(t) + \alpha_{1r} n_{1d}(t) \quad (6)$$

$$\frac{dn_{1d}(t)}{dt} = k_{1d} n_1(t) - \alpha_1 n_{1d}(t) \quad (7)$$

$$\frac{dn_{1f}(t)}{dt} = k_{1f}n_2(t) - v_1n_{1f}(t) \quad (8)$$

$$\frac{dn_2(t)}{dt} = 2x_a d_1 n_1(t) - d_2 n_2(t) - a_2 n_2(t) - k_2 n_2(t) + \alpha_{2r} n_{2d}(t) \quad (9)$$

$$\frac{dn_{2d}(t)}{dt} = k_{2d}n_2(t) - \alpha_2 n_{2d}(t) \quad (10)$$

$$\frac{dn_{2f}(t)}{dt} = k_{2f}n_2(t) - v_2 n_{2f}(t) \quad (11)$$

$$\frac{dn_3(t)}{dt} = d_2 n_2(t) - a_3 n_3(t) - k_3 n_3(t) + \alpha_{3r} n_{3d}(t) \quad (12)$$

$$\frac{dn_{3d}(t)}{dt} = k_{3d}n_3(t) - \alpha_3 n_{3d}(t) \quad (13)$$

$$\frac{dn_{3f}(t)}{dt} = k_{3f}n_3(t) - v_3 n_{3f}(t) \quad (14)$$

$$\frac{dn_4(t)}{dt} = x_b d_1 n_1(t) - a_4 n_4(t) - k_4 n_4(t) + \alpha_{4r} n_{4d}(t) \quad (15)$$

$$\frac{dn_{4d}(t)}{dt} = k_{4d}n_4(t) - \alpha_4 n_{4d}(t) \quad (16)$$

$$\frac{dn_{4f}(t)}{dt} = k_{4f}n_4(t) - v_4 n_{4f}(t) \quad (17)$$

$$\frac{dn_5(t)}{dt} = \alpha_{2m} n_{2d}(t) + v_2 n_{2f}(t) + \alpha_{3m} n_{3d}(t) + v_3 n_{3f}(t) - v_5 n_5(t) \quad (18)$$

A continuación se explica brevemente el sistema de ecuaciones diferenciales. En las ecuaciones que representan una población celular neural (la población n_1 en la ecuación (6), n_2 en (9), n_3 en (12) y n_4 en (15)), se considera su crecimiento natural con el tiempo, además de una disminución de células inducidas por radiación ionizante y un aumento de células debido a una posible reparación. Posteriormente, se estudian en cada grupo dos subpoblaciones que indican si fueron débil (n_{jd}) o fuertemente dañadas (n_{jf}). Finalmente, la ecuación 18 representa el aumento de células apoptóticas expresado por células débil y

fuertemente dañadas de los NB y NIn y el último término refiere a un proceso natural de vaciado de células apoptóticas.

Las tasas de daño y reparación inducida por radiación son descritas por k_j y α_j , respectivamente. Las lesiones inducidas por radiación son divididas en dos componentes: k_{jd} y k_{jf} para células débil y fuertemente dañadas, respectivamente. Una fracción de las células débilmente dañadas son reparadas con una constante α_{jr} , mientras que las células mal reparadas conducen a apoptosis con una constante α_{jm} . Las células fuertemente dañadas y débilmente dañadas pero mal reparadas conducen a apoptosis con una constante ν_j y α_{jm} , respectivamente. Estas constantes cumplen las siguientes relaciones:

$$\begin{aligned} \alpha_j &= \omega k_j & a) \\ \alpha_j &= \alpha_{jr} + \alpha_{jm} & b) \\ \alpha_{jr} &= \xi_j \alpha_j & c) \\ \alpha_{jm} &= (1 - \xi_j) \alpha_j & d) \\ k_{jd} &= \gamma_j k_j & e) \\ k_{jf} &= (1 - \gamma_j) & f) \end{aligned}$$

La constante ξ_j determina la fracción de células débilmente dañadas reparables, γ_j determina la fracción de las células débilmente dañadas y ω determina la tasa de reparación. Se consideran las constantes Φ y Γ para representar las contribuciones de las células dañadas débil y fuertemente, respectivamente.

$$\frac{\Gamma}{\Phi} = \frac{\nu_j}{\alpha_{jm}} \quad g)$$

Para la modelar la neurogénesis después de la irradiación y su respuesta a corto plazo se hace la suposición de que las tasas de proliferación, de diferenciación y de reparación del daño de las poblaciones neurales son insignificantes en comparación con las tasas de inducción de daño en el momento de la irradiación (pocos minutos). Así, las poblaciones neurales al final de la irradiación, de duración (t_{IR}), se expresan de la siguiente manera:

$$n_j(t_{IR}) = n_j(0) e^{\left(-\frac{D}{D_{0j}}\right)} \quad (19)$$

$$n_{jd}(t_{IR}) = \gamma_j n_j(0) \left[1 - e^{\left(-\frac{D}{D_{0j}}\right)} \right] \quad (20)$$

$$n_{jf}(t_{IR}) = (1 - \gamma_j)n_j(0) \left[1 - e^{\left(-\frac{D}{D_{0j}}\right)} \right] \quad (21)$$

Donde D es la dosis absorbida en Gy y D_{0j} es la dosis letal media en Gy, es decir, la dosis en la que el 37 % de las células no son dañadas. Las ecuaciones (19) a (21) se convierten en las condiciones iniciales (o poblaciones de células neurales iniciales) para resolver las ecuaciones diferenciales (6) a (18) y los términos k_j ya no contribuyen en los tiempos posteriores a la irradiación.

La tasa de proliferación de las CMN (p_1) determinada por la ecuación (5) se modifica para tomar en cuenta los daños inducidos por la radiación a $p_{1,R}$. La contribución de las poblaciones neurales post irradiación se determina con las constantes θ_j . La ecuación (22) describe la tasa de proliferación de la CMN:

$$p_{1,R} = \frac{\Psi}{1 + \theta_1 n_1 + \theta_2 (n_2 + \Phi n_{2d} + \Gamma n_{2f}) + \theta_3 (n_3 + \Phi n_{3d} + \Gamma n_{3f})} \quad (22)$$

5.3. Dinámica de las poblaciones de células neurales después de la irradiación y su respuesta a largo plazo [2]

La activación de la microglía es uno de los factores que influyen en el daño meses o años después de la irradiación, ya que su respuesta a una lesión cerebral es promover la neuroinflamación mediante la liberación de citocinas y quimiocinas proinflamatorias de manera exacerbada y prolongada, que generan un ambiente neurotóxico en el tejido irradiado. Para describir los efectos de la microglía activada (μ) en la proliferación y su impacto en el destino celular de la neurogénesis hipocampal (Δ) se consideran las ecuaciones paramétricas (23) y (24) propuestas por Cacao, E., *et al.* [2], que determinan el incremento fraccional de la microglía activada y la disminución del destino neurogénico como función del tiempo post irradiación. Estudios experimentales han demostrado que tanto el incremento de la microglía activada como la disminución del destino neurogénico inician aproximadamente 30 días (t_d) después de la irradiación [26, 27].

$$\frac{d\mu(t)}{dt} = \begin{cases} 0 & \text{para } t < t_d \\ \left[A_{0m} \left(\frac{D}{D + A_{1m}} \right) + B_m t + C_m t^2 \right] e^{-\lambda_m t} & \text{para } t > t_d \end{cases} \quad (23)$$

$$\frac{d\Delta(t)}{dt} = \begin{cases} 0 & \text{para } t < t_d \\ \left[A_{0d} \left(\frac{D}{D + A_{1d}} \right) + B_{0d} \mu + B_{1d} \mu t + C_d t^2 \right] e^{-\lambda_d t} & \text{para } t > t_d \end{cases} \quad (24)$$

Donde D es la dosis absorbida en Gy. Las constantes A_i, B_i, C_i y λ_i , donde el subíndice i indica si la ecuación refiere a la microglía activada (m) o del destino neurogénico (d), se

determinaron a partir de un ajuste paramétrico realizado por Cacao, E., *et al.* [2]. Cabe mencionar que el modelo matemático toma en cuenta únicamente el incremento de la microglía activada (ecuación 23), no así el de la microglía en reposo ni su conjunto.

El destino neurogénico de la neurogénesis hipocampal (Δ) cumple con la siguiente expresión [2]:

$$\Delta = \frac{x_{a,IR}}{x_a} \quad (25)$$

$$x_{a,IR} = \Delta x_a \quad (26)$$

Recordando que x_a es la fracción de diferenciación de CMN a NB y $x_{a,IR}$ representa la alteración inducida por radiación de dicha fracción de diferenciación. La ecuación (26) representa de forma matemática que si Δ es 1, $x_{a,IR}$ no tiene cambios después de la irradiación, es decir, es una condición sin irradiación. Cuando interacciona la radiación con el tejido, hay una disminución de los neuroblastos, dando como resultado una disminución de Δ y por lo tanto, $x_{a,IR} < x_a$, resultando en una disminución en la neurogénesis.

La tasa de proliferación de las CMN ahora debe tomar en cuenta los daños inducidos por la radiación y su respuesta a largo plazo descrita con un coeficiente θ_{mg} que representa la contribución del incremento en el número de la microglía activada en la proliferación:

$$p_{1,R} = \frac{\Psi}{1 + \theta_1 n_1 + \theta_2 (n_2 + \Phi n_{2d} + \Gamma n_{2f}) + \theta_3 (n_3 + \Phi n_{3d} + \Gamma n_{3f}) + \theta_{mg} \mu} \quad (27)$$

5.4. Dinámica de las poblaciones de células neurales después de la irradiación y su dependencia con el sexo

Se realizó una revisión bibliográfica para la obtención de datos experimentales que pudieran compararse con los resultados de las simulaciones de esta sección (ver la tabla 4.1). Posteriormente, con el fin de proponer y determinar los parámetros que mejor representen las diferencias asociadas al sexo observadas en el daño inducido por irradiación cerebral en ratones y que reprodujeran los datos experimentales, se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis A. Las diferencias entre los sexos se asocian a que las cantidades iniciales en las poblaciones de células neurales (células madre neurales, neuroblastos, neuronas inmaduras y glioblastos) son diferentes entre machos y hembras.

Hipótesis B. La microglía activada se considera igual en ratones macho y hembra, pero debido a que se ha reportado que la población de neuroblastos y neuronas inmaduras disminuye en mayor cantidad en ratones hembra que en machos después de la irradiación, el valor del parámetro θ_{mg} , que representa la contribución del incremento en la microglía

activada en la proliferación de las CMN, se incrementará en hembras para observar un mayor daño en este sexo.

Hipótesis C. El parámetro Θ_{mg} es igual en ratones macho y hembra, pero para modelar un mayor daño en ratones hembra, la cantidad de microglía activada tras la irradiación será mayor que en ratones macho.

Hipótesis D. Se considera el valor del parámetro Θ_{mg} igual en ratones macho y hembra, pero se toma en cuenta diferentes volúmenes del GD entre ratones macho y hembras tras la irradiación, esto se modelará como una mayor densidad de microglía activada (número de células por unidad de volumen del GD) en los ratones hembra que en los machos como sugiere la literatura.

Con este método se obtuvieron los valores de los parámetros correspondientes para las simulaciones de la neurogénesis hipocampal de ratones hembra. Que representan la principal diferencia con respecto al modelo de Cacao, E., *et al.* [2], ya que el modelo de los autores solo considera la neurogénesis hipocampal de ratones macho.

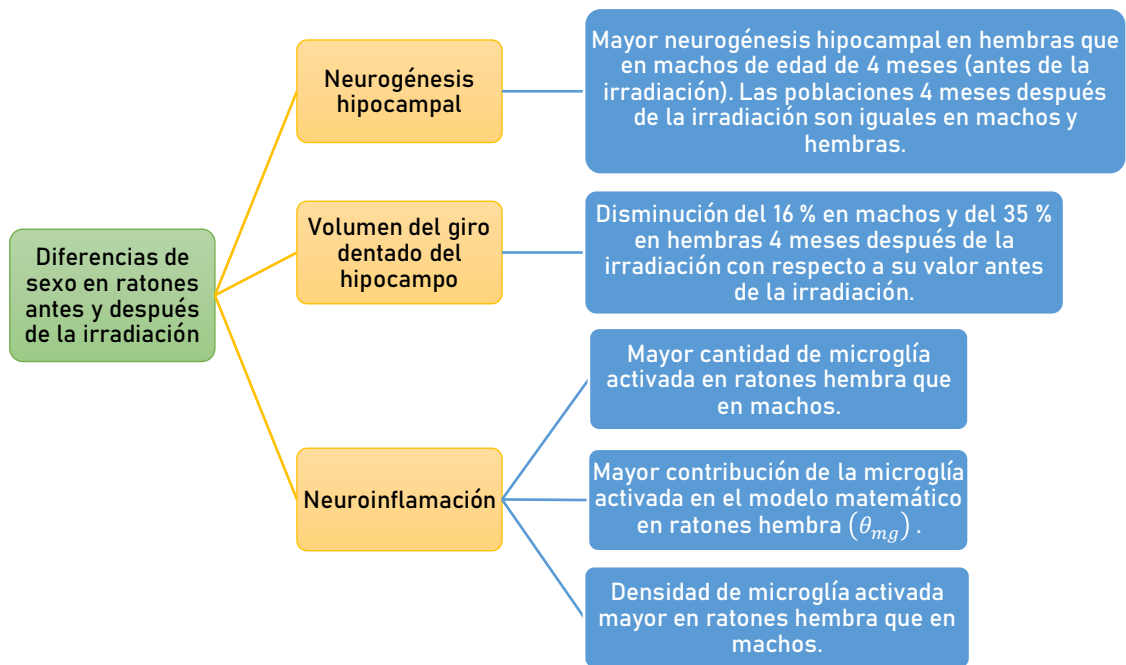


Figura 5.3. Esquema de la dependencia con el sexo de la neurogénesis hipocampal antes y después de la irradiación cerebral de ratones.

5.5. Software

Una vez establecidas las ecuaciones y el valor de cada parámetro, los sistemas de ecuaciones diferenciales son resueltos por el solucionador *ode45* del software MATLAB versión R2019a (Massachusetts, EUA).

El solucionador *ode45* se basa en una fórmula explícita del método de Runge-Kutta-Fehlber de 4o orden. Es un método de un solo paso. Los solucionadores de MATLAB son capaces de estimar el error en la solución en cada etapa temporal y decidir si el paso es demasiado grande (lo que implica una incertidumbre alta) o demasiado pequeño, dependiendo la tolerancia que se le especifique.

Con el software Wolfram Mathematica versión 12.3 (Illinois, EUA) se determinaron nuevos valores de parámetros que representaran las diferencias en sexo dentro del modelo matemático.

5.6. Diagrama de flujo de solución de cada sección

A continuación, en la figura 5.4 se muestra un diagrama de flujo donde se mencionan los pasos empleados para la simulación de la neurogénesis en cada bloque.

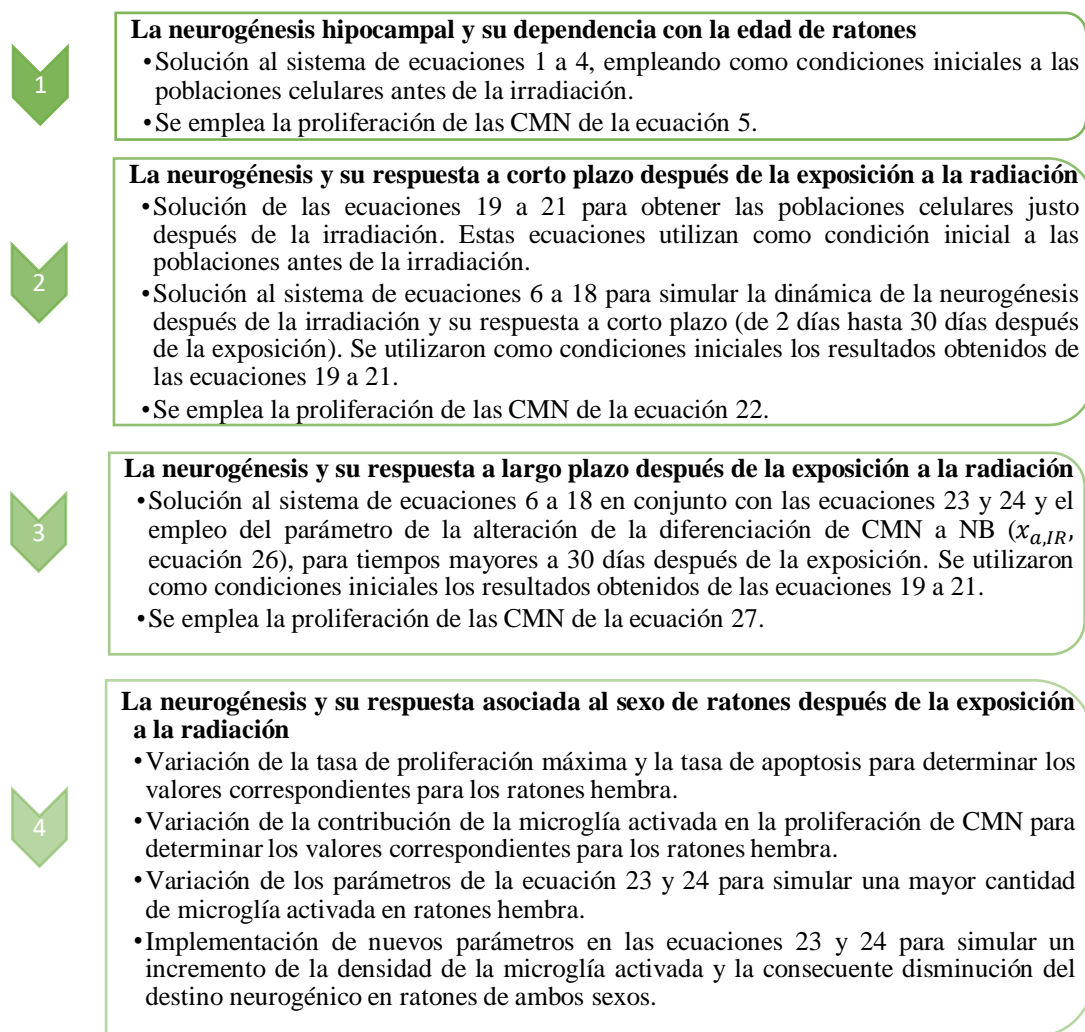


Figura 5.4. Diagrama de flujo de la solución de la dinámica de la neurogénesis hipocampal de ratones en las diferentes condiciones propuestas en cada sección: 1) sin irradiación, 2) la respuesta a corto plazo después de la exposición a la radiación, 3) la respuesta a largo plazo después de la exposición a la radiación y 4) la respuesta asociada con el sexo.

El código de MATLAB empleado para la solución de las secciones se puede encontrar en el apéndice.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación se presentan por separado los resultados de la simulación matemática de la dinámica de la neurogénesis en 4 condiciones diferentes: 1) sin irradiación, 2) irradiación y su respuesta a corto plazo, 3) irradiación y su respuesta a largo plazo y 4) la dependencia de la radiosensibilidad de la neurogénesis con el sexo que se realiza con base en la revisión bibliográfica realizada.

6.1. Dinámica de las poblaciones de células neurales en condiciones sin irradiación

Los valores de los parámetros empleados en las ecuaciones que describen la dinámica de las poblaciones neurales en condiciones sin irradiación (ecuaciones 1 - 4) se muestran en la tabla 6.1. Para resolver el sistema de ecuaciones diferenciales se emplean condiciones iniciales, que, visto de una forma no matemática, son las poblaciones neurales al tiempo igual a 0 días de los ratones macho. Las cuatro poblaciones neurales fueron estimadas numéricamente de acuerdo con el estudio de Cacao, E., *et al.* [2] (ver la tabla 6.2).

Tabla 6.1. Parámetros del modelo de la neurogénesis hipocampal sin irradiación de ratones macho C57BL/6J. Estos valores fueron estimados de los estudios experimentales de Encinas, J.M., *et al.* [28] y Ben, N., *et al.* [29].

Parámetro	Valor [unidad]
Ψ	0.5 [día ⁻¹]
θ_1	0.005
θ_2	0.05
θ_3	0.005
d_1	0.015 [día ⁻¹]
d_2	0.060 [día ⁻¹]
a_2	0.008 [día ⁻¹]
a_3	0.022 [día ⁻¹]
a_4	0.008 [día ⁻¹]
x_a	0.85
x_b	0.15

Tabla 6.2. Poblaciones de células neurales de ratones macho C57BL/6J con edad de 0 días.

Población neural	Número de células en el día 0
Células madre neurales	47680
Neuroblastos	40318
Neuronas inmaduras	209654
Glioblastos	69885

En la tabla 6.1 se muestran los parámetros que modelan la neurogénesis hipocampal en condiciones sin irradiación. En particular se supone que la tasa de apoptosis natural de neuroblastos es la misma para glioblastos debido a la falta de datos experimentales de glioblastos. Las fracciones de CMN que se diferencian a neuroblastos y glioblastos se determinaron como 0.85 y 0.15, respectivamente, de acuerdo con los estudios de Encinas, J. M., *et al.* [28] y Mizumatsu, S., *et al.* [26].

En la figura 6.1, se muestra el resultado de la simulación matemática en condiciones sin irradiación de las poblaciones neurales como función de la edad en días de los ratones macho C57BL/6J. Las poblaciones se normalizaron por el valor máximo de cada población, es decir, para el valor de la edad de 0 días, por lo que se denominan fracción de poblaciones.

El coeficiente de determinación (R^2) refleja qué tan adecuado es el ajuste del modelo a los valores experimentales, de modo que entre más cerca de 1 sea el valor, mejor es el ajuste del modelo. Con base en lo anterior y los resultados obtenidos, se puede decir que el modelo simula correctamente la dinámica de las poblaciones neurales como función de la edad.

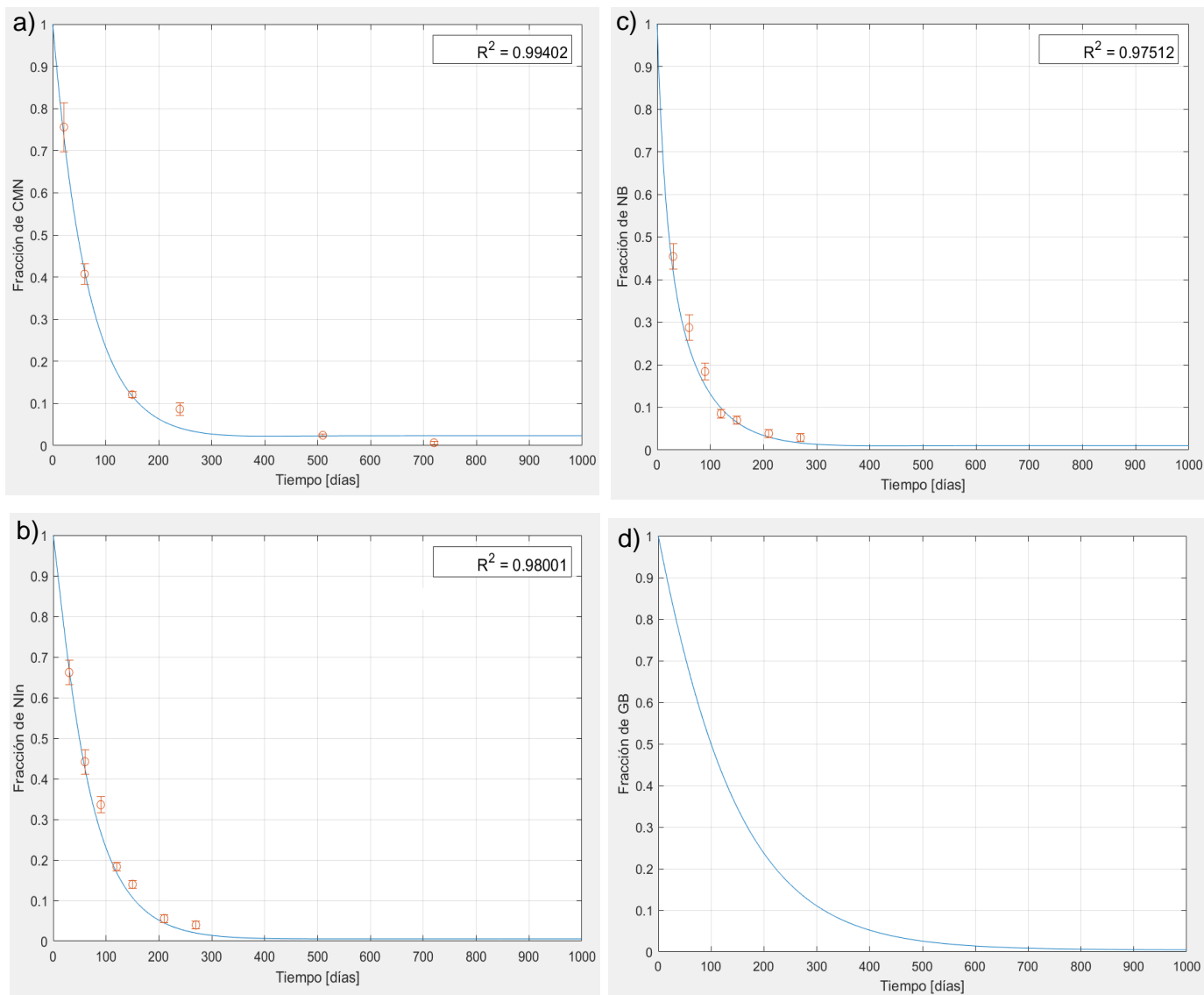


Figura 6.1. Simulación matemática de la neurogénesis hipocampal y su dependencia con el tiempo de la población de a) células madre neurales, b) neuroblastos, c) neuronas inmaduras y d) glioblastos. Se muestran los valores experimentales obtenidos de acuerdo con los estudios de Encinas, J.M., *et al.* [28] y Ben, N., *et al.* [29] y el valor R^2 de la relación con el modelo.

Con estos resultados se puede decir que el modelo matemático simula la dinámica de las poblaciones neurales como función de la edad de ratones macho de cepa C57BL/6J sin irradiar. El modelo utiliza parámetros calculados por los estudios de Cacao, E., *et al.* [2]. Reproduce los datos experimentales reportados que incluyen marcadores inmunohistoquímicos de cada población en condiciones sin radiación: nestina para células madre neurales, Ki-67 para neuroblastos y DCX para neuronas inmaduras, co-etiquetados con BrdU para observar la proliferación de células. Se tiene la excepción de que la simulación

no concuerda con los glioblastos debido que hasta el momento no se encontraron valores experimentales para realizar una comparación.

De la figura 6.1 se puede decir que la neurogénesis es más activa a una edad más temprana, es decir, hay mayor cantidad de células neurales. Se espera entonces que los daños inducidos por radiación sean más drásticos en este periodo de tiempo (antes de los 200 días de edad). Asimismo, se aprecia que la neurogénesis en la edad media de los ratones (10-14 meses) es mucho menor que en etapas tempranas (antes de 3 meses). Por ejemplo, la reducción de las CMN de 1 mes a 10 meses de edad es del 96 %. Sin embargo, la cantidad de células nunca llega a ser cero, lo que sugiere que los ratones a lo largo de su vida llevan a cabo la formación de nuevas neuronas. Se consideraron estas características generales para modelar los efectos de la radiación sobre la neurogénesis hipocampal primero en ratones macho.

6.2. Dinámica de las poblaciones de células neurales después de la irradiación y su respuesta a corto plazo

Los valores de los parámetros empleados en las ecuaciones que describen la dinámica de las poblaciones neurales después de la irradiación y su respuesta a corto plazo (ecuaciones 6 a 18, 19 a 21 y 22) se muestran en la tabla 6.3. De la misma forma, fueron estimaciones numéricas de acuerdo con los estudios de Cacao, E., *et al.* [2].

Tabla 6.3. Parámetros del modelo de la neurogénesis hipocampal después de la irradiación cerebral de ratones macho C57BL/6J. Estos valores son obtenidos de acuerdo con los estudios experimentales de Mizumatsu, S., *et al.* [26] en donde ratones macho de 60 días de edad y de la misma cepa, fueron irradiados con diferentes dosis y marcados inmunohistoquímicamente para la evaluación antes y después del daño según la disminución de las poblaciones celulares.

Parámetro	Valor [unidad]	Parámetro	Valor [unidad]
$\alpha_1 = \alpha_4$	0	ν_3	0.0875 [días ⁻¹]
α_2	1333	ν_5	0.001 [días ⁻¹]
α_3	133	$\xi_1 = \xi_4$	0
$\alpha_{1r} = \alpha_{4r}$	0	$\xi_2 = \xi_3$	0.99
α_{2r}	1386	$\omega_1 = \omega_4$	0
α_{3r}	138	$\omega_2 = \omega_3$	0.4
$\alpha_{1m} = \alpha_{4m}$	0	$\gamma_1 = \gamma_4$	0
α_{2m}	0.75	γ_2	0.01
α_{3m}	0.075	γ_3	0.05
k_i	0	D_{02}	0.75 [Gy]
k_{id}	0	D_{03}	7.5 [Gy]
k_{if}	0	Φ	1
$\nu_1 = \nu_4$	0 [días ⁻¹]	Γ	1.05
ν_2	0.875 [días ⁻¹]	Θ_{mg}	50

Como se mencionó en las hipótesis iniciales, el daño inducido por radiación en las poblaciones de CMN y GB es despreciable en comparación con su tasa de proliferación, por lo tanto, las constantes que representan dicho daño son cero, como se muestra en la tabla 6.3.

Se utilizaron las ecuaciones 19 a 21 para obtener las poblaciones neurales justo después de diferentes la irradiación. Estas ecuaciones utilizan como condiciones iniciales a las poblaciones neurales de ratones antes de la irradiación.

Para comparar la respuesta de la neurogénesis hipocampal después de la irradiación y su dependencia con la edad, se tomaron en cuenta ratones con edades de 21 y 60. El número de células en estas edades fueron calculados a partir de la simulación matemática de *la dinámica de poblaciones de células neurales en condiciones sin irradiación*, para un tiempo de 21 y 60 días. Estos valores se muestran en la tabla 6.4.

Tabla 6.4. Poblaciones de células neurales de edades de 21 y 60 días de ratones macho C57BL/6J.

Población neural	Número de células en el día 21	Número de células en el día 60
Células madre neurales	19739	34941
Neuroblastos	9726	20934
Neuronas inmaduras	89212	160000
Glioblastos	46518	60852

En la figura 6.2, se muestran las gráficas de las fracciones de neuroblastos y neuronas inmaduras sobrevivientes después de la exposición a diferentes dosis de radiación, resultantes de una simulación matemática para ratones de 21 y 60 días de edad. La simulación consta de la exposición a la radiación con diferentes dosis y para un tiempo igual a dos días se obtuvieron el número de neuroblastos y neuronas inmaduras sobrevivientes. Este tiempo corresponde con en el máximo número de células apoptóticas. Las poblaciones de neuroblastos y neuronas inmaduras se normalizaron por el valor antes de la exposición, por lo que se nombran fracción sobreviviente de poblaciones.

Los valores experimentales de los neuroblastos después de la irradiación muestran una dependencia con la edad de los ratones de 21 y 60 días, mientras que para neuronas inmaduras no se observa dicha dependencia con la edad [2]. Esta relación se simuló con el parámetro de *dosis letal media*, D_0 , cuyo valor cambia según la edad en la que el ratón es irradiado. De acuerdo con los estudios de Cacao, E., *et al.* [2], se determinó que para ratones de 21 días de edad un valor igual a 2.5 Gy y para ratones de 60 días de edad corresponde un valor D_0 igual a 0.75 Gy. Por otro lado, para neuronas inmaduras, corresponde un valor D_0 igual a 7.5 Gy para cualquier edad.

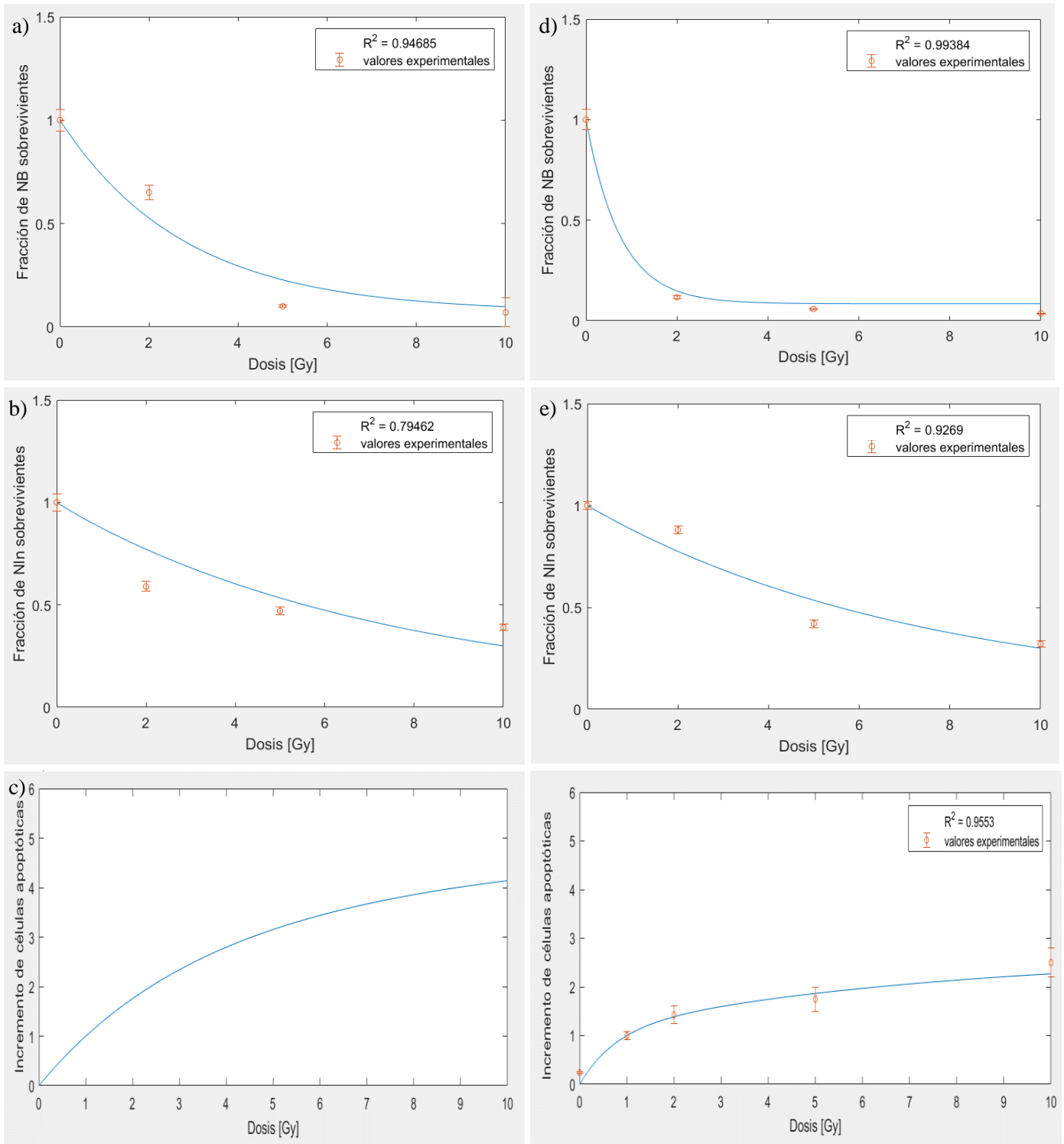


Figura 6.2. Respuesta a corto plazo (2 días después de la irradiación) de las poblaciones neurales de ratones macho de 21 días (gráficas a-b) y 60 días de edad (gráficas d-e). Aumento de la población de células apoptóticas normalizada con respecto a la población de células apoptóticas a 1 Gy, como función de la dosis, de ratones de 21 días (gráfica c) y 60 días de edad (gráfica f) 2 días después de la irradiación. Se muestran los valores experimentales del estudio de Rola, R., *et al.* [27] para ratones de 21 días de edad y de Mizumatsu, S., *et al.* [26] para ratones de 60 días de edad y el valor R^2 para la relación entre el modelo y el valor experimental.

Las gráficas 6.2a y 6.2d muestran que los neuroblastos de los ratones de 21 días son menos susceptibles a la radiación que los de los ratones de 60 días de edad. Por otro lado, las gráficas 6.2b y 6.2e, no muestran diferencias en la sensibilidad a la radiación de las neuronas inmaduras para ratones jóvenes y adultos. Por lo tanto, con este modelo se verifica que la susceptibilidad de los neuroblastos a la radiación aumenta con la edad. Por el contrario, las neuronas inmaduras no muestran diferencias en la susceptibilidad a la radiación con la edad. Esto se debe a que los neuroblastos se encuentran en una etapa de diferenciación menor que la de las neuronas inmaduras, lo que causa una mayor sensibilidad a la radiación. Este efecto se representa en el modelo matemático como una contribución a la retroalimentación negativa de la tasa de proliferación de células madre neurales (p_1) por los neuroblastos (θ_2) diez veces mayor que por las neuronas inmaduras (θ_3), como se muestra en la tabla 6.1.

Con el modelo matemático se simuló la cantidad máxima de células apoptóticas inducidas por la radiación (ver la figura 6.3). Se encontró que para dosis mayores que 2 Gy, este pico de células apoptóticas ocurre entre 24 y 48 horas después de la irradiación. Este comportamiento de la curva reproduce lo encontrado por Fike, J.R., *et al.* [30], en donde se demuestra además que después de la exposición a la radiación, la proliferación celular se recupera hasta equiparar los niveles de los ratones no irradiados.

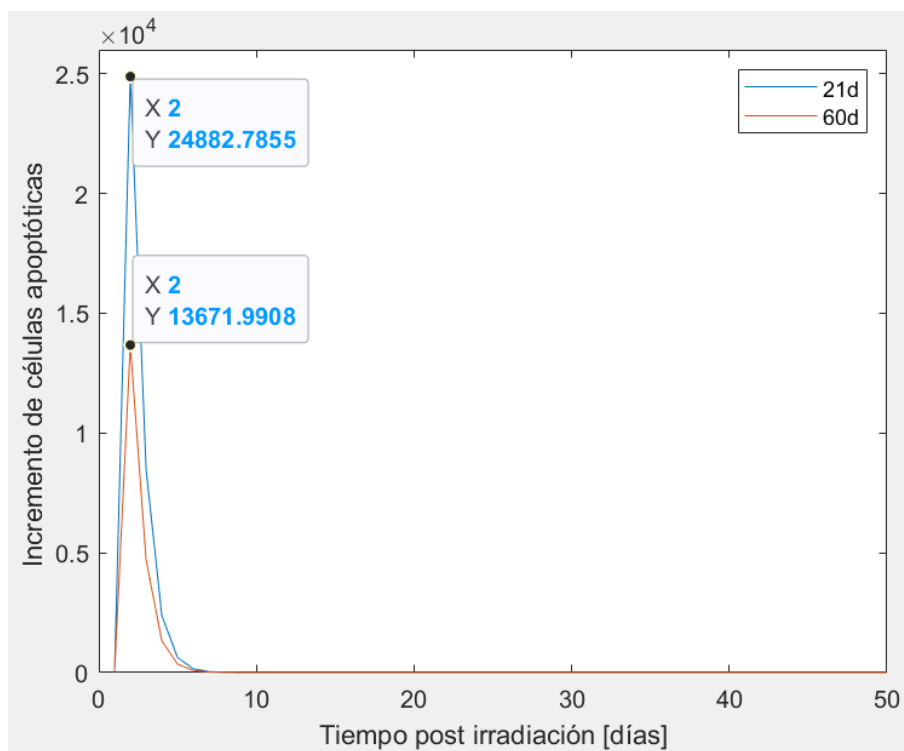


Figura 6.3. Incremento de células apoptóticas como función del tiempo post irradiación. La curva fue obtenida a partir de la simulación de ratones macho C57BL/6J con edades de 21 y 60 días, expuestos a 8 Gy de radiación de baja LET.

En las figuras 6.2c y 6.2f, se muestran las gráficas del aumento de las células apoptóticas dos días después de la irradiación de ratones de 21 y 60 días de edad, respectivamente, las cuales dependen de la dosis. En dichas curvas, se muestran dos pendientes, una entre 0 y 2 Gy y la segunda por arriba de 2 Gy. Esto sugiere que para dosis menores que 2 Gy la principal contribución de las células apoptóticas proviene de los neuroblastos y para dosis más altas la contribución corresponde a neuronas inmaduras. La diferencia entre el aumento en las células apoptóticas es la edad en que los ratones macho fueron irradiados, lo que verifica la dependencia con la edad. El modelo reproduce los datos experimentales de acuerdo con lo reportado por Mizumatsu, S., *et al.* [26], ya que se obtienen R^2 mayores a 9 en las simulaciones de los neuroblastos de ratones de 21 y 60 días de edad, neuronas inmaduras y células apoptóticas de ratones de 60 días de edad. En el caso de la simulación de las neuronas inmaduras de ratones de 21 días de edad, se obtiene un coeficiente de determinación menor a 9 y una diferencia porcentual máxima del 29 % con respecto a los valores experimentales. Los valores de dosis letal media (D_0) para neuroblastos y neuronas inmaduras fueron determinados de acuerdo con los experimentos de Mizumatsu, S., *et al.* [26] y Rola, R., [27]. El valor de la dosis letal media para neuronas inmaduras no cambió con la edad de los ratones expuestos a 8 Gy, por el contrario, el valor de D_0 para neuroblastos si depende de la edad. El hecho de que la dosis letal media dependa de la edad implica una limitación para el modelo matemático ya que, para poder simular la dinámica de las poblaciones neurales de un ratón a una edad determinada, se requiere introducir al modelo matemático el valor de D_0 para los neuroblastos.

6.3. Dinámica de la población de células neurales después de la irradiación y su respuesta a largo plazo

Existe evidencia experimental de que para tiempos posteriores a la irradiación que van de 1 a 3 meses hay una alteración en la neurogénesis hipocampal de ratones y esto se ve reflejado como una contribución negativa a la proliferación de CMN en el modelo matemático. Lo anterior se debe principalmente a una respuesta inflamatoria generada por un aumento en las células microgliales activadas en tiempos posteriores a la exposición con radiación de baja LET.

Las constantes empleadas en las ecuaciones que describen la dinámica de las poblaciones neurales después de la irradiación y su respuesta a largo plazo (ecuaciones de 6 a 18 y 27) se muestran en la tabla 6.3.

Los parámetros para modelar el incremento de la microglía activada y la disminución del destino neurogénico (ecuaciones 23 y 24) de ratones macho C57BL/6J se muestran en la tabla 6.5.

Tabla 6.5. Parámetros de ajuste para representar el modelo de incremento de la microglía y la disminución del destino neurogénico, de acuerdo con las estimaciones de Cacao, E., *et al.* [2].

Activación microglial (μ)	Valor	Destino neurogénico (Δ)	Valor
A_{0m}	0.05	A_{0d}	-0.06
A_{1m} [Gy]	9	A_{1d} [Gy]	9
B_m $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	-7.5×10^{-6}	B_{0d}	-9.6×10^{-3}
C_m $\left[\frac{1}{\text{días}^2}\right]$	-1×10^{-5}	B_{1d} $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	1×10^{-5}
λ_m $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	0.025	C_d $\left[\frac{1}{\text{días}^2}\right]$	1×10^{-5}
		λ_d $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	0.0268

En la figura 6.4 se muestra el resultado de la simulación matemática del incremento de la microglía activada y la disminución del destino neurogénico como función de la dosis. Los datos experimentales son los reportados por Mizumatsu, S., *et al.* [26] y corresponden a la proporción de las mediciones de BrdU con respecto a los marcadores inmunohistoquímicos CD68 para activación microglial y NeuN para la generación de nuevas neuronas maduras en la ZSG del GD del hipocampo. Los datos experimentales se obtuvieron después de 2 meses de la exposición de cerebros de ratones C57BL/6J con diferentes dosis.

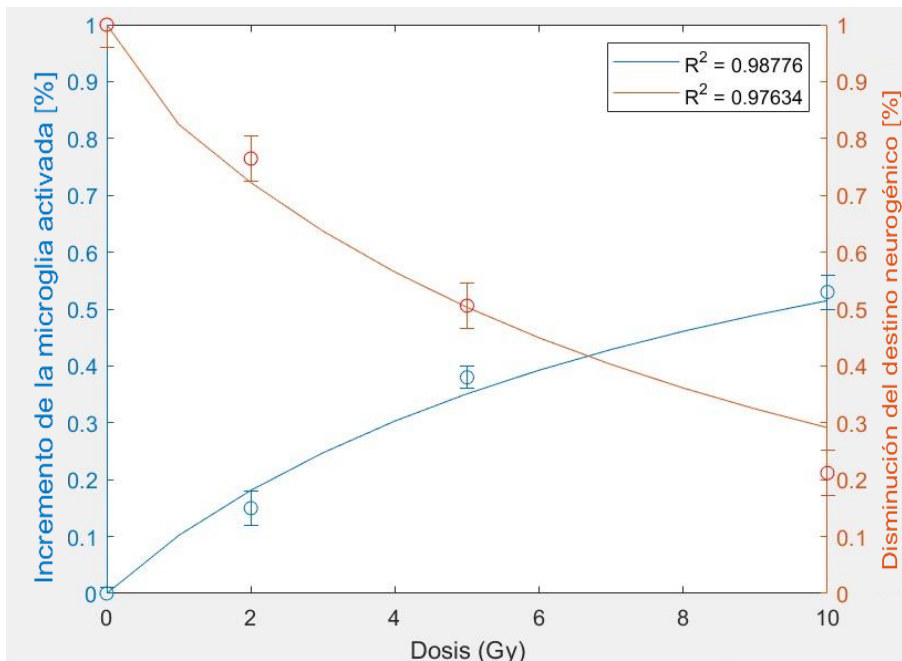


Figura 6.4. Gráfica del incremento de la microglía y la disminución del destino neurogénico como función de la dosis. Se muestran los valores experimentales de acuerdo con Mizumatsu, S., *et al.* [26] y el valor R^2 para la relación con el modelo.

En la figura 6.5 se muestra el resultado de la simulación de los neuroblastos y de las neuronas inmaduras después de la irradiación y su respuesta a corto y a largo plazo. En la figura 6.5a se muestra la gráfica de la fracción de neuroblastos sobrevivientes; primero se puede observar una reducción sustancial de células con respecto a su valor antes de la irradiación: para 1 y 10 Gy los neuroblastos se redujeron un 73.6 y 99.9 %, respectivamente, 2 días después de la irradiación. Este efecto se atribuye a la respuesta a corto plazo inducida por la irradiación. Posteriormente, la población de neuroblastos aumenta (para 1 Gy y para 10 Gy se observó un aumento de 107% y de 7 órdenes de magnitud (10^7 %), 25 días después de la irradiación, respectivamente), lo que indica que la proliferación compensa la pérdida abrupta de células. El máximo de la curva es un punto de equilibrio entre la proliferación y la muerte celular, ya que la influencia de la microglía activada en este punto no permite la recuperación de la población de neuroblastos. Aproximadamente 30 días después de la irradiación es cuando el efecto de la microglía activada domina y vuelven a disminuir las poblaciones de los neuroblastos de los ratones irradiados. Este efecto es dependiente de la dosis, ya que a mayor dosis mayor es el efecto de la microglía.

En la gráfica de la fracción de neuronas inmaduras sobrevivientes (figura 6.5b), la respuesta a corto plazo se observa como una disminución de la cantidad de células (para 1 y 10 Gy una reducción del 13 % y 73.6 %, respectivamente, 2 días después de la irradiación). Luego, las curvas de las neuronas inmaduras de los ratones irradiados no presentan un aumento similar a los neuroblastos (por ejemplo un aumento del 107 %), ya que en este nivel de maduración celular ya no existe un proceso de proliferación. El efecto a largo plazo inducido por la activación de la microglía se muestra como una disminución de las neuronas inmaduras de

los ratones irradiados con respecto a la población de los no irradiados. Este efecto también es dependiente de la dosis.

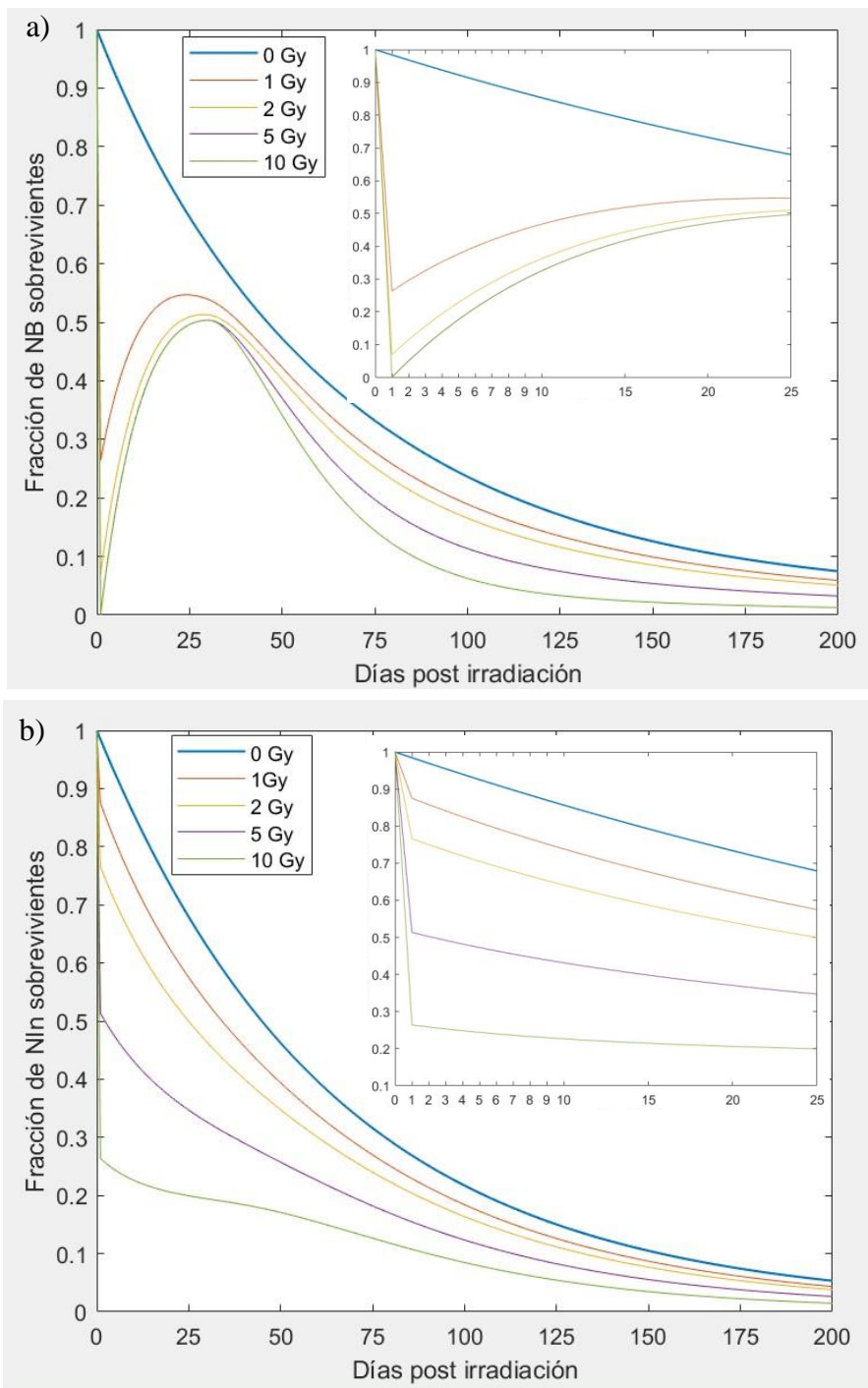


Figura 6.5. Daño inducido por la radiación y su respuesta a largo plazo de las poblaciones de a) neuroblastos y b) neuronas inmaduras como función del tiempo después de exponerlas a diferentes dosis.

En la figura 6.6 se muestran el resultado de la simulación de los cuatro compartimentos celulares como función del tiempo post irradiación y la comparación entre la influencia de la microglía activada y sin este efecto. En las gráficas de las CMN de las simulaciones de ratones irradiados con diferentes dosis (figuras 6.6a y 6.6e) no se observa un efecto a corto plazo ya que tienen la misma cantidad de células que la población de los ratones no irradiados. En el caso donde se simula el efecto de la microglía activada (figura 6.6a) se muestra un aumento despreciable (menor que 2 %) de CMN de los ratones irradiados con respecto a las CMN de los ratones no irradiados.

En las gráficas de los NB de las simulaciones de ratones irradiados con diferentes dosis (figuras 6.6b y 6.6f) primero se puede observar una reducción y un posterior aumento de células. Mismo efecto observado en la figura 6.5a. En el caso donde no se simula la microglía activada (figura 6.6f), las curvas de las poblaciones de NB de los ratones irradiados alcanzan, debido a la proliferación, los mismos valores que la población de los ratones no irradiados.

En las gráficas de las NIn de las simulaciones de los ratones irradiados con diferentes dosis (figuras 6.6c y 6.6g) también se observa una reducción de células, lo que corresponde a la respuesta a corto. Mismo efecto observado en la gráfica 6.5b. La gráfica donde no se simula el efecto de la microglía activada (figura 6.6g) no muestra diferencias significativas (mayores que 2 %) entre las NIn de los ratones irradiados y de los ratones no irradiados para tiempos posteriores a los 150 días.

Por último, en las gráficas de los GB de las simulaciones de ratones irradiados con diferentes dosis (figuras 6.6d y 6.6h) no se presenta un efecto a corto plazo, situación similar a la de las gráficas de las CMN. Sin embargo, el efecto de la microglía activada en la gráfica de la figura 6.6d, muestra un aumento significativo (mayor que 2 %) de los GB dependiente de la dosis de radiación de los ratones con respecto a los GB de los ratones no expuestos. Este efecto no se muestra en donde no se simula la microglía activada (figura 6.6h).

En esta sección de resultados se simuló el aumento de la microglía activada en el giro dentado del hipocampo y la disminución en el destino neurogénico. Esto último se interpreta como una menor cantidad de células madre neurales que se diferencian a neuroblastos y consecuentemente una menor producción de neuronas inmaduras. Además, se muestra el comportamiento encontrado por Monje, M. L., *et al.* [31] en donde obtuvieron que para dosis entre 2 y 10 Gy, la activación microglial tiene un papel en la disminución de la diferenciación de CMN a NB y un aumento en la diferenciación de CMN a GB. Es decir, hay un aumento en la gliosis causada por la activación microglial.

El aumento de la microglía activada es una respuesta inmune del sistema nervioso central ante un daño al tejido por la radiación. La activación microglial genera una señalización celular que libera citocinas y quimiocinas proinflamatorias con el fin de reparar el daño del tejido. Sin embargo, una estimulación excesiva y prolongada desarrolla neuroinflamación que modifica el microambiente haciéndolo neurotóxico, en otras palabras, mortal para las poblaciones neuronales del sistema nervioso central. El daño inducido por la radiación de baja LET, genera esta respuesta a largo plazo en el sistema nervioso central. Se ha visto que incluso 6 meses después de la exposición, la microglía activada está presente la región

afectada [17, 11].

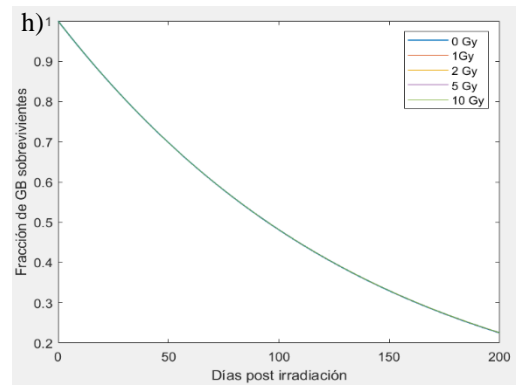
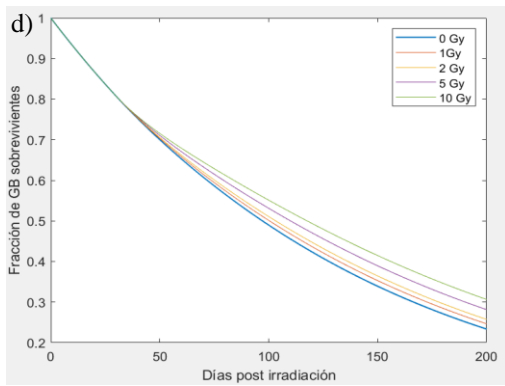
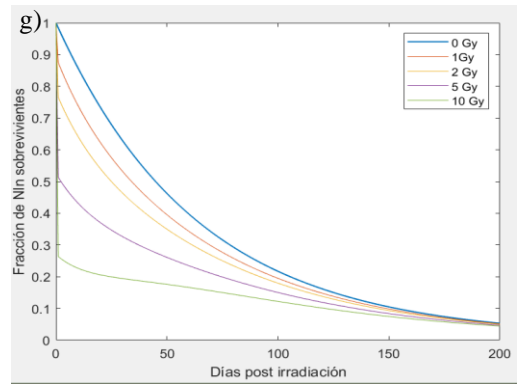
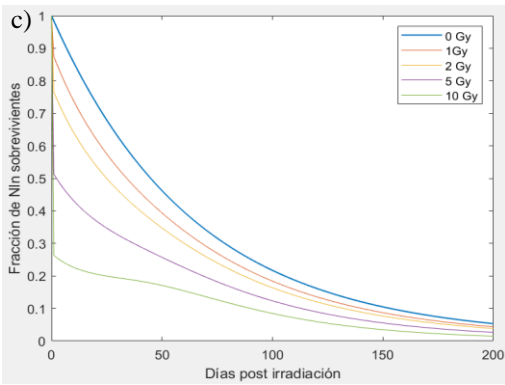
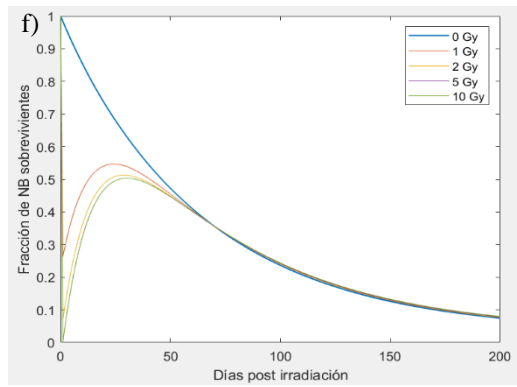
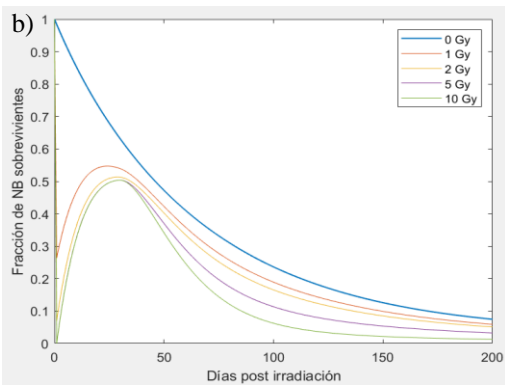
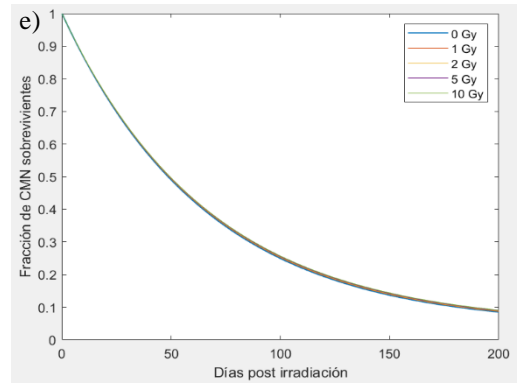
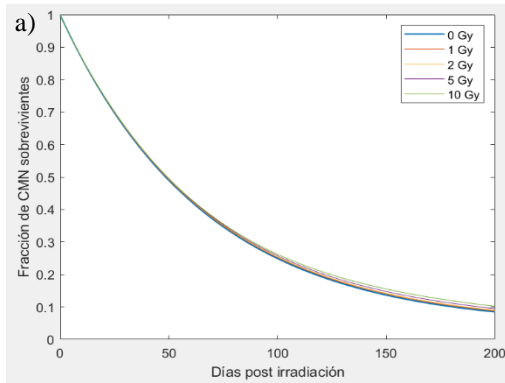


Figura 6.6. Dinámica de poblaciones neurales como función del tiempo post irradiación con la influencia de la microglía activada como respuesta a largo plazo (gráficas a-d) y sin la influencia de la microglía activada (gráficas e-h) en ratones macho C57BL/6J.

6.4. Dinámica de la población de células neurales después de la irradiación y su dependencia con el sexo

A partir de la revisión bibliográfica de las diferencias antes y después de la irradiación asociadas al sexo de ratones (ver la tabla 4.1) se realizan las siguientes aseveraciones:

1. En el momento del nacimiento, los ratones hembra y macho tienen la misma cantidad de células en proliferación (se supondrá que en el nacimiento la igualdad se da en el número de células madre neurales o CMN); 4 meses después del nacimiento hay una mayor cantidad de células en proliferación en ratones hembra que en machos [5, 23].
2. Después de la exposición con radiación de baja LET, se observa que hay un mayor porcentaje de disminución de células en proliferación en la capa celular granular del GD del hipocampo de ratones hembra con respecto al de los machos, sin embargo, como inicialmente había mayor cantidad de células marcadas con BrdU en ratones hembra, las cantidades de células positivas a dicho marcador después de la irradiación son los mismos en ambos sexos [5, 23].
3. La cantidad de microglía en reposo es la misma en ambos sexos antes de la irradiación para ratones menores que 9 meses de edad. Después de la exposición a la radiación con baja LET, se observa que aumenta en hembras mientras que en machos disminuye, no significativamente en ambos casos [23].
4. La cantidad de microglía activada es dependiente de la edad de los ratones macho y hembras antes de la irradiación. Después de la exposición con radiación de alta LET se observa un aumento en machos y no se observan cambios en hembras [24]. Es importante mencionar que hasta el momento no se han hecho estudios experimentales que demuestren una alteración en la cantidad de la microglía activada después de la exposición con radiación de baja LET.
5. La densidad de microglía en reposo es igual en ambos sexos antes de la irradiación. Después de la exposición con radiación de baja LET se observa un aumento de la densidad microglial de hembras en comparación a la densidad de la de los machos [23].

En las siguientes subsecciones se exploran las hipótesis planteadas para estudiar y simular las diferencias con el sexo de ratones tras la irradiación.

6.4.1. Hipótesis A: La proliferación de células madre neurales es diferente entre ambos sexos

Para simular el daño inducido por radiación en la neurogénesis hipocampal, en particular observar la influencia del sexo en la disminución de neuroblastos y neuronas inmaduras, se buscaron los parámetros que simularan las condiciones iniciales (poblaciones antes de la irradiación) en los ratones macho y hembra C57BL/6J. Esta característica es representada en el modelo matemático con la *tasa de proliferación máxima de células madre neurales*, Ψ , que es igual a 0.5 en ratones macho.

El número de células madre neurales en ratones macho de 4 meses de edad es de 600 y en ratones hembra de 1200 (un incremento porcentual de las células de las hembras con respecto a las de los machos del 50 %). En cuanto a las neuronas inmaduras, se encontró que en ratones macho de 4 meses de edad, hay una cantidad de 3500 y en hembras de 4000 células (incremento porcentual de las células de las hembras con respecto a las de los machos del 12.5 %). Estos datos experimentales fueron obtenidos a partir del marcador inmunohistoquímico BrdU y DCX, respectivamente, cuantificados en el giro dentado del hipocampo de ambos sexos de ratones de acuerdo con el estudio realizado por Kalm, M. *et al.* [23].

Para simular la dinámica de la neurogénesis sin irradiación y que reprodujera las diferencias porcentuales en los 4 compartimentos celulares, se determinó la *tasa de proliferación máxima de células madre neurales* para ratones hembra Ψ_{hembra} . El valor para ratones macho se mantuvo en el valor de 0.5. Para determinar el valor de $\Psi_{hembras}$, se realizó una simulación matemática con el software Wolfram Mathematica en donde se varió de manera continua el parámetro Ψ_{hembra} . Se encontró que el intervalo de valores de dicho parámetro que reproduce los datos experimentales observados en ratones hembra está entre 4.6 a 4.8. Si se supone que las diferencias porcentuales solo se deben a una diferente proliferación de las células madre neurales, no se alcanza a reproducir la diferencia del 12.5 % antes mencionada entre las neuronas inmaduras de ratones hembra y las de los machos. Por lo que se realizó una segunda suposición, que la *tasa de apoptosis* de las neuronas inmaduras de los ratones hembra ($a_{3,h}$) es menor que la de los machos. Se encontró (mediante una variación continua con el mismo software) que los valores que muestran una buena concordancia con los datos experimentales están dentro de un intervalo de 0.0220 a 0.0213 (disminución del 3 % con respecto al valor original).

En la tabla 6.7, se muestran los valores de las poblaciones neurales de machos y hembras de 4 meses de edad. En la figura 6.7, se muestra la dinámica de las poblaciones neurales como función de la edad sin irradiación de ratones macho y hembra. La elección del valor del parámetro del intervalo propuesto fue realizada a partir de la diferencia porcentual entre el valor experimental de la población neural reportado por la literatura y el valor calculado por la simulación. Dicha diferencia tenía que cumplir que fuera menor que 2 %, la cual se utilizó para la elección de valores de los parámetros de las siguientes simulaciones.

Para simular el daño inducido por la radiación ionizante, en las futuras subsecciones se utilizarán las dinámicas de las poblaciones neurales presentadas en la figura 6.7.

Tabla 6.7. Resultado de las poblaciones de células neurales de ratones macho y hembra C57BL/6J con una edad de 4 meses, simulado con la variación de Ψ_{hembra} que representa el aumento en la cantidad de células madre neurales y neuronas inmaduras.

	Células madre neurales	Neuronas inmaduras
	$\Psi_{macho} = 0.5; \Psi_{hembra} = 4.8; a_{3,h} = 0.0213$	
Macho	9.534×10^3	4.061×10^4
Hembra	1.433×10^4	4.579×10^4
Diferencia porcentual entre macho y hembra [%]	51.69	12.93
	$\Psi_{macho} = 0.5; \Psi_{hembra} = 4.7; a_{3,h} = 0.0213$	
Macho	9.534×10^3	4.061×10^4
Hembra	1.433×10^4	4.579×10^4
Diferencia porcentual entre macho y hembra [%]	50.37	12.75
	$\Psi_{macho} = 0.5; \Psi_{hembra} = 4.6; a_{3,h} = 0.0213$	
Macho	9.534×10^3	4.061×10^4
Hembra	1.421×10^4	4.571×10^4
Diferencia porcentual entre macho y hembra [%]	49.05	12.58

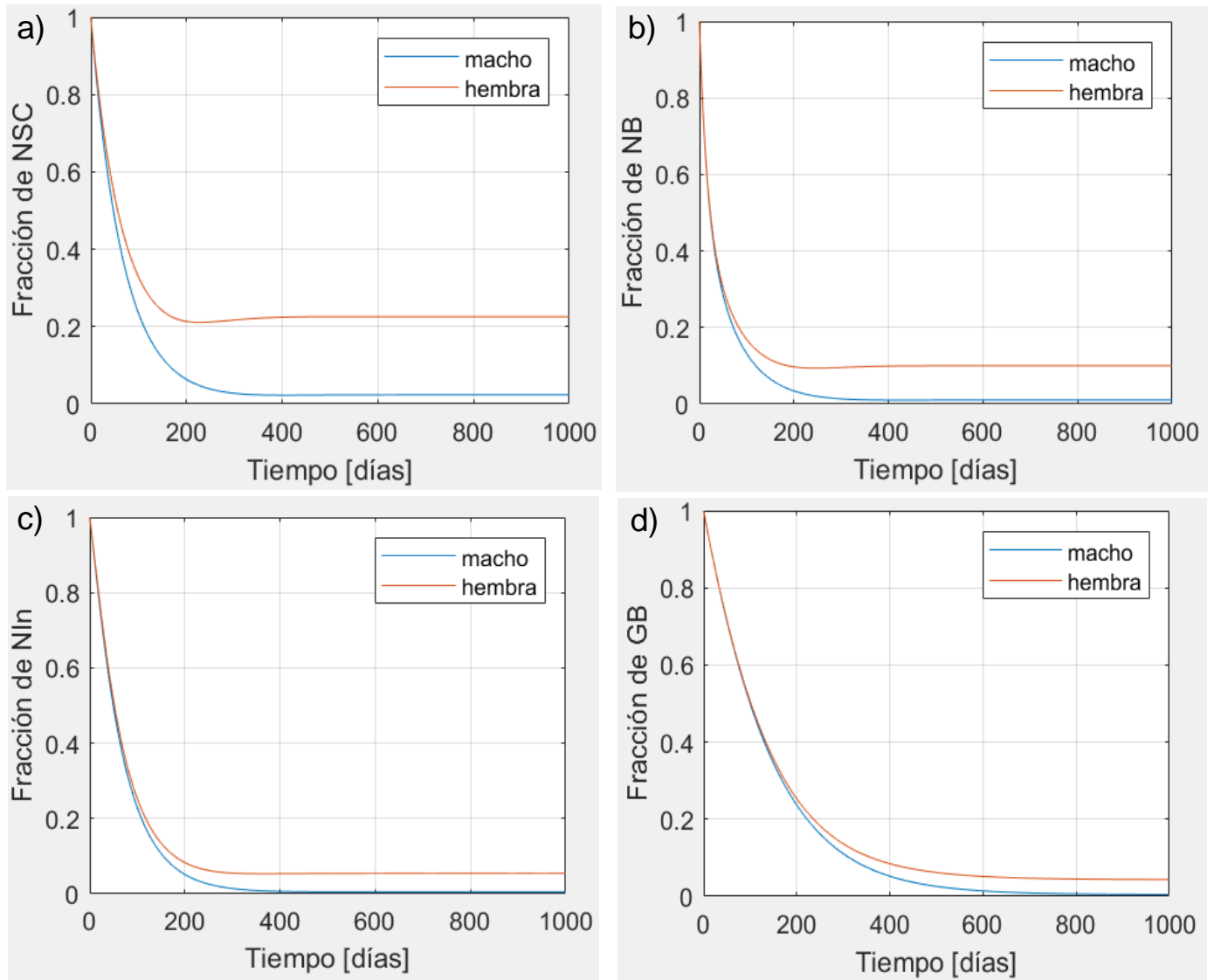


Figura 6.7. Hipótesis A. Comparación de la neurogénesis hipocampal como función del tiempo (en condiciones sin irradiación) entre ratones macho y hembra de las poblaciones de a) células madre neurales, b) neuroblastos, c) neuronas inmaduras y d) glioblastos. La simulación se obtuvo con el parámetro Ψ , para machos fue de 0.5 y para hembras de 4.7; α_3 para machos fue de 0.0220 y para hembras de 0.0213. Las poblaciones se normalizaron por el valor máximo de cada población, es decir, para el valor de la edad de 0 días, por lo que se denominan fracción de poblaciones.

Se modeló matemáticamente la neurogénesis hipocampal de ratones hembra C57BL/6J en condiciones sin irradiación, en donde se aumentó la proliferación de células madre neurales (ver la tabla 6.7). Este comportamiento se observa en los datos experimentales que demuestran que los ratones hembra tienen una mayor cantidad de células madre neurales, neuroblastos y neuronas inmaduras con respecto a las de los machos. La evidencia experimental muestra que en ratones de al menos 4 meses de edad existe un incremento porcentual del 50 % de células positivas al marcador BrdU en hembras con respecto a los machos y un incremento porcentual del 12.5 % de células positivas a DCX en hembras con respecto a los machos [5, 23, 32]. Se identificó a la tasa de proliferación de células madre neurales como el parámetro que domina en modelo matemático, ya que ofrece resultados más cercanos a los reportados en la literatura. Para ratones hembra, este parámetro aumenta a 4.7 y da como resultado un incremento del 50 % con respecto a la cantidad de células madre neurales de los ratones macho, lo que concuerda con Kalm, M., *et al.* [23].

Cabe destacar, que faltaría comprobar experimentalmente el sentido biológico del aumento de la tasa de proliferación de células madre neurales de casi 9 veces del valor para las hembras con respecto al utilizado para los machos. Por otro lado, con este aumento, la diferencia porcentual de las neuronas inmaduras fue del 8 %, siendo que en la literatura evidencian un aumento del 12 %. En este trabajo se propuso disminuir la tasa de apoptosis de las neuronas inmaduras de los ratones hembra ($a_{3,h}$) de 0.0220 a 0.0213. La reducción con respecto al valor inicial es del 3 %, sin embargo, se alcanza un 12 % de la diferencia entre las neuronas inmaduras de los ratones hembra con respecto a las de los machos según lo reportado por Kalm, M., *et al.* [23]. Faltaría comprobar experimentalmente que la tasa de apoptosis natural es menor en ratones hembra que en machos lo cual no ha sido reportado.

La madurez sexual puede generar una diferencia en la proliferación de células neurales en ratones hembra debido a que el ciclo estral genera un alza en la síntesis de estradiol, que se fabrica principalmente en los ovarios. Se ha demostrado que ratas hembra inyectadas con BrdU en su fase proestro, estro o diestro del ciclo estral mostraron un mayor número de células positivas a este inmunomarcador en el GD del hipocampo que los machos [5]. La presente tesis se basa en los estudios realizados por Roughton, K., *et al.* [5] y Kalm, M., *et al.* [23], en donde demuestran que la proliferación, y por tanto la neurogénesis, fue mayor en las hembras que en los machos en edad de adultos. Datos experimentales que se mencionan al inicio de esta subsección. Esto concuerda con un estudio de Ben, A., *et al.* [29] donde encontraron más células positivas a DCX en hembras adultas que en jóvenes.

El marcador BrdU es un marcador de células en proliferación, y dado que tanto las células madre neurales como los neuroblastos tienen la capacidad de autorreplicarse, es impreciso determinar qué población del modelo es marcada. Lo que implica una limitación para la determinación de los parámetros que requiere el modelo matemático. Sin embargo, se realizó la suposición de que se marca solo la proliferación de CMN tomando en cuenta que el modelo únicamente considera la autorreplicación de esta población celular. La proliferación de

neuroblastos es una constante, ya que es suficiente para modelar la neurogénesis en modelos de ratones. Para modelos en ratas, se considera un incremento de la proliferación de esta población [4].

6.4.2. *Hipótesis B: Tras la irradiación la influencia de la microglía activada en la proliferación es diferente entre ambos sexos (variación del parámetro θ_{mg} de la ecuación 27)*

Una vez que el modelo representa la misma cantidad de poblaciones neurales antes de la irradiación en ratones macho y hembra, se procedió a modelar el daño inducido por la radiación y su respuesta a largo plazo. Para esta subsección, se modificó para ambos sexos la *contribución de la microglía activada que afecta en la proliferación de las células madre neurales* después de la irradiación, representada por el parámetro θ_{mg} en la ecuación 27. Como se resumió en la tabla 4.1, la cantidad de neuroblastos y neuronas inmaduras antes de la irradiación es mayor en ratones hembra con edad de 4 meses que en machos de la misma edad y después de la irradiación los niveles de cada población celular llegan a ser iguales [5, 26]. Con el fin de modelar el comportamiento después de la irradiación, se asignan diferentes valores al parámetro θ_{mg} de las hembras (60, 70, 80, 90 y 100). El valor del parámetro θ_{mg} de machos es igual a 50, propuesto en el modelo inicial de Cacao, E., *et al.* [2] basado en los resultados experimentales de Mizumatsu, S., *et al.* [26]

En la figura 6.8, se muestran los resultados de la simulación de los neuroblastos y de las neuronas inmaduras de ratones macho y hembra irradiados a los 14 días de edad. Las poblaciones celulares se graficaron como función del tiempo después de la exposición. En la figura 6.8 se observa que la dinámica de los neuroblastos y de las neuronas inmaduras de los ratones hembra coinciden para valores de θ_{mg} entre 60 y 100. Esto demuestra que el parámetro no es útil para obtener diferencias observables entre las curvas de los ratones hembra para los diferentes valores de la contribución de la microglía activada en la proliferación de células madre neurales. Por lo tanto, se utilizó un valor de θ_{mg} igual a 50 para ambos sexos en las siguientes hipótesis evaluadas.

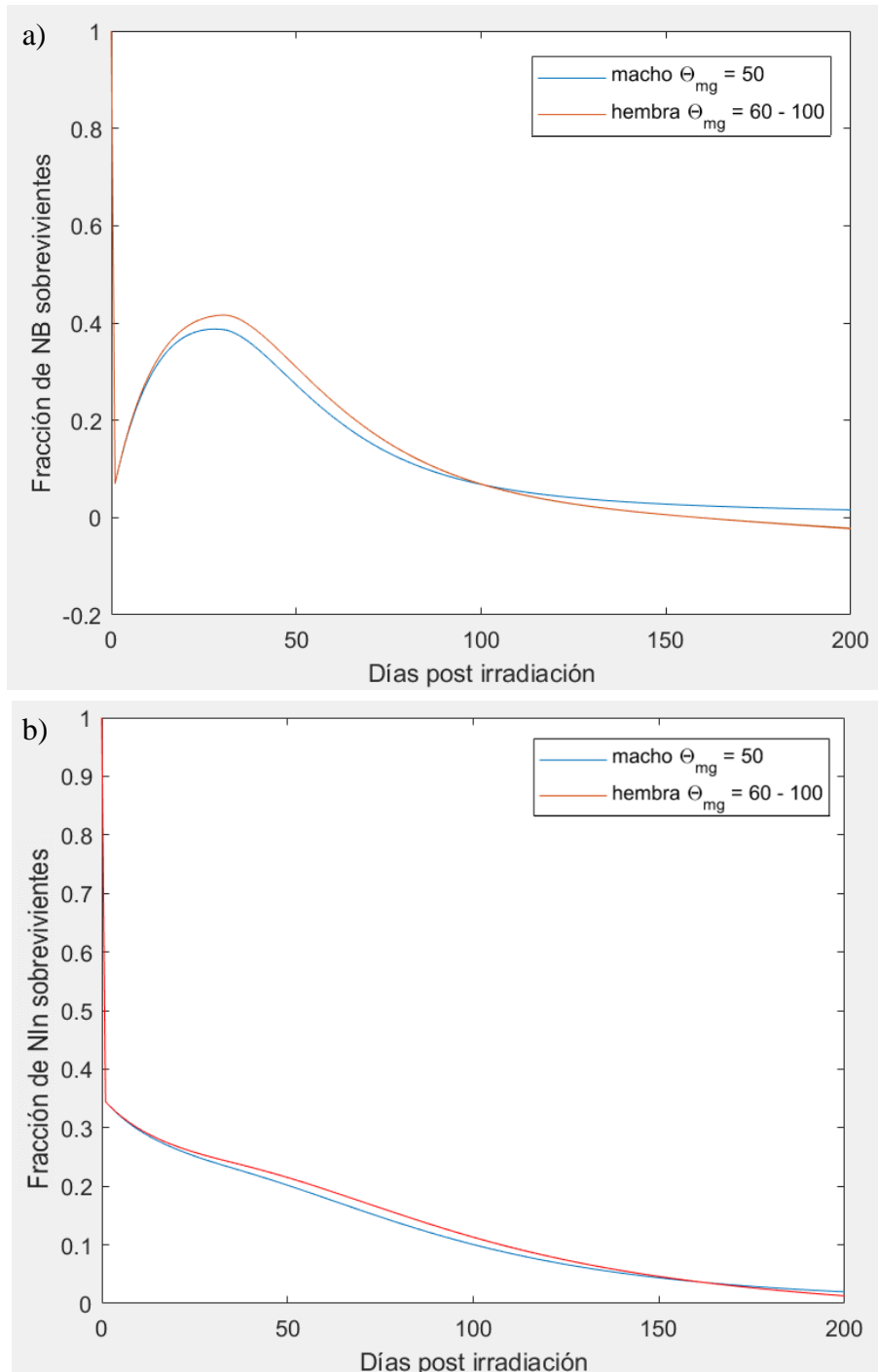


Figura 6.8. Hipótesis A + B. a) Dinámica de los neuroblastos como función del tiempo post irradiación de ratones macho y hembra y su respuesta a corto y largo plazo. b) Dinámica de las neuronas inmaduras como función del tiempo post irradiación de ratones macho y hembra y su respuesta a corto y largo plazo. La leyenda de ambas gráficas indica el valor de θ_{mg} empleados en la dinámica de los ratones hembra teniéndose que las curvas coinciden para cada valor.

6.4.3. Hipótesis C: El número de microglía activada y cómo afecta el destino neurogénico son diferentes entre ambos sexos

El modelo matemático toma en cuenta únicamente el incremento de la microglía activada como principal factor influyente en el daño a la proliferación de las células madre neurales después de la irradiación craneal de ratones. Considera como condición inicial un valor de cero y uno en las ecuaciones diferenciales que representan el incremento de la microglía activada y en el destino neurogénico, respectivamente. De acuerdo con los datos experimentales de Wu, SY., *et al.* [33], la microglía activada aumenta como función de la edad de ratones de la cepa C57BL/6J antes de la irradiación. En esta subsección, se trabajó con los valores experimentales de la microglía activada a diferentes edades antes de la irradiación, con el fin de obtener las condiciones iniciales para la resolución de las ecuaciones diferenciales. Se calculó la proporción de microglía activada para ratones macho y hembra de acuerdo con los resultados realizados por Wu, SY., *et al.* [33] y se ajustó una curva de crecimiento a la distribución de datos experimentales. La ecuación y los parámetros de ajuste se muestran en la tabla 6.8 y la proporción de incremento de la microglía activada de ambos sexos de ratones en la figura 6.9. Con este resultado se puede obtener la cantidad de microglía activada a cualquier edad del ratón antes de la irradiación. Es importante resaltar que la incertidumbre del parámetro de ajuste b es muy grande, lo que indica que el modelo de ajuste de crecimiento es poco preciso. Se necesitarían más datos experimentales para mejorar la precisión del ajuste.

Tabla 6.8. Ecuación y valores de los parámetros de ajuste de la distribución de datos experimentales de la proporción de microglía activada como función de la edad de ratones macho y hembra C57BL/6J.

	Macho	Hembra
Ecuación de ajuste	$\mu = \frac{a}{(1 + be^{-kt})}$	
a	34.3 ± 0.9	26 ± 1
b	$7.29 \times 10^5 \pm 1.9 \times 10^5$	253 ± 110
$k \left[\frac{1}{\text{días}} \right]$	0.06 ± 0.02	0.021 ± 0.002

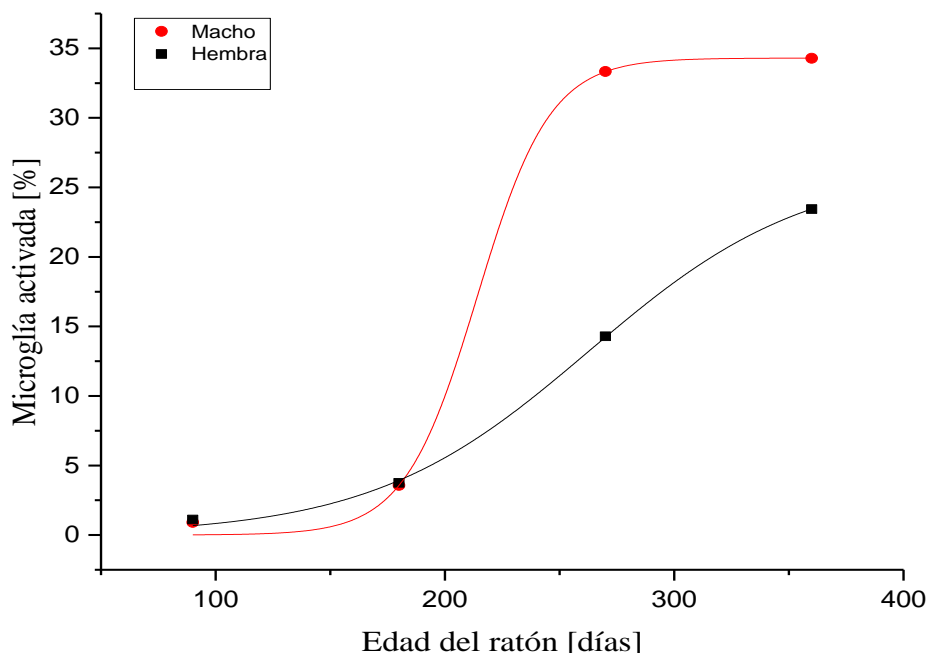


Figura 6.9. Proporción de la microglía activada como función de la edad de ratones macho y hembra C57BL/6J en condiciones sin irradiación. Los dos ajustes a las distribuciones de datos dan como resultado una $R^2 = 0.997$.

Hasta el momento, no hay evidencia experimental de un cambio en la cantidad de microglía activada después de la exposición con radiación de baja LET de manera diferencial con el sexo de ratones. Sin embargo, se encontró que después de diferentes dosis de radiación de baja LET, la cantidad de microglía en reposo (células positivas al marcador Iba1) aumenta ligeramente en ratones hembra mientras que en machos no hay alteración, de acuerdo con el estudio realizado por Kalm, M., *et al.* [23]. En dicho estudio se irradió con 8 Gy de radiación de baja LET al cerebro de ratones macho y hembra de la misma cepa (C57BL/6J) con edad de 14 días. Cuatro meses después de la irradiación se cuantificaron las células positivas a BrdU en el giro dentado del hipocampo, cuyo marcador de proliferación indica una disminución en todas las poblaciones celulares incluyendo las poblaciones neuronales después de la irradiación. Los efectos a largo plazo (4 meses después) inducidos por radiación en las células proliferativas son los siguientes: en ratones macho se cuantificaron 350 células positivas a BrdU lo que representa una disminución del 42 % de neuroblastos con respecto a la cantidad correspondiente antes de la irradiación. En ratones hembra se cuantificaron 320 células positivas lo que representa una disminución del 73 % de neuroblastos, con respecto a la cantidad correspondiente antes de la irradiación. Además, se reporta que la cantidad de células positivas a BrdU llega a ser la misma en ambos sexos después de la irradiación. Es decir, la neurogénesis hipocampal es igual en ambos sexos 4 meses después de la irradiación. Con base en estos datos y con el fin de mostrar que el modelo matemático propuesto inicialmente por Cacao, E., *et al.* [2], es capaz de simular el daño diferencial inducido por radiación en la neurogénesis hipocampal de ratones macho y hembra, se propone simular un

aumento de la cantidad de microglía activada en ratones hembra en comparación con los machos. Para ello se supone que una mayor cantidad de microglía en reposo en hembras se reflejará a su vez en una mayor cantidad de microglía activada (hipótesis C).

Se trabajó con las ecuaciones diferenciales del incremento de la microglía activada (23) y del destino neurogénico (24), resolviendo para diferentes dosis y como función del tiempo post irradiación. Primero, se realizó un ajuste de los parámetros de la ecuación 23 de ratones hembra, mediante una simulación matemática. Se variaron los valores de forma continua con el objeto de reproducir una proporción del 36 % más microglía después de la irradiación en ratones hembra que en machos de acuerdo con Kalm, M. *et al.* [23]. El resultado de los valores de los parámetros de la ecuación 23 para los ratones hembra se muestran en la tabla 6.9. En la figura 6.10a se muestra el resultado de la simulación matemática del incremento de la microglía activada y la disminución del destino neurogénico consecuente, resolviendo las ecuaciones con los valores de la tabla 6.9. Además, la condición inicial de la ecuación 23 se obtuvo a partir del ajuste de la curva de la figura 6.9. En la figura 6.10a, se puede observar que no se alcanza la razón de disminución descrita anteriormente para neuroblastos del 42 % en ratones macho y 73 % en ratones hembra. Por lo tanto, se trabajó con los valores de los parámetros de la ecuación 24 de cada sexo de los ratones, ya que los resultados a partir de la variación de los parámetros de la ecuación 23 se aleja de la proporción de disminución deseada. Los resultados de la variación de los parámetros del destino neurogénico de cada sexo de los ratones se muestran en la tabla 6.10. Empleando ambas modificaciones en los valores de los parámetros de las ecuaciones 23 y 24 para cada sexo de ratones, en la figura 6.10b, se muestran las gráficas del incremento de la microglía activada y del destino neurogénico. En esta figura se reproducen los datos experimentales reportados por Kalm, M., *et al.* [23] en la disminución de las poblaciones de neuroblastos de ambos sexos de ratones.

Tabla 6.9. Cambio en los parámetros del incremento de la microglía activada en ratones hembra C57BL/6J (ecuación 23).

Activación microglial (μ)	Valor macho	Valor hembra	Destino neurogénico (Δ)	Valor macho y hembra
A_{0m}	0.05	0.0782 - 0.8	A_{0d}	-0.06
A_{1m} [Gy]	9	9	A_{1d} [Gy]	9
B_m $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	-7.5×10^{-6}	-7.5×10^{-6}	B_{0d}	-9.6×10^{-3}
C_m $\left[\frac{1}{\text{días}^2}\right]$	-1×10^{-5}	-1×10^{-5}	B_{1d} $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	1×10^{-5}
λ_m $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	0.04	0.04	C_d $\left[\frac{1}{\text{días}^2}\right]$	1×10^{-6}
Condición inicial $\mu(t = 0 \text{ días})$	0	0	λ_d $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	0.04
			Condición inicial $\Delta(t = 0 \text{ días})$	1

Tabla 6.10. Cambio en los parámetros del destino neurogénico de los ratones macho y hembra C57BL/6J (ecuación 24).

Destino neurogénico (Δ)	Valor macho	Valor hembra
A_{0d}	-0.05 a 0.053	-0.0688 a -0.0699
A_{1d} [Gy]	10.5 a 11.6	11.4 a 11.7
B_{0d}	-9.6×10^{-3}	-9.6×10^{-3}
B_{1d} $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	1×10^{-5}	1×10^{-5}
C_d $\left[\frac{1}{\text{días}^2}\right]$	1×10^{-6}	1×10^{-6}
λ_d $\left[\frac{1}{\text{días}}\right]$	0.052 a 0.054	0.042

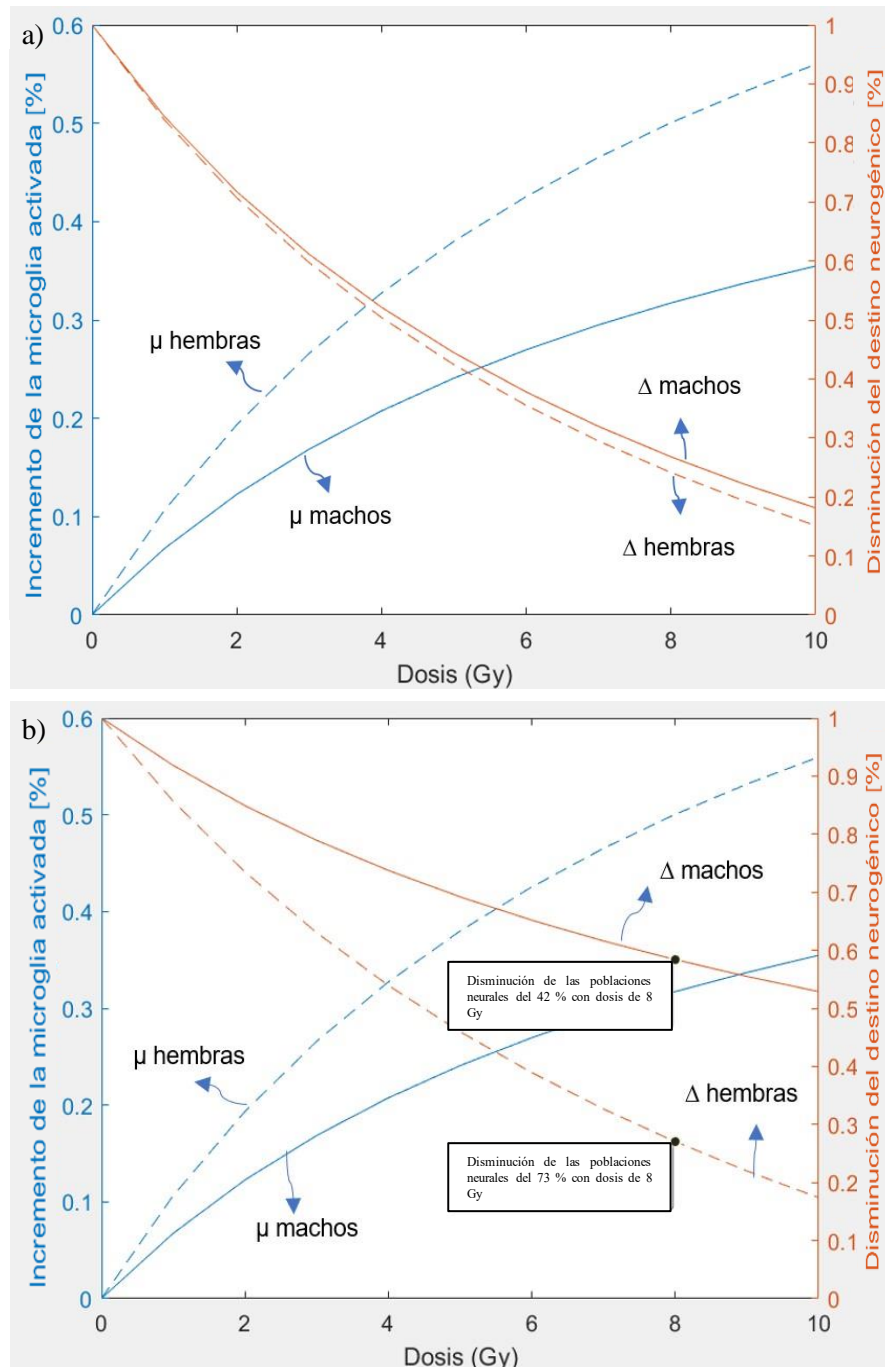


Figura 6.10. Incremento de la microglía activada y disminución del destino neurogénico como función de la dosis, de ratones macho y hembra. La cantidad de células fueron obtenidas 4 meses después de la irradiación. a) Para ambas ecuaciones se emplearon los parámetros de la tabla 6.9, con $A_{0m} = 0.0789$ para ratones hembra. b) Para la ecuación 23 se emplearon los parámetros de la tabla 6.9 y para la ecuación 24 los de la tabla 6.10, con $A_{0d} = -0.051$, $A_{1d} = 11.5$ y $\lambda_d = 0.054$ para ratones macho; $A_{0d} = -0.0693$ y $A_{1d} = 11.5$ para hembras. Se colocaron marcadores en la dosis de 8 Gy para visualizar que la disminución en el destino neurogénico fue 42 % y 73 % en ratones macho y hembra, respectivamente. Los datos experimentales se obtuvieron de acuerdo con lo reportado por Kalm, M. *et al.* [23].

La influencia de la microglía activada como respuesta a largo plazo de la irradiación con 8 Gy en la neurogénesis hipocampal, se muestra en la figura 6.11. En las figuras 6.11a y 6.11b, se puede observar que tanto los neuroblastos como las neuronas inmaduras sufren una disminución de células a los pocos días de la irradiación (respuesta a corto plazo). En estas figuras se muestra la simulación con la misma tasa de proliferación de células madre neurales en ratones macho y hembra ($\Psi = 0.5$) y se observa una mayor disminución de neuroblastos y neuronas inmaduras en ratones hembra. Esto se debe a que el aumento de la microglía activada en los ratones hembra genera un mayor daño en las poblaciones celulares. Por otro lado, en las figuras 6.11c y 6.11d, se muestra las simulaciones de neuroblastos y neuronas inmaduras pero con una mayor tasa de proliferación de células madre neurales de ratones hembra como se definió en la hipótesis A (ver la tabla 6.7). Se observa que este sexo rebasa a la cantidad de neuroblastos de los ratones macho entre los 20 y 30 días después de la irradiación. Luego, debido a la respuesta inflamatoria provocada por la activación microglial en el tejido, los neuroblastos y neuronas inmaduras se ven afectadas manifestando una disminución, al menos 30 días después de la irradiación, tal como lo reportan Mizumatsu, S., *et al.* [26] y Mouton, P. R., *et al.* [34].

Los estudios experimentales demuestran que la cantidad de neuroblastos y neuronas inmaduras en ratones hembra y macho después de la irradiación es la misma 4 meses después de la irradiación [5, 23]. En las figuras 6.11b y 6.11d, se puede observar notablemente este comportamiento en la simulación de las neuronas inmaduras. Se calculó un incremento porcentual del 0.4 % más neuronas inmaduras en los ratones hembra con respecto a los machos, 4 meses después de la irradiación. Por otro lado, al comparar a los neuroblastos, este comportamiento no es tan notorio, teniendo un incremento del 4 % en los ratones macho con respecto a las hembras 4 meses después de la irradiación.

Otro aspecto que resalta en las gráficas 6.11c y 6.11d, es el aumento de los neuroblastos y neuronas inmaduras en ratones hembra pasados 6 meses de la irradiación, que corresponde cuando la cantidad de microglía activada regresa a niveles basales y debido a la proliferación diferencial de las poblaciones neurales en ambos sexos, se observa un aumento en los neuroblastos y neuronas inmaduras de ratones hembra.

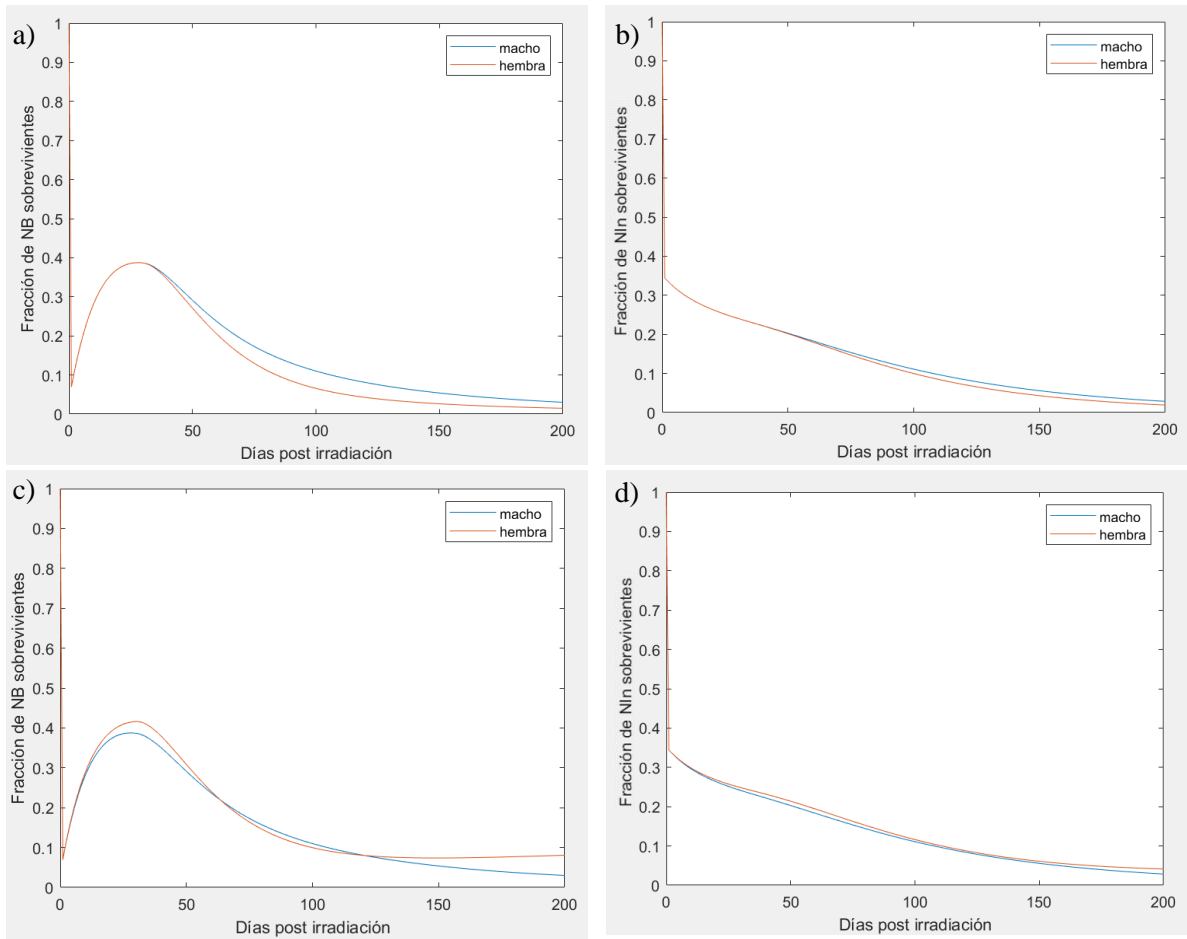


Figura 6.11. Respuesta a largo plazo de la neurogénesis hipocámpal inducida por la exposición cerebral a ratones macho y hembra con 8 Gy de radiación de baja LET. Hipótesis C: a) Neuroblastos y b) neuronas inmaduras con la misma tasa de proliferación (Ψ) en ambos sexos. Hipótesis A+C: c) Neuroblastos y d) neuronas inmaduras con un aumento en la tasa de proliferación en los ratones hembra. La simulación matemática se realizó con los parámetros de las tablas 6.9 y 6.10, con $A_{0d} = -0.051$, $A_{1d} = 11.5$ y $\lambda_d = 0.054$ para ratones macho; $A_{0d} = -0.0693$ y $A_{1d} = 11.5$ para hembras.

Se observó que al modificar únicamente los valores de la ecuación 23 del incremento de la microglía activada en ratones hembra no se reproducen los datos experimentales reportados por Kalm, M., *et al.* [23]. Sin embargo, se identificó que el principal parámetro que domina la dinámica de la microglía activada es el coeficiente inicial, A_{0m} . Este coeficiente no tiene una interpretación biológica, sino que forma parte del ajuste del compartimento, pero se relaciona con un mayor aumento de la microglía activada. Este valor se aumentó 1.4 veces en ratones hembra para representar una diferencia del 36 % con respecto al valor de los ratones macho de acuerdo con lo reportado.

El modelo original contempla las poblaciones neurales de la región de la zona subgranular del giro dentado del hipocampo. Mientras que los datos experimentales reportados por Kalm, M., *et al.* [23] provienen de toda la capa celular granular del giro dentado, es decir, una región de mayor área. Por lo tanto, los valores de los parámetros de la ecuación del destino neurogénico aumentaron para ratones macho con respecto al modelo original. Finalmente, el aumento de dichos valores de la ecuación para ratones hembra generó una mayor disminución en el destino neurogénico con respecto a los machos, reproduciendo los datos experimentales de las neuroblastos y neuronas inmaduras después de la irradiación reportados por Kalm, M., *et al.* [23].

Los dos resultados obtenidos con las variaciones tanto del destino neurogénico como el incremento de la microglía activada son capaces de reproducir un daño diferencial entre ambos sexos inducido por radiación. Por último, se sugiere que la ecuación 24 del destino neurogénico es dominante para representar las diferencias con el sexo en la dinámica de las poblaciones y su respuesta a largo plazo inducida por radiación.

6.4.4. Hipótesis D: La densidad de la microglía activada tras la irradiación es diferente entre ambos sexos

Con el fin de mostrar que el modelo matemático es capaz de representar el daño diferencial inducido por radiación en ratones macho y hembra, se propone otro posible factor influyente, el aumento de la densidad de la microglía activada. Los estudios experimentales en ratones muestran que después de la irradiación a todo el cerebro con radiación de baja LET, el volumen del giro dentado disminuye 4 meses después. El valor del volumen final tras la irradiación es de 0.5 mm^3 (disminución del 16 % de su valor inicial) para ratones macho y 0.52 mm^3 (disminución del 35 % de su valor inicial) para ratones hembra, de acuerdo con lo reportado por Kalm, M., *et al.* [23].

Se proponen las ecuaciones 28 y 29 para representar tanto el incremento de la densidad de la microglía activada (μ_{den}) como la disminución del destino neurogénico consecuente (Δ_{den}). Se supone que la disminución del volumen afecta por igual a las diferentes poblaciones neurales y por lo tanto su densidad aumenta.

$$\frac{d\mu_{den}(t)}{dt} = \begin{cases} 0 & \text{para } t < t_d \\ \frac{\left[A_{0m} \left(\frac{D}{D + A_{1m}} \right) + B_m t + C_m t^2 \right] e^{-\lambda_m t}}{\text{volumen después de la irradiación}} & \text{para } t > t_d \end{cases} \quad (28)$$

$$\frac{d\Delta_{den}(t)}{dt} = \begin{cases} 0 & \text{para } t < t_d \\ \left[A_{0d} \left(\frac{D}{D + A_{1d}} \right) + B_{0d} \mu_{den} + B_{1d} \mu_{den} t + C_d t^2 \right] e^{-\lambda_d t} & \text{para } t > t_d \end{cases} \quad (29)$$

Se trabajó con las ecuaciones diferenciales del incremento de la densidad de la microglía activada (28) y del destino neurogénico consecuente (29), resolviendo para diferentes dosis y como función del tiempo post irradiación. En la figura 6.12a, se muestra el resultado de la simulación matemática de la ecuación 28 utilizando los valores de los parámetros de la tabla 6.9. Para la simulación de la ecuación 29, se utilizaron los valores de la tabla 6.10. Se puede observar que la disminución del destino neurogénico no reproduce los datos experimentales de neuroblastos después de la irradiación en ambos sexos de acuerdo con lo reportado por Kalm, M., *et al.* [23]. Estos valores indican una reducción de neuroblastos del 42 % en ratones macho y el 73 % en ratones hembra. Por lo tanto, se realizó un ajuste de los parámetros de la ecuación 29 para ratones macho y hembra. Mediante una variación continua de los valores de dichos parámetros se determinó un intervalo que reprodujera adecuadamente lo reportado por la literatura. Los resultados de los parámetros se muestran en la tabla 6.11. En la gráfica 6.12b, se muestran los resultados de la simulación de la ecuación 28 utilizando los parámetros de la tabla 6.9 y la ecuación 29 utilizando los parámetros de la tabla 6.11. En esta figura, la simulación reproduce el porcentaje de disminución del destino neurogénico de acuerdo con Kalm, M., *et al.* [23].

En la figura 6.13, se muestra la comparación entre el incremento de la microglía activada y el incremento de la densidad de la microglía activada para ratones macho y hembra, como función de la dosis. Se observa que, a mayor dosis, mayor incremento de la microglía activada. Además, la pendiente del incremento de la densidad de la microglía activada es mayor que la de la microglía sola.

Tabla 6.11. Cambio en los parámetros del destino neurogénico de los ratones macho y hembra C57BL/6J (ecuación 29).

	Destino neurogénico considerando el incremento de la microglía activada (Δ)		Destino neurogénico considerando el incremento de densidad de la microglía activada (Δ_{den})	
	Valor macho	Valor hembra	Valor macho	Valor hembra
A_{0d}	-0.05 a 0.053	-0.0688 a -0.0699	-0.051	-0.04
A_{1d} [Gy]	10.5 a 11.6	11.4 a 11.7	11.5	9
B_{0d}	-9.6×10^{-3}	-9.6×10^{-3}	-9.6×10^{-3}	-9.6×10^{-3}
B_{1d} $\left[\frac{1}{días} \right]$	1×10^{-5}	1×10^{-5}	1×10^{-5}	1×10^{-5}
C_d $\left[\frac{1}{días^2} \right]$	1×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-6}	1×10^{-6}
λ_d $\left[\frac{1}{días} \right]$	0.052 a 0.054	0.042	0.058	0.0315

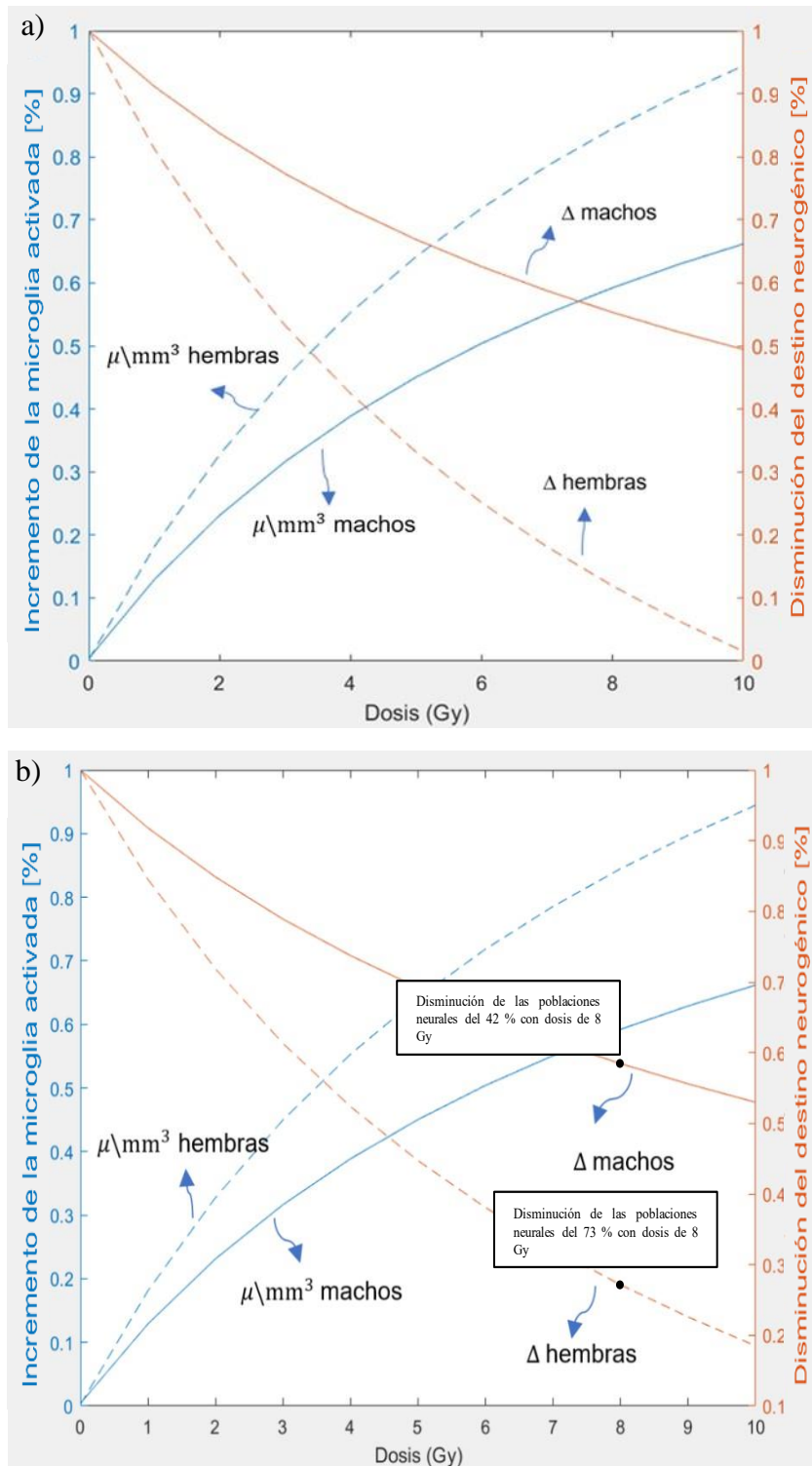


Figura 6.12. Incremento de la densidad de la microglía activada (eje de las ordenadas de color azul) y disminución del destino neurogénico (eje de las ordenadas de color rojo) como función de la dosis en ratones macho y hembra 4 meses después de la irradiación. a) Se emplearon los parámetros del destino neurogénico de la tabla 6.9 y b) empleando los parámetros de la tabla 6.11.

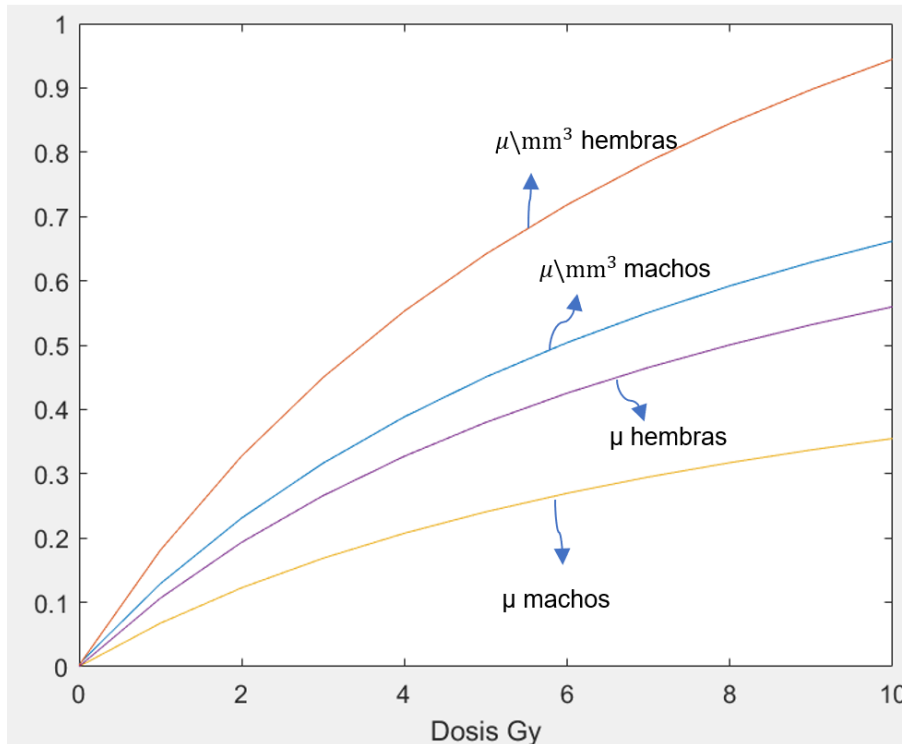


Figura 6.13. Incremento de la microglía activada [%] e incremento de la densidad de la microglía activada [%], como función de la dosis, de ratones macho y hembra.

En las figuras 6.14a y 6.14b, se muestran los resultados de la simulación matemática de la densidad de los neuroblastos y neuronas inmaduras después de la exposición con 8 Gy de radiación de baja LET y su respuesta a largo plazo, respectivamente. En estas simulaciones no se consideró la modificación de los parámetros de la ecuación 29. En las figuras 6.14c y 6.14d, se muestran las simulaciones de neuroblastos y neuronas inmaduras, respectivamente, en donde sí se consideró la modificación de dichos parámetros de la ecuación 29. Se puede observar que el daño inducido por la radiación es más severo en las poblaciones celulares de los ratones hembra que las de los machos en las figuras 6.14a y 6.14b. Esto se debe a que la densidad de la microglía activada es mayor y, por lo tanto, la disminución del destino neurogénico también lo es. Estos resultados conducen a un cambio de los parámetros del destino neurogénico debido a que esta ecuación predomina en los resultados de la simulación de la dinámica de la neurogénesis después de la irradiación y una por tanto, una adecuada comparación con los datos experimentales de la literatura.

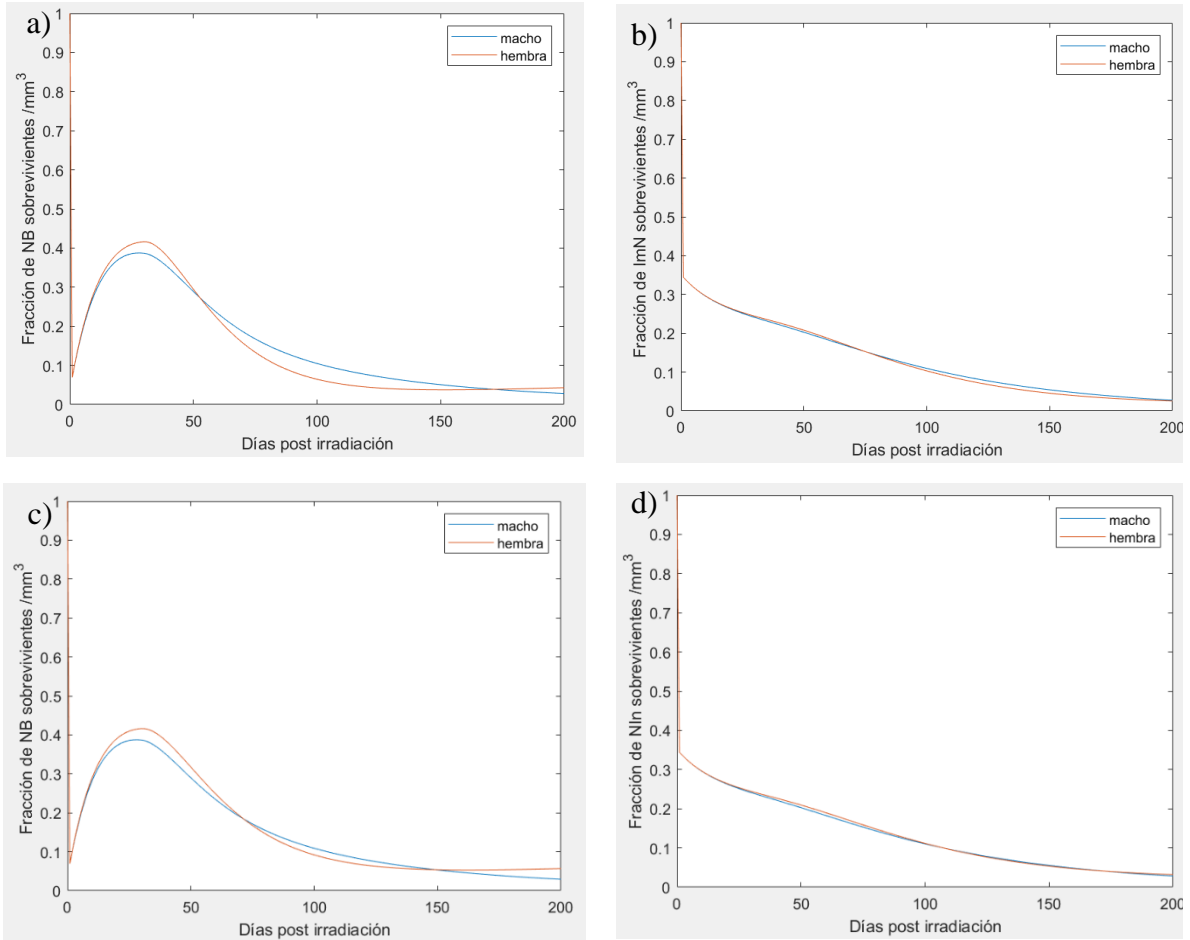


Figura 6.14. Hipótesis A + D: Influencia del incremento de la densidad de microglía activada en la densidad de las poblaciones de a) neuroblastos y b) neuronas inmaduras, sin cambio de los parámetros de la ecuación del destino neurogénico consecuente del aumento de la densidad de la microglía activada (ecuación 29). Hipótesis A+D: Influencia del incremento de la densidad de microglía activada en la densidad de poblaciones de c) neuroblastos y d) neuronas inmaduras, pero con el ajuste de los parámetros de la ecuación del destino neurogénico consecuente del aumento de la densidad de la microglía activada. En ambos grupos de gráficas, se simuló ratones macho y hembra irradiados con 8 Gy de radiación de baja LET como función del tiempo post irradiación.

Finalmente, en la figura 6.15 se muestra la diferencia porcentual primero con los neuroblastos y luego con las neuronas inmaduras antes y después de la irradiación de 8 Gy. El grupo de gráficas a y b muestra la comparación entre ratones macho y hembras donde la influencia de la microglía activada fue simulada en la dinámica de dichas poblaciones después de la irradiación. El grupo de gráficas c y d muestra la comparación entre ratones macho y hembras donde la influencia de la densidad de la microglía activada fue simulada en la dinámica de los neuroblastos y neuronas inmaduras después de la irradiación. Como se mencionó en las hipótesis iniciales, las poblaciones celulares de ratones hembra son mayores que las de los machos antes de la irradiación y, meses después de la irradiación, las poblaciones celulares

son iguales en ambos sexos. Por lo tanto, los ratones hembra sufren una disminución mayor en la neurogénesis hipocampal que los machos. Este comportamiento se observa en ambos grupos (grupo a y b y grupo c y d) de gráficas, sin embargo, se puede apreciar que la influencia de la densidad de la microglía activada muestra un efecto mayor, ya que la diferencia porcentual es superior a la que se muestra en el primer grupo de gráficas. Se calculó la diferencia porcentual máxima primero para los neuroblastos y luego para las neuronas inmaduras entre ratones hembra y machos y se obtuvieron 40 y 23 %, respectivamente, en donde únicamente se simuló el efecto de la microglía activada. La diferencia porcentual máxima para neuroblastos fue de 45 % y para neuronas inmaduras de 30 %, entre ratones hembra y machos, cuando se simuló el efecto de la densidad de la microglía activada.

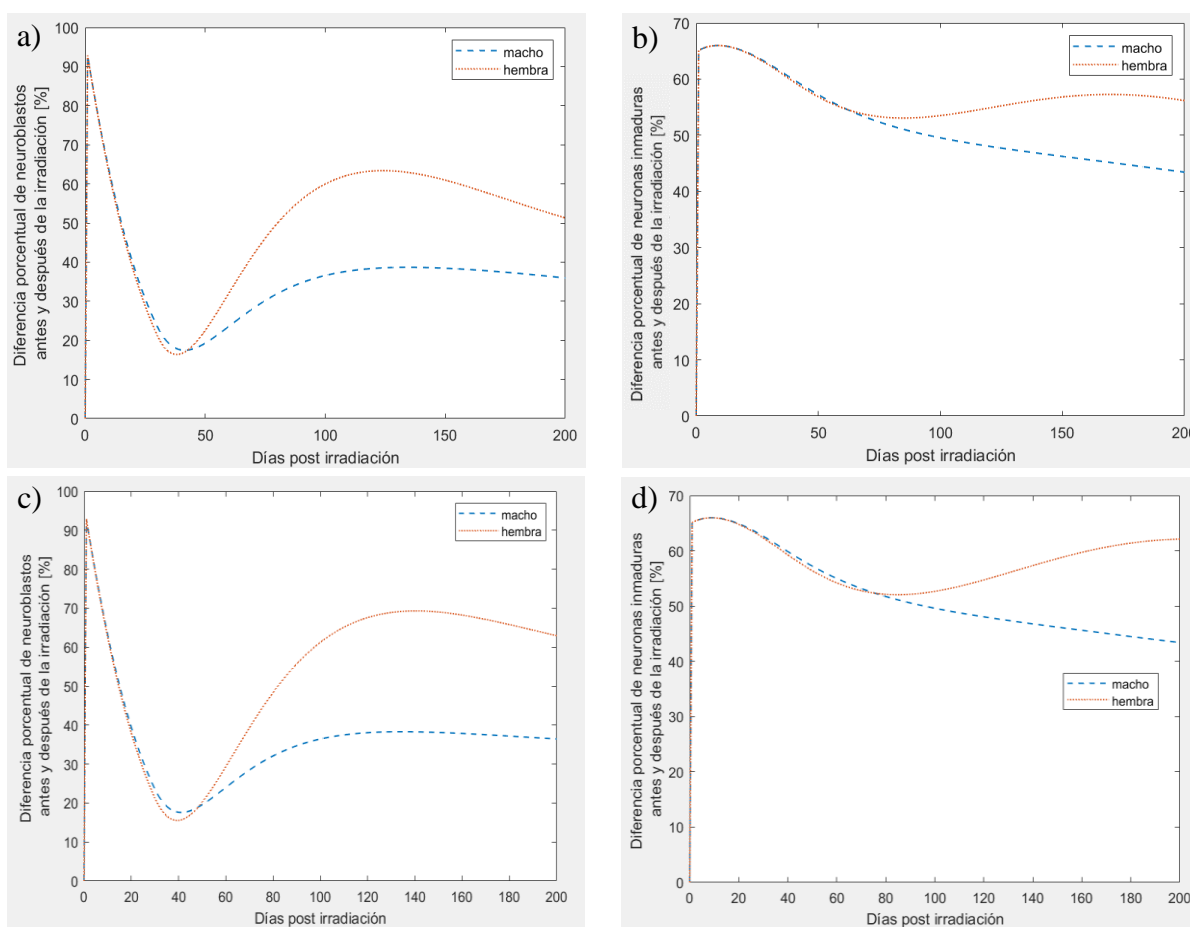


Figura 6.15. Gráficas a) y b): diferencia porcentual entre ratones macho y hembra de neuroblastos y neuronas inmaduras, respectivamente, antes y después de la exposición con 8 Gy radiación de baja LET, simulando la influencia de la microglía activada. Gráficas c) y d): diferencia porcentual entre ratones macho y hembra de neuroblastos y neuronas inmaduras, respectivamente, antes y después de la exposición con 8 Gy, pero simulando la influencia de la densidad de la microglía activada.

Existen estudios científicos donde se demuestra que la alteración en la neurogénesis hipocampal está asociada con cambios cognitivos después de la exposición a la radiación [35, 36]. La exposición a radiación de baja LET modifica otras condiciones además de la cognición, tales como la morfología dendrítica a dosis menores que 10 Gy, los cambios en la potenciación a largo plazo y las respuestas conductuales relacionadas con el cerebro prefrontal y frontal (ej. memoria espacial, etc.). Dosis más altas de radiación de baja LET afectan muchas más poblaciones celulares del SNC y por lo tanto no es posible conocer el mecanismo subyacente de los detrimentos cognitivos generados [1]. El daño inducido por radiación en la neurogénesis hipocampal se reflejó en un aumento de la actividad locomotora y un aumento de la ansiedad, que se asocian con el hipocampo. Existen diferencias con el sexo, ya que los ratones hembra mostraron afectaciones en el aprendizaje espacial y la memoria dependiente del hipocampo en el laberinto de agua de Morris, mientras que en los ratones macho no hubo efecto [23, 37]. Esto sugiere que, pese a que las hembras y los machos han demostrado tener el mismo número de células proliferativas tras la irradiación, el mayor daño cognitivo puede estar asociado con el hecho de que las hembras iniciaron con un nivel mayor de células proliferativas y por lo tanto tuvieron una mayor disminución.

Si los niños que reciben radioterapia en el SNC son de sexo femenino tienen un mayor riesgo de deterioro cognitivo [5, 23]. Los resultados del presente estudio proponen como un posible factor influyente en la generación del detrimento cognitivo más pronunciado en ratones hembra la activación microglial en el hipocampo. Además, se observó que la reducción del volumen del giro dentado genera una mayor disminución de la neurogénesis hipocampal en los ratones, con mayor afectación generada en hembras. Esto sugiere que el efecto combinado de una mayor activación microglial y la reducción del volumen generan un mayor detrimento cognitivo en hembras debido a la disminución de la neurogénesis hipocampal respecto a los valores iniciales. Por lo tanto, es importante tener en cuenta el sexo al investigar las lesiones inducidas por la radiación, tanto en el cerebro humano como en el de los roedores.

Se debe tener en cuenta que los mecanismos de lesión pueden ser diferentes entre ratones y humanos y que las comparaciones deben hacerse con precaución.

VII. CONCLUSIONES

En este trabajo se utilizó un modelo matemático propuesto por Cacao, E., *et al.* [2] para simular la dinámica celular de las principales poblaciones celulares que sufren daño por radiación involucradas en la neurogénesis hipocampal de ratones C57BL/6J. Se incluyeron células madre neurales, neuroblastos, neuronas inmaduras y glioblastos.

El modelo reprodujo la dinámica de la neurogénesis tras la irradiación reportada en la literatura y su dependencia con la edad con éxito, ya que al comparar los valores de la simulación con respecto a los datos experimentales de diferentes edades se obtuvieron coeficientes de determinación mayores a nueve.

Para estudiar la dinámica de los neuroblastos y neuronas inmaduras después de la exposición a la radiación y su dependencia con el sexo, se propusieron cuatro hipótesis para explorar el modelo. Se demostró que una mayor *tasa de proliferación máxima de células madre*, Ψ , y un menor valor de la *tasa de apoptosis de las neuronas inmaduras* de ratones hembra, α_{3h} , pudieran explicar las diferencias observadas entre ambos sexos en los datos experimentales (hipótesis A).

Se encontró que *la contribución del incremento en el número de la microglía activada*, θ_{mg} , por sí misma no es un buen parámetro para simular las diferencias en el daño inducido por radiación con el sexo de ratones de acuerdo con este modelo matemático (hipótesis A+B).

El cambio en los valores de los parámetros de la ecuación que representa el incremento de la microglía activada (hipótesis C, ecuación 23), genera adecuadamente las diferencias reportadas en la cantidad de microglía total en ambos sexos 4 meses después de la irradiación con 8 Gy. Por otro lado, se demostró que los parámetros de la ecuación que representa la disminución del destino neurogénico (ecuación 24) dominan la dinámica de la respuesta a largo plazo de neuroblastos y neuronas inmaduras después de la irradiación y pudieran explicar una mayor diferencia en la cantidad de células entre ambos sexos de ratones. Es decir que, en las hembras, la activación de la microglía pudiera influir más en el destino neurogénico que en los machos y sufrir así en mayor proporción una mayor disminución en el número total de células proliferativas.

Se encontró que de existir una mayor densidad de la microglía activada (hipótesis A+D) en las hembras esto generaría también una mayor disminución en los neuroblastos y neuronas inmaduras después de la irradiación comparado con los resultados del incremento de la microglía activada (hipótesis A+C). Esto sugiere que la reducción del volumen del giro dentado sumado al aumento de la microglía activada, ambos hechos reportados en la literatura [27], afectan a la neurogénesis hipocampal después de la irradiación de manera dependiente con el sexo.

Aunque las hembras y los machos han demostrado tener el mismo número de células proliferativas tras la irradiación, una mayor disminución de la neurogénesis hipocampal respecto a los valores iniciales pudiera explicar un detrimento cognitivo más severo en ratones hembra, lo que coincide con los reportes clínicos. Las pacientes del sexo femenino

sufren efectos tardíos más graves, como mayor pérdida de la memoria a largo plazo y mayor afectación del aprendizaje, después de la radioterapia craneal que los pacientes masculinos. Esto remarca la importancia de considerar el sexo al estudiar las lesiones inducidas por la radiación ionizante, tanto en el cerebro humano como en el de roedores.

Se debe tener en cuenta que los mecanismos de lesión pueden ser diferentes entre ratones y humanos y que las comparaciones deben hacerse con profundo cuidado, no obstante, los estudios muestran que tanto los ratones hembra como los pacientes del sexo femenino son más susceptibles a los daños de la irradiación craneal. Estos resultados y en general el modelo son de gran ayuda ya que los experimentos in vivo están limitados por la dosis, esquemas de fraccionamiento, edad, sexo etc. de modo que los modelos matemáticos son útiles para explorar los datos en múltiples condiciones. Se demostró que este modelo es beneficioso para investigar diferentes hipótesis que expliquen las diferencias dependientes del sexo de ratones en términos de efectos tardíos del sistema nervioso central inducidos por radiación ionizante. Falta por confirmar biológicamente si las hipótesis planteadas son plausibles; verificar si los valores de los parámetros pueden asociarse con un sentido biológico, como es el caso de la proliferación de células diferencial para sexo de ratones. Por otro lado, es importante corroborar experimentalmente el aumento diferencial de la microglía activada en el giro dentado del hipocampo asociado con el sexo de ratones después de la exposición a la radiación de baja LET, para obtener con mejor precisión las diferencias en el comportamiento de la dinámica de las poblaciones neurales tras la irradiación y su dependencia con el sexo.

VIII. PERSPECTIVAS

Algunas de las limitaciones del modelo matemático que se encontraron durante el desarrollo del proyecto son las siguientes:

- No se considera la migración o el movimiento de nuevas neuronas (neuronas totalmente diferenciadas). A diferencia de las neuronas del bulbo olfatorio de la ZSV, donde hay un continuo flujo migratorio, las nuevas neuronas del giro dentado del hipocampo se mueven solo una corta distancia hacia la capa de células granulares en la ZSG. Los enfoques matemáticos para considerar la migración incluyen ecuaciones diferenciales parciales [38] o métodos Monte Carlo.
- Las posibles dependencias con la edad de la proliferación o las tasas de apoptosis no pudieron discernirse a partir de los experimentos previos considerados, de acuerdo con los reportado por Cacao, E., *et al.* [2].
- El umbral de dosis se encuentra entre 1 y 10 Gy, debido a que a dosis mayores que 10 Gy se pierde la radiorresistencia parcial encontrada en las células madre neurales y glioblastos.
- El modelo matemático está restringido a la cepa de ratones C57BL/6J.
- No existe un tiempo límite en la en respuesta a largo plazo después de la irradiación en el que se pueda discernir la veracidad de la simulación.
- Los datos experimentales de la microglía activada después de la exposición a la radiación de baja LET en la literatura son muy escasos , por lo que este modelo se puede complementar con estudios experimentales en laboratorio de la activación microglial en machos y hembras tras la irradiación.

IX. REFERENCIAS

- [1] Hinkle, J., Olschowka, J., *et al.* (2019). Cranial irradiation mediated spine loss is sex-specific and complement receptor-3 dependent in male mice. *Scientific Reports*, 9(18899). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55366-6>
- [2] Cacao, E. & Cucinotta, F. A. (2016). Modeling impaired hippocampal neurogenesis after radiation exposure radiation. *Radiation Research*, 185(3), 319–331. <https://doi.org/10.1667/RR14289.S1>
- [3] Greene-Schloesser, D., Robbins, M. E., Peiffer, A. M., *et al.* (2012). Radiation-induced brain injury: a review. *Frontier in Oncology*, 2(73). <https://doi.org/10.3389/fonc.2012.00073>
- [4] Cacao, E., Kapukotuwa, S. & Cucinotta, F. A. (2018). Modeling reveals the dependence of hippocampal neurogenesis radiosensitivity on age and strain of rats. *Front. Neurosci.* 12(980). <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00980>
- [5] Roughton, K., Kalm, M., *et al.* (2012). Sex-dependent differences in behavior and hippocampal neurogenesis after irradiation to the young mouse brain. *The European Journal of Neuroscience*, 36(6), 1-10. <https://doi.org/10.1111/j.1460-9568.2012.08197.x>
- [6] Villa, A., Gelosa, P., Castiglioni, L., *et al.* (2018). Sex-specific features of microglia from adult mice. *Cell Reports*, 23(12), 3501-3511. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.05.048>
- [7] Khan, F. M., Gibbons, J. P. (2014). *The physics of radiation therapy* (5a ed.). Editorial Wolters Kluwer.
- [8] Tortora, G. J., & Derrickson, B. (2010). *Principios de anatomía y fisiología* (11a ed.). Editorial Médica Panamericana.
- [9] Stuart, I. F. (2014). *Fisiología humana* (12a ed.). Editorial McGraw-Hill.
- [10] Molnar, C. & Gair, J. (2015). *Concepts of Biology* (1st. Canadian Ed.). Editorial BCcampus.
- [11] Vainchtein, I. D. & Molofsky, A. V. (2020). Astrocytes and microglia: in sickness and in health. *Trends in Neurosciences*, 43(3), 144-154. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2020.01.003>
- [12] Amaral, D. G. & Witter, M. P. (1989). The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data. *Neuroscience*, 31(3), 571-591. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90424-7](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90424-7)

- [13] Vicens, P., Redolat, R., Carrasco, M. (2003). Aprendizaje espacial y laberinto de agua: metodología y aplicaciones. *Psicotherma*, 15(4), 539-544.
- [14] [Sitio Web] What is Hippocampus? Creative Diagnostics. <https://www.creative-diagnostics.com/blog/index.php/what-is-hippocampus/>
- [15] Bruel-Jungerman, E., Rampon, C. & Laroche, S. (2007). Adult hippocampal neurogenesis, synaptic plasticity and memory: facts and hypotheses. *Reviews in the neurosciences*, 18(2), 93-114. <https://doi.org/10.1515/REVNEURO.2007.18.2.93>
- [16] Cope, E. & Gould, E. (2019). Adult neurogenesis, Glia, and the extracellular matrix. *Cell Stem Cell*, 24(5), 690-705. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2019.03.023>
- [17] Fike, J. R., Rosi, S. & Limoli, C. L. (2009). Neural precursor cells and CNS radiation sensitivity. *Semin. Radiat. Oncol.*, 19(2), 122-132. <http://doi.org/10.1016/j.semradonc.2008.12.003>
- [18] Greene-Schloesser, D., Robbins, M. E. (2012). Molecular pathways: radiation-induced cognitive impairment. *American Association for Cancer Research*, 19(9), 2294-2300. <http://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-11-2903>.
- [19] Jenrow, K. A., Brown, S. L., *et al.* (2013). Selective inhibition of microglia-mediated neuroinflammation mitigates radiation-induced cognitive impairment. *Radiat. Res.*, 179(5), 549-556. <https://doi.org/10.1667/RR3026.1>
- [20] Cacao, E., Kapukotuwa, S. & Cucinotta, F. A. (2018). Modeling reveals the dependence of hippocampal neurogenesis radiosensitivity on age and strain of rats. *Front. Neurosci.*, 12(980). <https://doi.org/10.3389/fnins.2018.00980>
- [21] Kuhn, H. G., Eisch, A. J., Spalding, K., *et al.* (2016). Detection and phenotypic characterization of adult neurogenesis. *Cold Spring Harb Perspect. in Biol.*, 8(3). <http://doi.org/10.1101/cshperspect.a025981>
- [22] [Sitio Web] abcam. (2021). Microglia markers. <https://www.abcam.com/neuroscience/microglia-markers>
- [23] Kalm, M., Roughton, K. & Blomgren, K. (2013). Lipopolysaccharide sensitized male and female juvenile brains to ionizing radiation. *Cell Death and Disease*, 4(12). <https://doi.org/10.1038/cddis.2013.482>
- [24] Parihar, V. K., Angulo, M. C., Allen, B. D., *et al.* (2020). Sex-specific cognitive deficits following space radiation exposure. *Frontiers in Behavioral Neuroscience*, 14(535885). <https://doi.org/10.3389/fnbeh.2020.535885>

- [25] Smirnova, O. A. (2011). Environmental radiation effects on mammals: a dynamical modeling approach (ed. 2010). Editorial Spring.
- [26] Mizumatsu, S., Monje, M. L., Morhardt, D. R., *et al.* (2003). Extreme sensitivity of adult neurogenesis to low doses of X-irradiation. *Cancer Res.*, 63, 4021-4027.
- [27] Rola, R., Raber, J., Rizk, A., *et al.* (2004). Radiation-induced impairment of hippocampal neurogenesis is associated with cognitive deficits in young mice. *Experimental Neurology*, 188(2), 316-330. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2004.05.005>
- [28] Encinas, J. M., Michurina, T., Peunova, N., *et al.* (2011). Division-coupled astrocytic differentiation and age-related depletion of neural stem cells in the adult hippocampus. *Cell stem cell*, 8(5). <https://doi.org/10.1016/j.stem.2011.03.010>
- [29] Ben, N., Slomianka, L., *et al.* (2010). Early age-related changes in adult hippocampal neurogenesis in C57 mice. *Neurobiology of Aging*, 31(1), 151-161. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2008.03.002>
- [30] Fike, J. R., Rola, R., *et al.* (2007). Radiation response of neural precursor cells. *Neurosurgery Clin N Am*, 18(1), 115-127. <https://doi.org/10.1016/j.nec.2006.10.010>
- [31] Monje, M. L., Mizumatsu, S., *et al.* (2002). Irradiation induces neural precursor-cell dysfunction. *Nat Med*, 8 (9), 955–62. <https://doi.org/10.1038/nm749>
- [32] Siddiqui, A., Romeo, R. (2019). Sex differences and similarities in hippocampal cellular proliferation and the number of immature neurons during adolescence in rats. *Developmental Neuroscience*, 41(1-2), 132-138. <https://doi.org/10.1159/000502056>.
- [33] Wu, SY., Chen, YW., *et al.* (2016). Estrogen ameliorates microglial activation by inhibiting the Kir2.1 inward-rectifier K⁺ channel. *Scientific Reports*, 6(22864). <https://doi.org/10.1038/srep22864>
- [34] Mouton, P. R., Long, J. M., Lei, D. L., *et al.* (2002). Age and gender effects on microglia and astrocyte number in brains of mice. *Brain Research*, 956(1), 30-35. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(02\)03475-3](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(02)03475-3)
- [35] Tomášová, L., Smajda, B., *et al.* (2012). Effects of prenatal irradiation on behavior and hippocampal neurogenesis in adult rats. *Act Physiol. Hung.*, 99 (2), 126-132. <https://doi.org/10.1556/APhysiol.99.2012.2.5>.
- [36] Monje, M., Dietrich, J. (2012). Cognitive side effects of cancer therapy demonstrate a functional role for adult neurogenesis. *Behavioral Brain Research*, 227 (2), 376-379. <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2011.05.012>.

[37] Villasana, L., Acevedo, S., *et al.* (2006). Sex- and APOE isoform-dependent effects of radiation on cognitive function. *Radiation Research Society*, 166(6), 883,891. <https://doi.org/10.1667/RR0642.1>

[38] Ashbourn, J. M. A., Miller, J. J., *et al.* (2012). A mathematical model of adult subventricular neurogenesis. *Journal of the royal society interface*, 9(75), 2412-2423. <https://doi.org/10.1098/rsif.2012.0193>

Apéndice

A continuación se muestran los códigos en MATLAB de la simulación matemática de la neurogénesis en condiciones sin irradiación y la respuesta a corto y a largo plazo de la neurogénesis después de la irradiación de ratones macho y hembra C57BL/6J

1. Neurogénesis hipocampal como función de la edad de ratones macho y hembra C57BL/6J

```
%Cinématica de las poblaciones de células neurales con la edad para ratones macho y hembras
(SIN RADIACIÓN)
close all; clear all; clc;

%Constantes macho
d_1m= 0.015;
d_2m = 0.060;
a_2m = 0.008;
a_3m = 0.022;
a_4m = 0.008;
x_am = 0.85;
x_bm = 0.15;
psim = 0.5;
theta_1m = 0.005;
theta_2m = 0.05;
theta_3m = 0.005;

%constantes hembra
d_1h= 0.015;
d_2h = 0.060;
a_2h = 0.008;
a_3h = 0.0213;
a_4h = 0.008;
x_ah = 0.85;
x_bh = 0.15;
psih = 4.7;
theta_1h = 0.005;
theta_2h = 0.05;
theta_3h = 0.005;

%Sistema ecuaciones diferenciales
%macho
fm = @(t,n) [(psim/(1+((theta_1m*n(1))+theta_2m*n(2))+theta_3m*n(3))))*n(1)-d_1m*n(1);
    2*x_am*d_1m*n(1) - d_2m*n(2) - a_2m*n(2);
    d_2m*n(2) - a_3m*n(3);
    x_bm*d_1m*n(1) - a_4m*n(4)];
%hembra
fh = @(t,n) [(psih/(1+((theta_1h*n(1))+theta_2h*n(2))+theta_3h*n(3))))*n(1)-d_1h*n(1);
    2*x_ah*d_1h*n(1) - d_2h*n(2) - a_2h*n(2);
    d_2h*n(2) - a_3h*n(3);
```

```

x_bh*d_1h*n(1) - a_4h*n(4)];

%Número de células neurales en la edad de 0 días
NSC_0 = 47680;
NB_0 = 40318;
ImN_0 = 209654;
GB_0 = 69885;

%Solución del sistema de ecuaciones
[tm,xam] = ode45(fm,[0:1:1000],[NSC_0; NB_0; ImN_0; GB_0]);
[th,xah] = ode45(fh,[0:1:1000],[NSC_0; NB_0; ImN_0; GB_0]);

%Normalización
%macho
NSC_normm = xam(:,1)/xam(1,1);
NB_normm = xam(:,2)/xam(1,2);
ImN_normm = xam(:,3)/xam(1,3);
GB_normm = xam(:,4)/xam(1,4);
%hembra
NSC_normh = xah(:,1)/xah(1,1);
NB_normh = xah(:,2)/xah(1,2);
ImN_normh = xah(:,3)/xah(1,3);
GB_normh = xah(:,4)/xah(1,4);

%gráficas
figure
subplot(2,2,1) %cuatro graficas
plot(tm,NSC_normm) %gráfica de células madre neurales de machos
xlabel("Tiempo [días]")
ylabel("Fracción de NSC")
grid on
hold on
plot(tm, NSC_normh, '-','MarkerSize',1) %gráfica de células madre neurales de hembras
legend('macho', 'hembra')
subplot(2,2,2)
plot(tm,NB_normm) %gráfica de neuroblastos de machos
xlabel("Tiempo [días]")
ylabel("Fracción de NB")
grid on
hold on
plot(tm, NB_normh, '-','MarkerSize',1) %gráfica de neuroblastos de hembras
legend('macho', 'hembra')
subplot(2,2,3)
plot(tm,ImN_normm) %gráfica de neuronas inmaduras de machos
xlabel("Tiempo [días]")
ylabel("Fracción de NIn")
grid on
hold on
plot(tm, ImN_normh, '-','MarkerSize',1) %gráfica de neuronas inmaduras de hembras
legend('macho', 'hembra')
subplot(2,2,4)
plot(tm,GB_normm) %gráfica de glioblastos de machos
xlabel("Tiempo [días]")
ylabel("Fracción de GB")

```

```

grid on
hold on
plot(tm, GB_normh, '-', 'MarkerSize',1) %gráfica de glioblastos de hembras
Legend('macho', 'hembra')

```

2. Respuesta a corto y a largo plazo de la neurogénesis hipocampal después de la irradiación de ratones macho y hembra C57BL/6J

```

% Respuesta a largo plazo de las poblaciones neurales después de la irradiación

close all; clc; clear all;

% constantes independientes del sexo

d_1 = 0.015;
d_2 = 0.060;
a_2 = 0.008;
a_3 = 0.022;
a_4 = 0.008;
x_a = 0.85;
x_b = 0.15;
theta_1 = 0.005;
theta_2 = 0.05;
theta_3 = 0.005;

%constante dependiente del sexo
Psim = 0.5;
Psih = 0.5;
a_3h = 0.022;

%fracción de células daladas débilmente
gamma1 = 0;
gamma2 = 0.04;
gamma3 = 0.20;
gamma4 = 0;

%fracción de células dañadas débilmente
xi2 = 0.99;
xi1 = 0;

%constante de proporcionalidad entre alfa y k
omega2 = 0.40;
omega1 = 0;

%tasa de células fuertemente dañadas que conducen a apoptosis directamente
nu1 = 0;
nu2 = 14;
nu3 = 1.4;
nu4 = 0;
nu5 = 2.1;

%contribución del incremento en el número de microglía activada en la
%proliferación de NSC

```

```

theta_mg_macho = 50;
theta_mg_hembra = 50;

%constante adimensional que considera la contribución desigual de las
%células dañadas débilmente conforme su tasa de muerte
Phi = 1;

%constante adimensional que considera la contribución desigual de las
%células dañadas fuertemente conforme su tasa de muerte
Gamma = 1.05;

%tasa de células dañadas débilmente que no son reparadas y sufren apoptosis
%con retraso

alpha_m1 = 0;
alpha_m2 = 13.33;
alpha_m3 = 1.33;
alpha_m4 = 0;

%tasa de reparación inducido por radiación
alpha1 = 0;
alpha2 = 1333.33;
alpha3 = 133.33;
alpha4 = 0;

%tasa de células dañadas débilmente y que son reparadas
alpha_r1 = 0;
alpha_r2 = 1320;
alpha_r3 = 132;
alpha_r4 = alpha_r1;

%tasa de daño inducido por radiación
k1 = 0;
k2 = 0;
k3 = 0;
k4 = k1;

%tasa de células débilmente dañadas
k_w1 = 0;
k_w2 = 0;
k_w3 = 0;
k_w4 = k_w1;

%tasa de células fuertemente dañadas
k_h1 = 0;
k_h2 = 0;
k_h3 = 0;
k_h4 = k_h1;

% Dinámica sin radiación

% sistema ecuaciones diferenciales
% macho
fm = @(t,n) [(Psi_m/(1+((theta_1*n(1))+theta_2*n(2))+theta_3*n(3))))*n(1)-d_1*n(1);
    2*x_a*d_1*n(1) - d_2*n(2) - a_2*n(2);
    d_2*n(2) - a_3*n(3);
    x_b*d_1*n(1) - a_4*n(4)];
% hembra
fh = @(t,n) [(Psi_h/(1+((theta_1*n(1))+theta_2*n(2))+theta_3*n(3))))*n(1)-d_1*n(1);
    2*x_a*d_1*n(1) - d_2*n(2) - a_2*n(2);
    d_2*n(2) - a_3*n(3)];

```

```

x_b*d_1*n(1) - a_4*n(4)];

%número de células neurales en la edad de 0 días.
NSC_0 = 47680;
NB_0 = 40318;
ImN_0 = 209654;
GB_0 = 69885;

%solución del sistema de ecuaciones
[tm,xam] = ode45(fm,[0:1:1000],[NSC_0; NB_0; ImN_0; GB_0]);
[th,xah] = ode45(fh,[0:1:1000],[NSC_0; NB_0; ImN_0; GB_0]);

%normalización
%macho
NSC_normm = xam(:,1)/xam(1,1);
NB_normm = xam(:,2)/xam(1,2);
ImN_normm = xam(:,3)/xam(1,3);
GB_normm = xam(:,4)/xam(1,4);

%hembra
NSC_normh = xah(:,1)/xah(1,1);
NB_normh = xah(:,2)/xah(1,2);
ImN_normh = xah(:,3)/xah(1,3);
GB_normh = xah(:,4)/xah(1,4);

% Condiciones iniciales a partir de dosis aguda de radiación

%dosis letal media para NB y ImN para ratones irradiados en P14
D02 = 3;
D03 = 7.5;

%Poblaciones neurales de ratones macho iniciales en P14
NSC0m_14d = xam(15,1);
NB0m_14d = xam(15,2);
ImN0m_14d = xam(15,3);
GB0m_14d = xam(15,4);

%Poblaciones neurales de ratones hembra iniciales en P14
NSC0h_14d = xah(15,1);
NB0h_14d = xah(15,2);
ImN0h_14d = xah(15,3);
GB0h_14d = xah(15,4);

%radiacion aguda machos
for jdosiss = 0:1:10
    cond_NB_inicialm(jdosiss+1) = NB0m_14d*exp(-jdosiss/D02);
    cond_n2w_inicialm(jdosiss+1) = gamma2*NB0m_14d*(1-(exp(-jdosiss/D02)));
    cond_n2h_inicialm(jdosiss+1) = (1-gamma2)*(NB0m_14d)*(1-(exp(-jdosiss/D02)));
    cond_ImN_inicialm(jdosiss+1) = ImN0m_14d*exp(-jdosiss/D03);
    cond_n3w_inicialm(jdosiss+1) = gamma3*ImN0m_14d*(1-(exp(-jdosiss/D03)));
    cond_n3h_inicialm(jdosiss+1) = (1-gamma3)*(ImN0m_14d)*(1-(exp(-jdosiss/D03)));
end

%radiacion aguda hembras
for jdosiss = 0:1:10
    cond_NB_inicialh(jdosiss+1) = NB0h_14d*exp(-jdosiss/D02);
    cond_n2w_inicialh(jdosiss+1) = gamma2*NB0h_14d*(1-(exp(-jdosiss/D02)));
    cond_n2h_inicialh(jdosiss+1) = (1-gamma2)*(NB0h_14d)*(1-(exp(-jdosiss/D02)));
    cond_ImN_inicialh(jdosiss+1) = ImN0h_14d*exp(-jdosiss/D03);
    cond_n3w_inicialh(jdosiss+1) = gamma3*ImN0h_14d*(1-(exp(-jdosiss/D03)));
end

```



```

cond_n3h_inicialh(jdosiss+1) = (1-gamma3)*(ImN0h_14d)*(1-(exp(-jdosiss/D03)));
end

% Valores de los parámetros de las ecuaciones de la microglía activada y el destino neurogénico
%macho
%constantes de microglía
Am0m = 0.05;
Am1m = 9;
Bmm = -7.5e-6;
Cmm = -1e-5;
lambdam = 0.04;

%constantes de destino neurogénico
Ad0m = -0.051;
Ad1m = 11.5;
Bd0m = -9.6e-3;
Bd1m = 1e-5;
Cdm = 1e-6;
lambdam = 0.054;

%condiciones iniciales
conds_inic_mum = 0.0;
conds_inic_deltam = 1;

%hembra
%constantes de microglía
Am0h = 0.0789;
Am1h = 9;
Bmh = -7.5e-6;
Cmh = -1e-5;
lambdamh = 0.04;

%constantes de destino neurogénico
Ad0h = -0.0693;
Ad1h = 11.5;
Bd0h = -9.6e-3;
Bd1h = 1e-5;
Cdh = 1e-6;
lambdadh = 0.0418;

%condiciones iniciales
conds_inic_muh = 0.0;
conds_inic_deltah = 1;

% Respuesta a largo plazo: parte aguda

tiempo_agudo = 0:1:29; %parte aguda del día 0 al día 29 post-IR

%macho
for jdosiss = 0:1:10
    cinematica_con_radiacionm = @(t,n)
    [(Psiim/(1+(theta_1*n(1)))+(theta_2*(n(4))+(Phi*n(5)))+(Gamma*n(6))))+(theta_3*(n(7))+(Phi*n(8)))+(Gamma*n(9)
    ))) * n(1) - d_1 * n(1) - k_1 * n(1) + alpha_r1 * n(2);
        k_w1 * n(1) - alpha1 * n(2);
        k_h1 * n(4) - nu1 * n(3);
        2 * 0.85 * d_1 * n(1) - d_2 * n(4) - a_2 * n(4) - k_2 * n(4) + alpha_r2 * n(5);
        k_w2 * n(4) - alpha2 * n(5);
        k_h2 * n(4) - nu2 * n(6);
        d_2 * n(4) - a_3 * n(7) - k_3 * n(7) + alpha_r3 * n(8);
        k_w3 * n(7) - alpha3 * n(8);
        k_h3 * n(7) - nu3 * n(9);

```

```

x_b*d_1*n(1) - a_4*n(10)-k4*n(10)+alpha_r4*n(11);
k_w4*n(10)-alpha4*n(11);
k_h4*n(10)-nu4*n(12);
alpha_m2*n(5)+nu2*n(6)+alpha_m3*n(8)+nu3*n(9)-nu5*n(13)];

%solucionador
[tiempo_cinem,xa_cinem_agudm] = ode45(cinematica_con_radiacionm,tiempo_agudo,[NSC0m_14d;0;
0;
cond_NB_inicialm(jdosiss+1);cond_n2w_inicialm(jdosiss+1);cond_n2h_inicialm(jdosiss+1);cond_ImN_inicialm(jdo
sis+1);cond_n3w_inicialm(jdosiss+1);cond_n3h_inicialm(jdosiss+1);GB0m_14d; 0; 0; 0;
]);

%lista de soluciones
condInic_postIR_aguda_n1m(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,1);
condInic_postIR_aguda_n1wm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,2);
condInic_postIR_aguda_n1hm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,3);
condInic_postIR_aguda_n2m(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,4);
condInic_postIR_aguda_n2wm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,5);
condInic_postIR_aguda_n2hm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,6);
condInic_postIR_aguda_n3m(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,7);
condInic_postIR_aguda_n3wm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,8);
condInic_postIR_aguda_n3hm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,9);
condInic_postIR_aguda_n4m(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,10);
condInic_postIR_aguda_n4wm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,11);
condInic_postIR_aguda_n4hm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,12);
condInic_postIR_aguda_n5m(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudm(:,13);

end

%hembra
for jdosiss = 0:1:10
    cinematica_con_radiacionh = @(t,n)
    [(Psih/(1+(theta_1*n(1))+theta_2*(n(4)+(Phi*n(5))+(Gamma*n(6)))))+(theta_3*(n(7)+(Phi*n(8))+(Gamma*n(9)
)))*)n(1)-d_1*n(1)-k1*n(1)+alpha_r1*n(2);
    k_w1*n(1)-alpha1*n(2);
    k_h1*n(4)-nu1*n(3);
    2*0.85*d_1*n(1) - d_2*n(4) - a_2*n(4)-k2*n(4)+alpha_r2*n(5);
    k_w2*n(4)-alpha2*n(5);
    k_h2*n(4)-nu2*n(6);
    d_2*n(4) - a_3h*n(7)-k3*n(7)+alpha_r3*n(8);
    k_w3*n(7)-alpha3*n(8);
    k_h3*n(7)-nu3*n(9);
    x_b*d_1*n(1) - a_4*n(10)-k4*n(10)+alpha_r4*n(11);
    k_w4*n(10)-alpha4*n(11);
    k_h4*n(10)-nu4*n(12);
    alpha_m2*n(5)+nu2*n(6)+alpha_m3*n(8)+nu3*n(9)-nu5*n(13)];

%solucionador
[tiempo_cinem,xa_cinem_agudh] = ode45(cinematica_con_radiacionh,tiempo_agudo,[NSC0h_14d;0 ;
0;
cond_NB_inicialh(jdosiss+1);cond_n2w_inicialh(jdosiss+1);cond_n2h_inicialh(jdosiss+1);cond_ImN_inicialh(jdo
sis+1);cond_n3w_inicialh(jdosiss+1);cond_n3h_inicialh(jdosiss+1);GB0h_14d; 0 ; 0; 0
]);

%lista de soluciones
condInic_postIR_aguda_n1h(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,1);
condInic_postIR_aguda_n1wh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,2);
condInic_postIR_aguda_n1hh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,3);
condInic_postIR_aguda_n2h(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,4);
condInic_postIR_aguda_n2wh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,5);
condInic_postIR_aguda_n2hh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,6);
condInic_postIR_aguda_n3h(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,7);

```

```

condInic_postIR_aguda_n3wh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,8);
condInic_postIR_aguda_n3hh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,9);
condInic_postIR_aguda_n4h(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,10);
condInic_postIR_aguda_n4wh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,11);
condInic_postIR_aguda_n4hh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,12);
condInic_postIR_aguda_n5h(:,jdosiss+1) = xa_cinem_agudh(:,13);

end
% Respuesta a largo plazo: influencia de la microglía

tiempo_RLP = [0:1:730];%730 días viven los ratones (2 años)

%macho
for jdosiss = 0:1:10
    cinematica_con_radiacionm = @(t,n)
    [(Psiim/(1+(theta_1*n(1))+(theta_2*(n(4)+(Phi*n(5)))+(Gamma*n(6)))))+(theta_3*(n(7)+(Phi*n(8)))+(Gamma*n(9))
    ))+(theta_mg_macho*n(14)))*n(1)-d_1*n(1)-k1*n(1)+alpha_r1*n(2);
    k_w1*n(1)-alpha1*n(2);
    k_h1*n(4)-nu1*n(3);
    2*0.85*n(15)*d_1*n(1) - d_2*n(4) - a_2*n(4)-k2*n(4)+alpha_r2*n(5);
    k_w2*n(4)-alpha2*n(5);
    k_h2*n(4)-nu2*n(6);
    d_2*n(4) - a_3*n(7)-k3*n(7)+alpha_r3*n(8);
    k_w3*n(7)-alpha3*n(8);
    k_h3*n(7)-nu3*n(9);
    (x_b+(1-n(15)))*d_1*n(1) - a_4*n(10)-k4*n(10)+alpha_r4*n(11);
    k_w4*n(10)-alpha4*n(11);
    k_h4*n(10)-nu4*n(12);
    alpha_m2*n(5)+nu2*n(6)+alpha_m3*n(8)+nu3*n(9)-nu5*n(13);
    ((Am0m*(jdosiss/(jdosiss+Am1m)))+(Bmm*t)+(Cmm*(t^2)))*exp(-lambdam*t);
    ((Ad0m*(jdosiss/(jdosiss+Ad1m)))+(Bd0m*n(14))+(Bd1m*n(14)*t)+(Cdm*(t*t)))*exp(-lambdad*m*t)];

    %solucionador
    [tiempo_cinem,xa_cinem_rlpm] = ode45(cinematica_con_radiacionm,tiempo_RLP,
    [condInic_postIR_aguda_n1m(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n1wm(30,jdosiss+1);
    condInic_postIR_aguda_n1hm(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n2m(30,jdosiss+1);
    condInic_postIR_aguda_n2wm(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n2hm(30,jdosiss+1);
    condInic_postIR_aguda_n3m(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n3wm(30,jdosiss+1);
    condInic_postIR_aguda_n3hm(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n4m(30,jdosiss+1);
    condInic_postIR_aguda_n4wm(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n4hm(30,jdosiss+1);
    condInic_postIR_aguda_n5m(30,jdosiss+1); conds_inic_mum; 1]);

    %lista de soluciones
    sol_RLP_NSCm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_rlpm(2:end,1);
    sol_RLP_NBm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_rlpm(2:end,4);
    sol_RLP_ImNm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_rlpm(2:end,7);
    sol_RLP_GBm(:,jdosiss+1) = xa_cinem_rlpm(2:end,10);

end

%hembra
for jdosiss = 0:1:10
    cinematica_con_radiacionh = @(t,n)
    [(Psih/(1+(theta_1*n(1))+(theta_2*(n(4)+(Phi*n(5)))+(Gamma*n(6)))))+(theta_3*(n(7)+(Phi*n(8)))+(Gamma*n(9))
    ))+(theta_mg_hembra*n(14)))*n(1)-d_1*n(1)-k1*n(1)+alpha_r1*n(2);
    k_w1*n(1)-alpha1*n(2);
    k_h1*n(4)-nu1*n(3);
    2*0.85*n(15)*d_1*n(1) - d_2*n(4) - a_2*n(4)-k2*n(4)+alpha_r2*n(5);
    k_w2*n(4)-alpha2*n(5);
    k_h2*n(4)-nu2*n(6);
    d_2*n(4) - a_3h*n(7)-k3*n(7)+alpha_r3*n(8);

```

```

k_w3*n(7)-alpha3*n(8);
k_h3*n(7)-nu3*n(9);
(x_b+(1-n(15)))*d_1*n(1) - a_4*n(10)-k4*n(10)+alpha_r4*n(11);
k_w4*n(10)-alpha4*n(11);
k_h4*n(10)-nu4*n(12);
alpha_m2*n(5)+nu2*n(6)+alpha_m3*n(8)+nu3*n(9)-nu5*n(13);
((Am0h*(jdosiss/(jdosiss+Am1h)))+(Bmh*t)+(Cmh*(t^2)))*exp(-lambdamh*t);
((Ad0h*(jdosiss/(jdosiss+Ad1h)))+(Bd0h*n(14))+(Bd1h*n(14)*t)+(Cdh*(t*t)))*exp(-lambdadh*t)];

%solucionador
[tiempo_cinem,xa_cinem_r1ph] = ode45(cinematica_con_radiacionh,tiempo_RLP,
[condInic_postIR_aguda_n1h(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n1wh(30,jdosiss+1);
condInic_postIR_aguda_n1hh(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n2h(30,jdosiss+1);
condInic_postIR_aguda_n2wh(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n2hh(30,jdosiss+1);
condInic_postIR_aguda_n3h(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n3wh(30,jdosiss+1);
condInic_postIR_aguda_n3hh(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n4h(30,jdosiss+1);
condInic_postIR_aguda_n4wh(30,jdosiss+1); condInic_postIR_aguda_n4hh(30,jdosiss+1);
condInic_postIR_aguda_n5h(30,jdosiss+1); conds_inic_muh; 1]);

%lista de soluciones
sol_RLP_NSch(:,jdosiss+1) = xa_cinem_r1ph(2:end,1);
sol_RLP_NBh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_r1ph(2:end,4);
sol_RLP_ImNh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_r1ph(2:end,7);
sol_RLP_GBh(:,jdosiss+1) = xa_cinem_r1ph(2:end,10);
end
% Solución completa (IR aguda +respuesta post-IR a largo plazo)
%macho
for jdosiss = 1:1:11
solC_NSCm(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n1m(:,jdosiss).' sol_RLP_NSCm(:,jdosiss).'];
solC_NBm(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n2m(:,jdosiss).' sol_RLP_NBm(:,jdosiss).'];
solC_ImNm(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n3m(:,jdosiss).' sol_RLP_ImNm(:,jdosiss).'];
solC_GBm(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n4m(:,jdosiss).' sol_RLP_GBm(:,jdosiss).'];
end
%hembra
for jdosiss = 1:1:11
solC_NSch(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n1h(:,jdosiss).' sol_RLP_NSch(:,jdosiss).'];
solC_NBh(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n2h(:,jdosiss).' sol_RLP_NBh(:,jdosiss).'];
solC_ImNh(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n3h(:,jdosiss).' sol_RLP_ImNh(:,jdosiss).'];
solC_GBh(:,jdosiss) = [condInic_postIR_aguda_n4h(:,jdosiss).' sol_RLP_GBh(:,jdosiss).'];
end

%Agregar el valor inicial
%macho
for jdosiss = 1:1:11
solCo_NSCm(:,jdosiss) = [NSC0m_14d.' solC_NSCm(:,jdosiss).'];
solCo_NBm(:,jdosiss) = [NB0m_14d.' solC_NBm(:,jdosiss).'];
solCo_ImNm(:,jdosiss) = [ImN0m_14d.' solC_ImNm(:,jdosiss).'];
solCo_GBm(:,jdosiss) = [GB0m_14d.' solC_GBm(:,jdosiss).'];
end
%hembra
for jdosiss = 1:1:11
solCo_NSch(:,jdosiss) = [NSC0h_14d.' solC_NSch(:,jdosiss).'];
solCo_NBh(:,jdosiss) = [NB0h_14d.' solC_NBh(:,jdosiss).'];
solCo_ImNh(:,jdosiss) = [ImN0h_14d.' solC_ImNh(:,jdosiss).'];
solCo_GBh(:,jdosiss) = [GB0h_14d.' solC_GBh(:,jdosiss).'];
end

% Normalización
%macho
for t =1:1:11
sol_NSCm_norm(:,t) = solCo_NSCm(:,t)/NSC0m_14d;

```

```
sol_NBm_norm(:,t) = solCo_NBm(:,t)/NB0m_14d;  
sol_ImNm_norm(:,t) = solCo_ImNm(:,t)/ImN0m_14d;  
sol_GBm_norm(:,t) = solCo_GBm(:,t)/GB0m_14d;  
end
```

```
%hembra
```

```
for t =1:1:11  
sol_NSCh_norm(:,t) = solCo_NSCh(:,t)/NSC0h_14d;  
sol_NBh_norm(:,t) = solCo_NBh(:,t)/NB0h_14d;  
sol_ImNh_norm(:,t) = solCo_ImNh(:,t)/ImN0h_14d;  
sol_GBh_norm(:,t) = solCo_GBh(:,t)/GB0h_14d;  
end
```