

MODELADO DE LAS DIVERSAS ETAPAS DEL CRECIMIENTO DEL CÁNCER Y DE ALGUNAS TERAPIAS ANTITUMORALES

Por Silvia Adriana Menchón

Presentado ante la Facultad de Matemática, Astronomía y Física como parte de los
requerimientos para la obtención del grado de Doctor en Física de la

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA

Marzo, 2007

©FaMAF - UNC

Director: Carlos A. Condat

Resumen

En esta tesis se presentan dos enfoques diferentes para describir el crecimiento del cáncer: uno a nivel mesoscópico y otro a nivel macroscópico.

En el primero se consideraran reglas a nivel celular, que generan un conjunto de ecuaciones diferenciales parciales no lineales acopladas las cuales se resuelven numéricamente utilizando técnicas computacionales. Dentro de este enfoque estudiamos principalmente la competencia entre subpoblaciones celulares con características diferentes. Inicialmente se considera un tumor homogéneo de crecimiento lento el cual se vuelve heterogéneo por el surgimiento de una nueva subpoblación de características diferentes. Posteriormente se estudia el efecto de la quimioterapia sobre un tumor homogéneo. Los resultados muestran tumores con crecimiento geométrico caracterizado por “anillos” de alta densidad poblacional. Finalmente se analiza la aparición de una subpoblación resistente al tratamiento. Se consideraran dos tipos diferentes de resistencias: intrínseca y adquirida. En ambos casos se pueden obtener tumores heterogéneos no confinados llevando la terapia al fracaso. Desde otro punto de vista, se desarrolla un modelo matemático utilizando propiedades globales y características macroscópicas del crecimiento tumoral. Se formulan un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias las cuales se resuelven analíticamente. Esta formulación es utilizada para estudiar las implicaciones de la aparición de necrosis en esferoides tumorales multicelulares, pudiéndose concluir que la aparición de la necrosis los ayuda a alcanzar tamaños superiores. Finalmente, se proponen algunas ideas para modelar inmunoterapia y angiogénesis.

Abstract

In this thesis two different approaches to describe the cancer growth are presented: a mesoscopic one and a macroscopic one.

In the first approach a consistent set of rules at cellular level are considered. This rules lead to a system of coupled nonlinear partial differential equations which are numerically solved using computational techniques. In this approach the competition among different cellular subpopulations are studied. As a first step a homogeneous tumor of slow growth is considered. This tumor is transformed in a heterogeneous tumor by the emergence of a new subpopulation. Our simulations show that the success of a mutation depends not only on its intrinsic competitive advantages, but also on its location in the tumor mass. In the next step the effects of the chemotherapy on a homogeneous tumor are analyzed. The results show tumors which are characterized by a geometric growth with “rings” of high density. Finally, we analyze the emergence of a resistant population. Two different resistances are considered: intrinsic and acquired. In both cases nonconfined heterogeneous tumors can be obtained.

On the other hand, a mathematical model of ordinary differential equations is formulated using global properties and macroscopic characteristics of the tumor growth. This formulation is used to study the behaviour of a multicellular tumor spheroid with necroses. The results show that the emergence of necroses facilitates the growth of avascular tumors. Finally, some ideas to model immunotherapy and angiogenesis are presented.

a Pablo

“There’s no question that the interface between physics and biology is going to be a major area of investigation. I think that some of the big problems in biology will only be cracked once researchers start to nurture this interface more.”

Geoffrey West, 2001.

INDICE

1	Introducción	13
1.1	El cáncer y su evolución	14
1.2	El cáncer como un sistema complejo	17
I	Enfoque Mesoscópico	21
2	Introducción	23
3	El modelo	29
3.1	Reglas para el crecimiento del cáncer	30
3.2	Ecuaciones que describen el crecimiento del cáncer	32
4	Análisis preliminares y estudios numéricos	35
4.1	Tumores homogéneos	36
4.2	Tumores heterogéneos	38
5	Modelo y experimentos	47
5.1	Buscando parámetros reales	47
5.2	Resultados numéricos	49
6	Quimioterapia	59
6.1	Modelos de quimioterapia y resistencia	61
6.2	Efectos instantáneos	62
6.2.1	Resistencia intrínseca	63
6.2.2	Resistencia adquirida	65
6.3	Interacción droga-tumor	67
6.3.1	Modelo y parámetros	68
6.3.2	Tumor homogéneo	69

6.3.3	Resistencia intrínseca	74
6.3.4	Resistencia adquirida	77

II Enfoque Macroscópico 81

7 Introducción 83

7.1	El modelo de West, Brown y Enquist	84
-----	--	----

8 Esferoides tumorales 87

8.1	Primeras aplicaciones a esferoides	88
-----	--	----

8.2	Necrosis	90
-----	--------------------	----

9 Tumores reales 95

9.1	Angiogénesis	95
-----	------------------------	----

9.2	Inmunoterapia	96
-----	-------------------------	----

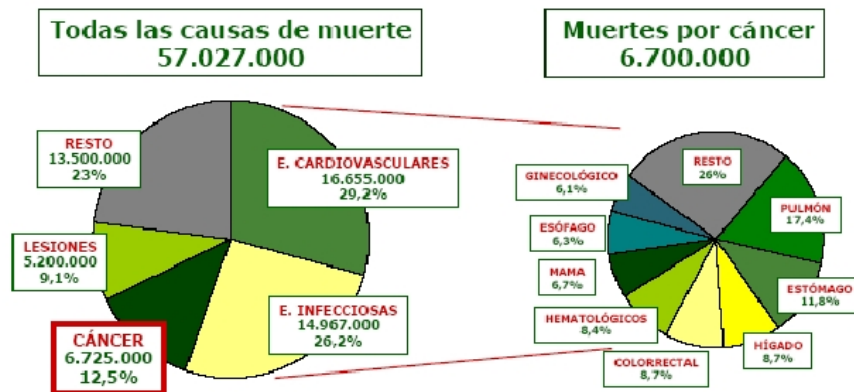
10 Conclusiones 99

CAPITULO 1

Introducción

El *cáncer* es el estado final de un largo y complejo proceso evolutivo originado por una mutación en una única célula que exhibe un crecimiento descontrolado, [ASB01], rompiendo la cooperación que mantiene la integridad de un organismo multicelular [Sol03]. El 75 – 80% de los cánceres se deben a la acción de agentes externos que actúan sobre el organismo, causando alteraciones en las células. Se estima que el tabaco es responsable de al menos el 30% de los tumores, la dieta de otro 30% y los agentes infecciosos (sobre todo en países en desarrollo) del 18% [AEC]. Como estos factores son externos se pueden modificar y reducir la posibilidad de desarrollar la enfermedad. Para ello es necesario llevar una vida saludable que puede alcanzarse con una alimentación balanceada, ejercicio físico, cuidado con el sol, sin tabaco, y con el cumplimiento de normas de seguridad ante sustancias cancerígenas.

Si bien la mayoría de los cánceres se pueden prevenir, esta enfermedad fue la tercer causa de muerte a nivel mundial en 2002 y la segunda en Argentina en 2003. Según indican estadísticas provenientes del Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación las principales causas de muerte en Argentina en el año 2003 fueron relacionadas con enfermedades cardiovasculares (entre ellas infartos y accidentes cerebro-vasculares) causando 95.090 muertos, seguidas por 57.385 casos de muerte producidos por distintos tipos de cáncer. Dentro de esta última causa, los tumores de tráquea, bronquios y pulmón son los más frecuentes seguidos por los tumores malignos de órganos del aparato digestivo [Bar05]. A nivel mundial en el año 2002 murieron aproximadamente 6.700.000 personas por cáncer (3.796.000 hombres y 2.928.000 mujeres), siendo la tercera causa de muerte tras las enfermedades cardiovasculares y las infecciosas; ver figura (1.1). El mayor número de muertes se produjeron en Asia, 50%, pero las mayores tasas de mortalidad se dan en Europa para el sexo masculino, y en Norteamérica, Sureste de África y Norte de Europa para el femenino. Considerando ambos sexos, el cáncer más frecuente es el de pulmón (1.352.000 casos), seguido del de mama (1.151.000), los colorrectales (1.023.000), estómago (933.000), próstata (679.000), hígado (626.000), cuello de útero (494.000) y esófago (462.000). Pero



Fuente: The World Health Report 2002. OMS. (2003)
Elaboración: FCAECC.

FIGURA 1.1: Causas de muerte en el mundo en el año 2002.

hay grandes diferencias entre ambos sexos y entre países más y menos desarrollados, lo cual es un reflejo de los distintos factores de riesgo que predominan en ambas zonas (entre ellos hábitos alimenticios y sexuales e infecciones). Los cánceres más frecuentes en el sexo femenino son los de mama, cuello de útero, colorrectales y pulmón. En el masculino los de pulmón, próstata, estómago y colorrectales [Fig. (1.2)]. El número de casos mundiales diagnosticados aumenta lentamente, debido a dos motivos fundamentales: el aumento de la población mundial y la elevación de la esperanza de vida. Pero no se puede infravalorar un aumento real por mayor exposición a factores de riesgo. En países en vías de desarrollo son más frecuentes los tumores más letales (pulmón, estómago, esófago e hígado), y como los tratamientos son más precarios tienen un menor porcentaje de supervivencia. Los cánceres con peor pronóstico (en todos los países) con menos del 20% de supervivencia a los 5 años, son los de pulmón, esófago, estómago e hígado. Los cánceres con mejor pronóstico (en países desarrollados), con más del 70% de supervivencia a los 5 años, son los de próstata, mama y cuello de útero¹. Quizás estas estadísticas alarmantes sean la causa de que la palabra *cáncer* sea una de las más utilizadas y una de las que más asusta cuando se habla de salud. Si bien muchos de los cánceres se pueden prevenir, el ritmo de vida actual, cargado de stress y con hábitos poco saludables, atenta contra esta posibilidad. El único recurso que nos queda, para revertir la situación, es estudiar los orígenes, formación y evolución del cáncer como así también la forma de combatirlo.

1.1 El cáncer y su evolución

Después de un cuarto de siglo de rápidos avances, la investigación en *cáncer* ha generado una gran cantidad de conocimientos que revelan al cáncer como una enfermedad

¹Los datos estadísticos mundiales fueron obtenidos del informe *El Cáncer en el Mundo* realizado por la *Fundación Científica de la Asociación Española Contra el Cáncer* [AEC]

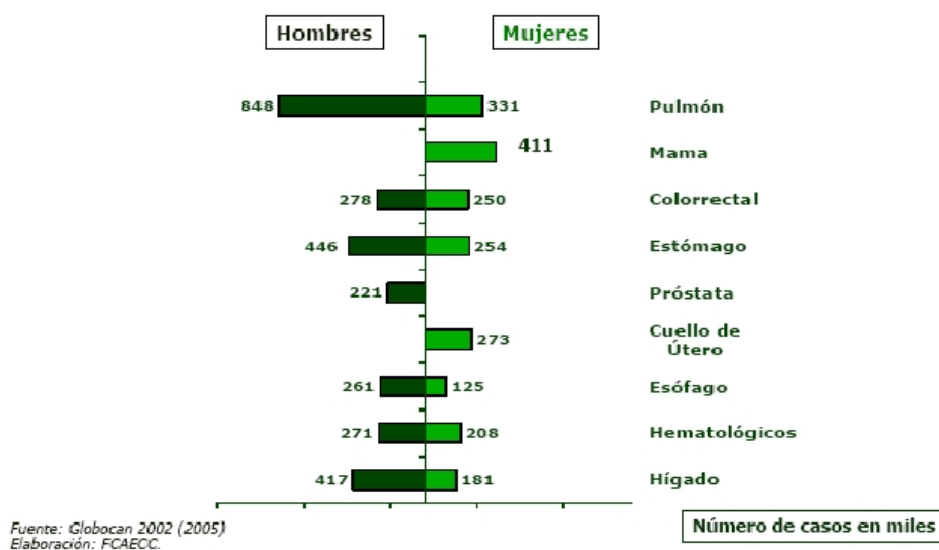


FIGURA 1.2: Número estimado de muertos por los principales cánceres en el mundo. Año 2002.

que involucra cambios dinámicos en el genoma. La mayoría de los cánceres se originan desde una única célula por medio de un proceso secuencial evolutivo de múltiples pasos que reflejan alteraciones genéticas que conducen a una transformación progresiva de células humanas normales en derivados altamente malignos. Este proceso se denomina *evolución clonal* [Now76, HW00]. Los genomas de las células cancerosas están invariablemente alterados en múltiples sitios, habiendo sufrido modificaciones por lesiones debido a mutaciones puntuales, las cuales proveen, a las células cancerosas, de ventajas selectivas. El desarrollo tumoral es un proceso formalmente análogo a la evolución *Darwiniana*, en el cual los fenotipos, o resultados físicos, adquiridos por estas mutaciones incluyen ventajas proliferativas, invasivas y migratorias, pérdida de diferenciación² y pérdida de apoptosis³ [KSGYK04] (ver figura (1.3)). La evolución del tumor sigue los principios *Darwinianos* que indican la prevalencia de los *clones mutados* con rasgos favorables para su supervivencia [SD04].

Hanahan y Weinberg [HW00] sostienen que la vasta cantidad de genotipos de células cancerosas son una manifestación de seis alteraciones esenciales en la fisiología de las células que colectivamente dictaminan un crecimiento maligno: la auto-suficiencia de señales de crecimiento, insensibilidad a las señales inhibitoras de crecimiento, evasión de la muerte celular programada, potencial replicativo ilimitado, sostenido por angiogénesis⁴, invasión de tejido y metástasis.

²La *diferenciación celular* es un concepto de la *biología del desarrollo* que hace referencia al proceso por el cual las células adquieren distintas características morfológicas o funcionales.

³El término *Apoptosis* es utilizado para hacer referencia a un conjunto de órdenes bioquímicos y a cambios físicos en una célula durante una específica forma de muerte celular programada que involucra un “desmantelamiento” sistemático de la célula.

⁴La *angiogénesis* es un proceso fisiológico en el cual el sistema vascular se desarrolla formando nuevos vasos sanguíneos, a partir de los vasos preexistentes.

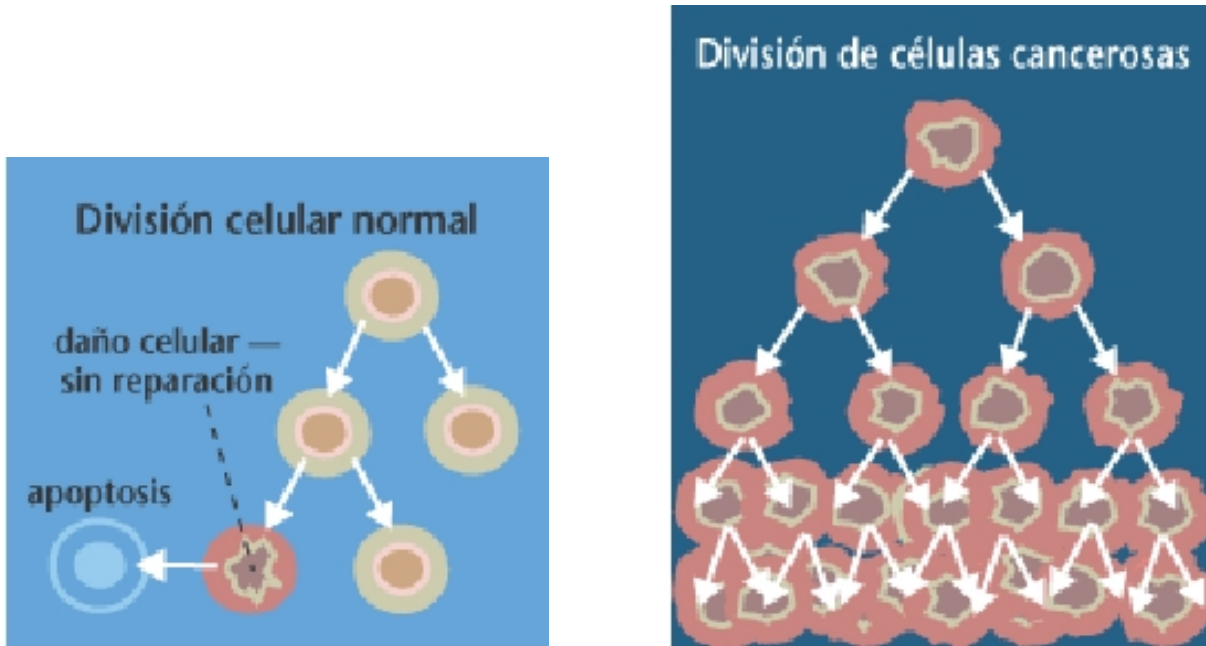


FIGURA 1.3: Cuando las células normales tienen un daño irreparable son eliminadas por apoptosis. Las células cancerosas evitan la apoptosis y continúan multiplicándose de manera descontrolada. Imagen obtenida de *Wikipedia*.

La proliferación celular está regida por un proceso ordenado y cíclico denominado *ciclo celular*, que para las células eucariotas consta de cuatro fases: una en la que aumenta la actividad biosintética llamada fase *G1*; la fase *S* que empieza cuando se inicia la síntesis de ADN y acaba cuando el contenido de ADN del núcleo se ha duplicado; la fase *G2* que dura hasta que empieza la mitosis en la fase *M*, y la fase *M* en donde ocurre la división del núcleo y del citoplasma de la célula, completando el ciclo reproductivo y dando origen a una nueva célula. Las células que no proliferan se denominan *quiescentes*, y “salen” del ciclo celular entrando en una fase llamada *G0* [Nas96]. Las células normales requieren señales extracelulares de crecimiento mitogénico para salir de un estado quiescente y reactivar el ciclo celular, es decir para volverse nuevamente proliferativas. Existen también señales anticrecimiento que pueden bloquear la proliferación y forzar la salida del ciclo celular para ingresar en la fase *G0*. Después de la fase *S*, las células normales generan proteínas, por ejemplo p53, que inducen a la apoptosis en caso de encontrar daño en el ADN replicado. Las células cancerosas no requieren señales extracelulares para iniciar el ciclo celular y evaden las señales antiproliferativas [HW00]. También es común que las células cancerosas no generen las proteínas necesarias para detectar daños en el ADN, evadiendo la apoptosis.

Luego, como las células cancerosas se caracterizan por acumular mutaciones graduales en los genes que están relacionados con el control de la proliferación y de la muerte celular, el crecimiento de las células cancerosas está limitado, esencialmente, por la disponibilidad de nutrientes en el medio y no por la regulación de crecimiento y diferenciación como ocurre con las células sanas. Las células cancerosas se replican, migran y mueren, compi-

tiendo por el oxígeno y los nutrientes disponibles. Las células cancerosas se reproducen gestando una sociedad celular, a la cual llamamos *tumor*. El tumor está sometido a presiones externas causadas por la respuesta inflamatoria [BAS⁺03]. Estos efectos de presión, a partir de un momento dado, inhiben la proliferación celular dentro del tumor cuando la densidad celular aumenta, haciendo que no queden disponibles espacios para las nuevas células. Esta inhibición también se da por la insuficiencia de nutrientes que llegan desde la periferia, causada por el aumento del radio del tumor. Pero en el contorno del tumor no ocurre lo mismo, pues allí hay espacio disponible y afluencia de nutrientes. A las células cancerosas que están vivas y no se reproducen también se las denomina quiescentes. Cuando la cantidad de nutrientes en el interior del tumor disminuye de manera significativa, las células cancerosas mueren, convirtiéndose en células *necróticas*. Estas células se ubican en el centro del tumor formando el denominado *núcleo necrótico*. La conducta celular es modificada por señales moleculares como así también por señales debidas a fuentes ambientales, dando como resultado procesos organizados, como por ejemplo la angiogénesis. Inicialmente, el tumor toma los nutrientes del medio que le llegan por difusión. Sin embargo cuando el tumor comienza a crecer la difusión no es suficiente para mantener el continuo crecimiento tumoral, debido a que los nutrientes ingresan al tumor con una tasa proporcional a su superficie, mientras este consume con una tasa proporcional a su volumen. Ante esta deficiencia nutricional el tumor puede entrar en un período de *latencia* en el cual detiene su crecimiento o libera agentes químicos que se difunden en el tejido y activan la angiogénesis induciendo a los vasos sanguíneos cercanos a crecer hacia él. Finalmente, la red de capilares penetra en el tumor suministrándole todos los nutrientes necesarios para su crecimiento. En esta etapa decimos que el tumor está *vascularizado*, mientras que cuando el tumor se nutre sólo por difusión hablamos de un tumor *avascular* (ver figura (1.4)). Las células cancerosas también pueden invadir el tejido normal que las rodea. El proceso de invasión involucra la adherencia de las células tumorales en el tejido sano que las rodea causando la degradación de las componentes del mismo [CS99]. Las células cancerosas pueden penetrar la pared de los vasos sanguíneos y dejarse transportar hacia nuevas regiones del cuerpo, en donde comienzan a generar un nuevo tumor. Este proceso recibe el nombre de *metástasis* (ver figura (1.4)). Otro factor que hay que tener en cuenta es que la inestabilidad genética de las células cancerosas, sumada a condiciones selectivas en el entorno tumoral, dan como resultado una alta prevalencia de mutaciones en tumores, generando de esta manera tumores compuestos por células que no son genéticamente idénticas y por lo tanto pueden actuar de distintas maneras ante la presencia del mismo agente químico, lo cual lleva a una indeterminación de la estrategia terapéutica a seguir [LKV98].

1.2 El cáncer como un sistema complejo

En un *sistema complejo* la interacción entre las partes o subsistemas da como resultado una conducta global que no podría ser anticipada desde el comportamiento de las componentes aisladas. El comportamiento global del sistema depende de la naturaleza de las interacciones como así también de las características de las partes que lo componen y

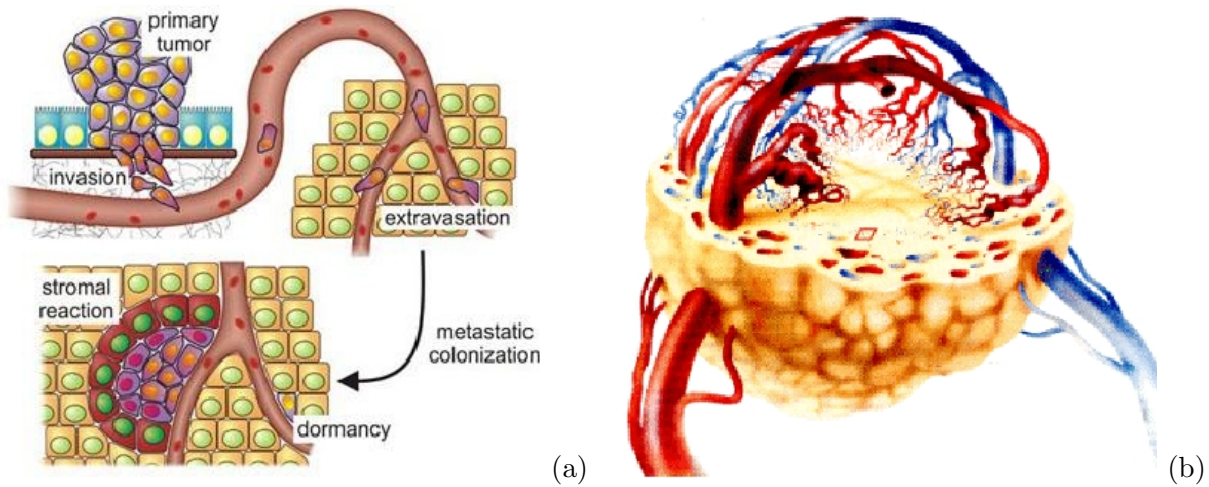


FIGURA 1.4: (a)Pasos importantes en el desarrollo de la metástasis [NCI]. (b)Tumor vascularizado

se ve modificado cuando estas interacciones cambian. Tales sistemas son inherentemente *no lineales*, exhibiendo jerarquías o transiciones irreversibles entre estados alternativos. Estos sistemas son frecuentemente caracterizados por leyes de “*escala*”, pudiendo exhibir *auto-organización*.

El cáncer es un ejemplo de sistema complejo compuesto por una sociedad de miembros individuales: las células. Cada una de ellas se reproduce de una manera cooperativa y organizada siguiendo un conjunto de “reglas” y respondiendo a las interacciones locales con otras células, ya sean cancerosas o normales. Desde este punto de vista podemos estudiar la evolución del cáncer desarrollando modelos matemáticos computacionales que incorporen propiedades realistas del sistema biológico tales como estocasticidad y no linealidad. Estos modelos nos ayudarán a identificar parámetros críticos o temas que requieran mayor desarrollo teórico y experimental [GM03].

Diferentes tipos de enfoques y escalas pueden ser utilizados para analizar la complejidad del cáncer [MC05]. Por ejemplo, podríamos considerar:

1. un enfoque *macroscópico* en donde analicemos al tumor como una única entidad, cuya conducta pueda ser predicha en términos de pocos parámetros característicos tales como el tamaño, forma, agresividad y heterogeneidad y consideremos la interacción del tumor como un todo con el ambiente.
2. una descripción *microscópica*, identificando propiedades celulares individuales y tratando de predecir la evolución del tumor directamente a partir de esas características y de la interacción célula-célula.

Este último enfoque tiene algunos inconvenientes: el crecimiento del cáncer es un fenómeno colectivo cuya complejidad no puede surgir de una simple composición mecánica de las propiedades de una célula y de las interacciones entre dos células. Por otro lado, el número de células tumorales que hay en 1cm^3 es, típicamente, del orden de 10^8 células, lo cual hace inmanejable cualquier simulación que considere de manera individual cada célula,

excepto, tal vez, en los estados tempranos del crecimiento tumoral. Estas dificultades del enfoque microscópico y las limitaciones obvias de su contraparte macroscópica sugieren la conveniencia de introducir un tercer camino que considere la conducta de clusters celulares y sus interacciones. Este enfoque *mesoscópico* nos permite simular el crecimiento de un tumor por medio de la introducción de parámetros efectivos.

La característica no-lineal de los sistemas complejos hace que el modelado computacional y los conceptos de la teoría de sistemas dinámicos tengan el protagonismo principal en su estudio, requiriendo una gran interacción entre investigaciones teóricas y experimentales.

Este trabajo está dividido en dos partes; en cada una de ellas abordamos un enfoque diferente para el modelado del crecimiento tumoral. En la primera desarrollaremos un modelo mesoscópico y en la segunda un modelo macroscópico. Como la naturaleza de estos modelos es intrínsecamente diferente, podremos modelar distintos escenarios con cada uno de ellos. Además de describir el crecimiento tumoral, estudiaremos cómo éste se modifica por el efecto de la acción quimio e inmunoterapéutica.

PARTE I

Enfoque Mesoscópico

Diversos modelos matemáticos de crecimiento tumoral se han desarrollado desde el siglo pasado, utilizándose, la mayoría de ellos, para describir de manera cualitativa los estados tempranos (prevasculares) de crecimiento y estabilidad del tejido tumoral, bajo numerosas hipótesis y simplificaciones. En este capítulo daremos un breve resumen de la historia del modelado en tumores.

Modelos clásicos

En 1825 Gompertz [Gom25] encontró empíricamente que la distribución $P(\tau)$ de la edad humana τ , para una dada comunidad, está dada por:

$$P(\tau) = p \exp(-\exp(a - b\tau)) = pA^{B\tau}$$

con constantes a , p y b . Más de cien años después, Wright [Wri26] y Winsor [Win32] demostraron que la ley empírica de Gompertz describía perfectamente el crecimiento en tamaño de los organismos con la edad τ . Debido a los éxitos obtenidos por numerosos autores al ajustar datos de crecimiento de organismos y animales, esta expresión es conocida como la “*ley de crecimiento de Gompertz*”. En 1934 Casey [Cas34] ajustó, con el modelo de Gompertz, datos de crecimiento tumoral. Este ejemplo fue seguido por varios autores obteniendo todos ellos resultados altamente exitosos. Por otro lado, en 1838 Verhulst propuso el modelo logístico (caracterizado por la ecuación $y' = k_+y - k_-y^2$, donde y representa el tamaño de la población y k_+ y k_- son constantes) como descripción del crecimiento poblacional [Ver38]. En 1945 Rashevsky [Ras45] arribó al modelo logístico estudiando el crecimiento tumoral. El propuso las siguientes hipótesis:

1. La multiplicación de cada célula está determinada por un factor g
2. Cada célula ejerce un efecto inhibitor, caracterizado por un factor j , sobre el resto de las células.

De esta manera si n es la cantidad de células $\frac{dn}{dt} = n(ag - bj(n - 1))$ donde a y b son constantes de proporcionalidad. El modelo logístico ha sido utilizado para ajustar numerosos datos de crecimiento tumoral y en modelos para la optimización de la quimioterapia [Swa90], obteniéndose en ambos casos buenos logros. Sin embargo, estudiando las comparaciones con datos experimentales, puede argumentarse que el modelo de Gompertz describe más adecuadamente el crecimiento tumoral que el logístico [BVP90].

Modelos contemporáneos

En 1965 Burton presentó el primer modelo en el que el crecimiento de un tumor, de simetría esférica, estaba determinado por la difusión molecular, poniendo como límite la disponibilidad de oxígeno [Bur65]. Este modelo brindó expresiones analíticas simples para los radios del tumor y de su núcleo necrótico. Pocos años después, Glass [Gla73] modeló el crecimiento de un tejido con la introducción de un inhibidor de crecimiento. El modelo de Glass provee un tamaño límite para el crecimiento estable de un tejido, sin describir la evolución temporal del mismo previo al estado límite. Él resolvió la ecuación de difusión unidimensional en términos de parámetros biológicos que describen el sistema. Shymko y Glass [SG76], basados en estas ideas, extendieron el modelo anterior a tres dimensiones. Greenspan [Gre76] desarrolló modelos detallados en los cuales consideró los efectos de inhibidores de crecimiento y la distribución espacial de nutrientes, los que se difunden por el tejido. En un principio estos modelos fueron unidimensionales pero más tarde se generalizaron a tres dimensiones, considerándose un tumor de simetría esférica. La ecuación diferencial que gobierna la dinámica del radio externo del tumor (o de su longitud, en una dimensión) es derivada y resuelta sujeta a una apropiada relación entre la concentración del nutriente, del inhibidor y del radio interno (por ejemplo el radio del núcleo necrótico). Más recientemente Chaplain *et. al.* [CBM94] utilizaron difusión no lineal, mostrando que se llega a resultados similares a los obtenidos suponiendo la existencia de un término de fuente no lineal. Varios modelos sofisticados, que incluyen procesos relevantes al crecimiento tumoral, se han desarrollado en las últimas décadas. Smolle y Stettner [SS93] mostraron que la conducta macroscópica de un tumor puede ser afectada por la presencia de factores de crecimiento a nivel microscópico utilizando un modelo de crecimiento estocástico para simular la invasión por células tumorales, investigando la acción de factores que afectan la movilidad, división y muerte de las células cancerosas. Este modelo fue luego generalizado, permitiéndose la difusión de factores de crecimiento [FJMV98]. Una limitación de este modelo es que al morir una célula cancerosa, su lugar es ocupado por una célula normal, impidiendo, de esta manera, la aparición de un núcleo necrótico. En 1999 Scalerandi y co-autores [SRP⁺99] desarrollaron un modelo en el que el crecimiento del cáncer es determinado por la competición por nutrientes. Este modelo se implementa representando un pedazo de tejido por una grilla cuadrada, donde a cada nodo se le asigna una cierta cantidad de células. Al comienzo, se tiene una distribución estacionaria de células sanas en la cual se coloca una “semilla” de células cancerosas. Los nutrientes vitales acceden a la red por la simulación de uno o más vasos sanguíneos colocados en la grilla. En base a este modelo, el mismo grupo de trabajo [PRSP00] encontró cuatro posibles resultados para el tumor simulado, dependiendo de los valores de dos parámetros importantes: la razón a la cual el nutriente es suministrado por los vasos

sanguíneos, y la eficiencia de las células cancerosas para captarlos. Ciertos valores de estos parámetros producen consecuencias nefastas; por ejemplo: que el tumor se expanda rápidamente, destruyendo un órgano, o que las células cancerosas entren en los vasos sanguíneos, creando condiciones propicias para el desarrollo de metástasis. Para otros valores de estos parámetros el tumor detiene su crecimiento o desaparece por completo; este caso se da por la muerte de las células cancerosas debida a la falta de comida. Luego, cerca de ciertos valores críticos, pequeños cambios pueden alterar totalmente la evolución del cáncer. Un procedimiento diferente fue utilizado por Kansal y colaboradores, en el año 2000 [KTH⁺00]. Estos autores desarrollaron un modelo de autómatas celulares [PW85] para el crecimiento de un tumor cerebral proliferativo (glioblastoma multiforme). Este modelo asocia a un grupo de células un punto de una red de Voronoi. Se supone la existencia de cuatro tipos de células diferentes: células sanas y células tumorales proliferativas, no proliferativas y necróticas. La conducta de cada célula es controlada por un algoritmo de crecimiento proliferativo. Este algoritmo puede sintetizarse de la siguiente manera: un pequeño tumor, formado por células proliferativas, es colocado en el centro de la red. A cada paso temporal:

1. Las células sanas y necróticas son consideradas inertes.
2. Las células no proliferativas son células cancerosas que no se reproducen por falta de nutrientes. La región ocupada por estas células es un cascarón esférico de espesor $\delta_n = aR_t^{2/3}$ que envuelve el núcleo necrótico, R_t el radio externo medio del tumor al tiempo t y a es un parámetro.
3. Las células proliferativas se dividen con una probabilidad $p_d = p_0(1 - r/R_{\max})$ con R_{\max} el máximo radio externo que el tumor puede alcanzar debido a efectos de presión. La región ocupada por estas células es un cascarón esférico de espesor δ_p que envuelve a la ocupada por las células no proliferativas donde $\delta_p = bR_t^{2/3}$ con b un parámetro.

El modelo considera que si una célula antes de dividirse no encuentra espacio, se torna no proliferativa y que una celda que está ocupada sólo por células sanas se considera vacía. Este modelo es bastante esquemático y en él no se consideran factores “ambientales”, tales como vasos sanguíneos. Es uno de los primeros modelos que utiliza un autómata celular para describir el desarrollo del cáncer y que permite la reproducción de células internas (los modelos anteriores, en general, permiten la reproducción de una célula sólo si un punto de red vecino está libre).

Por otro lado Brú y colaboradores [BPF⁺98, BAS⁺03] afirman que los tumores que crecen *in vitro* tienen conductas completamente compatibles con la dinámica de crecimiento universal MBE (Molecular Beam Epitaxy), y consideran que hay evidencia biológica y clínica abundante y suficiente para sugerir que también los tumores *in vivo*, independientemente de la línea celular, siguen esta dinámica de crecimiento, la cual está siempre gobernada por procesos de difusión celular sobre la superficie del tumor. Más recientemente han aparecido modelos que consideran explícitamente la interacción célula-célula [Rej05]. A fines de 2005 Jiang y colaboradores [JPGCF05] presentaron un modelo, basado en el modelo

de Potts y en el modelo de Monte Carlo para redes discretas, para describir la dinámica de crecimiento de un tumor avascular considerando adhesión intercelular y promotores e inhibidores de crecimiento.

Modelado de subpoblaciones

El estudio de múltiples poblaciones en el contexto del crecimiento tumoral tiene numerosas facetas interesantes. Más notablemente, las células dentro del núcleo sólido del tumor son esencialmente inmóviles, luego si una subpoblación clonal emerge, en cercanías de esta región, podrá ser localizada espacialmente. Esta localización limita las interacciones competitivas entre diferentes subpoblaciones. Otro aspecto interesante en la competición de subpoblaciones dentro de un tumor es la relativa similitud de las mismas. Pequeñas fluctuaciones en la conducta de estas subpoblaciones a tiempos cortos son de importancia crítica para el crecimiento a tiempos largos. La naturaleza altamente localizada de la competencia entre células requiere de un modelo en el cual la topología del tumor sea especificada.

Michelson y colaboradores en el 1987 [MMGL87] presentaron un conjunto de modelos en los que se representa la dinámica de crecimiento de dos poblaciones de células cancerosas que compiten por los recursos nutricionales, siguiendo el mismo estilo Gyori *et. al.* en 1988 [GML88], y Michelson y Slate en 1989 [MS89]. Estos modelos están basados en la dinámica de crecimiento de las subpoblaciones y consideran la conducta de dos clones uniformemente distribuidos que obedecen un crecimiento del tipo logístico. Posteriormente, Michelson [MITL89] incluyó un término de ruido blanco, introduciendo así fluctuaciones aleatorias. Se ha demostrado que la heterogeneidad clonal dentro de un tumor tiene efectos muy pronunciados sobre la eficiencia del tratamiento [Sch86, HM89]. Más dramáticamente, la existencia de una subpoblación relativamente pequeña pero fuertemente resistente a las drogas puede tener una gran influencia sobre la respuesta del tumor a los tratamientos [YSS82, Pan98]. Por ejemplo, Tracqui et al [TCW⁺95] encontraron que el impacto de la quimioterapia en un tumor cerebral puede no ser el esperado según los modelos que no postulan la existencia de una segunda subpoblación fuertemente resistente. Tales observaciones han sido estudiadas por diferentes autores para comprender el impacto de las poblaciones en la quimioterapia [CG85, BRG⁺87, Pan98]. Estos modelos se formalizaron a través de sistemas de ecuaciones diferenciales ordinarias acopladas y evalúan el tamaño de cada población en el tiempo. Por ejemplo, Panetta, consideró dos poblaciones, una conformada por células sensibles, x , y otra por células resistentes y , y utilizó el siguiente conjunto de ecuaciones:

$$\begin{aligned}\frac{dx}{dt} &= [r_1 - d_1(t)]x \\ \frac{dy}{dt} &= b_1 d_1(t)x + [r_2 - d_2(t)]y\end{aligned}$$

En estas ecuaciones, r_1 y r_2 son las tasas de crecimiento de x e y , respectivamente, d_1 y d_2 miden la sensibilidad de las poblaciones a las drogas y b_1 está relacionado con la porción de células que adquieren resistencia. En la sección (6.3.1) describiremos algunos modelos más recientes aplicados a la quimioterapia.

En esta parte de la tesis formularemos nuestro modelo mesoscópico, el cual es una extensión del presentado en [SRP⁺99], analizaremos el crecimiento de un tumor avascular y como éste es afectado por la aplicación de quimioterapia y por la aparición de una nueva subpoblación con ventajas selectivas.

CAPITULO 3

El modelo

Los organismos contienen docenas de órganos compuestos de tejidos que contienen decenas de billones de células; a su vez, cada célula contiene estructuras cuyas escalas varían desde los angstroms hasta algunos micrones. Debido a esta diferencia, la descripción de la célula, en términos de las dinámicas moleculares individuales de sus componentes, es una tarea muy compleja. Sin embargo, el tejido tiene una escala mesoscópica natural: la célula. Cada célula individual tiene sus propias características y responde de una cierta manera a los agentes externos que la rodean. Una célula no tiene sentido de su posición en el tejido, sino que sólo responde a las señales y estímulos provenientes de su entorno local. Nuestro modelo biofísico considera un tejido por el cual se distribuyen alimentos y que está compuesto por un conjunto de células de diferentes características, diferenciadas como células sanas, cancerosas y muertas o necróticas. Cada grupo de células puede responder de manera diferente ante el mismo entorno. La evolución de las poblaciones celulares está regida por un conjunto de reglas basadas en interacciones locales, es decir, la posición de las células como así también su cantidad varían en función de las otras células y nutrientes presentes en el entorno local. Una de las características más significativas de las células cancerosas es la falta de control en su proliferación, debido a que son incapaces de manejar adecuadamente sus mensajeros químicos para iniciar y detener la reproducción y/o porque sus genes han sufrido alguna alteración que induce a las células a superar el número de veces que deben reproducirse [Vil92]. Por tales motivos el crecimiento, la muerte y la difusión de las células cancerosas están regulados por la disponibilidad de nutriente en el medio [PSDC99]. Son numerosos los nutrientes necesarios para el crecimiento, entre ellos se encuentran algunos aminoácidos, glucosa, hierro, zinc, oxígeno. El oxígeno y el hierro son nutrientes esenciales porque intervienen en la respiración y en la síntesis de ADN respectivamente.

Consideraremos un pedazo de tejido de forma arbitraria, que puede representar, por ejemplo, una porción de algún órgano. Este trozo de tejido es discretizado utilizando una red cuadrada o cúbica, con constante Δ , donde cada punto nodal representa un elemento

de volumen que contiene algunas células y moléculas de nutrientes. Como las expresiones de las ecuaciones diferenciales son muy complejas y el modelo será implementado por medio de un algoritmo computacional, escribiremos las ecuaciones directamente en su forma discretizada, tanto en el espacio como en el tiempo.

Supondremos que inicialmente el tejido está compuesto sólo por células sanas que se encuentran distribuidas uniformemente. Consideraremos que hay M tipos de nutrientes que provienen de los vasos sanguíneos, a los cuales llamaremos nutrientes libres y cuyas concentraciones denominaremos como p_k con $k = 1, 2, \dots, M$. Estos nutrientes se difunden por el tejido con un coeficiente de difusión efectivo α_k y son consumidos por las células sanas, de concentración h , con tasa de absorción γ_k , (los valores de α_k y γ_k son los valores promedios del coeficiente de difusión y de la tasa de absorción, respectivamente, tomados en un intervalo de tiempo τ). Las concentraciones de nutrientes satisfacen, para cada punto nodal \vec{i} , las siguientes ecuaciones de reacción-difusión:

$$p_k(\vec{i}, t + \tau) = p_k(\vec{i}, t) + \tau \left\{ \sum_{\vec{i}'} \frac{\alpha_k}{\Delta^2} (p_k(\vec{i}', t) - p_k(\vec{i}, t)) - \gamma_k p_k(\vec{i}, t) h(\vec{i}, t) + S_k(\vec{i}, t) \right\}. \quad (3.1)$$

El primer termino dentro del paréntesis corresponde a la difusión de nutriente desde y hacia los primeros vecinos de \vec{i} , el segundo término corresponde a la absorción de nutriente libre por la población de células sanas y el último término representa la fuente de nutriente. En el siguiente capítulo detallaremos las condiciones de contorno utilizadas.

3.1 Reglas para el crecimiento del cáncer

Las reglas de crecimiento serán formuladas suponiendo la convivencia de N especies diferentes de células cancerosas y una única especie de células sanas.

Al igual que en el trabajo de Scalerandi *et al.* [SRP⁺99] suponemos que la población total por nodo se conserva. En cada nodo pueden coexistir células sanas, $h(\vec{i})$, células cancerosas vivas de la especie l , $c^l(\vec{i})$, y células cancerosas muertas de la especie l , $d^l(\vec{i})$, donde $l = 1, 2, \dots, N$. Como consideramos la población total por nodo normalizada, luego:

$$h(\vec{i}) + \sum_{l=1}^N (c^l(\vec{i}) + d^l(\vec{i})) = 1 \quad (3.2)$$

se debe cumplir a todo tiempo.

El conjunto de reglas que gobiernan la conducta de las células cancerosas son enumeradas y descriptas a continuación.

1. *Obtención de alimentos*

El nutriente libre k es transformado en nutriente ligado, q_k^l , por las células cancerosas de la especie l . La tasa de absorción, $\tilde{\gamma}_k^l$, depende de la disponibilidad del nutriente libre: para valores pequeños del mismo debe ser proporcional a $p_k(\vec{i})$, mientras que para valores grandes del nutriente libre, (alta disponibilidad), la tasa

de absorción debe alcanzar un valor de saturación que llamaremos $\tilde{\gamma}_{as,k}^l$. Por tales motivos proponemos como tasa de absorción la siguiente función de $p_k(\vec{i})$

$$\tilde{\gamma}_k^l(\vec{i}) = \tilde{\gamma}_{as,k}^l(1 - \exp(-\Gamma p_k(\vec{i}))), \quad (3.3)$$

donde Γ es un coeficiente de afinidad. Otras funciones con iguales características podrían ser utilizadas para definir $\tilde{\gamma}_k^l$; por ejemplo, otra alternativa es la función que resulta de la ecuación cinética de Michaelis y Menten:

$$\frac{\Gamma \tilde{\gamma}_{as,k}^l p_k(\vec{i})}{1 + \Gamma p_k(\vec{i})}. \quad (3.4)$$

Las ecuaciones (3.3) y (3.4) dan los mismos valores para la tasa de absorción en los límites de pequeñas y grandes concentraciones.

2. *Consumición*

El nutriente ligado k es consumido por las células cancerosas de la especie l , con una tasa:

$$\tilde{\beta}_k^l(\vec{i}) = \tilde{\beta}_{as,k}^l(1 - \exp(-\Gamma' q_k^l(\vec{i})/c^l(\vec{i}))), \quad (3.5)$$

donde Γ' es un parámetro de afinidad. La forma funcional de la tasa de consumición es similar a la correspondiente para la tasa de absorción. Las células sólo pueden consumir el nutriente ligado por ellas. Como $q_k^l(\vec{i})$ representa el total de nutriente k ligado por las células cancerosas de la especie l que habitan el nodo \vec{i} , a cada célula le corresponde, en promedio, $q_k^l(\vec{i})/c^l(\vec{i})$ de nutriente ligado k .

3. *Muerte*

La escasez de nutriente ligado impide la realización de algunas funciones celulares vitales, dando como resultado la muerte celular. Si la cantidad media de nutriente ligado k por célula cancerosa de la especie l , en el nodo \vec{i} , está por debajo del umbral de muerte¹, $Q_{D,k}^l$, un número de células cancerosas igual a $r_{D,k}^l c^l(\vec{i})$ muere. Hay muchas opciones para escoger $r_{D,k}^l$, podría elegirse, por ejemplo, como un número aleatorio con una cierta distribución de probabilidad o como una función de $c^l(\vec{i})$ o de $q_k^l(\vec{i})/c^l(\vec{i})$. Estas opciones introducen una operación adicional que incrementa el tiempo de realización de una simulación. Elegimos $r_{D,k}^l$ como un número fijo menor que uno, lo que es una opción más simple y no produce un cambio significativo en el concepto del modelo.

4. *Mitosis*

La disponibilidad de cantidades suficientemente grandes de nutriente ligado k da lugar a la división de células cancerosas. Consideramos que las células sanas son menos móviles y agresivas que las células cancerosas y que tienen menor capacidad de supervivencia. Luego, como se debe conservar la población total por nodo supondremos que son fácilmente eliminadas por las células cancerosas, por lo tanto

¹Definimos umbral de muerte como la mínima cantidad requerida de nutriente ligado k para mantener activas las funciones vitales de una célula.

el número de células que se crean debe ser menor que la cantidad de células sanas en dicho nodo. Si la cantidad media de nutriente ligado k por célula cancerosa de la especie l , en el nodo \vec{i} , $q_k^l(\vec{i})/c^l(\vec{i})$, está por encima del umbral de mitosis², $Q_{M,k}^l$, se genera un número de células cancerosas, de la especie l , igual a $r_{M,k}^l c^l(\vec{i})$ si $r_{M,k}^l c^l(\vec{i}) < h(\vec{i})$, o, en caso contrario, se generan $h(\vec{i})$ células cancerosas. Al igual que $r_{D,k}^l$, $r_{M,k}^l$ es un número fijo menor que uno, pero podría elegirse aleatorio.

5. *Migración*

Las células cancerosas poseen sensores que les indican la disponibilidad de nutriente libre en el medio. Si hay poco nutriente libre, las células cancerosas migran en busca de mejores condiciones ambientales. En nuestro modelo diremos que: si $p_k(\vec{i})/\sum_{l=1}^N c^l(\vec{i}) < P_{D,k}^l$, las células cancerosas de la especie l migrarán, con coeficiente de migración $\tilde{\alpha}$, a los nodos vecinos. Aquí $P_{D,k}^l$ es la cantidad mínima de nutriente libre k por célula cancerosa, en la cercanía de la misma, para la cual no hay migración celular. Como se debe conservar la población total por nodo, para permitir el desplazamiento de las células cancerosas, en el nodo destino debe haber células sanas, las cuales son eliminadas por las células cancerosas cuando estas llegan al nodo. Las células cancerosas migran llevando consigo sus nutrientes ligados.

3.2 Ecuaciones que describen el crecimiento del cáncer

Las reglas antes descriptas generan un conjunto de ecuaciones no lineales acopladas para las poblaciones celulares y para las concentraciones de nutrientes. A cada paso temporal debemos verificar si estamos por debajo o por encima de los umbrales definidos y variar, correspondientemente, las poblaciones celulares y las concentraciones de nutrientes.

Como primer paso consideraremos las variaciones en las poblaciones celulares ocasionadas por mitosis o muerte celular. Las modificaciones producidas por estos eventos pueden ser escritas de la siguiente manera:

$$c^l(\vec{i}, t) \longrightarrow c^l(\vec{i}, t) - \sum_{k=1}^M r_{D,k}^l c^l(\vec{i}, t) \Theta[Q_{D,k}^l c^l(\vec{i}, t) - q_k^l(\vec{i}, t)] + f_k(\vec{i}, t) \Theta[q_k^l(\vec{i}, t) - c^l(\vec{i}, t) Q_{M,k}^l]. \quad (3.6)$$

Aquí Θ es la función escalón de Heaviside y

$$f_k(\vec{i}, t) = r_{M,k}^l c^l(\vec{i}, t) \Theta[h(\vec{i}, t) - r_{M,k}^l c^l(\vec{i}, t)] + h(\vec{i}, t) \Theta[r_{M,k}^l c^l(\vec{i}, t) - h(\vec{i}, t)] \quad (3.7)$$

El segundo y el tercer término del lado derecho de (3.6) representan, respectivamente, las modificaciones introducidas en las poblaciones de células cancerosas por muerte y por

²Definimos umbral de mitosis como la cantidad mínima de nutriente ligado k necesaria para concluir el ciclo de reproducción celular

mitosis. La correspondiente ecuación para las células muertas es

$$d^l(\vec{i}, t) \longrightarrow d^l(\vec{i}, t) + \sum_{k=1}^M r_{D,k}^l c^l(\vec{i}, t) \Theta[h(\vec{i}, t) - r_{M,k}^l c^l(\vec{i}, t)] \quad (3.8)$$

Como la población total por nodo se conserva, debemos recalculer el número de células sanas, luego:

$$h(\vec{i}, t) = 1 - \sum_{l=1}^N (c^l(\vec{i}, t) + d^l(\vec{i}, t)). \quad (3.9)$$

Después de estas transformaciones debemos considerar los cambios ocasionados por difusión celular y las modificaciones en las concentraciones de nutrientes. La población de células cancerosas también cambia en un nodo debido a la migración desde y hacia los nodos vecinos más cercanos. La migración se supone proporcional a la población de células sanas del nodo destino. Si se cumple $p_k(\vec{i}', t) / \sum_{l=1}^N c^l(\vec{i}', t) < P_{D,k}^l$, para algún k , las células cancerosas de la especie l se mueven desde el nodo \vec{i}' al nodo \vec{i} con tasa $h(\vec{i}, t) \tilde{\alpha}^l c^l(\vec{i}', t)$ y cada célula lleva una fracción $q_k^l(\vec{i}', t) / c^l(\vec{i}', t)$ de cada nutriente ligado k . Luego, la ecuación de migración para las células cancerosas de la especie l es:

$$c^l(\vec{i}, t + \tau) = c^l(\vec{i}, t) + \frac{\tau}{\Delta^2} \left\{ h(\vec{i}, t) \sum_{\vec{i}'} \tilde{\alpha}_1^l(\vec{i}', t) c^l(\vec{i}', t) - \tilde{\alpha}_1^l(\vec{i}, t) c^l(\vec{i}, t) \sum_{\vec{i}'} h(\vec{i}', t) \right\}, \quad (3.10)$$

donde $\tilde{\alpha}_1^l(\vec{i}, t) = \tilde{\alpha}^l \prod_{k=1}^M \Theta[p_k(\vec{i}, t) - \sum_{l=1}^N c^l(\vec{i}, t) P_{D,k}^l]$ y τ es el paso de discretización temporal. Como las células muertas no migran, sus concentraciones no varían y $d^l(\vec{i}, t + \tau) = d^l(\vec{i}, t)$. Nuevamente la concentración de células sanas se calcula por conservación, luego

$$h(\vec{i}, t + \tau) = 1 - \sum_{l=1}^N (c^l(\vec{i}, t + \tau) + d^l(\vec{i}, t + \tau)).$$

Las concentraciones de nutrientes también varían en el tiempo siguiendo las reglas antes descritas. Para un tejido completamente sano el nutriente libre evoluciona según la ecuación (3.1). Para un tejido compuesto de células sanas y cancerosas esta ecuación se modifica a la siguiente:

$$p_k(\vec{i}, t + \tau) = p_k(\vec{i}, t) + \tau \left\{ \frac{\alpha_k}{\Delta^2} \sum_{\vec{i}'} [p_k(\vec{i}', t) - p_k(\vec{i}, t)] - \gamma_k p_k(\vec{i}, t) h(\vec{i}, t) - \tilde{\gamma}_k^l(\vec{i}, t) c^l(\vec{i}, t) + S_k(\vec{i}, t) \right\}. \quad (3.11)$$

en donde agregamos el término correspondiente a la obtención de alimentos por parte de las células cancerosas. La concentración del nutriente ligado responde a la siguiente

ecuación

$$q_k^l(\vec{i}, t + \tau) = q_k^l(\vec{i}, t) + \tau \left\{ \tilde{\gamma}_k^l(\vec{i}, t) c^l(\vec{i}, t) - \tilde{\beta}_k^l(\vec{i}, t) c^l(\vec{i}, t) + \frac{h(\vec{i}, t)}{\Delta^2} \sum_{\vec{j}} \tilde{\alpha}_1^l(\vec{j}, t) q_k^l(\vec{j}, t) - \frac{\tilde{\alpha}_1^l(\vec{i}, t)}{\Delta^2} q_k^l(\vec{i}, t) \sum_{\vec{j}} h(\vec{j}, t) \right\}. \quad (3.12)$$

El término proporcional a $\tilde{\beta}_k$ representa la consumición de los nutrientes ligados y los dos últimos términos están relacionados con el nutriente que es transportado por migración celular.

Las reglas del modelo para la dinámica celular tienen en cuenta que tanto la migración celular como la reproducción de las células cancerosas se incrementan cerca del borde del tumor. En las regiones donde hay una alta densidad poblacional de células cancerosas y una baja concentración de nutrientes, la división celular se inhibe a partir de un tiempo que depende de la capacidad de almacenamiento de nutrientes que posea la célula cancerosa y la muerte celular se incrementa. Este modelo describe la formación de un núcleo necrótico como así también la formación de capas formadas por células necróticas, quiescentes y proliferativas. Otra característica del modelo es que la movilidad de las células cancerosas no sólo depende del parámetro $\tilde{\alpha}^l$, pues indirectamente también está relacionada con los parámetros $\tilde{\gamma}_{as,k}^l$ y $\tilde{\beta}_{as,k}^l$. Esto es así debido a que, mientras más grande sea el parámetro $\tilde{\gamma}_{as,k}^l$, más rápidamente se consumirá el nutriente libre provocando la migración. De igual manera, si $\tilde{\beta}_{as,k}^l$ es pequeño con respecto a $\tilde{\gamma}_{as,k}^l$ las células cancerosas disponen de un alto contenido de nutrientes ligados, favoreciéndose la reproducción, lo que lleva a que haya una mayor población de células que ligan nutrientes; luego el valor de p_k disminuye en la región dando como resultado la migración celular. El desarrollo del tumor, por medio de este modelo, respeta los mecanismos biológicos conocidos porque es el resultado de la dinámica local y el crecimiento celular y las células compiten por el espacio y los recursos alimenticios con las células vecinas.

El análisis de los efectos que producen las variaciones de los parámetros relevantes es el primer paso para testear la validez del modelo, el cual debe ser capaz de predecir una gran variedad de tasas de crecimiento y de morfologías. El tiempo en el cual un órgano afectado muere o el tiempo en el que puede darse la metástasis son algunos de los datos importantes para el diagnóstico clínico que pueden ser predichos por el modelo.

Análisis preliminares y estudios numéricos

Inicialmente estuvimos motivados por el artículo de Scalerandi y colaboradores [SRP⁺99]. Incentivados a seguir con el procedimiento propuesto en ese artículo, extendimos el mismo modelo, (el cual describimos en el capítulo (3)), para estudiar el crecimiento de un tumor heterogéneo. Nos dimos cuenta de que una red de 100×100 era demasiado chica para una descripción detallada de dos especies en competición. En ese momento optamos por ampliar la grilla y comenzamos a utilizar una red 500×500 . Esta ampliación generó un aumento en el tiempo computacional y en el gasto de memoria. Para hacer frente a este problema mejoramos el código, originalmente en lenguaje *C* [Men01], estudiando las mejoras y ventajas de *C++* [Hek92]. Con una programación orientada a objetos pudimos fraccionar y optimizar el código, lo que nos permitió utilizar una red del tamaño deseado. También introdujimos una variante en la representación de la migración celular, para disminuir el tiempo empleado en las simulaciones. En [SRP⁺99] las células cancerosas verifican el umbral P_D a cada paso temporal; en nuestra implementación este umbral se revisa cada 20 pasos temporales. No hay cambios efectivos en los resultados, (salvo, claro está, en el tiempo computacional), aunque, para un mismo valor numérico, nuestro coeficiente de migración será, efectivamente unas 20 veces mayor que el empleado en [SRP⁺99].

Al igual que Scalerandi trabajaremos con una única fuente de nutriente, la cual está representada por un vaso sanguíneo que transporta el nutriente libre que luego se difunde por la muestra de tejido. Este vaso se encuentra a lo largo del borde inferior de nuestra red donde la concentración de nutriente libre permanece constante para todo tiempo t , luego $p((i; 0), t) = P_0$ (hemos eliminado el subíndice debido a que consideramos la presencia de sólo un nutriente libre). Tanto en el lado derecho como en el izquierdo utilizamos condiciones de contorno periódicas y consideramos que el borde superior es absorbente. Inicialmente no consideramos células cancerosas presentes en la red, es decir, tenemos un tejido formado solamente por células sanas. Una nueva complicación surge al elegir la distribución inicial de nutrientes, $p(\vec{i}, 0)$. En [SRP⁺99] se propone utilizar, como

distribución inicial, aquella que sea estacionaria en ausencia de células malignas. Para determinarla se busca la solución de la ecuación diferencial:

$$\frac{\partial p(y, t)}{\partial t} = \alpha \frac{\partial^2 p(y, t)}{\partial y^2} - \gamma p(y, t), \quad (4.1)$$

siendo $y = \Delta j$ y $p((i; 0), t) = P_0$. En estado estacionario la solución es

$$p(y) = P_0 \exp(-Dy), \quad (4.2)$$

donde $D = \sqrt{\gamma/\alpha}$. De allí Scalerandi y colaboradores proponen como solución discreta $p((i; j), 0) = P_0 \exp(-j\Delta D)$. Esta será la distribución que utilizaremos en este capítulo, pero debemos aclarar que no es la solución estacionaria para una red finita con las condiciones de contorno elegidas. Debemos destacar que, en tanto el tumor no se aproxime al borde superior, los resultados obtenidos con condiciones de contorno absorbentes, en este borde, son similares. Nuestra elección y la de [SRP⁺99] corresponden a una distribución de nutrientes no estacionaria, cuya concentración disminuye con el correr del tiempo debido a la presencia del borde superior absorbente. Este tipo de distribución nos permitirá obtener tumores de crecimiento lento que ingresan en períodos latentes. Con una amplia disponibilidad de nutrientes, no se pueden obtener tumores de estas características sin la presencia de inhibidores. Recordemos que estamos interesados en tumores heterogéneos por las complicaciones que estos producen en la efectividad de la quimioterapia, la cual, generalmente, es aplicada a tumores en crecimiento.

Con el fin de verificar el funcionamiento de los programas y de comprender cabalmente la influencia de los diversos parámetros en la evolución tumoral, comenzamos nuestro trabajo de simulación estudiando el desarrollo de un tumor formado por una sola especie cancerosa. A este tipo de tumor lo llamamos “homogéneo”.

4.1 Tumores homogéneos

Fijadas las condiciones iniciales comenzamos la simulación numérica introduciendo, en el centro de la red, una semilla de cáncer con su correspondiente nutriente ligado. Como las células cancerosas pueden migrar, debemos definir las condiciones de contorno para las concentraciones celulares y por ende para el nutriente ligado. Estas son las mismas condiciones de contorno que las definidas para la concentración de nutriente libre, salvo por la condición de borde en el lado inferior de la red. Como suponemos que se encuentra presente un vaso, las células cancerosas que ingresan en él son transportadas por el torrente sanguíneo. Luego la condición de contorno para la concentración celular en este borde es absorbente.

Utilizando parámetros muy similares a los de [SRP⁺99], comenzamos a realizar diferentes simulaciones estudiando los resultados que presentaban una gran variedad de tasas de crecimiento y diferentes morfologías. La morfología tumoral depende de la capacidad de migración celular como así también de los coeficientes $\tilde{\gamma}_{as}$ y $\tilde{\beta}_{as}$. Cuando se favorece altamente la migración de las células cancerosas, el tumor adquiere un crecimiento simétrico con forma de disco y con estructura de capas, es decir, desarrolla un núcleo necrótico el

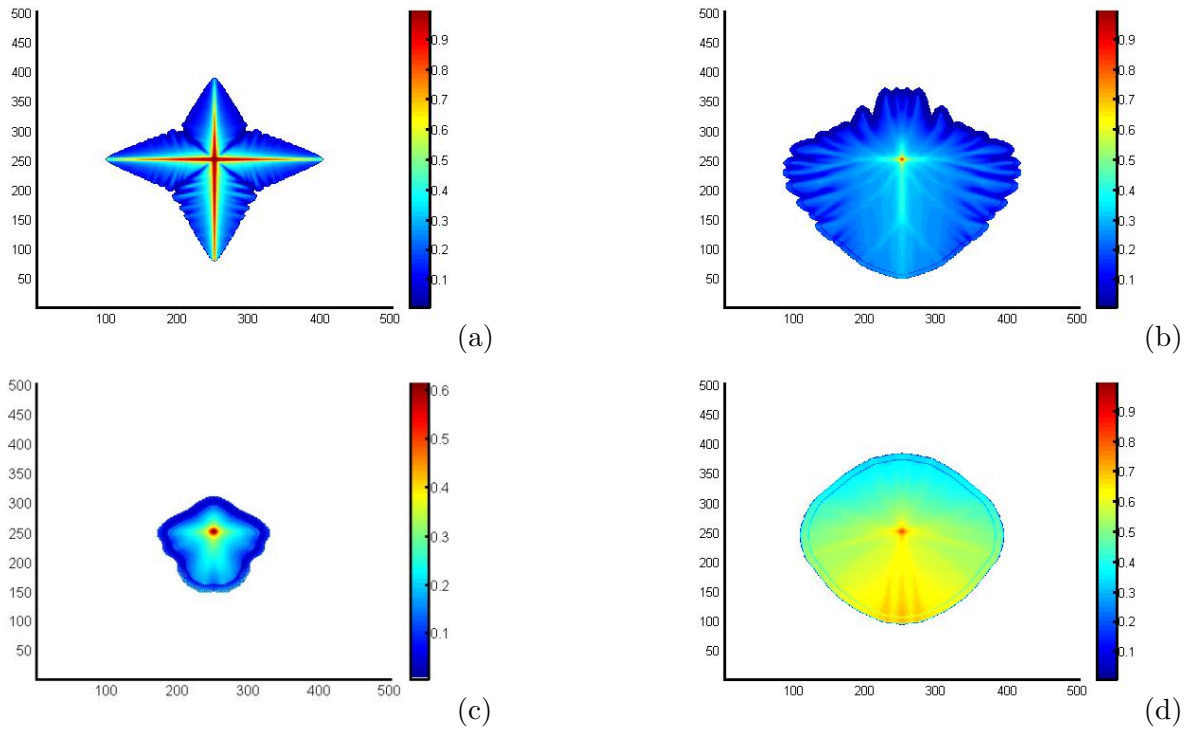


FIGURA 4.1: **Parámetros diferentes generan morfologías diferentes.** (a): $\tilde{\alpha} = 0.1$, $\tilde{\gamma}_{as} = 0.44$, $\tilde{\beta}_{as} = 0.027$, (b): $\tilde{\alpha} = 1$, $\tilde{\gamma}_{as} = 0.44$, $\tilde{\beta}_{as} = 0.09$, (c): $\tilde{\alpha} = 3$, $\tilde{\gamma}_{as} = 0.22$, $\tilde{\beta}_{as} = 0.07$, (d): $\tilde{\alpha} = 3$, $\tilde{\gamma}_{as} = 0.44$, $\tilde{\beta}_{as} = 0.07$

cual se encuentra totalmente encapsulado por células quiescentes que a su vez se encuentran rodeadas por las células cancerosas proliferativas. Si los parámetros varían de tal manera que la migración celular se disminuye, los tumores comienzan a cambiar de forma haciendo su superficie más rugosa. Para células cancerosas con muy baja movilidad la estructura de la red se vuelve altamente evidente ver figura (4.1a). En la figura (4.2)

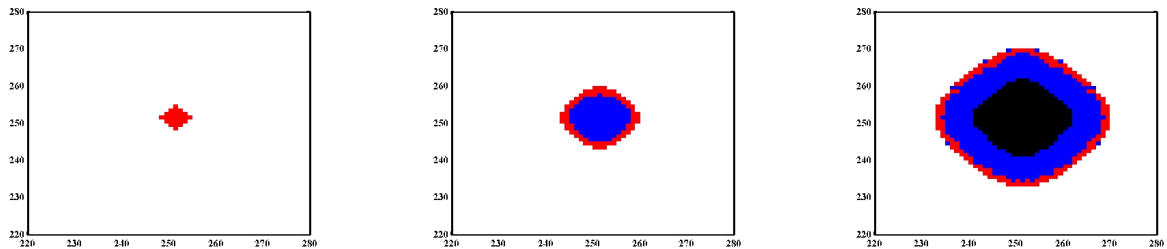


FIGURA 4.2: **Diferentes etapas de crecimiento.** El color rojo representa las células proliferativas, el azul las células quiescentes y el negro las células necróticas.

se observan diferentes etapas de crecimiento: una inicial en donde todo el tumor está formado por células proliferativas, una segunda etapa en donde aparecen las células quiescentes (células que dejan de ser proliferativas debido a la disminución de nutrientes en

el medio) y una etapa final en donde la depresión en la concentración de nutrientes dentro del tumor se hace tan grande que produce la muerte celular, apareciendo así las células necróticas. Al comienzo del desarrollo tumoral las células se encuentran con una gran cantidad de nutrientes a su disposición por lo que la proliferación celular es la característica más importante de esta etapa. Al ser tan elevada la tasa de reproducción, el crecimiento sigue una ley exponencial. En el gráfico (4.3) podemos ver que con nuestro modelo, el tumor tiene, inicialmente, un crecimiento exponencial.

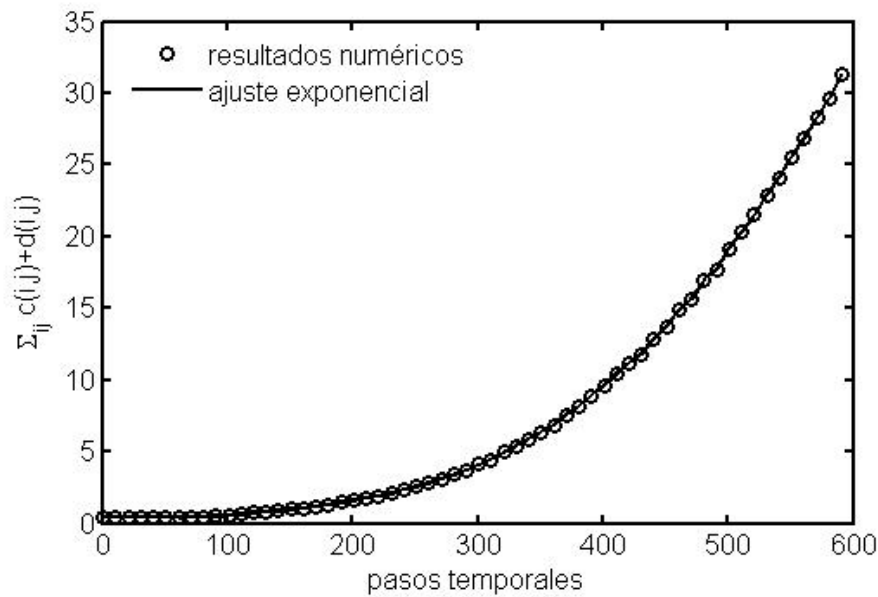


FIGURA 4.3: **Ajuste Exponencial.** Resultados numéricos para $\tilde{\alpha} = 1$, $\tilde{\gamma}_{as} = 0.44$, $\tilde{\beta}_{as} = 0.09$. Ajuste exponencial con función $y = a + b \exp(x - c)/d$, donde $a = -1$, $b = 0,31$, $c = -107,4$ y $d = 147$

4.2 Tumores heterogéneos

Alentados por tan buenos resultados, nos embarcamos en el tema de nuestro interés: estudiar el crecimiento de tumores heterogéneos, los cuales son de gran importancia para el estudio de la llamada *resistencia adquirida*. Cuando a un paciente se le diagnostica cáncer y se le aplica quimioterapia las células tumorales pueden *mutar*, desarrollando una nueva subpoblación resistente a la droga aplicada. Ante esta situación se dice que el tumor, ahora heterogéneo, ha adquirido resistencia a la droga del tratamiento. El estudio de la resistencia adquirida es muy importante por las complicaciones que acarrea en el dictado del diagnóstico y en la decisión de cómo proseguir el tratamiento. Como un primer paso podemos pensar que este problema es equivalente a uno en el cual el tumor homogéneo se encuentra en estado latente o en crecimiento lento y luego comienza a desarrollarse un tumor heterogéneo al darse una mutación que, eventualmente, puede hacer que este

tenga un régimen de crecimiento ilimitado. Para hacer este análisis es conveniente tener un diagrama de fases en donde la curva de transición de fases indique el cambio entre la fase de estado latente y la fase de crecimiento ilimitado.

Como dijimos previamente los parámetros $\tilde{\gamma}_{as}$; $\tilde{\beta}_{as}$ y $\tilde{\alpha}$ están altamente relacionados con la migración, la reproducción y la consumición celular. A partir de numerosas simulaciones, podemos decir que las mutaciones más peligrosas son aquellas representadas por una variación en el parámetro $\tilde{\gamma}_{as}$, que está relacionado con un incremento en el número de canales de absorción de las células. Notemos que biológicamente no puede haber una marcada disminución en el valor de $\tilde{\beta}_{as}$, debido a que las células necesitan un mínimo de consumición para seguir con todas sus funciones vitales activas; sí podría haber variaciones en la movilidad celular, pero si no hubiera una deficiencia local marcada de nutrientes las células no tendrían la necesidad de migrar para explorar nuevas regiones y la nueva subpoblación tendría una cierta ventaja pero no sacaría provecho de ella.

Entonces, como las mutaciones que analizaremos estarán representadas por cambios en el parámetro $\tilde{\gamma}_{as}$ lo natural es realizar el diagrama de fases en el espacio $\tilde{\alpha} - \tilde{\beta}_{as}$ para diferentes valores de $\tilde{\gamma}_{as}$. En la figura (4.4) mostramos este diagrama de fases, correspondiendo

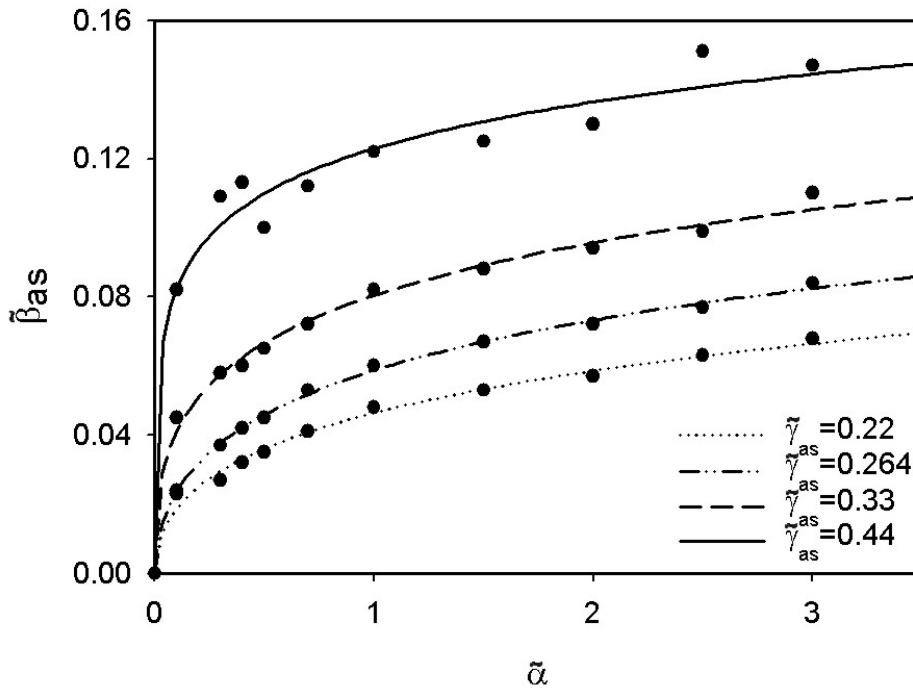


FIGURA 4.4: **Diagrama de fases.** Para cada valor de $\tilde{\gamma}_{as}$, la región sobre la curva corresponde a un estado asintótico de latencia.

los puntos con los resultados simulacionales obtenidos por el método de bisección [Zac96]. Los dos últimos puntos de la curva correspondiente a $\tilde{\gamma}_{as} = 0.44$ son menos confiables debido a que comienzan a hacerse presentes efectos de borde. Las líneas corresponden al ajuste efectuado para cada conjunto de puntos; todos están ajustados por la misma

función $y = a + b \exp((\ln(x/c)/d)^2)$. Esta función se eligió por ser la función monótona creciente que mejor ajustaba a los cuatro conjuntos de puntos. Para cada curva, la región que se encuentra debajo de ella corresponde a los parámetros que generan un tumor que alcanzará un régimen de crecimiento ilimitado, mientras que la región que se encuentra por encima corresponde a los parámetros que desarrollan un tumor que alcanzará un estado de crecimiento latente. La curva punteada corresponde a $\tilde{\gamma}_{as} = 0.22$, las restantes son incrementos del 20%, 50% y 100% de este valor.

Supongamos que nuestro tumor original tiene $\tilde{\gamma}_{as} = 0.22$ y supongamos que al cabo de un tiempo se produce una mutación en la que se origina una nueva especie con los mismos parámetros salvo que se incrementa el valor de $\tilde{\gamma}_{as}$ en un 50%. Dependiendo de los restantes parámetros estaremos en la región verde, amarilla o roja del gráfico (4.5). Si

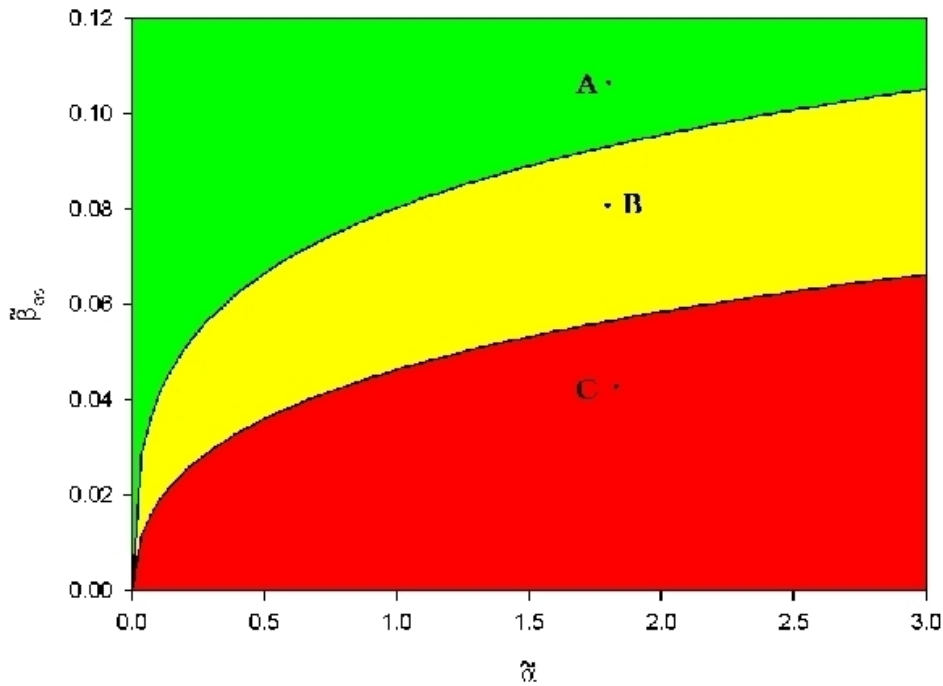


FIGURA 4.5: **Diagrama de fases.** La región verde corresponde a tumores heterogéneos formados por dos especies que alcanzan un estado asintótico de latencia. La región roja corresponde a tumores heterogéneos formados por dos especies con crecimiento ilimitado. La región amarilla corresponde a tumores heterogéneos formados por dos especies: una que alcanza latencia y otra que, si supera la competencia, crecerá ilimitadamente.

bien a la segunda subpoblación no le corresponde el mismo diagrama de fases porque no tiene las mismas condiciones iniciales de crecimiento, nuestro diagrama, constituido en base a la evolución de tumores homogéneos, nos ayudará a hacer un análisis cualitativo de la situación. Si estamos en la región verde ambas especies alcanzarán el estado latente y no habría grandes riesgos para el paciente. Si estamos en la región roja ambas especies tienen un régimen de crecimiento ilimitado; no nos concentraremos en este caso pues

no se corresponde con un análogo a resistencia adquirida. Finalmente si estamos en la región amarilla las células de un tumor con crecimiento lento o en estado latente mutan, dando origen a una nueva subpoblación cuyos parámetros caracterizan a un tumor que alcanzará un régimen de crecimiento ilimitado. Que el tumor heterogéneo salga o no del estado latente dependerá de la competencia entre las especies en la zona de mutación, de la ubicación de la misma y de la distancia entre el punto que caracteriza los parámetros de la especie original en el diagrama de fases y las curvas de transición de fases.

Una característica importante de los tumores con alto grado de malignidad es que están compuestos por más de una línea clonal o subpoblación. Cada una de estas subpoblaciones o *subespecies* está caracterizada por propiedades específicas, tales como la tasa de reproducción o el nivel de susceptibilidad al tratamiento. La dinámica de crecimiento del tumor heterogéneo está determinada por las conductas relativas de cada subpoblación. En general el tumor heterogéneo tiene un origen monoclonal hasta que un conjunto de mutaciones prevalecen generando nuevas subpoblaciones [Now76]. El surgimiento de una nueva subpoblación no implica la permanencia de la misma dado que su continuidad depende de la capacidad para competir con la población dominante en la región de mutación. El tumor está conformado por células proliferativas, quiescentes y necróticas y las proliferativas se encuentran en su borde exterior. Las mutaciones son producidas por alteraciones genéticas o epigenéticas que se producen en la división celular; como las únicas células cancerosas que se dividen son las proliferativas, las mutaciones ocurrirán en los bordes exteriores del tumor siendo más probables en aquellas regiones en donde la tasa de reproducción sea más elevada. Las diferencias en las tasas de división pueden darse, por ejemplo, por variaciones en la disponibilidad de nutrientes.

Teniendo en cuenta estos aspectos, comenzaremos a simular, utilizando el modelo antes descrito junto con las condiciones iniciales y de contorno establecidas en este capítulo, un tumor homogéneo con ciertas características definidas y compuesto enteramente por una población clonal hasta alcanzar un tiempo predeterminado, al que llamaremos t_m , en el cual células cancerosas pertenecientes a un nodo de la periferia del tumor cambian una característica específica (parámetro) y generan una nueva línea clonal o subespecie. Según nuestro análisis previo ya explicado en el capítulo anterior y debido a la importancia de la resistencia adquirida, enfocaremos nuestra atención en el siguiente caso particular: el tumor original se encontrará en estado latente o creciendo lentamente y la mutación será representada por un aumento en el parámetro $\tilde{\gamma}_{as}$.

En nuestras simulaciones tomaremos $t_m = 20000$ pasos temporales. En la figura (4.6) podemos observar el tumor original a tiempo t_m como así también la evolución de varios tumores heterogéneos caracterizados por la misma variación en el parámetro $\tilde{\gamma}_{as}$ pero con diferentes regiones de mutación. En esta figura las mutaciones ocurren en los siguientes pares ordenados: para (b) en (259; 188); para (c) en (303; 263); para (d) en (250; 231); para (e) en (325; 291); para (f) en (266; 333) y están caracterizadas por mantener los mismos parámetros que la especie original salvo $\tilde{\gamma}_{as}^2$ que toma el valor $2 \times \tilde{\gamma}_{as}^1$. Hemos elegido a la nueva especie con ventajas competitivas sobre la especie original; sin embargo, si aquella surge en un ambiente hostil y se encuentra rodeada de células correspondientes a la especie primigenia, no siempre prevalecerá. Las ventajas competitivas y las diferentes características de crecimiento se hacen visibles en la morfología del tumor heterogéneo por

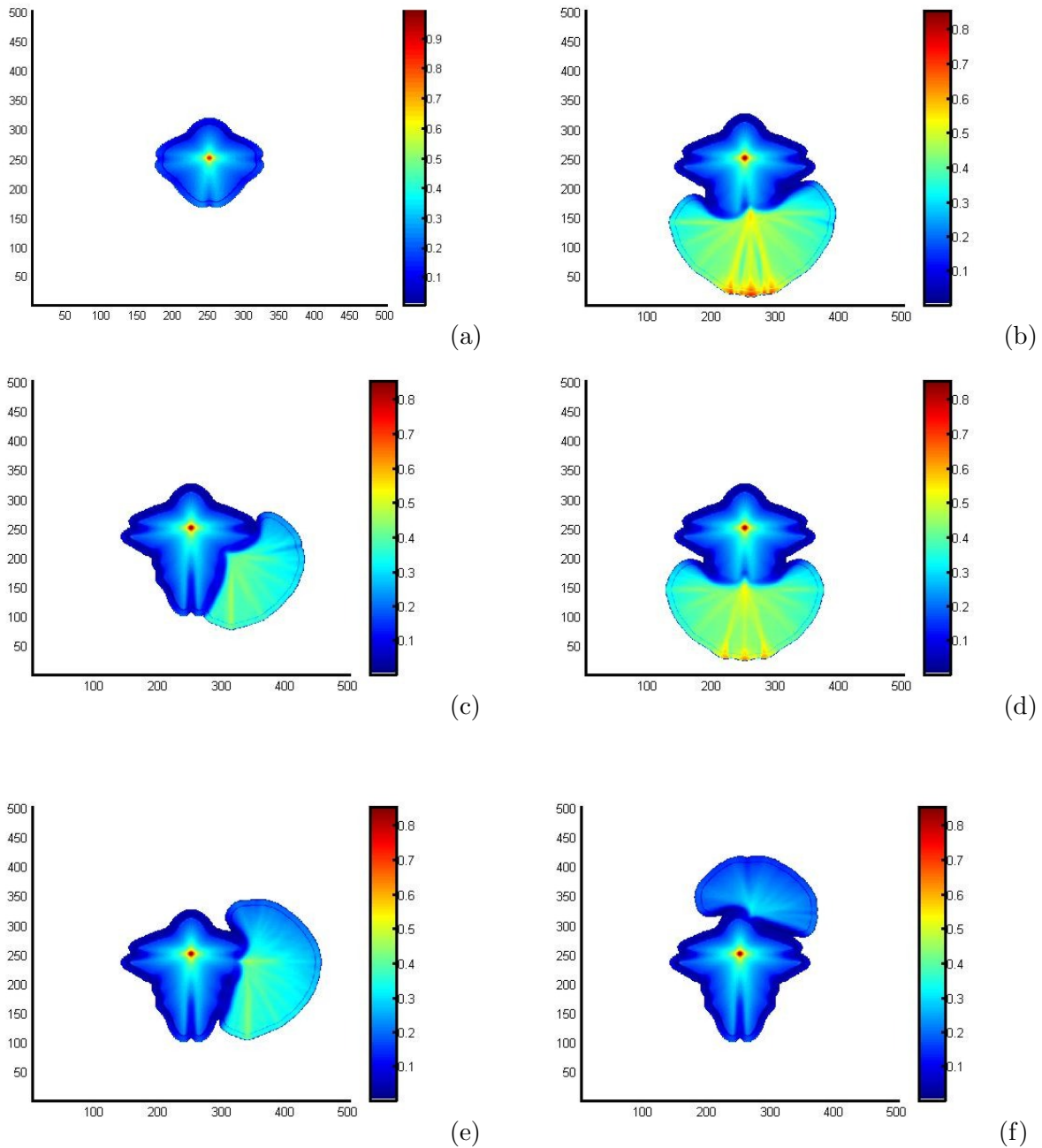


FIGURA 4.6: **Efectos de la geometría.** Tumores heterogéneos caracterizados por la misma mutación emergiendo en diferentes regiones del tumor. La figura (a) muestra el tumor original a tiempo $t_m = 20000$ pasos temporales, las restantes corresponden a 40000 pasos temporales. En todos los casos la especie original está caracterizada por los parámetros $\tilde{\alpha} = 1$, $\tilde{\beta}_{as} = 0.048$, $\tilde{\gamma}_{as} = 0.22$.

los llamados “*sectores de apertura*”. Esta característica está presente en algunos tumores, como por ejemplo en ciertos tipos de cáncer de piel y también en colonias de bacterias [RGLMBJ03]. De esta manera, la nueva subpoblación minimiza la competencia y explora nuevas regiones en busca de nutrientes. En las figuras (4.7a) y (4.8a) podemos ver que para tiempos menores a 20000 pasos temporales el tumor tiene un crecimiento lento y su población de células vivas, que inicialmente tuvo un rápido crecimiento, comienza a disminuir. A los 20000 pasos temporales se da lugar a una mutación y el tumor heterogéneo incrementa rápidamente la cantidad de células cancerosas tal como se ve en las figuras (4.7) y (4.8), donde por c^l y d^l denotamos a $\sum_{i,j} c^l(i,j)$ y $\sum_{i,j} d^l(i,j)$ respectivamente. En (4.7c) y (4.8b) se observa que a tiempos cercanos a la mutación los tumores con mutaciones que corresponden a las figuras (b) y (e) de (4.6) tienen un incremento más rápido en la población celular que los correspondientes a las restantes mutaciones; sin embargo a tiempos posteriores vemos que el tumor heterogéneo formado a partir de la mutación representada en (e) de (4.6) no se encuentra entre los tumores que poseen mayor cantidad de células cancerosas. La particularidad que tienen los dos tumores heterogéneos antes mencionados es que la región de mutación se encuentra en una saliente o “punta” del tumor homogéneo y, debido a estas razones, la competencia por nutrientes con la especie original es baja, dando lugar a un rápido crecimiento inicial de la nueva subpoblación. A tiempos posteriores, (ver (4.7a,b) y (4.8)), si las nuevas subpoblaciones han sido capaces de sobrevivir superando a la especie inicial en la regiones de mutación, la nueva subpoblación comienza a explorar nuevas regiones tratando de no incrementar la competencia con la especie original. En esta etapa el crecimiento del tumor heterogéneo estará limitado por la disponibilidad de nutrientes en las regiones exploradas. Es por ello que la mutación correspondiente a la figura (f) de (4.6) no se desarrolla de manera incontrolable porque las células cancerosas que migran hacia regiones que no tienen suficiente nutrientes serán “apantalladas” por las células de la subespecie original. En la figura (a) de (4.8) tanto la curva magenta como la amarilla presentan un máximo. Al llegar las células cancerosas al borde inferior de la grilla, debido a las condiciones de contorno del problema, las células cancerosas ingresan al torrente sanguíneo; en ese momento se produce una disminución de su población. Posteriormente, sigue habiendo células cancerosas que se escapan de la grilla pero el tumor está en constante crecimiento y en una zona rica en nutrientes lo cual produce un nuevo incremento en la cantidad de células cancerosas. Luego, asociamos el pico en ambas curvas con la llegada del tumor al vaso sanguíneo y la posibilidad de producir metástasis.

Por el momento podemos decir que inicialmente es muy importante la topología tumoral en la región de mutación, y, si la nueva subpoblación prospera, a tiempos posteriores el crecimiento es dominado por la distribución de nutrientes en la región donde crece la subpoblación mutada. No siempre las mutaciones que ocurran en regiones con mayor distribución de nutrientes serán las más peligrosas o invasivas, debido a que no es una certeza que la nueva subpoblación prospere dado que la etapa inicial de competencia es la más dificultosa.

La distribución espacial de ambas subpoblaciones celulares se puede ver en la figura (4.9). Aquí mostramos la suma de concentraciones de células vivas, a lo largo de una línea horizontal, en función de la distancia al vaso sanguíneo. Se hace evidente un máximo en el

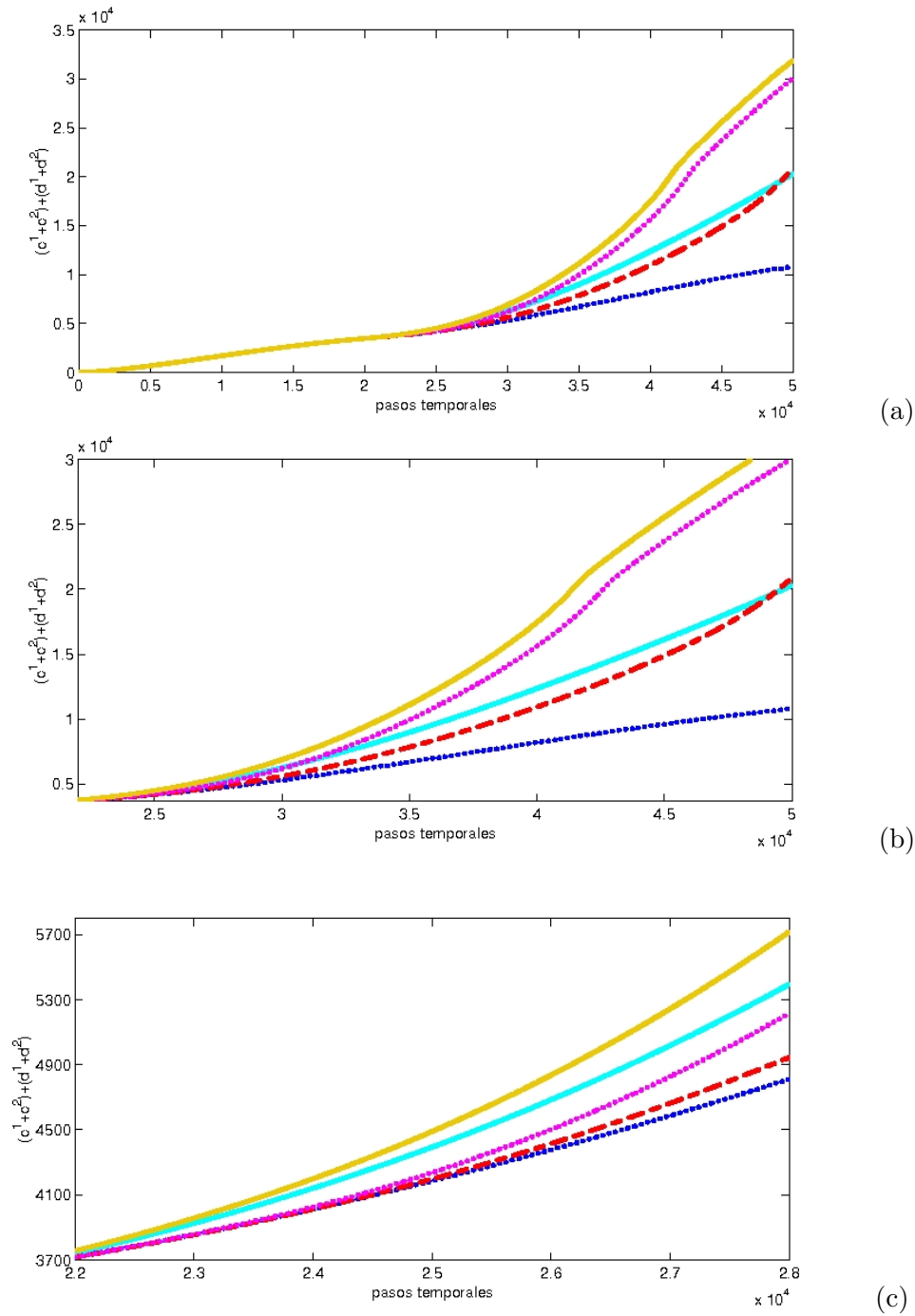


FIGURA 4.7: **Número total de células cancerosas** (incluyendo células muertas). Los parámetros utilizados son los correspondientes a la figura (4.6). Las curvas en colores amarillo, rojo, magenta, cian y azul se corresponden con las gráficas (b), (c), (d), (e) y (f) de (4.6), respectivamente.

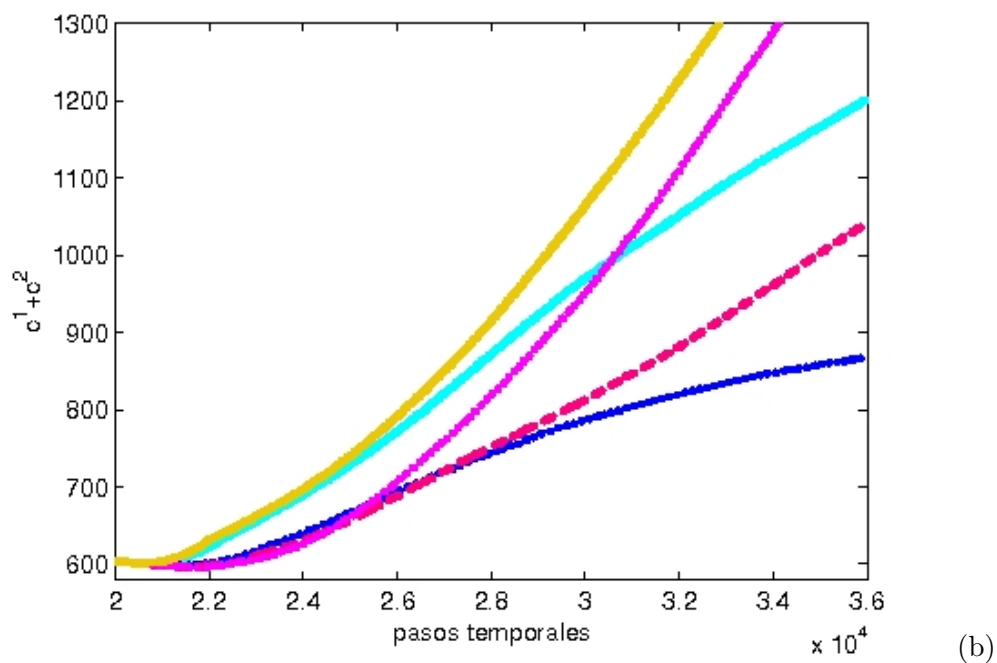
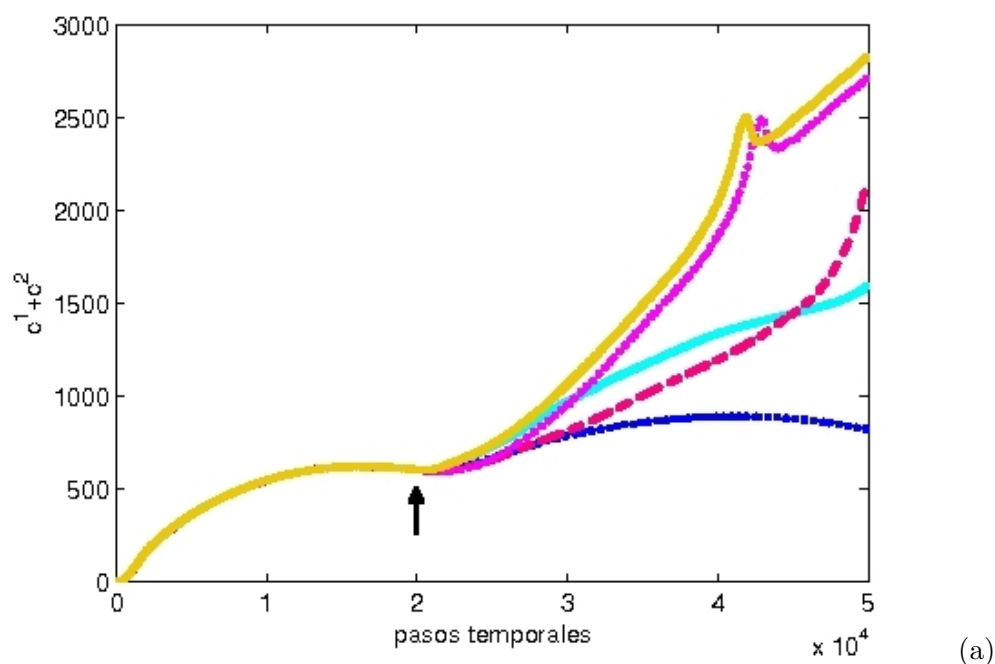


FIGURA 4.8: **Número de células cancerosas vivas** do tumor heterogêneo. Os parâmetros utilizados são os correspondentes a la figura (4.6). Las curvas se corresponden con las gráficas de (4.6) con la misma asignación de color que la utilizada en la figura (4.7). La flecha indica la aparición de la mutación.

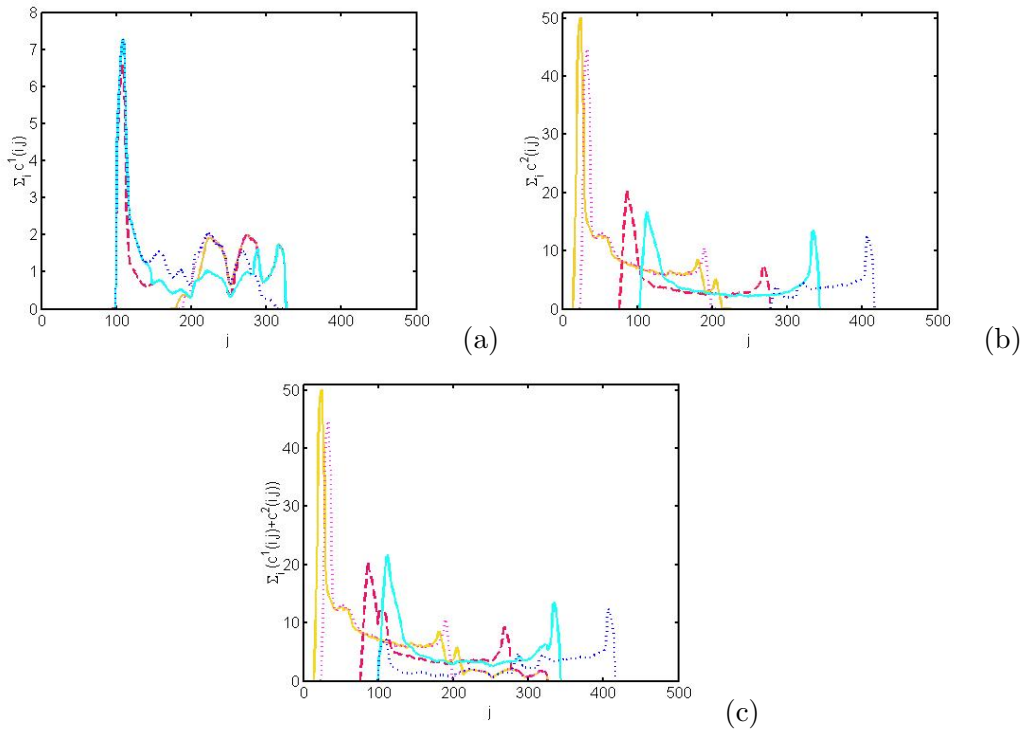


FIGURA 4.9: **Perfiles de concentraciones celulares**, correspondientes a 40000 pasos temporales, de: (a) subpoblación original; (b) nueva subpoblación y (c) ambas subpoblaciones. Los parámetros utilizados son los correspondientes a la figura (4.6). Las curvas se corresponde con las gráficas de (4.6) con la misma asignación de color que la utilizada en la figura (4.7). El vaso sanguíneo está en $j = 0$.

borde inferior del tumor indicándonos la región más activa.

Para otros valores de los parámetros relevantes se obtienen resultados similares. De la figura (4.6) se observa una clara diferencia morfológica entre las dos subpoblaciones, debido a que al aumentar el parámetro $\tilde{\gamma}_{as}$ estamos favoreciendo la reproducción y la migración celular. Para otro conjunto de parámetros los resultados son cualitativamente similares pero pueden acarrear otros efectos diferentes, por ejemplo, un conjunto de parámetros iniciales con un valor elevado de $\tilde{\alpha}$ tiene más probabilidad de derivar en metástasis. Otra característica importante es que es mucho más peligroso que una mutación tenga lugar en un tumor homogéneo latente cuyos parámetros sean tales que, si son ubicados en el diagrama de fases, corresponden a un punto elevado del sector verde de la figura (4.5) que si se encuentra sobre la curva de transición de fases. Esto se debe a que en el primer caso la etapa de competencia inicial es reducida porque la especie original no tiene una gran concentración o una gran cantidad de células proliferativas, quedando el crecimiento del tumor heterogéneo ligado solamente a la disponibilidad de nutrientes en la región de mutación. En nuestras simulaciones, por las condiciones de contorno colocadas, habrá mayor disponibilidad de nutrientes cuanto más pequeña sea la coordenada y .

Modelo y experimentos

Para que un modelo que describa el crecimiento de cáncer sea aceptado debe ser capaz de predecir una gran variedad de tasas de crecimiento, diferentes morfologías, como así también una alta dependencia con los factores ambientales. En el capítulo 4 hemos visto que el modelo presentado en este trabajo cumple con estos requisitos pero también es necesario poder establecer una comparación directa con los resultados experimentales conocidos. Tener parámetros sin unidades y no del todo representativos dificulta esta tarea. Elegir los valores de los parámetros de tal forma de simplificar esta comparación, es una tarea ardua pero muy prometedora, porque permite ilusionarse con la posibilidad de que, en un futuro, se puedan hacer predicciones concretas sobre la evolución de tumores particulares.

Para llevar a cabo este propósito necesitamos tener presentes artículos experimentales específicos a la medición de algún observable particular y otros en donde se consideren los aspectos de crecimiento generales de los tumores para hacer algunos análisis comparativos. En este capítulo mostraremos algunos resultados del modelo con parámetros realistas y estableceremos comparaciones con datos experimentales.

5.1 Buscando parámetros reales

Una de las primeras cosas que debemos decidir es el tamaño de la muestra de tejido. Las células de los mamíferos requieren oxígeno y nutrientes para mantener activas sus funciones vitales y para poder reproducirse. De esta manera no pueden estar localizadas en ambientes poco irrigados, es decir lejos de capilares sanguíneos. Nuestra muestra de tejido no puede ser demasiado grande pues debemos mantener el tejido irrigado. Consideraremos que nuestra red equivale a un tejido de $1\text{cm} \times 1\text{cm}$. El diámetro promedio de las células de los mamíferos es de $10\mu\text{m}$. Si mantenemos una red de 500×500 nodos, en cada nodo habrá sólo 4 células. Como el modelo está formulado con concentraciones

de células necesitamos que haya más células por nodo o discretizar las poblaciones celulares. Optamos por la primer solución y para ello utilizaremos una red con 300×300 nodos distanciados por $\Delta = 33\mu m$. Cada uno de ellos podrá estar habitado por 10 células. El siguiente paso consiste en buscar datos experimentales que estén relacionados con la concentración y difusión del nutriente. Como ya dijimos, sólo consideraremos un nutriente libre y, debido a que las células cancerosas son fuertemente dependientes de la disponibilidad de glucosa, consideraremos que este es el nutriente esencial [PSDC99]. Supondremos la concentración de glucosa en los vasos sanguíneos constante y tomaremos $P_0 = 5,5mM$. Esta elección se debe a que la concentración de glucosa en sueros humanos varía entre 0.7 y $1.3g/l$, siendo $1g/l$ la concentración normal [FSM04]. Elegimos trabajar con la unidad mM pues es la más utilizada en los artículos experimentales que contienen concentraciones fijas y datos de tasas de consumición. $1mM = 1mmol/l$, y para hacer la conversión a g/l tenemos que saber que $1mol$ de glucosa equivale a $180g$. El coeficiente de difusión de la glucosa fue determinado experimentalmente por Casciari *et al.* [CSS88] para esferoides formados por células cancerosas humanas. Su valor está comprendido entre $2,3 \times 10^{-7}$ y $5,5 \times 10^{-7}cm^2/s$. Por ello es apropiado que en nuestras simulaciones tomemos $\alpha = 0,001cm^2/h$.

En la figura (5) de [FS85] se muestra que la tasa de consumición celular de glucosa sigue una función lineal en términos del volumen celular promedio, v_c . Si ajustamos estos datos experimentales obtenemos que la mencionada tasa evoluciona como: $8.6 \times 10^{-20}mol/(\mu m^3 s \times células)v_c - 1.52 \times 10^{-17}mol/(s \times células)$. Tomando $v_c = 3000\mu m^3$ y una aproximación lineal de la ecuación (3.3) tenemos que $\tilde{\gamma}_{as} \approx 160/h$ si consideramos que el nivel de nutriente libre es igual a P_0 en todos los sitios. Como el nivel de nutrientes es menor, en el interior del tejido, el valor de $\tilde{\gamma}_{as}$ deberá ser mayor. En nuestras simulaciones tomaremos $\tilde{\gamma}_{as} = 200/h$. La tasa metabólica de consumición de glucosa fue medida por [KPH⁺99] para tumores con distinta agresividad. Si pensamos que las células cancerosas consumen $80\mu mol/(min \times 100g \text{ tejido})$ y procediendo de manera similar que para con $\tilde{\gamma}_{as}$, tenemos que el parámetro $\tilde{\beta} \approx 5/h$. Otros parámetros dependen del incremento temporal de cada paso simulacional. Para determinarlo hicimos un par de pruebas preliminares, en donde revisamos eventuales problemas numéricos. Un valor para el cual el tiempo de una “corrida” es aceptable y no produce problemas en la discretización de las derivadas es $\Delta t = 0.001h$.

Mombach en 1996 estudió el movimiento individual de células retinales pigmentadas en agregados de células retinales neuronales obtenidas de embriones de pollos [MG96]. Basándonos en sus experimentos, nos parece adecuado proponer $0.001cm^2/h$ como valor para $\tilde{\alpha}$. El coeficiente de difusión efectivo en nuestras simulaciones tiene un valor cercano a $8,3 \times 10^{-8}cm^2/h$ el cual está de acuerdo con [MG96]. El crecimiento y la división celular están controlados por el *ciclo celular* el cual está dividido en cuatro fases (G_1, S, G_2, M). La duración del ciclo celular es de aproximadamente $12h$ para un cultivo de monocapas con crecimiento exponencial [JPGCF05]. Por esta razón verificaremos el umbral de mitosis, Q_M , cada $12h$, es decir, cada 12000 pasos. Para disminuir el tiempo de simulación también revisaremos el umbral P_D cada 12000 pasos. Los umbrales fueron elegidos de tal manera de obtener evoluciones que concuerden con resultados experimentales.

Otros artículos, además de los mencionados, detallan y confirman los datos utilizados

Parámetro	Unidad	Valor	Referencia
N		500	
δ	μm	33	
τ	h	0.001	
P_0	Mm	5.5	[glu][FSM04]
α	cm^2/h	0.001	[CSS88]
γ	$1/h$	0.002	[DH05], [JPGCF05]
$\tilde{\gamma}_{as}$	$1/h$	200	[DH05], [FS85]
$\tilde{\beta}_{as}$	$1/h$	5	[KPH ⁺ 99]
$\tilde{\alpha}$	cm^2/h	0.001	[DH05], [MG96].

TABLA 5.1: Valores de los parámetros del modelo que tienen un justificativo experimental en los artículos citados.

para la elección de los parámetros. La tabla (5.1) muestra de manera compacta los valores elegidos y las referencias de donde los obtuvimos. Claro está que podremos modificar, dentro de márgenes razonables, los parámetros para obtener diferentes morfologías y tasas de crecimiento.

5.2 Resultados numéricos

Al igual que en el capítulo anterior comenzaremos nuestras simulaciones colocando una semilla de cáncer en el centro de la red. Las condiciones de contorno serán las mismas que las utilizadas anteriormente, salvo aquella relacionada con el nutriente libre en el borde superior de la red. Como habíamos aclarado al comienzo del capítulo (4) la solución discreta de la ecuación (4.1) no es solución estacionaria si el tamaño de la red es finito y no se la acompaña de la condición de contorno adecuada. Para partir de una distribución de nutrientes estacionaria es necesario que la concentración inicial del mismo, en el borde superior, $p((300; j), 0) = P_0 \exp(-\Delta D 300)$, permanezca constante con el correr del tiempo. Esta modificación nos presenta un inconveniente en la evolución inicial del crecimiento debido a que, al haber suficiente nutriente disponible, no se genera un pozo en la distribución de nutrientes y las células absorben más de lo que necesitan. Es por ello que decidimos introducir una nueva modificación: si $q^l(i, j)/c^l(i, j) > 2Q_M^l$ para la especie l , entonces las células de esa especie no absorben nutrientes. Esta condición, en general, es utilizada sólo para tiempos cortos. Luego, estas modificaciones junto con el cambio en los intervalos de verificación de umbrales (descritos en la sección anterior) serán las únicas variantes en cuanto a la implementación numérica presentada en el capítulo (4).

En la sección anterior propusimos los valores de los parámetros que se adecuaban mejor a los datos experimentales reportados en diferentes artículos. Si bien no nos apartamos demasiado de los valores reportados en la tabla (5.1), utilizaremos también otros valores

para analizar diferentes representaciones. En la tabla (5.2) se detallan los parámetros utilizados en las diferentes realizaciones; también mostramos el símbolo utilizado para su representación en las figuras subsiguientes y a cada fila le asignamos una letra, a modo de nomenclatura, para luego poder referirnos, con mayor simplicidad, a los resultados obtenidos con ese conjunto de parámetros. Los parámetros correspondientes con la dis-

Nombre	$\tilde{\alpha}[cm^2/h]$	$\tilde{\gamma}_{as}[1/h]$	$\tilde{\beta}_{as}[1/h]$	Q_M	Q_D	Símbolo
(A)	0.001	200	5	100	10	◦
(B)	0.001	200	5	40	10	◇
(C)	0.001	160	5	100	10	+
(D)	0.001	250	5	100	10	△
(E)	0.001	200	20	100	10	▽
(F)	0.001	200	5	100	20	▷
(G)	0.001	200	5	150	10	◁
(H)	0.001	200	5	100	4	□
(I)	0.0005	200	5	100	10	★
(J)	0.002	200	5	100	10	*

TABLA 5.2: Lista de los parámetros usados para las simulaciones correspondientes a las figuras de esta sección.

cretización de la red y del tiempo y los vinculados a las propiedades del tejido sano tienen el mismo valor en todas las simulaciones y se corresponden con los de la tabla (5.1).

Si bien los parámetros de este capítulo no son los mismos que los utilizados en el anterior, la dinámica del modelo es idéntica. Por lo tanto la morfología tumoral dependerá, nuevamente, de las posibilidades de migración y reproducción celular. Es decir, los parámetros $\tilde{\gamma}_{as}$, $\tilde{\beta}_{as}$ y $\tilde{\alpha}$ siguen siendo muy importantes y marcan el desarrollo tumoral. En la figura (5.1) mostramos los resultados obtenidos, a diferentes tiempos, para la simulación (A). La escala de colores es la misma que para la figura (4.1). El conjunto de parámetros que caracterizan a este tumor, son los que están mayormente de acuerdo con los resultados experimentales y serán los utilizados en el capítulo siguiente cuando modelemos quimioterapia. La figura (5.1b), tiene un cierto parecido con la figura (8c) de [BAS⁺03] obtenida, experimentalmente, de un adenocarcinoma humano de colon. En la figura (5.2) mostramos los resultados de simulaciones para los tumores (D), (E), (I) y (J). En estas figuras podemos ver que el aumento del parámetro $\tilde{\beta}_{as}$ afecta considerablemente la evolución del tumor interviniendo en la migración y reproducción celular. Para valores más grandes se hace evidente, nuevamente, la estructura de la red. El incremento en el coeficiente de migración celular produce una disminución en la densidad celular del tumor y un aumento en la superficie afectada. El efecto opuesto se aprecia cuando el coeficiente de migración celular disminuye (I). Para la realización (D) $\tilde{\gamma}_{as}$ se incrementa sólo el 2,5% y es por ello que no hay notables cambios con la realización (A). En todos los casos la densidad poblacional en la mitad superior del tumor es de alrededor de 1 célula

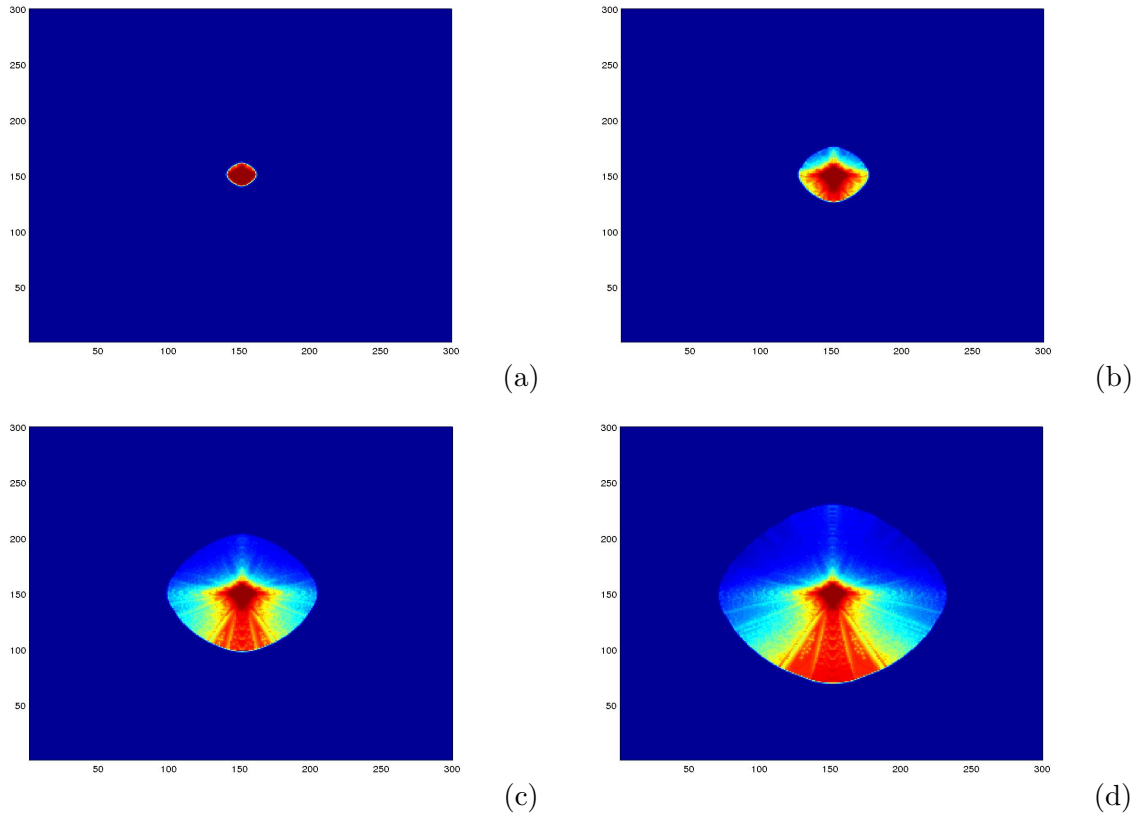


FIGURA 5.1: **Evolución temporal.** Resultados correspondientes a la simulación (A), a los (a) 15, (b) 30, (c) 60 y (d) 90 días.

por nodo, es decir, aproximadamente una célula cada $1000\mu m^2$, mientras que en la región inferior del mismo varía entre 5 y 10 células por nodo. Esta característica marca una fuerte direccionalidad en el crecimiento del tumor hacia las regiones con mayor cantidad de nutrientes, elevando las probabilidades de metástasis.

Muchas características del crecimiento de tumores avasculares se pueden conocer experimentalmente gracias a que su comportamiento es similar al de los esferoides tumorales multicelulares¹. Salvo muy contadas excepciones, tanto los esferoides como los tumores reales generan una región central llamada necrosis, habitada por células cancerosas muertas debido a la ausencia de alimentos. Mueller-Klieser comprobó que para esferoides tumorales el diámetro de la necrosis se expande, aproximadamente, a la misma tasa cuando el volumen del esferoide se incrementa, dando como resultado un espesor del caparazón de células vivas que permanece relativamente constante con el incremento del diámetro del esferoide [MK00]. Haciendo mediciones independientes, llegó a la conclusión de que el incremento en el tamaño de la necrosis era exactamente el mismo que el del esferoide. Estos resultados que Mueller-Klieser mostró en la Fig. (2) del artículo mencionado, (y que nosotros mostramos en el capítulo (8)), habían sido conjeturados por Freyer *et al.*

¹Los esferoides tumorales multicelulares son agregados de células cancerosas que se desarrollan en ambientes totalmente controlados. Ver el capítulo PONER MACRO para una descripción detallada.

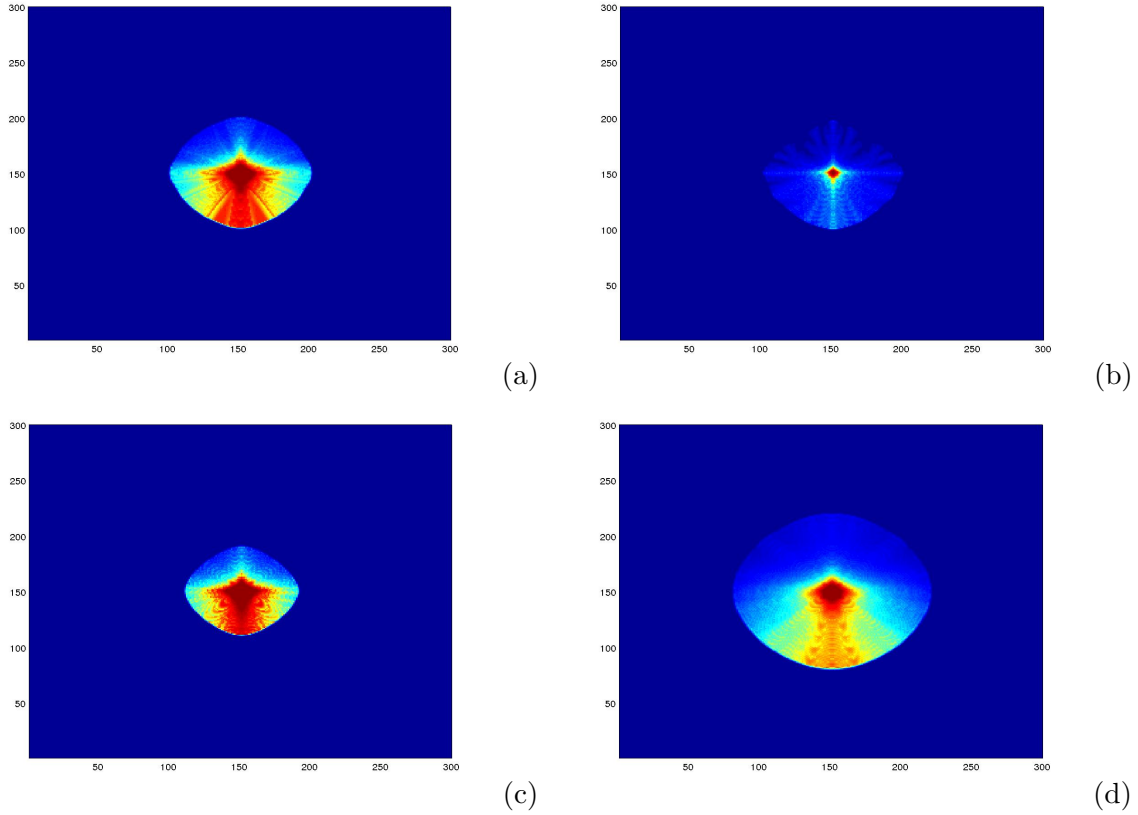


FIGURA 5.2: **Tumores homogéneos.** Resultados correspondientes a las simulaciones (a) D ; (b) E ; (c) I y (d) J ; a los 60 días.

unos 15 años antes [FS86]. Nuestro modelo mesoscópico no reproduce tumores esféricos y por lo tanto no resulta, *a priori*, fácil de comparar con los resultados experimentales para esferoides tumorales. Sin embargo, una buena magnitud para establecer comparaciones es el radio de giro. Denotaremos al radio de giro por R_g y definiremos esta magnitud de la misma manera que Brú [BPF⁺98], teniendo:

$$R_g = N^{-1} \sum_{i=1}^N r_i(t), \quad (5.1)$$

donde N es el número de puntos en la superficie del tumor y los r_i son las distancias de estos puntos al centro de masa del tumor. De manera análoga podemos definir el radio de giro del núcleo necrótico, R_{gd} ; en este caso sólo debemos considerar la interfase entre el núcleo necrótico y las células vivas y el centro de masa del núcleo necrótico y no del tumor entero. De esta manera es lógico proponer una analogía entre el radio de giro y el radio de un esferoide y otra entre el espesor del cascarón de células vivas y la diferencia $R_g - R_{gd}$. Como podemos ver en la figura (5.3) nuestro modelo reproduce de manera excelente la figura (2) de [MK00], salvo que nuestros valores numéricos están más cercanos a los del tercer fibroblastoma reportado en la tabla (1) de [FS86] que tiene un cascarón de células vivas de $85\mu m$ espesor. En nuestra simulación este espesor tiene un valor medio de $70\mu m$.

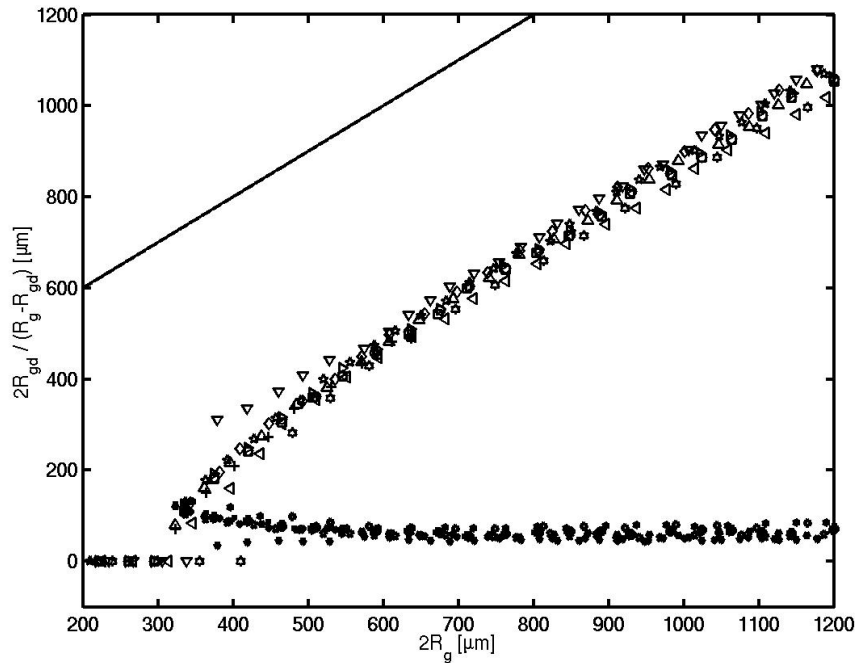


FIGURA 5.3: Espesor del cascarón de células vivas (símbolos rellenos) y diámetro de la necrosis para tumores con parámetros reportados en la tabla (5.2). La línea sólida tiene pendiente 1.

Cualitativamente la relación entre el diámetro de la necrosis y el diámetro del esferoide es exactamente la misma que la reportada en la figura (4) de [MK00].

La distribución de nutrientes en el medio se modifica con el correr del tiempo por la evolución y consumición de las células cancerosas. En la figura (5.4) mostramos perfiles representativos de las concentraciones de glucosa correspondientes a las líneas vertical (a) y horizontal (b) que atraviesan el centro del dominio. Estos perfiles se caracterizan por una depresión en la región donde se encuentra el tumor. La parte central de ésta depresión a tiempos pequeños es aproximadamente parabólica mientras que para tiempos mayores aparece una región plana en la zona central. Resultados análogos son reportados por [Rej05] para la concentración de oxígeno en el medio. En la figura 5.5 mostramos la distribución espacial de la concentración de glucosa en todo el tejido transcurridas $270h \approx 11$ días (a) y $540h \approx 22$ días (b). La región central de color azul oscuro se corresponde con la región donde se desarrolla el núcleo necrótico. Algunas magnitudes tales como el radio del tumor, la superficie ocupada por el mismo, su tasa de crecimiento y las proporciones de células proliferativas, quiescentes y necróticas que lo conforman son de importancia clínica y pueden ser decisivas a la hora de dar un diagnóstico. Como nuestro modelo está formulado en dos dimensiones resulta complicado comparar los datos experimentales del observable más frecuente: el volumen. El volumen de un esferoide, V ,

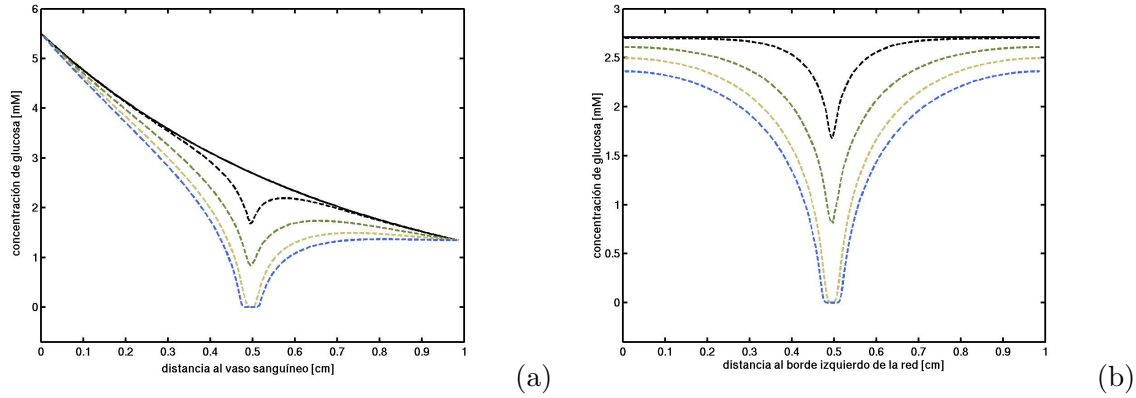


FIGURA 5.4: **Perfiles de concentración de glucosa.** En las figuras (a) y (b) hemos fijado $i = 150$ y $j = 150$ respectivamente. La línea sólida representa la distribución inicial de glucosa. Las líneas a trazos se corresponden con los tiempos: $90h$ (negra), $180h$ (verde), $225h$ (amarilla) y $270h$ (azul).

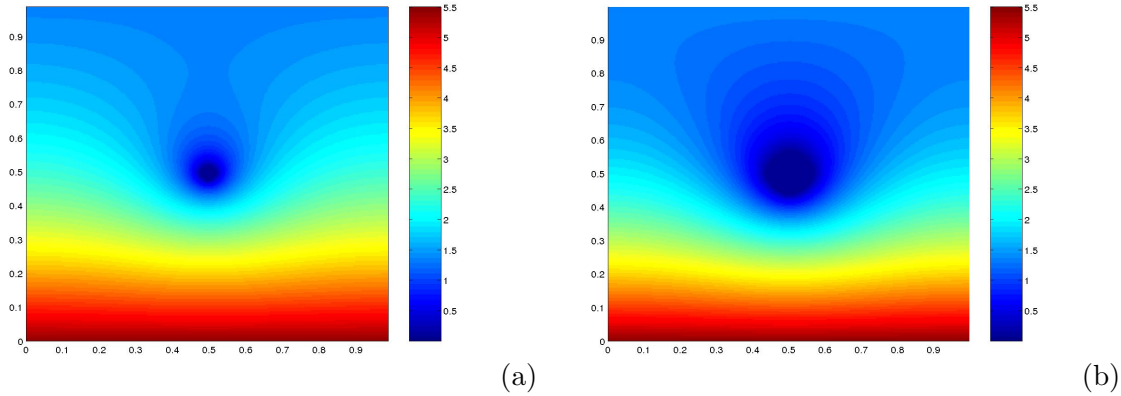


FIGURA 5.5: **Distribución espacial de la concentración de glucosa.** Después de los 11 días (a) y a los 25 días (b).

sigue una ley de potencias con el área de su sección transversal, A , dada por:

$$\begin{aligned} V &= \frac{4}{3}\pi R^3 \\ &= \frac{4}{3\sqrt{\pi}}A^{3/2}, \end{aligned}$$

donde R es el radio del esferoide. Luego, podemos aventurarnos a comparar cualitativamente los resultados experimentales de las mediciones de los volúmenes de esferoides, tomando como radio de la sección transversal, y por ende del esferoide, el radio de giro que previamente definimos. En la figura (5.6) mostramos los resultados obtenidos de nuestras simulaciones. Estos están de acuerdo, cualitativamente, con los datos experimentales de [JPGCF05, MKSKWK02, Fre88], en particular, tienen gran concordancia con la figura (5) de [JPGCF05] donde los datos experimentales se corresponden con esferoides que crecen

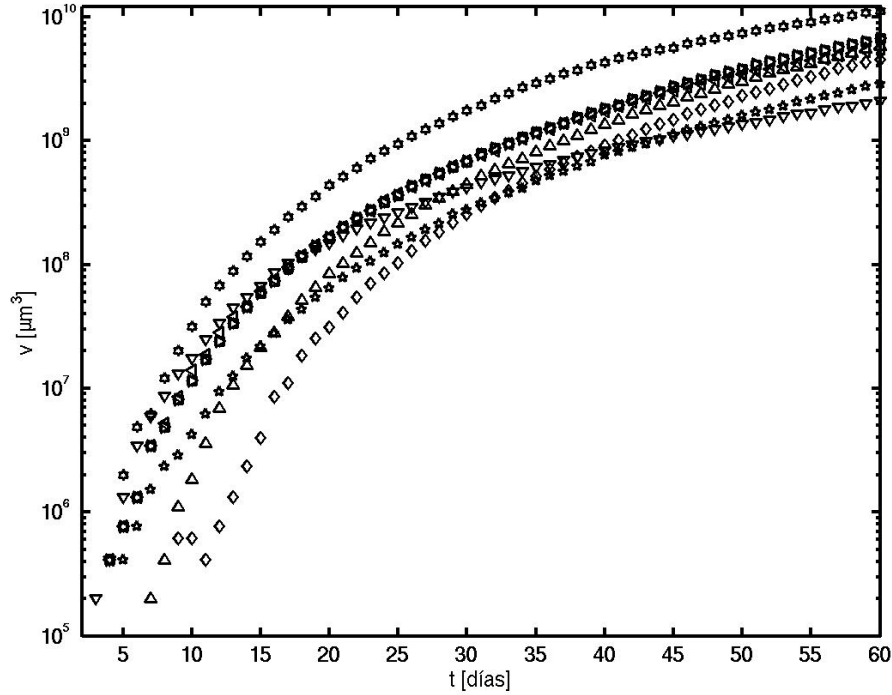


FIGURA 5.6: **Volumen del esferoide.** Resultados simulacionales correspondientes a los parámetros de la tabla (5.2).

en un medio con la concentración de glucosa fija en $5.5mM$.

En 1998 Brú y colaboradores publicaron un artículo donde, además de proponer un modelo matemático para describir crecimiento tumoral, proporcionan datos experimentales de cultivos bidimensionales [BPF⁺98]. En la figura (2) de ese trabajo se muestra que el radio de giro evoluciona linealmente con el tiempo. Al final del artículo mencionado el autor da una explicación que incluiremos aquí. Es una realidad que la región más agresiva del tumor se encuentra en el borde del mismo debido a que, en este sector, las células que lo conforman tienen mayor disponibilidad de nutrientes y espacio para migrar y reproducirse. Luego, como el crecimiento tiene lugar en el borde, la tasa de crecimiento debe ser proporcional al número de células en el perímetro del tumor, $2\pi R/r_0$, donde r_0 es el radio celular. Como el número de células que forman el tumor es proporcional al área que este ocupa, $\pi(R/r_0)^2$, tenemos:

$$\frac{d}{dt}(\pi(R/r_0)^2) = K(2\pi R/r_0),$$

es decir, $dR/dt = Kr_0$ y por lo tanto el radio crece linealmente con el tiempo. Estos resultados no causaron “tanto revuelo” al final de la década de los 90 pero luego de la publicación [BAS⁺03] Brú adquirió gran popularidad. Si bien estos resultados son para tumores bidimensionales, la relación $dR/dt = \text{constante}$ sigue siendo válida, con el mismo argumento, para tumores tridimensionales. Con bastante menos “resonancia mediática”,

Freyer y Sutherland mostraron, en 1985, que el diámetro de los esferoides (EMT6/Ro) crece linealmente con el tiempo a razón de $75\mu m$ /día, (figura (1a) de [FS85]), mientras que Brú encontró que esferoides bidimensionales, de la línea estable C6 de un glioma astrocito de rata, el radio medio crece $2.9\mu m$ por hora. En nuestras simulaciones encontramos que

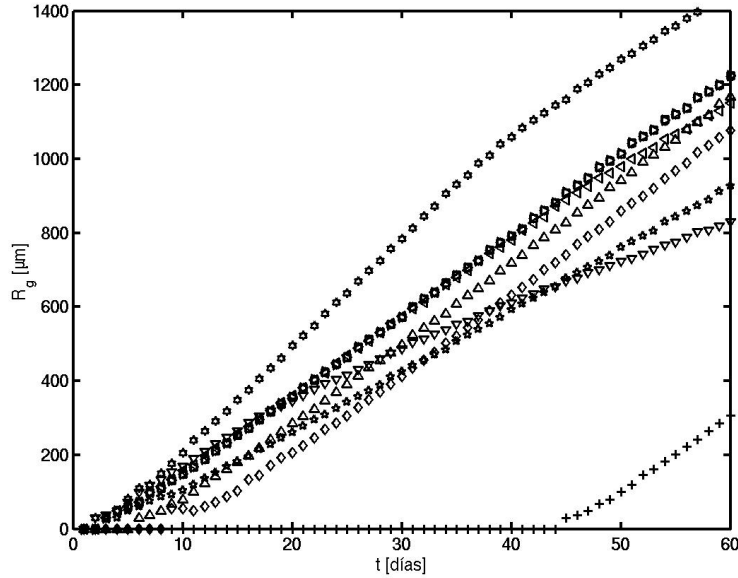


FIGURA 5.7: **Radio de giro** de los tumores obtenidos con las simulaciones cuyos parámetros se corresponden con los de la tabla (5.2).

el radio de giro del tumor crece linealmente con el tiempo variando su incremento entre los $0.7\mu m$ y $1.2\mu m$ por hora, siendo el más frecuente $0.9\mu m$ por hora; equivalentemente, el diámetro se incrementa $44.4\mu m$ por día, ver figura (5.7). Algunas de las curvas mostradas en la figura cambian su pendiente debido a que para tiempos largos estos tumores crecen perdiendo la simetría esférica y dirigiendo su crecimiento hacia la parte inferior de la red, sólo aquellos que presenten gran movilidad conservaran una forma similar a un disco con el paso del tiempo. También se produce un cambio en la pendiente porque no todo el perímetro del tumor está activo con la misma intensidad, debido a la asimetría en la distribución de nutrientes.

Inicialmente la variación temporal de la masa del tumor, dm/dt , no es proporcional al radio. Si seguimos utilizando el argumento de Brú tenemos que, a tiempos tempranos, no hay inconvenientes en la obtención de alimentos y el tumor está compuesto totalmente de células proliferativas, es decir, la tasa de crecimiento debe ser proporcional la superficie y no al perímetro del tumor. Luego, a tiempos cortos dm/dt es proporcional a R^2 . Posteriormente, cuando la concentración de glucosa decrece considerablemente, la región activa del tumor es su borde y por lo tanto la tasa de crecimiento es proporcional al radio de giro del tumor. En la figura (5.8a) mostramos la evolución de dc/dt en función del radio de giro. Las curvas a trazos son los ajustes, lineal para tiempos grandes, y cuadrático para tiempos cortos. Todas las pendientes son menores que uno siendo 0.67

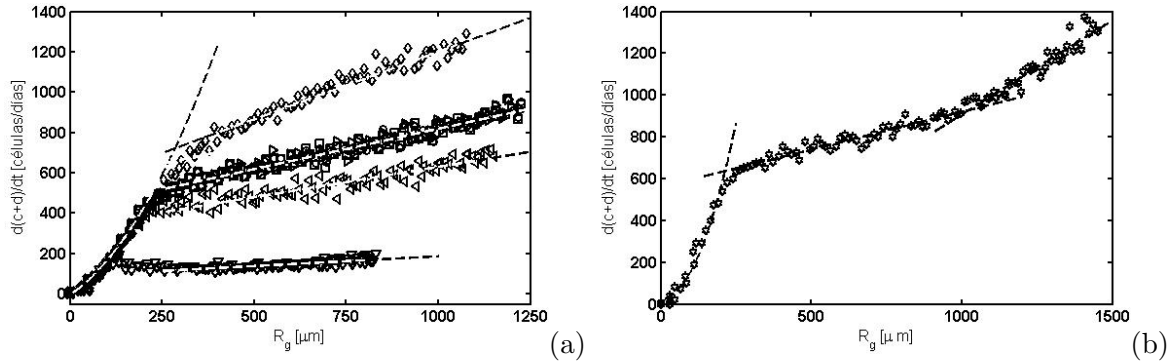


FIGURA 5.8: **Tasas de crecimiento.** En (a) sólo están las curvas correspondientes a los tumores (A), (B), (E), (F), (G), (H), (J). En (b) graficamos la tasa de crecimiento para (I). Las líneas de trazos indican los ajustes.

para (B), 0.097 para (E), 0.3 para (G) y 0.4 para los restantes. Sin embargo en la figura (b) podemos ver que los puntos correspondientes al tumor J no siguen un comportamiento lineal para tiempos grandes. Las células que conforman el tumor J tienen un coeficiente de migración grande que les permite explorar regiones con mayor concentración de nutrientes, promoviendo su reproducción. Si observamos la figura (5.7), podemos ver que el radio de giro del tumor (J) crece más rápidamente que cualquier otro resultado simulacional presentado. Pero cuando alcanza un valor cercano a los $1000 \mu m$ su crecimiento se vuelve más lento. En nuestro modelo un tumor cuyas células tengan gran movilidad puede expandirse rápidamente a medida que absorbe nutrientes. Sin embargo la velocidad de expansión no siempre será la misma porque, manteniendo la tasa de absorción constante, cuanto más rica en nutrientes es la región que habita más lento se expandirá. Para el tumor (J) el crecimiento se vuelve más lento a partir de $R_g = 1000 \mu m$. Para radios de giro más grandes las células cancerosas se reproducen más veces antes de abandonar el nodo, incrementando la población con tasa más alta que para $R_g < 1000 \mu m$. Luego, la pendiente aumenta de 0.36 a 0.9 ver figura (5.8b).

Desde el punto de vista físico, es interesante estudiar el crecimiento de la superficie del tumor. Consideraremos que un nodo de la red pertenece a la periferia del tumor si algún nodo vecino no se encuentra poblado por células cancerosas (ya sean muertas o vivas), es decir, si $c(i', j') + d(i', j') < 0.1$ para algún vecino cercano del nodo \vec{i} . Es de esperar una relación lineal entre la cantidad de nodos de periferia y el radio de giro; sin embargo, algunos tumores desarrollan una superficie rugosa y rompen esta relación. En la figura (5.9) mostramos la región ocupada por el tumor a los 60 días (a) y la evolución de los nodos de periferia en función del radio de giro (b). La dinámica de algunos sistemas físicos que exhiben interfases rugosas pueden ser caracterizados por un conjunto de exponentes críticos obtenidos de ciertas cantidades físicas invariantes de escala. Una cantidad importante es el segundo momento de la posición de interfase como función de la longitud de arco l al tiempo t :

$$w(l, t) = \left\{ \frac{1}{l} \sum_{r_i \in l} [r_i - \langle r_i \rangle]^2 \right\}_L, \quad (5.2)$$

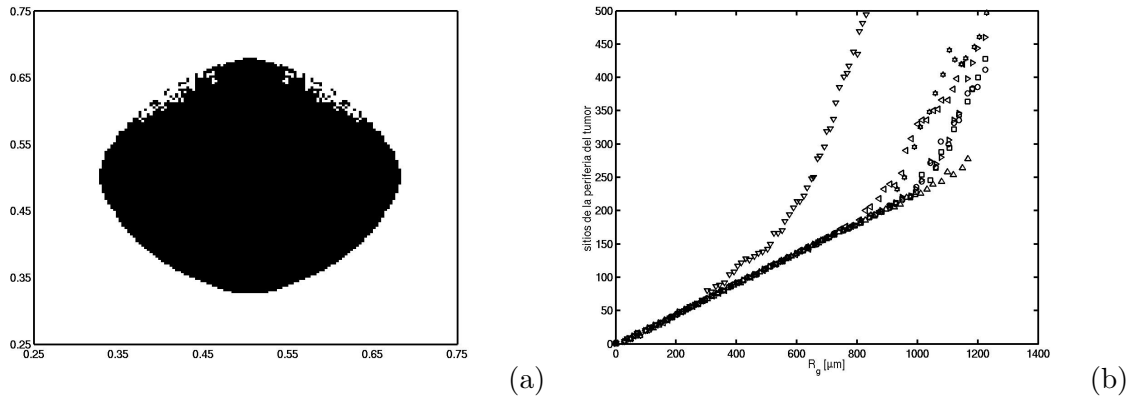


FIGURA 5.9: **Rugosidad.** En (a) mostramos los nodos ocupados por un tumor del tipo (A) a los 90 días. En (b) mostramos los sitios de periferia en función del radio de giro.

donde r_i fueron definidos previamente y $\langle \cdot \rangle_l$ es el promedio local de subconjuntos de longitud de arco l y $\{ \cdot \}_L$ es el promedio sobre todo el sistema [BPF⁺98]. Hemos intentado proceder de la misma manera que en [BPF⁺98] utilizando una red de 500×500 puntos nodales, pero los efectos de tamaño finito nos impidieron obtener buenos resultados para longitudes de arco pequeñas.

CAPITULO 6

Quimioterapia

La quimioterapia como tratamiento clínico para el cáncer fué introducida hace más de cincuenta años. Consiste de la aplicación secuencial de drogas citotóxicas que, idealmente, afectan sólo a las células cancerosas. Si bien este tipo de tratamiento ha sido muy exitoso para algunos tumores, tales como los cánceres testiculares y ciertas leucemias, no se puede decir lo mismo de su aplicación a otros tipos de cánceres como, por ejemplo, los de pecho, de pulmón y de colón. En general, la efectividad de la quimioterapia depende de varios factores: la toxicidad sistemática debida a la carencia de especificidad que produce daños colaterales, cuán rápido se metaboliza la droga y la resistencia de las células cancerosas a los efectos de la misma. Este último factor es el más preocupante y decisivo para el éxito del tratamiento debido a la gran adaptabilidad de las células cancerosas [JRL02].

La resistencia de las células tumorales a las drogas puede tener dos orígenes diferentes: aquellas pueden ser *intrínsecamente* resistentes, o pueden *adquirir* resistencia después de la primer ronda de dosis suministrada. La tasa de mutación de las células cancerosas para resistir al tratamiento son muy altas, del orden de 10^{-3} a 10^{-6} por mitosis, comparadas con las tasa de mutaciones que alteran fenotipos de genes recesivos en células normales que es del orden de 10^{-12} por mitosis [DSH00]. Luego, para algunos tumores, es frecuente la aparición de resistencia al tratamiento. Para comprender la resistencia es necesario entender mínimamente cómo las drogas convencionales actuales afectan a las células tumorales. La diferencia más evidente entre las células normales y las células cancerosas radica en que éstas se reproducen más rápidamente que las primeras. Esta diferencia impulsó el desarrollo de agentes quimioterapéuticos que interfirieran con la replicación del ADN produciendo una detención en el ciclo celular. En la práctica, los agentes quimioterapéuticos pueden inducir una serie de respuestas celulares que impactan no sólo en la proliferación celular, también interfieren en la supervivencia de las células tumorales dado que algunos procesos moleculares activan, amplifican y ejecutan algunas trayectorias *apoptóticas* [LL02].

La *apoptosis* es una muerte fisiológica celular programada que controla el número de

células normales. Este control se puede ejercer gracias a la presencia de gen *p53* el cual es considerado como el “guardián” del genoma. Este gen codifica una proteína del mismo nombre que controla que el ADN esté en “buen estado” durante el ciclo celular. Cuando p53 detecta daños irreversibles en el ADN, después de la fase *S* del ciclo celular, induce a la apoptosis. En las células cancerosas no se produce la proteína p53, o bien, el gen p53 se encuentra “mutado” o alterado, bloqueando los caminos apoptóticos. p53 es también conocido como el “maestro regulador” del programa apoptótico. Sin embargo, no es el único activador de la trayectoria apoptótica intrínseca, pues también influyen las proteínas p73 y Bcl-2. p53 es importante porque es el gen que más frecuentemente aparece modificado en los tumores humanos [JRL02].

La apoptosis es regulada en algunos niveles que incluyen etapas de iniciación, transducción, amplificación y ejecución. En las células tumorales hay mutaciones que destruyen alguna/s de estas etapas. El hecho de que la apoptosis esté deshabilitada en distintas etapas en diferentes tipos de tumores sugiere que esta variabilidad, probablemente, depende del contexto y contribuye a la heterogeneidad de respuestas a un mismo tratamiento en tumores humanos. Por otro lado, la sensibilidad de las células normales a la apoptosis inducida por droga puede explicar algunos de los efectos colaterales.

La similaridad entre los programas apoptóticos, ya sean fisiológicos o inducidos por droga, establece una relación entre el desarrollo del tumor y la *resistencia intrínseca* al tratamiento anti-cáncer, luego hay una base biológica que nos podría indicar cómo el genotipo del tumor puede determinar el tratamiento más efectivo. Una gran cantidad de alteraciones genéticas pueden hacer que las trayectorias apoptóticas estén dañadas en diferentes etapas, dando como resultado células *resistentes a múltiples drogas*. Los defectos en la apoptosis pueden promover resistencia a la droga después de la interacción *droga-blanco* (*resistencia adquirida*) haciendo posible que los agentes genotóxicos puedan inducir futuras mutaciones ocasionando “daño sin muerte”. Las drogas convencionales no fueron diseñadas para inducir apoptosis; aún así, probablemente coincidamos en que la apoptosis podría ser un mecanismo efectivo para eliminar las células tumorales. Un tratamiento basado en la inducción de la apoptosis tendría un gran potencial terapéutico debido a que: (1) la muerte celular es preferible a la citostasis (arresto de la proliferación celular); (2) la apoptosis es preferible a la necrosis puesto que es un modo eficiente de muerte celular que no produce inflamación ni daño en el tejido normal circundante; (3) los agentes que inducen apoptosis directamente podrían ser menos mutagénicos que las drogas existentes. Sin embargo estos agentes no serían menos tóxicos que las terapias convencionales salvo que estén diseñados selectivamente para matar sólo a las células tumorales. Explotando las diferencias genéticas y/o fisiológicas entre células tumorales y células normales se podrá establecer las bases para una terapia en donde sólo las células tumorales sean el “blanco” y los efectos colaterales sean mínimos.

6.1 Modelos de quimioterapia y resistencia

Como ya dijimos, la principal causa de falla de la quimioterapia es la presencia de células tumorales que son *inherentemente* resistentes o que *adquieren* resistencia. Luego, si queremos modelar los efectos de la resistencia, es necesario considerar tumores heterogéneos que estén formados por células sensibles y células resistentes a los efectos de la droga suministrada. Diversos trabajos se han realizado para modelar matemáticamente tumores heterogéneos aunque los modelos aplicados a la quimioterapia, en general, ignoran los efectos espaciales y se concentran en la evolución temporal del número de células.

El modelado de la resistencia no está exento de las controversias. Coldman and Goldie [CG85] desarrollaron un modelo probabilístico de mutaciones celulares que ocasionaban resistencia a la droga. Ellos consideraron que la probabilidad de mutación dependía de la dosis a la cual era suministrada la droga. Con este modelo mostraron que con detección y terapia temprana se reducen las oportunidades de que surja resistencia, pues hay un rápido incremento en la probabilidad de que la resistencia emerja con el aumento de la masa tumoral. También dedujeron que la quimioterapia combinada (dosis alternadas de drogas que producen resistencia en células diferentes) podría ser mejor que una quimioterapia secuencial (m dosis de la primera droga seguida de n dosis de la segunda) para controlar la resistencia. Pero Rosen [Ros86] no estuvo de acuerdo, pues él sostenía que la resistencia es *independiente* de la dosis y propuso un modelo de ecuaciones diferenciales para describir el crecimiento de un tumor heterogéneo con compartimentos de células sensibles y resistentes a la droga. La confusión se origina en cómo ellos definen resistencia. La definición de Coldman y Goldie se refiere a resistencia *inducida*¹ por droga, mientras que la definición de Rosen está vinculada con resistencia *adquirida*. Los métodos actuales para modelar resistencia varían dependiendo de qué tipo de resistencia queramos modelar [Pan98]. Una gran cantidad de trabajos sobre heterogeneidad tumoral fueron llevados a cabo por Michelson y sus colegas (ver [MMGL87, MS89, MITL89] y capítulo 7 de [AB97]). En [GML88] utilizan el modelo de [ML90] para tumores heterogéneos, que está basado en modelos básicos de dinámica poblacional con competencia, y le adicionan un término que describe el efecto producido por dosis periódicas de Mitomicina C. En este trabajo consideran resistencia adquirida y como resultado obtienen que la droga no sólo reduce la masa de células cancerosas, sino que también altera algunos de los parámetros que caracterizan el modelo. Por ejemplo, la capacidad de carga se reduce un 20-30%. Panetta [Pan98] considera los efectos de la droga aplicada sobre el tumor partiendo de un modelo de ecuaciones diferenciales ordinarias considerando sólo resistencia inducida (los parámetros del modelo están fijos para un régimen particular) y efectos instantáneos de las drogas. En estos trabajos, como en la mayoría de aquellos donde se modelan efectos de quimioterapia con resistencia, consideran que la especie resistente es *totalmente resistente*. Otros enfoques han dado modelos en donde las técnicas de optimización son utilizadas para minimizar la masa tumoral mientras se mantiene a la población celular normal por encima de un cierto umbral [Mur90, Mur95, Mur97]. Más recientemente Norris y colaboradores [NKB06] propusieron un modelo de crecimiento tumoral con simetría

¹La resistencia *inducida* es un tipo de resistencia adquirida en el cual la tasa de transición de células sensibles a resistentes también depende de la frecuencia con la que se suministra la droga

esférica en el cual se considera un esferoide como un continuo de células. Éstas reaccionan instantáneamente con la concentración local de droga y mueren sólo por los efectos de la misma (no hay muerte sin droga). Dependiendo de la relación entre la tasa de muerte y la de reproducción celular obtienen tres posibles resultados: regresión (terapia exitosa), crecimiento (terapia no exitosa) y tumor inestable.

En el presente capítulo propondremos, basados en el modelo descrito en el capítulo (3), dos formas de analizar la evolución de un tumor heterogéneo formado por células sensibles y resistentes a los efectos de una droga. En la primera, (más simple), supondremos que la droga suministrada instantáneamente detiene el ciclo celular de las células cancerosas no resistentes. En la segunda incluiremos difusión de la droga e inducción de apoptosis. Consideraremos tanto resistencia intrínseca como adquirida y células *totalmente* resistentes.

6.2 Efectos instantáneos

Como ya dijimos en este capítulo, la quimioterapia tiene como objetivo interrumpir el ciclo celular de las células cancerosas, bloquear su proliferación e inducir apoptosis.

Como primer paso de nuestro modelado, consideraremos una quimioterapia de efecto instantáneo. Supondremos que la droga suministrada interrumpirá el ciclo celular impidiendo la creación de nuevas células. Por ahora no consideraremos la inducción de apoptosis; la droga sólo bloquea la reproducción celular. Como estamos interesados en modelar el crecimiento de un tumor heterogéneo compuesto parcialmente de células resistentes, consideraremos la aparición de células no sensibles al tratamiento. Su resistencia se manifestará por la reactivación del ciclo celular. Es decir, las células resistentes podrán reproducirse y generar descendencia, mientras que las sensibles estarán imposibilitadas y no podrán culminar el ciclo celular. Anteriormente expusimos la existencia de dos diferentes tipos de resistencia: intrínseca y adquirida. Cada una de ellas tiene un origen diferente. En la primera las células ya son genéticamente resistentes antes de la dosificación de la droga. Podríamos decir que ya vienen “marcadas de fábrica”. En la resistencia adquirida las células se vuelven resistentes después de la aplicación de la terapia. Esta diferencia debe reflejarse en el diseño del modelo y en la implementación numérica.

De manera más compacta y ordenada, podemos decir que como primer paso para modelar y entender la resistencia intrínseca y la adquirida, estudiaremos el caso en el que:

1. Un tumor compuesto por una única especie es tratado con quimioterapia desde el tiempo t_q .
2. La droga actúa instantáneamente en todo el tumor y su efecto es bloquear permanentemente el ciclo celular, es decir, desde el tiempo t_q en adelante todas las células que conformaban el tumor no pueden reproducirse.
3. Podrán existir células resistentes. Su manifestación o aparición dependerá del tipo de resistencia (intrínseca o adquirida).

4. Las células modificadas difieren de las originales porque reactivan su ciclo celular. Consideraremos que su descendencia es resistente.

En las siguientes subsecciones discutimos y analizamos los resultados obtenidos para ambos tipos de resistencia.

6.2.1 Resistencia intrínseca

En este tipo de resistencia las células están predeterminadas a resistir. Luego, es necesario saber cuales serán sensibles al tratamiento y cuales no. Para modelar esta situación utilizaremos el modelo descrito en (3) para una única especie, (hasta el tiempo t_q), con una pequeña modificación. Cada vez que en la verificación del umbral de mitosis tengamos que $Q_M > q(\vec{i})/c(\vec{i})$, elegiremos un número aleatorio entre 0 y 1 con distribución uniforme, al cual llamaremos ν . Si ν es menor que una dada probabilidad, ϕ , las células que habitan el nodo \vec{i} serán resistentes al tratamiento. Si por el contrario, $\nu > \phi$ las células del nodo \vec{i} serán sensibles a la terapia. De esta manera “marcamos” previamente los nodos en donde habitarán células resistentes. Un nodo ya marcado no puede desmarcarse, es decir, si para algún tiempo, (menor que t_q), marcamos el nodo \vec{j} en los tiempos posteriores no se efectuarán sorteos para dicho nodo.

Al tiempo t_q se aplica la terapia que tiene como efecto el bloqueo del ciclo celular en aquellos nodos no marcados. Para tiempos posteriores no se efectúan más sorteos y tendremos presentes dos especies: una resistente que habita en los nodos marcados y otra, sensible, que está presente en los nodos que no han sido seleccionados. La segunda ya no verifica su umbral de mitosis porque, por los efectos de la droga, tiene prohibida la reproducción.

En la figura (6.1) mostramos los resultados obtenidos, en una realización, para distintos valores de ϕ . Se observa el mismo patrón de apertura de sectores que el reportado en el capítulo anterior. La forma que elegimos para marcar los nodos en donde habitan las células resistentes implica que es más probable tener nodos seleccionados dentro del tumor que en su periferia, (por la simple razón de que en los primeros se realizaron más sorteos). Sin embargo, estos nodos están habitados mayormente por células muertas o quiescentes, es decir, están en regiones con poco nutriente. Al aplicarse la terapia se detiene el ciclo celular de todas las células, salvo de aquellas que están predeterminadas a ser resistentes. Para ϕ menor al 0.1% no siempre habrá nodos (o serán algunos pocos) preseleccionados en la región activa del tumor. Esta ausencia produce un incremento en la cantidad de nutrientes que ingresa dentro del tumor reactivando, en los lugares donde está permitida, la reproducción. Es decir, las células que eran quiescentes antes de la terapia y están en un nodo preseleccionado, pueden activar nuevamente su ciclo celular gracias no sólo a ser resistentes sino también porque comienzan a habitar en una región con disponibilidad de nutrientes. En la figuras (6.1a) y (6.1b) se pueden observar regiones internas, (donde se pierde la simetría), con una concentración de células más grande que al tiempo t_q (ver figura (5.1c,d)).

Cuando ϕ se vuelve más grande crece la probabilidad de que los nodos del borde del tumor estén marcados. Luego, la periferia sigue siendo la región más activa del tumor. Esto implica que el interior del tumor siga padeciendo la carencia de nutrientes impidiendo

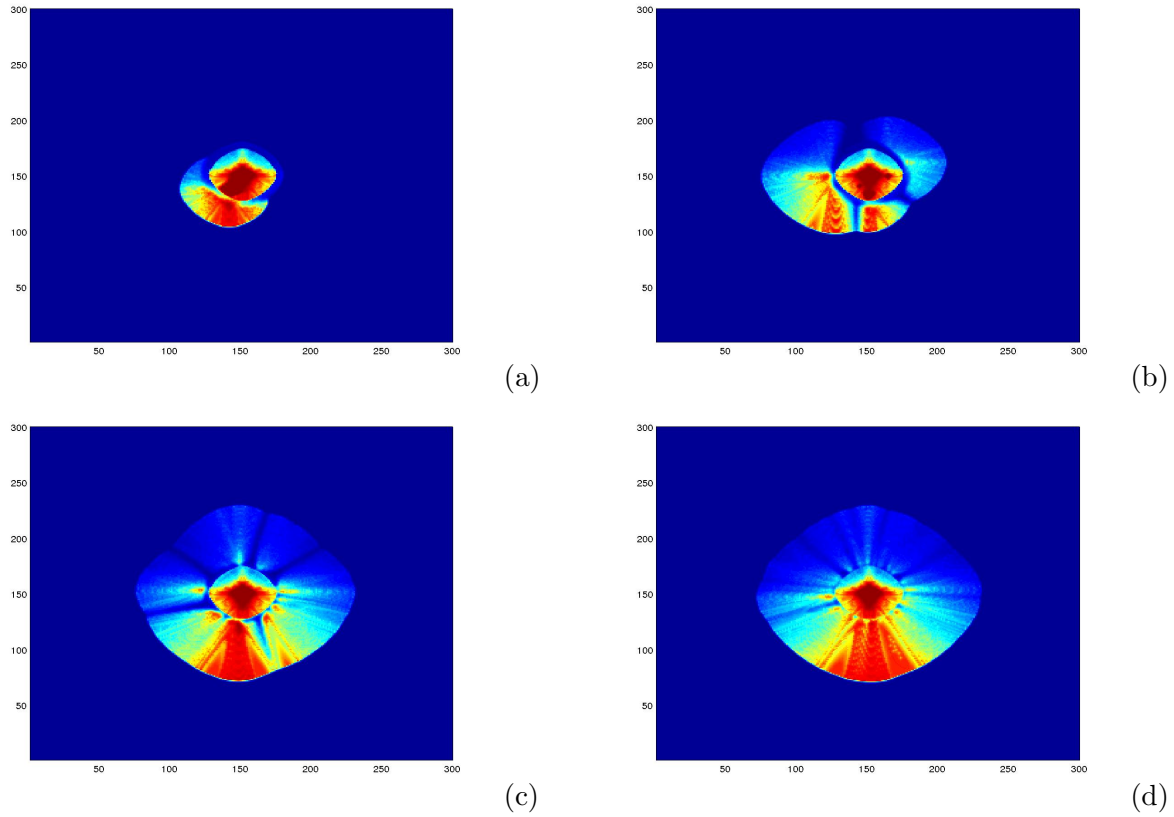


FIGURA 6.1: **Resistencia intrínseca.** Tumores heterogéneos con células resistentes y no resistentes, a los 60 días después de aplicar la terapia, con diferentes probabilidades, ϕ . En (a) $\phi = 5 \times 10^{-5}$, en (b) $\phi = 10^{-3}$, en (c) $\phi = 10^{-2}$, en (d) $\phi = 10^{-1}$.

la transición de células quiescentes a proliferativas que se da cuando $\phi \leq 10^{-3}$. En la figura (6.2) mostramos la evolución del radio de giro del tumor heterogéneo en función de la probabilidad ϕ . Cada punto fue obtenido promediando sobre seis realizaciones. Esta curva no crece monotonamente con ϕ . El hecho de que a mayor probabilidad ϕ habrá más células cancerosas con el ciclo celular activo, no quiere decir que mayor radio de giro tendrá el tumor heterogéneo para ϕ pequeños. Para ϕ muy pequeños, del orden de 10^{-5} no se darán muchas mutaciones (tal vez sólo se de una), luego estas células, que surgen en una región interna, tendrán disponibilidad de alimentos y espacio. Para ϕ del orden de 10^{-4} habrán más mutaciones, también en regiones internas. Luego, las células resistentes compiten entre ellas por alimentos y espacio impidiéndose entre ellas la reproducción. Para ϕ más grandes, aparecen células resistentes más cerca del borde del tumor donde hay alimentos y espacio disponible, siendo a partir de allí R_g monótona creciente con ϕ . Como es de esperar para ϕ grandes, las curvas se aproximan a sus asíntotas, que están indicadas con líneas de puntos y sus valores se corresponden con el radio de giro del tumor homogéneo, al tiempo dado, si no se hubiese aplicado terapia (si $\phi = 1$ entonces todos

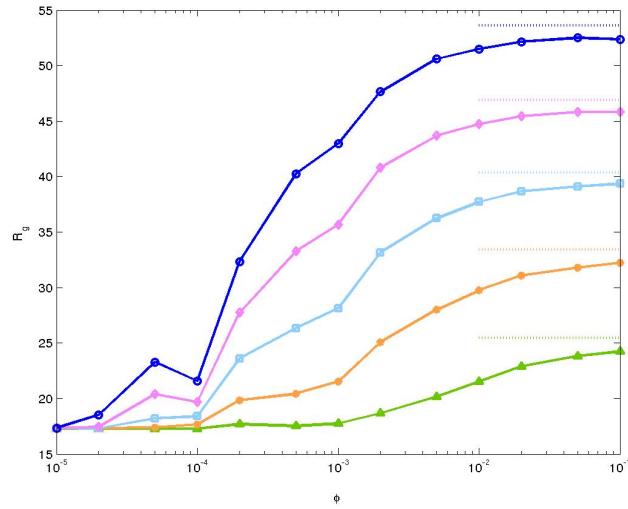


FIGURA 6.2: **Radio de giro con resistencia intrínseca.** Radio de giro de un tumor heterogéneo, con resistencia intrínseca, en función de la probabilidad ϕ para: 40 (verde), 54 (naranja), 66 (celeste), 78 (rosa) y 90 (azul) días. Las líneas punteadas indican el radio de giro, si no se hubiese aplicado la terapia, del tumor homogéneo a los mismos tiempos.

los sitios están marcados, el tumor es *totalmente* resistente, sigue siendo homogéneo y la terapia no altera su evolución).

En la siguiente sección analizaremos la evolución de un tumor heterogéneo con resistencia adquirida y compararemos los resultados con los obtenidos en esta sección.

6.2.2 Resistencia adquirida

Este tipo de resistencia se caracteriza porque las células se vuelven resistentes después de la aplicación de la terapia por la interacción con la droga. En este caso utilizaremos el modelo descrito en (3) para una única especie hasta el tiempo t_q . En este tiempo se bloquea la reproducción celular de todas las células que conforman el tumor y cada 12 horas, en aquellos nodos cuya concentración $c(\vec{i})$ sea mayor a 0.1, (es decir, en aquellos nodos en donde por lo menos hay una célula cancerosa viva), elegimos un número aleatorio, al que también denominaremos ν , entre 0 y 1, con distribución uniforme. Nuevamente, si ν es menor que una dada probabilidad, ϕ , las células que habitan el nodo \vec{i} se vuelven resistentes al tratamiento y reactivan su ciclo celular. Si, por el contrario, $\nu > \phi$, las células del nodo \vec{i} permanecen sensibles a la terapia. Decidimos sortear ν cada 12 horas porque es el tiempo en el que se verificaría el umbral de mitosis si las células tuvieran activo el ciclo celular.

La figura (6.3) es similar a (6.1) pero con resistencia adquirida. En la sección anterior vimos que para ϕ pequeños la mayoría de las células intrínsecamente resistentes estaban en regiones internas al tumor. El caso que estamos discutiendo ahora es diferente porque las células que adquieren resistencia estarán ubicadas, en general, en la región externa del tumor. Por lo tanto, la especie resistente tiene disponibilidad de nutrientes. Luego,

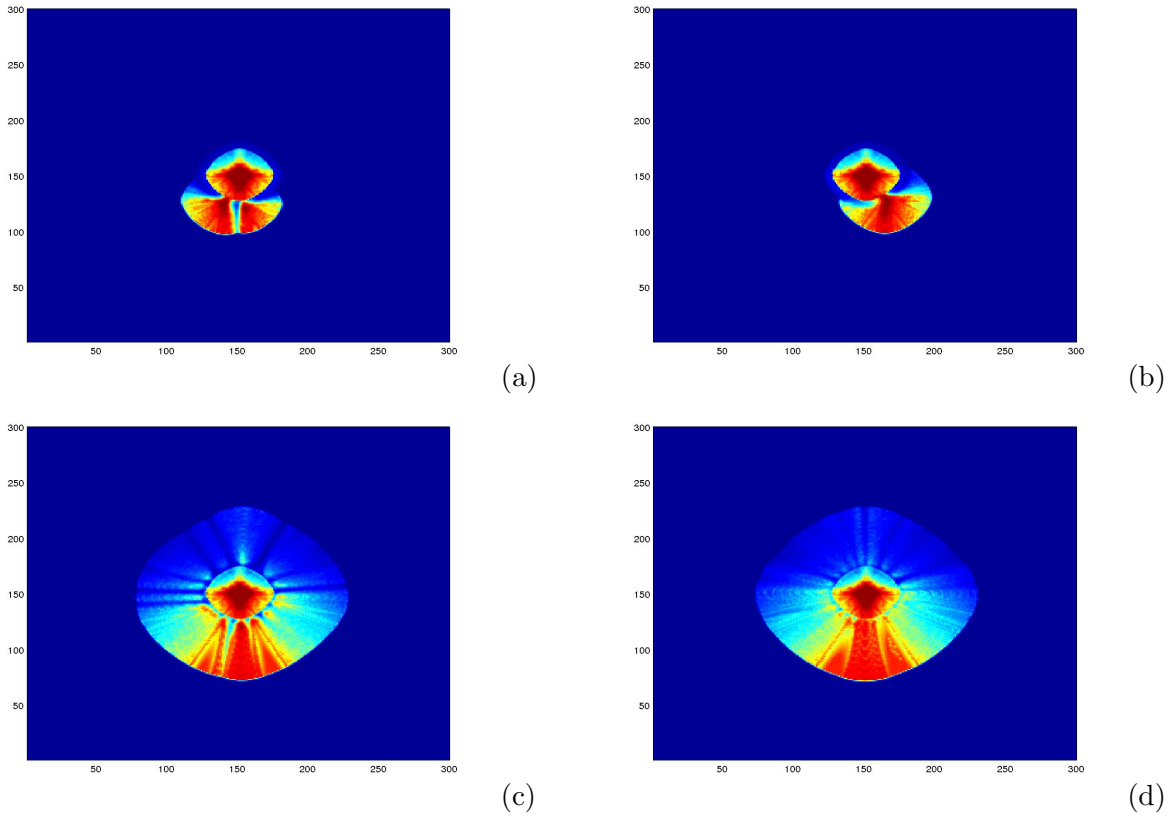


FIGURA 6.3: **Resistencia adquirida.** Tumores heterogéneos con células resistentes y no resistentes, a los 60 días después de aplicar la terapia, para: $\phi = 5 \times 10^{-5}$ (a), $\phi = 10^{-3}$ (b), $\phi = 10^{-2}$ (c), $\phi = 10^{-1}$ (d).

un tumor que adquiere resistencia es más ventajoso que uno intrínsecamente resistente, para una misma probabilidad de resistencia, ϕ . Luego, el radio de giro del tumor heterogéneo con resistencia adquirida crece más rápido que aquél con resistencia intrínseca como se ve en la figura (6.4). A diferencia con la resistencia intrínseca, el radio de giro es una función monótona creciente con ϕ debido a que las células que adquieren resistencia aparecen en el borde del tumor. Claramente la región periférica es la más favorable para el desarrollo de la especie resistente por la disponibilidad de nutriente, y dentro de ésta el sector inferior por estar más cerca del vaso sanguíneo. Es por ello que si la primer mutación se origina en ese sector el crecimiento de la nueva subespecie se verá impulsado por la alta disponibilidad de nutrientes generando una depresión en la concentración de nutrientes libres, “apantallando” las regiones superiores y haciéndolas menos favorables aún para la especie resistente. Si hubiésemos dejado evolucionar el tumor homogéneo original sin aplicarle quimioterapia, la población y la superficie ocupada serían mayores que las correspondientes cantidades para el tumor con resistencia adquirida, después del tratamiento. Sin embargo, este último puede adquirir un gran desarrollo poblacional en

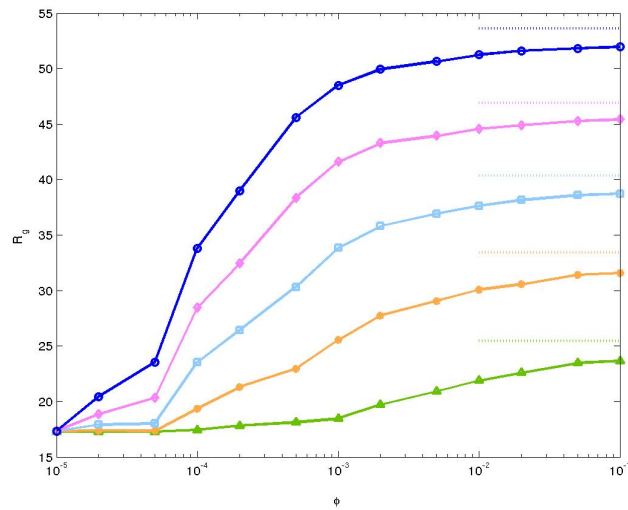


FIGURA 6.4: **Radio de giro con resistencia adquirida.** Radio de giro de un tumor heterogéneo, con resistencia adquirida, en función de la probabilidad ϕ para: 40 (verde), 54 (naranja), 66 (celeste), 78 (rosa) y 90 (azul) días. Las líneas punteadas indican el radio de giro, si no se hubiese aplicado la terapia, del tumor homogéneo a los mismos tiempos.

la parte inferior de la red, cercana al torrente sanguíneo. Esta característica podría ocasionar un incremento en las probabilidades de metástasis.

Tenemos que considerar que la efectividad de una droga particular depende de la concentración de la misma en las cercanías del tumor, del tiempo de exposición y de la sensibilidad de las células tumorales a la droga. También es sabido que las drogas afectan, mayoritariamente, a las células proliferativas y no al tumor entero. Estas consideraciones, de las cuales depende fuertemente el éxito de la quimioterapia, serán tenidas en cuenta en la siguiente sección donde formularemos y analizaremos las modificaciones necesarias para un modelado más adecuado de la interacción droga-tumor.

6.3 Interacción droga-tumor

En la sección anterior estudiamos el efecto de una terapia que instantáneamente bloqueaba el ciclo celular. Si no aparecieran células resistentes después de la aplicación de la terapia, tendríamos un tumor homogéneo cuyo crecimiento se ha paralizado. En la realidad las drogas no actúan instantáneamente. Estas se difunden por el tejido desde el torrente sanguíneo e interactúan con las células cancerosas bloqueándoles el ciclo celular e induciéndolas a la muerte (apoptosis). En la siguiente subsección describimos los cambios efectuados al modelo presentado en el capítulo (3) para una versión más realista de la quimioterapia. Los fundamentos experimentales de estas modificaciones fueron desarrollados al comienzo de este capítulo.

6.3.1 Modelo y parámetros

Para formular el modelo debemos hacer algunas suposiciones y consideraciones. Para fijar ideas supondremos, al igual que en las secciones y capítulos previos, que hasta el tiempo en el cual se aplica la terapia, t_q , el tumor está compuesto por una única población. Las reglas a nivel celular, para tiempos mayores que t_q , dependerán de la situación que querramos modelar (efecto de la quimioterapia sobre el tumor homogéneo o resistencia intrínseca o adquirida). La droga suministrada fluye por el torrente sanguíneo penetrando en el tejido por difusión. Luego, la dinámica es similar a la del nutriente libre. Supondremos que al momento de aplicarse la dosis la concentración de la droga, w , en el vaso sanguíneo es constante, w_0 , disminuyendo exponencialmente a partir del momento en que se termina de aplicar. Las moléculas de la droga se difunden por el tejido, desde del vaso sanguíneo, con coeficiente de difusión D_w . Su difusión es independiente de las concentraciones celulares y del nutriente. Luego, podemos escribir la ecuación discretizada:

$$w(\vec{i}, t + \tau) = w(\vec{i}, t) + \frac{\tau D_w}{\Delta^2} \sum_{\vec{i}'} (w(\vec{i}', t) - w(\vec{i}, t)), \quad (6.1)$$

donde la suma se realiza sobre los vecinos cercanos. No consideramos un término de degradación de la droga. A los efectos del modelo esta degradación no es importante porque estamos estudiando la influencia de la droga sólo sobre el tumor y no sobre todo el organismo.

Supondremos que si al momento de la verificación del umbral de mitosis, Q_M , la concentración de la droga en el nodo \vec{i} es mayor que un cierto umbral, Q_{MW} , entonces se bloquea la reproducción y se procede a “marcar” el nodo. Si un nodo está marcado por más de M pasos temporales un número proporcional a $w(\vec{i})$ de células mueren por apoptosis. La muerte por apoptosis es diferente a la muerte por necrosis, porque produce un daño menor en el tejido circundante. Luego, podemos suponer que una porción χ de células muertas por apoptosis es removida por el organismo y reemplazada por células sanas. En el modelo, esto implica suponer que no todas las células que mueren por apoptosis pasan a formar parte de la población de células muertas, sino que una fracción χ , incrementa la población de células sanas. Luego si al tiempo $t - M\tau$ se verificó que $w(\vec{i}) > Q_{MW}$, al tiempo t tendremos que:

$$c(\vec{i}) \rightarrow c(\vec{i})(1 - w(\vec{i})/w_0) \quad (6.2)$$

$$d(\vec{i}) \rightarrow d(\vec{i}) + (1 - \chi)c(\vec{i})w(\vec{i})/w_0 \quad (6.3)$$

$$h(\vec{i}) \rightarrow h(\vec{i}) + \chi c(\vec{i})w(\vec{i})/w_0. \quad (6.4)$$

Hemos considerado que la tasa de muerte celular, por efecto de la quimioterapia, es lineal con la concentración de droga. Otra forma funcional se podría haber utilizado. Por ejemplo, podríamos reemplazar w/w_0 por $w/(k + w)$ con k constante. Tanto la cinética lineal como la de Michaelis-Menten están de acuerdo con datos experimentales de esferoides tumorales [NKB06].

Utilizamos un tratamiento con dosis continua durante los primeros cinco días. En estos días la concentración de droga es constante en el vaso sanguíneo. En los días 6 y 7 la

concentración decae exponencialmente. A partir del día 8, y hasta que se vuelva a aplicar una nueva dosis, la concentración de droga en el vaso sanguíneo es nula. El día 25 se reinicia el tratamiento con una nueva dosis, repitiéndose el ciclo cada 25 días.

Algunos datos experimentales nos ayudan a decidir el valor de los parámetros a utilizar. En [YSS82] se muestran algunos resultados experimentales en función de la concentración de droga. Ésta depende del tipo de droga y varía desde $0,5\mu\text{g}/\text{ml}$ a $400\mu\text{g}/\text{ml}$. En nuestras simulaciones w_0 tomará valores entre $10\mu\text{g}/\text{ml}$ y $100\mu\text{g}/\text{ml}$. El coeficiente de difusión de la droga depende del tamaño de la molécula de droga y de la permeabilidad del tejido. En mediciones para tumores en soluciones al 2% de agar varía en el rango $1,1 - 15 \times 10^{-6} \text{cm}^2/\text{s}$ [NKB06]. En nuestras simulaciones utilizaremos el valor $10^{-3} \text{cm}^2/\text{h}$. Consideraremos que la trayectoria apoptótica se culmina, una vez marcado el nodo, a los dos días, es decir, $M\tau = 2$ días.

En algunas de nuestras simulaciones agregaremos un factor de toxicidad. Este factor implica que la droga no sólo actúa sobre las células proliferativas, sino que también afecta a todo el tumor por su efecto tóxico. Para este caso definimos un nuevo umbral Q_{DW} . Si $w(\vec{i}) > Q_{DW}$ entonces la mitad de las células que habitan el nodo \vec{i} mueren. Este umbral se revisará cada doce horas en el momento en que se revisa Q_D . La implementación para incorporar resistencia intrínseca o adquirida es igual a la utilizada en la sección (6.2) con la salvedad de que las células sólo pueden adquirir resistencia después de que concluye la primer aplicación, es decir, después de los primeros 25 días de tratamiento.

Como planteamos al comienzo del capítulo las células que adquieren resistencia, debido a la interacción con la droga, han sufrido un “daño sin muerte”. Lo que significa que además de ser resistentes al tratamiento también presentan otras alteraciones genéticas que generan una especie con más ventajas que la anterior. En nuestro modelo no consideramos posibles “mutaciones” genéticas que alteren otra propiedad que no sea la de resistir al tratamiento.

6.3.2 Tumor homogéneo

Inicialmente estudiamos los efectos de aplicar quimioterapia a un tumor cuyas células no resisten al tratamiento. De resultados previos podemos afirmar que “desmarcar” un nodo ya marcado, después de llevarse a cabo la apoptosis o “remarcarlo” al tiempo en el que se lleva a cabo la apoptosis, lleva al mismo resultado que dejarlo marcado. Utilizamos distintos parámetros para estudiar los distintos efectos de la quimioterapia. Consideraremos que la terapia es aplicada al tumor (A) del capítulo anterior. En la tabla (6.3.2) mostramos los valores de los parámetros que utilizamos para los resultados que presentaremos en esta sección. Las células que se verán afectadas por la acción de la droga están ubicadas en la periferia. Al bloquear la reproducción e inducir apoptosis en estas células periféricas la tasa de absorción de nutriente libre disminuye en el borde del tumor permitiendo su ingreso a la región interior del mismo. Luego, algunas de las células que eran quiescentes podrán reingresar al ciclo celular. Cuando esto ocurra la droga hará efecto sobre ellas. Si al momento de reproducirse la concentración de droga está por debajo del umbral Q_{MW} , el tumor comienza a crecer rápidamente debido a la gran disponibilidad de nutrientes. Su crecimiento se concentra fuertemente en la periferia. Esta dinámica dá como resultado un tumor con anillos de gran densidad poblacional, ver figuras (6.5,6.6,6.7).

Nombre	$w_0[\mu g/ml]$	$Q_{MW}[\mu g/ml]$	$Q_{DW}[\mu g/ml]$
(i)	20	1	-
(ii)	50	1	-
(iii)	70	1	-
(iv)	20	0.5	-
(v)	50	0.5	-
(vi)	70	0.5	-
(vii)	20	1	5
(viii)	50	1	5
(ix)	70	1	5

TABLA 6.1: Lista de los parámetros usados para las simulaciones correspondientes a las figuras de esta sección. Los parámetros celulares se corresponden con el (A) del capítulo anterior. En todos los casos consideramos $\chi = 0.5$, $D_w = 0.001cm^2/h$

La evolución temporal de la población de células vivas varía dependiendo de la dosis suministrada. Las líneas negras de las figuras (6.5a) y (6.6a) corresponden a terapias en las que todas las células cancerosas mueren dentro de los 25 días. En este tipo de realización tenemos en cuenta efectos tóxicos, por lo tanto las células mueren por necrosis y el tamaño del tumor queda constantemente fijo, es decir, la región que éste ocupaba queda poblada por células necróticas. El resto de las curvas tiene un comportamiento oscilatorio no periódico. Estas curvas no son periódicas porque si bien el crecimiento tumoral disminuye no se paraliza y las células cancerosas pueden alcanzar regiones con mayor cantidad de nutrientes, luego los máximos son cada vez más altos. La curva verde de la figura (6.5a) pareciera tener sus máximos locales iguales; sin embargo, esto no se cumple para tiempos más grandes debido a un incremento en la población celular en la región superior del tumor donde comienza a haber alimentos disponibles por la disminución en la consumición total del tumor, ver figura (6.13a).

El radio de giro se incrementa pero no demasiado en comparación con el incremento en la población celular. Por ejemplo, para un tratamiento del tipo (i) el radio de giro aumenta en un factor 1,4 mientras que la población celular total aumenta un factor 2,2. Para el tratamiento (ii) tenemos un incremento del 29% en el radio de giro y del 113% para la población celular. El crecimiento puede ser tan rápido que poco después el nutriente se hace insuficiente para mantener vivas a todas las células, las que comienzan a morir nuevamente, pero esta vez por escasez de alimentos, tal como se ve en la figura (6.7a), donde el pico de la curva roja comienza a decrecer antes de la próxima aplicación de la droga.

Para dosis grandes, (en nuestro modelo superiores a $80\mu g/ml$ para $Q_{MW} = 0.5\mu g/ml$, o superiores $40\mu g/ml$ cuando incluimos muerte por toxicidad), la terapia es exitosa, y después de la primer aplicación todas las células tumorales mueren dentro de los primeros 25 días. Este sería un caso similar al tratado anteriormente como efecto instantáneo sólo

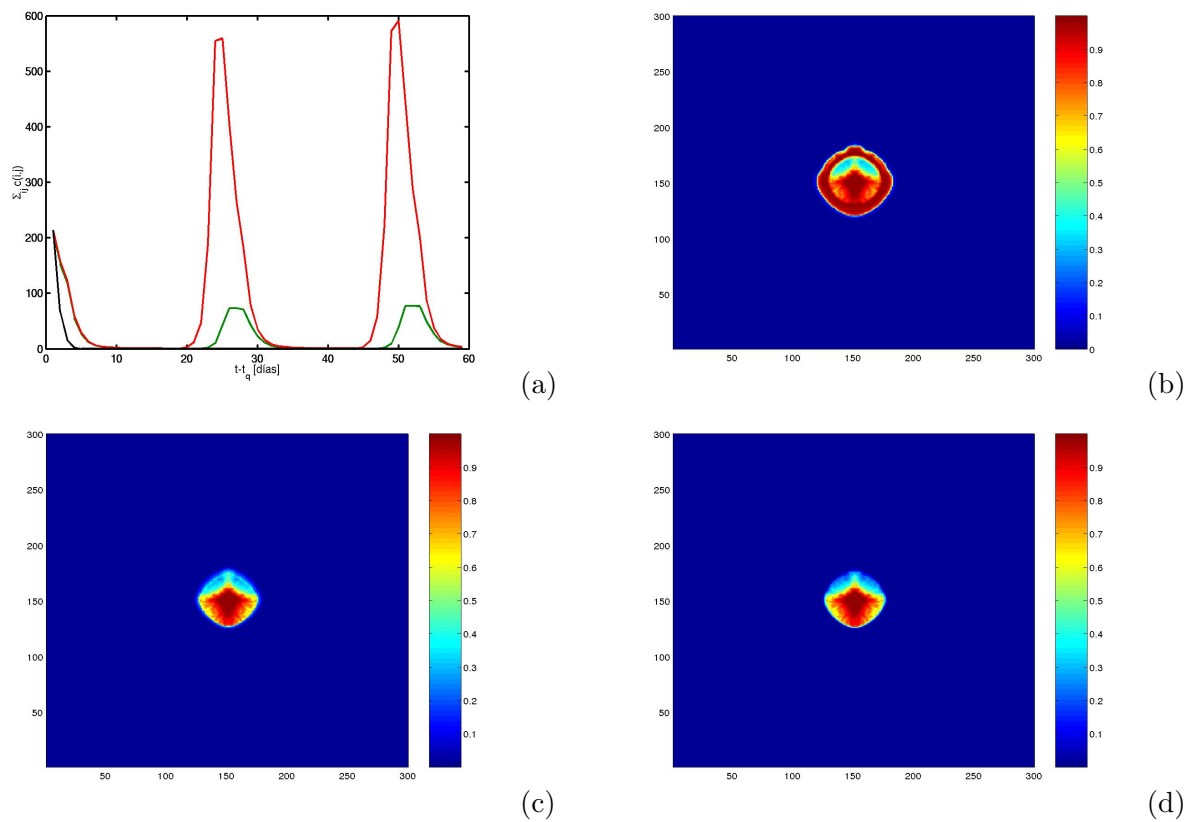


FIGURA 6.5: **Quimioterapia con dosis de $70\mu\text{g}/\text{ml}$.** (a) Evolución temporal de la población de células vivas después de la primer aplicación de la terapia para los tumores (iii) (rojo), (vi) (verde) y (ix) (negro). Tumores (iii) (b), (vi) (c) y (ix) (d) a los 60 días después de aplicar la terapia.

que en vez de bloquear el ciclo celular la terapia induce apoptosis. Una pregunta que surge inmediatamente es ¿Podemos aumentar la dosis hasta obtener una terapia exitosa? Está claro que, cuanto más pequeña es la dosis, menos células cancerosas se verán afectadas. Pero hay un límite en la dosis que se puede suministrar a los pacientes sin causar graves efectos colaterales de toxicidad. En general, la dosis se suministra en función de la superficie corporal de los pacientes, siendo las formas de Dubois-Dubois, de Mosteller y de Haycock las más utilizadas. Supongamos que a un paciente se le aplica quimioterapia con una dosis que no será exitosa pero que no se puede aumentar y supongamos que se tiene pensado intervenir quirúrgicamente. Según nuestro modelo: ¿podríamos sugerir el momento más adecuado para la operación? La respuesta es: sí. Como dijimos, si bien la población celular se incrementa, en algunos casos más del 100%, el radio de giro del tumor no aumenta demasiado quedando el tumor localizado, siendo esta una primer ventaja para la intervención quirúrgica. En la figura (6.8) mostramos, para los tumores (i), (iv) y (vii), la derivada del radio de giro con respecto al tiempo, (a), y la derivada de la población de células vivas con respecto al tiempo, (b). Una característica común, para

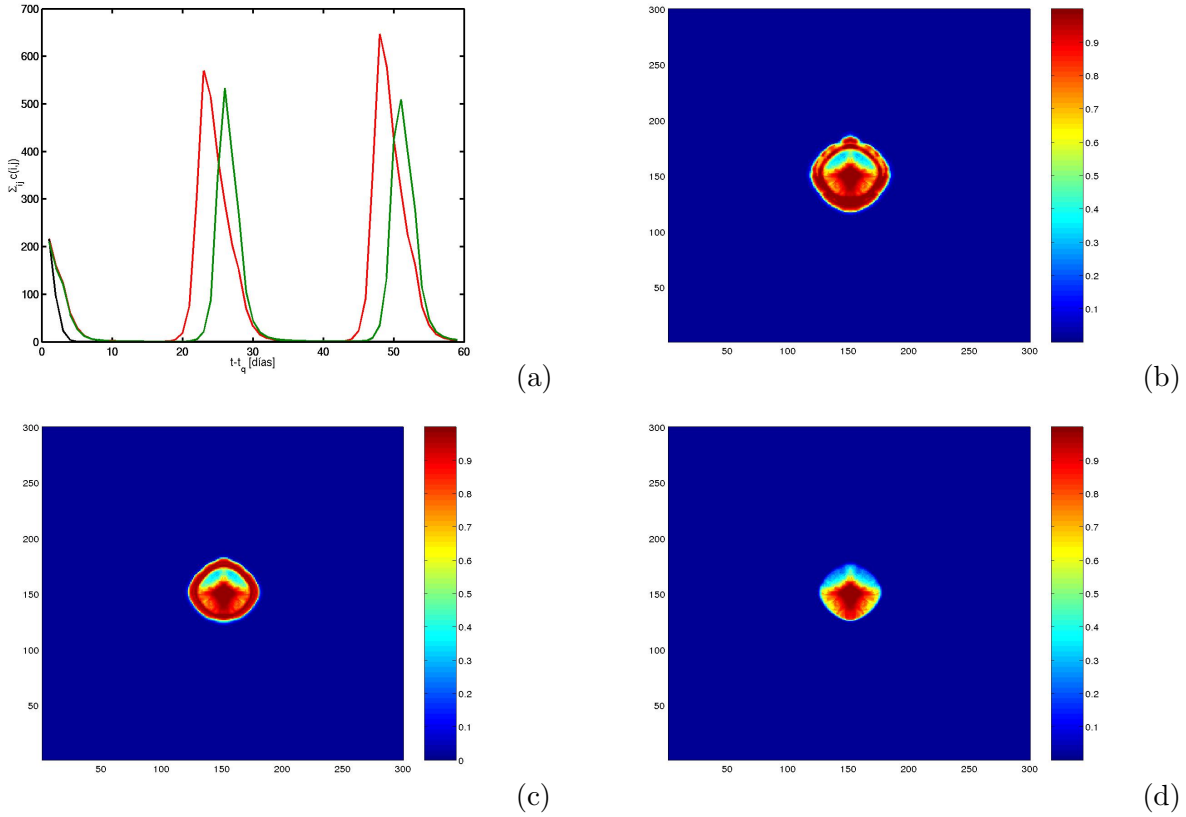


FIGURA 6.6: **Quimioterapia con dosis de $50\mu\text{g}/\text{ml}$.** (a) Evolución temporal de la población de células vivas después de la primer aplicación de la terapia para los tumores (ii) (rojo), (v) (verde) y (viii) (negro). Tumores (ii) (b), (v) (c) y (viii) (d) a los 60 días después de aplicar la terapia.

estos y otros resultados que no se muestran, es que después de aplicar la quimioterapia y hasta la mitad del ciclo, que en nuestro caso es de 25 días, ambas derivadas son negativas o nulas. Luego, según nuestro modelo, en el período comprendido entre los 5 y los 12 días después de aplicada la droga, es cuando habría mayores probabilidades de éxito, si se interviniese quirúrgicamente, porque sería más probable que se pudiera extraer todo el tumor sin dejar células cancerosas.

Una cantidad interesante que mide de alguna manera la conveniencia de la terapia es el cociente entre el radio de giro del tumor al cual se le aplicó terapia, al cabo de un cierto tiempo, y el radio de giro que hubiese alcanzado sin la acción terapéutica. Si al tumor del tipo (A) no se le hubiese aplicado quimioterapia hubiese alcanzado un radio de giro de $1777\mu\text{m}$. En la figura (6.9) podemos observar que con ausencia de toxicidad, mientras la terapia no es fuertemente efectiva, el cociente entre los radios de giros sigue una ley de potencias con exponente $-1/5$ independientemente de la sensibilidad a la droga. Para las simulaciones representadas, en esta figura, en color verde podemos observar que para dosis superiores a $80\mu\text{g}/\text{ml}$ la terapia no sólo inhibe el crecimiento del tumor sino que lo

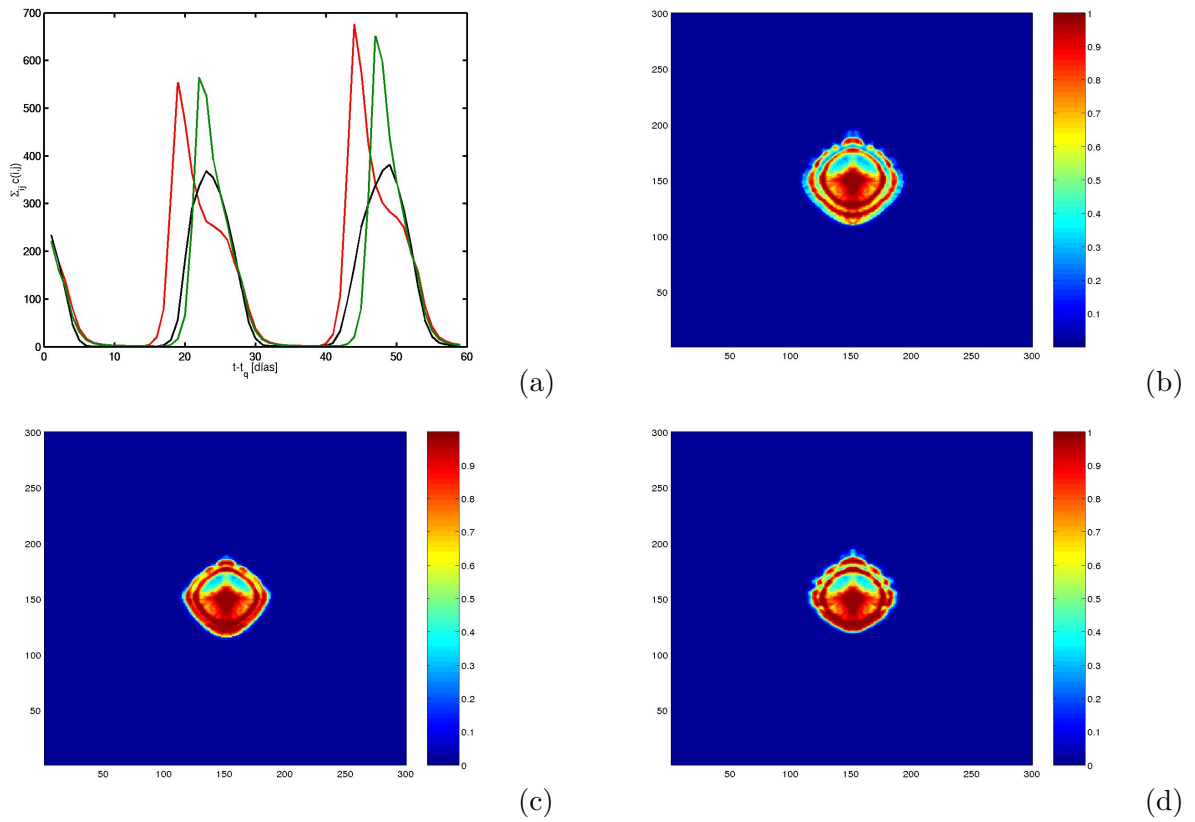


FIGURA 6.7: **Quimioterapia con dosis de $20\mu\text{g}/\text{ml}$.** (a) Evolución temporal de la población de células vivas después de la primer aplicación de la terapia para los tumores (*i*) (rojo), (*iv*) (verde) y (*vii*) (negro). Tumores (*i*) (b), (*iv*) (c) y (*vii*) (d) a los 60 días después de aplicar la terapia.

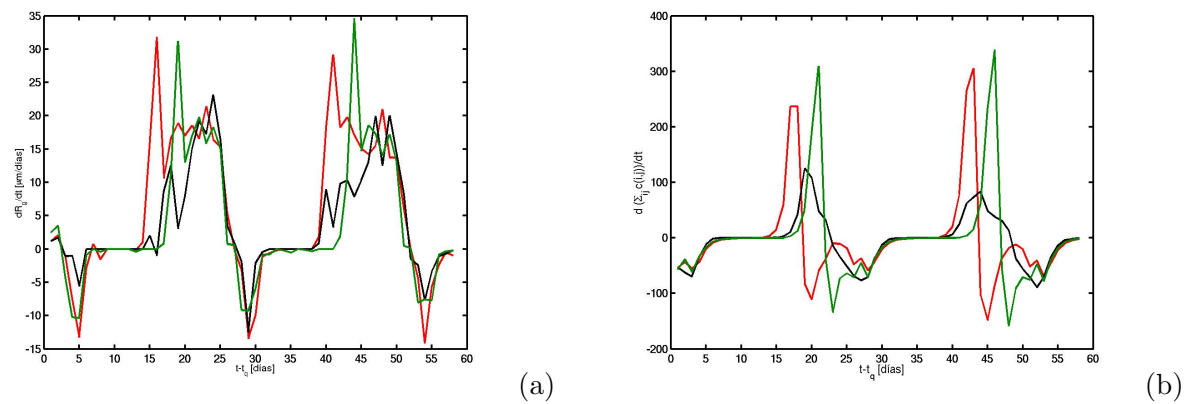


FIGURA 6.8: **Derivadas del radio de giro y del número de células vivas con respecto al tiempo,** para los tumores (*i*) (rojo), (*iv*) (verde) y (*vii*) (negro).

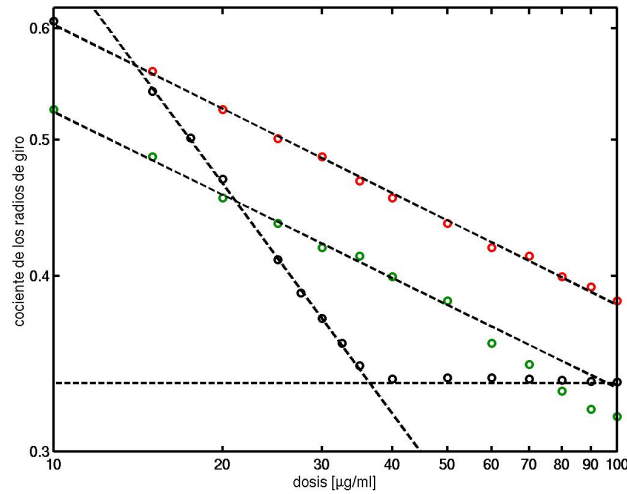


FIGURA 6.9: **Cociente de los radios de giro** para tumores con: $Q_{MW} = 1\mu g/ml$ (rojo) y $Q_{MW} = 0.5\mu g/ml$ (verde) sin efectos de toxicidad y con efectos tóxicos $Q_{MW} = 1\mu g/ml$, $Q_{DW} = 5\mu g/ml$ (negro), a los 60 días después de aplicar terapia. La línea de trazos horizontal corresponde al cociente entre el radio de giro del tumor al tiempo t_q y el radio del giro del mismo para $t - t_q = 90$ días sin aplicarse terapia, $1777\mu m$.

hace “retroceder”. En presencia de toxicidad para dosis superiores a los $40\mu g/ml$ la terapia es totalmente efectiva y “paraliza” el crecimiento del tumor. Para dosis menores que $40\mu g/ml$ tenemos una ley de potencias con exponente -0.543 ± 0.004 . Para dosis mayores a $80\mu g/ml$, según nuestro modelo, es menos conveniente usar drogas con efectos tóxicos que drogas sin efectos tóxicos para células más sensibles. Esto es así porque la muerte por toxicidad es considerada como muerte por necrosis, y por efectos de inflamación las células necrotizadas ocupan más espacio que las células muertas por apoptosis. En nuestro modelo un 50% de las células cancerosas que mueren por apoptosis son absorbidas por el organismo reduciendo el tamaño ocupado por el tumor. Podemos pensar que una medida de efectividad de la terapia, al tiempo t , es $1 - \lambda$ donde λ es el cociente entre el radio de giro del tumor al cual se le aplicó terapia, al tiempo t , y el radio de giro que hubiese alcanzado sin la acción terapéutica, al tiempo t . Con esta definición tenemos que para el tipo (vi) la efectividad de la terapia al tiempo $t = 90$ días, (o $t - t_q = 60$ días), es 0.65 mientras que para (vii) la efectividad es 0.53.

En las secciones siguientes analizaremos el comportamiento de un tumor heterogéneo compuesto por células sensibles al tratamiento y por células totalmente resistentes al mismo. Utilizaremos, al igual que en esta sección, el tumor del tipo (A) con tratamientos del tipo (vi) y (vii) y estudiaremos la aparición de resistencia intrínseca y adquirida.

6.3.3 Resistencia intrínseca

Recordemos que en la resistencia intrínseca las células son inherentemente resistentes a la droga. En esta sección procederemos de igual manera que (6.2.1). Antes de aplicar

la terapia, que será implementada como se explicó en (6.3.1), tendremos nodos preseleccionados. Las células que habiten estos nodos están predeterminadas a ser resistentes. La diferencia con (6.2.1) es que el tumor original no está totalmente “paralizado” y ahora ambas especies, resistente y no resistente, competirán por los alimentos y el espacio.

Si la terapia para el tumor homogéneo es totalmente exitosa y después de los 25 días

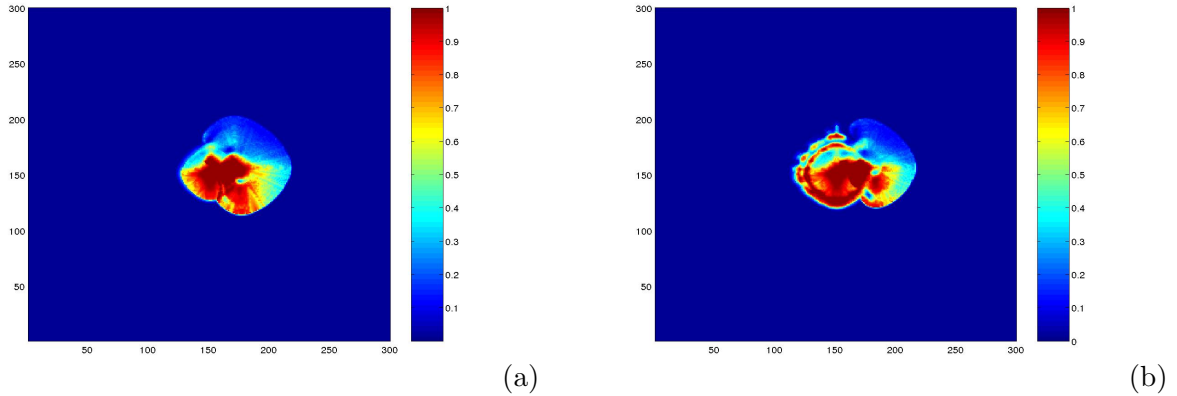


FIGURA 6.10: **Tumores heterogéneos con resistencia intrínseca** a los 60 días de aplicarse la terapia del tipo (vi) , (a) y del tipo (vii) , (b).

de su inicio todas las células están muertas, la aparición de células inherentemente resistentes será una situación similar a la ya discutida en la sección (6.2.1). Para estudiar los efectos de la resistencia intrínseca consideraremos que al tumor (A) le aplicamos los tratamientos del tipo (vi) y del tipo (vii) de la sección previa. La aparición de células resistentes dará origen a un tumor heterogéneo cuya evolución dependerá de la probabilidad ϕ . Nuevamente, para probabilidades altas, $\phi > 10^{-2}$, la nueva subpoblación crece de manera descontrolada ocupando toda la periferia del tumor original y obtenemos resultados similares a los de las figuras (6.1c, d). Para $\phi = 10^{-5}$ no tenemos células cancerosas vivas que sean intrínsecamente resistentes. En la figura (6.10) mostramos, para una misma distribución de nodos intrínsecamente resistentes con $\phi = 10^{-4}$, los resultados obtenidos para el tratamiento (vi) , (a), y para el tratamiento (vii) , (b). Podemos ver que en el primero la población resistente evoluciona más rápidamente que en el segundo debido a que en este tumor heterogéneo la población resistente tiene una mayor competencia con la especie sensible pues el efecto de la terapia sobre esta no es tan efectivo como en el caso anterior. En la figura (6.11) podemos ver la evolución de las poblaciones de células vivas de ambas especies. La población de células vivas de la especie sensible tiene un comportamiento oscilatorio debido a la acción de la terapia. Por efectos competitivos la población resistente también es oscilatoria. Su amplitud disminuye a medida que el máximo de la población de células vivas de la especie sensible comienza a disminuir. Si toda la población sensible muere, la masa tumoral viva se vuelve homogénea y totalmente resistente produciendo que la terapia “fracase”. Una magnitud interesante es la proporción de células vivas de la población resistente que conforma el tumor, es decir, el cociente $\sum_{i,j} c^2(i,j) / \sum_{i,j} (c^1(i,j) + c^2(i,j))$, donde el supraíndice 1 representa a la población sensible y el supraíndice 2 a la resistente. De igual manera podemos definir

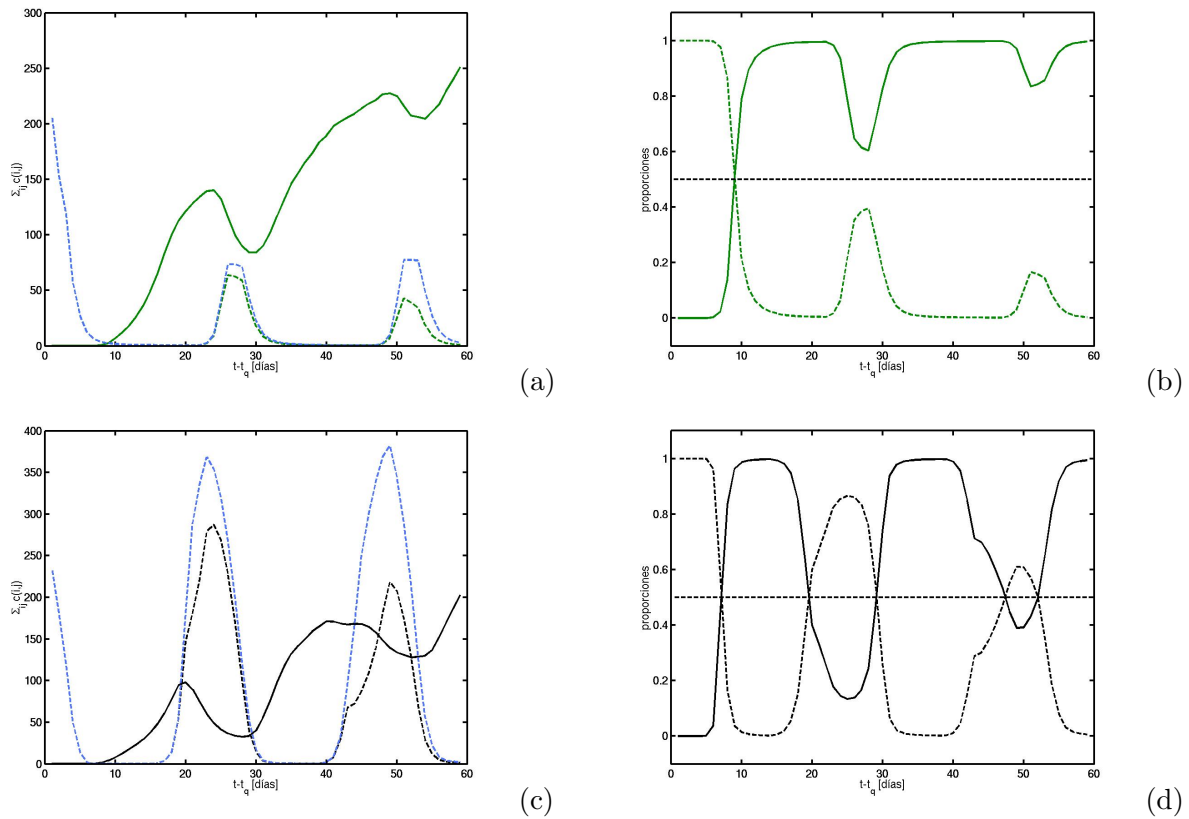


FIGURA 6.11: **Poblaciones y proporciones de células vivas.** Evolución temporal de la población de células vivas después de la primer aplicación de la terapia para las aplicaciones (vi), (a), y (vii), (c). En ambos casos la línea sólida corresponde a la especie resistente, la línea a trazos azul se corresponde con la evolución sin la aparición de resistencia, y la línea a trazos restante muestra la evolución de la especie no resistente. En (b) y (d) mostramos el cociente entre la cantidades de células vivas de las especies resistente (línea sólida) y sensible (línea a trazos) y la cantidad de células vivas que componen el tumor. La línea a trazos horizontal marca la ordenada 1/2.

esta proporción para la población no resistente cambiando el numerador por $\sum_{i,j} c^1(i,j)$. Obviamente la suma de estas proporciones da 1. Para el caso (vi) vemos que la especie resistente a tiempos cortos se vuelve dominante, mientras que para el caso (vii) la especie resistente no siempre es dominante y la masa viva del tumor heterogéneo alterna entre dos estados: mayormente compuesta de células resistente o mayormente compuesta de células sensibles. Luego, cuanto más efectiva es la terapia, más rápido la especie resistente dominará el crecimiento.

6.3.4 Resistencia adquirida

En esta sección utilizaremos nuestro modelo con quimioterapia de la sección (6.3.1) y estudiaremos el caso en el que las células adquieren resistencia. Procederemos de igual manera que en (6.2.2), es decir, cada 12 horas elegimos un número aleatorio con distribución uniforme; si este número es menor que ϕ , las células que habitan un dado nodo se vuelven resistentes. La principal diferencia entre esta sección y la (6.2.2) es que ahora las células no resistentes no están completamente “paralizadas”. Al igual que en la sección anterior las células no resistentes están en desventaja por el efecto que la droga produce en ellas. Como la resistencia adquirida aparece después de la primera ronda de aplicación de la terapia [JRL02], tendremos que $\phi = 0$ los primeros 25 días después de la aplicación de la terapia. O lo que es equivalente, sólo elegiremos números aleatorios si ya finalizó la primera aplicación. Para estudiar este tipo de resistencia utilizaremos el mismo tumor original y los mismos tratamientos que fueron utilizados en la sección previa. La comparación no será directa porque la resistencia adquirida sólo puede comenzar a partir del día 25.

Nuevamente, si $\phi > 0.1$ una gran cantidad de células adquieren resistencia saturando la periferia del tumor. Luego, obtenemos crecimientos de características similares a los de las figuras (6.3c, d), aunque si hay efectos de toxicidad en el contorno inferior del tumor no aparecen células no sensibles al tratamiento debido a que las células que los habitaban murieron rápidamente por efectos tóxicos. Para $\phi = 10^{-5}$ no observamos aparición de células resistentes. En el caso de resistencia adquirida dejamos evolucionar el sistema hasta los 120 días después de aplicar la terapia. Esta extensión se debe a que durante los primeros 25 días no puede aparecer resistencia y a que la especie sensible tiene períodos de muy baja concentración. Luego, realizar un estudio de la evolución del tumor heterogéneo durante los 60 días posteriores a la primer aplicación de la droga es casi imposible. Recordemos nuevamente que las células que adquieren resistencia están ubicadas, en general, en zonas de mayor cantidad de nutrientes que las células que son intrínsecamente resistentes. Esta ventaja disminuye la competencia con la especie sensible y es de esperar que poco tiempo después de que aparezcan células resistentes la masa viva del tumor se vuelva totalmente resistente.

En la figura (6.12) se observa la imagen de nuestra simulación para tumores heterogéneos con $\phi = 10^{-4}$ a los 120 días después de aplicarse la terapia. Para el caso (vi) las células sensibles están más afectadas por la terapia que las correspondientes para el caso (vii). Luego, las células resistentes en el caso (vi) tienen menos competencia por los alimentos que las mismas para la aplicación (vii) y por lo tanto esperaríamos un crecimiento mayor

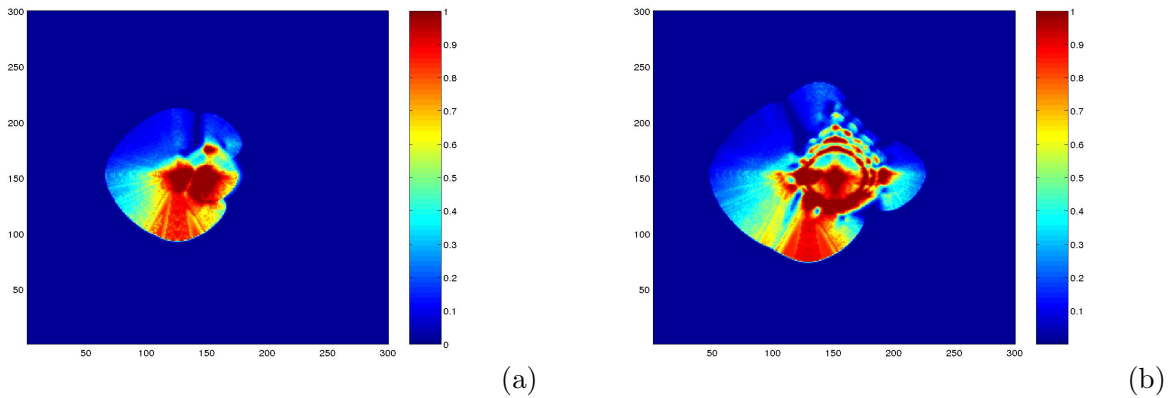


FIGURA 6.12: **Tumores heterogéneos con resistencia adquirida** a los 120 días de aplicarse la terapia del tipo (vi) , (a) y del tipo (vii) , (b).

para la primera que para la segunda. Sin embargo en la figura (6.13) no parece ser así. ¿Cuál será el motivo? En nuestro modelo las células pueden adquirir resistencia a todo tiempo superior a los $t_q + 25$ días. Luego, si bien la competencia es mayor para el caso (vii) , el hecho de que siga habiendo una gran población de células sensibles posibilita la aparición de resistencia a tiempos más grandes y en regiones con mayor disponibilidad de alimentos. La especie resistente no se vuelve totalmente dominante al cabo de algunos días debido a la competencia con la especie sensible. Mientras que en el caso (vi) la especie resistente se vuelve totalmente resistente en los primeros 5 días desde su aparición pero disminuye sus posibilidades de surgir en otra región. La figura (6.13) es equivalente a (6.11) pero para resistencia intrínseca. No se puede establecer una comparación directa entre las dos porque, en nuestro modelo, las células intrínsecamente resistentes existen desde el momento de la aplicación de la terapia, mientras que aquellas que adquieren resistencia aparecen a tiempos posteriores. Sin embargo podemos decir que presencia de resistencia intrínseca, en un tratamiento del tipo (vi) tiene, a los 60 días de aplicarse la terapia, un 25% más de células vivas que en un tratamiento del tipo (vii) . Luego, la presencia de células intrínsecamente resistentes no sólo lleva al fracaso de la terapia sino que también lo hace más rápido mientras más efectiva sea la terapia. Pero para el caso en el cual aparecen células que adquieren resistencia podemos ver que, a los 120 días de aplicar la terapia, un tratamiento del tipo (vii) tiene un 25% más de células vivas que para (vi) . Por lo tanto, en el caso de aparición de células que adquieren resistencia la terapia falla más rápidamente cuanto menos efectiva sea la misma.

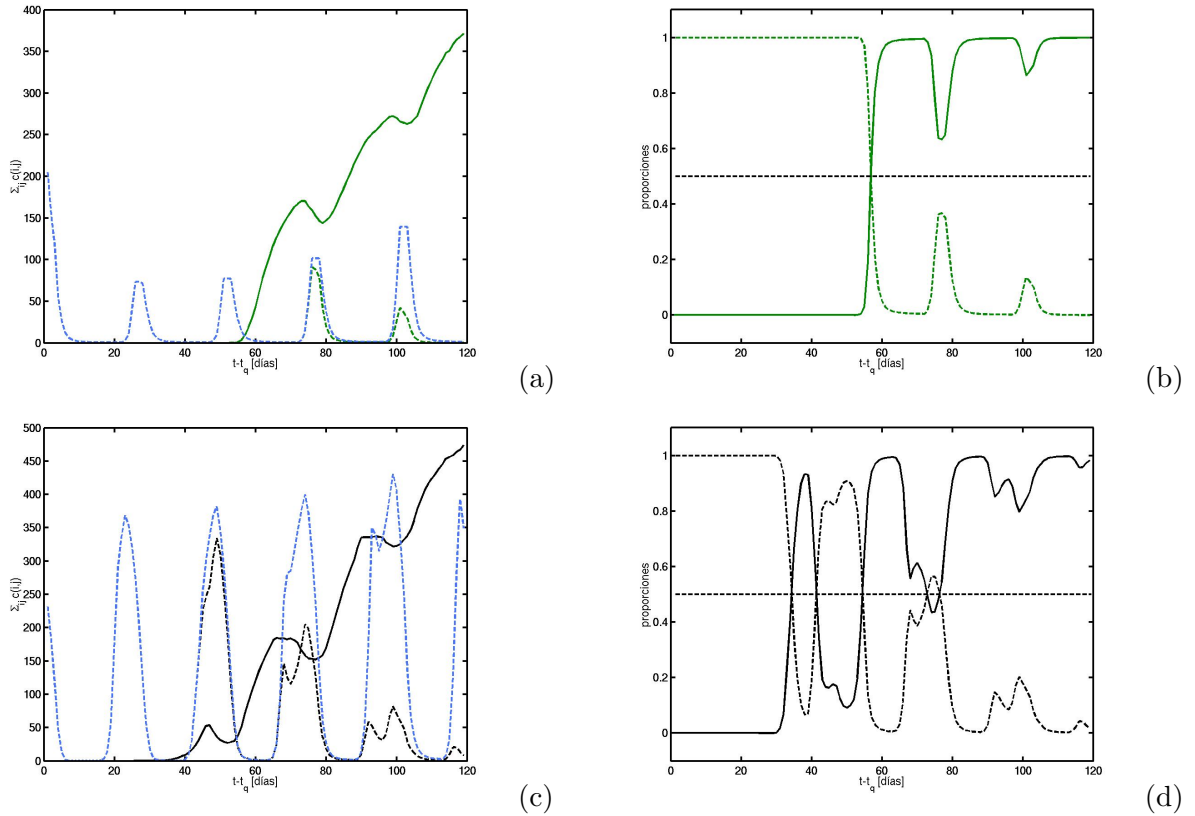


FIGURA 6.13: **Poblaciones y proporciones de células vivas.** Evolución temporal de la población de células vivas a partir de $t = t_q$ para las aplicaciones (vi), (a), y (vii), (c). En ambos casos la línea sólida corresponde a la población que adquiere resistencia, la línea a trazos azul se corresponde con la evolución sin la aparición de resistencia y las líneas a trazos restantes muestran la evolución de las células sensibles. En (b) y (d) mostramos el cociente entre la cantidades de células vivas de las especies resistente (línea sólida) y sensible (línea a trazos) y la cantidad de células vivas que componen el tumor. La línea a trazos horizontal marca la ordenada $1/2$.

PARTE II

Enfoque Macroscópico

CAPITULO 7

Introducción

La vida es el fenómeno físico más complejo del universo, que manifiesta una extraordinaria diversidad de formas y funciones. Algunos parámetros utilizados para su descripción abarcan una gran escala desde los microbios o unidades subcelulares hasta los mamíferos o plantas más grandes; por ejemplo, la masa varía desde $10^{-13}g$ para los primeros hasta 10^8g para los segundos, es decir, hay una variación de 21 ordenes de magnitud. Sin embargo, una gran parte de los procesos biológicos fundamentales se pueden describir de manera muy simple como función del tamaño por medio de leyes *alométricas* y de *crecimiento ontogenético* [WB05].

Cuando un animal (órgano o tejido) cambia de forma en respuesta a un cambio de tamaño, es decir, no mantiene similaridad geométrica, decimos que éste escala alométricamente. Este tipo de escala es muy común en la naturaleza, por ejemplo, cuando comparamos al mismo animal con diferentes tamaños con el correr del tiempo, es decir, en crecimiento. Crecimiento, definido como el cambio de tamaño con la edad, es una característica de todas las entidades vivas de este planeta (ya sean plantas o animales) y es comúnmente llamado "*crecimiento ontogenético*" [WWZC04]. Desde hace algunas décadas se estudia el crecimiento ontogenético desde distintos puntos de vista: matemático, biofísico y fisiológico, [Bro65, vB57, WBE99], entre otros. A partir de estos análisis se ha logrado modelar procesos de crecimiento que integran acontecimientos de desarrollo con estudios de evolución [Ric97].

Se ha observado que el proceso de crecimiento obedece, en general, a leyes de escala. La relación de escala con el tamaño sigue, generalmente, una ley de potencia de la forma

$$Y = Y_0 m^b,$$

donde Y es alguna cantidad biológica observable, Y_0 es un constante de normalización y m es la masa del organismo.

Todas las funciones de la vida se producen por transformación de energía desde fuentes físicas o químicas. Dentro de un organismo altamente organizado la energía metabólica

liberada es utilizada para el mantenimiento y reproducción del organismo. West y sus colaboradores [WBE01] propusieron un modelo en el cual la tasa metabólica sigue una ley de escala en donde el exponente está relacionado con la fractalidad en la red de distribución de nutrientes. El metabolismo y la distribución de energía y recursos juegan un rol central *universal* en la estructura y organización de toda la vida en todas las escalas. El “*scaling*” como una herramienta para comprender la dinámica de crecimiento es muy importante porque las leyes de escala reflejan las características y los principios generales subyacentes que son independientes de la estructura detallada, de las dinámicas u otras características específicas del sistema, o de los modelos particulares usados para describirlo.

En 2004 Delsanto y colaboradores [DGD⁺04] sugirieron que los tumores podían seguir la misma ley universal de crecimiento; para ello generalizaron los resultados de West *et al.* para esferoides tumorales multicelulares avasculares, sistemas en donde los nutrientes son suministrados por difusión y no por el sistema vascular. Posteriormente Guiot y colaboradores introdujeron un “exponente dinámico” que caracteriza el crecimiento tumoral [GDC⁺06]. En estos trabajos no se consideró la presencia de núcleo necrótico.

En la próxima sección describiremos en detalle el modelo desarrollado por West, Brown y Enquist. En los capítulos siguientes analizaremos las modificaciones introducidas para la descripción del crecimiento tumoral, consideraremos las modificaciones originadas por la presencia de un núcleo necrótico, estableceremos comparaciones con resultados experimentales y daremos una idea global de como debe ser modificado el modelo para tumores vascularizados y para tumores a los que se les aplica inmunoterapia.

7.1 El modelo de West, Brown y Enquist

Todos los organismos, desde el más simple al más complejo, están formados por una gran cantidad de subunidades, las cuales necesitan ser alimentadas de una manera eficiente y “democrática” para mantenerse y replicarse, asegurándose así la continuidad de la vida. West, Brown y Enquist conjeturan que la selección natural resolvió este problema creando redes de distribución fractal que distribuyen la energía y materia desde los reservorios macroscópicos a los sitios microscópicos. Ejemplos son el sistema circulatorio en los mamíferos, el sistema respiratorio en los insectos y el xilema en los árboles. Este modelo, el cual denominaremos *WBE*, se desarrolla a partir de los siguientes postulados:

1. las redes llenan el espacio para servir a todas las subunidades biológicamente activas,
2. las unidades terminales de la red son invariantes,
3. el desempeño de la red es maximizado haciendo mínima la energía y otras cantidades requeridas para la distribución de recursos.

De estos postulados básicos, ellos derivan un modelo analítico para los sistemas circulatorio y respiratorio en mamíferos [WBE97] y para el sistema vascular en las plantas [WBE99]. La teoría predice las relaciones de escala para algunas componentes funcionales

y estructurales de estos sistemas. Las leyes de escala tienen, generalmente, como exponentes característicos múltiplos de $1/4$ aún cuando la anatomía y la fisiología de los sistemas sean muy diferentes.

Los recursos (nutrientes, oxígeno, minerales) transportados por estos sistemas son transformados en energía metabólica, la cual será utilizada para mantenimiento y creación de nuevos tejidos; luego, por la ley de conservación de energía se puede escribir la tasa de transformación de energía como la suma de dos términos:

$$B = N\beta + \varepsilon \frac{dN}{dt}, \quad (7.1)$$

donde β es la tasa metabólica de una única célula, ε es la energía metabólica requerida para crear una nueva célula y N es el número total de células [WBE01]. El primer término es la potencia que necesita el organismo para mantener sus funciones vitales, mientras que el segundo corresponde a la potencia necesaria para la producción de nuevas células. Expresando la masa total del organismo en función de la masa celular promedio, m_c , como $m = m_c N$, y suponiendo $B = B_0 m^{3/4}$, donde B_0 es constante, podemos escribir:

$$\frac{dm}{dt} = am^{3/4} - bm, \quad (7.2)$$

con $a = B_0 m_c / \varepsilon$ y $b = \beta / \varepsilon$. El exponente $3/4$ es una buena descripción desde el nacimiento

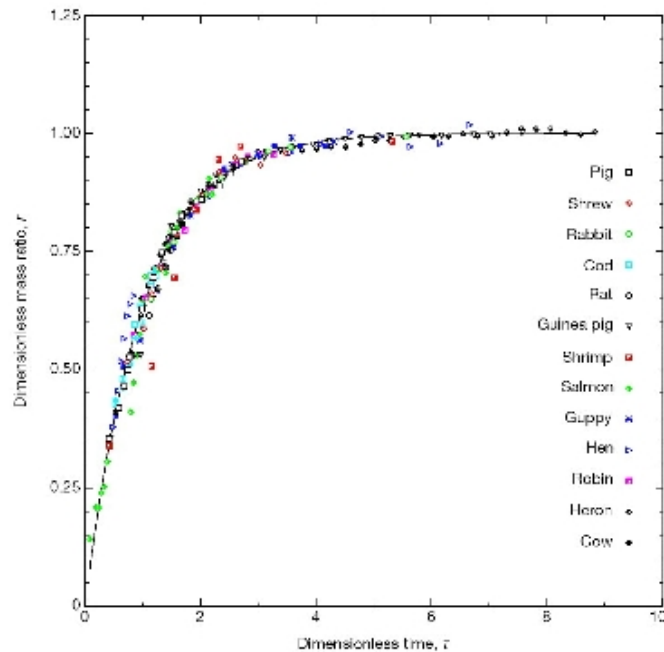


FIGURA 7.1: Curva de crecimiento universal. Cociente de masa adimensional, r , versus la variable temporal adimensional τ [WBE01].

hasta la edad madura y concuerda con los datos obtenidos para mamíferos, pájaros, peces,

plantas y moluscos. Es posible determinar la masa asintótica, M , que alcanza el organismo resolviendo la ecuación $\frac{dm}{dt} = 0$, luego $M = (a/b)^4$. En la figura (7.1) mostramos que el resultado teórico obtenido por el modelo *WBE* ajusta bastante bien un gran conjunto de datos para diferentes especies. Para ello se definieron las variables adimensionales $r = (m/M)^{1/4}$ y $\tau = at/4M^{1/4} - \ln[1 - (m_0/M)^{1/4}]$, donde m_0 es la masa al momento de nacer, es decir $m_0 = m(t = 0)$. La magnitud a puede ser determinada a partir de los parámetros fundamentales de las células dado que las cantidades necesarias son conocidas: $m_c \approx 3 \times 10^{-9}g$, $\varepsilon \approx 2.1 \times 10^{-5}J$ y $B_0 \approx 1.9 \times 10^{-2}Wg^{1/4}$, luego $a \equiv B_0m_c/\varepsilon \approx 0.25g^{1/4}$ por día y $b \equiv \beta/\varepsilon$ podría predecirse independientemente de a si β fuera conocido. De lo contrario podemos utilizar la relación $M = (a/b)^4$; por ejemplo, para la rata $M \approx 280g$, entonces $b \approx 0.06$ por día [WBE01].

Muchas discusiones surgen avalando o no al exponente $3/4$ y/o el modelo de *WBE*. El principal opositor al modelo de *WBE* es Banavar, quien sostiene que el exponente $3/4$ es inherente a cualquier red dirigida sin necesidad de fractalidad, optimización o cualquier otro argumento [Whi01]. Banavar sostiene que las desviaciones en el exponente $3/4$ sugieren: ineficiencia o compensación de mecanismos fisiológicos [BDMR02]. Otros enfoques han generalizado la teoría del presupuesto dinámico de energía (“*dynamic energy budgets*”) para describir algunos sistemas biológicos. Usando estas ideas las propiedades de la tasa metabólica del organismo entero, (plantas), se derivan de sumas ponderadas de otras tasas que están asociadas específicamente con áreas ($M^{2/3}$) o volúmenes (M^1). De estas ideas se espera un exponente de escala “*efectivo*” entre $2/3$ y 1 variando de acuerdo a diferentes grupos y dependiendo de algunas propiedades particulares del organismo [Dam01].

Crecimiento ontogenético y esferoides tumorales multicelulares

Los esferoides tumorales multicelulares, *ETM*, son un conjunto de células malignas que crecen *in vitro* con condiciones mecánicas y nutricionales altamente controladas. Los *ETM* son frecuentemente utilizados para modelar el crecimiento de un tumor avascular, el microambiente y las perturbaciones fisiológicas que ocurren en un tumor debido a que permiten verificar y analizar el crecimiento tumoral de manera experimental. Como resultados experimentales, se obtienen diversos parámetros de los esferoides, tales como el volumen, el número de células, las fracciones de células vivas y necróticas y el tamaño de saturación. Los esferoides desarrollan una serie de características típicamente observadas en los tumores avasculares: metabolismo alterado, perturbaciones en las expresiones de los genes y las proteínas, núcleo necrótico y resistencia a terapias. Las curvas de crecimiento de los esferoides muestran, en general, la misma cinética de crecimiento que los tumores nodulares *in vivo*, incluyendo crecimiento cuasi-exponencial y saturación de tamaño [JPGCF05]. Los nutrientes llegan al esferoide por difusión e ingresan en él por su superficie. Las células cercanas a la superficie del esferoide están en contacto con los nutrientes y el oxígeno que lo rodean. Esta abundancia hace que las células de la periferia consuman una gran cantidad de alimentos y se proliferen activamente. Debido a este factor y al hecho de que los nutrientes ingresan al esferoide sólo por difusión se comienzan a desarrollar regiones internas que están privadas de oxígeno y alimentos, generando, posteriormente, un núcleo necrótico.

La simetría esférica y la forma en la cual los esferoides son alimentados nos hacen pensar en aplicar el modelo *WBE* para describir su crecimiento cambiando el exponente $3/4$, de la expresión de B , por $2/3$ dado que los nutrientes ahora llegan por difusión y no a través de una red fractal. En las siguientes secciones describiremos algunos resultados previos y formularemos el modelo *WBE* para esferoides con núcleo necrótico, en donde utilizaremos la simetría esférica de estos cultivos celulares y estableceremos una muy buena comparación con datos experimentales.

8.1 Primeras aplicaciones a esferoides tumorales multicelulares

El modelo *WBE* descrito anteriormente puede ser formulado de manera más general planteando la relación de escala para la tasa de transformación de energía como $B \propto m^p$, donde p es un número real dentro del intervalo $(0, 1]$. Para aquellos organismos en los que la distribución de nutrientes es llevada a cabo por una red fractal, tendremos $p = 3/4$. Como ya dijimos los *ETM* son agregados de células a las cuales les llega el nutriente desde la superficie por difusión y no por medio de una red de distribución; tal característica sugiere que para los *ETM* p sea igual a $2/3$.

Delsanto y colaboradores [DGD⁺04] formularon, siguiendo las ideas de *WBE*, un modelo para describir el crecimiento de *ETM* que se desarrollan en un medio donde el contenido de nutrientes se restringe. Para ello partieron de la ley de conservación de energía:

$$Bdt = N\beta dt + \varepsilon dN, \quad (8.1)$$

equivalente a la ecuación (7.1), donde, nuevamente, B es el consumo de energía metabólica para que en un intervalo de tiempo dt se generen dN células y se mantengan las N células presentes. Llamaremos γ al volumen promedio ocupado por una célula. luego el volumen del *ETM* será $v = N\gamma$. Suponiendo que $B = B_0v^p$ se obtiene:

$$\frac{dv}{dt} = a_0v^p - bv, \quad (8.2)$$

con $a_0 = \gamma B_0/\varepsilon$ y $b = \beta/\varepsilon$. El esferoide comienza su crecimiento con volumen v_0 en el nacimiento y luego v crece monótonamente hasta alcanzar el valor máximo $V = (a_0/b)^{1/(1-p)}$ cuando $\frac{dv}{dt} = 0$. Introduciendo la función:

$$y(t) = 1 - \left(\frac{v(t)}{V} \right)^{1-p},$$

se obtiene de (8.2) la siguiente ecuación:

$$\frac{dy}{dt} = -\alpha y, \quad (8.3)$$

con $\alpha = b(1-p)$. La solución de esta ecuación puede escribirse de manera universal como $y(\tau) = e^{-\tau}$ donde la variable adimensional τ está definida como $\tau = (1-p)bt - \ln(1 - (v_0/V)^{1-p})$.

Si el *ETM* crece en un medio donde el contenido de nutriente está restringido, la curva de crecimiento del esferoide se modifica alcanzando un volumen menor al valor asintótico V . Delsanto y coautores proponen, para modelar la condición de nutriente disponible insuficiente, restar un término en la ecuación (8.2) de la forma $f a_0 v^p$ con $f \in [0, 1]$ lo que puede interpretarse como una disminución en la tasa entrante de energía metabólica. Claramente si $f = 0$ no hay limitaciones de nutrientes y se obtienen los resultados anteriores. Por otro lado, una vez que el *ETM* es implantado en el ámbito experimental,

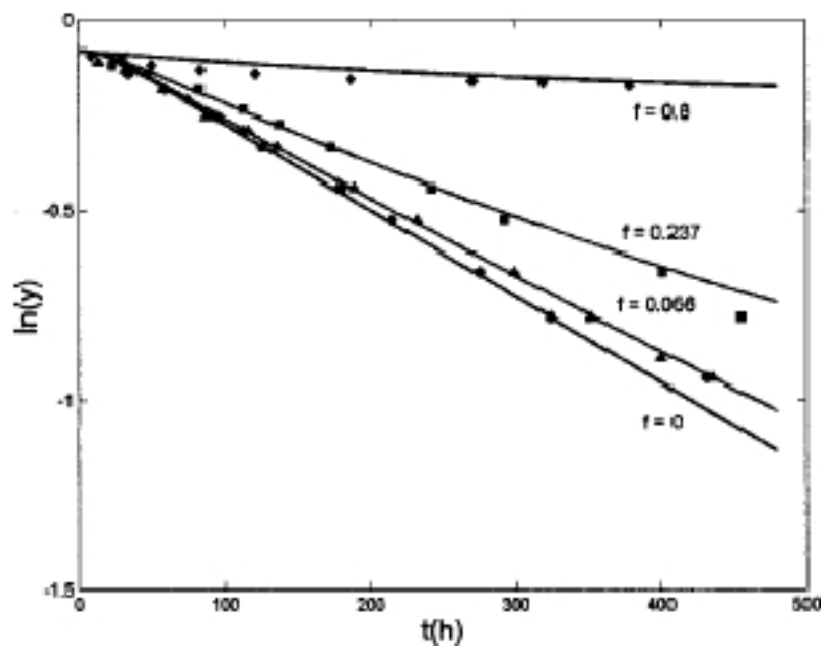


FIGURA 8.1: Las curvas sólidas corresponden al ajuste realizado por el modelo para $p = 2/3$. Los volúmenes finales comenzando desde la curva inferior son: $4,4 \times 10^{-3} \text{cm}^3$, $3,7 \times 10^{-3} \text{cm}^3$, $1,95 \times 10^{-3} \text{cm}^3$ y $3,56 \times 10^{-5} \text{cm}^3$. El volumen $v_0 = 2 \times 10^{-6} \text{cm}^3$. Tomado de [DGD⁺04].

no absorbe los nutrientes inmediatamente pues necesita un tiempo T para adaptarse al medio, lo que puede representarse cambiando el parámetro a_0 por $a_1 = a_0(1 - e^{-t/T})$. Con estas modificaciones la ecuación (8.2) puede representarse como sigue:

$$\frac{dy}{dt} + \alpha y = \alpha f + \alpha(1 - f)e^{-t/T}, \quad (8.4)$$

cuya solución tiene el valor asintótico $y(t \rightarrow \infty) = f$, correspondiente a $V_\infty = V(1 - f)^{1/(1-p)}$. Este modelo ajusta muy bien los datos experimentales de [FS86] como muestra la figura (8.1). Este modelo por más que nos parezca muy simple y no considere algunos factores, tales como los inhibidores de crecimiento, puede explicar de manera notable los datos experimentales, sugiriendo la correctitud de la aplicación del modelo de *WBE*. Dentro del mismo trabajo, Delsanto y colaboradores también obtienen buenos ajustes para las curvas de crecimiento de esferoides “*estresados*”, las cuales tienen un comportamiento equivalente a las obtenidas para esferoides que crecen en un medio con alimentos restringidos.

En un trabajo reciente, Guiot y colaboradores [GDC⁺06] estudiaron la correlación entre la topología del tumor y el exponente p el cual consideran que varía dinámicamente en el intervalo $[2/3, 1)$. Los autores conjeturan que este comportamiento es ocasionado por un cambio progresivo en el mecanismo de distribución de nutrientes que va desde la difusión

pasiva (avascular), hasta distintos niveles de angiogénesis (vascular). Las conclusiones a las cuales llegan los autores serán analizadas y discutidas en el próximo capítulo.

8.2 Necrosis

Una limitación de los modelos de esferoides de [DGD⁺04, GDC⁺06] es la suposición de ausencia de núcleo necrótico. En este capítulo desarrollaremos un modelo basado en las ideas antes descritas de *WBE*, para describir el crecimiento de *ETM* que incluyen la presencia de células muertas, es decir, consideraremos esferoides que pueden desarrollar núcleo necrótico [CM06].

La ley de conservación de energía nos dice que la energía que ingresa al organismo celular es igual a la suma de las energías utilizadas para el mantenimiento de la células existentes y para la creación de nuevas células. Utilizando la misma notación de la sección (8.1) y partiendo de la ecuación 7.1 podemos escribir:

$$\frac{dm}{dt} = \frac{m_c}{\varepsilon} B(m) - bm, \quad (8.5)$$

donde $m = Nm_c$, y m_c es la masa celular promedio. Hasta aquí no hay diferencias con el modelo de *WBE* ni con la formulaciones de [GDC⁺06, DGD⁺04]. La expresión de $B(m)$ dependerá de como se distribuya el nutriente y de la presencia o no del núcleo necrótico. Para los *ETM* los nutrientes llegan a las células por difusión. Por el momento consideremos la ausencia de células muertas, luego el problema se reduce al presentado por Delsanto y colaboradores, teniendo: $B(m) = B_0 m^p$ con $p = 2/3$ y definiendo $a = m_c B_0 / \varepsilon$ la dependencia temporal de la masa del esferoide está dada por:

$$m(t) = M(1 - e^{-bt/3})^3, \quad (8.6)$$

donde $M = (a/b)^3$ es la masa máxima que alcanza el *ETM* en estado estacionario.

¿Qué ocurre si aparece un núcleo necrótico? Cuando el núcleo necrótico comienza a formarse el *ETM* pasa de estar compuesto sólo por células vivas a estar compuesto de células vivas y de células muertas. La ecuación (8.5) debe ser modificada pues ahora no todas las células que conforman el *ETM* consumen energía para mantener activas sus funciones vitales. Para facilitar la lectura llamaremos esferoides de *tipo I* a aquellos que no desarrollan núcleo necrótico y esferoides de *tipo II* a los que sí poseen núcleo necrótico. Para este último tipo de esferoides la masa que aparece en la ecuación (8.5) corresponde a la masa de las células vivas y no a la masa total.

Experimentalmente se ha demostrado que, frecuentemente, el diámetro de la necrosis se expande aproximadamente con la misma tasa con la que el esferoide incrementa su volumen, con lo cual el espesor del cascarón que contiene las células vivas resulta relativamente constante con el incremento del diámetro del esferoide [MK00, JPGCF05]; de esta manera el diámetro del núcleo necrótico d_N satisface la ecuación $d_N = d - 2\Delta$ con d el diámetro del esferoide y Δ el espesor del cascarón formado por células vivas, ver figura (8.2). Suponiendo esta característica, el crecimiento de los esferoides de *tipo II* se puede dividir en dos etapas con regímenes de crecimiento bien definidos: en la primera el esferoide

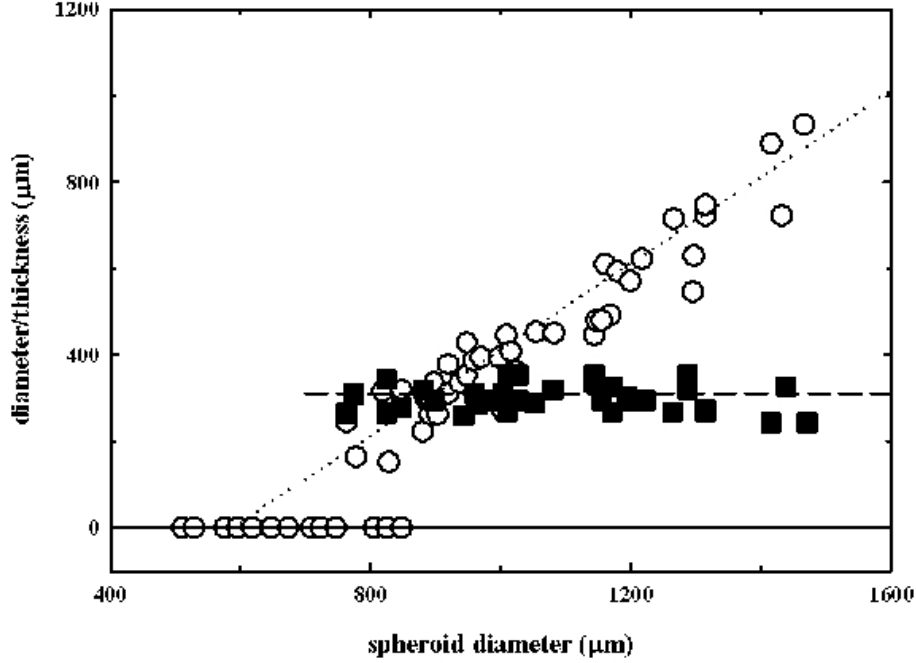


FIGURA 8.2: Espesor de la capa de células vivas (cuadrados) y diámetro del núcleo necrótico (círculos) como función del diámetro del esferoide. La línea punteada tiene pendiente uno (los datos experimentales son de [MK00]).

sigue la ley descrita anteriormente por la ecuación (8.6) con $p = 2/3$. La segunda etapa comienza cuando se origina el núcleo necrótico en $t = \tau_n$, en donde $m(\tau_n) = \hat{m} = \frac{4}{3}\pi\rho\Delta^3$, y está caracterizada por la relación $m(t > \tau_n) = \rho V_c$, donde V_c es el volumen ocupado por las células vivas y ρ es la densidad. Luego, para tiempos mayores que τ_n podemos relacionar la masa de las células vivas con el radio r del esferoide por la ecuación $m(t) = \rho\frac{4}{3}\pi(r^3 - \Delta^3)$, de donde obtenemos:

$$r(m) = \frac{\Delta}{2} \left[1 + \frac{1}{\sqrt{3}} \left(4\frac{m}{\hat{m}} - 1 \right)^{1/2} \right]. \quad (8.7)$$

Puesto que el proceso que controla la llegada de nutrientes es, todavía, la difusión, B debe seguir siendo proporcional a r^2 , luego la ecuación (8.5) se modifica, para los esferoides del tipo II, de la siguiente manera:

$$\frac{dm}{dt} = \begin{cases} am^{2/3} - bm & \text{si } m < \hat{m} \\ \frac{a\hat{m}^2/3}{12} \left[\left(4\frac{m}{\hat{m}} - 1 \right)^{1/2} + \sqrt{3} \right]^2 - bm & \text{si } m > \hat{m} \end{cases} \quad (8.8)$$

Analizando la ecuación podemos ver que se puede alcanzar (o no) el estado estacionario dependiendo de los valores que tomen M y \hat{m} , teniendo:

1. *Crecimiento no limitado.* Si $\hat{m} < \frac{1}{27}(a/b)^3 = \frac{1}{27}M$, la capa de células vivas es muy fina y siempre hay un exceso de energía que conduce a un crecimiento continuo. Este tipo de crecimiento no se observa en los modelos experimentales debido a que el continuo metabolismo celular y/o el proceso de necrosis generan inhibidores de crecimiento que son segregados y acumulados en el esferoide. Cuando la concentración de los inhibidores llega a un valor crítico la proliferación celular se reduce [JPGCF05].
2. *Estado estacionario.* Si $\frac{1}{27}M < \hat{m} < M$, la masa de células vivas crece monótonamente hasta que alcanza el valor estacionario m_s^{II} . Definiendo $Q = (\hat{m}/M)^{1/3}$, tenemos:

$$m_s^{II} = \frac{3}{2(1-3Q)^2} \left(\frac{2}{3} + Q + Q\sqrt{\frac{4}{Q} - 3} \right) \hat{m}, \quad (8.9)$$

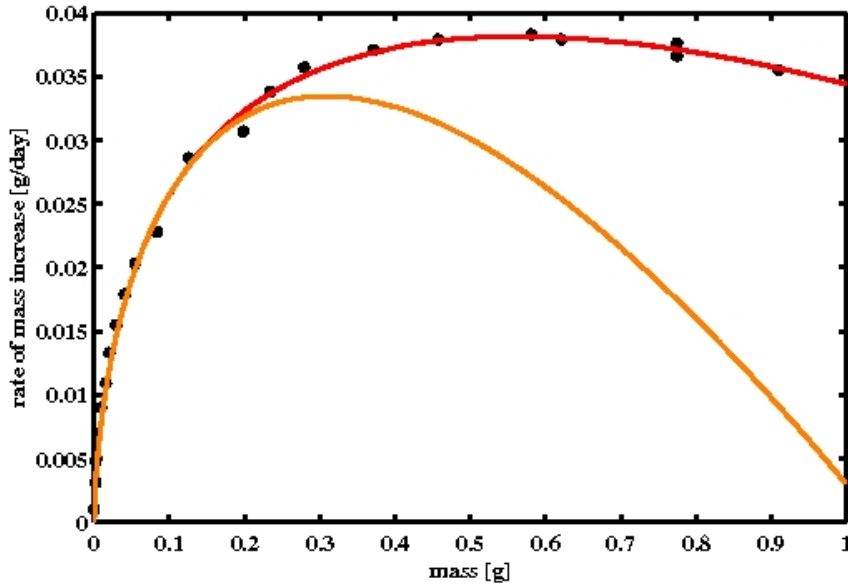


FIGURA 8.3: Las curvas sólidas corresponden al ajuste realizado por el modelo con $a = 0,22$ y $b = 0,217$. Los datos experimentales fueron obtenidos de [GDC⁺06]. Este tipo de gráfico permite un ajuste más cuidadoso que el convencional $m = m(t)$.

Por supuesto que si $M < \hat{m}$ no se forma núcleo necrótico y por lo tanto la solución es la expresada en la ecuación (8.6), dando como resultado estacionario el esperado para los esferoides de *tipo I*: $m_s^I = M = (a/b)^3$.

En la figura (8.3) graficamos $\frac{dm}{dt}$ versus m y podemos observar lo bien que este modelo ajusta los datos experimentales obtenidos de [GDC⁺06]. La curva naranja, que representa $\frac{dm}{dt}$ para un esferoide homogéneo, es decir, sin núcleo necrótico, se anula para $m = M$. Este valor es más pequeño que el valor para el cual se anula $\frac{dm}{dt}$ en el caso de un esferoide con núcleo necrótico. Esta particularidad nos indica que cuando emerge un núcleo necrótico

hace que el *ETM* alcance tamaños superiores a los que alcanzaría si aquel no se hubiera generado. Esto también puede derivarse de la ecuación (8.9); Q pertenece al intervalo $(1/3; 1)$ y a medida que Q disminuye, m_s^{II} aumenta siendo los límites $m_s^{II} = \hat{m}$ para $Q = 1$, es decir para un *ETM* sin necrosis, y $m_s^{II} = \infty$ cuando $Q \rightarrow (1/3)^+$. Por lo tanto, la presencia del núcleo necrótico no sólo ayuda a que el esferoide aumente su tamaño asintótico sino que también podemos decir que mientras más temprano sea este surgimiento (es decir, mientras más chica sea \hat{m}) mayor será la diferencia $m_s^{II} - m_s^I$. Los parámetros a y b obtenidos del ajuste son comparables con valores para la rata [WBE01].

Los tumores reales son más complejos que los modelos biológicos *in vitro*, tales como los esferoides multicelulares. Por ejemplo, una característica que los diferencia es que, ante la ausencia de alimentos, los tumores reales promueven la formación de vasos sanguíneos para nutrirse (angiogénesis), fenómeno que no ocurre en esferoides hechos crecer *in vitro*. Debido a estas y otras diferencias, algunos tipos de terapias, como la antiangiogénica o la inmunoterapia no puede ser bien estudiadas desde modelos *in vitro*. Sin embargo, podemos abordar la angiogénesis y la inmunoterapia a partir de una formulación macroscópica [MC06]; en este capítulo discutiremos algunos detalles sobre este planteo.

9.1 Angiogénesis

Como dijimos anteriormente, los tumores son abastecidos de alimentos y oxígeno por medio de procesos difusivos. Cuando un tumor comienza a crecer, lo hace rápidamente, ocasionando una disminución considerable en la distribución de alimentos en la cercanía. Cuando esta disminución es muy grande, las células cancerosas generan mensajeros que inducen al sistema circulatorio a crear una nueva red de vasos sanguíneos para abastecer al tumor. Algunos modelos de angiogénesis han sido desarrollados anteriormente [HS00, SSC01], resurgiendo su interés por el desarrollo de drogas antiangiogénicas que podrían llevar a tratamientos muy eficaces [Ker06]. Dentro del enfoque macroscópico previamente descrito, Guiot y colaboradores [GDC⁺06] describen el efecto del desarrollo de las nuevas redes vasculares como una evolución dinámica del exponente p . Recordemos que West y coautores [WBE97] afirman que $p = 3/4$ cuando los alimentos son transportados por una red fractal y que para esferoides multicelulares $p = 2/3$ pues los alimentos llegan a él por difusión. Guiot *et al* suponen que el exponente p aumenta su valor cuando el mecanismo por el cual el tumor se abastece de nutrientes cambia desde difusión pasiva a angiogénesis activa (tumor completamente irrigado por los nuevos vasos). Para formular

esta hipótesis ellos se basan en algunos datos experimentales de tumores implantados en ratones, los cuales indican, independientemente del tipo de cáncer, que p aumenta más allá de $3/4$ después de algunas semanas. Ellos también sugieren que el valor de p mayor que $3/4$ puede indicar que la difusión activa es complementada con otro mecanismo de abastecimiento, tal como la difusión pasiva, cuando la densidad vascular se aproxima a su *plateau*.

Nosotros consideramos que dos mecanismos diferentes no pueden describirse utilizando un único término. Al inicializarse la angiogénesis dos mecanismos de alimentación coexisten y cada uno contribuye con términos diferentes a la tasa metabólica, B . El término que representa la difusión pasiva será similar al ya utilizado; este término vendrá dado por una ley de potencia con exponente $2/3$. La neovascularización requiere un nuevo término, cuyo exponente evoluciona siguiendo el desarrollo angiogénico. Basados en estas suposiciones proponemos como tasa metabólica:

$$B(m) = B_{01}m^{2/3} + B_{02}(m)m^p. \quad (9.1)$$

Tanto p como B_{02} dependen del estado de vascularización y, por lo tanto, de la masa del tumor. Puesto que la vascularización evoluciona gradualmente, el exponente p puede crecer continuamente hasta alcanzar el valor $p = 3/4$, el cual corresponde a la angiogénesis totalmente desarrollada. Por otro lado, B_{02} inicialmente es cero y crece monótonamente hasta alcanzar su valor de saturación. Es razonable sugerir que mientras la red vascular está generándose, el producto $B_{02}(m)m^p$ puede crecer aproximadamente como una potencia mayor que $3/4$. En el caso de tumores *in vivo* totalmente vascularizados el segundo término en la ecuación (9.1) es totalmente dominante.

La terapia antiangiogénica tiene como objetivo inhibir la formación de nuevos vasos sanguíneos o destruir aquellos que ya existían. Esta terapia no afecta de modo directo la masa del tumor (tal como hace la quimioterapia), pero sí afecta las redes de alimentación. Si tenemos en cuenta el modelo macroscópico el efecto de la terapia antiangiogénica estaría representado por una disminución del segundo término del lado derecho de la ecuación (9.1) ocasionando un crecimiento más lento.

Se ha observado que las terapias antiangiogénicas trabajan mejor si son utilizadas en combinación con drogas citotóxicas [Ker06] afectando de manera alternada el abastecimiento y la masa del tumor. Sin embargo, notemos que no es fácil desarrollar el protocolo óptimo para la aplicación combinada de drogas citotóxicas y anti-angiogénicas. Por ejemplo, la destrucción del sistema vascular que alimenta un tumor puede dificultar seriamente la llegada de la droga citotóxica a las células cancerosas a las que debe eliminar. Es posible que el modelado macroscópico ayude a optimizar la terapia combinada y que nos ayude a entender porque funciona.

9.2 Inmunoterapia

El concepto de inmunoterapia está basado en el sistema de defensa natural del cuerpo: el sistema inmune, el cual nos protege de muchas enfermedades y trabaja para ayudarnos a recuperarnos de otras. Originalmente se creyó que el sistema inmune era efectivo sólo

para combatir enfermedades infecciosas causadas por agentes invasores, (por ejemplo: bacterias y virus), reconociéndose ya en 1890 la importancia de la interacción entre el sistema inmune y las células cancerosas [AEE01]. La inmunoterapia celular consiste en estimular la actividad antitumoral en el paciente o en generar una actividad antitumoral intrínseca; por ello se la considera una potente herramienta para destruir sólo las células cancerosas. Sin embargo, la inmunoterapia puede no ser tan efectiva si no es acompañada por otro tipo de terapia que destruya los canales de alimentación; como por ejemplo la terapia antiangiogénica. Si sólo se aplica inmunoterapia el sistema inmune elimina las células que se encuentran en la periferia tumoral y su muerte ocasiona una disponibilidad de nutriente mayor para aquellas células que sobreviven; con esta ventaja éstas comienzan a reproducirse rápidamente, dando un nuevo impulso al crecimiento tumoral. Estos efectos se han observado para un modelo mesoscópico de inmunoterapia [RB05].

En esta sección usaremos un modelo macroscópico para estudiar los efectos globales de la aplicación de la inmunoterapia. Por simplicidad supondremos que tenemos un esferoide sin núcleo necrótico, el cual es abastecido de nutrientes por medio de difusión, es decir, un esferoide no vascularizado sin necrosis, aunque los resultados, cualitativamente, podrían ser válidos en general. Supondremos que la inmunoterapia mata una fracción D (≤ 1) de células cancerosas localizadas a una distancia menor que δ desde el borde del tumor. Bajo estas condiciones es conveniente escribir la ecuación (8.5) como función del volumen, luego:

$$\frac{dv}{dt} = a_v v^{2/3} - bv, \quad (9.2)$$

donde $a_v = a\rho^{-1/3}$ y ρ es la densidad. Al tiempo $t = t_0$, cuando el radio del tumor es r_0 y su volumen es $v_0 = 4\pi r_0^3/3$, una dosis terapéutica es aplicada. Bajo nuestra suposición, una vez aplicada la dosis se mueren instantáneamente $D\rho v_s/m_c$ células cancerosas. La capa esférica que es efectivamente afectada por la terapia tiene un espesor δ , su radio interior es $r_0 - \delta$, su radio exterior es r_0 y su volumen, al que denotaremos por v_s , viene dado por:

$$v_s = \frac{4\pi}{3}(r_0^3 - (r_0 - \delta)^3) \quad (9.3)$$

$$= (36\pi)^{1/3} \delta v_0^{2/3} - (4\sqrt{3}\pi)^{2/3} \delta^2 v_0^{1/3} + \frac{4\pi}{3} \delta^3, \quad (9.4)$$

si $r_0 > \delta$, y $v_s = v_0$ si $r_0 \leq \delta$. Para $t \geq t_0$ tendremos:

$$\frac{dv}{dt} = a_v v^{2/3} - b(v - Dv_s) = 0. \quad (9.5)$$

donde el factor que multiplica a b es el volumen efectivo ocupado por las células tumorales vivas. El estado estacionario estará dado, obviamente, por la siguiente ecuación:

$$\frac{dv}{dt} = a_v v^{2/3} - bv + bDv_s = 0. \quad (9.6)$$

Claramente el nuevo volumen de equilibrio v_{eq} será mayor que $(a_v/b)^3$. En la figura (9.2) podemos ver como el volumen del nuevo estado de equilibrio, v_{eq} , aumenta al incrementarse el volumen al cual se aplica la terapia, v_0 , para diferentes valores de D y δ . Este

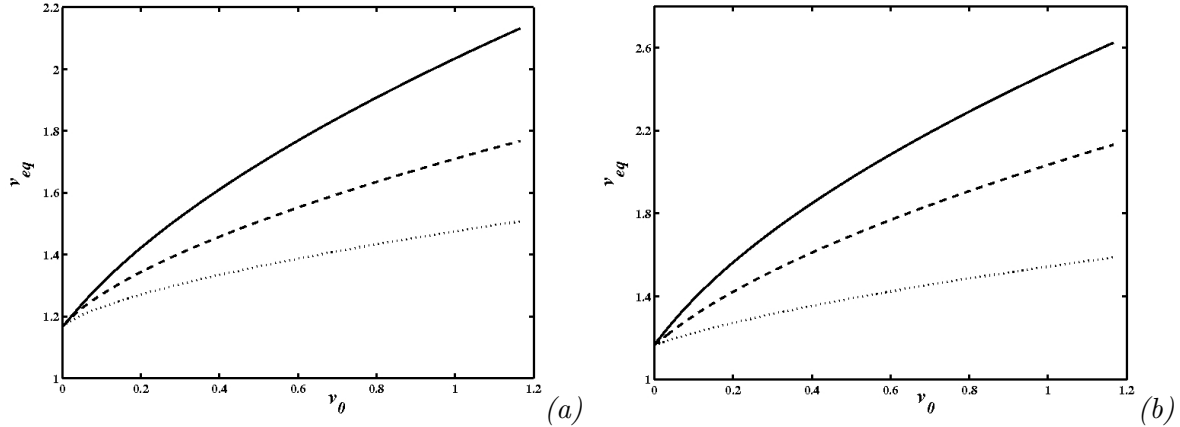


FIGURA 9.1: Valor de v_{eq} después de la terapia como una función del volumen al cual se aplica la terapia. Hemos elegido $a_v = 0.3\text{cm}/\text{día}$ y $b = 0.285/\text{día}$. (a) Destrucción de una fracción $D = 0.5$ de células vivas de la capa exterior cuyo espesor es $\delta = 0.05\text{cm}$ (línea con trazos y puntos), 0.1cm (línea a trazos) y 0.2cm (línea continua). (b) Destrucción de una fracción $D = 0.2$ (línea con trazos y puntos), 0.5 (línea a trazos) y 0.8 (línea continua) de células vivas de la capa exterior de espesor $\delta = 0.2\text{cm}$.

incremento lo estábamos esperando y queda claro si analizamos la ecuación (9.5) pues para la misma cantidad de alimentos y energía hay menos células que mantener, iniciándose un rápido proceso de repoblación celular [MC06]. Si bien estos resultados son válidos sólo para tumores esféricos, se han obtenido conclusiones similares a partir de un modelo mesoscópico de inmunoterapia, las cuales son independientes de la forma del tumor [RB05].

CAPITULO 10

Conclusiones

En esta tesis presentamos dos filosofías diferentes de modelado para describir el crecimiento del cáncer: una en la que utilizamos un enfoque macroscópico donde, empleando propiedades globales del crecimiento tumoral, formulamos un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias que resolvimos analíticamente, y otra en la que, con una mirada mesoscópica y empleando algunas reglas a nivel celular, desarrollamos un conjunto de ecuaciones discretas que resolvimos con un fuerte trabajo computacional, lo que nos permitió predecir o reproducir resultados detallados para tumores individuales.

En nuestra formulación mesoscópica consideramos una escala celular que incluyó: consumo de nutrientes, reproducción, muerte y migración celular, y una escala extracelular donde introdujimos fuentes y difusión de nutrientes (y de droga, cuando modelamos quimioterapia). En este tipo de procedimiento enfocamos nuestra atención en la dinámica y competencia de poblaciones. En nuestro modelo, las células cancerosas no sólo compiten por el nutriente disponible, sino que también lo hacen por el espacio. Hemos considerado, inicialmente, un tumor homogéneo que posteriormente se vuelve heterogéneo por la aparición de una subpoblación con características diferentes. La competencia entre ambas subpoblaciones depende de la región de surgimiento de la nueva subpoblación y de la velocidad de crecimiento de la población original. Consideramos un tumor inicialmente homogéneo de crecimiento lento y podemos afirmar que la evolución de la nueva subpoblación con mayores ventajas está limitada fundamentalmente por la competencia inicial. Superado este obstáculo la nueva población prospera y el crecimiento tumoral se vuelve descontrolado.

Dentro del mismo planteo, modelamos el efecto de la quimioterapia sobre un tumor homogéneo y el efecto de la aparición tanto de resistencia intrínseca como adquirida. Dependiendo de la sensibilidad de las células y de la dosis aplicada, obtenemos terapias totalmente exitosas en las primeras aplicaciones o terapias no efectivas que generan una evolución oscilatoria de la población de células cancerosas vivas. En nuestros resultados

obtenemos tumores con un crecimiento geométrico caracterizado por “anillos” de alta densidad poblacional. La aparición de resistencia intrínseca o adquirida frustra la acción terapéutica generando tumores heterogéneos no confinados. Por la implementación del modelo no podemos comparar directamente cual de los dos tipos de resistencia lleva más rápido al fracaso de la terapia. Es sabido que la resistencia intrínseca puede ser evitada por un estudio genético previo de las células cancerosas. Luego, sería importante prevenir este tipo de resistencia. Para hacerle frente a la resistencia adquirida sería conveniente que el tratamiento utilice más de una droga. La tendencia actual es hacia el desarrollo de terapias adaptadas a las características individuales del paciente. Un objetivo a mediano plazo debería ser el desarrollo de programas de simulación que permitan predecir la evolución de un tumor sujeto a la acción de agentes terapéuticos diseñados para pacientes individuales. Caracterizando al anfitrión y a la terapia por medio de parámetros relevantes, se podría así ayudar en el diseño de una estrategia terapéutica óptima.

La formulación del modelo podría modificarse para introducir inhibidores de crecimiento los cuales son generados por el continuo metabolismo celular y/o por el proceso de necrosis [JPGCF05] disminuyendo la proliferación celular en el borde del tumor cuando la concentración de éstos llega a un valor crítico. Otra modificación importante sería cambiar la geometría de la red y pensar en una red con simetría esférica como la utilizada en [KTCD00] e implementar el algoritmo numérico manteniendo el carácter discreto de las células. En cuanto a la quimioterapia debemos estudiar en más detalle como son reabsorbidas las células cancerosas que mueren por apoptosis por el cuerpo humano, siendo tal vez necesaria la incorporación explícita de macrófagos. También podríamos estudiar el efecto de dos drogas combinadas para obtener un óptimo régimen de tratamiento. Algunos estudios modelísticos recientes muestran que la aplicación simultánea de dos tipos de terapia puede tener efectos sinérgicos [CSSC01].

De nuestra formulación macroscópica podemos concluir que la aparición de necrosis ayuda, a los esferoides tumorales, a alcanzar tamaños mayores. Sin embargo, los nutrientes y el oxígeno penetran profundamente asegurando que la condición $\hat{m} < 1/27(a/b)^3$ nunca sea alcanzada. Por lo tanto siempre se alcanzará un tamaño limitado con un máximo diámetro, que usualmente es de alrededor de los $2mm$. En los tumores reales o *in vivo* el desarrollo de regiones necrotizadas está probablemente a favor del crecimiento continuo hasta el comienzo de una etapa vascular angiogénica, asegurando el crecimiento del tumor. Para la etapa temprana de crecimiento podemos sugerir que la tasa metabólica tumoral está controlada por una ley de potencias pura, pero para etapas posteriores, ya sea por el surgimiento de necrosis o por el desarrollo de angiogénesis, ésta adquiere una forma funcional más compleja debido a que: o bien no toda la masa del tumor consume nutrientes, o bien los nutrientes no sólo llegan por difusión sino que también son suministrados por una red de distribución fractal formada por los vasos capilares.

Los parámetros a y b podrían ser estimados de mediciones experimentales para diferentes líneas celulares. Por ejemplo, para un esferoide que no desarrolla necrosis tenemos que el radio final es:

$$R = \left(\frac{3}{4\pi\rho}\right)^{1/3} \frac{a}{b}.$$

Luego, el cociente de estos parámetros puede ser obtenido por una simple relación geométrica, mientras que, por la ecuación (8.6), el valor de b puede ser determinado independientemente calculando la pendiente del gráfico $-3 \ln(1 - (m/M)^{1/3})$ versus t . Si consideramos esferoides que desarrollan núcleo necrótico también debemos determinar Δ , el cual es medido directamente. Luego, podemos proceder de la misma manera que antes usando los datos correspondientes a $t < \tau$ y midiendo la masa del inicio de la necrosis, es decir $m(\tau) = \hat{m}$. Luego el parámetro τ puede ser determinado mediante:

$$a = \left(\frac{4\pi\rho}{3}\right)^{1/2} \Delta b (1 - \exp(-b\tau/3)).$$

Algunas modificaciones deberían ser introducidas al modelado de la inmunoterapia. Actualmente se considera que dentro de los cinco tipos de glóbulos blancos que están presentes en sangre humana los neutrófilos son los más indicados para ser utilizados como terapia anti-cáncer por ser resistentes al entorno ácido del tumor, por lo tanto pueden estar en cercano contacto con las células cancerosas. Si se logra una presencia masiva de neutrófilos en la zona tumoral se consiguen dos objetivos: debilitar el mecanismo de desplazamiento en el borde de las células tumorales impidiendo su replicación y aumentar la presión en el interior del tumor. Es decir, los neutrófilos encapsulan el tumor y le impiden crecer y con el tiempo las células tumorales se mueren [MC04]. Luego, la inmunoterapia con neutrófilos no sólo mata las células cancerosas de la periferia sino que también impide su crecimiento y reproducción.

Podría ser muy importante relacionar los enfoques macroscópico y mesoscópico. La introducción de un modelo intermedio permitió relacionar los parámetros característicos de ambos enfoques para los esferoides tumorales multicelulares [DGC⁺05]. Sin embargo, queda mucho trabajo por realizar.

Gracias a todos aquellos que de alguna manera me brindaron su apoyo, me alentaron y me ayudaron.

REFERENCIAS

- [AB97] J.A. Adam and N. Bellomo. *A Survey of Models for Tumor-Immune System Dynamics*. Birkhauser, 1997.
- [AEC] Información sobre cáncer. Boletín informativo de la Asociación Española Contra el Cáncer. Disponible *on line* en <http://www.aecc.es>.
- [AEE01] A.C. Armstrong, D. Eaton, and J.C. Ewing. Science, medicine, and the future: Cellular immunotherapy for cancer. *BMJ*, 323:1289–1293, 2001.
- [ASB01] G.R. Anderson, D.L. Stoler, and B.M. Brenner. Cancer: the evolutionary consequence of a destabilized genome. *BioEssays*, 23:1037–1046, 2001.
- [Bar05] Carla Barbuto. De qué nos morimos los argentinos? *Diario Clarín*, Mayo 2005. Disponible *on line* en www.clarin.com.
- [BAS⁺03] A. Brú, S. Albertos, J.L. Subiza, J.L. García-Asenjo, and I. Brú. The universal dynamics of tumor growth. *Biophys J.*, 85(5):2948–2961, 2003.
- [BDMR02] J.R. Banavar, J. Damuth, A. Maritan, and A. Rinaldo. Supply-demand balance and metabolic scaling. *PNAS*, 99(16):10506–10509, 2002.
- [BPF⁺98] A. Brú, J.M. Pastor, I. Feraud, I. Brú, S. Melle, and C. Berenguer. Super-rough dynamics on tumor growth. *Phys. Rev. Lett.*, 81(18):4008–4011, 1998.
- [BRG⁺87] B.G. Birkhead, E.M. Rakin, S. Gallivan, L. Dones, and R.D. Rubens. A mathematical model of the development of drug resistance to cancer chemotherapy. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol*, 23:1421–1427, 1987.
- [Bro65] S. Brody. *Bioenergetics and Growth*. Reinhold Publishing, New York, 1965.

- [Bur65] A.C. Burton. Rate of growth of solid tumors as a problem of diffusion. *Growth*, 30:159–176, 1965.
- [BVP90] Z. Bajzer and S. Vuk-Pavlovic. Quantitative aspects of autocrine regulation in tumors. *Crit. Rev. Oncog.*, 2(1):53–73, 1990.
- [Cas34] E.A. Casey. The experimental alteration of malignancy with an homologous mammalian tumor. *Am. J. Cancer*, 21:760–775, 1934.
- [CBM94] M.A.J. Chaplain, D.L. Benson, and P.K. Maini. Nonlinear diffusion of a growth-inhibitory factor in multicell spheroids. *Math. Biosci.*, 121:1–13, 1994.
- [CG85] A.J. Coldman and J.H. Goldie. Role of mathematical modeling in protocol formulation in cancer chemotherapy. *Cancer Treat. Rep*, 69(10):1041–1048, 1985.
- [CM06] C.A. Condat and S.A. Menchón. Ontogenetic growth of multicellular tumor spheroids. *Physica A*, 371(1):76–79, 2006.
- [CS99] D.L. Crowe and C.F. Shuler. Regulation of tumor cell invasion by extracellular matrix. *Histol Histopathol.*, 14(2):665–671, 1999.
- [CSS88] J.J. Casciari, S.V. Sotirchos, and R.M. Sutherland. Glucose diffusivity in multicellular tumor spheroids. *Cancer Res.*, 48(14):3905–3909, 1988.
- [CSSC01] B. Capogrosso-Sansone, M. Scalerandi, and C.A. Condat. Taxis and synergy in angiogenesis. *Phys. Rev. Lett.*, 87:1281021–1281024, 2001.
- [Dam01] J. Damuth. Scaling of growth: Plants and animals are not so different. *PNAS*, 98(5):2113–2114, 2001.
- [DGC⁺05] P.P. Delsanto, M. Griffa, C.A. Condat, S. Delsanto, and L. Morra. Bridging the gap between mesoscopic and macroscopic models: The case of multicellular tumor spheroids. *Phys. Rev. Lett.*, 94:148105, 2005.
- [DGD⁺04] P.P. Delsanto, C. Guiot, P.G. Degiorgis, C.A. Condat, Y. Mansury, and T.S. Deisboeck. Growth model for multicellular tumor spheroids. *Applied Physics Letters*, 85(18):4225–4227, 2004.
- [DH05] Dirk Drasdo and Stefan Hhme. A single-cell-based model of tumor growth *in vitro*: monolayers and spheroids. *Physical Biology*, 2:133–147, 2005.
- [DSH00] P. Duesberg, R. Stindl, and R. Hehlmann. Explaining the high mutation rates of cancer cells to drug and multidrug resistance by chromosome reassortments that are catalyzed by aneuploidy. *PNAS*, 97(26):14295–14300, 2000.

- [FJMV98] S.C. Ferreira-Jr., M.L. Martins, and M.J. Vilela. A growth model for primary cancer. *Physica A*, 261:569–580, 1998.
- [Fre88] J.P. Freyer. Role of necrosis in regulating the growth saturation of multicellular spheroids. *Cancer Research*, 48:2432–2439, 1988.
- [FS85] J.P. Freyer and R.M. Sutherland. A reduction in the in situ rate of oxygen and glucose consumption of cells on EMT6/Ro spheroid during growth. *J. Cell Physiol.*, 124:516–524, 1985.
- [FS86] J.P. Freyer and R.M. Sutherland. Regulation of growth saturation and development of necrosis in emt6/ro multicellular spheroids by the glucose and oxygen supply. *Cancer Res.*, 46(7):3504–3512, 1986.
- [FSM04] J. Fang, M. Sullivan, and T.F. McCutchan. The effects of glucose concentration on the reciprocal regulation of rRNA promoters in plasmodium falciparum. *The Journal of Biological Chemistry*, 279:720–725, 2004.
- [GDC⁺06] C. Guiot, P.P. Delsanto, A. Carpinteri, N. Pugno, Y. Mansury, and T.S. Deisboeck. The dynamic evolution of the power exponent in a universal growth model of tumors. *J. Theor. Biol.*, 240:459–463, 2006.
- [Gla73] L. Glass. Instability and mitotic patterns in tissue. *J. Dyn. Syst. Meas. Control*, 95:324–327, 1973.
- [glu] <http://www.cadime.com.ar>. Cámara de Instituciones de Diagnóstico Médico.
- [GM03] R.A. Gatenby and P.K. Maini. Mathematical oncology. *Nature*, 421:321, 2003.
- [GML88] I. Gyori, S. Michelson, and J.T. Leith. Time-dependent subpopulation induction in heterogeneous tumors. *Bull. Math. Biol.*, 50(6):681–696, 1988.
- [Gom25] B. Gompertz. On the nature of the function expressive of the law of human mortality and on a new mode of determining life contingencies. *Philos. Trans. Roy. Soc. London A*, 115:513–585, 1825.
- [Gre76] H.P. Greenspan. On the growth and stability of cell cultures and solid tumors. *J. Theor. Biol.*, 56:229–243, 1976.
- [Hek92] S. Hekmatpour. *C++ Guía para programadores en C*. Prentice-Hall Hispanoamericana, 1992.
- [HM89] G.H. Heppner and B.E. Miller. Therapeutic implications of tumor heterogeneity. *Semin. Oncol.*, 16:91–105, 1989.

- [HS00] M.J. Holmes and B.D. Sleeman. A mathematical model of tumour angiogenesis incorporating cellular traction and viscoelastic effects. *J. Theor. Biol.*, 202(2):95–112, 2000.
- [HW00] D. Hanahan and R.A. Weinberg. The hallmarks of cancer. *Cell*, 100:57–70, 2000.
- [JPGCF05] Y. Jiang, J. Pjesivac-Grbovic, C. Cantrell, and J. P. Freyer. A multiscale model for avascular tumor growth. *Biophysical Journal*, 89:3884–3894, 2005.
- [JRL02] R.W. Johnstone, A.A. Ruefli, and S.W. Lowe. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell*, 108:153–164, 2002.
- [Ker06] R.S. Kerbel. Antiangiogenic therapy: A universal chemosensitization strategy for cancer? *Science*, 312(5777):1171–1175, 2006.
- [KPH⁺99] Annemieke C. Kole, Boudewijn E.C. Plaat, Harald J. Hoekstra, Willem Vaalburg, and Willemina M. Molenaar. Fdg and l-[1-¹¹c]-tyrosine imaging of soft-tissue tumors before and after therapy. *The Journal of Nuclear Medicine*, 40(3):381–386, 1999.
- [KSGYK04] K.S. Kelly-Spratt, K.E. Gurley, Y. Yasui, and C.J. Kemp. Deterministic tumor evolution. *PLoS Biology*, 2(8):1046, 2004.
- [KTCD00] A.R. Kansal, S. Torquato, E.A. Chiocca, and T.S. Deisboeck. Emergence of a subpopulation in a computational model of tumor growth. *J. Theor. Biol.*, 207:431–441, 2000.
- [KTH⁺00] A.R. Kansal, S. Torquato, G.R. Harsh, E.A. Chiocca, and T.S. Deisboeck. Cellular automaton of idealized brain tumor growth dynamics. *BioSystems*, 55:119–127, 2000.
- [LKV98] C. Lengauer, K.W. Kinzler, and B. Vogelstein. Genetic instabilities in human cancers. *Nature*, 396(6712):643–649, 1998.
- [LL02] S.W. Lowe and A.W. Lin. Apoptosis in cancer. *Carcinogenesis*, 21:485–495, 2002.
- [MC04] A. Muro and J.A. Campoy. Antonio Brú: Bastaría potenciar el sistema inmune para superar el cáncer. *Discovery Salud*, (65), 2004.
- [MC05] S.A. Menchón and C.A. Condat. Appying physical intuition to biology: Macroscopic and mesoscopic modeling of cancer growth. Preprint. Proceeding de la *Primer Escuela Argentina de Biología Matemática*, Diciembre 2005.

- [MC06] S.A. Menchón and C.A. Condat. Macroscopic dynamics of cancer growth. Aceptado para su publicación en European Physical Journal - Special Topics, Noviembre 2006.
- [Men01] S.A. Menchón. *Difusión de nutrientes y competición entre especies como determinantes del crecimiento del cáncer - Trabajo Final de la Licenciatura en Física*. Fa.M.A.F. - U.N.C., 2001.
- [MG96] J.C.M. Mombach and J.A. Glazier. Single cell motion in aggregates of embryonic cells. *Phys. Rev. Lett.*, 76:3032–3035, 1996.
- [MITL89] S. Michelson, K. Ito, H.T. Tran, and J.T. Leith. Stochastic models for subpopulation emergence in heterogeneous tumors. *Bull. Math. Biol.*, 51(6):731–747, 1989.
- [MK00] W. Mueller-Klieser. Tumor biology and experimental therapeutics. *Oncology Hematology*, 36:123–139, 2000.
- [MKSKWK02] W. Mueller-Klieser, S. Schreiber-Klais, S. Walenta, and M.H. Kreuter. Bioactivity of well-defined green tea extracts in multicellular tumor spheroids. *International Journal of Oncology*, 21:1307–1315, 2002.
- [ML90] S. Michelson and J.T. Leith. Effects of differential cell kill on the dynamic composition of heterogeneous tumors. *Comput. Math. Appl.*, 20:149–159, 1990.
- [MMGL87] S. Michelson, B.E. Miller, A.S. Glickman, and J.T. Leith. Tumor microecology and competitive interactions. *J. Theor Biol.*, 128:233–246, 1987.
- [MS89] S. Michelson and D. Slat. Emergence of the drug-resistant phenotype in tumor subpopulations: A hybrid model. *J. Natl Cancer Inst.*, 81(18):1392–1401, 1989.
- [Mur90] J.M. Murray. Optimal control for a cancer chemotherapy problem with general growth and loss functions. *Math. Biosci.*, 98:273–287, 1990.
- [Mur95] J.M. Murray. An example of the effects of drug resistance on the optimal schedule for a single drug in cancer chemotherapy. *IMA J. Math. Appl. Med.*, 12:55–69, 1995.
- [Mur97] J.M. Murray. The optimal scheduling of two drugs with simple resistance for a problem in cancer chemotherapy. *IMA J. Math. Appl. Med.*, 14:283–303, 1997.
- [Nas96] K. Nasmyth. Viewpoint: Putting the cell cycle in order. *Science*, 274(5293):1643–1645, 1996.
- [NCI] National cancer institution. <http://www.cancer.gov> U.S. National Institutes of Health.

- [NKB06] E.S. Norris, J.R. King, and H.M. Byrne. Modelling the response of spatially structured tumours to chemotherapy: Drug kinetics. *Mathematical and Computer Modelling*, 43:820–837, 2006.
- [Now76] P.C. Nowell. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science*, 194:23–28, 1976.
- [Pan98] J.C. Panetta. A mathematical model of drug resistance: Heterogeneous tumors. *Math. Biosc.*, 147:41–61, 1998.
- [PRSP00] P.P. Delsanto, A. Romano, M. Scalerandi, and G.P. Pescarmona. Analysis of a phase transition from tumor growth to latency. *Phys. Rev. E*, 62(2):2547–2554, 2000.
- [PSDC99] G.P. Pescarmona, M. Scalerandi, P.P. Delsanto, and C.A. Condat. Non-linear model of cancer growth and metastasis: a limiting nutrient as a major determinant of tumor shape and diffusion. *Medical Hypotheses*, 53(6):497–503, 1999.
- [PW85] N.H. Packard and S. Wolfram. Two-dimensional cellular automata. *Journal of Statistical Physics*, 38:901–946, 1985.
- [Ras45] N. Rashevsky. Mathematical biophysics of abstraction and logical thinking. *Bull. Math. Biophys.*, 7:133–148, 1945.
- [RB05] G. Rivera-Barrera. Simulación por computadora del crecimiento de tumores cancerosos tratados con inmunoterapia. Master’s thesis, Univ. de Puerto Rico, 2005.
- [Rej05] K.A. Rejniak. A single cell approach in modeling the dynamics of tumor microregions. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 2(3):643–655, 2005.
- [RGLMBJ03] I.G. Ron, I. Golding, B. Lifshitz-Mercer, and E. Ben-Jacob. Bursts of sectors in expanding bacterial colonies as a possible model for tumor growth and metastases. *Physica A*, 320:485–496, 2003.
- [Ric97] S.H. Rice. The analysis of ontogenetic trajectories: when a change in size or shape is not heterochrony. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94:907–912, 1997.
- [Ros86] R. Rosen. Role of mathematical modeling in protocol formulation in cancer chemotherapy. *Cancer Treat. Rep.*, 70(12):1461–1462, 1986.
- [Sch86] L.E. Schnipper. Clinical implications of tumor-cell heterogeneity. *N. Eng. J. Med.*, 314(22):1423–1431, 1986.
- [SD04] R.V. Solé and T.S. Deisboeck. An error catastrophe in cancer? *Journal of Theoretical Biology*, 228:47–54, 2004.

- [SG76] R.M. Shymko and L. Glass. Cellular and geometric control of tissue growth and mitotic instability. *J. Theor. Biol.*, 63:355–374, 1976.
- [Sol03] R.V. Solé. Phase transitions in unstable cancer cell populations. *Eur. Phys. J. B*, 35:117–123, 2003.
- [SRP+99] M. Scalerandi, A. Romano, G.P. Pescarmona, P.P. Delsanto, and C.A. Condat. Nutrient competition as a determinant for cancer growth. *Phys. Rev. E*, 59(2):2206–2217, 1999.
- [SS93] J. Smolle and H. Stettner. Computer simulation of tumor cell invasion by a stochastic growth model. *J. Theor. Biol.*, 160:63–72, 1993.
- [SSC01] B. Capogrosso Sansone, M. Scalerandi, and C.A. Condat. Emergence of taxis and synergy in angiogenesis. *Phys. Rev. Lett.*, 87:128102, 2001.
- [Swa90] G.W. Swan. Role of optimal control theory in cancer chemotherapy. *Math. Biosc.*, 101:237–284, 1990.
- [TCW+95] P. Tracqui, G.C. Cruywagen, D.E. Woodward, G.T. Bartoo, J.D. Murray, and E.C. Alvord. A mathematical model of glioma growth: the effect of chemotherapy on spatio-temporal growth. *Cell Prolif.*, 28(1):17–31, 1995.
- [vB57] L. von Bertalanffy. Quantitative laws in metabolism and growth. *Q. Rev. Biol.*, 32:217–231, 1957.
- [Ver38] P.F. Verhulst. Notice sur la loi que la population suit dans son accroissement. *Curr. Math. Phys.*, 10:113–121, 1838.
- [Vil92] C.A. Ville. *Biología*. McGraw Hill, 1992.
- [WB05] G.B. West and J.H. Brown. The origin of allometric scaling laws in biology from genomes to ecosystems: Towards a quantitative unifying theory of biological structure and organization. *J. Exp. Biol.*, 208:1575–1592, 2005.
- [WBE97] G.B. West, J.H. Brown, and B.J. Enquist. A general model for the origin of allometric scaling laws in biology. *Science*, 276:122–126, 1997.
- [WBE99] G.B. West, J.H. Brown, and B.J. Enquist. The fourth dimension of life; fractal geometry and allometric scaling of organisms. *Science*, 284:1677–1679, 1999.
- [WBE01] G.B. West, J.H. Brown, and B.J. Enquist. A general model for ontogenetic growth. *Nature*, 413(6856):628–631, 2001.
- [Whi01] J. Whitfield. All creatures great and small. *Nature*, 413:342–344, 2001.
- [Win32] C.P. Winsor. The gompertz curve as a growth curve. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 18(1):1–8, 1932.

- [Wri26] S. Wright. Book review. *J. Am. Stat. Assoc.*, 21:493–497, 1926.
- [WWZC04] R. Wu, Z. Wang, W. Zhao, and J.M. Cheverud. A mechanistic model for genetic machinery of ontogenetic growth. *Genetics*, 168:2383–2394, 2004.
- [YSS82] W.A. Yung, J.R. Shapiro, and W.R. Shapiro. Heterogeneous chemosensitivities of subpopulations of human glioma cells in culture. *Cancer Res.*, 42:992–998, 1982.
- [Zac96] J.L. Zachary. *Introduction to Scientific Programming: Computational Problem Solving Using Maple and C*. Springer, 1996.

- alimentación, 13
- alométrico, 83
- angiogénesis, 15, 17, 95
- apoptosis, 15, 59
- Burton, 24
- ciclo celular, 16, 48
- competencia, 43
- consumición, 31
- crecimiento
 - logístico, 23
 - ontogenético, 83
- Darwin, 15
- datos
 - estadísticos, 13
 - experimentales, 47
- diagrama de fases, 39
- diferenciación, 15
- distribución espacial, 43
- droga-tumor, 67
- esferoides, 87
 - necrosis, 90
- evolución clonal, 15
- exponente dinámico, 84
- glucosa, 48
- Gompertz, 23
- inhibidores, 15
- inmunoterapia, 96
- invasión, 17
- macroscópico, 18
- mesoscópico, 19
- metástasis, 17
- microscópico, 18
- migración, 32
- mitosis, 31
- modelos
 - clásicos, 23
 - contemporáneos, 24
 - quimioterapia, 61
 - subpoblaciones, 26
- muerte, 31
- necrótico, 17
- nutriente
 - libre, 30
 - ligado, 30
- p53, 60
- parámetros, 49
- quiescente, 16
- quimioterapia, 59
- radio de giro, 52
- resistencia
 - adquirida, 38, 59, 65, 77
 - intrínseca, 59, 63, 74
- rugosidad, 57
- scaling, 84
- sectores de apertura, 43
- sistema complejo, 17

tabaco, 13

tasa de crecimiento, 57

tumor, 17

 avascular, 17

 con quimioterapia, 69

 heterogéneo, 38, 41

 homogéneo, 36

 vascularizado, 17

volumen, 53

West, 84