

Modelamiento del proceso de metástasis producto de la des-diferenciación de células cancerígenas adultas (CAC) en células madre cancerígenas (CMC)

José German Rodríguez Bermeo (201617152)
Universidad de los Andes
Bogotá, Colombia

jg.rodriquezb@uniandes.edu.co

Pablo Nicolás Garnica Cuellar (201713127)
Universidad de los Andes
Bogotá, Colombia

pn.garnicar@uniandes.edu.co

1. Introducción

La metástasis es el proceso por el cual las células tumorales cancerígenas migran del tumor original y establecen colonias en tejidos circundantes. Esta migración depende del tránsito de las células cancerígenas migratorias por medio de los sistemas circulatorio y linfático.[2] Durante esta migración, algunas de estas células mueren antes de poder llegar a un tejido que permita el establecimiento de una colonia y teniendo en cuenta la importancia de establecer una buena vascularización para que la colonia celular pueda sobrevivir, algunas colonias celulares no logran proliferar lo suficiente para poder formar tumores.[1]

En los últimos años se han realizado investigaciones que han llevado a concluir que las células madre cancerígenas (CMC) son las responsables de promover el proceso de metástasis[1][3] en conjunto con modificaciones en la composición de la matriz extracelular del tumor original.[1] Las CMC presentan características de células madre que pueden diferenciarse posteriormente en células cancerígenas adultas (CAC) del tejido del tumor original, donde las CMC representan una pequeña fracción del contenido celular del tumor. Cuando el tumor original alcanza un tamaño determinado, algunas CACs son inducidas en un proceso conocido como des-diferenciación, en donde pierden las características del tejido original y comienzan a exhibir características de células madre convirtiéndose en CMC y posteriormente desprendiéndose del tumor original para migrar a otros tejidos en los cuales puedan establecer nuevas colonias y formar tumores. El proceso de des-diferenciación depende del tamaño y densidad celular del tumor original, posiblemente por el crecimiento del tamaño del centro necrótico del tumor producido por la ausencia de irrigación sanguínea en la zona más densa del tumor que podría promover la des-diferenciación celular produciendo CMC.[5]

Para el desarrollo de nuevas terapias contra la metástasis del cáncer, es esencial conocer cual es el impacto de las

des-diferenciación de las CAC en CMC y como afectan estas en el tiempo de formación de nuevos tumores dispersados en el cuerpo. En este artículo proponemos un modelo determinístico continuo, que ayuda a analizar el impacto del proceso de des-diferenciación de las CAC y en CMC y el tiempo que le toma a un tumor nuevo alcanzar un tamaño similar al tumor original. Para esto nos basaremos en los actores principales que son el tumor original y un tejido objetivo.

El cáncer de pulmón es uno de los cánceres más comunes del mundo y es también el de mayor mortalidad, independientemente del sexo del paciente.[1] En Colombia, la incidencia del cáncer de pulmón es de 11,8 habitantes por cada 100000 [9], lo que convierte a esta enfermedad en una prioridad para la salud pública de nuestro país y por lo tanto, en nuestro modelo, el actor de tumor original será un tumor cancerígeno pulmonar. El crecimiento del tumor original pulmonar es promovido por diversos factores, entre los más importantes se encuentra la producción de fibronectina[8], la cual aumenta entre más grande es el tumor. Esta última, contribuye también a la des-diferenciación y migración de células desde el tumor original a otras zonas del cuerpo, promoviendo así la metástasis, por lo que entre mayor sea la producción de fibronectina, mayor será la migración celular.[8] Algunos de los tejidos donde más frecuentemente se forman tumores aledaños a un tumor original pulmonar en el proceso de metástasis, son el hígado, huesos, estómago y cerebro[7]. Para nuestro modelo, tomaremos al tejido cerebral como actor de tejido objetivo.

2. Metodología

2.1. Supuestos del modelo

Para la construcción de nuestro modelo, estableceremos los siguientes supuestos:

- Las células del tumor nuevo en el tejido objetivo son del mismo tipo celular que las del tumor original[5],

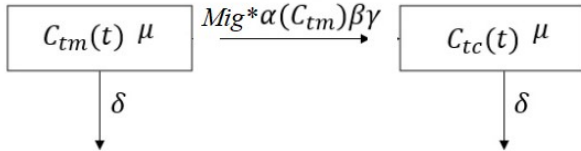
por lo tanto sus condiciones de crecimiento y proliferación serán las mismas

- Para este caso, asumimos que la formación del tumor cerebral es exitosa, es decir, toda CMC que emigra y sobrevive llega al tejido objetivo y forma una colonia celular exitosa, donde se comenzará a formar el tumor
- El tumor formado no alcanza un estadio de des-diferenciación, por lo que todas las CMC provenientes del tumor pulmonar se diferencian en células cancerígenas comunes y proliferan normalmente al llegar al tejido objetivo.
- La muerte celular únicamente será producto del crecimiento del tumor, es decir, de su tamaño en relación con la ausencia de vascularización de su centro necrótico

2.2. Construcción del modelo

Se definieron algunos parámetros, tasas y variables, con las cuales construiremos nuestro modelo. Los parámetros, variables y tasas los definimos en la Figura 6. que se encuentra en la sección de anexos, en donde se muestran la notación, descripción y unidades de cada una.

Con base en la Figura 6., construimos el siguiente diagrama de cajas, que representa las dinámicas de nuestro modelo:



Teniendo en cuenta el diagrama de cajas, planteamos nuestro modelo con base al principio de balance de masa: A

$$\#CAC_{tumorOriginal} = C_{tm} = C_{tm}nacen - C_{tm}mueren - CMC$$

$$\#CAC_{tumorCerebral} = C_{tc} = C_{tc}nacen - C_{tc}mueren + CMC$$

partir de esto y de los parámetros, tasas y variables definidas en la Figura 6., hallamos el siguiente sistema de ecuaciones diferenciales:

$$\frac{dC_{tc}(t)}{dt} = \mu C_{tc}(t) - \delta C_{tc}(t) + Mig * C_{tm}(t) \alpha(C_{tm}(t)) \beta * \gamma$$

Posterior a esto, fue necesaria la definición de una función $\alpha(C_{tm})$ que representa la tasa de des-diferenciación y dado que está depende a su vez de la tasa

$$\frac{dC_{tm}(t)}{dt} = \mu C_{tm}(t) - \delta C_{tm}(t) - Mig * \alpha(C_{tm}(t)) \beta$$

de producción de fibronectina por célula, se define también la función $FN(C_{tm}(t))$:

$$\alpha(C_{tm}(t)) = C_{tm}(t) \theta FN(C_{tm}(t))$$

$$FN(C_{tm}(t)) = \mu_{FN} * C_{tm}(t)$$

Y reemplazando en el sistema de ecuaciones anterior, se obtiene:

$$\frac{dC_{tc}(t)}{dt} = \mu C_{tc}(t) - \delta C_{tc}(t) + Mig * C_{tm}(t) * \theta * \mu_{FN} * C_{tm}(t) * \beta * \gamma$$

$$\frac{dC_{tm}(t)}{dt} = \mu C_{tm}(t) - \delta C_{tm}(t) - Mig * C_{tm}(t) \theta * \mu_{FN} * C_{tm}(t) * \beta$$

De esta manera obtenemos nuestro sistema de ecuaciones diferenciales que representan el modelo que planteamos:

$$\begin{bmatrix} \frac{dC_{tm}(t)}{dt} \\ \frac{dC_{tc}(t)}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mu C_{tm}(t) - \delta C_{tm}(t) - Mig * C_{tm}(t)^2 \theta \mu_{FN} \beta \\ (\mu - \delta) C_{tc}(t) + Mig * \beta \gamma \theta C_{tm}(t)^2 \mu_{FN} \end{bmatrix}$$

Para agregar un limite de crecimiento para ambos tumores, se agregó el parámetro K_{max} que representa la máxima cantidad de CACs de un tumor antes de que las CACs empiecen a des-diferenciarse en CMCs. Para esto, definimos una función a trozos que describirá el comportamiento de la tasa de des-diferenciación representada en la función $\alpha(C_{tm}(t))$:

$$\alpha(C_{tm}(t)) = \begin{cases} C_{tm}(t)^2 \theta \mu_{FN} & \text{Cuando: } C_{tm}(t) \geq K_{max} \\ 0 & \text{dlc} \end{cases}$$

Reemplazando en el sistema de ecuaciones, se obtiene:

$$\begin{bmatrix} \frac{dC_{tm}(t)}{dt} \\ \frac{dC_{tc}(t)}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \mu C_{tm}(t) - (\delta C_{tm}(t) + (Mig * \beta * \alpha(C_{tm}(t)))) \\ (\mu - \delta) C_{tc}(t) + (Mig * \beta * \gamma * \alpha(C_{tm}(t))) \end{bmatrix}$$

Finalmente, agregamos nuestro parámetro K_{max} que le agregara un limite de crecimiento a cada tumor, asemejándose a una función logística.

$$\begin{bmatrix} \frac{dC_{tm}(t)}{dt} \\ \frac{dC_{tc}(t)}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} (\mu C_{tm}(t) - (\delta C_{tm}(t) + (Mig * \beta * \alpha(C_{tm}(t)))) * \left(1 - \left(\frac{C_{tm}(t)}{K_{max}}\right)\right) \\ ((\mu - \delta)C_{tc}(t) + (\gamma * (Mig * \beta * \gamma * \alpha(C_{tm}(t)))) * \left(1 - \left(\frac{C_{tc}(t)}{K_{max}}\right)\right) \end{bmatrix}$$

2.3. Simulación del sistema

Realizamos simulaciones del sistema con ayuda de Python. Buscamos algunos parámetros y tasas en la literatura, mientras que otros fueron definidos por nosotros mismos. Los valores de los parámetros y tasas utilizados en la simulación se encuentran descritos en la Figura 7.

3. Resultados

Obtuvimos un sistema de ecuaciones diferenciales homogéneas y no lineales. Utilizando el sistema sin limite para el crecimiento, realizamos simulaciones con diferentes ventanas temporales para poder observar la dinámica del sistema. Las ventanas escogidas fueron de 3 días, 15 días y de 1 día. Se tomaron en cuenta todos los parámetros y tasas mencionadas previamente, y una cantidad inicial de células de $(C_{tm}(t_0) = 100)$

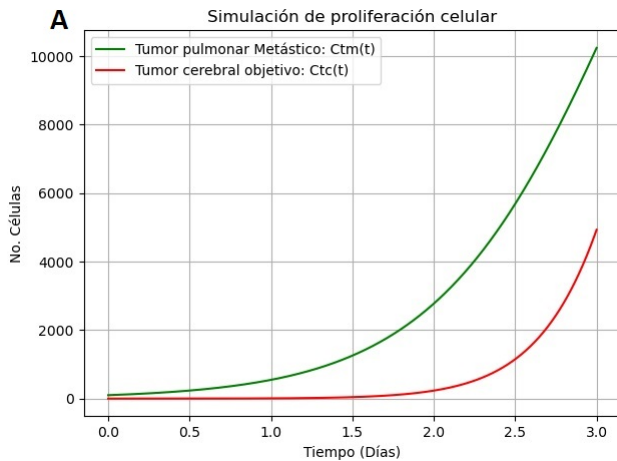


Figure 1. Simulación del sistema con ventana temporal de 3 días.

Posteriormente se realizaron simulaciones con el sistema que contiene el limite de crecimiento K_{max} obteniendo los siguientes resultados para diferentes ventanas de tiempo y parámetros de crecimiento:

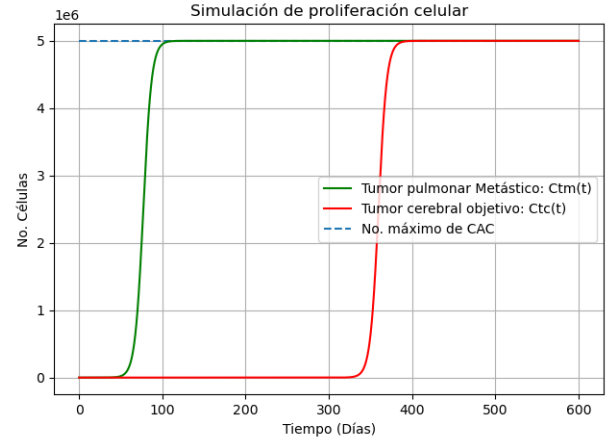


Figure 2. Simulación del sistema con limite de $K_{max} = 5 \times 10^6$ Donde el parámetro de crecimiento $\mu = 0.2$ con una ventana temporal de 600 días.

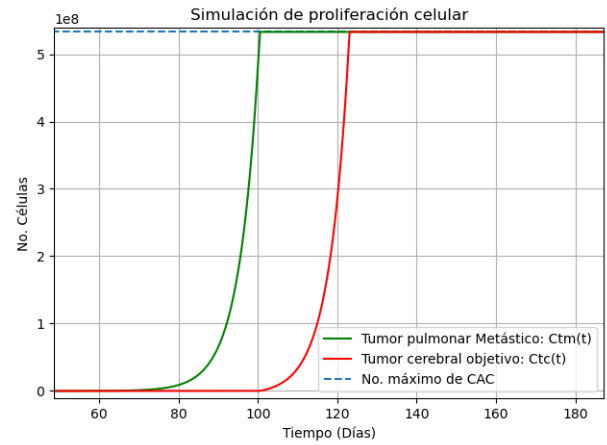


Figure 3. Simulación del sistema con limite de $K_{max} = 5.33 \times 10^8$ Donde el parámetro de crecimiento $\mu = 0.2$ con una ventana temporal de 200 días. Los parámetros de esta simulación son los que se muestran en la figura 7 que se encuentra en anexos

4. Discusión

En general se obtuvo un modelo no lineal de ecuaciones diferenciales, el cual está limitado por un factor máximo de crecimiento. Dicho crecimiento está mediado por el parámetro μ y el limite del crecimiento fue hallado con base en la literatura en donde el tamaño de un tumor metastático de pulmón, suele tener entre 4cm de largo, con una forma ovalada. Se calculó el volumen y se halló el tamaño promedio de una célula endotelial, asumiendo una forma esférica para esta. Se realizaron los cálculos, en donde se obtuvo que para un tumor de 4cm de largo ovalado [11], caben alrededor de 5.3×10^8 células. Esta estimación nos permitió realizar las simulaciones mostradas en las figuras 3 y 4. En la Figura 1., se puede apreciar que el tumor cere-

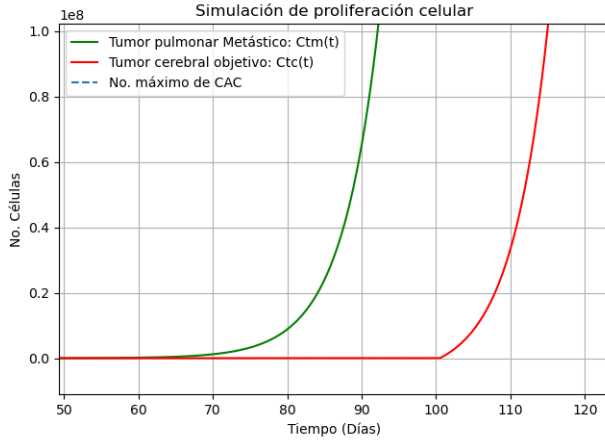


Figure 4. Acercamiento de la figura 3 entre 50 y 120 días.

bral comienza a crecer debido a la migración de células por parte del tumor pulmonar. Esta migración es producida por la des-diferenciación en CMC, teniendo en cuenta la producción de fibronectina por las células cancerígenas que a su vez promueven la migración celular. Al considerar este parámetro encontramos que, durante los primeros días de la metástasis, la cantidad de células del tumor original del pulmón será mucho mayor a la cantidad de células en el tumor cerebral.

En cuanto a la figura 2, se utilizó un tope máximo de 5×10^6 células para probar la simulación. Donde obtuvimos una primera curva de crecimiento para el tumor metastático, sin embargo, debido a la forma en la que se desarrollo nuestro algoritmo, al acercarse al limite de crecimiento celular, la proliferación celular en el tiempo disminuyo drásticamente, generando que se llegara al limite mucho después del tiempo previsto. Al llegar al limite de crecimiento, las CACs se comienzan a des-diferenciar en CMCs, dando origen a la curva de células perteneciente al tumor cerebral producto de metástasis, ocurriendo casi a los 350 días después de que el primer tumor comenzó a crecer. En comparación con el estudio de Gonzales J. et al.[10], se obtienen curvas de crecimiento muy parecidas a las reportadas en su estudio donde se utilizó el modelo de Gompertz para el modelamiento del crecimiento tumoral.

Teniendo en cuenta la figura 5, se puede observar una leve similitud en la forma de las curvas obtenidas con las del modelo Gompertz. Sin embargo la mayor diferencia radica en que nuestro modelo se basa en cantidad de CACs en un tumor, mientras que el modelo de Gompertz se basa en el cambio del volumen ocupado por un tumor. A pesar de estas diferencias en principios de ambos modelos, se esperaría una relación directamente proporcional entre el volumen ocupado por el tumor y la cantidad de CACs en el mismo.

En cuanto a la figura 3, se observa un evidente cambio

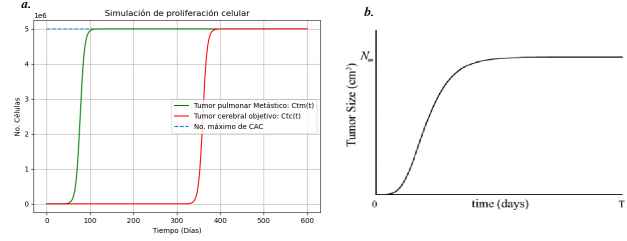


Figure 5. Simulaciones obtenidas en este estudio (a). Simulación del modelo de Gompertz para el crecimiento tumoral medido en volumen (b) [10]

en la forma de las curvas. Este se debe a los cambios que realizamos a nivel del algoritmo desarrollado, en donde la proliferación celular no disminuye drásticamente al ir llegando al limite, sino que cambia abruptamente al llegar a este limite, en donde instantáneamente comienza la des-diferenciación de las CACs en CMCs. Para este caso, el crecimiento del segundo tumor comienza a hacerse evidente en el día 170, en donde la tasa de crecimiento comienza a aumentar. La figura 4. es un acercamiento a la zona en donde comienza a crecer el tumor cerebral. el cambio en el crecimiento celular es de forma abrupta de la misma manera a lo observado cuando se acerca a los limites.

Para las simulaciones mostradas en las figuras 3 y 2, se puede observar que las variaciones temporales son mas cercanas a la realidad en cuanto al crecimiento tumoral. Sin embargo, uno de los mayores retos fue la escogencia de parámetros, ya que muchos de estos parámetros no pudieron ser encontrados en la literatura y por lo tanto debieron ser estimados y/o escogidos arbitrariamente por nosotros. Esto hace que nuestro modelo tenga grandes falas en cuanto a la representación del avance del cáncer en estado de metástasis. De poder encontrar los parámetros en la literatura, se habría podido realizar una mejor simulación. Adicionalmente, seria importante la recolección de datos de casos reales, sin embargo el conteo celular de un tumor in-vivo, no es fácil de realizar y monitorear. De poder obtener datos de numero de células que migran y de células que conforman los tumores, se podrían obtener varias observaciones del mundo real que permitan ser utilizadas para estimar los parámetros de nuestro modelo por medio de funciones de verosimilitud. Se propone entonces para el trabajo a futuro, realizar un modelo que no tenga en cuenta el numero de células sino al tamaño en volumen del tumor, de manera que puedan realizarse tomas de datos reales mas sencillas para estimar los mejores parámetros del modelo.

5. Conclusiones

El modelo propuesto en este trabajo, permitió el análisis de la migración tumoral, teniendo en cuenta la tasa de diferenciación de CACs en CMCs con la influencia de la generación de fibronectina en el medio celular. Nuestro modelo se vio afectado por el tipo de algoritmo utilizado para simular las ecuaciones diferenciales que propusimos, razón por la cual se encuentran cambios abruptos en las tasas de crecimiento celular de una de las simulaciones. En comparación con nuestras anteriores iteraciones de este modelo, se logró implementar un límite de crecimiento el cual permite establecer el momento en el cual las CACs se convierten en CMCs. Sin embargo, es indispensable contar con datos reales en el futuro para poder ajustar los parámetros del modelo.

References

- [1] Nikolaos Sfakianakis, Niklas Kolbe, Nadja Hellmann, Mária Lukáčová-Medvid'ová. 2017 "A Multiscale Approach to the Migration of Cancer" *Stem Cells: Mathematical Modelling and Simulations*. doi: 10.1007/s11538-016-0233-6.
- [2] Brabletz, T., Jung, A., Spaderna, S. et al. Migrating cancer stem cells — an integrated concept of malignant tumour progression. *Nat Rev Cancer* 5, 744–749 (2005). <https://doi.org/10.1038/nrc1694>
- [3] Eyler CE, Rich JN. Survival of the fittest: cancer stem cells in therapeutic resistance and angiogenesis. *J Clin Oncol*. 2008;26(17):2839-2845. doi:10.1200/JCO.2007.15.1829
- [4] Dolores Hambarzumyan, Oren J. Becher and Eric C. Holland (2008) Cancer stem cells and survival pathways, *Cell Cycle*, 7:10, 1371-1378, DOI: 10.4161/cc.7.10.5954
- [5] Liu ZG, Jiao D. Necroptosis, tumor necrosis and tumorigenesis. *Cell Stress*. 2019;4(1):1-8. Published 2019 Dec 19. doi:10.15698/cst2020.01.208
- [6] Robert E. Hynds, Kristopher K. Frese, David R. Pearce, Eva Grönroos, Caroline Dive and Charles Swanton. (2021) Progress towards non-small-cell lung cancer models that represent clinical evolutionary trajectories. taken from: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rsob.200247>
- [7] Miguel Mayoral, Edgar Zenteno, Blanca Espinosa, Salvador Martinez y Jorge Guevara (2004) PERSPECTIVA MONOGRÁFICA DEL CÁNCER PULMONAR: UN ENFOQUE MOLECULAR Y LA METÁSTASIS AL CEREBRO. taken from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-75852004000400007
- [8] Christina Cho, Carol Horzempa, Christine M. Longo, Donna M. Peters, David M. Jones and Paula J. McKeown-Longo (2020) Fibronectin in the Tumor Microenvironment Activates a TLR4-dependent Inflammatory Response in Lung Cancer Cells. taken from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7097952/>
- [9] Ministerio de Salud de Colombia (2020) "Boletín No. 01 Día mundial del cáncer de pulmón" taken from: https://www.sispro.gov.co/observatorios/oncancer/Paginas/onc_boletin_01_cancer_pulmon.aspx
- [10] Jorge A. González, Harold P. de Vlarar and Morella Rebolledo (2003) "NEW LATE-INTENSIFICATION SCHEDULES FOR CANCER TREATMENTS", Centro de Física. Departamento de Matemáticas y Centro de Ecología. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas. Aptdo. Postal 21827, Caracas 1020-A, Venezuela. *Acta Científica Venezolana*. taken from: https://www.researchgate.net/publication/7825977_New_late-intensification_schedules_for_cancer_treatments
- [11] American Society of Clinical Oncology (2019) "Cáncer de pulmón de células no pequeñas: Estadios", taken from: <https://www.cancer.net/es/tipos-de-c%C3%A1ncer/c%C3%A1ncer-de-pulm%C3%B3n-de-c%C3%A9lulas-no-peque%C3%B1as/estadios>

Realizado en L^AT_EX

Variables	Descripcion	Unidades
$C_{tm}(t)$	Cantidad de células cancerigenas en el tumor original, incluyendo CACs y CMCs (Pulmón)	<i>Celulas C_{tm}</i>
$C_{tc}(t)$	Cantidad de CACs en el tejido objetivo (Cerebro)	<i>Celulas C_{tc}</i>
Parámetros	Descripcion	Unidades
δ	Tasa de muerte celular de células tumorales	$\frac{1}{t}$
β	Proporción de células des-diferenciadas (CMCs) que migran	N/A
γ	Tasa de CMCs que migran hacia el tejido objetivo y que efectivamente se afhieren al tejido cerebral, formando un tumor y diferenciandosen en CACs	$\frac{\text{Celulas } C_{tc}}{\text{Celulas } C_{tm}}$
μ	Tasa de reproducción celular de las CACs	$\frac{1}{t}$
θ	Tasa de proliferación de CMCs	$\frac{1}{t}$
μ_{fn}	Produccion de fibronectina por célula por unidad de tiempo	$\frac{\text{Fibronectina}}{t * \text{Celulas } C_{tm}}$
Mig	Tasa de tiempo transcurrido hasta que la fibronectina producida genere la des-diferenciacion de una CAC en una CMC.	$\frac{t^2}{\text{Fibronectina}}$
$\alpha(C_{tm}(t))$	Tasa de desdiferenciación de CACs en CMCs	$\frac{\text{Celulas } C_{tm} * \text{Fibronectina}}{t^3}$
K_{max}	Numero máximo de CACs antes de que se comiencen a desdiferenciar en CMCs. El parámetro es igual para ambos tejidos.	<i>Celulas C_{tm} ó Celulas C_{tc}</i>
$FN(C_{tm}(t))$	Fibronectina producida por unidad de tiempo	$\frac{\text{Fibronectina}}{t}$

Figure 6. Tabla de parámetros, variables y tasas definidas para nuestro modelo

Estado inicial	Valor
$C_{tm}(t=0)$	1
$C_{tc}(t=0)$	0
Parámetros	Valor
δ	8.64×10^{-5}
β	0.8
γ	0.6
μ	0.2
θ	0.864
μ_{fn}	5×10^{-7}
Mig	2×10^{-5}
$\alpha(C_{tm}(t = 0))$	0
K_{max}	5,33E+08
$FN(C_{tm}(t = 0))$	0

Figure 7. Tabla de parámetros escogidos para realizar las simulaciones