

Capítulo 4

Simulaciones del modelo microscópico

A lo largo de este capítulo se expone en detalle cómo se han realizado las simulaciones del modelo descrito en la Sección 3.2. En este caso, se han realizado algunas simplificaciones para facilitar tanto la exposición como la implementación (ver Sección 4.1). En la Sección 4.2 se exponen algunas puntualizaciones básicas sobre la implementación de los algoritmos utilizados para las simulaciones de la Sección 4.3. Entre estas explicaciones se incluyen un pseudocódigo y aclaraciones sobre aspectos concretos del mismo. La versión completa del código principal de este capítulo, realizado en Matlab, puede verse en el Apéndice A. Como ya se ha comentado en el capítulo anterior, es posible ajustar los parámetros del modelo de manera que se pongan de manifiesto distintos comportamientos poblacionales. Concretamente se presentan situaciones de intolerancia al patógeno (Sección 4.3.1), en las que las células T erradican la población de patógeno, acabando así con la infección, situaciones de tolerancia (Sección 4.3.2), correspondientes al caso en el que las células T no consiguen controlar la infección y el agente que la produce se hace con el control del organismo, y se discute también qué ocurre cuando poblaciones de células T con distinta afinidad a un patógeno se enfrentan a él (Sección 4.3.3).

4.1. Modelo simplificado

Para las simulaciones hemos optado por una versión simplificada del modelo propuesto en la Sección 3.2, de tal manera que el número de parámetros sea suficiente para no perder la esencia del argumento, pero no muy elevado para evitar distraer al lector con notación engorrosa. Siguiendo con la notación de 3.2, asumiremos $k = 2$. Es decir, suponemos que hay dos tipos de receptores en la membrana de las células T: p (de proliferación) y d (de muerte) que controlan la evolución de los inhibidores de ciclo (Rb) y apoptosis (Bcl-2), respectivamente.

Distinguiremos dos tipos de células T: las efectoras, que son las que combaten activamente al patógeno, y las de memoria, que guardan información sobre el agente infeccioso con la finalidad de dar una respuesta inmune más rápida en caso de reaparición de este agente. Cada tipo de células constituye una población distinta, pues las ecuaciones que determinan su comportamiento son diferentes. Para las células T efectoras asumimos que los receptores de proliferación (p) se expresan a partir de las señales que reciben gracias a su TCR y que, simultáneamente, autorregulan su expresión induciendo la producción de

receptores tipo muerte¹ (d). Así las cosas, las ecuaciones 3.1 y 3.2 pueden escribirse como:

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{c}(t) = -\mu_{pc}p(t) \\ \dot{a}(t) = -\mu_{da}d(t) \\ \dot{p}(t) = \lambda_{Tp}r_T(t) - \lambda_{pp}p(t) \\ \dot{d}(t) = \lambda_{pd}p(t) \\ c(0) = c_0 \\ a(0) = a_0 \\ p(0) = p_0 \\ d(0) = d_0 \end{array} \right. \quad (4.1)$$

Para el caso de las células T de memoria hay que tener en cuenta que este tipo de células no muere durante la *contracción clonal*, es por ello que las ecuaciones que regulan esta población difieren ligeramente de las vistas en el Sistema 4.1. La dinámica de las células T de memoria viene dada por el mismo Sistema 4.1, en el que se ha tenido en cuenta que $d = 0$, puesto que nos centramos solamente en el inhibidor del ciclo celular y no en el de muerte. De esta manera, las ecuaciones que rigen el algoritmo de decisión para células T de memoria viene dado por:

$$\left\{ \begin{array}{l} \dot{c}(t) = -\mu_{pc}p(t) \\ \dot{p}(t) = \lambda_{Tp}r_T(t) - \lambda_{pp}p(t) \\ c(0) = c_0 \\ p(0) = p_0 \end{array} \right. \quad (4.2)$$

Con estos tres sistemas de ecuaciones (Sistemas 3.3, 4.1 y 4.2) queda definido el marco teórico del modelo. Sin embargo, antes de poder simular numéricamente estas ecuaciones debemos elegir los valores concretos que tomarán los parámetros. Esta no es una tarea sencilla, puesto que nadie sabe cuánto pueden valer estos coeficientes en la realidad. La elección de los parámetros que hemos hecho para la primera simulación (Sección 4.3.1) se recoge en la Tabla 4.1. En base a esta elección y a las variantes que se exponen a lo largo de esa sección, obtenemos unos resultados que nos permiten identificar distintos tipos de respuesta inmune, sin necesidad de invocar ningún mecanismo distinto a las hipótesis detalladas en la Sección 3.1. A continuación, se presentan algunos detalles de la implementación.

4.2. Detalles de implementación y pseudocódigo

Con ánimo de aclarar algunos aspectos técnicos, se especifican, paso por paso, las instrucciones seguidas para la realización de las simulaciones. El Algoritmo 1 contiene un pseudocódigo muy sencillo con los detalles claves y prácticamente independientes del lenguaje de programación que se utilice. El código completo, realizado en Matlab, puede verse en el Apéndice A.

La clave principal de la implementación es cómo se guarda la población de células disponibles en cada momento. Esta información se recoge en una matriz, donde se especifica el tipo de la célula (efectora, de memoria, si está en fase de ciclo, apoptosis o decisión)²,

¹Esto no se produce en sentido contrario, los receptores tipo d no activan receptores de tipo p .

²Cada una de estas fases constituye un tipo distinto. Por ejemplo, una célula T efectora puede ser de tipo 1 si está en fase de decisión, 3 si está en fase de división o 4 si está en fase de apoptosis.

Variables	$t_{cycle} = 0,15$	Duración de la fase de ciclo.
	$t_{apo} = 0,2$	Duración de la fase de apoptosis.
	$t_{next} = 0,3$	Duración del paso en la simulación.
	$a_0 = 0,3$	Cantidad inicial de Bcl-2 para células T efectoras.
	$c_0 = 0,08$	Cantidad inicial de Rb para células T efectoras.
	$c_0^{mem} = 0,04$	Cantidad inicial de Rb para células T de memoria.
	$N_{ini} = 25$	Número inicial de células T naïve.
	$Y_{ini} = 5$	Número inicial de moléculas del patógeno.
	$r_p, r_d = 0$	Número inicial de receptores de membrana p y d .
Patógeno	$\alpha = 6$	Tasa de proliferación.
	$\beta = 0,04$	Tasa de muerte por linfocito.
Células T efectoras	$\lambda_{pd} = 0,05$	Tasa de cambio del receptor R_d por cada señal R_p .
	$\lambda_{Tp} = 6 * 10^{-5}$	Tasa de cambio del receptor R_p por cada señal del TCR.
	$\lambda_{pp} = 0,5 * 10^{-4}$	Tasa de cambio del receptor R_p por cada señal R_p .
	$\mu_{pc} = 15$	Tasa de cambio de Rb por cada señal del TCR.
	$\mu_{da} = 10$	Tasa de cambio de Bcl-2 por cada señal del TCR.
	$\lambda_{Tp}^{mem} = 10^{-5}$	Igual que λ_{Tp} , para células T de memoria.
Células T de memoria	$\lambda_{pp}^{mem} = 2 * 10^{-2}$	Igual que λ_{pp} , para células T de memoria.
	$\mu_{pc}^{mem} = 13$	Igual que μ_{pc} , para células T de memoria.

Tabla 4.1: Tabla de variables y parámetros.

la cantidad de Rb y Bcl-2 disponible, el número de receptores de membrana que tiene y el tiempo que le queda para finalizar la fase correspondiente. Como se trata de un modelo microscópico, en el que cada célula toma su decisión de manera independiente, el hilo conductor de la implementación se basa en recorrer la matriz de células y ejecutar la decisión tomada por la célula que se esté tratando. Cada vez que se recorre la población de células T asumimos que pasa un tiempo t_{next} que actualiza el tiempo actual de la simulación al final de la iteración y que permite determinar cuándo una célula ha acabado la fase de división o apoptosis. Una vez establecidas las estructuras necesarias para guardar la información, veamos las instrucciones concretas del modelo.

1. Comenzamos la simulación en un tiempo inicial $t = 0$ y acabamos en un tiempo final T_{final} configurable.
2. Para cada tiempo t , se calcula la cantidad de patógeno disponible, Y .
3. En función de Y , y para cada célula T de la población, se calcula la cantidad de patógeno que está a su alcance y se resuelve el sistema de ecuaciones correspondiente

para conocer la cantidad de Rb (c) y Bcl-2 (a) activa en ese instante. En función de esto se desencadena la división celular, si $c = 0$, o el suicidio de la célula, si $a = 0$. En otro caso la célula seguirá en fase de decisión y volverá a calcular a y c en la siguiente iteración en base a la cantidad obtenida en la actual.

4. Cuando una célula se divide, se generan dos células hijas con los parámetros correspondientes a su TCR (ver Sistema 3.6). Recordemos que la cantidad de receptores de la célula madre se divide entre las dos hijas de manera asimétrica, y los parámetros iniciales, para que pueda comenzar su fase de *decisión*. Se sigue en el paso 6.
5. Si por el contrario la célula comete suicidio, se eliminará de la población.
6. Se contempla la siguiente célula de la población y se vuelve a 3.
7. Se actualiza el tiempo para la siguiente iteración y se vuelve a 1.

Algorithm 1 Algoritmo de la decisión. Células T.

```

1: Inicialización de parámetros según 4.1
2:  $t = 0$ ; ▷ t será el tiempo por el que vamos simulando
3: while  $t < T_{final}$  do
4:    $Y = Y_{init} * e^{t*(\alpha - N*\beta)}$ ; ▷ Calculamos Y con la solución explícita de 3.3
5:   for  $nCell$ ;  $nCell++$ ;  $N$  do ▷ Para cada célula T de la población
6:      $r_T = \rho * Y$ ; ▷ Ecuación 3.4
7:     if  $efectora(nCell)$  then ▷ Si es una célula T efectora
8:       Se resuelve 4.1
9:       if  $a \leq 0$  then
10:        La célula  $nCell$  se elimina de la población
11:       else if  $c \leq 0$  then
12:        La célula  $nCell$  se divide
13:        Las condiciones iniciales de las células hijas vienen determinadas por
            $a_0, c_0$  y 3.6
14:       else if  $memoria(nCell)$  then ▷ Si es una célula T de memoria
15:        Se resuelve 4.2
16:       if  $c \leq 0$  then
17:        La célula  $nCell$  se divide siguiendo el mismo procedimiento que la divi-
           sión de una célula T efectora.
18:    $t = t + t_{next}$ ;
19:   Se actualiza el número de células de la población.
```

En este pseudocódigo se ha detallado cuáles son las ecuaciones involucradas en cada paso. A continuación, exponemos algunas particularidades de este pseudocódigo: hemos omitido que cuando las condiciones son $a > 0$ y $c > 0$, en el caso de las células T efectoras y $c > 0$, en el caso de las células T de memoria, la célula permanece en la fase de decisión, pero actualiza sus condiciones para la siguiente iteración según los resultados que ha obtenido en la iteración actual. También hay que tener en cuenta que la división celular y el proceso de apoptosis no se llevan a cabo de manera inmediata, conllevan un tiempo t_{cycle} y t_{apo} , respectivamente, por lo que el número total de células en la población debe actualizarse una vez que estos procesos hayan finalizado y no instantáneamente, como pueden sugerir las líneas 10, 12 y 17 del pseudocódigo. Otro aspecto que hemos supuesto es que el parámetro γ que aparecía en la Ecuación 3.4 es $\gamma = 1$. Es decir, suponemos que todo encuentro del

TCR de la célula T con el antígeno va a desencadenar una activación. El parámetro ρ debe ser calculado de tal manera que todas las células T tengan las mismas posibilidades a la hora de interaccionar con el patógeno. En la implementación real se usó un vector de números aleatorios entre 0 y 1 normalizado respecto del número total de células T. Buena parte de la notación usada en el Algoritmo 1 ya ha sido introducida a lo largo de este trabajo, pero volvemos a insistir en que Y representa el número de moléculas del patógeno, mientras que N representa la cantidad total de células T, incluyendo las efectoras y las de memoria. Sin embargo, en la implementación real, en la línea 4 del pseudocódigo, el N utilizado es solamente el número total de células T efectoras, sin contar las de memoria³.

4.3. Resultados y análisis

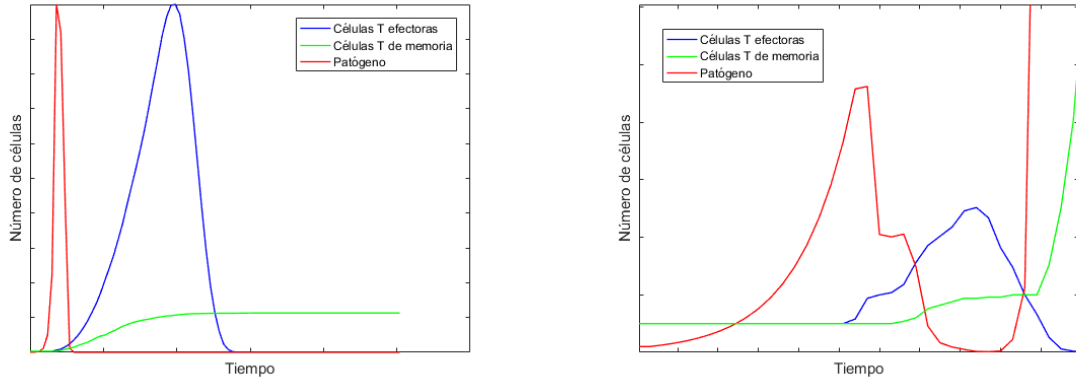
En esta sección expondremos los resultados de las simulaciones realizadas. Comenzaremos discutiendo dos situaciones básicas que se pueden dar en una infección: que las células inmunes logren eliminar la infección o que, por el contrario, sea el agente infeccioso el que acabe tomando el control de nuestro organismo, y acabaremos mostrando el resultado de diversas simulaciones cuando la afinidad por el patógeno de las células T va variando.

4.3.1. Intolerancia al patógeno

Se entiende como situación de intolerancia al patógeno aquella en la que las células T son capaces de controlar la infección y eliminar por completo al agente infeccioso. La simulación correspondiente a este caso puede verse en la Figura 4.1a. En la figura se puede observar que el patógeno, representado con una línea roja, crece rápidamente, debido a la elección de una tasa de crecimiento, α , elevada. Una vez que las células T son conscientes de la rápida proliferación de un agente no deseado, su número comienza a crecer. Esto se debe a que p se incrementa ($r_T(t)$ es más grande puesto que hay más patógeno), provocando que $c(t)$ alcance rápidamente el umbral $c(t) = 0$ y desencadenando la división celular. Sin embargo, como ya habíamos comentado anteriormente, esto se produce con cierto retraso tras la aparición del patógeno. Lo que estamos describiendo es la conocida *expansión clonal*. Este crecimiento de células T provoca que el término que acompaña a β en la Ecuación 3.3 comience a ser más grande que el acompañado por α en esta misma ecuación, causando así que la derivada de y se haga negativa y, por tanto, el número de células del patógeno comience a decrecer. Debemos mencionar que el número de células T necesarias para eliminar al patógeno viene regulado por el parámetro β (siempre que el resto de parámetros permanezcan inalterados), si este fuera más grande, es decir, si las células T fueran más dañinas con el patógeno, el número de células T necesarias para controlar la infección sería menor (y viceversa). Debido a que los receptores de proliferación, p , autorregulan los receptores de muerte, d , se observa cómo, tras el aumento en el número de células T, le sigue la *contracción clonal*, restaurando así los niveles de población.

Prestemos atención ahora al comportamiento de las células T de memoria: por la sección anterior, ya sabíamos que las células T efectoras y las de memoria iban a constituir poblaciones distintas, puesto que las ecuaciones que rigen sus dinámicas son distintas. La principal diferencia es que las células T de memoria no se suicidan una vez el patógeno ha desaparecido, sino que permanecen con la información necesaria para atacar al patógeno

³Esto se ha hecho así porque el proceso que siguen las células T de memoria es más complejo que lo que se recoge en el modelo. Estas células al cabo de un tiempo se desactivan y para que tengan un efecto sobre el patógeno deben volver a activarse. Para intentar hacer el modelo lo más sencillo posible se ha optado por hacer que las únicas células que combaten al patógeno sean las T efectoras.



(a) Simulación: caso de intolerancia al patógeno. Los parámetros son los expuestos en la Tabla 4.1.

(b) Simulación: caso de tolerancia al patógeno. Los parámetros son los mismos que se exponen en la Tabla 4.1, excepto: $\alpha = 1$, $\beta = 0,01$, $\mu_{pc} = 3$, $\mu_{da} = 2$, $\mu_{pc}^{mem} = 2$.

Figura 4.1: Simulaciones del modelo microscópico. Casos de intolerancia y tolerancia al patógeno

más rápidamente en caso de reaparición. En la Figura 4.1a vemos cómo estas células de memoria aumentan su población tras la aparición del patógeno, aunque no se produce un crecimiento tan rápido ni elevado como en el caso de las T efectoras. Su población queda reducida a un 5 – 10 % de la población de células T.

4.3.2. Tolerancia al patógeno

Hemos visto en la sección anterior una simulación de intolerancia al patógeno. Esto es, hemos considerado el caso en que las células inmunes consiguen controlar la infección y erradicar por completo al agente infeccioso. Sin embargo, esto no es siempre así. Existen *patógenos*, como la bacteria *Mycobacterium Tuberculosis*⁴, que han desarrollado una estrategia que consiste en crecer a un ritmo muy lento. De esta manera *sigilosa* engañan a las células T, haciéndolas creer que su población ha sido erradicada y provocando que estas células inmunes se suiciden (Leggett et al., 2017).

Como se puede ver en la Figura 4.1b, las células T comienzan la *expansión clonal* como respuesta a la presencia de patógeno, al igual que en el caso anterior. Este aumento de población inmune hace que la población del patógeno se vea afectada rápidamente (recordemos que su factor de crecimiento, α , es pequeño en este caso) y caiga hasta niveles muy bajos. Es entonces cuando las células inmunes perciben que el patógeno ha sido eliminado con éxito y comienzan la *contracción clonal*, haciendo que su población baje hasta desaparecer (recordemos que los receptores de muerte (d) no inducen la formación de receptores de proliferación (p)). Sin embargo, debido a que el patógeno no ha sido erradicado por completo, y ahora que la población de células T ha iniciado su fase de *apoptosis*, este puede reproducirse sin problema, dando lugar al crecimiento exponencial que vemos en la Figura 4.1b. En poco tiempo estos *patógenos astutos* pueden tomar el control del organismo.

⁴<https://www.omicsonline.org/open-access/why-is-mycobacterium-tuberculosis-hard-to-grow-the-principle-of-1000176.php?aid=26260>
<https://www.britannica.com/science/bacteria/Growth-of-bacterial-populations>

En cuanto a las células T de memoria, vemos como crecen con la presencia del patógeno. Una vez que la población de células T efectoras llega a cero el número de estas células se estabiliza, puesto que las células T de memoria no continúan reproduciéndose en ausencia de células T efectoras, a pesar de la presencia de patógeno. Esto se debe a que las células T de memoria necesitan señales de proliferación para reproducirse y estas son generadas por las células T efectoras.

4.3.3. Simulaciones con distintas poblaciones de células T

En esta sección veremos cómo se comportan distintas poblaciones de células T efectoras frente a un mismo patógeno, cuando presentan afinidades dispares al agente infeccioso. Además, veremos cómo se comportan estas poblaciones cuando la población *immunodominante*⁵ desaparece.

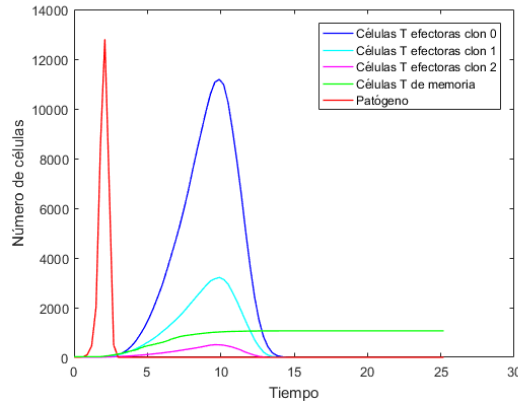
Comencemos considerando la Figura 4.2a. En esta simulación hemos considerado tres poblaciones con distinta afinidad, λ_{Tp} , al patógeno. Tenemos el clon 0 con la afinidad más alta y el clon 2 con la más baja. La diferencia en cuanto a expansión es considerable, la población más afín al patógeno es la que se reproduce a mayor velocidad y se denomina *población immunodominante*. Este hecho es consecuencia de las ecuaciones del Sistema 4.1: la ecuación $\dot{p}(t) = \lambda_{Tp}r_T(t) - \lambda_{pp}p(t)$ propicia un mayor crecimiento cuanto más alto es el valor λ_{Tp} , puesto que provoca que la derivada de c se haga más negativa y se llegue antes al límite $c = 0$ que desencadena la división celular.

Pero... ¿qué pasaría si esta *población immunodominante* desapareciera? Una posible explicación nos la da la Figura 4.2b. En ella, podemos ver que el modelo sugiere que las *poblaciones subdominantes* se expanden más que antes para suplir la ausencia de la *immunodominante* y controlar la infección. No debemos olvidar que la afinidad que tienen estas poblaciones al patógeno es menor y esto hace que este pueda crecer más en el mismo periodo de tiempo.

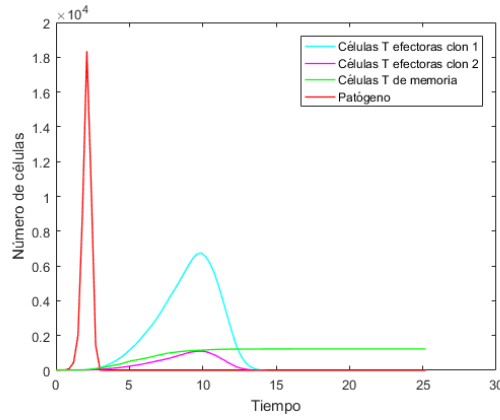
Para finalizar veamos el comportamiento del clon 2 cuando el resto de clones han desaparecido. Como es de esperar, ocurre algo similar a lo que veíamos en la Figura 4.2b. En este caso el clon 2 debe hacer un esfuerzo mayor (reproducirse más) para mantener la infección controlada. El comportamiento correspondiente está ilustrado en la Figura 4.2c.

Estas simulaciones ponen de manifiesto la importancia de las células T de memoria. En una situación donde las células T efectoras no presentan una afinidad al patógeno muy elevada las consecuencias pueden ser muy graves, pues la infección se alarga y las células T no son suficientemente dañinas para el agente externo. Sin embargo, si contamos con células T de memoria que guardan información relevante para combatir a ese agente, nuestro organismo se encontrará en una situación más segura, ya que se podrá actuar más rápidamente con células que disponen de alta afinidad con el patógeno y desencadenarán, por tanto, un ataque mucho más efectivo.

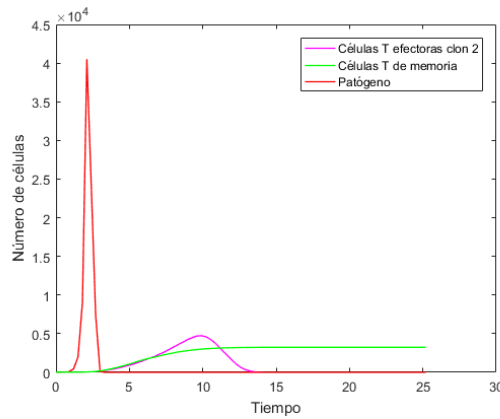
⁵La población *immunodominante* es aquella que presenta la afinidad más alta con el patógeno.



(a) Simulación: distintas poblaciones de células T con distintas afinidades al patógeno. Clones subdominantes. Los parámetros son los mismos que se exponen en la Tabla 4.1, excepto: $\lambda_{Tp}^{clon0} = 2 * 10^{-4}$, $\lambda_{Tp}^{clon1} = 6 * 10^{-5}$, $\lambda_{Tp}^{clon2} = 10^{-5}$.



(b) Simulación: distintas poblaciones de células T con distintas afinidades al patógeno. Clones subdominantes. Los parámetros son los mismos que se exponen en la Tabla 4.1, excepto: $\lambda_{Tp}^{clon1} = 6 * 10^{-5}$, $\lambda_{Tp}^{clon2} = 10^{-5}$.



(c) Simulación: distintas poblaciones de células T con distintas afinidades al patógeno. Clon subdominante. Los parámetros son los mismos que se exponen en la Tabla 4.1, excepto: $\lambda_{Tp}^{clon2} = 10^{-5}$.

Figura 4.2: Simulaciones del modelo microscópico. Poblaciones de células T con distinta afinidad al patógeno.