

Modelado computacional del posible tratamiento sinérgico de cáncer combinando terapia oncolítica con citotoxicidad inmunitaria inducida

J.A. López-Valverde¹

¹ Estudiante Grado en Biomedicina Básica y Experimental, Universidad de Sevilla, Sevilla, España, joslopval4@alum.us.es

Resumen

La terapia del cáncer con virus oncolíticos es uno de los tratamientos emergentes en el punto de mira por la gran mejora que podría suponer en materia de calidad de vida. Sin embargo, hay ciertas controversias respecto a la interacción de esta terapia con el sistema inmune del paciente. En el siguiente artículo, se plantea un enfoque innovador sobre dicha interacción, usándola como mecanismo de eliminación de células cancerígenas. Para ello se usa una respuesta citotóxica de linfocitos T-CD8+ contra las células infectadas por el virus, y por tanto se produciría una sinergia en la respuesta entre la citotoxicidad celular del sistema inmune y el efecto citopático del virus. Se realiza un modelado matemático para contrastar las hipótesis planteadas, y que proporcione las bases de una nueva vía de investigación a explorar para la mejora del tratamiento mediante virus oncolíticos, y del cáncer en general.

1. Introducción

El desarrollo de nuevas terapias y tratamientos contra el cáncer es una de las áreas de investigación con mayor repercusión en los últimos años [1]. Esto se debe a la gran necesidad de implementación y uso de terapias menos agresivas que la quimioterapia, que junto con radioterapia o cirugía cuando son posibles, constituye el tratamiento de elección en una inmensa mayoría de casos [2].

Concretamente, son dos las áreas con mayor desarrollo: terapias dirigidas, basadas en singularidades moleculares de las células cancerígenas no presentes en células sanas, usándolas como diana terapéutica, y la inmunoterapia, basada en recursos del sistema inmune, o que interactúan o mimetizan a este para tratar el proceso canceroso [2].

En terapia dirigida, una posibilidad es el uso de virus oncolíticos, basada en el uso de virus genéticamente modificados para infectar a células tumorales. Además, aprovechan mutaciones de estas células para realizar la replicación viral, así que la ausencia de las mutaciones en células sanas imposibilita la proliferación de la infección. Por tanto, la terapia oncolítica se basa en la supresión de células tumorales por el efecto citopático de los virus, mientras que las células sanas apenas son afectadas [3].

Sin embargo, la problemática con la implementación de la terapia es variada. Una de las principales controversias es la interacción virus-sistema inmune (SI en adelante), ya que si este neutraliza los virus, conllevaría a un fracaso de la terapia. Sin embargo, no todos los efectos de la interacción son negativos, pues se ha demostrado que la activación del SI por los virus, puede desencadenar una

activación general del nivel de alerta inmune, catalizando la activación de la respuesta antitumoral [4, 5].

Además, las interacciones de los virus son complejas, no lineales y con distintas dinámicas interrelacionadas a tener en cuenta, por lo que se ha empleado bastante trabajo en el modelado computacional. Sin embargo, en la mayoría de modelos la interacción con el SI no se describe, según algunos autores revisan [3].

En este artículo se pretende otorgar una perspectiva innovadora a la interacción virus-SI. En concreto, se busca modelar lo que ocurriría si usamos virus con características que favorezcan que el propio SI ataque a las células infectadas (cancerígenas), de modo que la población de células que sufren infección disminuiría por el efecto citopático del virus y la citotoxicidad mediada por el SI cuando atacan a las células infectadas tratando de eliminar el virus.

Para que se produzcan estas interacciones, es necesario que se cumplan varias aseveraciones. Por ejemplo, el virus debe ser inmunógeno CD8+ predominantemente, al ser esta la respuesta citotóxica. Además, debe ser medianamente capaz de proliferar ante el SI, ya que si se neutralizaran en un estadio muy temprano, podrían no tener suficiente tiempo para que la terapia resultase efectiva.

Por tanto, la estrategia resulta innovadora: se propone la sinergia de efectos clásicos oncolíticos, junto con una respuesta citotóxica. Es decir, se usan los virus como reclamo para que los linfocitos ejecuten a las células tumorales, y la inmunidad antitumoral *per se* coexistiría.

2. Material y métodos

El primer paso es definir las dinámicas de estudio, así como los factores que influyen en estas. Se considerarán 5 dinámicas: células sanas (x), células tumorales (y), células infectadas (z), células del SI (w) y población de virus (v). Estas dinámicas deberán tener comportamientos fieles a otros modelos matemáticos ya validados.

Respecto a las células sanas (x), la dinámica tenderá al equilibrio x_0 que representa el número de células de un individuo sano adulto [6]. Esta población disminuye por la infección de baja afinidad que ejercen los virus, pasando a ser células infectadas. Así nos queda la ecuación 1 con los siguientes parámetros (tabla 1):

$$\frac{dx}{dt} = r \cdot (x_0 - x) - \beta \cdot x \cdot v \quad (1)$$

| Parámetro | Descripción | Valor |
|-----------|---------------------------------|--------------------------------|
| x_0 | Población inicial células sanas | $3,72 \cdot 10^{13}$ (células) |
| r | Tasa de crecimiento | 0,1 |
| β | Tasa de infectividad (sanas) | 10^{-18} |
| v | Población de virus | Dinámico (virus) |

Tabla 1. Parámetros de la ecuación (1).

Para determinar r , se parte de que el reemplazo diario es de 50-70 mil millones de células [7], pero fuera del equilibrio, la reposición celular es mayor.

El último miembro de la ecuación hace referencia a las células que se infectan, con una infectividad de células sanas muy pequeña porque estas apenas se infectan.

Después están las células cancerígenas (y), que aumentan por división, y disminuyen por muerte celular e infección. Quedarían la ecuación 2 y sus parámetros (tabla 2):

$$\frac{dy}{dt} = r' \cdot y \cdot \left(1 - \frac{y}{k}\right) - \alpha \cdot y - \lambda \cdot y \cdot v \quad (2)$$

| Parámetro | Descripción | Valor |
|-----------|-------------------------------------|----------------------|
| y_0 | Población inicial células tumorales | 10^8 (células) |
| r' | Tasa de crecimiento | 0,5 |
| k | Capacidad de carga tumoral | 10^{11} (células) |
| α | Tasa de apoptosis | 10^{-2} |
| λ | Tasa de infectividad (tumorales) | $1,8 \cdot 10^{-13}$ |

Tabla 2. Parámetros de la ecuación (2).

y_0 es el número de células en un tumor de 1 gramo recién diagnosticado [8]. El crecimiento es logístico con r' según modelos anteriores [5], y k representando un tumor de 1 kg, cantidad que no se excede generalmente porque el paciente fallece, o el cáncer se disemina como posible consecuencia de esta capacidad de carga [9]. Por otro lado, hay dos factores de decremento, α con valor según modelos anteriores [5], y λ , análogo a β . Al infectarse preferentemente células tumorales, λ será mayor que β . Por cada célula sana infectada, se infectan unas 100.000 células cancerígenas.

Por otro lado está la población infectada (z), que aumenta por las infecciones, mientras que disminuye por el efecto citopático del virus y por el efecto citotóxico del SI. Tendríamos la ecuación 3 con parámetros en la tabla 3:

$$\frac{dz}{dt} = \beta \cdot x \cdot v + \lambda \cdot y \cdot v - \varphi \cdot z - \mu \cdot w \cdot z \quad (3)$$

| Parámetro | Descripción | Valor |
|-----------|--------------------------------------|--------------------|
| z_0 | Población inicial células infectadas | 0 (células) |
| φ | Tasa del efecto citopático viral | 0,04 |
| μ | Tasa de citotoxicidad inmune | 0,1 |
| w | Población de células SI | Dinámico (células) |

Tabla 3. Parámetros de la ecuación (3).

El efecto citopático depende del vector vírico que se use. Se considerará uno moderado según otros modelos [3, 5].

Otra dinámica a modelar es la de células del SI (w). Se considerará un sistema de ecuaciones según el sistema

inmune esté activado o no. La cantidad de virus determina la selección de una dinámica u otra. Con el SI inactivo, se tiende a un reposo. Si está activo, sufrirá una expansión clonal (crecimiento exponencial) que se contrarresta en menor medida por apoptosis y estrés celular. Tenemos las ecuaciones 4 y 5, con parámetros en la tabla 4:

$$\begin{cases} \frac{dw}{dt} = \delta \cdot (w_0 - w) & \text{si } v < \gamma \\ \frac{dw}{dt} = r'' \cdot w - o \cdot w - \frac{\sigma \cdot z}{w} & \text{si } v > \gamma \end{cases} \quad (4)$$

| Parámetro | Descripción | Valor |
|-----------|---------------------------------|-----------------|
| γ | Umbral de activación | 10^8 (virus) |
| z_0 | Población inicial | 10 (células SI) |
| δ | Tasa de crecimiento SI inactivo | 0,15 |
| r'' | Tasa de crecimiento SI activo | 0,4 |
| o | Tasa de apoptosis | 10^{-4} |
| σ | Tasa de estrés celular | 0,05 |

Tabla 4. Parámetros de las ecuaciones (4, 5).

El umbral se establece teniendo en cuenta el peso de los virus [10, 11] y la cantidad de virus en una vacuna [12, 13]. Así, en una vacuna hay unos $2 \cdot 10^9$ virus, cantidad en exceso para activar al SI, por lo que γ es menor. z_0 es pequeña por la especificidad de los receptores TCR, aunque son varios linfocitos los que pueden responder a un mismo antígeno con diferente afinidad. Por otro lado están la tasa de apoptosis, similar a la de la población normal [7], y el estrés celular, por el que los linfocitos dejan de ser efectores. Este es inversamente proporcional a la cantidad de células infectadas: a más células infectadas por unidad linfocitaria, mayor estrés.

La última dinámica es la de los virus, que se replican y mueren por acción del SI. Se plantea la ecuación 6 con parámetros recogidos en la tabla 5:

$$\frac{dv}{dt} = v \cdot r''' \cdot \left(1 - \frac{v}{k'}\right) - \omega \cdot w \cdot v \quad (6)$$

| Parámetro | Descripción | Valor |
|-----------|----------------------------|-------------------|
| v_0 | Población inicial de virus | 10^{11} (virus) |
| r''' | Tasa de crecimiento | 1 |
| k' | Capacidad de carga viral | 10^{13} (virus) |
| ω | Tasa de eliminación virus | $5 \cdot 10^{-4}$ |

Tabla 5. Parámetros de la ecuación (6).

La población de virus inoculados es alta; se busca una infección generalizada. Esta seguirá una dinámica logística con parámetros según referencias [10-13] que disminuye por la eliminación de virus por el SI.

Establecidas las dinámicas, el modelo ha sido implementado utilizando el software de modelado y simulación Matlab, empleando el método de Euler para la resolución de las ecuaciones diferenciales.

3. Resultados y discusión

3.1. Validación del modelo

Para determinar la validez del modelo, se realiza la simulación y se comparan resultados con otros modelos

de la bibliografía. Al no existir datos experimentales sobre esta hipótesis, la validación recae en la comparación con distintos modelos ya validados experimentalmente.

Primero de todo debemos hablar sobre el tiempo, que se encuentra en unidades arbitrarias porque hay parámetros no determinados experimentalmente que cambian según el vector vírico usado, según variabilidad interpersonal, etc. Modificaciones proporcionales de estos parámetros pueden forzar la misma respuesta en diferente escala temporal. Para no restar validez externa al modelo, no se aplican juicios respecto a la escala temporal.

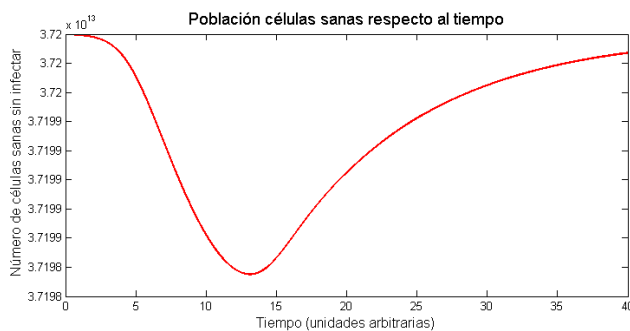


Figura 1. Dinámica de células sanas frente al tiempo

La población sana (Figura 1) apenas sufre más que un efecto residual infectivo, que se compensa por la vuelta al equilibrio. Aun así, se podrían usar virus más específicos caracterizando antígenos por RNAseq o direccionando los virus a varias dianas (doble/múltiple target) [2]. Habría que prestar atención con las células sanas afectadas, porque si todas pertenecieran a un mismo conjunto, el daño podría ser muy significativo para dicho conjunto. Esta dinámica concuerda con los conocimientos fisiológicos y modelos actuales ya validados [3, 5, 14].

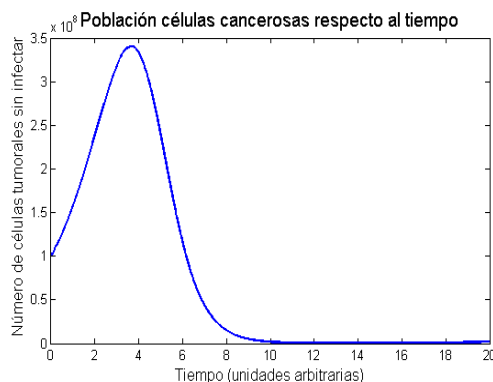


Figura 2. Población de células tumorales frente al tiempo

La población tumoral (Figura 2), ante pequeñas cantidades virales, sigue creciendo (tiempo desde 0 a 4). Ante mayor cantidad de virus ($t > 4$) se acaba reduciendo. Sin embargo, el modelo supone que la diana está presente en todas las células tumorales, hecho que no siempre se cumple por la heterogeneidad tumoral y la capacidad de mutación, por lo que habría que seleccionar dianas altamente conservadas para llevar a cabo la terapia. Además, no se modela la distribución espacial tumoral. Aun así, la dinámica de la tumoral encaja según modelos anteriores validados experimentalmente [3, 5, 16].

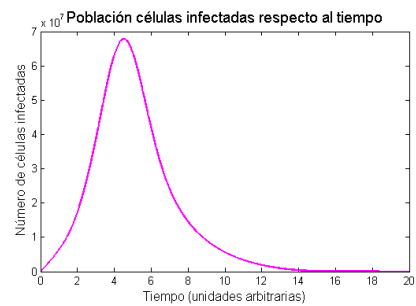


Figura 3. Población de células infectadas frente al tiempo

Las células infectadas (Figura 3) siguen una distribución de campana: parte desde 0, aumenta hasta un máximo y vuelve de nuevo a 0. La distribución es consecuente con el resto de dinámicas y con lo esperado en la práctica.

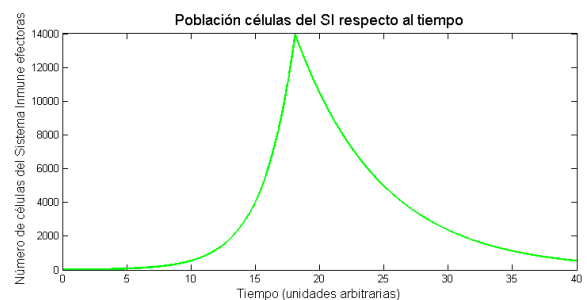


Figura 4. Población de células del SI frente al tiempo

En cuanto a las células T-CD8⁺ efectoras (Figura 4), aumentan desde $t = 0$ al superarse el umbral γ . Cuando se reducida la población viral, se tiende al equilibrio por la inmunomodulación. Aunque el modelado de la memoria inmune se podría mejorar, no tiene más importancia ya que no se pretende reinocular los mismos virus. Una mejora a incorporar es el retardo del cese de la señal de proliferación después de que la cantidad de virus sea menor que γ [15]. Además, se podrían introducir factores probabilísticos, como σ , con un comportamiento más fiel a la realidad: a más células infectadas ejecutadas, mayor probabilidad de estrés. En cualquier caso, la distribución es consecuente con modelos ya validados [3, 5, 14].

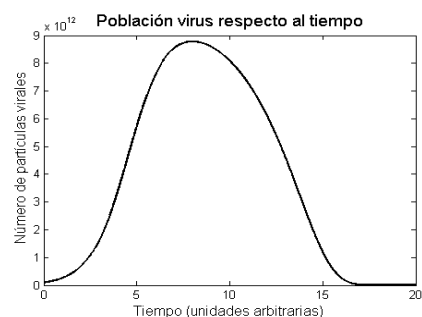


Figura 5. Población de virus frente al tiempo

En cuanto a los virus (Figura 5), siguen una dinámica en campana, con crecimiento cuando la replicación es mayor que la eliminación por parte del SI y viceversa. Se modela un crecimiento continuo, que realmente no ocurre con todos los virus, pues algunos necesitan lisar la célula para poder infectar nuevas células, por lo que mientras están en la célula no contribuirían a la población infectiva. La figura 5 representa el concepto de terapia oncolítica: una viremia transitoria con fin terapéutico [17, 18].

3.2. Análisis de sensibilidad

Asimismo, se realiza un análisis de sensibilidad con el que se demuestra que los parámetros se clasifican en dos grupos: parámetros sensibles que afectan al pronóstico, y parámetros no sensibles, o que pese a ser sensibles, no afectan al pronóstico final, sólo a dinámicas aisladas. Ejemplos de parámetros del primer grupo son λ y ω . Por su parte, parámetros γ o ϕ son parámetros del segundo grupo. En las figuras 6 y 7 se ilustran ejemplos.

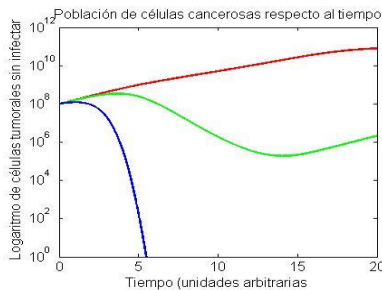


Figura 6. Sensibilidad λ , parámetro que modifica el pronóstico. Rojo, $\lambda = 1,8 \cdot 10^{-14}$; Verde, $\lambda = 1,8 \cdot 10^{-13}$; Azul, $\lambda = 1,8 \cdot 10^{-12}$.

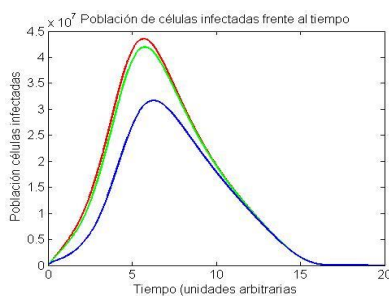


Figura 7. Sensibilidad ϕ , parámetro sensible que no modifica el pronóstico. Rojo, $\phi = 0,04$; Verde, $\phi = 0,4$; Azul, $\phi = 4$.

4. Conclusiones

Los resultados brindan apoyo a la hipótesis inicial, y ponen de manifiesto que el uso de la terapia oncolítica para inducir citotoxicidad celular inmunológica es una posible nueva vía de investigación.

En resumen, el modelo es una buena aproximación al uso de la citotoxicidad de la respuesta inmune mediante linfocitos T-CD8⁺ como herramienta a favor del tratamiento, y define las directrices a seguir en esta línea de investigación. El comportamiento se ajusta a prácticas experimentales reales que han sido validadas.

La determinación paramétrica es un paso fundamental para establecer la magnitud temporal y características finales de la dinámica en la práctica clínica. Además, son varios los parámetros modificables para que el pronóstico sea el deseado. Es esta versatilidad la que constituye un gran argumento para continuar la investigación de este tratamiento como posible terapia futura para el cáncer.

Agradecimientos

Por último, agradecer a los docentes de la asignatura “Ingeniería Biomédica” en el Grado en Biomedicina Básica y Experimental de la Universidad de Sevilla, ya que sin la formación que me han brindado, este trabajo no sería posible. También agradecer a mi familia y compañeros por los ánimos y apoyo con el proyecto.

Referencias

- [1] Página web Quora. <https://goo.gl/3KEHVy> (Consultada: Septiembre 2017).
- [2] Página web del National Cancer Institute (NIH) <https://goo.gl/EUgtXD> (Consultada: Junio 2017).
- [3] Woodarz D. Computational modeling approaches to the dynamics of oncolytic viruses. *Wiley Interdiscip Rev Syst Biol Med*, vol 8, sup 3, 2016, pp 245-52 (ISSN: 1939-005X).
- [4] Lichty B, Breibach C, Stojdl DBJ. Going viral with cancer immunotherapy. *Nature Reviews Cancer*, vol 14, sup 8, 2014, pp 559-67. (ISSN: 1474-175X).
- [5] Woodarz D. Gene therapy for killing p53-negative cancer cells: use of replicating versus nonreplicating agents. *Human Gene Therapy*, vol 14, 2003, pp 153-59. (ISSN: 1043-0342).
- [6] Bianconi E, Piovesa A, Facchin F, Beraudi R, Frabetti F, Vitale L, et al. An estimation of the number of cells in the human body. *Annals of Human Biology*, vol 40, sup 6, 2013, pp 463-471. (ISSN: 0301-4460).
- [7] Karam JA. Apoptosis in Carcinogenesis and Chemotherapy. Vol 1. Springer, 2009. (ISBN: 978-1-4020-9597-9).
- [8] Del Monte U. Does the cell number 10^9 still really fit one gram of tumor tissue? *Cell cycle*, vol 3, sup 8, 2009, pp 505-506. (ISSN: 1538-4101).
- [9] Deisboeck TS, Wang Z. Cancer Dissemination: A Consequence of limited Carrying Capacity? *Med Hypotheses*, vol 69, sup 1, 2007, pp 173-177. (ISSN: 0306-9877).
- [10] Gupta A, Akin D, Bashir R. Single virus particle mass detection using microresonators with nanoscale thickness. *Applied Physics Letters*, vol 84, 2004. (ISSN: 0003-6951).
- [11] Peplow M. Tiny scales weight virus. *Nature physics portal research highlights*. 2004.
- [12] The Journal of Immunology. Concentration and Purification of Influenza Virus for the Preparation of Vaccines. *Journal of Immunology*, vol 50, sup 5, 1945. (ISSN: 0022-1767).
- [13] Página web del Centers for Disease Control and Prevention (CDC). <https://goo.gl/a6BpJZ> (Consultada: Junio 2017).
- [14] Arias CF, Herrero MA, Acosta FJ. Population mechanics: A mathematical framework to study T cell homeostasis. *Sci Rep*, vol 7, sup 1, 2017, pp 9511 (ISSN: 2045-2322).
- [15] Arias C, Herrero M, Cuesta J, Acosta F, Fenández-Arias C. The growth threshold conjecture: a theoretical framework for understanding T-Cell tolerance (Figure 1). *R Soc Open Sci*, vol 7, sup 2, 2015. (ISSN: 2054-5703).
- [16] López, AG, Seoane, JM, Sanjuán, MAF. A Validated Mathematical Model of Tumor Growth Including Tumor-Host Interaction, Cell-Mediated Immune Response and Chemotherapy. *Bull Math Biol*, vol 76, sup 11, 2014, pp 2884-906. (ISSN: 0092-8240).
- [17] Nemunaitis J. Oncolytic viruses. *Investigational New Drugs*, vol 17, sup 4, 1999, pp 375-86 (ISSN: 1573-0646).
- [18] Fillat, C. Controlling Adenoviral Replication to Induce Oncolytic Efficacy. *The Open Gene Therapy Journal*, vol 3, 2010, pp 15-23. (ISSN: 1875-0370).