

# Aplicación de modelo matemático “Hiperbolástico H3” al modelado del crecimiento de células madre mesenquimales (MSC)

## Introducción

Como soporte para el proyecto de investigación que se adelanta en la Universidad Autónoma de Occidente, cuyo objetivo principal es el diseño e implementación de un parche impreso en 3D con células madre mesenquimales, para su uso en la regeneración del miocardio infartado en biomodelos, se ha propuesto el estudio de un modelo computacional que permita realizar el análisis de ciertas variables que pueden afectar el futuro de las células utilizadas en el parche.

Después de realizar una exploración de diferentes modelos que han sido empleados hasta el momento en estudios similares, se llegó al artículo de Tabatabai et al., 2010. En este artículo los autores realizan una comparación de uno de los modelos que ellos consideran más utilizados en el modelado del comportamiento celular, Deasy et al, con un modelo hiperbolástico de tipo H3, el cual se propone en el artículo de Tabatabai, Williams and Bursac, 2005 como un modelo apropiado para el comportamiento celular después de su comparación con otros modelos hiperbolásticos y su aplicación en el crecimiento de bacterias.

## Descripción del modelo

Se asume una curva de crecimiento a través de la siguiente ecuación diferencial no lineal

$$\frac{dP(t)}{dt} = (L - P(t)) \left( \delta \gamma t^{\gamma-1} + \frac{\theta}{\sqrt{1 + \theta^2 t^2}} \right) \quad (1)$$

Con condición inicial  $P(t_0) = P_0$ , donde  $L$  es la capacidad de carga y  $\delta$ ,  $\gamma$  y  $\theta$  son los demás parámetros. Esta ecuación se puede escribir como:

$$\frac{dP(t)}{dt} = a(t) - b(t)$$

Donde

$$a(t) = L \left( \delta \gamma t^{\gamma-1} + \frac{\theta}{\sqrt{1 + \theta^2 t^2}} \right) \quad b(t) = P(t) \left( \delta \gamma t^{\gamma-1} + \frac{\theta}{\sqrt{1 + \theta^2 t^2}} \right)$$

Siendo  $a(t)$  los factores que contribuyen al crecimiento de la población y  $b(t)$  los que retrasan el crecimiento.

La solución a la ecuación, se plantea en Tabatabai et al., 2010 como:

$$P(t) = L - \alpha \text{EXP}[-\delta t^\gamma - \text{arcsinh}(\theta t)] \quad (2)$$

donde

$$\alpha = (L - P_0) \text{EXP}[\delta t_0^\gamma + \text{arcsinh}(\theta t_0)]$$

La solución se comprueba haciendo uso de Matlab, así:

```
syms P(t) M delta gamma theta Po
to = 1;
eqn = diff(P,t) == (M-P)*((delta*gamma*t^(gamma-1))+(theta/sqrt(1+(theta^2*t^2))));
cond = P(to) == Po;
sol(t) = dsolve(eqn,cond);
```

Lo cual da como resultado:

```
sol(t) =
M - exp(- asinh(t*theta) - delta*t^gamma)*exp(delta + asinh(theta))*(M - Po)
```

Que corresponde con lo presentado en el artículo, donde se asigna a  $P(t)$  el nombre de “modelo hiperbolástico de tipo III (H3)”. Finalmente, la ecuación puede ser reescrita como:

$$P(t) = L - \frac{\alpha}{\theta t + \sqrt{1 + (\theta t)^2}} \text{EXP}[-\delta t^\gamma] \quad (3)$$

\*Se verificó que es equivalente a la ecuación 2.

donde,

- Si  $P(t) = M - \alpha \text{EXP}(-\delta t^\gamma)$   $\theta=0$ : y los parámetros  $\delta$  y  $\gamma$  definen la forma de la respuesta.
- Si  $\theta \neq 0$ , la expresión  $\alpha(t, \theta) = \frac{\alpha}{\theta t + \sqrt{1 + (\theta t)^2}}$  permite variar el valor de  $\alpha$  en función de  $t$  y  $\theta$ .

Así, los parámetros que conforman el modelo se definen como:

- **L**: Representa la “capacidad de carga” o valor límite del tamaño de la población.
- **$\delta$** : Tasa intrínseca-biológica de crecimiento con unidades 1/tiempo <sup>$\gamma$</sup>  (1/días <sup>$\gamma$</sup> ).
- **$\gamma$** : Constante alométrica, sin dimensiones.
- **$\theta$** : Con unidades 1/tiempo (1/días), permite flexibilidad en la tasa de crecimiento durante el tiempo al permitir la variación en  $\alpha$ . Representa una falta de simetría

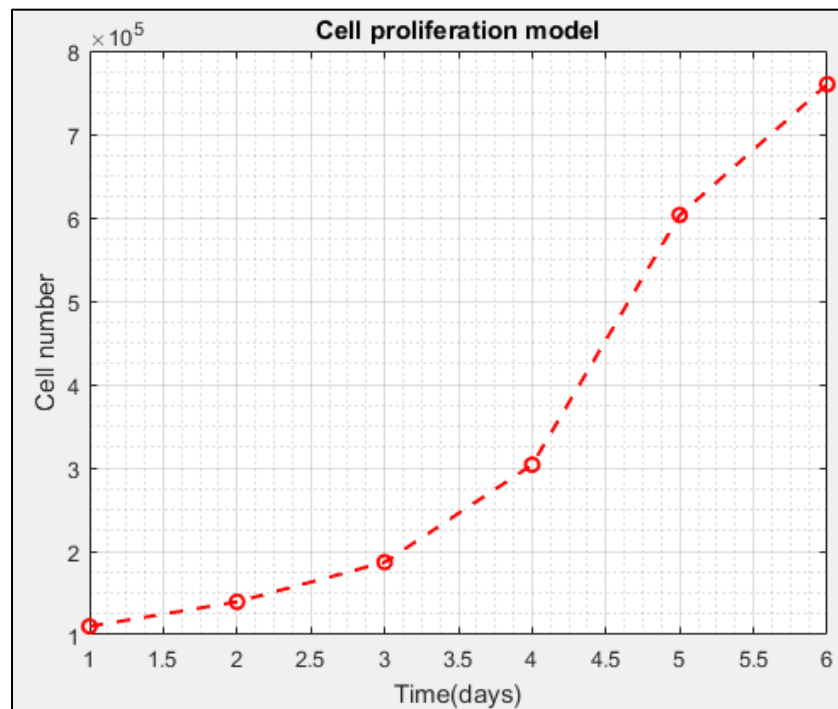
inherente en el crecimiento biológico, donde si  $\theta$  se aleja más de 0, existe menos simetría con la curva sigmoide.

- $\alpha$ : Representa una normalización de la distancia entre la población inicial y el valor límite ( $L$ ), permitiendo un ajuste de la tasa de crecimiento en el tiempo.

La tasa de crecimiento o velocidad de crecimiento es  $\frac{dP(t)}{dt}$ , con unidades de células/día. Su valor absoluto es igual a la velocidad a la cual la población de células crece o retrocede.

## Métodos

Para la estimación de los parámetros del modelo se hace uso del software estadístico SAS en su versión académica online. Los datos utilizados son los suministrados por Tabatabai et al., 2010, los cuales corresponden a observaciones en el crecimiento de células madre durante un período de 6 días. Los datos se presentan a continuación:



**Figura 1.** Datos de crecimiento celular tomados de <https://stemcells.nih.gov/research/nihresearch/scunit/growthcurves.htm#uc6>

El código para realizar la estimación de parámetros en SAS se muestra a continuación:

```

data mtsvolume;
input t P;
/* Introducir datos*/
cards;
1 110000
2 139375
3 186875
4 303750

5 603125
6 760000
;
run;

/* H3 */
title 'H3 model';
/* Ajuste no lineal, método Marquardt, máximo 100 iteraciones */
proc nlin data=mtsvolume method=marquardt noitprint maxiter=100;
/* Límites de los parámetros */
bounds 110000<L;
bounds 0<d<1;
bounds gamma>0;
bounds 0<theta<1;
/* Valores iniciales de los parámetros */
parms
L=600000
d=0.037
gamma=1
theta=-0.0255;

/* Modelo */
alpha = (L-110000)+exp(d*(1**gamma)-log(theta*1+sqrt(1+(theta*1)**2)));
model P=L-(alpha/(theta*t+sqrt(1+(theta*t)**2)))*exp(-d*t**gamma);
output out=h3mtsout p=h3pred;
run;

```

Para la estimación de parámetros existen dos condiciones que tienen gran influencia en el resultado obtenido. En primer lugar, la definición de los límites para cada parámetro; en segundo lugar, los valores iniciales de los parámetros.

Los límites pueden conservarse para los parámetros  $\delta$ ,  $\gamma$  y  $\theta$  como:

$$0 < \delta < 1 \quad \gamma > 0 \quad 0 < \theta < 1$$

Es importante que  $\delta$  y  $\gamma$  sean valores positivos, dado que estos determinan la forma de la respuesta; un  $\delta$  positivo implica una curva creciente con asíntota en  $L$  y sería negativo sólo para perfiles decrecientes, esto es:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} P(t) = \begin{cases} L & \text{if } \delta > 0 \\ 0 & \text{if } \delta < 0 \end{cases}$$

Por otro lado, valores de  $\gamma > 1$  pueden hacer más rápido el curso del tiempo y valores de  $0 < \gamma < 1$  lo hacen más lento. Así mismo, como se explicó anteriormente, el valor de  $\theta$  y más específicamente su cercanía a 0, determina la simetría de la curva.

En cuando a los límites de  $L$ , es importante tener en cuenta los datos a los que se esté ajustando el modelo; más específicamente el valor mínimo. En este caso, por ejemplo, el menor de los datos es 110000; por lo tanto, se define en los límites que el valor de  $L$  deberá ser mayor que este número.

En cuanto a los valores iniciales, estos se determinan mediante un ensayo y error, excepto para  $L$ , cuyo valor inicial se define como aproximadamente un 80% del valor máximo dentro de los datos.

Al realizar la estimación de parámetros en SAS con el código mostrado anteriormente se obtienen los siguientes resultados:

Parámetro	Estimación	Error Std aprox
L	766545	16876.7
d	0.000016	0.000021
gamma	7.0096	0.8218
theta	0.0236	0.00824

**Tabla 1.** Estimación de parámetros en SAS.

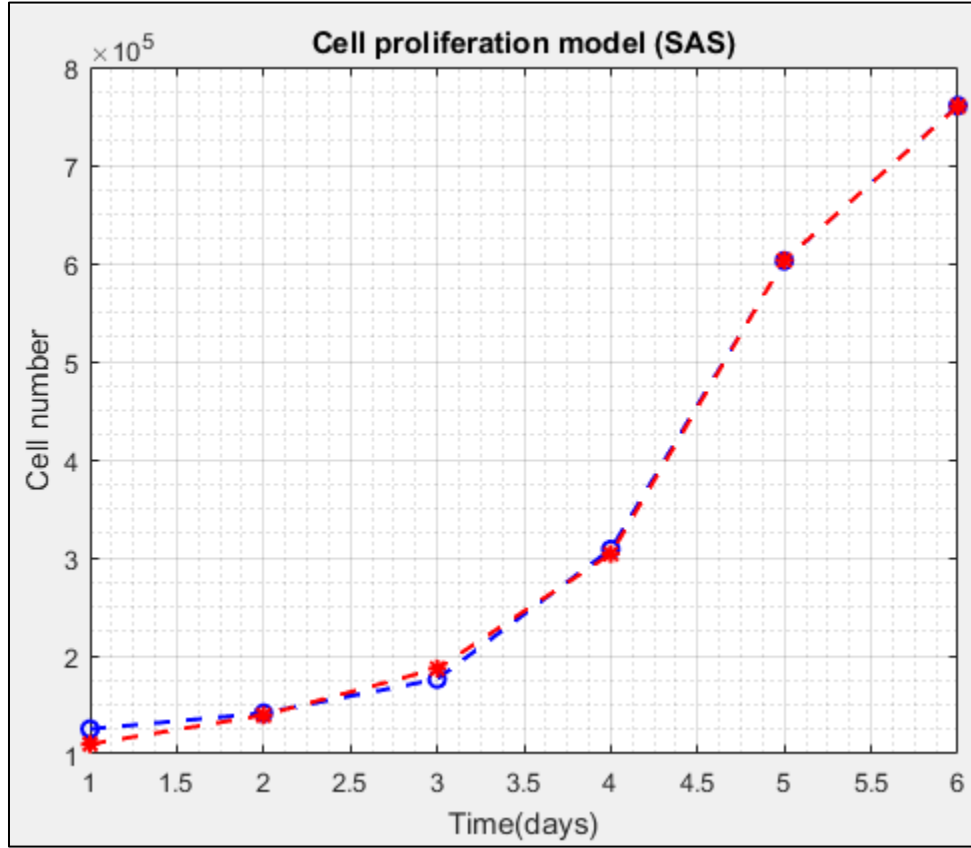
Para comprobar que los parámetros encontrados sean correctos se llevan estos valores a Matlab para comparar la gráfica mostrada en la Fig. 1 con la que se obtiene al usar el modelo. Para esto se usa el siguiente código en Matlab:

```
% Parameters estimated in SAS
t = 1:1:6;
Pdat = [110000, 139375, 186875, 303750, 603125, 760000];
LSasVar = 766545;
deltaSasVar = 1.6e-05;
gammaSasVar = 7.0096;
thetaSasVar = 0.0236;
Po = 110000;
to = 1;

alpha = (LSasVar-Po)+exp(deltaSasVar*(to.^gammaSasVar)-asinh(thetaSasVar*to));
PVar(t) = LSasVar-(alpha./(thetaSasVar.*t + sqrt(1+(thetaSasVar.*t).^2)))*...
    .*exp(-deltaSasVar.*t.^gammaSasVar);
```

Se realiza el cálculo del coeficiente de correlación ( $R^2$ ) para analizar la validez del modelo y se obtiene un resultado de 0.9995, lo cual indica que el modelo representa a los datos originales en un 99.95%; así mismo, se grafican los resultados de PVar (modelo) junto con

los de Pdat (datos), lo cual se muestra en la Fig. 2, y se observa que la curva obtenida con el modelo H3 se ajusta bastante bien al comportamiento de los datos reales.



**Figura 2.** Datos de crecimiento celular reales (rojo), resultados de aplicación del modelo con los parámetros estimados en SAS (azul).

A partir de estos resultados se calcula la velocidad y punto de inflexión para analizar la dinámica del crecimiento de las células. El punto de inflexión indica en qué momento se tuvo la tasa de crecimiento más rápida y se pasó de una auto-aceleración a una auto-limitación. El cálculo del punto de inflexión se realiza teniendo en cuenta la ecuación presentada en Tabatabai, Williams and Bursac, 2005, donde el crecimiento es más rápido en el tiempo  $t^*$ , cumpliéndose que:

$$\left[ \delta \gamma t^{*\gamma-1} + \frac{\theta}{\sqrt{1+\theta^2 t^{*2}}} \right]^2 = \left[ \delta \gamma (\gamma-1) t^{*\gamma-2} - \frac{\theta^3 t^*}{(1+\theta^2 t^{*2})^{\frac{3}{2}}} \right]$$

En Matlab, el cálculo del punto de inflexión se realiza mediante el siguiente código:

```
% Inflection point
syms t;
IP = ((delta*gamma*t^(gamma-1))+(theta/sqrt(1+theta^2*t^2))^2-...
      ((delta*gamma*(gamma-1)*t^(gamma-2))-((theta^3*t)/(1+theta^2*t^2)^(3/2)))));
solve(IP);
```

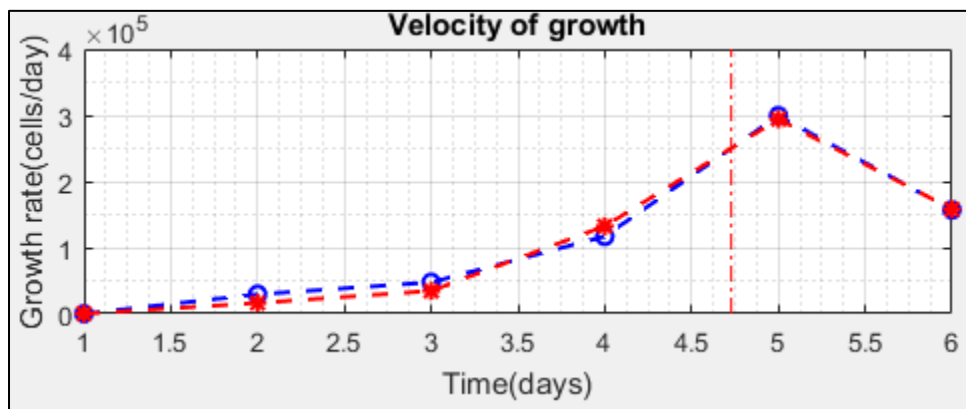
Con esto se obtiene que el punto de inflexión se encuentra en  $t^*=0.9684$ . Esto es incorrecto, puesto que  $t_0=1$ , entonces cualquier tiempo menor a 0 no es un resultado válido. Por esta razón se hace uso de la aproximación presentada en Tabatabai et al., 2010; donde si  $\theta \approx 0$ ,  $t^*$  se reduce a:

$$\sqrt[\gamma]{\frac{\gamma-1}{\gamma} \cdot \frac{1}{\delta}}$$

Así,  $t^*$  se calcula en Matlab con:

```
tIP=(( (gammaSasVar-1)/gammaSasVar)*(1/deltaSasVar))^(1/gammaSasVar);
```

Y finalmente se obtiene que  $t^*=4.7277$ . La velocidad y punto de inflexión se grafican a continuación.



**Figura 3.** Velocidad de crecimiento y punto de inflexión. Datos de crecimiento celular reales (rojo), resultados de aplicación del modelo con los parámetros estimados en SAS (azul), punto de inflexión (vertical rojo).

## Resultados

Para comprobar el funcionamiento del modelo con datos diferentes a los presentados en el artículo original, se realiza el mismo proceso anterior para estimar los parámetros con el software SAS y se validan los resultados graficando en Matlab.

### Datos UC06 Growth (link):

Estos datos se encuentran en la misma página web donde se encuentran los usados en el artículo, pero corresponden a células madre de procedencia diferente.

Day	Número de células
-----	-------------------

1	155000
2	200000
3	343750
4	696250

**Tabla 2.** Datos de crecimiento celular UC06.

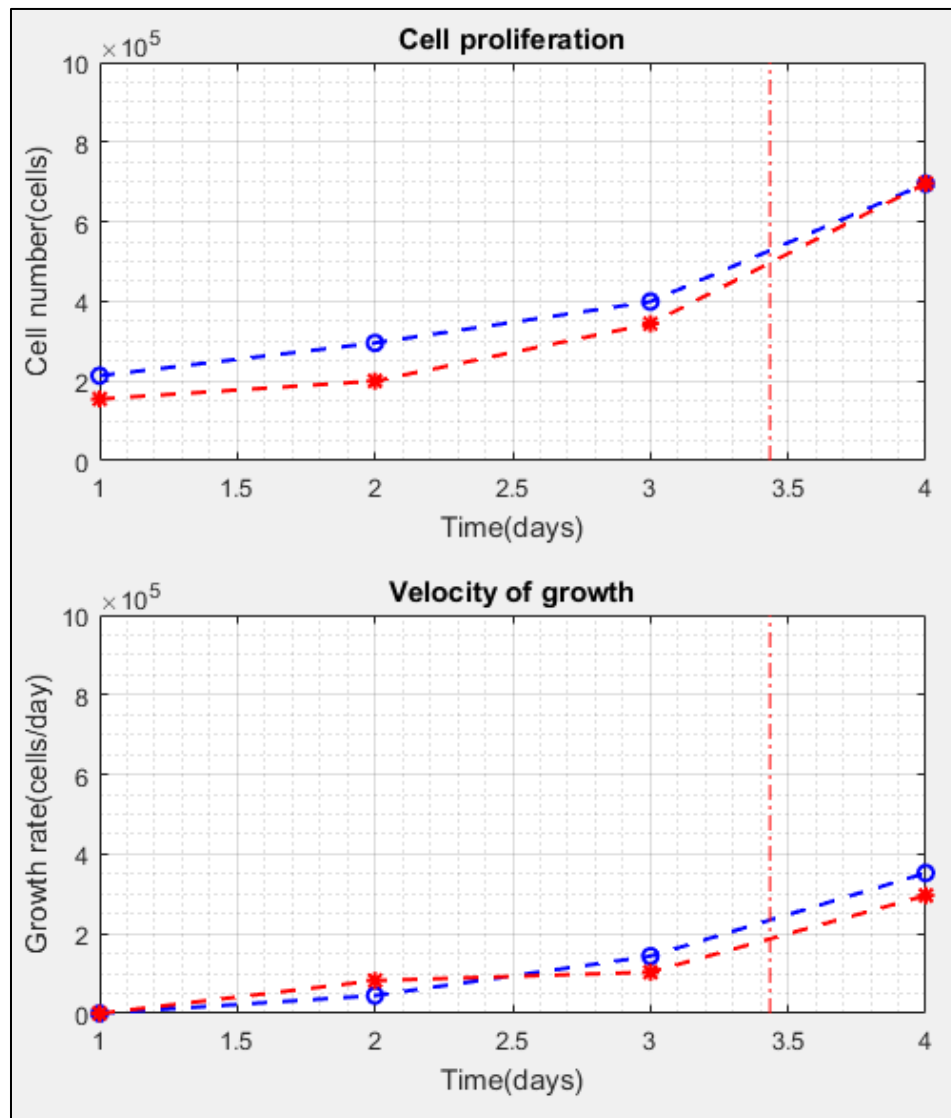
Se utilizan los valores mostrados en la Tabla. 2 para ajustar los parámetros del modelo en SAS; los resultados obtenidos se muestran a continuación.

Parámetro	Estimación	Error Std aprox
L	695482	38414.4
d	9.998E-9	0
gamma	14.8750	1.0641
theta	0.1953	0.0388

**Tabla 3.** Parámetros estimados en SAS para datos de UC06.

Con los parámetros anteriores se obtiene que  $R^2=0.9963$  y que  $t^*=3.4339$ . A continuación se muestran las gráficas de proliferación y velocidad.





**Figura 4.** Gráficas de proliferación y velocidad. UC06 (azul), resultados del modelo (rojo).

Con estos datos se puede observar que: aunque el coeficiente de correlación es alto, al observar la gráfica del modelo, este se ve alejado de los datos originales. Esto puede deberse a que los datos no son suficientes y no se alcanza a modelar el comportamiento sigmoide.

**Datos de “Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells Are Resistant to HBV Infection during Differentiation into Hepatocytes in Vitro” Ying Wang et al:**

Los datos que se encuentran en este artículo corresponden al seguimiento del crecimiento de células madre mesenquimales durante 10 días.

Día	Número de células
1	149503
2	222664

3	318091
4	400795
5	531213
6	766600
7	976541
8	1106960
9	1148310
10	1211930

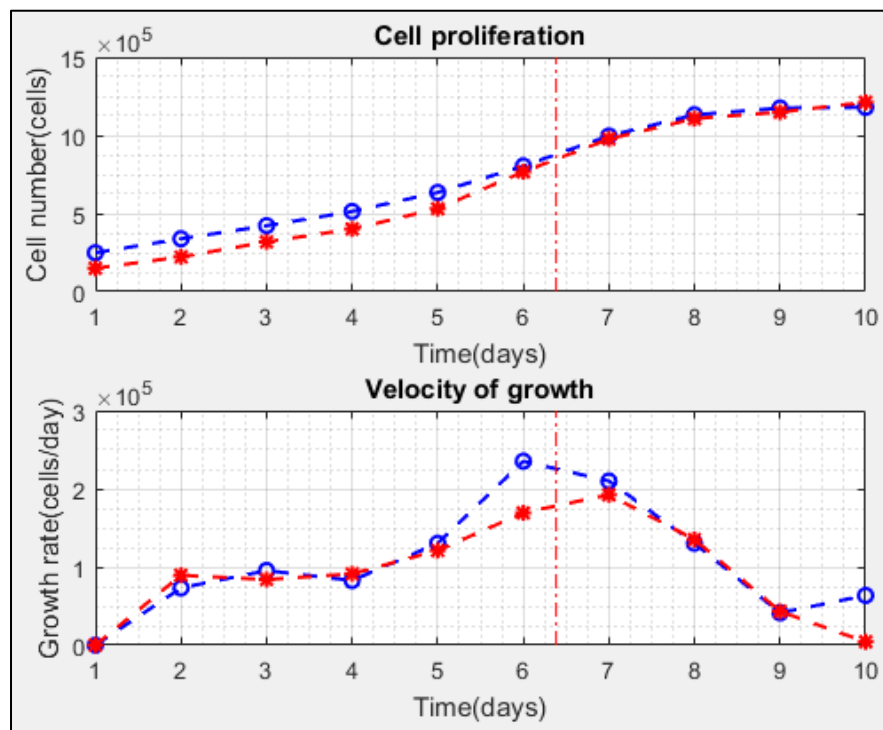
**Tabla 4.** Datos Ying Wang et al.

Los datos anteriores se usan para estimar los parámetros en SAS. Se obtiene:

Parámetro	Estimación	Error Std aprox
L	1179018	20909.4
d	0.000012	0.000020
gamma	5.8561	0.8949
theta	0.1016	0.00859

**Tabla 5.** Parámetros estimados en SAS para datos Ying Wang et al.

Con estos parámetros, en Matlab, se obtiene que  $R^2=0.9986$  y  $t^*=6.3837$ . A continuación, se muestran las gráficas de proliferación y velocidad.

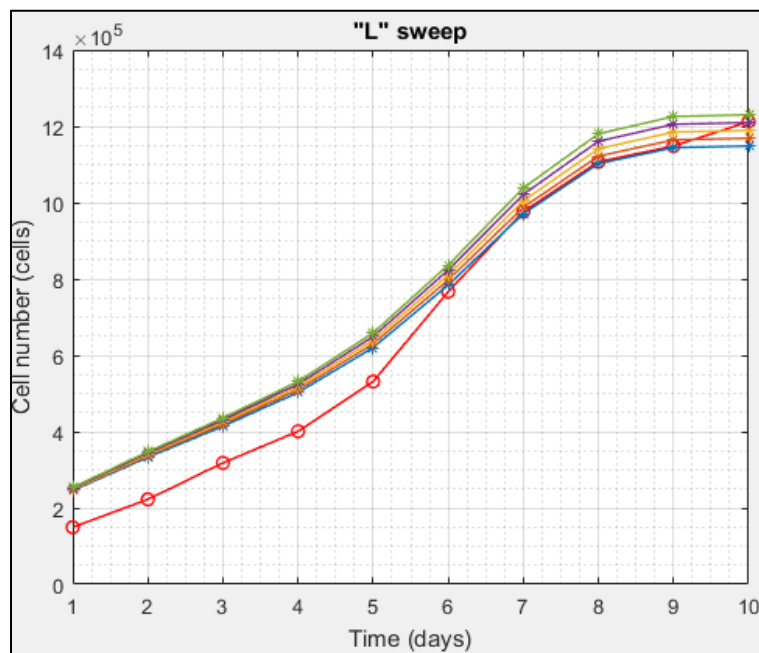


**Figura 5.** Gráficas de proliferación y velocidad. Ying Wang et al (rojo), resultados del modelo (azul).

En este caso, el modelo se ajusta mejor a los datos tomados del artículo, esto muestra que es posible realizar un ajuste del modelo a datos de crecimiento celular siempre que estos sean suficientes (seguimiento mayor a 6 días).

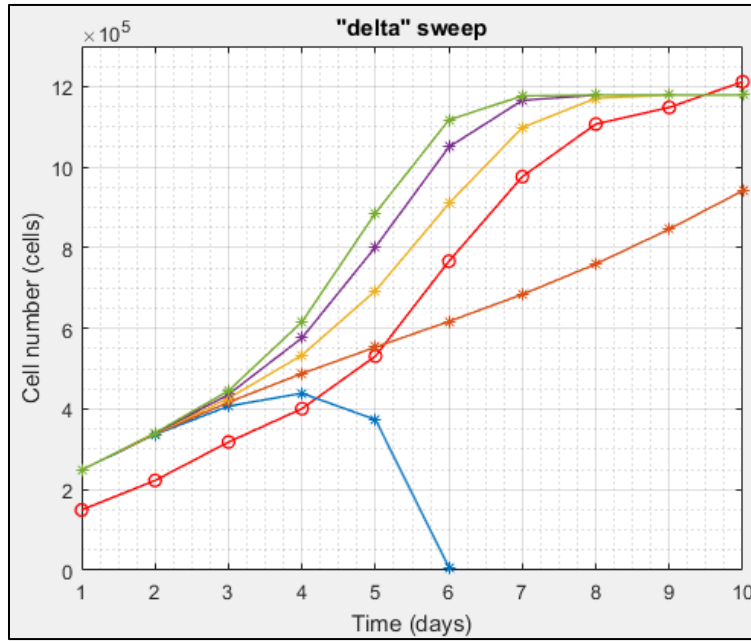
A continuación, para observar el efecto de los parámetros que conforman el modelo, se realiza un barrido de los mismos dentro de los límites de confianza (95%) obtenidos al realizar la estimación con el software SAS.

El primer parámetro que se observa es  $L$ , este se varía de  $1'127.855$  a  $1'230.182$  en incrementos de 20465, con el fin de registrar 5 curvas. Como se observa en la Figura 6, el cambio en la curva de crecimiento al variar el parámetro  $L$  se da en el nivel máximo que alcanzará la curva, modificando levemente los resultados en el punto más alto.



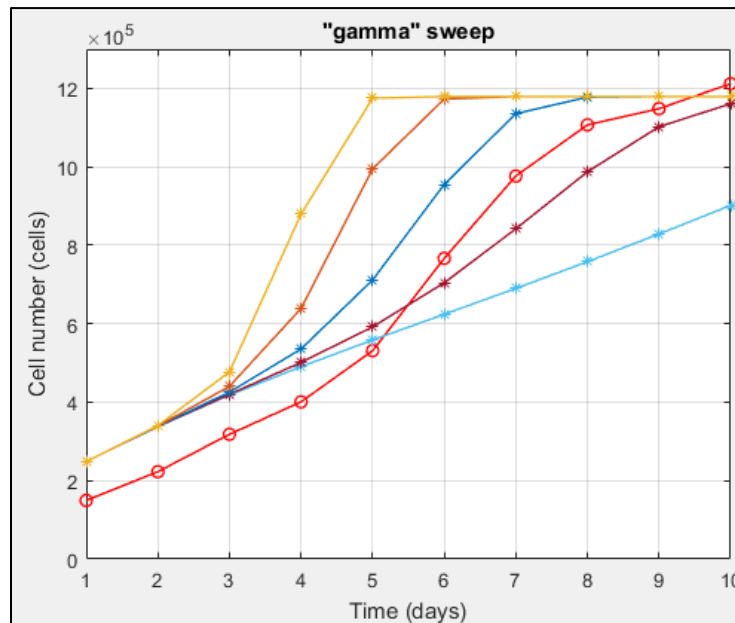
**Figura 6.** Barrido del parámetro  $L$ . Datos Ying Wang et al (rojo).

El siguiente parámetro a analizar es  $\delta$ , el cual se varía de  $-4 \times 10^{-5}$  a  $6.2 \times 10^{-5}$ . Como se menciona en el artículo de Tabatabai et al., 2010, este es uno de los parámetros que determina la forma de la curva de crecimiento. Se observa cómo a medida que el valor de  $\delta$  aumenta, la curva toma una forma sigmoide y se reduce el tiempo en el que la curva alcanza la asíntota en  $L$ .



**Figura 7.** Barrido del parámetro  $\delta$ . Datos Ying Wang et al (rojo).

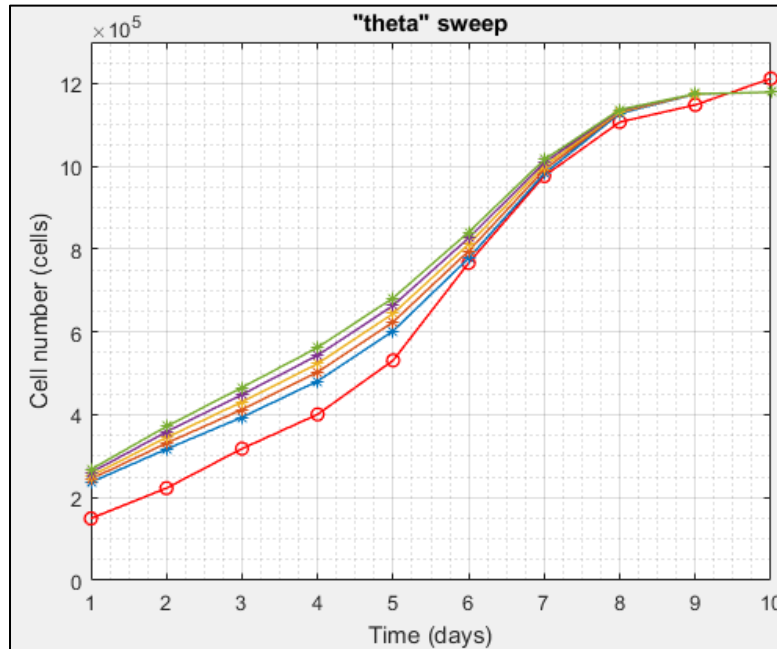
Se varía el siguiente parámetro,  $\gamma$ , de 3.6664 a 8.0458. Este parámetro, de acuerdo con el artículo, también afectaría la forma de la curva, lo cual se comprueba al observar cómo a medida que el valor aumenta, la curva toma una forma sigmoide y el tiempo en el cual se alcanza la asíntota en  $L$  se acorta significativamente.



**Figura 8.** Barrido del parámetro  $\gamma$ . Datos Ying Wang et al (rojo).

Finalmente se realiza el barrido del parámetro  $\theta$ , de 0.0805 a 0.1226. El efecto de este parámetro se observa en la parte inicial de la curva, donde el crecimiento es más lento. La

curva tiene una forma de S más pronunciada cuando este parámetro tiene un valor menor y a medida que aumenta se va perdiendo esta forma, lo cual afecta la pendiente de la parte logarítmica de la función.



**Figura 9.** Barrido del parámetro  $\theta$ . Datos Ying Wang et al (rojo).

## Conclusiones

El modelo es un modelo de naturaleza sigmoide y se ajusta de forma precisa a datos de crecimiento celular. Es importante tener en cuenta los datos originales al momento de realizar el ajuste de los parámetros, puesto que son muy importantes los límites definidos para cada uno y el valor inicial que se asigne a los mismos, ya que esto afectará el hecho de que el algoritmo utilizado para el ajuste (Marquardt) converja a una solución adecuada.

Así mismo, es importante tener en cuenta que para lograr un correcto ajuste del modelo es necesario tener una cantidad suficiente de observaciones (mayor a 6); de lo contrario los parámetros estimados no darán como resultado un buen ajuste a la curva real.

Al observar el efecto de cada uno de los parámetros sobre la curva de crecimiento se puede determinar que el valor de los parámetros  $\gamma$  y  $\delta$  tiene un gran efecto en la forma de la curva, principalmente en el tiempo que le toma al modelo llegar a la asíntota  $L$ ; esto quiere decir que estos parámetros brindan información acerca de la velocidad de la proliferación de las células.

## Referencias

[1] Tabatabai, M., Bursac, Z., Eby, W. and Singh, K. (2010). Mathematical modeling of stem cell proliferation. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 49(3), pp.253-262.

[2] Tabatabai, M., Williams, D. and Bursac, Z. (2005). *Theoretical Biology and Medical Modelling*, 2(1), p.14.