SIMULACIONES POR COMPUTADORA DE UN MODELO ESPACIO-TEMPORAL PARA LA INTERACCIÓN DEL SISTEMA INMUNOLÓGICO Y LOS TUMORES CANCEROSOS

Por

Jair Zapata Peña

Tesis sometida en cumplimiento parcial de los requerimientos para el grado de

MAESTRÍA EN CIENCIAS

en

FÍSICA

UNIVERSIDAD DE PUERTO RICO RECINTO UNIVERSITARIO DE MAYAGÜEZ

Julio, 2008

Aprobada por:

Carlos A. Condat, Ph.D Miembro, Comité Graduado

Pablo J. Marrero, Ph.D Miembro, Comité Graduado

Rafael A. Ramos, Ph.D Presidente, Comité Graduado

Carlos Rinaldi, Ph.D Representante de Estudios Graduados

Hector Jiménez, Ph.D Director del Departmento Fecha

Fecha

Fecha

Fecha

Fecha

ABSTRACT

In this work we have carried out a study of the growth of a cancer tumor using computer simulation, implementing a model for the competition of nutrients. This model was extended by incorporating the interaction of the tumor with the natural immunological response of the immune system. To accomplish this we considered the chemotactical diffusion of lymphocytes in the tissue. We carried out simulations in order to show the tumor behavior with the immunological interaction, systematically evaluating all the parameters that intervene in the interaction between the tumor and the immune response, such as: diffusion coefficient, generation, absorption, and mean lifetime for the messengers; as well as for the interaction of the lymphocytes we studied the parameters related to the diffusion, efficiency, mean lifetime and chemotactic factor. Then we incorporated a treatment with a biological therapy, using a periodic dosification with cytokines, that looks to improve the natural response of the immune system. For the addition of treatment we studied different forms of therapy, as well as different functional parameters that characterize the therapy such as the amount of dose provided and the period of the application. Finally, we implement a therapy based the most optimal results, in which we considered the blocking of the migration of cancer cells by determined concentrations of lymphocytes in the tissue. We present graphical results of the simulations for populations of cancer, healthy, and death cells under the different cases studied: natural immune response, biological treatment and optimizations of therapy.

RESUMEN

En este trabajo se realizó el estudio del crecimiento de un tumor canceroso utilizando una simulación computacional, implementándose un modelo de competencia por nutrientes. Se extendió este modelo incorporando la interacción del tumor con la respuesta inmunológica natural del sistema inmunológico. Para ello se consideró la difusión de linfocitos a través del tejido por quimiotaxis. Se realizaron simulaciones para mostrar el comportamiento tumoral con la acción inmunológica, evaluando sistemáticamente todos los parámetros que intervienen en la interacción del tumor y la respuesta inmune, tales como: coeficientes de difusión, generación, absorción y vida media de los mensajeros. Al igual que para la interacción con linfocitos se estudiaron los parámetros relacionados con la difusión, efectividad, vida media y factor quimiotáctico. Luego se incorporó un tratamiento con una terapia biológica, utilizándose una dosificación periódica con citoquinas, que busca mejorar la respuesta natural del sistema inmune. Para la adición del tratamiento se estudiaron diferentes formas de terapia al igual que los parámetros funcionales de la terapia como la cantidad de dosis suministrada y el periodo de aplicación. Finalmente se implementa una terapia basada en los resultados óptimos, en la cual se considera el bloqueo a la migración de las células cancerosas por determinadas concentraciones de linfocitos en el tejido. Se muestran resultados gráficos de las simulaciones para poblaciones de células cancerosas, sanas y muertas bajo los diferentes casos estudiados: respuesta inmune natural y tratamiento. Finalmente se consideraron los rangos de parámetros que optimizaron la terapia.

Copyright \bigcirc 2008

 por

Jair Zapata Peña

 $A \ la \ memoria \ de \ mi \ padre$

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi director el profesor Ph.D. **Rafael Ramos** por su dedicada orientación durante la elaboración de esta tesis, al profesor Ph.D. **Carlos Condat** por sus acertadas asesorías en el desarrollo de este trabajo.

Al profesor Ph.D. **José R López** por su apoyo y colaboración. A todos aquellos que aportaron algo para la realización de este trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

página

AGF	RADEC	CIMIENTOS vi
LIST	fa de	TABLAS
LIST	fa de	FIGURAS ix
1	INTR	ODUCCIÓN
	1.1 1.2 1.3	Naturaleza del cáncer3Modelos matemáticos para el crecimiento tumoral4Trabajos previos7
2	MOD	ELO MATEMÁTICO 10
	2.1 2.2 2.3	Nutrientes10Reglas para el crecimiento del cáncer12Ecuaciones que describen el crecimiento del cáncer14
3	INMU	UNOLOGÍA E INMUNOTERAPIA
	3.13.23.3	Sistema inmunológico173.1.1Inmunidad no específica183.1.2Inmunidad específica193.1.3Linfocitos19Inmunología tumoral203.2.1Estrategias terapéuticas22Modelado de la inmunoterapia243.3.1Modelo matemático25
4	ANÁI	LISIS Y RESULTADOS
	4.1 4.2	Crecimiento tumoral 29 Simulación para el crecimiento canceroso considerando difusión de 37 4.2.1 Variación de parámetros 40
		4.2.2 Adicion de tratamiento biológico 47 4.2.3 Implementación de la terapia biológica 51
	4.3	Simulaciones con adición de bloqueo
5	CON	CLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

LISTA DE TABLAS

Tabla	LISTA DE TABLAS pág	ina
4-1	Parámetros seleccionados para el crecimiento del tumor	31
4-2	Parámetros iniciales seleccionados para la interacción con linfocitos .	39
4-3	Parámetros seleccionados para la implementación de la terapia biológica	54

LISTA DE FIGURAS

Figura

nagina
pagma
<u>1</u> 0

1–1	Número estimado de incidencia y mortalidad de casos de cáncer para hombres y mujeres en el mundo. Tomado de Global Cancer Statistics 2002, CA Cancer Journal for Clinicians.	2
2-1	Esquema de la red. Se representa el tejido mediante una rejilla cuadrada con una fuente de nutriente en el borde inferior	11
3-1	Esquema de las funciones. Se muestra la forma de cada una de las cinco funciones incorporadas para la terapia	27
4-1	Morfología del crecimiento de células cancerosas. Tumor en diferentes iteraciones de tiempo para $\tilde{\alpha} = 0.1$, $\beta_k^{\tilde{a}s} = 0.08$, $\gamma_k^{\tilde{a}s} = 0.52$ y $P_0 = 0.7$, parámetros tomados de Scalerandi y su grupo [19]. Los colores representan la concentración de células cancerosas de acuerdo a la escala, mayor concentración cancerosa color rojo disminuyendo la densidad hacia el color azul.	31
4-2	Morfología de las células muertas. Para el crecimiento de un tumor sin tratamiento, la región azul oscuro esta completamente sana y los colores rojos, amarillos y azules claros representan las regiones más muertas del tumor, $\tilde{\alpha} = 0.1$, $\beta_k^{\tilde{a}s} = 0.08$, $\gamma_k^{\tilde{a}s} = 0.52$ y $P_0 = 0.7$.	32
4–3	Morfología de las células sanas. Crecimiento de un tumor sin tratamiento, la región roja representa lo más saludable del tejido, $\tilde{\alpha} = 0.1, \tilde{\beta_k^{as}} = 0.08, \tilde{\gamma_k^{as}} = 0.52 \text{ y } P_0 = 0.7. \dots \dots \dots \dots \dots$	33
4-4	Morfología tumoral para las células cancerosas. Visualización variando $\tilde{\alpha}$ muestra como el cambio en el coeficiente de migración afecta la morfología del tumor.	34
4–5	Concentración promedio de células cancerosas. La población cambia de acuerdo a la movilidad celular $\tilde{\alpha}$, el primer pico representa la llegada del tumor a la vena.	34
4–6	Morfología tumoral para las células cancerosas. Visualización variando la tasa de absorción de nutriente $\gamma^{\tilde{a}s}$	35

4–7 Concentración promedio de células cancerosas. Dependencia con respecto a diferentes valores de la tasa de absorción de nutriente $\gamma^{\tilde{a}s}$.	35
4–8 Morfología tumoral para las células cancerosas. Visualización variando la tasa de consumo de nutriente $\tilde{\beta}^{\tilde{a}s}$	36
4–9 Concentración promedio de células cancerosas. Crecimiento de la población para distintos valores de la tasa de consumo $\tilde{\beta^{as}}$	36
4–10 Morfología tumoral para las células cancerosas. El tamaño y la forma del tumor cambia para diferentes valores de nutriente disponible <i>Po.</i>	36
4–11 Concentración promedio de células cancerosas. El crecimiento de la población cancerosas depende de la cantidad de nutriente disponible en la vena <i>Po.</i>	37
4–12 Morfología de células cancerosas con linfocitos. Crecimiento de un tumor bajo la acción inmunológica con linfocitos	39
4–13 Morfología de las células muertas con linfocitos. Morfología de crecimiento bajo la acción inmunológica con linfocitos	40
4–14 Morfología de las células sanas con linfocitos. Reflejan la mor- talidad del tejido, color azul, producto de la acción linfática	40
4–15 Morfología de las células cancerosas con linfocitos para difer- entes valores de α_v . Visualización variando el coeficiente de di- fusión de los mensajeros α_v .	41
4–16 Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de α_v . Comportamiento de la población para diferentes valores del coeficiente de difusión de los mensajeros α_v	41
4–17 Concentración de células cancerosas con linfocitos para difer- entes parámetros <i>a</i> . Visualización variando el parámetro rela- cionado con la vida media <i>a</i>	42
4–18 Concentración promedio células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de <i>a</i> . Se varió el parámetro relacionado con la vida media <i>a</i>	42
4–19 Morfología de la concentración de células cancerosas con lin- focitos para diferentes valores del parámetros K . Visual- ización variando la tasa de generación de mensajeros K	43

4–20 Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando K . Aquí se muestra la población cancerosa para difer- entes valores de la tasa de generación de mensajeros K
4–21 Morfología de las células cancerosas con linfocitos para difer- entes valores de G. Dependencia con respecto al parámetro ab- sorción de mensajeros por parte de los linfocitos G
4–22 Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando G. Dependencia con respecto al parámetro relacionado con la absorción de mensajeros por los linfocitos G,
4–23 Morfología de la concentración de células cancerosas con lin- focitos para diferentes valores de α_L . Dependencia con re- specto a la difusión de los linfocitos α_L
4–24 Concentración promedio de células cancerosas con linfoci- tos variando el parámetro α_L . Diferentes concentraciones con respecto a la difusión de linfocitos α_L
4–25 Concentración de células cancerosas con linfocitos variando el parámetro b. Dependencia con respecto a la efectividad de los linfocitos b
4–26 Concentración promedio células cancerosas y muertas con linfocitos variando b. Diferentes concentraciones con respecto a la efectividad de los linfocitos b
4–27 Morfología de la Concentración de células cancerosas con lin- focitos para diferentes valores de <i>f</i> . Dependencia con respecto a la vida media de los linfocitos <i>f</i>
4–28 Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando f . Diferentes concentraciones con respecto a la variación de valores para vida media, relacionada con el parámetro f 47
4–29 Morfología de las células cancerosas con linfocitos variando el parámetro χ . Dependencia con respecto a el coeficiente quimiotáctico χ
4–30 Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando χ . Concentraciones para diferentes valores del coeficiente quimiotáctico χ

4–31 Morfología de la Concentración de células cancerosas con tratamiento biológico para las cinco funciones $f(t)$ imple- mentadas. Se muestran la morfología para crecimiento del tumor con linfocitos sin terapia y para el crecimiento con la aplicación de las cinco funciones de terapia, se tomaron valores para $T = 300$ y F = 10, los tiempos $t = 5000$ iguales para todas	9
4–32 Concentración promedio de células cancerosas y muertas con tratamiento biológico para las cinco funciones $f(t)$. Difer- entes concentraciones para el crecimiento tumoral con la aplicación de las cinco funciones de terapia $f(t)$, $T = 300$ y $F = 10$	0
4–33 Concentración promedio de linfocitos con terapia. Diferentes terapias incorporadas, se muestra la forma periódica de cada función $f(t)$, observándose como algunas no alcanzan los mismos máximos en la amplitud. Aquí $T = 300$ y $F = 10. \dots \dots$	0
4–34 Concentración promedio de células cancerosas con terapia variando T . Gráficas de las cinco terapias aplicadas. Se dejó fija la amplitud $F = 10$ y se varió el periodo T , la superposición de las gráficas muestra un comportamiento similar en cada gráfica para diferentes valores de T	2
4–35 Concentración promedio de células cancerosas con terapia variando F . Gráficas de las cinco terapias aplicadas. Se dejó fijo el periodo $T = 50$ y se varió la amplitud F , las gráficas muestra que la concentración celular disminuye para valores grandes de F . 55	3
4–36 Concentración de células cancerosas con terapia. Visualización para la terapia biológica implementada	5
4–37 Concentración promedio de células Cancerosas con terapia. Terapia implementada $f_5(t)$, comparada con el crecimiento sin lin- focitos (línea negra), y con linfocitos (línea magenta)	5
4–38 Concentración de células Muertas con terapia. Visualización para la terapia biológica implementada $f_5(t)$	5
4–39 Concentración promedio de células Muertas con terapia. Ter- apia implementada $f_5(t)$, comparada con el crecimiento sin linfoci- tos (línea negra), con linfocitos (línea magenta)	6
4–40 Concentración de células Sanas con terapia. Visualización para la terapia implementada $f_5(t)$	6
4–41 Concentración promedio de células Sanas con terapia. Terapia implementada $f_5(t)$, comparada con el crecimiento sin linfocitos (línea negra), con linfocitos (línea magenta)	6

4–42 Concentración células cancerosas para terapia más bloqueo.	
Se implementa la restricción a la difusión celular cancerosa rep-	
resentada por el parámetro Θ_p (izquierda). Se comparan los re-	
sultados obtenidos para el crecimiento tumoral sin linfocitos (línea	
negra), con linfocitos (línea magenta), con adición de terapia (línea	
azul) y la nueva simulación con bloqueo (líneas roja, verde y amar-	
illa). En la figura de la derecha se omitieron las gráficas con las	
simulaciones anteriores (negra, azul, magenta) para reducir la es-	
cala y mejorar la resolución de la gráfica para visualizar mejor la	
terapia con bloqueo.	57
4–43 Morfología de la Concentración de células cancerosas, muer-	
tas y sanas con terapia y bloqueo. Las imágenes muestran el comportamiento morfológico para las tres poblaciones celulares cancerosas (primera fila), muertas (segunda fila) y sanas (tercera fila), bajo los efectos del tratamiento con la terapia $f_5(t)$ más el bloqueo, con $\Theta_p = 0.5.$	59
4–44 Concentración promedio de células, muertas y sanas con ter-	
apia y bloqueo. Las gráficas muestran los resultados obtenidos para estas poblaciones con el tratamiento de la terapia $f_5(t)$ más el bloqueo, con $\Theta_p = 0.5$ (línea verde). Se compara con las simu- laciones anteriores sin linfocitos (línea negra), con linfocitos (línea	
magenta) y con adición de terapia (línea azul).	59

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

El origen del cáncer es netamente genético, es decir proviene de alteraciones en la información genética del ADN celular, y sus causas son conocidas parcialmente. Sindicándose diferentes factores ambientales, químicos y biológicos como los principales agentes causantes de la alteración genética que produce el surgimiento y proliferación del cáncer. A través de siglos esta enfermedad se ha constituido como una de las mayores causas de muertes en la humanidad. Investigaciones recientes desarrolladas en el 2005 por la American Cancer Society, arrojan datos estadísticos preocupantes, donde se estima que hubo 10.9 millones de nuevos casos, 6.7 millones de muertes, y 24.6 millones de personas que viven con cáncer, dentro de 5 años de diagnóstico, en el año 2002. El cáncer pulmonar es el tipo de cáncer más común en el mundo actual con 1.35 millones de casos, ocasionado 1.18 millones de muertes, con una razón entre mortalidad e incidencia de 0.87. El cáncer de pecho es el segundo tipo más común con 1.15 millones de casos nuevos. Éste presenta una menor mortalidad, la quinta parte, gracias a que su pronóstico y tratamiento es más favorable, con una proporción entre mortalidad e incidencia de 0.35. Cifras para el cáncer del estómago con (934.000 casos, 700.000 muertes), hígado (626.000 casos, 598.000 muertes), y el cáncer colorrectal (1.02 millones de casos, 529.000 muertes) hacen parte de las estadísticas más actuales [1] de este flagelo en el mundo. Existe una gran diferencia en el perfil de los tipos de cáncer en todo el mundo según el sexo y el país. La figura 1–1 muestra los números estimados, de incidencia y mortalidad, de casos de cáncer para hombres y mujeres en el mundo. Esto se debe principalmente a que en cada lugar se cuenta con diversos factores predominantes ya sea ambientales o de hábitos que hacen depender los riesgos de incidencia y mortalidad[2].

La primera información escrita sobre el tratamiento a un paciente con cáncer data del año 1.600 antes de Cristo. Se trata de un papiro egipcio que relata la primera operación quirúrgica para la extracción de un tumor sólido [3]. Otros reportes acerca de la incidencia del cáncer, fueron realizados en 1761 por John Hill, médico londinense quien notificó por primera vez la presencia de cáncer nasal entre aspiradores de polvo de tabaco [4]. En 1775 Percival Pott publicó un tratado sobre el cáncer de escroto en los deshollinadores de las chimeneas de Londres [5]. Estas investigaciones reportaron observaciones hechas sobre la relación entre la exposición de las personas a ciertos agentes químicos y el aumento de la aparición del cáncer. En el año 1918 se demostró experimentalmente efectos cancerígenos en animales debido a exposiciones químicas. Finalmente, en la década de 1930-1940 se aisló un agente carcinogénico del alquitrán del carbón, el benzopireno, hidrocarburo aromático policíclico que resulta de la combustión incompleta de moléculas orgánicas [6]. Hacia 1950 se describió una amplia variedad de agentes químicos de diversas estructuras que podían producir cáncer en animales. Se sugirió que estas sustancias requerían de la activación metabólica de intermediarios electrofílicos reactivos que se unen covalentemente a centros nucleofílicos de proteínas, ARN o ADN. Desde entonces se han descrito muchos más carcinógenos que actúan de esta forma y producen mutaciones en células procarióticas y eucarióticas.



Figura 1–1: Número estimado de incidencia y mortalidad de casos de cáncer para hombres y mujeres en el mundo. Tomado de Global Cancer Statistics 2002, CA Cancer Journal for Clinicians.

1.1 Naturaleza del cáncer

Cada segundo millones de células del cuerpo humano se dividen para reemplazar a sus predecesoras desgastadas que han muerto o están a punto de morir. En este proceso se puede alterar la información genética que portan estas células, ocasionando una malformación de las mismas lo que las convierte en células anormales; el crecimiento descontrolado de estas células se conoce como cáncer. El cáncer es una condición que se caracteriza por la replicación y el crecimiento descontrolado de las células somáticas del organismo. Un cáncer es el resultado de dos procesos sucesivos: aumento de proliferación celular (tumor o neoplasia) y adquisición de capacidad invasiva, que le permite escapar de su lugar natural colonizando y proliferando en otros tejidos u órganos (metástasis) [7, 8]. Si sólo ocurre la primera parte se lo considera como un tumor benigno, el cual es un tumor que no posee la capacidad de invadir y destruir otros órganos. El segundo caso se le denomina tumor maligno o cáncer que es el tumor que pose la capacidad de invadir tejidos, órganos y de trasladarse a otras partes del cuerpo. Las metástasis de un tumor canceroso se produce cuando la expansión de la enfermedad llega a la angiogénesis, conocida también como vascularización, que es una etapa donde el tumor genera vasos sanguíneos que le permiten alimentarse y trasportarse rápidamente hacia la fuente de nutrientes, las venas, en donde se introduce para diseminarse por todo el cuerpo ocasionando la contaminación de órganos vitales, causando finalmente la muerte.

El cáncer se clasifica según el tipo de células afectadas, de tal manera que para los diversos órganos del cuerpo existen unos patrones característicos genéticamente que son alterados en la creación de cada nueva célula, ocasionando una mutación de un tipo determinado, esto genera una clase de cáncer específico según la forma genética de la mutación:

- Carcinomas: Células epiteliales (hígado, esófago, riñones, etc)
- Sarcomas: Células del tejido conectivo muscular
- Leucemias, Linfomas, Mielomas: Células de la sangre
- Neuroblastomas y Gliomas: Células del sistema nervioso

El cáncer es una enfermedad genética, pero generalmente no hereditaria. Existen dos posibles alteraciones que lo pueden ocasionar. La primera ocurre mediante el cambio genético en el ADN celular. Éste es el causante de la mayoría, ya que da lugar a nuevas células cancerosas. La otra malformación es el cambio epigenético que produce la alteración en la forma como se expresan los genes. El cáncer es considerado como una enfermedad independiente, de sus causas, de su evolución y de su tratamiento. Así cada uno de los tipos de cáncer posee unas características particulares. El proceso de formación de un tumor a partir de una célula implica la acumulación sucesiva de alteraciones en los genes durante un periodo de años de crecimiento hasta que se hace aparente. Las células van adquiriendo alteraciones en su material genético que les proporcionan ventajas de crecimiento comparado con las normales, de tal forma, que se van seleccionando hasta llegar a ser mayoría en el tumor. De esta manera, el proceso de carcinogénesis tumoral se compone de la alteración genética (mutación), la competición y la selección celular, éste se puede dar durante años. Se consideran tumores agudos si son de aparición rápida y crónicos si aparecen gradualmente. Los agentes capaces de producir cáncer se denominan carcinógenos y se encuentran, entre otros, en el humo del tabaco, en contaminantes de alimentos y en solventes usados en la industria y la manufactura. Se pueden clasificar en: agentes químicos (tales como nitrosaminas, aminas nitrogenadas, agentes alquilantes e hidrocarburos aromáticos policíclicos), agentes físicos (tales como la radiación ionizante (rayos X y rayos γ), luz UV y fibras minerales), y agentes biológicos, como retrovirus.

1.2 Modelos matemáticos para el crecimiento tumoral

Aunque la evolución de un sistema cancerígeno está limitada y condicionada a parámetros químicos y biológicos, su diseminación a través de los tejidos y órganos contaminados obedece diversas reglas deterministas o estocásticas, las cuales se pueden modelar utilizando herramientas matemáticas y condicionamientos físicos. La producción de tumores cancerosos o tumorgénesis ha sido estudiada desde principios del siglo xx por matemáticos interesados en aplicaciones biológicas. Se plantean diversos modelos que utilizan ecuaciones diferenciales ordinarias EDO, ecuaciones diferenciales parciales EDP, modelos estocásticos, discretos, estadísticos y de análisis numérico. Existen trabajos abundantes alrededor de este tema que evidencian una gran cantidad de resultados, y en algunos casos son tratamientos muy particulares que carecen de generalizaciones y universalidad de modelos. Otros muestran estructuras funcionales que permiten la aplicabilidad a diversos tipos de cáncer, pero pese a los arduos y grandes esfuerzos hoy en día se carece de un modelo que proporcione una predicción y visión exacta del comportamiento de esta enfermedad en sus múltiples formas y para cualquier tipo de población, ya que los modelos existentes funcionan bajo condiciones bastantes ideales y con poblaciones específicas. Tradicionalmente científicos de diferentes áreas han producido interesantes modelos para el tratamiento de la dinámica del crecimiento tumoral. Estos modelos provienen de diversos campos como matemática aplicada, estadística, ciencia de computadoras, ciencia de materiales, mecánica de fluidos, dinámica poblacional, evolución y teoría del juego. A continuación se describe una breve revisión de los tipos de modelos de crecimiento de tumores cancerosos más utilizados. [9]

Ecuaciones diferenciales ordinarias: Este modelo supone una población de células cancerosas con un potencial de crecimiento igual, la cual obedece una ecuación diferencial ordinaria (EDO). Se aplica a problemas de estabilidad y permanencia de sistemas donde se tiene una población biológica compitiendo por recursos. La ecuación diferencial describe la competición entre organismos como un cambio en la función de saturación. El número de células en un tiempo t, depende de la tasa de crecimiento y está asociado con la capacidad de carga, que es el tamaño máximo de población que se puede alcanzar, definida por el nutriente suplido y restricciones espaciales. La solución de esta ecuación es la conocida curva sigmoidal. Una aplicación de este modelo fue introducido por Manfred Eigen en 1971 como un camino

para modelar la evolución dinámica de moléculas únicas de RNA en experimentos de laboratorio, conocido como el modelo de las cuasiespecies. Luego se extendió este modelo al tratamiento y evolución de virus, bacterias y modelos simples del sistema inmune [10]. El modelo de Eigen supone una población heterogénea de células i que compiten entre sí y rodean a células saludables en busca de nutrientes, oxígeno y espacio. El número total de células del sistema se supone constante y se permite el desencadenamiento de mutaciones que generan divisiones celulares a una razón determinada para cada tipo. Una célula de tipo i solo puede mutar en una del tipo i + 1.

Ecuaciones diferenciales parciales: El método de ecuaciones diferenciales parciales (EDP) es una herramienta muy usada en el estudio del crecimiento de tumores y la forma en que se difunden sobre los tejidos que los rodean. En la utilización de estas ecuaciones se supone un sistema descrito bajo un comportamiento mecánico, donde el sistema puede ser un fluido [11] o una mezcla entre líquido y sólido (los fluidos son normalmente los nutrientes)[12]. Se presentan fenómenos de difusión y transporte de nutrientes teniendo en cuenta efectos de concentración, tamaño y velocidad de células. Se deben aplicar condiciones iniciales y de frontera que están relacionadas con el tamaño, la permeabilidad del medio, la geometría y las dimensiones del sistema. Anderson y Chaplain [13] plantearon una (EDP) para describir la dinámica de la densidad de células endoteliales (EC) que migran a través de un tumor y forman estructuras neovasculares en respuesta a una señal química especifica, conocida como factor angiogénico del tumor (TAF). Ellos proponen que si n(x, t) es la densidad (EC), entonces la migración está descrita por

$$\dot{n} = D\nabla^2 n - \nabla(\chi(c)n\nabla c) + g(n,c)$$

donde $D \neq \chi(c)$ son el coeficiente de difusión y el parámetro quimiotáctico respectivamente, c(x,t) es la concentración de (TAF) químico específico responsable de la quimiotaxis y g(n,c) es la función de proliferación. Para el caso simple la señal química se puede suponer como estacionaria (independiente del tiempo), si no es estacionaria ésta debe satisfacer la ecuación diferencial

$$\dot{c} = D_c \nabla^2 n + v(c, n)$$

con v(c, n) como la función específica de producción de la señal química.

Modelo discreto, autómata celular: La estructura fundamental de este modelo del autómata celular está basada en una región del espacio discretizada (rejilla cuadrada), donde coexisten unas determinadas especies celulares. La dinámica de crecimiento está definida por algunas reglas de interacción a lo largo de los nodos y entre los vecinos de cada celda. Las reglas pueden ser determínisticas o estocásticas, estas últimas son dictaminadas por procesos aleatorios con inclusión de probabilidades. Cada punto de la rejilla puede representar una célula individual o un grupo de células. En una red de autómatas el estado de una célula dentro de la región depende de las reglas definidas, del estado de los vecinos y de su propio estado en la generación anterior. Un ejemplo sencillo de autómata celular es una rejilla en dos dimensiones, con puntos nodales $x_{i,j}$ donde *i* y *j* son las dimensiones de la cuadrícula. Se empieza con una población inicial, la cual se actualiza en cada paso de tiempo bajo unas determinadas reglas de muerte y reproducción. Los modelos de autómata celular usados para describir sistemas reales son mucho más complicados y deben tener en cuenta muchos factores biológicos que caracterizan la difusividad y crecimiento del tumor. En [14] se desarrolla un complejo modelo de autómata celular en tres dimensiones para describir el crecimiento de un tumor cerebral. En él se incorporan dos tipos de células proliferativas y no proliferativas, que requieren para su evolución de dos cuadrículas una isotrópica y otra adaptable.

Modelo Estocástico: Muchos fenómenos biológicos son gobernados por variables aleatorias, y requieren de un modelo que involucre procesos al azar. El eje central de este modelo radica en que no se puede predecir con exactitud el estado de un sistema en un tiempo dado pero se logran predecir ciertas tendencias bajo las cuales este sistema evoluciona paulatinamente de tal manera que para experimentos repetidos se encuentran resultados similares pero no idénticos. El proceso de Moran es un modelo estocástico simple el cual describe el comportamiento de una población basado en una dinámica de nacimiento y muerte. Aquí se considera una población de tamaño N, con células sanas y mutadas. En cada paso de tiempo un individuo Aes seleccionado aleatoriamente para su reproducción. Debido a esto otro individuo B es seleccionado para morir tal que la descendencia de A reemplaza a la célula muerta B, manteniendo a N constante. Así pues el proceso de Moran describe la evolución estocástica de una población finita de tamaño constante. Se supone que todos los individuos residentes son idénticos y se introduce un mutante que tiene un fitness 1 r, mientras que el de los residentes es 1, es decir, que los mutantes pueden ser menos o más aptos para sobrevivir que sus predecesores. Los únicos estados estables posibles en el proceso de Moran son o todos mutantes o todos residentes. Un modelo como éste se usa en [15] para describir comportamientos celulares de organismos adultos. Éste es un tipo de modelo simple y tiene como característica una población constante, pero existen otros modelos que proponen además poblaciones en continuo crecimiento o decadencia continua hasta su extinción, como es el caso del proceso one-hit o el two-hit.

Modelo Estadístico: El modelo estadístico es utilizado en procesos donde las múltiples etapas de la carcinogénesis se presentan como una serie de procesos estocásticos con eventos mutacionales y expansión de clones. Para este modelo se proponen una serie de variables como tasas de mutación, tasas promedio de expansión

¹ El término *fitness*, se refiere a la aptitud en el contexto biológico, que es el valor adaptativo que tiene un organismo para poder pasar los genes a futuras generaciones y que sus descendientes puedan nacer y sobrevivir

de clones por etapa y número de etapas. La probabilidad de desarrollo de cáncer para una cierta edad es calculada, usualmente por simulaciones numéricas, como una función de todos los parámetros desconocidos. El resultado de tales cálculos para cada conjunto de parámetros es comparado con la data existente de la incidencia de

cada conjunto de parámetros es comparado con la data existente de la incidencia de cáncer, donde se identifica el conjunto de parámetros que mejor se ajuste. Trabajos en los que se analizan curvas de incidencia y muerte con la edad [16–18], muestran diferentes curvas con las fluctuaciones estadísticas de las muertes a causa del cáncer por año, se destacan las diferencias entre el cáncer a edades tempranas y después de los cuarenta años. Los autores sugieren que el cáncer que ataca a la gente de mayor edad tiene un comportamiento físico más crítico, el cual se puede atribuir al mal funcionamiento y deterioro de los organismos [9].

1.3 Trabajos previos

Dentro de los investigaciones estudiadas y analizadas para la realización de este trabajo, se resaltan aquí algunas de las que se tuvieron en cuenta como referencia. Scalerandi y colaboradores [19] desarrollaron un modelo para el crecimiento del cáncer basado en la competencia por nutrientes. Este modelo supone una población celular confinada en una región del espacio discretizada (rejilla cuadrada). Se formulan una serie de reglas a nivel celular, las cuales son implementadas con ecuaciones diferenciales no lineales. Las ecuaciones diferenciales son discretizadas y solucionadas usando simulaciones numéricas. Se considera una región de tejido completamente sana. El tejido se representa por una red cuadrada, donde cada punto nodal i, j representa un elemento de volumen que contiene varias células y moléculas de nutrientes. Se coloca una semilla de cáncer en el centro de la red. Luego de un paso de tiempo se supone la coexistencia de tres poblaciones, células cancerosas, células sanas y células muertas, dentro de los nodos que conforman la red. La evolución de esta concentración de células es descrita por ecuaciones diferenciales de primer orden en función del tiempo, que están sujetas a unas determinadas reglas de crecimiento. Estas reglas dependen de la disponibilidad de nutrientes en las cercanías del tumor, de las tasas de absorción y difusión de nutrientes, así como de las cantidades de células muertas, sanas y cancerígenas.

O. Sotolongo Costa y colaboradores [20] propusieron un modelo para la interacción dinámica entre un tumor cancerígeno y los linfocitos (los agentes naturales que defienden al cuerpo de los antígenos que no son reconocidos como pertenecientes al mismo en el estado de salud). Este modelo describe una estimulación periódica del sistema inmune utilizando una dosificación parcial de citoquinas que generan un aumento en el número de linfocitos activados. Estos autores investigaron cómo es posible controlar y reducir el crecimiento del tumor dependiendo de la frecuencia y el tamaño de la dosis suministrada. H. de Vladar y J. A. González [21] introdujeron una modificación a los modelos de respuesta inmunológica que se basaban en la ley de Gompertz¹, sustituyendo ésta por una tasa de crecimiento exponencial usada para el crecimiento de tumores. Este modelo predice que la oposición que los sistemas inmunológicos presentan frente a la aparición del cáncer nunca es suficiente para revertir completamente su crecimiento. En lugar de eso, se puede lograr un equilibrio microscópico entre el cáncer y la actividad inmunológica, adicionando un tratamiento por terapia con dosificaciones constantes que regulen el sistema inmune.

A. Brú y otros [22] supusieron en sus investigaciones que el crecimiento tumoral se ajusta a un modelo, usado en física para la obtención de semiconductores, denominado *molecular beam epitaxy* (MBE). Además, precisaron que el crecimiento de un tumor no tiene lugar en toda su masa, sino que queda circunscrito a la superficie. El modelo propone que reestimulando el sistema inmunológico se produce una serie de células, los neutrófilos (un tipo de leucocitos), que están en la capacidad de acabar con el tumor. La terapia se basa en dotar al organismo del número suficiente de este tipo de células para que él pueda combatir con éxito al tumor.

G. Rivera [23] llevó a cabo una simulación basada en el modelo de competencia por nutrientes para el crecimiento de tumores cancerosos desarrollado por Scalerandi y colaboradores [19]. Siguiendo a estos autores, se consideró un tejido libre de cáncer, en el cual los nutrientes se originan en un vaso sanguíneo que está localizado a lo largo del borde inferior de la red. Luego se describió la absorción y el transporte de nutrientes en el tejido, los cuales se difunden y son consumidos por células sanas. Finalmente, se incorporó al modelo la interacción de las células cancerosas con linfocitos a través de un tratamiento periódico con citoquinas (inmunoterapia), consiguiéndose variar los tiempos de crecimiento y difusión del tumor de acuerdo a la variación de parámetros como cantidad de nutriente y dosificación de linfocitos.

S.A. Menchón y otros [24] generalizaron el modelo de crecimiento del cáncer por competencia de nutrientes, aplicándolo a la interacción entre tumores heterogéneos y el sistema inmune. En este trabajo se confirma la necesidad del empleo de terapia para aumentar el grado de eficacia del sistema inmune ya que este por si solo no logra detener el crecimiento del cáncer.

El modelo matemático utilizado para esta tesis es una extensión del modelo mesoscópico propuesto por Scalerandi y colaboradores [19]. Se adiciona a éste la interacción entre el tumor y un agente terapéutico, estimulando el sistema inmune

¹ La ley de Gompertz se utiliza en la moderación de tumores solidos, y establece que el número de células cancerosas que crece con el tiempo está dado como $N(t) = A \exp[-b \exp(-kt)]$ donde A, b y k son constantes positivas, la característica de este modelo es que considera un mecanismo interno de autoinhibición que se intensifica tanto como se incrementa el crecimiento, resultando en un crecimiento exponencial de decrecimiento que alcanza un límite asintótico en el tamaño del tumor.

natural del cuerpo humano con inmunoterapia. Se presentan resultados de la simulación computacional para crecimiento de tumores con y sin terapia.

CAPÍTULO 2 MODELO MATEMÁTICO

Las funciones vitales que tienen lugar en el interior de las células, a nivel microscópico, tales como la síntesis de proteínas, la transmisión de información genética y demás, involucran procesos de alta complejidad para la realización de análisis matemáticos y caracterizaciones físicas. Sin embargo, cuando se estudian los tejidos a una escala mayor como la mesoscópica existen algunas estructuras biológicas sobre las cuales subyace la idea de un modelo de coexistencia celular. Este modelo obedece dinámicas de movilidad, reproducción y muerte que están sujetas a procesos de supervivencia celular, en los cuales las diferentes poblaciones que conviven en un tejido compiten por alimento y espacio. Teniendo en cuenta que una célula no tiene sentido de su posición en el tejido, sino que solo responde a señales y estímulos provenientes de su entorno local [25], el análisis mesoscópico desarrollado en este trabajo pretende describir el comportamiento celular a esta escala, utilizando el modelo matemático propuesto por Scalerandi y colaboradores [19]. En éste se presenta una excelente descripción del comportamiento de las poblaciones celulares para un tejido. Se inicia describiendo la absorción y el transporte de nutrientes libres en un tejido sano; seguido a esto se introduce una semilla cancerosa, para así estudiar el crecimiento de un tumor a través de la evolución de las poblaciones celulares. Dicha evolución está determinada por un conjunto de reglas basadas en interacciones locales como la posición y la cantidad celular en función de la existencia de otras células y los nutrientes disponibles en el entorno local. La estructura de estas reglas y normas que regulan la evolución del sistema se expresa a través de un conjunto de ecuaciones no lineales acopladas.

2.1 Nutrientes

Se considera una región de tejido completamente sana, libre de cáncer, que cuenta con una distribución celular uniforme. Ésta es irrigada por una cantidad M de especies de nutrientes, denominados nutrientes libres, provenientes de fuentes cercanas como vasos sanguíneos. Estos nutrientes se difunden y son consumidos por las células sanas. Las concentraciones de nutrientes están dadas por funciones $p_k(\vec{r},t)$ (k = 1, 2...,M), las cuales están descritas por ecuaciones de difusión que tienen la forma:

$$\dot{p}_k(x,t) = \alpha_k \frac{\partial^2 p(x,t)}{\partial x^2} - \gamma_k p(x,t) + S_k(x,t).$$
(2.1)



Figura 2–1: Esquema de la red. Se representa el tejido mediante una rejilla cuadrada con una fuente de nutriente en el borde inferior.

Para implementar esta expressión en el modelo computacional que se desarrolla en este trabajo es necesario discretizar la ecuación en el espacio y el tiempo, con intervalos de discretización Δ y τ , respectivamente. Se discretiza el espacio de difusión donde se encuentra el tejido, en una red cuadrada como se muestra en la figura 2–1, donde cada punto nodal $\vec{r} = (i, j)$ representa un elemento de volumen que contiene numerosas células y moléculas de nutrientes. Los nutrientes se difunden con una tasa de difusión α_k para cada tipo de nutriente k y son consumidos por células sanas con una tasa de absorción γ_k . Suponiendo que los nutrientes no interaccionan entre sí, la concentración de nutrientes libres p_k satisface, para cada punto nodal \vec{r} , la ecuación de reacción-difusión:

$$p_k(\vec{r}, t+\tau) = p_k(\vec{r}, t) + \tau \left\{ \sum_{\vec{r'}}^{NN} \frac{\alpha_k}{\Delta^2} [p_k(\vec{r'}, t) - p_k(\vec{r}, t)] - \gamma_k p_k(\vec{r}, t) h(\vec{r}, t) + S_k(\vec{r}, t) \right\} (2.2)$$

El primer término de la derecha dentro del paréntesis corresponde a la difusión de nutrientes desde y hacia los vecinos más próximos de \vec{r} , el segundo término representa la absorción de nutrientes libres por la población de células sanas h y el último término se refiere a la fuente de nutrientes, que se puede considerar independiente del tiempo para una etapa prevascular.¹ La ecuación (2.1) debe ser complementada con condiciones iniciales y de frontera, teniendo en cuenta que la difusión de nutrientes es homogénea e isotrópica y la absorción de los diferentes nutrientes ocurre independientemente de la presencia de otros nutrientes. Además para garantizar la estabilidad de la red de discretización se debe cumplir que $\tau \leq \frac{\Delta^2}{2}$.

 $^{^{1}}$ La etapa prevascular es la antecesora al proceso que desarrollan los tumores al formar vasos sanguíneos nuevos a partir de los vasos preexistentes, lo que aumenta la difusión de nutrientes y produce un crecimiento rápido y descontrolado del tumor.

2.2 Reglas para el crecimiento del cáncer

Para las reglas de crecimiento se supone la coexistencia de tres poblaciones: células cancerosas $c(\vec{r}, t)$, células sanas $h(\vec{r}, t)$ y células muertas $d(\vec{r}, t)$, dentro de los nodos que conforman la red. En el instante inicial t = 0 se coloca una semilla de cáncer dentro de una región con población celular sana. El sistema evoluciona y la distribución de las células que ocupan un nodo varía con el tiempo, pero se supone que la población total por nodo se conserva y está normalizada, de tal forma que:

$$h(\vec{r},t) + c(\vec{r},t) + d(\vec{r},t) = 1, \qquad (2.3)$$

la cual se cumple en todo momento y en toda la red. El modelo propone para la evolución en el tiempo de estas tres poblaciones una serie de ecuaciones de diferencias de primer orden, que requieren de una solución numérica. Estas ecuaciones se escribirán en adelante de forma discreta omitiendo por brevedad la dependencia con el tiempo. Se describen a continuación las reglas para el crecimiento de tumores cancerosos según este modelo.

1. Alimentación

Los nutrientes libres p_k son transformados en nutrientes ligados q_k con una tasa de absorción $\tilde{\gamma_k}$ igual a

$$\tilde{\gamma}_k(\vec{r}) = \tilde{\gamma}_k^{as} \{ 1 - \exp(-\Gamma p_k(\vec{r})) \}$$
(2.4)

donde Γ es un parámetro de afinidad y $\gamma_k^{\tilde{a}s}$ representa el valor de saturación de la tasa de absorción para valores grandes de nutriente libre, $p_k(\vec{r}) \to \infty$. Esta ecuación muestra la dependencia de la tasa de absorción con la cantidad de nutriente disponible; para valores pequeños de nutriente la tasa de absorción es proporcional a $p_k(\vec{r})$ y para altas concentraciones de nutriente alcanza valores cercanos a $\gamma_k^{\tilde{a}s}$.

2. Consumo

Los nutrientes ligados q_k son consumidos por las células cancerosas con una tasa de

$$\tilde{\beta}_k(\vec{r}) = \tilde{\beta}_k^{as} \{ 1 - \exp(-\Gamma' q_k(\vec{r}) / c(\vec{r})) \}$$
(2.5)

donde Γ' es el parámetro de afinidad y nuevamente se supone un valor de saturación, esta vez para la tasa de consumo equivalente a $\beta_k^{\tilde{a}s}$. Las células cancerosas pueden consumir solamente su propio nutriente ligado, y a cada célula le corresponde en promedio $q_k(\vec{r})/c(\vec{r})$ de nutriente ligado ya que $q_k(\vec{r})$ representa el total de nutriente k-esimo ligado por las células cancerosas del nodo (\vec{r}) .

3. Muerte

La mortalidad de células depende de la concentración de nutriente ligado, que es necesario para el funcionamiento celular, la escasez de éste produce la muerte celular. Para la condición de mortalidad celular se supone que existe un umbral de muerte denotado por $Q_{k,D}$, que es la cantidad mínima de nutriente ligado knecesaria para que una célula realice sus funciones vitales. Si la cantidad promedio de nutriente ligado por célula cancerosa $q_k(\vec{r})/c(\vec{r})$, en un nodo \vec{r} , cae por debajo del umbral $Q_{k,D}$, un número de células cancerosas $r_kc(\vec{r})$ mueren de hambre en el siguiente paso. Se debe cumplir además que $r_kc(\vec{r}) < c(\vec{r})$. El modelo propone que r_k podría ser un número seleccionado aleatoriamente a través de una distribución de probabilidad. En las simulaciones realizadas en este trabajo se tomó r_k como un número fijo menor que uno, por simplicidad, lo cual produjo resultados acordes con el modelo.

4. Mitosis

Al igual que para la muerte celular, se define ahora un umbral de mitosis, $Q_{k,M}$, como la cantidad mínima de nutriente ligado k que se requiere para que una célula se pueda reproducir. Si existen altas concentraciones de nutriente ligado $q_k(\vec{r})$ se genera división de células cancerosas. Cuando la cantidad promedio de nutriente ligado por célula cancerosa $q_k(\vec{r})/c(\vec{r})$, en un nodo \vec{r} , se hace más grande que el umbral de mitosis, $Q_{k,M}$, para cada nutriente k, un número de células cancerosas $r'_k c(\vec{r})$ reemplaza las células sanas, donde $r'_k c(\vec{r}) < h(\vec{r})$. Aquí se seleccionó r'_k de la misma forma que r_k como un número fijo menor que uno. Además para cumplir con la condición de normalización de la ecuación (2.3) para la conservación de la población celular por nodo, se debe suponer que las células sanas son eliminadas por las cancerosas, esto considerando que las células sanas tienen menor capacidad de supervivencia que las cancerosas.

5. Migración

Si los nutrientes libres son pocos, las células cancerosas tienden a migrar a los nodos vecinos más cercanos en busca de un ambiente más adecuado, esto es posible gracias a que las células cancerosas poseen unos sensores con los que perciben la disponibilidad de nutrientes libres en el medio. Las células cancerosas migran a otros nodos con un coeficiente de migración $\tilde{\alpha}_k$, el cual depende del tipo de nutriente k. Para el modelo desarrollado en este trabajo se supone un único nutriente predominante en el ambiente, que es la glucosa, siendo k = 1. Esta suposición es suficiente para determinar la migración celular. Asumiendo que si la cantidad promedio de nutriente libre por célula cancerosa en un nodo \vec{r} , es $p_1(\vec{r})/c(\vec{r}) < P_D$, las células cancerosas migrarán a los nodos vecinos. Donde P_D es la cantidad mínima de nutriente libre por célula cancerosa, existente en los alrededores, para el cual no se produce migración. Se supone también que las células cancerosas que migran de un nodo a otro llevan consigo su nutriente ligado. Además, para que la migración sea permitida el nodo de llegada debe contener células sanas las cuales son eliminadas por las células cancerosas de tal forma que la población total por nodo se conserve.

2.3 Ecuaciones que describen el crecimiento del cáncer

Las reglas que se describieron anteriormente conforman un conjunto de ecuaciones no lineales acopladas que describen el comportamiento de las poblaciones celulares y la concentración de nutrientes. Las condiciones y restricciones asumidos en estas reglas imponen la necesidad de verificar en cada paso de tiempo si alguno de los umbrales definidos es sobrepasado o no, de tal manera que se modifiquen las poblaciones celulares y la concentración de nutrientes. Las poblaciones celulares se deben actualizar debido a la mitosis y la muerte celular; para tal fin se presentan las siguientes ecuaciones:

$$c(\vec{r},t) \to c(\vec{r},t) \Big\{ 1 - \sum_{k} r_k \Theta[Q_{k,D}c(\vec{r}) - q_k(\vec{r})] + \prod_{k} r' \Theta[q_k(\vec{r}) - c(\vec{r})Q_{k,M}] \Big\}.$$
(2.6)

Aquí Θ es la función escalón de Heaviside, la cual verifica cuando la cantidad promedio de nutriente ligado es menor que el umbral de muerte y cuando la cantidad promedio de nutriente ligado se hace mayor que el umbral de mitosis. El segundo y tercer término dentro del paréntesis representan, respectivamente, las modificaciones introducidas en las poblaciones de células cancerosas por muerte y por mitosis. La correspondiente ecuación para la población de células muertas es

$$d(\vec{r},t) \to d(\vec{r},t) + c(\vec{r},t) \sum_{k} r_k \Theta[Q_{k,D}c(\vec{r}) - q_k(\vec{r})].$$
 (2.7)

La concentración de células sanas se recalcula, para que la población por nodo se conserve, con la expresión:

$$h(\vec{r},t) = 1 - c(\vec{r},t) - d(\vec{r},t).$$
(2.8)

Después de estas transformaciones se deben computar los cambios experimentados en cada paso de tiempo, para actualizar las poblaciones celulares y las concentraciones de nutrientes. La población de células cancerosas en cada nodo cambia debido a la migración de un nodo a otro, estando esta migración sujeta a las condiciones propuestas en las reglas descritas anteriormente para la migración. Se supone que la migración debe ser proporcional a la población de células saludables en el nodo de llegada. Las células cancerosas se mueven desde el nodo $\vec{r'}$ hacia el nodo \vec{r} con una tasa $h(\vec{r})\tilde{\alpha}c(\vec{r'})$, y cada célula lleva consigo una fracción $q_k(\vec{r'})/c(\vec{r'})$ de nutriente ligado. La ecuación de difusión para las células cancerosas es:

$$c(\vec{r},t+\tau) = c(\vec{r},t) + \frac{\tau}{\Delta^2} \Big\{ h(\vec{r}) \sum_{\vec{r'}}^{NN} \tilde{\alpha_1}(\vec{r'}) c(\vec{r'}) - \tilde{\alpha_1}(\vec{r}) c(\vec{r}) \sum_{\vec{r'}}^{NN} h(\vec{r'}) \Big\}, \qquad (2.9)$$

donde $\tilde{\alpha}_1(\vec{r}) = \tilde{\alpha}\Theta[c(r)P_D - p_1(\vec{r})]$, $\tau \neq \Delta$ son la discretización para el tiempo y el espacio, respectivamente. El segundo término del lado derecho representa la migración celular proveniente de los nodos vecinos, el tercer término corresponde a la migración de células cancerosas desde el nodo actual hacia los nodos vecinos. Las células necróticas son estáticas y no migran, por lo tanto sus concentraciones no varían y $d(\vec{r}, t + \tau) = d(\vec{r}, t)$. De esta manera la concentración de células sanas se calcula por conservación celular por nodo así:

$$h(\vec{r}, t+\tau) = 1 - c(\vec{r}, t+\tau) - d(\vec{r}, t+\tau).$$
(2.10)

La concentración de nutrientes al igual que las poblaciones celulares cambian en cada paso de tiempo. Para un tejido sano libre de cáncer el nutriente libre evoluciona según la ecuación (2.2). Para un tejido conformado por células sanas y cancerosas esta ecuación toma la siguiente forma:

$$p_k(\vec{r}, t+\tau) = p_k(\vec{r}, t) + \tau \left\{ \frac{\alpha_k}{\Delta^2} \sum_{\vec{r'}}^{NN} [p_k(\vec{r'}, t) - p_k(\vec{r}, t)] - \gamma_k p_k(\vec{r}, t) h(\vec{r}, t) - \tilde{\gamma_k}(\vec{r}, t) c(\vec{r}, t) + S_k(\vec{r}, t) \right\}.$$
 (2.11)

En esta ecuación se adiciona la absorción de nutriente por parte de las células cancerosas. Aquí se evidencia la competencia entre las dos poblaciones sanas y cancerosas por el nutriente libre disponible para alimentarse, ya que la tasa de absorción $\tilde{\gamma}_k$ está dada por la ecuación (2.4) y depende directamente de la cantidad de nutriente $p_k(\vec{r})$.

La concentración de nutriente ligado se describe con la ecuación

$$q_{k}(\vec{r},t+\tau) = q_{k}(\vec{r},t) + \tau \Big\{ \tilde{\gamma_{k}}(\vec{r},t)c(\vec{r},t) - \tilde{\beta_{k}}(\vec{r},t)c(\vec{r},t) \\ + \frac{h(\vec{r},t)}{\Delta^{2}} \sum_{\vec{r'}}^{NN} \tilde{\alpha_{k}}(\vec{r'},t)q_{k}(\vec{r'},t) - \frac{\tilde{\alpha_{k}}(\vec{r},t)}{\Delta^{2}}q_{k}(\vec{r},t) \sum_{\vec{r'}}^{NN} h(\vec{r'},t) \Big\}.$$
(2.12)

El primer y segundo término dentro del paréntesis representan la transformación de nutriente libre a ligado y el consumo de nutriente ligado, respectivamente. Los últimos dos términos están relacionados con el nutriente que es transportado por migración celular, donde el tercer término es el nutriente proveniente de los nodos vecinos y el cuarto término es el nutriente que se difunde desde el nodo actual hacia los nodos vecinos.

Este modelo refleja consistencia y validez ya que permite predecir diferentes tasas de crecimiento y morfologías tumorales al variar algunos de sus parámetros. El parámetro $\tilde{\alpha}$ permite regular la movilidad de las células cancerosas, al igual que los parámetros $\gamma_k^{\tilde{a}s}$ y $\beta_k^{\tilde{a}s}$. Si el parámetro $\gamma_k^{\tilde{a}s}$ se hace grande el nutriente libre se consumirá más rápido ocasionando migración celular. Por otro lado si $\beta_k^{\tilde{a}s} < \gamma_k^{\tilde{a}s}$ las células cancerosas aumentan su reproducción ya que disponen de una mayor concentración de nutriente ligado; esto ocasiona una posterior reducción de p_k en la región, lo que origina la migración celular. El desarrollo de este modelo es consecuente con las reglas biológicas que involucran dinámicas de movilidad y crecimiento, en donde las células compiten por espacio y alimento con células de la misma especie, otras especies o demás vecinas. Otra fortaleza del modelo es la capacidad que tiene de predecir tiempos de vida de algunos órganos afectados así como de ofrecer criterios temporales para pronosticar procesos de metástasis, los cuales pueden ser de gran utilidad en la aplicación médica real.

CAPÍTULO 3 INMUNOLOGÍA E INMUNOTERAPIA

Los dos tratamientos anticancerosos de uso más general, la cirugía y la radioterapia, tienen el máximo efecto cuando el cáncer está localizado. Cuando las células cancerosas están diseminadas por todo el cuerpo se necesita de un tratamiento que pueda alcanzarlas y destruirlas, siendo esta la principal ventaja teórica de la quimioterapia. A pesar de que existe un progreso significativo en el uso de la quimioterapia, todos los agentes anticáncer químicos dañan en mayor o menor grado a las células normales. El ataque a tumores cancerosos usando la estimulación del sistema inmunológico se presenta como una cuarta posibilidad en los tratamientos anticáncer. El principal atractivo de la inmunoterapia es la extraordinaria especificidad de las reacciones inmunológicas. Siendo la destrucción de las células cancerosas, caracterizadas por sus antígenos específicos, dirigida específicamente; dejando intactas a las células normales que carecen de tales antígenos. El tratamiento con inmunoterapia se manifiesta como una posibilidad con grandes expectativas cuando los otros recursos se han agotado, o como una primera medida de ataque.

3.1 Sistema inmunológico

El sistema inmunológico es el encargado de proteger los organismos de agentes extraños, sustancias dañinas, microorganismos, toxinas y células malignas. En la realización de esta tarea se involucran procesos moleculares y celulares para la defensa de la integridad biológica del organismo. El sistema inmunológico desarrolla defensas para responder ante patógenos¹, inactivándolos o destruyéndolos completamente, evitando así daños irreparables en tejidos y demás organismos. La mayoría de las respuestas inmunológicas son de limitada duración y restringidas por mecanismos reguladores que previenen posibles excesos en la reacción inmunológica.

Una tarea esencial del sistema inmune es distinguir entre agentes peligrosos que se infiltran, como microorganismos o bacterias tóxicas, y agentes inofensivos o propios. Por ejemplo, si un organismo dañino externo es infiltrado dentro del intestino, se desea la destrucción de las células malignas sin afectar el tejido anfitrión sano donde se encuentra alojada la bacteria. El proceso por el cual el sistema inmunológico evita el desarrollo de alguna reacción destructiva sobre el propio cuerpo

 $^{^{1}}$ Un *patógeno* es una entidad biológica que produce enfermedad en el organismo anfitrión.

está relacionado con una actividad de reconocimiento y regulación denominada tolerancia, bajo la cual el sistema inmune reconoce entre organismos propios y extraños.

La respuesta inmunológica provee una serie de estrategias o barreras de defensa para proteger al organismo ante la presencia o ataque de agentes patógenos. La primera medida de protección contra virus o bacterias está representada por las barreras físicas, como la piel, que evita que penetren en el organismo. Cuando esta protección no es suficiente y los patógenos traspasan estas barreras entra en juego la segunda línea de defensa, el sistema inmune innato, quien proporciona una respuesta inmediata pero no especifica, presente en plantas y animales [26]. Organismos más desarrollados como el cuerpo humano poseen una tercera línea de defensa, el sistema inmune adaptativo, que actúa cuando las dos barreras anteriores no son suficientes; este sistema adapta su respuesta durante la infección mejorando el reconocimiento del agente patógeno. El sistema inmune adaptativo además de poseer una respuesta especifica contra patógenos y antígenos² se caracteriza por no tener un tiempo de respuesta inmediato y por generar memoria inmunológica. Luego que un antígeno tiene contacto con el sistema inmunológico, este último guarda la información necesaria para un reconocimiento posterior del antígeno en cualquier evento futuro, originando así una respuesta especifica y estructurada de aniquilación o neutralización del virus o formación tumoral[27].

3.1.1 Inmunidad no específica

Las defensas del sistema inmune innato no son específicas, lo cual significa que estos sistemas reconocen y responden a los patógenos en una forma genérica. Estas respuestas resultan de procesos generales del organismo pero tienen una importancia relevante para el organismo ya que eliminan una gran cantidad de infecciones. Los mecanismos utilizados por el sistema innato para proteger el organismo de las diversas infecciones se clasifican en barreras mecánicas, químicas y biológicas. El flujo de las lágrimas y la orina hacen parte de las defensas mecánicas, realizando una acción de limpieza al producir el arrastre mecánico de elementos patógenos, así como la acuosidad secretada por el sistema respiratorio y el tracto gastrointestinal que sirve para atrapar microorganismos[28]. Los agentes antibacterianos secretados en la saliva, las lágrimas, la leche materna, las secreciones vaginales y el ácido gástrico entre otros forman parte de las barreras químicas. Las barreras biológicas se encuentran dentro de los tractos genitourinario y gastrointestinal. La flora comensal sirve como barrera biológica compitiendo con las bacterias patógenas por alimento v espacio, reduciendo la probabilidad de que la población de patógenos alcance un número suficiente de individuos y pueda causar enfermedades.

 $^{^2 \} El \ antígeno$ son moléculas presentes en un cuerpo o entidad extraña de un organismo, éste induce la producción de anticuerpos desencadenando la respuesta del sistema inmune

3.1.2 Inmunidad específica

Los procesos en los que la respuesta inmune toma una forma específica están relacionados con las citoquinas ³ específicas presentes en el ambiente. El cuerpo puede decidir de que forma proceder ante la presencia de un patógeno determinado, el cual es recordado por un antígeno característico de ese patógeno en particular. La respuesta inmune adaptativa es específica de los antígenos y requiere el reconocimiento de antígenos que no son propios del organismo durante un proceso llamado presentación de antígenos. El sistema inmune puede lanzar dos tipos de ataques en contra de los agentes infecciosos o células para destruirlas o neutralizarlas; a través de la respuesta inmune humoral o la respuesta inmune celular. La respuesta humoral es un mecanismo de defensa en donde el sistema inmune genera anticuerpos para reconocer y ligar antígenos específicos. La respuesta celular no requiere de una solución de anticuerpos, sino que posee células citotóxicas especializadas pertenecientes a la familia de los linfocitos, las cuales desarrollan células T receptoras (TRC) que reconocen a los antígenos. La migración de las células presentadoras de antígenos a los órganos linfáticos desencadenan primero una respuesta sistemática del sistema inmune y luego una respuesta de memoria. La exclusividad del antígeno permite la generación de respuestas que se adaptan a patógenos específicos o a las células infectadas por patógenos. La habilidad de mantener estas respuestas específicas se sostiene en el organismo gracias a las células de memoria. Si un patógeno infecta a un organismo más de una vez, estas células de memoria desencadenan una respuesta específica para ese patógeno que han reconocido, con el fin de eliminarlo rápidamente.

3.1.3 Linfocitos

Los linfocitos son células producidas dentro de la médula ósea, por las células madre hematopoyética pluripotenciales (CHP), quienes son las responsables de formar todas las células y derivados celulares que circulan por la sangre. Las clases principales de linfocitos son la células B y células T. Las células B están involucradas en la respuesta inmune humoral, mientras que las células T están relacionadas con la respuesta inmune celular.

Los linfocitos T se diferencian de los linfocitos B ya que poseen un receptor especial en la superficie de la membrana llamado receptor de células T o células T receptoras (TRC), que utiliza para reconocer los antígenos presentes en los patógenos. Estos antígenos son presentados a los linfocitos T por una molécula del complejo

 $^{^3}$ Las *Citoquinas* son proteínas producidas principalmente por las células del sistema inmune. Son las encargadas de iniciar y mantener la respuesta inmune; modulando la efectividad y cantidad de eventos activados, necesarios, para reconocer entidades extrañas o infectadas regulando su destrucción y eliminación.

mayor de histocompatibilidad (CMH) 4 . Hay dos subtipos principales de células T; las células T asesinas y las células T colaboradoras o ayudantes. Las células T asesinas solo reconocen antígenos acoplados a moléculas del CMH de clase I, mientras que las células T colaboradoras sólo reconocen antígenos acoplados a moléculas del CMH de clase II, mientras del CMH de clase II[29].

Los linfocitos B son células especializadas en la producción de anticuerpos. Los linfocitos B maduros circulan por la sangre y el sistema linfático en busca de patógenos. Cuando los anticuerpos de su superficie se unen a los antígenos específicos de estos patógenos, la combinación de antígeno-anticuerpo pasa al interior del linfocito B donde es procesado por proteolisis y descompuesto en péptidos. El linfocito B muestra entonces estos antígenos peptídicos en su superficie unidos a moléculas del CMH de clase II. Esta combinación de CMH con antígeno atrae a un linfocito T colaborador que tiene receptores complementarios de ese complejo CMH con antígeno. La célula T libera entonces linfoquinas, que es el tipo de citoquinas producido por los linfocitos, activando así al linfocito B.

3.2 Inmunología tumoral

La cura del cáncer requiere que todas las células malignas sean removidas o destruidas dentro del tejido afectado. El inducir el sistema inmune en contra de los tumores, requiere la discriminación entre las células buenas y las malas del organismo dañado. Aproximaciones al tratamiento inmunológico han sido desarrolladas en las ultimas décadas con resultados en algunos casos poco sostenibles. Experimentos con animales, sin embargo, han proporcionado respuesta inmune a tumores y han mostrado, por ejemplo, que las células T son un mediador crítico de la inmunidad al tumor. Los más recientes avances en la comprensión de la presentación de antígenos que involucra la activación de células T han proporcionado nuevas estrategias inmunológicas basadas en una mejora en la activación de la respuesta inmune. Éxitos como estos son mostrados en investigaciones con ratones [30] y se realizan pruebas y estudios con aplicación a humanos [8, 31].

Múltiples investigaciones muestran pruebas con ratones, a los cuales se les induce una formación cancerígena de tumores ya sea por inoculación con químicos carcinógenos o la exposición a radiaciones excesivas. Estos tumores son luego trasplantados a otros ratones, portando moléculas con un CMH característico del ratón que provienen, estas moléculas foráneas son fácilmente reconocidas y eliminadas por el sistema inmune del nuevo ratón anfitrión. Este tipo de experimentos han dejado resultados claves a cerca de la respuesta inmunológica a tumores,

 $^{^4}$ El *CMH* sirve para la presentación de antígenos a los linfocitos T, que lo reconocen mediante TCR, permitiendo la identificación de las moléculas propias de las extrañas, las moléculas del CMH procesan los antígenos del interior de las células y los trasportan al exterior para ser reconocidas por las células T.

mostrando que los efectos de protección tumoral están directamente ligados con la eficiencia de los organismos en el porte de células T.

Las células cancerosas pueden evadir la detección inmune por supresión de las células o antígenos expresados en la superficie del tumor. El desarrollo de muchos cánceres humanos no es bloqueado satisfactoriamente por los mecanismos de defensa inmunológica. El hecho que el sistema inmunológico humano falle en el uso de los linfocitos y otros armas en su tarea de defensa y ataque inmunológico contra tumores, está relacionado con que algunos tumores humanos son poco antigénicos y por tanto no son fácilmente identificados y eliminados por el sistema inmune normal. Existen también formaciones tumorales que presentan una alta expresión de antígenos y son rápidamente percibidas por el organismo inmunológico, que las elimina eficazmente. Estos tumores son raramente identificables clinicamente dentro del cuerpo humano por su rápida detección inmunológica. Algunas otras formaciones tumorales comienzan probablemente antigénicas pero luego solo expresan proteínas tolerables por el sistema inmune, estos tumores prosperan y se convierten en aparentes clínicamente. Otra posibilidad es que algunos cánceres inicialmente antigénicos pueden sufrir un severo desgaste por ataque de una u otra arma del sistema inmune, pero hallan la manera de escapar a la eliminación, lo que se conoce como estrategias de inmunoevasión. Células como éstas pueden luego prosperar y crear tumores que generan gran crecimiento. Este mecanismo utilizado por los tumores cancerosos ha sido observado con gran frecuencia en la historia de la mayoría de cánceres humanos, en donde la evolución de las células cancerosas permite desarrollar estrategias de evasión al ataque inmune.

Las células cancerosas pueden protegerse del ataque mediado por las células NK, pertenecientes al sistema inmunológico, mediante la inhibición de proteínas. Las células NK tienen la capacidad de intensificar el reconocimiento del cáncer de dos formas: ellas sienten cualquier ausencia de proteínas de CMH clase I, o la presencia de una o más proteínas asociadas al estrés⁵ en la superficie de las células cancerosas. Cuando las dos condiciones se satisfacen, la muerte de las células cancerosas es mucho más eficiente que la muerte de células que satisfacen solo una de estas condiciones. Otra estrategia para evadir a las células NK, se encuentra cuando en la metástasis de la células cancerosas éstas evitan ser emboscadas por las células NK. Cuando las células cancerosas tienen contacto directo con la sangre rápidamente adquieren una capa de plaquetas adheridas, conformando una aleación biológica denominada microthrombi, esta capa evita el desgaste que produce el ataque de las células NK. Las células cancerosas también pueden modificar su resistencia intrínseca para resistir las diferentes acciones del sistema inmune. Estas células pueden alterar su propia bioquímica para hacerse inherentemente menos receptivas a los ataques inmunológicos. Este tipo de defensa es observada en algunas células cancerígenas que

⁵ las proteínas asociadas al estrés aparecen cuando las células sufren ciertos esfuerzos fisiológicos debidos a malformaciones

se convierten en resistentes a una molécula expresada por los linfocitos citotóxicos, la molecula Fas-ligando⁶ (FasL), alterando las vías de señalización que produce el Fas receptor de las células del tumor. Algunas otras células cancerosas desarrollan la capacidad de atraer células reguladoras T para resistir el ataque de otros linfocitos. Regularmente estas células atraídas son las células reguladoras T ($T_{reg}S$), que son un tipo de linfocito que tiene la capacidad de inhibir y matar células citotóxicas y linfocitos T ayudantes que reconocen el mismo tipo de antígeno que estas células T_{reg} . De esta manera las células cancerosas se hacen resistentes a las células $T_{reg}S$ y las utilizan como barrera de defensa en contra de sus propias compañeras inmunológicas. Las estrategias evasivas usadas por las células de cáncer se pueden resumir en: ocultar la identidad represando los antígenos tumorales, ocultarse en sitios inmunológicamente inactivos, evitar la apoptosis⁷, inducir la apoptosis de immunocitos y neutralizar toxinas intracelulares.

3.2.1 Estrategias terapéuticas

Las alternativas de estrategias terapéuticas existentes actualmente involucran varias formas de inmunoterapia. La idea principal es usar factores inmunoestimuladores que pueden incitar el desarrollo y proliferación de inmunocitos capaces de lanzar ataques efectivos. El uso de las distintas formas de terapia implica que el sistema inmune de los pacientes tratados sea incapaz de mantener una efectiva defensa inmune luego que la estimulación terapéutica es aplicada; además, involucra el suministrar al paciente dosis de producto inmune (anticuerpos) o células originadas en el sistema inmune de otros organismos. Cuando las células son proporcionadas desde el sistema inmune de otro individuo, se denomina transferencia adoptiva y cuando se introducen anticuerpos dentro de un paciente por inoculación se llama inmunización pasiva. A continuación se describen algunos tipos de tratamiento terapéutico utilizados actualmente.

Inmunización con Herceptin: Es el tratamiento de inmunización pasiva más conocido y está basado en el uso de anticuerpos monoclonales. El Herceptin es un anticuerpo producido en ratones, este anticuerpo es modificado sustituyendo secuencialmente porciones de la región variable del anticuerpo, que es sacado y combinado con antígenos, produciendo la humanización de este anticuerpo para su uso en humanos. El uso de anticuerpos de Herceptin ha tenido notables resultados en el tratamiento del cáncer de mama. El Herceptin es raramente usado por si solo, normalmente es aplicado en combinación de estabilizadores quimioterapéuticos.

 $^{^{6}}$ La FasL es una molécula que los linfocitos citotoxicos expresan en su membrana. Las moléculas de FasL son capaces de inducir apoptosis en las células diana (células cancerígenas) que expresen Fas como receptor.

⁷ La *apoptosis* es el término utilizado para referirse a las órdenes bioquímicas y a cambios físicos en una célula durante una específica forma de muerte celular programada.

Estudios clínicos realizados muestran que la adición de Herceptin con tratamientos estándar de quimioterapia para mujeres con cáncer de mama avanzado dieron como resultado alargar el tiempo de progresión de la enfermedad (7.4 meses con tratamiento contra 4.6 meses sin tratamiento) y una baja en la tasa de muertes en un año(de 33% paso a 22%) [8].

Inmunización para tratar tumores con células B: Ésta radica en clonar un tumor para crear anticuerpos, denominados anti-idiotipos, específicos que reconozcan los antígenos característicos que expresan las células B malignas del tumor clonado. Luego de originar estos anticuerpos por procesos secuenciales de manipulación molecular, se aplican inyecciones con los anticuerpos monoclonales clonados en el paciente. Esta estrategia terapéutica fue altamente atractiva, ya que es bastante selectiva, puesto que los anticuerpos *anti-idiotipos* reconocen solo las células tumorales del paciente y no reconocen otros anticuerpos moleculares expresados por cualquier otra clonación del sistema inmune del paciente. El tumor de cada paciente tiene células únicas y características que expresan un único idiotipo, ya que todas las células B de un tumor crecen de una célula única B sin mencionar otros factores que producen la exclusividad celular. Debido a esta serie de particularidades exclusivas esta estrategia terapéutica no fue muy sostenible por los enormes costos asociados a la producción de anticuerpos antitumorales exclusivos para cada paciente.

Transferencia adoptiva: Está basada en la transferencia de células desde el sistema inmune de otro individuo. Pruebas recientes de transferencia de células T después de un tratamiento quimioterapéutico llamado *lympho-depleting*, que las hace más eficientes, demostraron la regresión de tumores grandes vascularizados en pacientes con melanoma refractario; 18 de 35 pacientes tratados con linfocitos reactivos al tumor experimentaron una respuesta clínica objetiva (reducción de 50% del tumor). En algunos pacientes, la regresión del tumor tuvo que ser acompañada por un largo periodo de tratamiento con administración de linfocitos antitumorales muchos meses después de la transferencia. El éxito de este tratamiento probablemente resultó de la habilidad para infundir numerosas cantidades de linfocitos antitumor activados, en un apropiado ambiente homeostático del anfitrión quien portaba deficiencia de células T reguladoras[30].

Terapia con células asesinas: En esta terapia se extraen algunos de los propios linfocitos de un paciente con cáncer. En el laboratorio, los linfocitos se exponen a una sustancia llamada interleucina-2, que es un factor de crecimiento del linfocito-T, para crear células asesinas activadas por la linfoquina, las cuales son inyectadas nuevamente en la persona por vía intravenosa. Estas células tienen mayor capacidad que las células naturales del cuerpo para detectar y destruir las células cancerosas.

La terapia humoral: Consiste en promover al organismo a producir anticuerpos. Sustancias como los extractos de bacterias de la tuberculosis debilitadas (atenuadas), que se sabe aumentan la respuesta inmune, han sido probadas en algunos cánceres. Inyectando las bacterias de la tuberculosis directamente en un melanoma casi siempre se produce un retroceso del cáncer. Algunas otras propuestas experimental consisten en unir los anticuerpos específicos contra el tumor con los fármacos anticancerosos. De este modo, los anticuerpos, sintetizados en el laboratorio e inyectados a una persona, guían a los fármacos hasta las células cancerosas. Por otra
parte, otros anticuerpos creados en el laboratorio pueden adherirse a la vez a las células cancerosas y a los linfocitos asesinos, lo que lleva a la destrucción de la célula cancerosa.

Vacunas con células dendríticas: La optimización de las células dendríticas se desarrolla en laboratorios a través de la repotenciación in vitro de estas células con una colección variada de péptidos, antígenos, ácido desoxirribonucleico y ácido ribonucleico para hacerlas más eficientes. Este tratamiento ha tenido un éxito relativo, y las pruebas clínicas muestran una estimulación a la respuesta de los linfocitos T citotóxicos, pero estos han fallado en el control del crecimiento del tumor. El procedimiento es específico en pacientes y requiere de un equipo técnicamente experto que genere la vacuna. Un enfoque alternativo es lograr la misma meta en vivo, es decir inmunizando al paciente con la formulación de antígenos del mismo blanco, lo cual le proporcionara los antígenos específicos a las células dendríticas y las dirigiría hacia el blanco particular [30].

Tratamiento con citoquinas: Esta terapia es una de las más usadas y consiste en modificar la respuestas biológica natural introduciendo una dosis de citoquinas con una inyección bajo la piel, usualmente bajo la pierna o en el abdomen. Las citoquinas normalmente tienen una vida corta y se encuentran en cantidades muy pequeñas en nuestros cuerpos. La finalidad del tratamiento consiste en aumentar la concentración de citoquinas en el sistema de tal forma que los eventos inmunológicos en contra de entidades extrañas sean más prolongados y efectivos. Las citoquinas más utilizadas comúnmente para tratar el cáncer son *interleuquina-2* e *interferón alfa*. Su efectividad depende del tipo del cáncer y pueden presentan efectos secundarios si son usados en dosis altas. En este trabajo se supone un tratamiento biológico con esta terapia con citoquinas, implementándola mediante una dosificación periódica.

Una gran cantidad de antígenos asociados a tumores han sido identificados, algunos han sido utilizados para generar vacunas, las cuales se han empleado para realizar pruebas clínicas. Muchos pacientes vacunados no han mostrado aumento en la respuesta antitumoral, en algunos casos se presentó de forma lenta y no se logro frenar la progresión del tumor, entre otros. A pesar de los diversos resultados, algunos óptimos, en los avances acerca de este tema desde los diversos enfoques inmunoterapéuticos realizados, aún no se tienen tratamientos que sean cien por ciento efectivos y las investigaciones en los tratamientos de inmunoterapia como una alternativa de cura ante el cáncer siguen en proceso.

3.3 Modelado de la inmunoterapia

La complejidad del funcionamiento del sistema inmunológico al igual que su interacción con tratamientos inmunes, han dado lugar al estudio de modelos matemáticos que buscan describir el comportamiento de esta interacción y la repuesta inmunológica ante la presencia de tumores [25]. En los modelos matemáticos propuestos para tratar de describir la respuesta inmunológica contra tumores, se encuentra que en algunos de ellos no se presenta un tratamiento espacial adecuado a la realidad o no se efectúan suposiciones correctas sobre la localización de los linfocitos [20], en el crecimiento de tumores. En este trabajo se propone un modelo que considera la relación espacio temporal del crecimiento de un tumor y su interacción con el sistema inmune. Como se explicó en el capítulo 2, se plantea un modelo que describe la evolución competitiva de dos o más especies celulares por alimento, se adiciona a esto la interacción entre el tumor y un agente terapéutico, los linfocitos. Se asume que la células cancerosas pueden ser atacadas por linfocitos que ingresan al tejido afectado a través del sistema circulatorio y que son guiados quimiotácticamente ⁸ hacia donde está el tumor. La guía para los linfocitos es proporcionada por una molécula mensajera, el antígeno, generada por las mismas células cancerosas. Algunas investigaciones experimentales muestran que la actividad efectiva de los linfocitos cuando entran en contacto con la región afectada, se manifiesta principalmente en la región superficial del tumor [22].

3.3.1 Modelo matemático

La reacción del sistema inmunológico como respuesta al crecimiento tumoral involucra la interacción entre tres especies: linfocitos, células cancerosas y mensajeros. Para el modelaje de esta interacción, se supone que los linfocitos se difunden dentro del tejido afectado hacia las células cancerosas. Esta difusión sigue unas reglas determinadas y acorde con ellas se plantea un modelo espacio temporal que describe la interacción entre el tumor y el sistema inmunológico. Se implementan así las siguientes reglas:

1. Generación y Absorción de Mensajeros: Las células cancerígenas generan mensajeros moleculares que se difunden en el tejido. Estas moléculas se degeneran y tienen un tiempo de vida medio τ_v . Esta señal mueve a los linfocitos en dirección del gradiente de la concentración de mensajeros. La concentración de mensajeros $v(\vec{r}, t)$ evoluciona de acuerdo a la ecuación diferencial

$$\frac{\partial \upsilon(\vec{r},t)}{\partial t} = -\frac{\upsilon(\vec{r},t)}{\tau_{\upsilon}} + \alpha_{\upsilon} \nabla^2 \upsilon(\vec{r},t) - G\upsilon(\vec{r},t)L(\vec{r},t) + Kc(\vec{r},t), \qquad (3.1)$$

donde α_v es el coeficiente de difusión de los mensajeros, $L(\vec{r}, t)$ es la concentración de linfocitos y G es el coeficiente de mensajeros netos absorbidos por linfocitos, este coeficiente es proporcional al número de mensajeros ligados por cada linfocito. El último término corresponde a la fuente de generación de mensajeros, la cual está representada por las células cancerígenas; de esta manera se supondrá que este término es proporcional a la concentración local de células cancerígenas, donde K es la razón de generación de mensajeros. la discretización de esta ecuación da como

⁸ *Quimiotaxis* es un fenómeno en el cual las células de un organismo dirigen sus movimientos de acuerdo a ciertas sustancias químicas en su medio ambiente, dirigiéndose o alejándose del agente productor del factor quimiotáctico, en este caso el antígeno.

resultado:

$$\upsilon(\vec{r}, t+\tau) = \upsilon(\vec{r}, t) [1 - \frac{\tau}{\tau_{\upsilon}}] + \tau \Big\{ \frac{\alpha_{\upsilon}}{\Delta^2} \sum_{\vec{r'}} [\upsilon(\vec{r'}, t) - \upsilon(\vec{r}, t)] + Kc(\vec{r}, t) - G\upsilon(\vec{r}, t)L(\vec{r}, t) \Big\}.$$
 (3.2)

Aquí τ y Δ representan la discretización en el tiempo y el espacio, respectivamente.

2. Migración de linfocitos: Una concentración de linfocitos $L(\vec{r}, t)$ ingresa en el tejido a través del sistema circulatorio y se difunde bajo influencia de los mensajeros moleculares, con un coeficiente de difusión α_v . La concentración de linfocitos satisface la ecuación:

$$\frac{\partial L(\vec{r},t)}{\partial t} = -\frac{L(\vec{r},t)}{\tau_L} + \alpha_L \nabla^2 L(\vec{r},t) - \chi \nabla \cdot [L(\vec{r},t) \nabla \upsilon(\vec{r},t)], \qquad (3.3)$$

aquí τ_L es el tiempo de vida medio de los linfocitos y χ es el coeficiente quimiotáctico. La discretización de esta ecuación es entonces:

$$L(\vec{r},t+\tau) = L(\vec{r},t)[1-\frac{\tau}{\tau_L}] + \frac{\tau}{\Delta^2} \Big\{ \alpha_L \sum_{\vec{r'}} [L(\vec{r'},t) - L(\vec{r},t)] - \chi \Big[L \sum_{\vec{r'}} [\upsilon(\vec{r'},t) - \upsilon(\vec{r},t)] + \frac{1}{4} \Big\{ \sum_{\vec{r'}} L(\vec{r'},t)\upsilon(\vec{r'},t) - L_{i+1,j}\upsilon_{i-1,j} - L_{i-1,j}\upsilon_{i+1,j} - L_{i,j+1}\upsilon_{i,j-1} - L_{i,j-1}\upsilon_{i,j+1} \Big\} \Big] \Big\}.$$
(3.4)

Se tiene en cuenta que cada punto nodal de la red está definido como $\vec{r} = (i, j)$

3. Ataque de linfocitos: Las células cancerosas son eliminadas por la acción de los linfocitos. La tasa de aniquilación de células cancerosas se puede describir mediante la ecuación:

$$\frac{\partial c(\vec{r},t)}{\partial t} = -bL(\vec{r},t)c(\vec{r},t), \qquad (3.5)$$

el término b caracteriza la eficiencia de linfocitos.

4. Terapia con linfocitos: La terapia radica en estimular la acción del sistema inmune. Se implementa un tratamiento con citoquinas que incrementa el número de linfocitos que ingresan al tejido afectado. Si L_{00} es la concentración de linfocitos en ausencia de terapia, se supone entonces que la acción terapéutica es periódica y se inicia en el paso t = 500. Se propone usar una dosis periódica de citoquinas; para tal fin se implementará la adición de una función periódica f(t) que imitará la dosis periódica. Se proponen cinco tipos de funciones periódicas f(t) para evaluar



Figura 3–1: Esquema de las funciones. Se muestra la forma de cada una de las cinco funciones incorporadas para la terapia.

la efectividad del tratamiento, figura 3–1, variando la dosificación y los periodos de aplicación. La funciones propuestas son:

Función periódica de la forma coseno $f_1(t)$:

$$f_1(t) = F \cos^2 \omega t. \tag{3.6}$$

AquíFrepresenta la dosis y ω es la frecuencia para el tratamiento periódico de citoquinas dentro del cuerpo.

Función periódica diente de sierra $f_2(t)$:

$$f_2(t) = F\left(\frac{t}{T} - \lfloor \frac{t}{T} \rfloor\right),\tag{3.7}$$

donde T representa es el periodo entre cada dosis de citoquinas.

Función pulso cuadrado $f_3(t)$

$$f_3(t) = \begin{cases} F & \text{si } F \sin \omega t > 0, \\ 0 & \text{si } F \sin \omega t < 0. \end{cases}$$
(3.8)

Función periódica creciente lineal - decreciente exponente natural $f_4(t)$:

$$f_4(t) = \begin{cases} \frac{2F}{T}t' & \text{si } F \sin \omega t > 0, \text{ con } t' = mod(t, \frac{T}{2}), \\ A \exp(-\frac{a}{T}t') & \text{si } F \sin \omega t < 0, \text{ con } t' = mod(t, \frac{T}{2}), a \in Z, \end{cases}$$
(3.9)

donde *mod* es la función modulo.

Función periódica creciente inversa exponencial - decreciente exponente natural $f_5(t)$

$$f_5(t) = \begin{cases} A(1 - \exp(-\frac{a}{T}t')) & \text{si } F \sin \omega t > 0, \text{ con } t' = mod(t, \frac{T}{2}), a \in Z, \\ A \exp(-\frac{a}{T}t') & \text{si } F \sin \omega t < 0, \text{ con } t' = mod(t, \frac{T}{2}), a \in Z. \end{cases}$$
(3.10)

De esta manera la ecuación para la salida de linfocitos desde la vena estará dada por:

$$L_0(t) = L_{00} + f(t). ag{3.11}$$

4. **Bloqueo:** Las células cancerígenas no pueden penetrar regiones donde la concentración local de linfocitos excede el umbral Θ_p . De esta forma se controla que la difusión de las células esté restringida a regiones del tejido donde la acción de los linfocitos aún sea baja.

CAPÍTULO 4 ANÁLISIS Y RESULTADOS

En este capítulo se procederá a mostrar la metodología y el análisis desarrollados durante la realización de las simulaciones computacionales. Se discutirá la validez del modelo utilizado, argumentando su solidez desde la variación de los parámetros estructurales y funcionales que rigen la evolución del crecimiento tumoral modelado. Se muestran resultados de simulaciones para crecimiento tumoral de acuerdo al modelo utilizado [19]. Se modela y describe la evolución de tumores bajo la acción natural del sistema inmune, que ataca al tumor, a través de una respuesta inmunológica con linfocitos. Seguido a esto se presenta el comportamiento de tumores cancerosos adicionando terapia biológica, utilizando una dosificación periódica con citoquinas. Finalmente se modela el crecimiento de un tumor bajo la implementación de un tratamiento inmunoterapéutico en el cual se tiene en cuenta la acción del sistema inmune, la inclusión de la terapia y el bloqueo con linfocitos.

4.1 Crecimiento tumoral

De acuerdo con lo desarrollado por Scalerandi y colaboradores se supone una región de tejido representada por una red cuadrada de 100 × 100 nodos. En el borde inferior a lo largo de esta red se encuentra ubicado un vaso sanguíneo que representa la fuente de nutrientes libres, en este caso se considera la glucosa como único nutriente libre. La distribución de nutriente sobre todo el vaso se supone constante para todo tiempo t, de tal manera que $p(\vec{r'};t) = P_0$, donde $\vec{r'}$ representa la posición de este vaso sanguíneo en el borde inferior de la red, $\vec{r'} = (i, 0)$. Se supondrán condiciones de frontera periódicas para los lados derecho e izquierdo de la red, y absorbentes para el borde superior. Inicialmente, se considera un tejido completamente sano, es decir, no existen células cancerosas. Por lo tanto para determinar la distribución de nutrientes $p(\vec{r}, 0)$, cuando t = 0, en los nodos de la red con $\vec{r} = (i, j)$, se propone utilizar la solución estacionaria de la ecuación diferencial (2.1). Reescribiendo esta ecuación para la difusividad desde la vena hacia el tejido de abajo hacia arriba será:

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

Para este caso $y = \Delta j$, donde Δ es la distancia entre los nodos, y la concentración de nutriente en la vena $p((i, 0); t) = P_0$. La solución en estado estacionario de esta ecuación continua es

$$p(y) = P_0 exp(-Dy), \tag{4.2}$$

donde $D = \sqrt{\gamma/\alpha}$. La discretización para esta solución propuesta en el modelo [19] es $p((i, j); 0) = P_0 exp(-\Delta j D)$, donde *j* corre sobre todos los nodos del tejido. Se ve fácilmente que la solución es estacionaria ya que no depende del tiempo. Considerando que la frontera es colocada suficientemente lejos de la región de interés, que es la parte central de la red, se puede adoptar esta solución como una buena aproximación para la distribución de nutrientes en una red finita.

Consideraremos una red de tejido de $1cm \times 1cm$. La red se selecciona pequeña ya que se debe garantizar mantener el tejido dotado de los nutrientes y oxígeno necesarios para que las células puedan desarrollar sus funciones biológicas básicas. El diámetro promedio de las células de los mamíferos es aproximadamente de $10\mu m$. Teniendo en cuenta que el modelo utilizado esta basado en concentraciones celulares resulta apropiado suponer la red del tejido de 100×100 nodos. Así cada nodo tendrá una dimensión de $100\mu m \times 100\mu m$. Considerando el tamaño celular cada nodo contendrá 100 células. La discretización espacial estará dada por $\Delta = 100\mu m$. Para la discretización temporal se debe garantizar la estabilidad de la red de acuerdo con $\tau \leq \frac{\Delta^2}{2}$ para no tener problemas en la discretización de las derivadas y al igual que [23] se supone que $\Delta t = 8h$, es decir que 3 pasos de simulación corresponden a un día o que t = 1000 pasos corresponden aproximadamente a un año de tiempo real. Donde este es un valor estimado para un correspondiente crecimiento cancerígeno cercano a los 5 años para producirse la intravasación.

Establecidas las condiciones iniciales y de frontera para el nutriente libre y la red, se inició la simulación numérica para el crecimiento de un tumor canceroso introduciendo una semilla de cáncer, que porta su propio nutriente ligado, en el centro del tejido. Las condiciones de contorno para las células cancerosas que se difunden a través del tejido son las mismas que para el nutriente libre en los lados y en el borde superior del tejido, pero se adiciona una condición de borde absorbente para la parte inferior de la red, donde se encuentra el vaso sanguíneo. Las células cancerosas pueden traspasar totalmente al vaso penetrando en éste y difundiéndose en el torrente sanguíneo.

Para iniciar el análisis de las simulaciones realizadas se presenta a continuación la evolución de un tumor de acuerdo a los parámetros iniciales propuestos por [19]. La figura 4–1 muestra el comportamiento de las células cancerosas para el crecimiento de un tumor. Se observa como a partir de una semilla en el centro de la red se genera un crecimiento isotrópico y simétrico de un tumor canceroso. El crecimiento del tumor está orientado hacia la parte inferior de la red donde se encuentra ubicada la vena y se observa en el tumor una simetría axial con respecto a la vertical del centro de la red.

Los colores que se muestran en estas imágenes representan las concentraciones de la población de células cancerosas y su dinámica dentro del crecimiento tumoral.



Figura 4–1: Morfología del crecimiento de células cancerosas. Tumor en diferentes iteraciones de tiempo para $\tilde{\alpha} = 0.1$, $\beta_k^{\tilde{a}s} = 0.08$, $\gamma_k^{\tilde{a}s} = 0.52$ y $P_0 = 0.7$, parámetros tomados de Scalerandi y su grupo [19]. Los colores representan la concentración de células cancerosas de acuerdo a la escala, mayor concentración cancerosa color rojo disminuyendo la densidad hacia el color azul.

Tabla 4-1: Parámetros seleccionados para el crecimiento del tumor

P_0	c_0	q_0	α	γ	$\tilde{\gamma}$	$ ilde{eta}$	$\tilde{\alpha}$	Q_D	P_D	Q_M	r	r'
0.7	0.2	0.01	0.25	0.0002	0.52	0.08	0.1	0.057	0.4	0.3	0.2	0.25

Esta actividad se visualiza en las gráficas teniendo en cuenta que las regiones de mayor densidad son dibujadas en color rojo, disminuyendo la concentración de células cancerosas hacia los colores naranja, amarillo, verde y finalmente azul, en donde la densidad es menor, como se evidencia en la barra de colores que acompaña la gráfica.

El tumor inicia como una masa uniforme y concentrada, la cual presenta una baja densidad de células cancerosas (azul) en la región superior, la actividad cancerosa aumenta hacia la parte baja del tumor, región azul claro, en dirección a la vena. En estas imágenes se muestra como luego de la iteración t = 1600 aproximadamente se genera una zona denominada núcleo necrótico, región azul oscuro, ubicada en la parte central y caracterizada por contener las células muertas del tumor. Estas células son originadas a partir de las cancerígenas que no se pueden reproducir o mueren por falta de alimento y espacio.

La figura 4–2 muestra el comportamiento de la concentración de células muertas. Se aprecia en estas imágenes como este crecimiento se origina desde la parte central y se expande de forma maciza hacia el exterior, generando lo que anteriormente se denominó núcleo necrótico. En la iteración t = 5000 es fácil notar como cuando el tumor está en la zona más cercana a la vena la densidad de células muertas es mayor (color rojo). La razón de este aumento se debe a que en esa región la densidad de células cancerígenas es mayor y por lo tanto al producirse mitosis o muerte celular las respectivas poblaciones, cancerosas o muertas, aumentaran más que en el resto del tumor. Este núcleo mantiene su simetría axial en su forma y presenta un gradiente para la densidad de población cancerosa dirigido hacia la vena. Es importante notar que las simulaciones muestran una aparición de células muertas solamente en la región central del tumor. Este comportamiento se da porque la actividad celular, como consumo de nutrientes y búsqueda de espacio, se desarrolla principalmente en la periferia del tumor que es la zona más agresiva [22, 32]. Las células que van quedando en la parte interna comienzan a morir por falta de condiciones suficientes para cumplir sus funciones vitales.



Figura 4–2: Morfología de las células muertas. Para el crecimiento de un tumor sin tratamiento, la región azul oscuro esta completamente sana y los colores rojos, amarillos y azules claros representan las regiones más muertas del tumor, $\tilde{\alpha} = 0.1$, $\beta_k^{\tilde{\alpha}s} = 0.08$, $\gamma_k^{\tilde{\alpha}s} = 0.52$ y $P_0 = 0.7$.

La tercera población correspondiente a las células sanas, es representada en la figura 4–3. En estas imágenes se supone que toda la red es inicialmente una región de tejido completamente sano, lo cual seria un malla totalmente roja. Luego de colocar la semilla en el centro en t = 0 y que el proceso de crecimiento del tumor comience su desarrollo de acuerdo al modelo propuesto, se encuentra un comportamiento como el representado en estas imágenes. Se evidencia una estructura que obedece en su forma y geometría a la superposición de las poblaciones de células cancerosas y muertas conjuntamente, figuras 4-1 y 4-2, respectivamente. Se observa en la simetría un cinturón interno que rodea el núcleo necrótico y lo separa de la zona exterior del tumor, reflejando así una mayor concentración de células sanas en este cinturón. Se puede apreciar una discontinuidad entre las poblaciones que están en el interior y exterior del núcleo. De tal manera que en el anillo exterior donde están creciendo las células cancerígenas y en la región interna de células muertas se muestra una densidad de células sanas que se expande en igual proporción, menor densidad de células sanas hacia la vena, pero se separa el centro y el anillo por un notorio borde con mayor población de células sanas.

Como primer paso en la prueba para la validación del modelo utilizado se realizó el análisis de los efectos producidos por la variación de los parámetros que rigen la



Figura 4–3: Morfología de las células sanas. Crecimiento de un tumor sin tratamiento, la región roja representa lo más saludable del tejido, $\tilde{\alpha} = 0.1$, $\beta_k^{\tilde{a}s} = 0.08$, $\gamma_k^{\tilde{a}s} = 0.52$ y $P_0 = 0.7$.

evolución temporal y espacial del tumor. Se encontraron resultados que mostraban una gran variedad de tasas y morfologías de crecimiento. Los factores determinantes que caracterizan la evolución y crecimiento tumoral están relacionados con la capacidad de difusión y movilidad celular $\tilde{\alpha}$, la disponibilidad de nutriente libre P_0 y los parámetros que regulan la absorción y el consumo de nutrientes libres $\tilde{\gamma}_k^{\tilde{a}s}$ y $\tilde{\beta}_k^{\tilde{a}s}$, respectivamente.

La difusividad de las células cancerosas $\tilde{\alpha}$ afecta la forma que adquiere el tumor en su crecimiento, como se observa en la figura 4–4. Se seleccionaron distintos tiempos en las simulaciones para mostrar la morfología tumoral generada antes de tocar la vena. Cuando la migración $\tilde{\alpha}$ es alta se observa que el tumor crece rápidamente adquiriendo una forma simétrica, aproximadamente circular, con un centro necrótico pequeño comparado con el tamaño del tumor. Si $\tilde{\alpha}$ es grande, las células cancerosas migran más rápido de lo que se mueren y por ello el tumor se expande rápidamente hacia fuera, mientras que el centro necrótico crece más lento. Las células cancerosas están más regadas en el tejido, con una mayor densidad de población en los lugares cerca de la vena. Al migrar la células cancerosas parecen ubicarse de tal manera que se reparten más eficientemente el nutriente. Si la difusividad celular $\tilde{\alpha}$ disminuye, la morfología celular deja de ser isotrópica. El crecimiento es lento y mantiene una simetría axial con respecto al centro de la red, las células se difunden preferentemente en dirección a la vena pero con mayor dificultad. El comportamiento adquirido por el tumor deja ver que las células cancerosas compiten entre ellas y con las sanas de forma poco eficiente y solo algunas logran dirigirse hacia la fuente de nutrientes. En este caso las que están más cerca de la fuente logran más éxito de reproducción y avance. La región interna del tumor muestra un núcleo necrótico más grande, con una alta concentración celular muerta, que no logra satisfacer los niveles mínimos de alimento y espacio, debido a la poca movilidad de las células cancerosas ocasionado un rápido deceso celular.

En la figura 4–5 se muestra la concentración promedio de células cancerosas para diferentes valores de $\tilde{\alpha}$, se observa claramente el aumento celular cuando la difusividad celular es mayor. En las gráficas se ve que el comportamiento de la población promedio crece a medida que el tumor se acerca al borde inferior hasta alcanzar un valor máximo antes de tocar la vena, cuando las células cancerosas ingresan en el vaso sanguíneo se produce una disminución en la población debido a las células que escapan al torrente sanguíneo. En este punto de la simulación, cuando gran parte del tumor está cerca de la vena, la disponibilidad de nutrientes es alta y se favorece la reproducción celular ocasionando un nuevo aumento de población cancerosa generando el segundo pico en la gráfica. El tumor sigue en constante crecimiento con la mayoría de células cancerosas difundiéndose a la vena y el centro necrótico en aumento lo cual produce una disminución de población existente en el tejido. La curva verde para $\tilde{\alpha} = 1.0$ deja ver que si $\tilde{\alpha}$ es grande los eventos son tan rápidos en la llegada a la vena, que no se pueden diferenciar muy bien los dos picos de la gráfica.



Figura 4–4: Morfología tumoral para las células cancerosas. Visualización variando $\tilde{\alpha}$ muestra como el cambio en el coeficiente de migración afecta la morfología del tumor.



Figura 4–5: Concentración promedio de células cancerosas. La población cambia de acuerdo a la movilidad celular $\tilde{\alpha}$, el primer pico representa la llegada del tumor a la vena.

Se realizó el análisis de la dependencia del crecimiento canceroso con respecto a la tasa de absorción de nutriente de las células cancerosas $\tilde{\gamma}_k^{as}$. Si esta tasa de absorción se hace grande el nutriente libre se consumirá más rápido ocasionando migración celular. Si la tasa es baja el umbral de mitosis pocas veces se logra alcanzar, lo cual evidencia un crecimiento lento. En la figura 4–6 se muestran algunas imágenes de la morfología para los casos considerados antes de tocar el vaso sanguíneo.



Figura 4–6: Morfología tumoral para las células cancerosas. Visualización variando la tasa de absorción de nutriente $\gamma^{\tilde{a}s}$.



Figura 4–7: Concentración promedio de células cancerosas. Dependencia con respecto a diferentes valores de la tasa de absorción de nutriente $\gamma^{\tilde{a}s}$.

En la figura 4–7 se observa la concentración promedio de células cancerosas para diferentes valores del parámetro de absorción. Es relevante destacar de la gráfica que si $\gamma_k^{as} = 0.22$ (color azul) el tumor crece lentamente y toca la vena cerca del paso t = 26000. Luego se produce intravasación¹ y el tumor sigue avanzando hacia la vena, la gráfica muestra un comportamiento lineal hasta el paso t = 31000, seguido a esto la población decrece pues la mayoría de células cancerosas han migrado a la vena y en el tejido predominan células muertas. El lento crecimiento para este valor de absorción se puede observar también en la figura 4–6 donde la morfología del tumor es altamente afectada y las células cancerosas proliferan preferentemente hacia la vena y no hacia los lados. Este comportamiento se da porque si γ_k^{as} es grande se producen dos efectos: primero las células se reproducen más rápido pues absorben más energía y segundo la región cercana al tumor se vacía de nutrientes, llevando a más migración celular. Se seleccionaron distintos tiempos de simulación

 $^{^1}$ El *la intravasación* es el fenómeno por el que las células tumorales se introducen en un vaso sanguíneo o linfático y prosiguen a su circulación por el organismo

para los diferentes valores de tasa de absorción $\gamma_k^{\tilde{a}s}$ ya que se pretende mostrar las morfologías del tumor y algunas configuraciones antes de tocar la vena.



Figura 4–8: Morfología tumoral para las células cancerosas. Visualización variando la tasa de consumo de nutriente $\tilde{\beta}^{\tilde{as}}$.



Figura 4–9: Concentración promedio de células cancerosas. Crecimiento de la población para distintos valores de la tasa de consumo $\beta^{\tilde{a}s}$.



Figura 4–10: Morfología tumoral para las células cancerosas. El tamaño y la forma del tumor cambia para diferentes valores de nutriente disponible *Po*.

Cuando se estudió el efecto producido al regular la capacidad de alimento de las células cancerosas se observó que a medida que se disminuye la tasa de consumo de nutriente $\beta^{\tilde{a}s}$ la difusión concentración de células cancerosas aumenta. En la figura 4–8 se muestran imágenes de las simulaciones para el crecimiento canceroso al variar $\beta^{\tilde{a}s}$. Se seleccionaron distintos tiempos en las simulaciones para mostrar estados críticos y particularidades del crecimiento. Cuando $\beta^{\tilde{a}s}$ tiene un valor pequeño (0.02) el tumor se desarrolla rápidamente en forma de disco, muestra un pequeño centro necrótico y una gran concentración de células cancerosas cerca de la vena. Este comportamiento se debe al poco consumo de alimento por parte de cada célula, que



Figura 4–11: Concentración promedio de células cancerosas. El crecimiento de la población cancerosas depende de la cantidad de nutriente disponible en la vena *Po*.

se produce, si $\beta^{\tilde{a}s}$ es pequeño comparado con γ_k^{as} . Cuando esto sucede las células cancerosas disponen de un alto contenido de nutrientes ligados, lo cual posibilita la reproducción ocasionando que exista una mayor población de células que ligan nutrientes. Al presentarse una sobrepoblación cancerosa en el tejido afectado el nutriente libre se consume más rápidamente en estas regiones y las células migran difundiéndose sobre el tejido en busca de alimento para cumplir con sus funciones vitales. El crecimiento de la concentración promedio de células cancerosas para diferentes valores de $\beta^{\tilde{a}s}$ es mostrado en la gráfica de la figura 4–9.

En las figuras 4–10 se muestran imágenes de la morfología del tumor para diferentes valores de nutriente libre P_0 . Si P_0 es pequeño se observa como el tumor disminuye de tamaño debido a la reducción en la concentración de nutrientes en la vena. La figura 4–11 representa la dinámica de la concentración promedio de células cancerosas para diferentes valores de P_0 en la vena. Se observa que para valores altos de nutrientes la concentración de células cancerosas aumenta significativamente. Además ocasiona una llegada más rápida a la vena, representada por el primer pico en las gráficas.

4.2 Simulación para el crecimiento canceroso considerando difusión de linfocitos

Las simulaciones realizadas hasta ahora solo describen el crecimiento del tumor canceroso para el modelo de competición de nutrientes sin la acción del sistema inmune. Ahora se muestran los resultados obtenidos para el crecimiento del tumor bajo la influencia de los linfocitos y como el ataque de estas células inmunológicas modifican la evolución del tumor canceroso. Para estudiar la interacción entre el tumor y la respuesta inmune, se adicionó a la simulación descrita en la sección anterior la intervención de los linfocitos, de acuerdo con las ecuaciones (3.2), (3.4) y (3.5), que describen la interacción entre las tres especies; células cancerosas, mensajeros (producidos por las células cancerosas) y los linfocitos. Se presentan diferentes simulaciones con la descripción correspondiente para el efecto producido por la acción de cada uno de los parámetros que caracterizan las ecuaciones de interacción (3.2), (3.4) y (3.5).

En el momento de colocarse la semilla de cáncer en el centro de la red, esta célula expresa en su superficie un tipo de molécula característica, el *antígeno*, que identifica a la célula cancerosa como una entidad extraña para el organismo activando así las acciones inmunológicas. Se supone en este modelo una molécula, denominada como el mensajero, que genera una señal quimiotáctica que guía la respuesta del sistema inmune. La concentración de mensajeros $v(\vec{r}, t)$ evoluciona de acuerdo a la ecuación (3.2). Los mensajeros son generados por las células cancerígenas a una tasa K, tienen un tiempo de vida medio τ_v y se difunden con un coeficiente α_v . Cuando los mensajeros activan la ejecución linfática del sistema inmune, generada por el reconocimiento de estos antígenos, se produce la llegada de los linfocitos trasportados por el sistema linfático hasta el tejido afectado. La interacción entre los mensajeros y los linfocitos cuando se encuentran produce una absorción de mensajeros por parte de los linfocitos, con un coeficiente de absorción G.

Luego de la aparición de la primera célula cancerosa en t = 0, la respuesta inmunológica no aparece inmediatamente pues primero se deben producir ciertas operaciones biológicas entre el cuerpo extraño, el anfitrión y el sistema inmune del organismo afectado. Algunas de estas operaciones biológicas son la expresión y reconocimiento de antígeno, y la activación de anticuerpos o de la memoria inmunológica para identificar y atacar específicamente al agente foráneo, en este caso la célula cancerosa. Se estimo así, en esta simulación que la acción inmunológica para atacar el tumor canceroso se produce después de la aparición del cáncer en el paso de tiempo t = 500, con la introducción de una concentración de linfocitos $L(\vec{r}, t)$. Los linfocitos provenientes del sistema linfático llegan al tejido a través de la vena y se difunden por la red de acuerdo a la ecuación de difusión (3.3). Los linfocitos se difunden en el tejido dirigiéndose hacia los mensajeros moleculares, por quimiotaxis, con un coeficiente de difusión α_L . La vida media de los linfocitos está representada por el parámetro τ_L y χ es el coeficiente quimiotáctico. Las células cancerosas son aniquiladas por la acción de los linfocitos a una tasa de eliminación, descrita mediante la ecuación (3.5), que está definida por un coeficiente de efectividad para destruir las células cancerosas denotado por b. Se supone que la concentración inicial de linfocitos en la vena del sistema esta dada por l((i, 0); 500) = 1.0.

Se presenta a continuación la discusión de los resultados obtenidos en la simulación con linfocitos, comparando estos resultados con los encontrados en la simulación sin linfocitos que se discutió en la sección anterior. Los parámetros usados inicialmente para estas simulaciones son los propuestos en la tabla 4–2. Las imágenes para el crecimiento de células cancerosas son presentados en la figura 4–12, y muestran que la geometría externa del tumor comienza de forma similar a la mostrada en la figura 4–1, sin acción de linfocitos. A medida que transcurre el tiempo la estructura refleja un núcleo necrótico más pequeño que en la figura 4–1, así como una menor densidad de población cancerosa en la parte inferior del tumor. Este crecimiento canceroso se ve disminuido por la acción de los linfocitos, que provoca que las células cancerosas disminuyan su densidad de población y modifique su forma de expandirse dentro del tumor, ocupando una región más delgada en su frontera inferior.

α_v	$a = 1/\tau_v$	K	G	α_L	$f = 1/\tau_L$	b	χ
2.0	0.001	0.01	0.01	1.0	0.001	0.1	20.0

Tabla 4-2: Parámetros iniciales seleccionados para la interacción con linfocitos



Figura 4–12: Morfología de células cancerosas con linfocitos. Crecimiento de un tumor bajo la acción inmunológica con linfocitos.

Las imágenes de la figura 4–13 representan las células muertas de un tumor en presencia de linfocitos. Se observa que su crecimiento es más acelerado en comparación con la población celular de las células muertas sin linfocitos de la figura 4–2. La geometría concentrada de células muertas cambia, ocupando más espacio en el tumor, en la parte superior se demarca una zona central de baja densidad. La región inferior muestra una zona con mayor densidad de células muertas, color rojo. La superposición de las poblaciones de las figuras 4–12 y 4–13 deja ver que **la incursión de los linfocitos produce una disminución en las células cancerosas pero aumenta las células muertas**, lo que indica una limitación en la efectividad de la acción de linfocitos.

La representación de las células sanas para el tratamiento con linfocitos es mostrada en la figura 4–14, en donde se aprecia que en la iteración t = 1000 la morfología es similar a la población celular de la figura 4–3, para la iteración t =2000 se empieza a visualizar una leve disminución de las células sanas en la región inferior. En las iteraciones posteriores la mortalidad de células es reflejada con una baja concentración de células sanas demarcadas en color azul. Al igual que para la simulación sin linfocitos, se observa que las células sanas se obtienen al superponer las poblaciones muertas y cancerosas, teniendo en cuenta que la población celular por celda obedece la condición de normalización impuesta por el modelo utilizado,



Figura 4–13: Morfología de las células muertas con linfocitos. Morfología de crecimiento bajo la acción inmunológica con linfocitos.

ecuación (2.8). De esta forma se encuentra que la disminución de población cancerosa y sana genera un aumento de células muertas.



Figura 4–14: Morfología de las células sanas con linfocitos. Reflejan la mortalidad del tejido, color azul, producto de la acción linfática.

4.2.1 Variación de parámetros

Para mostrar el efecto de los parámetros que se definen en las ecuaciones de interacción, (3.2)-(3.4)-(3.5), entre mensajeros, linfocitos y células cancerosas, se desarrolla aquí una descripción cualitativa y cuantitativa del crecimiento del tumor canceroso bajo el efecto de los linfocitos. Se presenta en adelante una evaluación de la función (3.2) que describe le generación y difusión de mensajeros en la red. Se inicia analizando el comportamiento de los parámetros ($\alpha_v, \tau_v, K \ge G$) y su influencia en el crecimiento del tumor. Para analizar la difusividad del mensajero en el tejido, se varió el coeficiente de difusión α_v , los demás parámetros se mantienen fijos y se tomaron los valores típicos propuestos en la tabla 4–2. En las figuras 4–15 y 4–16 se muestran la morfología del tumor y la concentración promedio de células cancerosas para diferentes valores de α_v , respectivamente. Se observa que cuando la difusión α_v es alta, la población cancerosa disminuye ya que la interacción con los linfocitos se produce más rápido. Las imágenes de la figura 4–15 dejan ver que la forma del tumor se ve poco afectada por el cambio en el parámetro de difusión α_v . La estructura es muy similar para diferentes valores del coeficiente de difusión y su cambio se da netamente en la densidad de población apreciable en la figura 4–16.



Figura 4–15: Morfología de las células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de α_v . Visualización variando el coeficiente de difusión de los mensajeros α_v .



Figura 4–16: Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de α_v . Comportamiento de la población para diferentes valores del coeficiente de difusión de los mensajeros α_v .

Ahora se analiza la influencia de la vida media de los mensajeros relacionada con el parámetro τ_v en las ecuaciones. Se realizó el cambio de variable $a = 1/\tau_v$ por comodidad en la discretización. Se puede ver en la figura 4–17 como al variar el parámetro *a* que es el inverso de la vida media de los mensajeros, la concentración de células cancerosas aumenta cuando *a* es pequeño debido a la larga vida media de los mensajeros. Si τ_v es grande generara una mayor población promedio de mensajeros en el tejido. Teniendo en cuenta que la fuerza que orienta a los linfocitos es el gradiente de los mensajeros y no la cantidad, entonces si τ_v es pequeño significa que existe una menor cantidad de mensajeros en el tejido lo que originará un mayor gradiente cerca del tumor, aumentando así la eficiencia de los linfocitos al dirigirse hacia donde esta el tumor y no hacia otras regiones del tejido. El tumor canceroso conserva su forma y tamaño. En el centro necrótico se puede ver el aumento de las células muertas debido a los valores pequeños de la vida media τ_v . De esta manera para las simulaciones realizadas se asumió un tiempo de vida grande, a = 0.001, como el valor más aproximado para la vida media de los mensajeros; que está estrictamente ligada con la vida media celular y es más favorable a la percepción de los linfocitos. La concentración celular promedio de la figura 4–18 permite visualizar la dependencia cuantitativa del crecimiento tumoral y la vida media de los mensajeros antes de tocar la vena, primer pico de las gráficas, y su posterior disminución en la población cuando todas las células han migrado o se han muerto.



Figura 4–17: Concentración de células cancerosas con linfocitos para diferentes parámetros *a*. Visualización variando el parámetro relacionado con la vida media *a*.



Figura 4–18: Concentración promedio células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de *a*. Se varió el parámetro relacionado con la vida media *a*.

Continuando con el análisis para los parámetros de los mensajeros, se presenta en la figuras 4–19 y 4–20 la visualización del crecimiento canceroso para diferentes valores del factor de generación de los mensajeros K. Se observa en estas figuras que una mayor producción de mensajeros por parte de las células cancerosas manifiesta un incremento en esta población celular. En la figura 4–19 se puede apreciar el aumento de la población de células cancerosas para un mayor valor de K, donde se mantiene la forma del tumor y su velocidad de avance hacia el borde inferior. La generación de mensajeros se supone pequeña, si se tienen en cuenta que los mensajeros son las moléculas expresadas por las células cancerosas en su superficie, se supone en este trabajo que la generación de estas moléculas es del orden del 1% con respecto a las células cancerosas, así K = 0.01.



Figura 4–19: Morfología de la concentración de células cancerosas con linfocitos para diferentes valores del parámetros K. Visualización variando la tasa de generación de mensajeros K.



Figura 4–20: Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando K. Aquí se muestra la población cancerosa para diferentes valores de la tasa de generación de mensajeros K

Se debe tener en cuenta también como los linfocitos ligan a los mensajeros, absorbiéndolos, cuando entran en contacto con ellos. De esta forma en la figura 4-21 se muestra la dependencia de la morfología del tumor con G, que representa la tasa de absorción de mensajeros, antes de tocar la vena. Se observa en estas imágenes una leve disminución en la concentración celular cuando se varía la tasa G. Cuando G es grande la concentración de células cancerosas disminuye, lo que indica que los linfocitos están ligando mayor cantidad de mensajeros. En general se puede concluir aquí que la morfología del tumor se ve poco afectada por la variación de los parámetros relacionados con los mensajeros, es decir que tienen una débil influencia en la acción ejercida por los linfocitos sobre el tumor. En el análisis que se presenta en adelante se podrá ver que, lo que realmente hace la diferencia en el crecimiento del tumor es que estén presentes los linfocitos.

A continuación se abordará la discusión del efecto producido por los parámetros que intervienen en la función para la difusión de los linfocitos, ecuación (3.4). Al igual que en el caso inmediatamente anterior donde se describió la influencia de los



Figura 4–21: Morfología de las células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de G. Dependencia con respecto al parámetro absorción de mensajeros por parte de los linfocitos G.



Figura 4–22: Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando G. Dependencia con respecto al parámetro relacionado con la absorción de mensajeros por los linfocitos G,

parámetros para mensajeros, en esta parte del análisis se presentan los resultados obtenidos al variar los parámetros relacionados con la acción desarrollada por los linfocitos. Para la realización de este tratamiento comparativo, en las simulaciones, cada vez que se varió un parámetro cualquiera los demás quedan fijos según las tablas 4–1 y 4–2.

Siguiendo estos lineamientos se analiza ahora el efecto producido por la difusión de los linfocitos dentro del tejido afectado, representado por la tasa de difusión α_L . La figura 4–23 muestra la dependencia morfológica del crecimiento del tumor para distintos valores de α_L . En ella se observa que la densidad de células cancerosas cambia notablemente al variar α_L ; cuando la capacidad de difusión de los linfocitos se hace pequeña la población de células cancerosas aumenta. En esta figura se aprecia como para valores bajos, $\alpha_L = 0.1$, la concentración cancerosa es más notoria reflejando regiones de alta densidad celular, color rojo, en el borde inferior del tumor. El núcleo necrótico se hace más grande, región central azul oscuro, mientras que las poblaciones muertas y cancerosas son mayores debido a la agresividad celular y la poca rapidez de ataque de los linfocitos. Cuando la difusión de los linfocitos es mayor, las células cancerosas no se pueden desarrollar naturalmente, se observa como disminuye esta población cancerosa, y además como cambia la forma de distribuirse dentro del tumor. Se puede ver una región más delgada de mayor densidad cancerosa en el borde inferior del tumor; las células cancerosas están más regadas dentro del tumor pero su densidad promedio es menor. Si se supone que los linfocitos se difunden 10 veces más rápido que las células cancerosas, se tomará, $\alpha_L = 1.0$. La figura 4–24 muestra la concentración promedio de células cancerosas para distintos valores de α_L ; el comportamiento esencialmente es el mismo que para las gráficas descritas anteriormente, pero se observa que la población cancerosa sí varia considerablemente al modificar α_L .



Figura 4–23: Morfología de la concentración de células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de α_L . Dependencia con respecto a la difusión de los linfocitos α_L .



Figura 4–24: Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando el parámetro α_L . Diferentes concentraciones con respecto a la difusión de linfocitos α_L .

Se procede ahora a discutir el parámetro b, que se refiere a la efectividad de los linfocitos para eliminar las células cancerosas. La figura 4–25 muestra la evolución morfológica del tumor cuando se varia b. En ella se puede observar que para valores grandes de la eficiencia b, las células cancerosas en el tumor disminuyen notablemente. Esta reducción en la población cancerosa se evidencia por la ausencia de las regiones rojas en el tumor, que representan mayor densidad cancerosa, y es notoria la alta mortalidad celular a causa de la efectividad de los linfocitos, zona azul oscuro dentro del tumor. Se puede ver que para un valor de efectividad alto (b = 1.0) la población cancerosa disminuye significativamente; los linfocitos frenan parcialmente al tumor evitando que este llegue a la vena y lo obligan a expandirse hacia los lados. Teniendo en cuenta esto se infiere también que el aumento de b ocasiona que los tumores se tarden más en llegar a la vena, e incluso no lleguen; según se observa en la figura 4–26 para la concentración de células cancerosas. Donde el primer pico de la curva azul no representa la llegada del tumor a la vena; lo que significa este pico es una reducción en el crecimiento del tumor, evitando que siga propagándose

hacia el borde inferior. De tal manera que el segundo pico representa el momento en que el tumor comienza a salirse de la red estudiada, debido a su expansión hacia los lados, y por esto decrece la población cancerosa después del t = 6500 aproximadamente, sin producirse intravasación. Se supondrá para el modelo desarrollado una efectividad moderada de los linfocitos, de forma tal que b = 0.1.



Figura 4–25: Concentración de células cancerosas con linfocitos variando el parámetro *b*. Dependencia con respecto a la efectividad de los linfocitos *b*.



Figura 4–26: Concentración promedio células cancerosas y muertas con linfocitos variando b. Diferentes concentraciones con respecto a la efectividad de los linfocitos b.

La influencia en la variación de la vida media de los linfocitos dada por el parámetro τ_L se puede observar en la figura 4–27. Aquí se varia f que es el inverso de esta vida media. Observando la figura se encuentra que la mejor eficiencia de los linfocitos para disminuir el crecimiento canceroso se da cuando f es pequeño, debido a la larga vida media de los linfocitos. Una vida media larga ocasiona que exista una gran concentración de linfocitos promedio, en cada paso de tiempo, atacando a las células cancerosas. Relacionando las figuras 4–27 y 4–28 se puede ver que el tumor crece con la misma rapidez, la población cancerosa disminuye pero el tamaño del tumor no se reduce. La forma externa del tumor es la misma pero el núcleo necrótico se aprecia aumentado debido a la labor de los linfocitos que disminuyen la población cancerosa aniquilando las células de cáncer.

Por último se muestra en las gráficas 4–29 y 4–30 la dependencia del crecimiento del tumor para distintos valores seleccionados del coeficiente quimiotáctico χ . En ellos se observa como la concentración celular disminuye para pequeños valores de χ . El tamaño y forma del tumor se conserva manteniendo su rapidez de crecimiento. El tamaño del núcleo cambia lo que implica que existe mayor aparición de células



Figura 4–27: Morfología de la Concentración de células cancerosas con linfocitos para diferentes valores de f. Dependencia con respecto a la vida media de los linfocitos f.



Figura 4–28: Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando f. Diferentes concentraciones con respecto a la variación de valores para vida media, relacionada con el parámetro f.



Figura 4–29: Morfología de las células cancerosas con linfocitos variando el parámetro χ . Dependencia con respecto a el coeficiente quimiotáctico χ .

muertas para valores pequeños de χ debido a la acción de los linfocitos que matan a numerosas células cancerosas. Los resultados parecen indicar que la quimiotaxis no es demasiado importante ya que al colocar un valor de $\chi = 0$, color magenta, la población no varía considerablemente.

4.2.2 Adición de tratamiento biológico

En esta sección se discutirán los resultados obtenidos para las simulaciones realizadas del crecimiento de tumores cancerígenos bajo los efectos producidos por la implementación de la terapia biológica. La concentración de linfocitos L(i, j) en la vena para las simulaciones anteriores se suponía constante, L(i, 0) = 1.0, después de t = 500. Ahora se supone un incremento en la tasa de linfocitos que llegan a la vena del tejido, de tal forma, que se aumenta esta concentración de linfocitos.



Figura 4–30: Concentración promedio de células cancerosas con linfocitos variando χ . Concentraciones para diferentes valores del coeficiente quimiotáctico χ .

Para tal fin, se adicionó una dosificación periódica con citoquinas; para simular esta dosis se utilizó una función periódica f(t). Así para modelar este incremento, en la simulación, se adicionó la función periódica f(t) a la ecuación para la concentración de linfocitos en la vena.

Al igual que en la sección anterior se supone que la acción de los linfocitos se produce tiempo después que aparece el cáncer, en este caso t = 500. Entonces la ecuación para la concentración de linfocitos estará dada por

$$L_{i,0}(t) = L_{i,0}(0) + f(t) \quad \text{con } t > 500 \tag{4.3}$$

Para la función periódica f(t) se incorporaron cinco funciones diferentes $f_1(t)$, $f_2(t)$, $f_3(t)$, $f_4(t)$, $f_5(t)$, ecuaciones (3.6), (3.7), (3.8), (3.9), (3.10), respectivamente. A continuación se presenta un análisis de los resultados obtenidos con cada una de estas funciones. En las funciones utilizadas F representa la amplitud de la dosis, T es el periodo entre cada dosis de citoquinas suministrada y ω es la frecuencia periódica con la cual se aplica la dosis, donde $\omega = 2\pi/T$.

Se analizará primero el efecto de cada una de estas terapias en el crecimiento del tumor. Luego se seleccionará la terapia más adecuada para mostrar el crecimiento del tumor bajo la acción de este tratamiento. Para ello se tomarán los parámetros de simulación de las tablas 4–1 y 4–2, de tal manera que se pueda comparar el efecto producido por la terapia biológica y sin ella.

La figura 4–31 muestra las concentraciones celulares para las distintas terapias implementadas; los valores seleccionados, inicialmente, para el periodo y la amplitud fueron T = 300 y F = 10. En las imágenes se observa que el tumor crece más lento y para el tamaño de la red simulada no alcanza a tocar la vena, como lo hizo para las simulaciones anteriores sin linfocitos y con linfocitos. Nuevamente se aprecia un núcleo necrótico central y el tumor expendiéndose hacia el exterior. En las imágenes se puede apreciar que la concentración de las células cancerosas se hace evidentemente menor, la morfología del tumor muestra una delgada franja de baja densidad cancerosa en el borde del tumor. El interior del tumor muestra que el núcleo necrótico aumenta de tamaño, lo cual refleja un aumento de células muertas. La forma del tumor presenta un cambio en la manera de expandirse las células cancerosas en el tejido, ya que la difusión cancerosa hacia la vena es frenada por la acción de los linfocitos y las células cancerosas buscan ahora expandirse hacia los lados del tumor. Se observa también que el tamaño del tumor disminuye por tener un desarrollo más lento.



Figura 4–31: Morfología de la Concentración de células cancerosas con tratamiento biológico para las cinco funciones f(t) implementadas. Se muestran la morfología para crecimiento del tumor con linfocitos sin terapia y para el crecimiento con la aplicación de las cinco funciones de terapia, se tomaron valores para T = 300 y F = 10, los tiempos t = 5000 iguales para todas.

Comparando las figuras se observa que la morfología del crecimiento tumoral de cada terapia no es muy diferente a las demás terapias, todas las terapias producen crecimientos similares. En la figura 4–32 (izquierda) se puede apreciar más claramente una pequeña variación en la concentración celular para la terapia inducida por la función $f_4(t)$, color verde. Esta función periódica, denominada *creciente lineal- decreciente exponente natural*, muestra una menor efectividad en el ataque a las células cancerosas comparada con las demás funciones, esto se debe a que al implementar esta terapia en la concentración de linfocitos L(i, j) la forma funcional de la función no permite incrementar la concentración L(i, j) promedio hasta valores cercanos a la amplitud de la terapia suministrada. Este comportamiento se puede observar en la figura 4–33. Esta figura muestra la población de linfocitos promedio para las diferentes terapias aplicadas. En ésta se aprecia la forma periódica y funcional para cada función f(t) utilizada. Se observa como los máximos promedios alcanzados para L(i, j) son menores para la función $f_4(t)$, color verde, comparada con las demás $f_1(t), f_2(t), f_3(t), f_5(t)$.

La figura 4–32 (izquierda) muestra la dinámica del crecimiento de la concentración cancerosa para las diferentes terapias aplicadas. Se muestra claramente que la efectividad de las terapias (líneas azul, amarilla, cyan, roja y verde, las primeras cuatro líneas están superpuestas y no son muy notorias; solo se aprecia la línea verde que está separada) producen una reducción en la concentración de células cancerosas, en comparación con el crecimiento sin linfocitos (línea negra) y con linfocitos sin terapia (línea magenta). La terapia frena el crecimiento canceroso y evita que las células de cáncer lleguen a la vena. El primer pico de las gráficas representa ahora la acción de los linfocitos frenando el aumento canceroso, modulando de esta manera el avance hacia la vena así como también disminuyendo la densidad de la población cancerosa.

La figura 4–32 (derecha) muestra la mortalidad de las células cancerosas para las diversas terapias aplicadas, En la gráfica se puede apreciar que el tratamiento aumenta las células muertas con respecto al crecimiento tumoral sin linfocitos, línea negra. Este aumento en las células muertas se debe a la acción de los linfocitos sobre el tumor que frenan el crecimiento tumoral eliminando las células de cáncer. La mortalidad celular con la terapia es menor que con la acción de los linfocitos si tratamiento, gráfica color magenta. Esta reducción en las células muertas se produce porque el tumor es frenado más rápidamente y la terapia evita la evolución cancerosa disminuyendo la proliferación del cáncer, y por ende el tejido muerto.



Figura 4–32: Concentración promedio de células cancerosas y muertas con tratamiento biológico para las cinco funciones f(t). Diferentes concentraciones para el crecimiento tumoral con la aplicación de las cinco funciones de terapia f(t), T = 300 y F = 10.



Figura 4–33: Concentración promedio de linfocitos con terapia. Diferentes terapias incorporadas, se muestra la forma periódica de cada función f(t), observándose como algunas no alcanzan los mismos máximos en la amplitud. Aquí T = 300 y F = 10.

Hasta ahora se ha analizado solamente el efecto producido por la inclusión de la terapia en la morfología del tumor y en la densidad de las poblaciones celulares cancerosas y muertas. A continuación se presenta la evaluación realizada al comportamiento del tumor por la variación en la dosificación en la terapia F y el periodo de aplicación de la misma T. Solamente se muestran algunas gráficas seleccionadas para ciertos valores que se consideraron más relevantes.

Primero se presenta el comportamiento de la terapia y las poblaciones para diferentes válores de T; para la toma de esta data se usaron los mismos parámetros utilizados hasta ahora, tablas 4–1 y 4–2, y se dejó el valor de la amplitud fija F = 10. Teniendo en cuenta que los efectos producidos por los cambios en el periodo de la terapia T no son muy notorios en las gráficas, en esta parte no se graficó el crecimiento de población celular sin linfocitos, para tener una mejor resolución en la escala de la gráfica. En la figura 4–34 se observa el comportamiento de la concentración promedio de células cancerosas para las cinco terapias periódicas aplicadas $f_1(t), f_2(t), f_3(t), f_4(t), f_5(t)$. En estas gráficas se muestra la superposición de la concentración celular al variar el periodo T de la dosis aplicada para cada una de las cinco terapias. Se dejó fija la amplitud F = 10 y se varió T. Se observa que para cada gráfica la concentración celular muestra el mismo comportamiento para distintos valores de T. Es decir que no se producen cambios significativos en los efectos de la terapia sobre el tumor, al variar el periodo del suministro de la dosis. Esto se evidencia en las gráficas, con cada terapia. Para los tres valores de T representados, (las líneas azul, verde y rojo se observa que están superpuestas una sobre otra y no son muy notorias), se muestra un comportamiento aproximadamente igual. Como se discutió anteriormente los efectos de las cinco terapias son muy similares entre si, con excepción de la función de terapia $f_4(t)$; la cual presenta un aumento en la concentración celular cancerosa, indicando menor efectividad que las demás. En estas gráficas también se observa este comportamiento, ya que la gráfica de la función $f_4(t)$ muestra el valor más alto para la concentración promedio cancerosa, por encima de 0.03.

Para estudiar la influencia de la cantidad de dosis suministrada en las terapias sobre el crecimiento del tumor, se realizó la variación en la dosis F, este parámetro está relacionado con la amplitud de las funciones. En la figura 4–35 se observa la concentración cancerosa para las cinco terapias suministradas $f_1(t), f_2(t), f_3(t), f_4(t), f_5(t)$, se dejó fijo el periodo T = 50 y se varió la amplitud de la dosis F. Cada terapia muestra que cuando la amplitud de la dosis es mayor la concentración cancerosa y el tamaño del tumor disminuyen, el crecimiento del tumor se hace más lento (líneas verde y roja). Este efecto muestra que la efectividad de los linfocitos aumenta, al introducir una mayor concentración de citoquinas. Al igual que en la figura 4–34 las concentraciones cancerosas generadas por las terapias $f_1(t), f_2(t), f_3(t), f_5(t)$ son similares. La función $f_4(t)$ produce mayores poblaciones cancerosas comparadas con las demás funciones, para cada valor de F.

4.2.3 Implementación de la terapia biológica

Luego de estudiar el comportamiento del crecimiento tumoral variando los parámetros T y F que regulan el suministro de la dosis. Se presentan a continuación los resultados obtenidos para un crecimiento tumoral bajo tratamiento terapéutico



Figura 4–34: Concentración promedio de células cancerosas con terapia variando T. Gráficas de las cinco terapias aplicadas. Se dejó fija la amplitud F = 10 y se varió el periodo T, la superposición de las gráficas muestra un comportamiento similar en cada gráfica para diferentes valores de T.

de acuerdo a una selección de parámetros que se consideró óptima, para evaluar la efectividad del tratamiento biológico. Los parámetros que regulan el crecimiento del tumor se toman de acuerdo a la tabla 4–1. Los parámetros que determinan la difusión de mensajeros y linfocitos en el tejido se toman según la tabla 4–3. Se consideró también una mayor difusión para los linfocitos α_L y un factor quimiotáctico χ más óptimo. Los valores tomados para el periodo T y la amplitud F de la terapia se muestran también en esta tabla. Aquí se consideraron valores particulares para T y F, de acuerdo a los valores más óptimos obtenidos según las múltiples



Figura 4–35: Concentración promedio de células cancerosas con terapia variando F. Gráficas de las cinco terapias aplicadas. Se dejó fijo el periodo T = 50 y se varió la amplitud F, las gráficas muestra que la concentración celular disminuye para valores grandes de F.

datas corridas, seleccionando los que mostraron resultados más eficientes en la implementación de la terapia. Para la terapia utilizada se propone la correspondiente a la función $f_5(t)$ denominada creciente inversa exponencial - decreciente exponente natural, ecuación (3.10). La selección de la terapia $f_5(t)$ se fundamenta en el hecho que esta función representa un comportamiento de la forma exponencial. Si se considera que una gran mayoría de fenómenos físicos y biológicos de la naturaleza, (carga y descarga de un condensador, crecimiento de una población de bacterias en un tejido, decaimiento radiactivo, etc), se describen mediante esta función, se supuso en este trabajo que la función periódica $f_5(t)$ representa de manera más aproximada la interacción biológica estudiada.

α_v	$a = 1/\tau_v$	K	G	α_L	$f = 1/\tau_L$	b	χ	T	F
2.0	0.001	0.01	0.01	2.0	0.001	0.1	10.0	575	100

Tabla 4–3: Parámetros seleccionados para la implementación de la terapia biológica

Las figuras 4–36, 4–38 y 4–40 muestran las imágenes para la morfología de las células cancerosas, muertas y sanas, respectivamente, para el crecimiento del tumor con la implementación de la terapia biológica. En éstas se observa que la evolución cancerosa del tumor es frenada por la efectividad de la terapia. En la figura 4–36 se observa como el tumor inicia su crecimiento pero luego del paso t = 2000, la acción de los linfocitos empieza a evitar la proliferación del tumor hacia la vena, las células cancerosas se reducen y se limitan a una pequeña franja hacia la parte superior del tumor, color azul claro. La figura 4–37 representa cuantitativamente la concentración cancerosa bajo los efectos de la terapia biológica, línea azul. En ella se puede ver que el tumor además de hacerse más lento es frenado mucho antes de acercarse a la vena. Se reduce la concentración cancerosa hasta hacerse prácticamente cero cerca del paso temporal t = 10000.

La figura 4–38 describe el comportamiento de la población celular muerta. Aquí se observa como aumenta esta población, región roja, por la incursión de los linfocitos. La alta efectividad de los linfocitos potenciados por la terapia con citoquinas genera una rápida reacción en la eliminación tumoral. En la figura 4–39 se gráfico la concentración celular muerta para todo el tiempo de la simulación. Se aprecia que la población muerta aumenta más rápidamente con la terapia, línea azul; la mortalidad producida por la acción de los linfocitos sin terapia es más lenta, línea magenta. Esto indica que para los parámetros seleccionados la efectividad del tratamiento produce resultados positivos para frenar el crecimiento tumoral pero sacrifica una cantidad considerable de población celular. Además se debe tener en cuenta que si la dosificación es muy alta, podría causar repercusiones negativas en el organismo del paciente, ocasionando daños en otros órganos.

Como último análisis para los efectos producidos por la terapia, se presenta el desarrollo de las células sanas dentro del tejido. En la figura 4–40 se muestra la evolución de la población celular sana. Las imágenes dejan ver que el deterioro del tejido, color azul, se da en la región central. La eliminación celular es restringida a una marcada zona del tejido cerca del centro de la red sin extenderse sobre las demás áreas y sin afectar la región celular cerca de la vena. El tejido muestra una pequeña zona saludable en el centro de la red rodeada por una población completamente muerta. La figura 4–41 muestra el comportamiento temporal de la población saludable en la red. Se observa como las células sanas, línea azul, disminuyen más rápidamente con la incursión de la terapia comparadas con la acción de los linfocitos sin terapia, línea magenta. Aquí se puede ver que a pesar de que la población sana decae más rápidamente con la terapia que sin ella hasta el paso t = 4500 aproximadamente (cuando se cruzan las líneas azul y magenta), después de este tiempo el deceso celular con la terapia es más lento y tiende a frenarse sin deteriorar el tejido. Mientras que para simulación con linfocitos sin terapia la población sana disminuye todo el tiempo hasta hacerse prácticamente cero cerca del paso t = 1000.



Figura 4–36: Concentración de células cancerosas con terapia. Visualización para la terapia biológica implementada.



Figura 4–37: Concentración promedio de células Cancerosas con terapia. Terapia implementada $f_5(t)$, comparada con el crecimiento sin linfocitos (línea negra), y con linfocitos (línea magenta).



Figura 4–38: Concentración de células Muertas con terapia. Visualización para la terapia biológica implementada $f_5(t)$.

4.3 Simulaciones con adición de bloqueo

En las simulaciones presentadas en esta sección, se adicionó al modelo desarrollado hasta el momento una restricción a la difusión de las células cancerosas dentro



Figura 4–39: Concentración promedio de células Muertas con terapia. Terapia implementada $f_5(t)$, comparada con el crecimiento sin linfocitos (línea negra), con linfocitos (línea magenta). t= 2000 t= 2000 t= 8000



Figura 4–40: Concentración de células Sanas con terapia. Visualización para la terapia implementada $f_5(t)$.



Figura 4–41: Concentración promedio de células Sanas con terapia. Terapia implementada $f_5(t)$, comparada con el crecimiento sin linfocitos (línea negra), con linfocitos (línea magenta).

del tejido. Con el objetivo de generar una modelaje más real y consecuente con el desarrollo biológico analizado, se incorpora una nueva restricción de movilidad al modelo. Ahora se supone que las células cancerígenas no pueden penetrar regiones donde la concentración local de linfocitos exceda el umbral Θ_p . De esta forma se controla que la difusión de las células esté restringida únicamente a las regiones del tejido donde la acción de los linfocitos aún sea baja. Para este proceso se presenta a continuación un análisis comparativo similar a los desarrollados para las secciones anteriores.



Figura 4–42: Concentración células cancerosas para terapia más bloqueo. Se implementa la restricción a la difusión celular cancerosa representada por el parámetro Θ_p (izquierda). Se comparan los resultados obtenidos para el crecimiento tumoral sin linfocitos (línea negra), con linfocitos (línea magenta), con adición de terapia (línea azul) y la nueva simulación con bloqueo (líneas roja, verde y amarilla). En la figura de la derecha se omitieron las gráficas con las simulaciones anteriores (negra, azul, magenta) para reducir la escala y mejorar la resolución de la gráfica para visualizar mejor la terapia con bloqueo.

El bloqueo propuesto consiste en suponer que si la concentración de linfocitos en las celdas vecinas es superior a un valor Θ_p determinado las células cancerosas no podrán moverse a invadir ese lugar. Para seleccionar el valor de bloqueo Θ_p que debe tener una celda para evitar la llegada de las células cancerosas se utilizaron valores correspondientes a 25%, 50% y 75% de la concentración de linfocitos en la vena. Inicialmente se presenta la figura 4–42, la cual tiene la gráfica comparativa de las concentraciones celulares para $\Theta_p = 0.25, \Theta_p = 0.5, \Theta_p = 0.75$, líneas roja, verde y amarilla, respectivamente. En la gráfica se observa que al introducir el bloqueo como una restricción a las células cancerosas para difundirse sobre el tejido. la proliferación celular disminuye. En las gráficas se puede ver que si se aumenta la barrera de verificación de bloqueo a $\Theta_p = 0.75$, las células cancerosas tienen mayor permisividad de moverse a otras regiones y por lo tanto aumentará la densidad de población de esta especie con el tiempo. Si la condición de bloqueo es menor, asignándole un valor de $\Theta_p = 0.25$, las células estarán más restringidas a moverse dentro del tejido y solo se moverán a los lugares con concentración de linfocitos menores a este valor. De tal forma, que en las gráficas se aprecia una disminución en la población cancerosa para valores pequeños de bloqueo Θ_p .

Se seleccionó un valor de $\Theta = 0.5$ y se realizaron simulaciones para analizar el comportamiento del tumor bajo efecto de la terapia $f_5(t)$ más la restricción del bloqueo Θ_p . Los resultados obtenidos se representan en la figura 4–43, aquí se muestra la morfología tumoral para las tres poblaciones celulares cancerosas, muertas y sanas. En las imágenes se aprecia para las células *cancerosas* una baja densidad, regiones azul claro, que disminuye rápidamente hasta hacerse poco visible dentro del tejido; el desarrollo canceroso es frenado rápidamente por la acción del tratamiento evitando que las células cancerosas avancen hacia la vena. En la morfología para las células *muertas* se observa un aumento de esta población en las regiones donde desaparecen las células cancerosas, la parte inferior del tumor muestra una muerte celular inminente a causa del tratamiento, que elimina la población cancerosa matando las células. La aparición de la población muerta muestra una forma de anillo deformado, color rojo, el cual ocasiona un bloqueo en la difusión cancerígena frenando el crecimiento del tumor y rodeando la zona central, donde coexisten aún células sanas y cancerosas. Para la evolución de las células *sanas* la figura muestra un comportamiento inverso al de las células muertas, es decir se observa ausencia de población sana, región azul oscuro, en las regiones exactas donde ahora existe población muerta. Es relevante notar como la efectividad del tratamiento con bloqueo controla el crecimiento tumoral manteniendo una gran región saludable dentro de tejido, color rojo.

La efectividad del tratamiento con bloqueo se puede comparar en las gráficas de la figura 4–44. En estas se observa la concentración celular promedio para las poblaciones muertas y sanas bajo los efectos del tratamiento, línea verde. En las células muertas se aprecia una menor mortalidad celular comparada con las demás simulaciones, líneas negra, magenta, azul. La curva manifiesta un comportamiento creciente después de la iteración t = 2000, el crecimiento es más acelerado hasta el paso temporal t = 4000, aproximadamente, comparado con las simulaciones sin y con linfocitos, líneas magenta y verde, respectivamente. Luego de este tiempo la curva se ve atenuada y aumenta lentamente alcanzando valores mucho menores que las demás simulaciones. Esto refleja la inhibición producida sobre el tumor por el tratamiento, que evita difusión tumoral sobre el tejido. La gráfica de la derecha, para la concentración celular promedio sana, muestra que el tratamiento con bloqueo produce un resultado más favorable para el tejido estudiado manteniendo una mayor concentración de células saludables en el tiempo, ver línea verde.



Figura 4–43: Morfología de la Concentración de células cancerosas, muertas y sanas con terapia y bloqueo. Las imágenes muestran el comportamiento morfológico para las tres poblaciones celulares cancerosas (primera fila), muertas (segunda fila) y sanas (tercera fila), bajo los efectos del tratamiento con la terapia $f_5(t)$ más el bloqueo, con $\Theta_p = 0.5$.



Figura 4–44: Concentración promedio de células, muertas y sanas con terapia y bloqueo. Las gráficas muestran los resultados obtenidos para estas poblaciones con el tratamiento de la terapia $f_5(t)$ más el bloqueo, con $\Theta_p = 0.5$ (línea verde). Se compara con las simulaciones anteriores sin linfocitos (línea negra), con linfocitos (línea magenta) y con adición de terapia (línea azul).
CAPÍTULO 5 CONCLUSIONES Y TRABAJOS FUTUROS

En el desarrollo de esta tesis se realizó el modelaje computacional para el crecimiento de tumores cancerosos. Se implementó un estudio numérico a través de un modelo de competición por nutrientes, para el crecimiento de poblaciones celulares. Se analizaron diversas morfologías de crecimiento, estudiando y evaluando sistemáticamente el comportamiento y la dinámica tumoral al variar los parámetros que regulan el modelo, como absorción y consumo de nutrientes, migración, mitosis y muerte celular. En este proceso se encontraron comportamientos particulares asociados con la disponibilidad de nutrientes y de espacio, evidenciándose que las células cancerosas compiten por estos dos. El comportamiento del modelo refleja que la proliferación cancerosa depende estrictamente de cuatro parámetros: la movilidad de las células cancerosas $\tilde{\alpha}$, la capacidad de absorción de nutrientes $\gamma_k^{\tilde{a}s}$, la capacidad para consumir nutrientes $\beta_k^{\tilde{a}s}$ y la disposición del nutriente libre en el tejido P_k .

Se adicionó un modelo matemático que describe la interacción entre el tumor y el sistema inmune. Se evaluaron y estudiaron las diversas implicaciones que intervienen en el crecimiento de tumores bajo la acción de la respuesta inmunológica; por medio de la interacción entre los linfocitos, las células cancerosas y los mensajeros. Se encontró que la acción de los linfocitos disminuye la concentración de células cancerosas en comparación con el crecimiento de tumores sin linfocitos. Como un aspecto contraproducente se observó que la incursión de los linfocitos produce una disminución en las células cancerosas pero aumenta las células muertas, lo que indica una limitación en la efectividad de los linfocitos. La incorporación de este modelo dejó ver también que la morfología del tumor se ve poco afectada por la variación de los parámetros relacionados con los mensajeros, lo cual indica una débil influencia de los mensajeros en la acción de los linfocitos sobre el tumor. Lo que realmente hace la diferencia en el crecimiento del tumor es que estén presentes los linfocitos. Esto se ve claramente en el análisis, donde se encontró que al variar los parámetros de efectividad, difusión y la vida media de los linfocitos la concentración celular se ve altamente afectada. El parámetro relacionado con la quimiotaxis no es demasiado importante en los resultados obtenidos para la interacción con el tumor.

Se incorporó un tratamiento con una terapia biológica, utilizando una dosificación periódica con citoquinas. Se implementaron cinco funciones periódicas diferentes; para las cuales se varió la cantidad de dosis suministrada, representada por el la amplitud F y el periodo de aplicación de la terapia T. Los resultados indican que la concentración de células cancerosas disminuye para valores grandes de F, pero para valores superiores a F = 100 la reducción de células cancerosas que se obtiene es pequeña. Aquí es necesario tener también en cuenta que la dosificación no puede ser muy alta, pues podría producir efectos clínicos contraproducentes en el paciente. Por otra parte se encontró la particularidad que de las cinco terapias aplicadas cuatro mostraron aproximadamente el mismo comportamiento en el crecimiento del tumor; solamente la terapia $f_4(t)$ presentó valores diferentes para la población celular cancerosa apreciables en las gráficas de concentración celular y en la morfología del tumor.

Se implementó una terapia exponencial periódica, la cual se consideró que representaba de una forma más real el fenómeno biológico estudiado. De ella se puede concluir que la evolución cancerosa del tumor es frenada por la efectividad de la terapia. El tumor es replegado en la parte central de la red y no alcanza a diseminarse hasta la vena, evitándose la intravasación. El tejido se ve menos afectado por el crecimiento canceroso, disminuyendo la mortalidad y conservándose una mayor población de células sanas dentro de la red. Los resultados son bastante óptimos pero habría que considerarse los valores reales en la dosis de la terapia aplicada, pues quizá podría estarse aplicando dosis muy altas que frenan el tumor pero afectan otros órganos.

Cuando se consideró el bloqueo sobre la migración de las células cancerosas debido a determinadas concentraciones de linfocitos, se observó una reducción en el crecimiento del tumor. La consideración del bloqueo optimiza el tratamiento y se muestra una evidente reducción en el tamaño y la forma del tumor pues el crecimiento es frenado. Las células cancerosas y las muertas disminuyen en comparación con las demás simulaciones sin linfocitos, con linfocitos y con terapia; conservándose una mayor región celular sana. Estos resultados mostraron que la terapia biológica es efectiva y que de acuerdo a los parámetros utilizados el crecimiento del tumor si se puede contrarrestar.

Como trabajos futuros se podría realizar, la incorporación de data experimental, para acondicionar el modelo con parámetros reales que permitan visualizar de una forma más realista las implicaciones de la inmunoterapia. En este orden de ideas podría considerarse un estudio en tres dimensiones, ya que el realizado en este trabajo solo se hizo en dos, el cual proporcionaría efectos espaciales que representen de una manera más adecuada lo que sucede. Además sería interesante estudiar los efectos producidos por la implementación de la quimioterapia como complemento para la estabilización de la inmunoterapia.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- D. M. Parkin; F. Bray; J. Ferlay; P. Pisani. Global cancer statistics 2002. CA Cancer Journal for Clinicians, 55:74–108, April 2008.
- [2] R. T Greenlee; T. Murray; S. Bolden; P. A. Wingo. Cancer statistics, 2000. CA Cancer Journal for Clinicians, 50:7–33, Jan 2000.
- [3] P. Smith. Comparison between Registries: Age Standardised Rates, in Cancer Incidence in Five Continents. Number 88. International Agency for Research on Cancer, third edition, 1987.
- [4] 1925 cancer data. http://medicolegal.tripod.com/cancerstats1925.htm.
- [5] Mal, fractura de pott. Epónimos médicos, www.historiadelamedicina.org/pott.htm.
- [6] W. D. Foster. A History of Medical Bacteriology and Inmunology. Heinemann, 1970.
- [7] R.G.B. King. *Cancer Biology*. Pearson Education, 2nd edition, Harlow 2000.
- [8] Robert A. Weinberg. *The Biology of Cancer*. Garland Science, 2007.
- [9] D. Wodarz; N. L. Komarova. Computational Biology of Cancer. World Scientific, Singapore, 2005.
- [10] R. V. Sole; T. S. Deisboeck. An error catastrophe in cancer? Journal of Theoretical Biology, 228:47–54, 2004.
- [11] N. D. Evans; R. J. Errington; M. Shelley; G. P. Feeney; M. J. Chapman; K. R. Godfrey; P. J. Smith; M. J. Chappell. A mathematical model for the in vitro kinetics of the anti-cancer agent topotecan. *Mathematical Biosciences*, 189:185–217, 2004.
- [12] H. Byrne; L. Preziosi. Modelling solid tumour growth using the theory of mixtures. Mathematical Medicine and Biology, 20:341–66, 2003.
- [13] A. R. Anderson; M. A. Chaplain. Continuous and discrete mathematical models of tumor-induced angiogenesis. *Bulletin of Mathematical Biology*, 60:857–99, 1998.
- [14] A. R. Kansal; S. Torquato; G. I. Harsh; E. A. Chiocca; T. S. Deisboeck. Simulated brain tumor growth dynamics using a three-dimensional cellular automaton. *Journal of Theoretical Biology*, 203:367–82, 2000.
- [15] N. L. Komarova; A. Sengupta; M. A. Nowak. Mutation-selection networks of cancer initiation: tumor suppressor genes and chromosomal instability. *Journal* of *Theoretical Biology*, 223:433–50, 2003.
- [16] S. A. Frank. Age-specific acceleration of cancer. Current Biology, 14:242–6, 2004.
- [17] R. G. Haylock; C. R. Muirhead. Fitting the two-stage model of carcinogenesis to nested case-control data on the colorado plateau uranium miners: dependence on data assumptions. *Radiat Environ Biophys*, 42:257–63, 2004.

- [18] D. Krewski; J. M. Zielinski; W. D. Hazelton; M. J. Garner; S. H. Moolgavkar. The use of biologically based cancer risk models in radiation epidemiology. *Radiat Prot Dosimetry*, 104:367–76, 2003.
- [19] M. Scalerandi; A. Romano; G. P. Pescarmona; P. P. Delsanto; C. A. Condat. Nutrient competition as a determinant for cancer growth. *Physical Review E*, 59:2206–2217, 1999.
- [20] O. Sotolongo-Costa; L. Morales Molina; D. Rodríguez Pérez; J. C. Antoranz; M. Chacón Reyes. Behavior of tumor under nonostationary therapy. *Physica* D, 178:242–253, 2003.
- [21] H. P. de Vladar; J. A. González. Dynamic response of cancer under the influence of immunological activity and therapy. *Journal of Theorical Biology*, 227:335– 348, 2004.
- [22] A. Brú; S. Albertos; J. A. López García-Asenjo; I. Brú. Pinning of tumoral growth by enhancement of the immune response. *Physical Review Letters*, 92:238101–1–238101–4, 2004.
- [23] G. Rivera. Simulación por Computadora del Crecimiento de Tumores Cancerosos Tratados con Inmunoterapia. Tesis de Maestría, Universidad de Puerto Rico, Recinto Universitario de Mayagüez, 2005.
- [24] S.A. Menchón; R. A. Ramos; C. A. Condat. Modeling subspecies and tumorimmune system interaction: Step towards understanding therapy. *Physica A*, 386:713, 2007.
- [25] S.A. Menchón. Modelado de diversas etapas del crecimiento del cáncer y de algunas terapias antitumorales. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Cordoba, Argentina, Mar 2007.
- [26] Pierre Grabar. The historical background of immunology. Basic & Clinical Inmunology, 2:16–27, 1980.
- [27] G. R. Busmester; A. Pezzutto. Color Atlas of Immunology. Georg Thieme Verlag, 2003.
- [28] I. R. Tizard. Inmunology. Saunders College Publishing, fourth edition, 1995.
- [29] E. S. Golub. *Base Celular de la Respuesta Inmunologica*. Editoral Reverte S.A, fourth edition, 1987.
- [30] L. G. Durrant; J. H. Scholefield. Principles of cancer treatment by immunotherapy. Surgery Oxford, 24:55–58, 2006.
- [31] C. Janeway; P. Travers; M. Walport; M. J. Shlomchik. *Immunology Biology*. Garland Science, 6th edition, 2005.
- [32] A. Brú; J. M. Pastor; I. Brú; S. Melle; C. Berenguer. Super rough dynamics on tumor growth. *Physical Review Letters*, 81(18):4008–4011, 1998.