



Trabajo fin de Máster:

Máster en Física Médica

Resolución de modelos
combinados de radio y
quimioterapia para el
tratamiento de pequeños
tumores: *Células Madre
Cancerígenas*

Autor: Juan Pérez Castillo

Tutor: J. Carlos Antoranz Calleja y Daniel Rodríguez Pérez

Institución: Universidad Nacional a Distancia (UNED)

Índice

Resumen

Introducción

Hipótesis de Trabajo y Objetivos

Metodología

Plan de Trabajo

Resultados

Conclusión

Bibliografía

Anexo I

Anexo II

Resumen

La carcinogénesis es un proceso complejo que aparece después de sucederse más de diez mil mutaciones genéticas, en el que se combinan factores físicos y mecánicos para su desarrollo y evolución ([Koutmosakos, 2013](#)). Esta complejidad hace necesario utilizar un enfoque multi-modelo para su correcto estudio, permitiendo no sólo analizarlo en sus etapas de crecimiento y expansión, sino también comprobar su respuesta a posibles tratamientos terapéuticos. El objetivo del modelo híbrido es comprobar el desarrollo y evolución de un tumor maligno sólido sometido a tratamientos de quimio y radioterapias, centrándose en el estudio del estado de sus células madre cancerígenas, durante y después de dichas terapias. Las células madres cancerígenas suponen sólo una pequeña porción del total de células malignas que componen un tumor, estas células tienen unas características que las hacen objetivo primordial para conseguir una erradicación completa del Cáncer ([Enderling, 2009](#)). El modelo presentado no solo demuestra que mientras existan células madre cancerígenas el tumor volverá a crecer y reproducirse, sino que al incluir un modelo de Sistema Vascolar, se verifica que la posición y forma del tumor con respecto a dicho sistema será de suma importancia en el impacto producido al aplicar la radio y quimioterapia. La incorporación de un modelo de oxigenación y nutrientes permite realizar un estudio más exacto del microentorno del tumor, comprobando su respuesta celular en ambientes hipóxicos, diferenciando entre células durmientes y activas, y teniendo una distinta respuesta de dichas células a los tratamientos anteriormente mencionados ([Powathil, 2012 - 2013](#)). Los parámetros de los modelos utilizados han sido recogidos de los trabajos de Enderling (2009) y Powathil (2012, 2013)..

Abstract

The carcinogenesis is a complex process that appears after happening more of ten thousand genetic mutations, in which there are combined physical and mechanical factors for his development and evolution ([Koutmosakos, 2013](#)). This complexity requires the use of a multi-shape approach for his correct study, allowing not only to analyze it in his stages of growth and expansion, but also to verify his response to possible therapeutic treatments. The aim of the hybrid model is to verify the development and evolution of a malignant solid tumor submitted to treatments of chemo and radiotherapies, focusing on the study of the state of his cancer stem cells, during and after the above mentioned therapies. The cancer stem cells suppose only a small portion of the total of malignant cells that compose a tumor, these cells possess certain peculiarities that turn them into the main focus to obtain a complete eradication of the Cancer ([Enderling, 2009](#)). The presented model does not only proves that as long as cancer stem cells exist the tumors will grow back again and will reproduce, but also verifies that by including a Vascular System Model the position and size of the tumor in such system will be extremely important on the result obtained when applying radio and chemotherapy. The incorporation of a model of oxygenation and nutrients allows to realize a more exact study of the microenvironment of the tumor, verifying his cellular response in hypoxic environments, differing between sleeping and active cells, and having a different response of the above mentioned cells to the treatments previously mentioned ([Powathil, 2012 - 2013](#)). The parameters of the used models have been gathered from the works of Enderling (2009) and Powathil (2012, 2013).

Introducción

La modelización de una enfermedad tan compleja y que abarca tantos procesos como es el cáncer obliga a utilizar un enfoque híbrido compuesto, formado por el conjunto de modelos que abarquen todos los aspectos de la enfermedad y de su entorno. La base de este modelo híbrido será el modelo de crecimiento tumoral presentado por Enderling 2009, el cual se fundamenta en la hipótesis de la existencia de un pequeño conjunto de células madre cancerígenas que son las responsables de dos de las características más importantes que definen a cualquier tumor maligno: Evasión de apoptosis y división ilimitada (Enderling, 2009). Este grupo de células son las responsables finales del crecimiento y desarrollo de la masa tumoral, son capaces de dividirse asimétricamente y crear células tumorales normales, con su límite de divisiones y su tiempo definido de vida, o dividirse simétricamente y crear otra célula madre cancerígena inmortal. Por lo que para poder controlar y/o erradicar completamente una masa cancerígena no sólo bastará con eliminar la mayor parte de la masa tumoral, sino que habrá que asegurarse que este pequeño grupo de células madre cancerígenas sean eliminadas, de otra forma el tumor volverá a crecer y a reproducirse (Enderling, 2009). En la literatura existen numerosos modelos de crecimiento celular, ya sean mediante aproximaciones utilizando simulaciones de Monte Carlo, técnicas de mínima energía, leyes de conservación de volumen, resolución de ecuaciones de estado para cada una de las células o para cada uno de los puntos que formen la membrana de trabajo, etc... (Anderson, 2007). La diferencia principal entre ellos es el detalle con el que se define la estructura celular y, por lo tanto, en el número de células con las que el modelo puede trabajar (Anderson, 2007). El modelo híbrido de crecimiento tumoral presentado en este trabajo se caracteriza por presentar características discretas, al considerar cada célula como un elemento independiente con sus propias propiedades, y continuas, ya que la interacción de dichas células con el entorno modifican las características globales de este (se modifican las concentraciones de oxígeno, nutrientes y drogas a medida que el tumor crece, y esas modificaciones también dependerán de la forma en la que tumor crezca).

Una característica importante de cualquier masa cancerígena es que, una vez se alcanza un tamaño determinado, las células tumorales 'luchan' por los recursos del entorno, oxígeno y nutrientes. Esto produce que las células situadas en el centro del Tumor y que están rodeadas de otras células tumorales, entren en un estado de inactividad (Enderling, 2009 – Powathil, 2012) que les otorga unas características especiales, destacándose su mayor resistencia a la radiación y a la quimioterapia, y sus reducidas necesidades de oxigenación y nutrientes (Masunaga, 1991). Después de la aplicación de alguna de las terapias comentadas anteriormente, estas células pueden volver a activarse y a reproducirse, incluso llegando a generar una masa tumoral mayor que la que existía previamente al tratamiento (Enderling, 2009). Cuando la masa tumoral alcanza un tamaño mayor a 1-2 mm de diámetro, esta comienza a generar su propio sistema vascular, angiogénesis tumoral (Koutmasakas, 2013), ya que se confirma que cualquier masa tumoral menor a ese tamaño está totalmente oxigenada sin la necesidad de dicha estructura (Powathil, 2012 – Koutmasakas, 2013). El sistema vascular (tanto el normal como el tumoral) y las mecánicas de flujo de fluidos son un factor determinante en el estudio del Cáncer y sus terapias, ya que su interacción con las distintas estructuras que forman el tejido canceroso tienen un impacto directo en el crecimiento, desarrollo y expansión de dicho tejido, además de en sus posibles tratamientos (liberación de fármacos) (Koutmasakas, 2013).

Dentro de los posibles tratamientos que se utilizan en contra de esta enfermedad, los dos más conocidos son la radio y la quimioterapia, para ambas existen modelos matemáticos que simulan su comportamiento e impacto en una masa tumoral determinada. El modelo lineal cuadrático (LQ) es el más utilizado para modelar la acción de la radioterapia desde el punto de vista terapéutico, ya que sus resultados son los más exactos a los obtenidos, en cuanto a supervivencia celular, al aplicar radiación ionizante a tejido vivo (Bront, 2011). Además, este modelo responde positivamente cuando es aplicado a tejido de rápida proliferación, como son los tumores. El modelo LQ asume que el daño por radiación se produce de dos formas, daño directo y daño acumulado (Liebert, 2004). La literatura divide los modelos de quimioterapia en dos tipos, los que dependen del ciclo celular y los que no, se utilizará un modelo de difusión que aplicará las terapias a través del modelo vascular, afectando a un número determinado de células tumorales que serán eliminadas dependiendo de su estado en el momento de la aplicación (Usher, 1993).

El uso de este modelo pretende analizar la importancia que tiene el grupo de células madre cancerígenas, tanto en su tamaño como en su capacidad de repoblar la masa tumoral después de los tratamientos de quimio y radioterapia. Además se mostrará que la disposición de los elementos del sistema vascular con respecto a dicho grupo de células, determinará su forma de crecimiento y el éxito en la erradicación total del tumor.

Hipótesis de trabajo y Objetivos

La existencia de células madre cancerígenas en todos los tumores no es motivo de discrepancias entre los investigadores a estas alturas, ya que las capacidades de inmortalidad y replicación indefinida no pueden ser llevadas a cabo solamente por células diferenciadas (Enderling, 2009). El motivo de discusión actual es debido a las diferentes opiniones que se dan sobre la cantidad que existen de estas células en cada tumor. En nuestro caso y siguiendo las indicaciones de nuestra referencia principal (Enderling, 2009), supondremos que este grupo de células es minoría con respecto a las otras, de esta forma cobra sentido centrar las terapias en conseguir su eliminación.

El objetivo principal de trabajo es realizar un estudio sobre la supervivencia tumoral basado en el porcentaje de células madre existentes pre y post-tratamiento. Se pretende demostrar la importancia de centrar los tratamientos en este tipo de células para conseguir la total eliminación del Cáncer.

Como objetivo secundario, se verificará que la estructura del tumor y su posición con respecto al sistema vascular serán determinantes para conseguir su total erradicación. Esto será debido a que dicho sistema será el cauce por el que los nutrientes y las diferentes terapias serán aplicadas.

Para conseguirlos se realizarán numerosas simulaciones con distintos niveles de agresividad tumoral (Probabilidad de división simétrica: Enderling-2009) y un tipo de tratamiento combinado con quimio y radioterapia (Powathil, 2013), se almacenarán y se realizarán estadísticas de la evolución tumoral para un número determinado de experimentos, presentando los resultados en apartados posteriores.

Metodología

Como se ha comentado anteriormente, la complejidad y el número elevado de procesos involucrados en el crecimiento, desarrollo y migración de esta enfermedad, hace necesario utilizar un grupo de modelos que trabajen conjuntamente para obtener unos resultados reales. Es por ello que el modelo híbrido presentado combina un modelo de Crecimiento tumoral con células madres (Enderling, 2009), un modelo de difusión de oxígeno y nutrientes (Powathil, 2012), un modelo vascular (Powathil, 2012), un modelo de quimioterapia (Powathil, 2012) y un modelo de radioterapia (Enderling, 2009 – Powathil, 2013). Los veremos a continuación con más detalle.

- **Modelo de Crecimiento Tumoral**

El modelo de crecimiento tumoral de la referencia principal se basa en la teoría de la existencia de una cantidad limitada de células cancerígenas madres en todo tumor cancerígeno, las cuales son capaces de dividirse indefinidamente y de no sufrir apoptosis una vez alcanzado su límite de edad. Este tipo de células son las responsables finales de la proliferación y crecimiento de dichos tumores por lo que su erradicación total provocará su destrucción definitiva. Estas células son capaces de dividirse simétricamente y producir dos células madres o, asimétricamente, y producir una célula madre junto a una no madre, estas últimas (células cancerígenas no madres) tendrán un límite de divisiones predeterminado y morirán una vez alcancen una edad determinada (nº de divisiones) (Enderling, 2009).

El modelo tiene en cuenta las células que entran en inactividad, células que están rodeadas de otras células y no disponen de espacio a su alrededor. Estas células entrarán en un estado de ‘hibernación’ hasta que vuelvan a tener huecos libres, en dicho momento volverán a activarse, crecerán y se dividirán hasta su límite (o hasta que vuelvan a estar rodeadas de otras células). La mayor densidad de células inactivas las encontraremos en el centro del tumor, mientras que la periferia estará saturada de células activas. Esta afirmación dependerá de muchos factores, principalmente de los aportes de oxígeno y nutrientes (se ha demostrado que los tumores menores de 2mm de diámetro están totalmente oxigenados) (Enderling, 2009 – Stanley, 1977 – Koutmosakos, 2013).

El modelo presentado trabajará con un tumor cancerígeno de unos 5mm^2 , por lo que hasta que no se le aplique los modelos de vascularización y difusión no obtendremos resultados reales. Aun así, es necesario asegurar que el modelo proporciona datos correctos antes de combinarlos, para ello se compararan los resultados obtenidos con los presentados por nuestra referencia principal, ya que en su estudio no se utiliza modelo de vascularización.

Para simular el modelo se hará uso del software de cálculo matemático denominado Matlab. Para trabajar con un cáncer de 5mm^2 (50000 células), se utilizará un tablero de 300×300 celdas, cada una de ellas tendrá un tamaño de $10\mu\text{m}$ y podrá albergar una

célula en cada ciclo de tiempo. Como máximo se podría obtener un tumor de 9 mm^2 (90000 células).

La unidad temporal se fija en 90 minutos, ya que dicho tiempo es el necesario para que una célula se desplace una celda ($0,00635 \text{ mm/h}$ – coeficiente de difusión de Fickian) (Enderling, 2009 – Maini, 2004).

Existirán dos tipos de células, cancerígenas madres y no madres, las primeras no tendrán límite de replicación ni morirán por la edad, podrán replicar simétricamente (produciendo dos células madre) o asimétricamente (produciendo una madre y una no madre). Las células cancerígenas no madres tendrán un límite de replicación de 15 divisiones, momento en el cual morirán por apoptosis, y ambas madurarán a los 16 ciclos (En principio consideraremos que la zona de trabajo está totalmente oxigenada, esto cambiará cuando se combine con los modelos de vascularización y difusión) (Powathil, 2012 – Maini, 2004).

Cuando una célula está rodeada de otras células y no tiene celdas a las que desplazarse o dividirse, entra en hibernación, no podrá realizar ninguna acción hasta que vuelva a tener espacio a su alrededor (Cuando se apliquen los modelos de difusión, quimioterapia y radioterapia, este tipo de células tendrán unas respuestas diferentes a las células activas) (Enderling, 2009 – Powathil, 2012)

El proceso comenzará colocando una célula madre cancerígena en el centro de la zona de trabajo, a medida que vayan pasando los ciclos, y de forma totalmente aleatoria en cada ciclo, se irán analizando cada una de las células para, según su estado interno y externo, realizar las acciones comentadas anteriormente. La selección de zona de movimiento y división también se realiza de forma aleatoria en cada iteración.

Las pruebas se realizarán utilizando los datos proporcionados por Enderling 2009, se realizan comparaciones con la información obtenida y con los gráficos proporcionados. Los porcentajes de división simétrica en células madres utilizados serán del 10%, 25%, 50% y 75%. Se han realizado 5 pruebas para cada porcentaje y se han calculado estadísticas de los datos obtenidos. Un ejemplo del crecimiento de un tumor cancerígeno usando la simulación diseñada se presenta a continuación, evidentemente a mayor porcentaje de división simétrica, mayor cantidad de células cancerígenas madre y mayor velocidad de crecimiento:

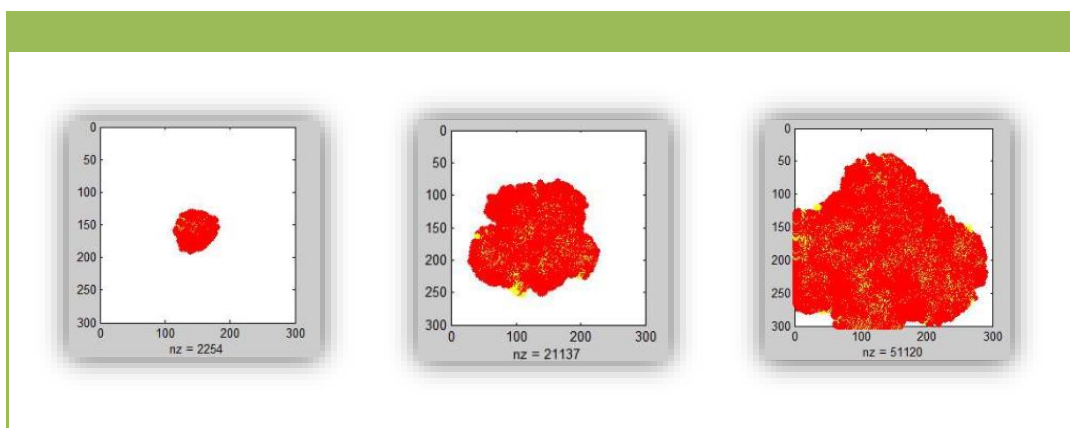


Fig. 1 - Probabilidad división simétrica: 75% - 10 días | 30 días | 45 días – Densidad CM 12%. Se observa como el tumor alcanza los límites del tablero, por lo que para realizar un estudio correcto tendríamos que alcanzar un número menor de células.

- Se presenta el proceso que sigue el algoritmo en cada ciclo mediante un gráfico de flujo de datos:

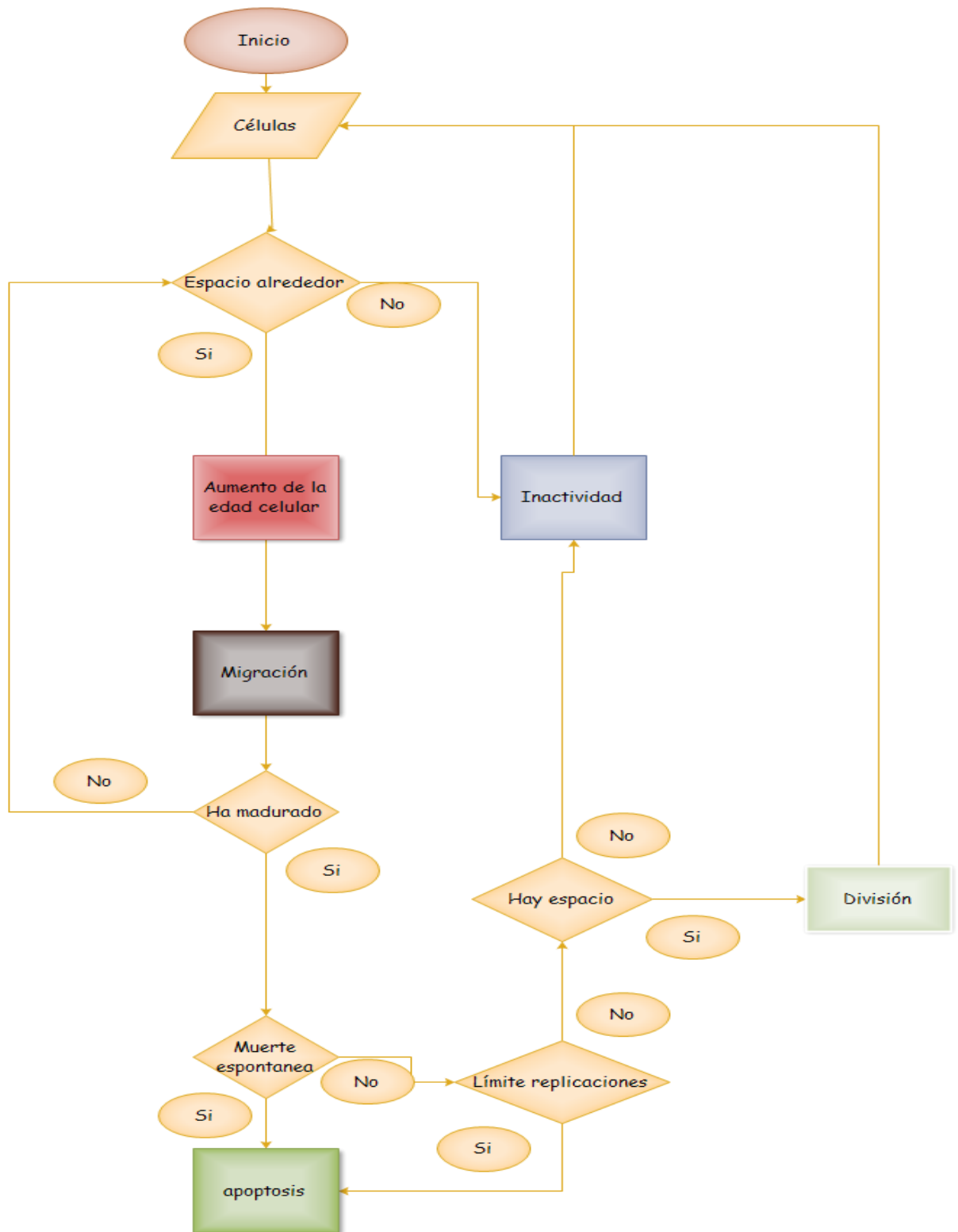


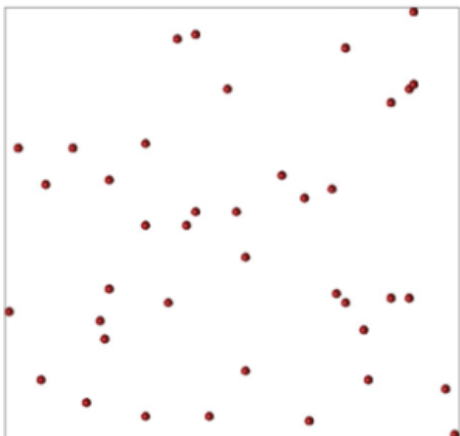
Fig2 - Flujo de datos algoritmo Modelo de Crecimiento

- **Modelo Vascular**

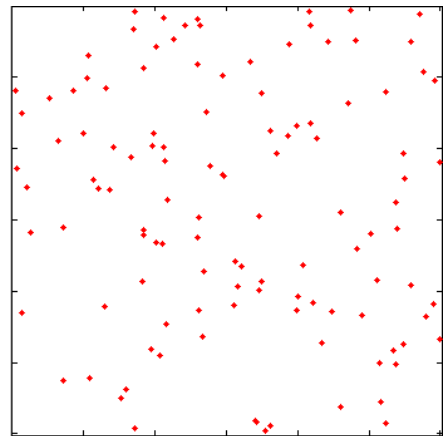
El sistema vascular es el que proporciona nutrientes y oxígeno a toda la actividad metabólica que se produce en el desarrollo de un Cáncer. Es importante destacar que los tumores menores de 2 mm^2 no disponen de sistema vascular, están totalmente oxigenados (Koutsomakos, 2013 – Powathil, 2012), por lo que a partir de dicho tamaño aparecerán núcleos necróticos que activarán la secreción de factores de crecimiento en el espacio extracelular, provocando la aparición de nuevos vasos sanguíneos que suministrarán los elementos necesarios para la expansión del tumor, angiogénesis tumoral (Witsch E1, 2010).

Nuestro modelo híbrido trabaja con tumores pequeños y en sus primeros estadios de crecimiento, por lo que no tendremos en cuenta esta característica, la masa cancerígena se nutrirá mediante la vasculatura existente en el momento de su creación (Enderling, 2009 – Powathil, 2012). El modelo incorpora un sistema de vascularización por el que se obtienen zonas más oxigenadas y, por lo tanto, más propensas al crecimiento y expansión celular. De esta forma y dependiendo del sistema vascular generado, el tumor crecerá con una estructura distinta en cada simulación. Este sistema vascular también será el medio por el que se aplicará la quimioterapia.

Para realizar este modelo se crearán, aleatoriamente, distintos puntos en nuestra malla de trabajo que representarán dichos vasos sanguíneos (como si fueran cortes transversales de los capilares de la zona) (Powathil, 2012). La cantidad de vasos dependerá del número máximo de células en estudio. Siguiendo las indicaciones de Powathil 2012 donde se utilizan una media de 40 vasos sanguíneos para simular un tumor de 4 mm^2 , se calcula que nuestro modelo utilizará entre 90 y 100 vasos sanguíneos (obteniendo una densidad de unos 9 o 10 vasos por mm^2), seleccionados aleatoriamente en cada simulación.



*Fig 3 - Modelo Vascular
Powathil2012 para una malla de
 4 mm^2 – alrededor de 40 vasos
sanguíneos*



*Fig 4 - Modelo Vascular presentado
para una malla de 9 mm^2 –
alrededor de 95 vasos sanguíneos*

- **Modelo de difusión de Oxígeno y Nutrientes**

Para simular la difusión en una malla con células heterogéneas se ha decidido utilizar una técnica de comportamiento difusivo mediante 'repartos'. La cantidad total de nutrientes u oxígeno a repartir se dividirá entre todos los capilares, que se utilizarán como fuente origen de difusión. A partir de ahí, y en forma de espiral, se irán suministrando a cada célula de alrededor una fracción de dicha cantidad, usaremos un valor de fracción consumida para que la difusión no alcance toda la malla. El coeficiente de difusión dependerá de esa fracción: cuanto mayor sea el coeficiente, mayor la fracción.

Se ha modificado el número de ciclos utilizado en el modelo de Crecimiento Tumoral para alcanzar la madurez y la capacidad de reproducirse de las células tumorales, ya que los datos utilizados (16 ciclos de 90 minutos – 24 días – Enderling 2009), consideraban que la zona de estudio estaba totalmente oxigenada (Enderling 2009 –Koutsumakos 2013 - cualquier superficie de hasta 2 mm de diámetro de tejido estará totalmente oxigenada). Para poder simular las diferentes concentraciones de oxígeno que ahora tendremos en nuestro sistema, usaremos un intervalo de entre 13 y 20 (19.5 – 30 horas) ciclos para la maduración de las células, dependiendo del porcentaje de oxígeno (Powathil 2012-2013 utiliza entre 20 y 30 horas). Para obtener unos resultados semejantes a nuestra referencia principal, donde la zona de estudio está casi totalmente oxigenada (ya que las partes más alejadas de los capilares tienen una concentración de entre 0 y 10%), hemos considerado que no puede haber zonas de menos de 2 mm² que no estén totalmente oxigenadas (Koutsumakos, 2013).

El tamaño de los capilares es exactamente igual que el de las células tumorales, 10 μm (Powathil -2012), por lo que ocuparan una celda completa. Su distancia de difusión es de 100 μm (tamaño del radio de la circunferencia de difusión – 10 celdas), y proporcionan una cantidad de oxígeno por segundo igual a: $8,2 * 10^{-3} \text{ mol/s}$ (por lo que en cada ciclo de 90 minutos suministrará 44,82 moles). Según estos datos podrán difundir a 314,15 celdas (área de circunferencia: $\pi * r^2$, con 10 celdas de radio) en un ciclo (90 minutos), redondeamos a 314 celdas – Cada célula consume un 0,31 % del oxígeno suministrado por capilar. El coeficiente de difusión es de: $2 * 10^{-5} \frac{\text{cm}^2}{\text{s}} = 0,2 \text{ mm}^2/\text{s}$. Por lo que, teniendo en cuenta que nuestra ventana de tiempo es de 90 minutos, en cada iteración la capacidad de difusión de los capilares será máxima para nuestra malla de trabajo.

Como la densidad vascular es bastante grande, habrá capilares muy cercanos cuya difusión se complementará produciendo que el total de oxígeno alcance zonas mas alejadas, hasta que se consuma. De esta forma los resultados serán similares a los mostrados en Powathil 2012, donde existen zonas mas alejadas de 100 μm de un capilar donde hay porcentaje de oxígeno - Nos aseguramos que ninguna zona mayor de 2 mm² queda sin oxigenar, Enderling 2009 – Koutsumakos 2013).

Cuando un capilar está rodeado de células tumorales, su capacidad de difusión y la cantidad de oxígeno proporcionado se ven reducidas (En Powathil 2012 se reduce en un

valor de 1.5 en ambos casos - Por lo que nosotros simularemos esta situación haciendo que estas células consuman menos – concretamente un 33,3% menos).

Siguiendo este razonamiento, en cada iteración (en cada ciclo de 90 minutos) se tendrá que volver a calcular todas las concentraciones de oxígeno y nutrientes que existen en ese momento en la malla, ya que estas dependen del número de células y de su situación. Esto producirá un retardo en la simulación, pero los resultados serán mucho más reales y exactos.

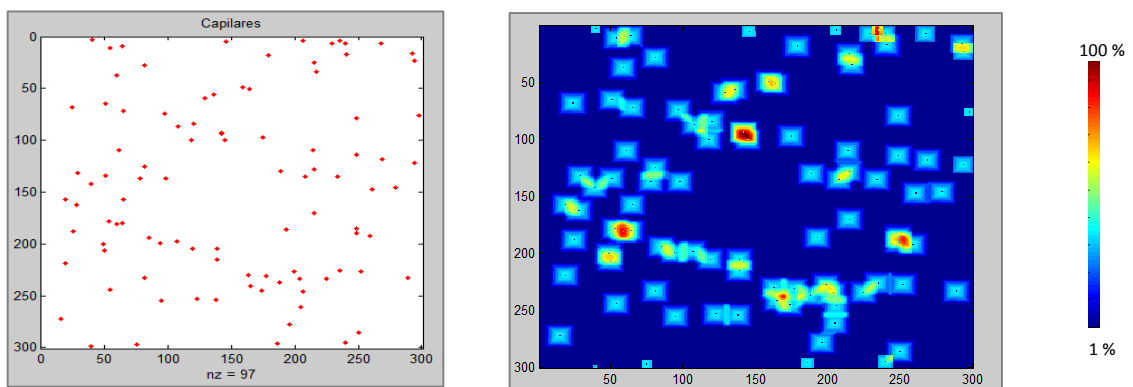


Fig 5 – Difusión y concentración de oxígeno (inferior) para el modelo vascular presentado (superior). La concentración mínima será de 1% para no dejar ninguna zona sin oxigenar

- **Modelo de Quimioterapia**

La modelización matemática en quimioterapia ha demostrado ser muy útil en la mejora de la aplicación de dicho tratamiento y sus resultados, permitiendo un mejor control del crecimiento del tumor y alargando la supervivencia del paciente (Powathil, 2012). El modelo presentado se basa en los datos indicados por Powathil 2012, pero en vez de utilizar ecuaciones diferenciales, haremos uso del modelo de difusión, presentado anteriormente, para aplicar la quimioterapia.

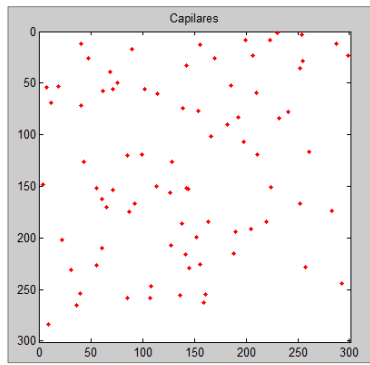
El modelo de crecimiento tumoral presentado no tiene en cuenta el estado en el que se encuentran las células dentro de su ciclo celular, a diferencia del de Powathil 2012, por lo que nos centraremos en un tipo de quimioterapia, Cisplatino, y realizaremos los experimentos utilizando los datos que se proporcionan de ella en Powathil 2012.

El coeficiente de difusión del Cisplatino es de $7.6 * 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$, por lo que conociendo que nuestra ventana de tiempo es de 90 minutos y nuestra malla de trabajo es de 9 mm^2 , en un ciclo alcanzará toda la malla, suponiendo que se inyecte la suficiente cantidad. El tiempo de decaimiento de esta droga es de 1,316 por hora, en Powathil se indica que la quimioterapia dura más de 20 horas en el cuerpo, se usarán 16 ciclos de 90 minutos para eliminar totalmente la droga del cuerpo – 25 horas (Powathil, 2012). Se administrarán dos dosis, el tiempo dependerá de la agresividad del tumor y de las dosis de radioterapia (los tiempos se indican en la sección siguiente)

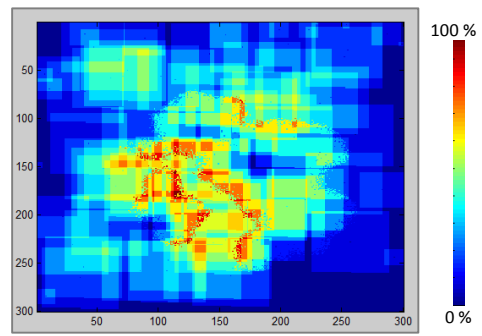
Como en el caso de la difusión de oxígeno y nutrientes, la aplicación de la quimioterapia se ve modificada cuando se difunde a través de células en estado de hibernación, rodeadas de otras células tumorales. Para simular esta situación se seguirán las indicaciones de Powathil 2012, por lo que la difusión de la droga se verá reducida si el vaso sanguíneo se encuentra dentro de la masa tumoral en hibernación, o si la difusión desde un vaso sanguíneo externo alcanza dicha masa tumoral. Se aplicará una reducción en la difusión de un 1.5 (33,3%) de sus capacidades, por lo que habrá más concentración de droga en la zona tumoral (Powathil, 2012). Además, si la célula está hibernando es más quimiorresistente y más quimiosensible cuanto mayor sea la maduración celular.

Antes de aplicar las terapias combinadas de radio y quimioterapia (Powathil, 2013), se realizarán varias pruebas para verificar el modelo presentado de Quimioterapia, se seguirán las indicaciones de Powathil – 2012.

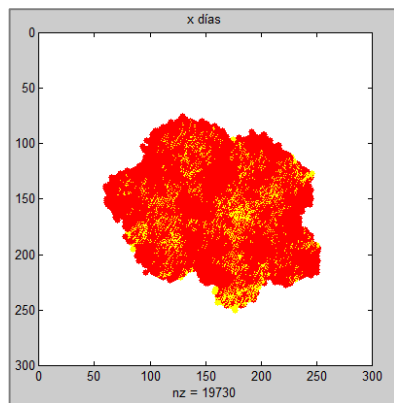
6a



6b



6c



6d

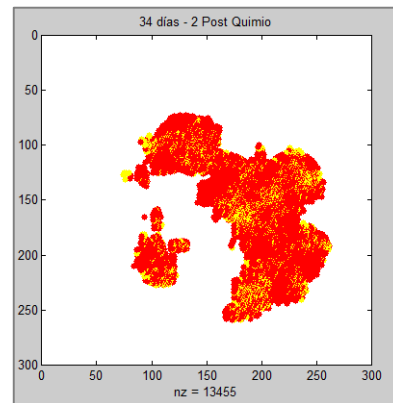


Fig 6 – Ejemplo de acción de quimioterapia. La imagen 6b muestra la concentración de quimioterapia difundida mediante el sistema vascular de la imagen 6a, para el tumor presentado en la imagen 6c. La imagen 6d muestra el efecto de dicha quimioterapia – 1 sola sesión

- **Modelo de Radioterapia**

Existen numerosos estudios sobre la respuesta celular a la radioterapia en entornos homogéneos y heterogéneos (Enderling, 2009). El modelo híbrido desarrollado en este trabajo contiene características heterogéneas en la población celular, ya que se trabaja con células tumorales activas e inactivas, por lo que se usará un modelo lineal cuadrático (LQ) para calcular la probabilidad de supervivencia celular de la masa tumoral después de aplicar una dosis de radiación.

El modelo LQ tradicional se presenta como (Powathil, 2013 – Enderling, 2009):

$$S(D) = e^{-\epsilon(\alpha D + \beta D^2)}$$

El resultado proporciona la fracción de células supervivientes después de la aplicación de la dosis D , siendo $D = n * d$, con 'n' igual al número de fracciones de la dosis 'd'. Siguiendo las indicaciones de Enderling 2009, usaremos los datos típicos de radiosensibilidad obtenidos para un cáncer de mama, $\alpha = 0.3$ y $\beta = 0.03$. El valor de ϵ será mayor que 1 cuando se aplique a células activas y menor cuando el objetivo sean las células inactivas (las que están rodeadas de otras células tumorales). De esta forma aplicamos un factor para modelar la diferencia de estados de nuestro modelo de crecimiento tumoral.

Para la aplicación de la radioterapia seguiremos las indicaciones de Powathil 2013, ya que su modelo trabaja con ambas terapias, mientras que en Enderling 2009 sólo se trabaja con Radioterapia y el número de células que desarrolla (100000), es mucho mayor que el de Powathil. En Powathil 2013 se siguen diferentes técnicas de aplicación, combinadas con tiempos dependientes de la agresividad del tumor utilizado:

- Terapia 1: Primero se aplica una dosis de radioterapia de 2.5Gy, diariamente durante una semana (5 días – cada 16 ciclos hasta 80 ciclos). Luego se aplican dos dosis de quimioterapia separadas por un tiempo de 30 horas (1,25 ciclos) (Powathil, 2013).
- Terapia 2: La segunda forma combina ambas terapias, primero se aplica una sesión de quimioterapia, a continuación la radioterapia y, finalmente, la última sesión de quimioterapia.
- Terapia 3: El tercer método aplica ambas terapias al mismo tiempo. Primero hace uso de la quimioterapia, y antes de que se consuma aplica la radioterapia. La segunda sesión de quimioterapia se inyecta antes de que finalice la radioterapia.

Se presentarán los resultados para cada terapia combinada, se comprobará si aún existen células madre cancerígenas, si es así el cáncer sobrevivirá, en caso contrario las

terapias habrán tenido éxito y el Cáncer será erradicado. Se analizará la dependencia que existe entre la forma del tumor y el sistema vascular, y su relación con la efectividad de las terapias.

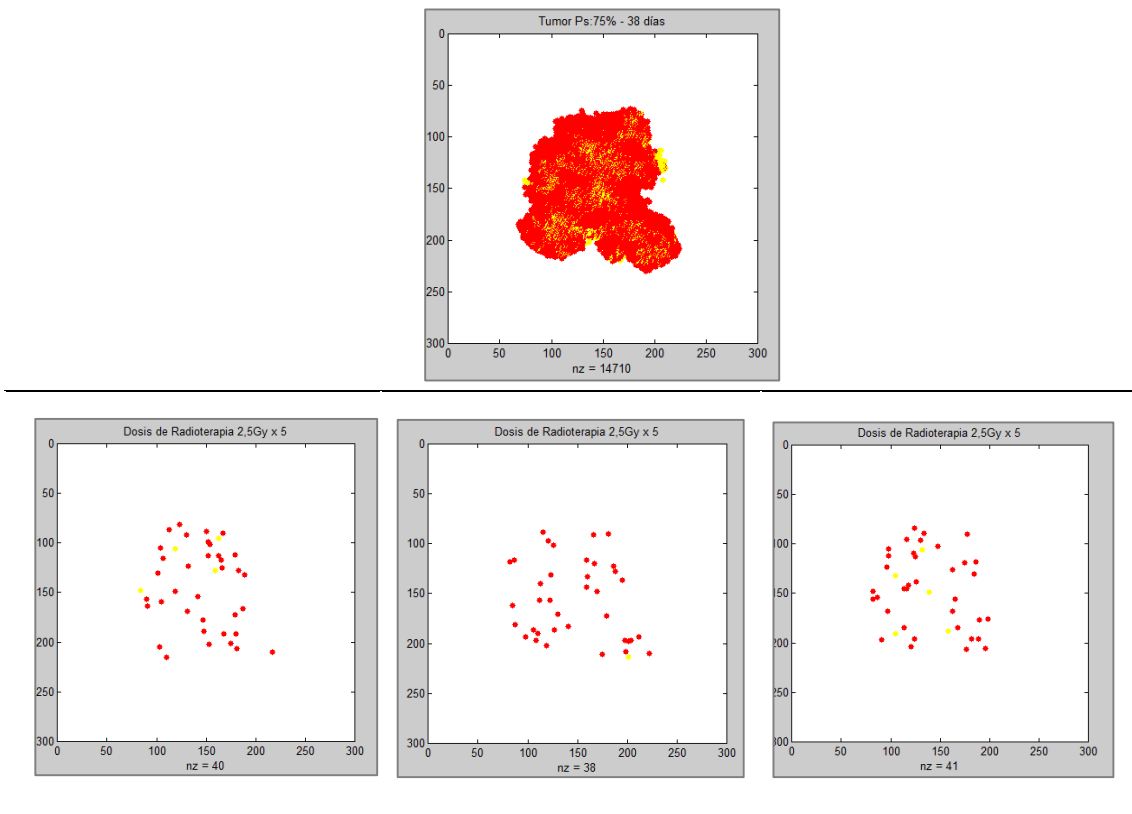


Fig 7 – Ejemplo de acción de Radioterapia sobre un tumor con PS: 75%. Se muestran tres resultados distintos de la aplicación de cinco dosis de 2.5Gy en días sucesivos. Las imágenes confirman la aleatoriedad de los resultados. Las células de color rojo se corresponden con células tumorales no madres, mientras que las amarillas serán células madre cancerígenas supervivientes.

- **Reglas de funcionamiento Terapias Modelo Híbrido**

Como se ha comentado anteriormente, el objetivo principal de trabajo es realizar un estudio sobre la supervivencia tumoral basado en el porcentaje de células madre existentes pre y post-tratamiento. Se pretende demostrar la importancia de centrar los tratamientos en este tipo de células para conseguir la total eliminación del Cáncer.

El modelo híbrido utilizado trabaja con tumores de distinta agresividad (Enderling, 2009), a los que se le aplican diferentes quimio y radioterapias (Powathil 2012, 2013). Se procurará que el tamaño de los tumores sea el mismo al aplicar las terapias, aproximadamente entre 10000 y 20000 células (así respetamos el límite de tamaño para la generación de angiogénesis tumoral – Enderling, 2009 – Koutsomakos, 2013).

Se presenta una tabla con los tiempos necesarios para alcanzar dicho tamaño:

Tiempo/Agresividad	PS 10% (días/ciclos)	PS 25% (días/ciclos)	PS 50% (días/ciclos)	PS 75% (días/ciclos)
Alcanza entre 10000 - 20000 células	425 – 6801	209,3 – 3350	77,5 – 1240	33,3 – 534

Tabla1: Tiempos en alcanzar un número de células comprendido entre 10000 y 20000 unidades. Los tiempos dependen de la probabilidad de división simétrica (PS) de cada tumor. A mayor PS, mayor agresividad y menor tiempo para alcanzar dicha cifra.

Las pruebas de las dosis de quimioterapia se han basado en Powathil – 2012, por lo que se aplicarán dos dosis con una diferencia temporal de 84 horas (54 ciclos de 90 minutos). Cada dosis durará en el cuerpo alrededor de 24 horas (16 ciclos), por lo que durante ese tiempo seguirá produciendo su efecto, reduciendo su concentración poco a poco. La primera dosis se producirá cuando el tumor alcance un tamaño comprendido entre 10000 y 20000 células:

Quimio/Agresividad	PS 10% (días/ciclos)	PS 25% (días/ciclos)	PS 50% (días/ciclos)	PS 75% (días/ciclos)
1ª Dosis	425 – 6801	209,3 – 3350	77,5 – 1240	33,3 – 534
2ª Dosis	428,3 – 6855	212,7 – 3404	80,8– 1294	36,7 – 588

Tabla2: Tiempos de aplicación de las dos dosis de Quimioterapia (Powathil – 2012). Los tiempos dependen de la PS del tumor que se esté tratando

La terapia combinada se han aplicado utilizando los tiempos utilizados en Powathil (Powathil, 2013), con la única diferencia que los tiempos de inicio dependen del crecimiento

de cada tumor (Enderling, 2009), por lo que las terapias comenzarán cuando el tamaño del tumor este comprendido entre 10000 y 20000 células (Aproximadamente – en algunos ejemplos la cantidad de células es mayor). El tratamiento de radioterapia se aplicará fraccionado durante 5 días (80 ciclos) a 2,5 Gy por sesión (Powathil, 2013).

- Terapia combinada – Sesión de Radioterapia seguida de dos sesiones de Quimioterapia (Tiempo entre quimioterapias de 20 ciclos – 30 horas) (Powathil, 2013):

<i>Tiempo</i>	Sesión Radioterapia Comienzo - Fin	1ª Sesión Quimioterapia	2ª Sesión Quimioterapia
PS : 10%	425– 430 días 6800 - 6880 ciclos	430,3 días 6885 ciclos	431,55 días 6905 ciclos
PS : 25%	209,3 – 214,3 días 3350 – 3430 ciclos	214,6 días 3435 ciclos	215,85 días 3455 ciclos
PS : 50%	77,5 – 82,5 días 1240 – 1320 ciclos	82,8 días 1325 ciclos	84,05 días 1355 ciclos
PS : 75%	33,3 - 38,3 días 534 – 614 ciclos	38,6 días 619 ciclos	39,85 días 639 ciclos

Tabla 3: Tiempos de aplicación de la primera terapia combinada (Powathil – 2013). Los tiempos dependen de la PS del tumor que se esté tratando

Plan de Trabajo

Como se ha comentado anteriormente, el proyecto está basado principalmente en el trabajo realizado por Enderling (2009), donde se desarrolla un modelo de crecimiento tumoral y uno de radioterapia para demostrar su teoría. Nuestro modelo híbrido añade varios modelos utilizados por Powathil (2012-2013) a los dos comentados anteriormente (modelo vascular, modelo de difusión y modelo de quimioterapia), de forma que los resultados obtenidos sean más exactos y reales.

El modelo de crecimiento tumoral, basado en nuestra referencia principal, ha sido modificado para poder adecuarse al modelo vascular introducido. El modelo inicial establecía un tiempo de maduración fijo para todas las células, al introducir el modelo vascular aparecen distintas zonas que difieren en las concentraciones de oxígeno y nutrientes, por lo que se selecciona un rango de valores de maduración que dependerá de las concentraciones que se sucedan en cada ciclo de tiempo, una versión alternativa al utilizado por Powathil (2012-2013).

El modelo más innovador del Proyecto es el modelo de difusión de nutrientes y oxígeno, modelo que también se utiliza para la aplicación de la Quimioterapia. Se ha desarrollado una técnica de comportamiento difusivo mediante 'repartos' en forma de espiral, el cual difunde a partir de cada uno de los capilares existentes en el modelo vascular calculado para cada simulación. Las concentraciones se solapan cuando dos capilares están más cercanos que las distancias de difusión de los productos (oxígeno o quimioterapia), haciendo que puedan existir zonas donde las concentraciones sean muy altas (todo ello dependerá de la aleatoriedad del resultado del modelo vascular). Además, cuando se alcanzan los límites del tablero, las concentraciones siguen difundiendo como si el tablero fuera mayor, de forma que los resultados no se ven comprometidos por los límites de la zona de trabajo cuando los capilares aparecen demasiado cerca de dichos límites. En cada célula recorrida por el modelo se deja una porción del producto que difunde, calculado a partir de la distancia máxima de difusión y de la concentración existente en dicha zona. Esta proporción es la que determinará la edad de maduración (cuando el producto es oxígeno y nutrientes) y la posible eliminación de la célula (cuando se utiliza quimioterapia).

El resto de modelos no se han modificado, se han intentado desarrollar siguiendo las indicaciones de las referencias comentadas anteriormente, pero teniendo en cuenta que en los artículos no se explica detalladamente como se han realizado, por lo que la verificación de su correcto funcionamiento se garantiza gracias a los resultados obtenidos, que tienen que ser lo más parecido posible a los recogidos en Enderling -2009 y Powathil - 2012, 2013.

Resultados

- **Modelo de Crecimiento Tumoral - Modelo Vascular y de difusión**

El modelo de Crecimiento Tumoral es la base de nuestro modelo híbrido, por lo que es de suma importancia asegurarse de que su funcionamiento es el correcto. Para ello realizaremos una comparación de los resultados obtenidos con los indicados en Enderling, 2009.

Las curvas de crecimiento tumoral de cada modelo son las siguientes:

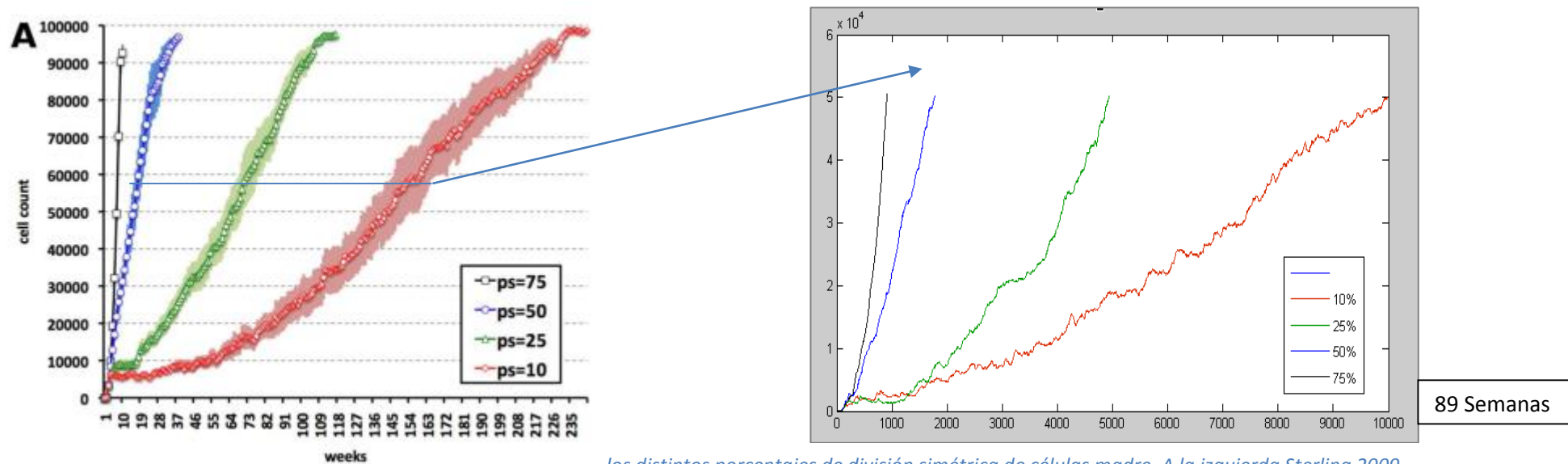


Fig 6. Curvas de crecimiento tumoral, usando los distintos porcentajes de división simétrica de células madre. A la izquierda Sterling 2009 (sin modelo vascular). A la derecha resultados obtenidos por nuestro modelo

Se observa que las curvas crecen con pendientes diferentes pero guardando la misma forma funcional, la única diferencia es que el modelo presentado tiene un crecimiento más lento. Para verificar estos resultados se mostrará una tabla con datos numéricos.

Nº Células total Tiempo Porcentaje CMC	Modelo Enderling 2009	Con modelo Vascular
Ps: 10%	100.000 - 3 años - 0.35%	50.000 - 2 años - 0,30%
Ps: 25%	100.000 - 430 días - 1,1%	50.000 - 308 días - 0,84%
Ps: 50%	100.000 - 260 días - 2,65%	50.000 - 116 días - 2,6%
Ps: 75%	100.000 - 58 días - 15.6%	50.000 - 52 días - 11%

Tabla 4 Comparación de tiempos y porcentajes de células madre cancerígenas (CMC) de los modelos de Crecimiento Tumoral de Enderling - 2009 y el modelo híbrido presentado

Los porcentajes de crecimiento son prácticamente idénticos, la mayor lentitud del modelo presentado puede deberse a la inclusión del modelo Vascular y de Difusión (Powathil, 2012), ya que en Enderling, 2009 no se usan este tipo de modelos y la malla de trabajo está totalmente oxigenada.

La simulación mantiene la parte activa del tumor en la periferia, mientras que en el centro se acumulan las inactivas, junto a la mayor parte de células madre cancerígenas, por lo que también se cumplen las condiciones de Enderling, 2009:

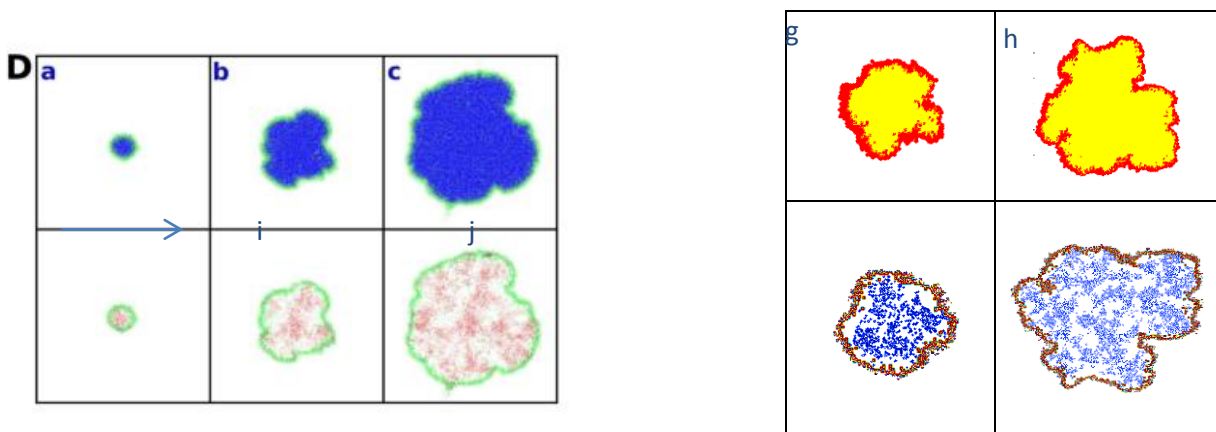


Fig 9 – Las imágenes a, b y c representan el tumor desarrollado por Enderling -2009 en diferentes estados de crecimiento, en verde se observan las células activas y en azul las inactivas (se corresponde con la teoría al encontrarse las inactivas en el centro de la masa). Las imágenes g y h pertenecen a nuestro modelo híbrido, representando en rojo las células activas y en amarillo las inactivas. Las imágenes d, e y f representan la densidad de células madre en color rojo y en verde las células activas. Las imágenes i y j desarrollados en nuestro modelo representan en marrón las células activas y en azul las células madre cancerígenas. Se observa su similitud.

Con estos datos se puede validar el funcionamiento del modelo de Crecimiento Tumoral basado en Enderling – 2009, con la inclusión de los modelos vasculares y de difusión presentados en Powathi - 2012. Algunos ejemplos totalmente aleatorios de crecimiento tumoral se presentan a continuación (hay que tener en cuenta que, como el crecimiento es totalmente incierto y trabajando con un número de células tan grande en comparación con la malla de trabajo, en algunos casos el tumor alcanzará los bordes de dicha malla).

- Ejemplos de desarrollo tumoral para las distintas probabilidades vistas en la simulación:

75% Probabilidad división simétrica

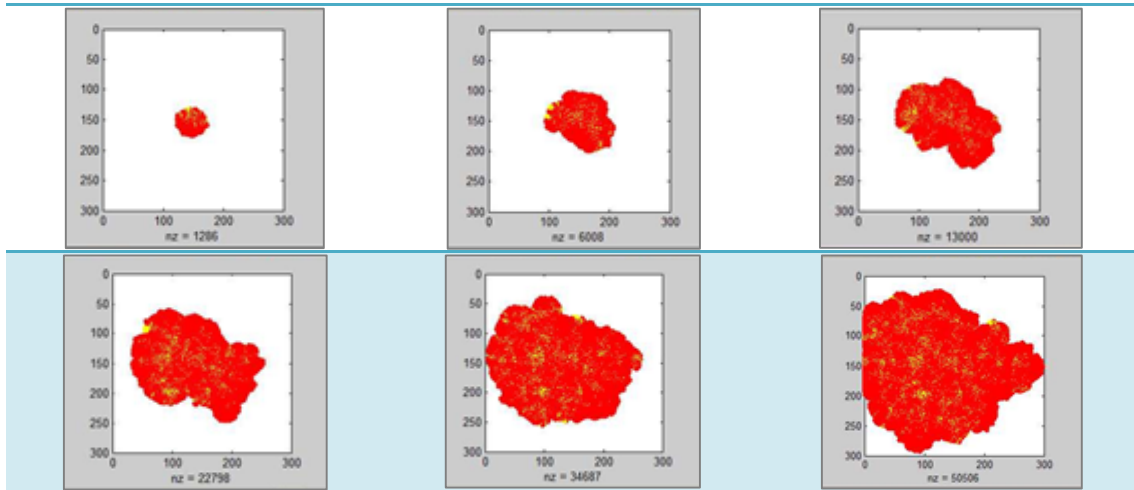


Figura 10 – Desarrollo tumoral usando el modelo de crecimiento Tumoral desarrollado para una P_s de 75%. Se representan 6 etapas temporales (10, 20, 30, 40, 50 y 75 días) de crecimiento de un tumor aleatorio hasta alcanzar un tamaño mayor de 50000 células. Se observa la gran cantidad de células madre existentes.

50% Probabilidad división simétrica

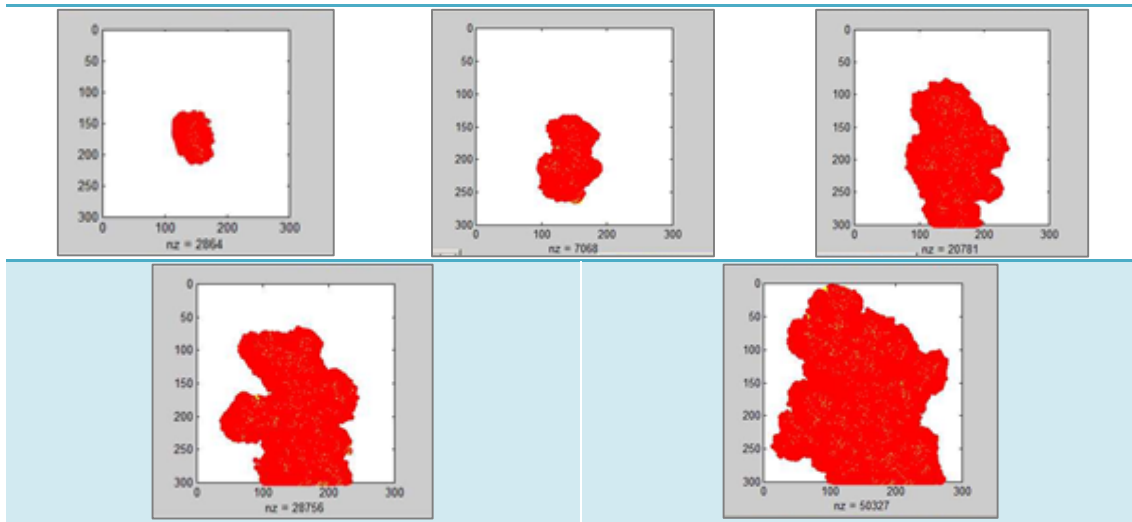


Figura 11– Desarrollo tumoral usando modelo de crecimiento Tumoral para una P_s de 50%. Se representan 5 etapas temporales (20, 60, 100, 120 y 187.5 días) de crecimiento de un tumor aleatorio hasta alcanzar un tamaño mayor de 50000 células. Todavía se distinguen gran cantidad de células madre tumorales.

25% Probabilidad división simétrica

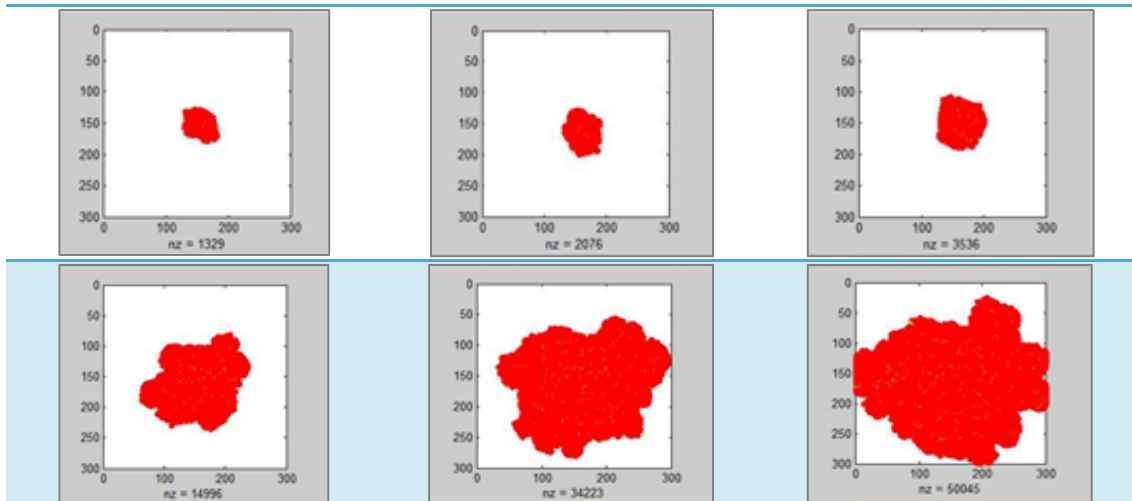


Figura 12 – Desarrollo tumoral usando modelo de crecimiento Tumoral para una P_s de 25%. Se representan 6 etapas temporales (50, 100, 150, 225, 325 y 490 días) de crecimiento de un tumor aleatorio hasta alcanzar un tamaño mayor de 50000 células. La cantidad de células madre ha disminuido considerablemente.

10% Probabilidad división simétrica

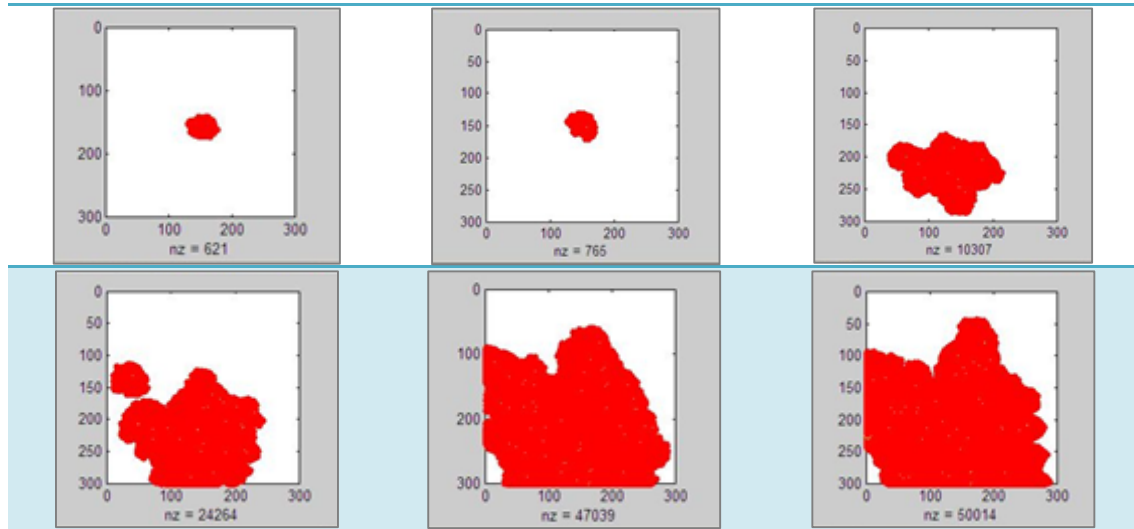


Figura 13 – Desarrollo tumoral usando modelo de crecimiento Tumoral para una P_s de 10%. Se representan 6 etapas temporales (40, 80, 376, 625, 812 y 1095 días) de crecimiento de un tumor aleatorio hasta alcanzar un tamaño mayor de 50000 células. La población de células madre es mínima.

- **Modelo de Crecimiento Tumoral - Modelo Vascular y de difusión - Modelo de Quimioterapia**

Los resultados obtenidos de porcentajes de células tumorales madre supervivientes, después de la aplicación de las dos dosis de quimioterapia, se presentan a continuación. Se han realizado 5 simulaciones para cada tipo de tumor:

- **Porcentaje de división simétrica: 10%**

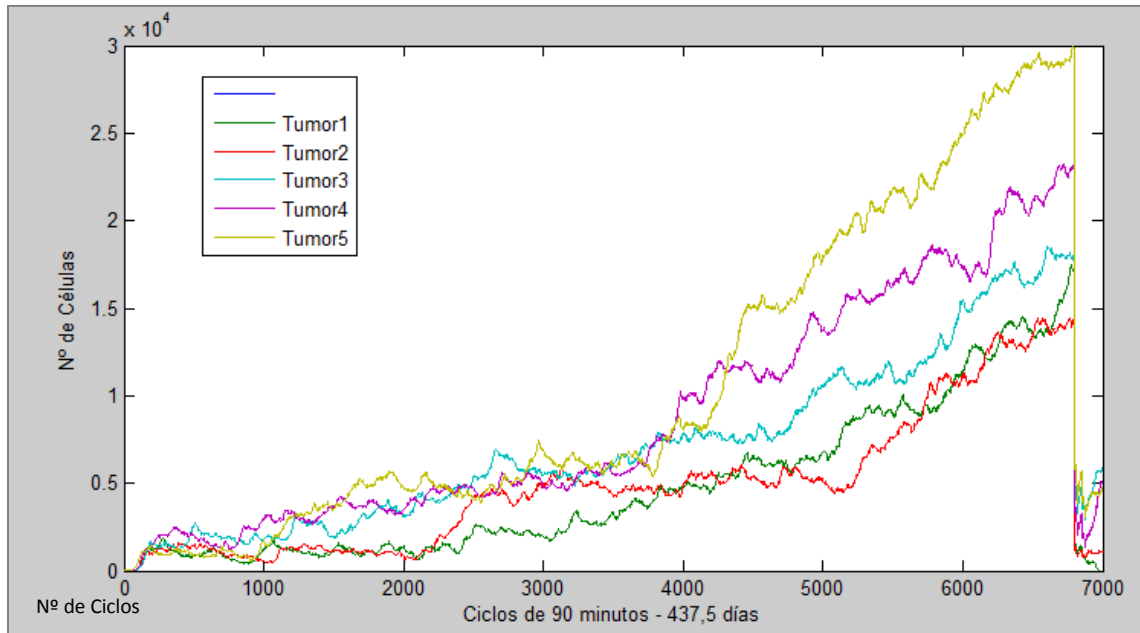
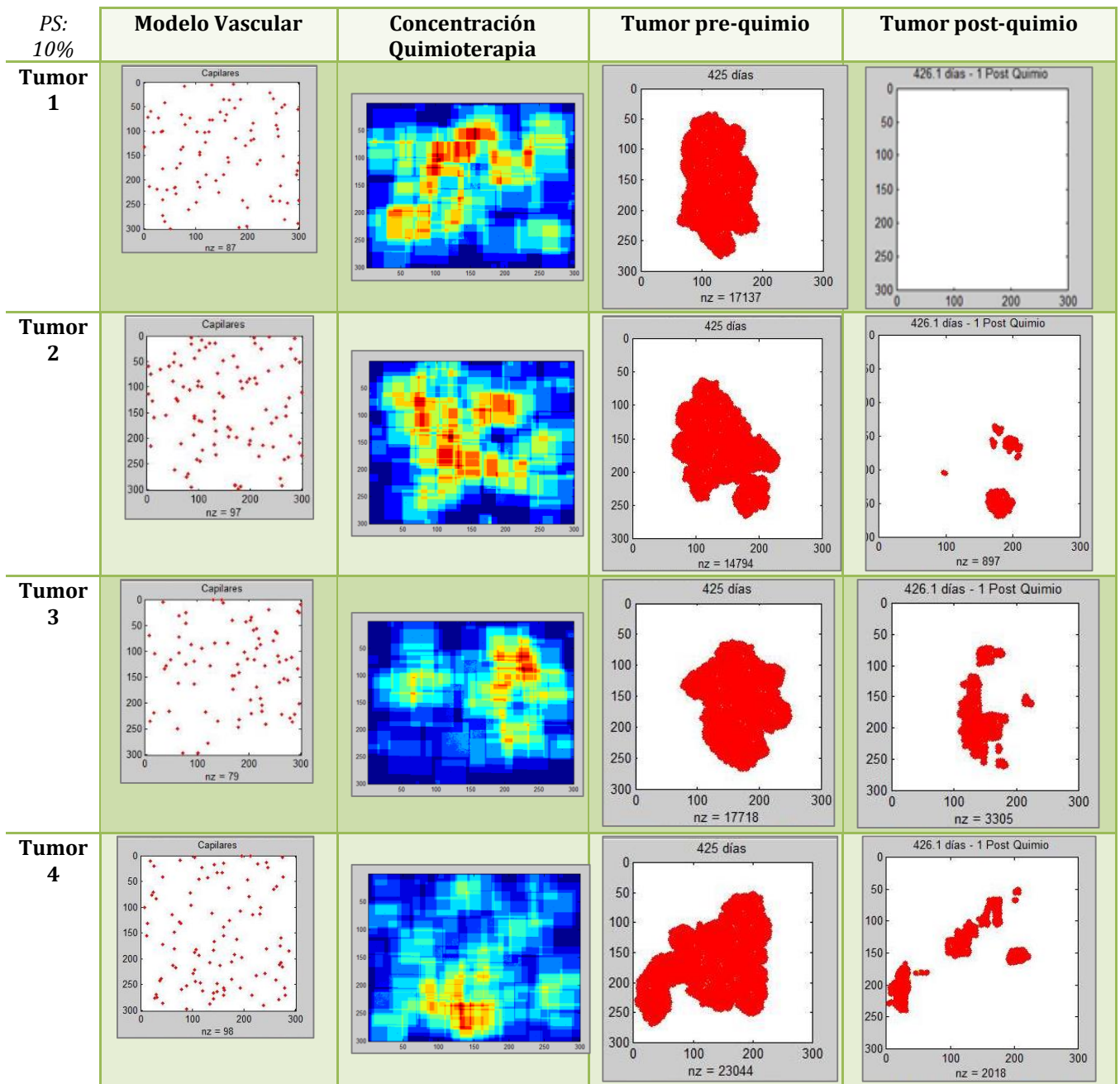


Figura 14 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 10%. La aplicación de la quimioterapia se produce al mismo tiempo. Se observa la destrucción de células debido a las dos dosis de Quimioterapia. La terapia tiene una duración de 16 ciclos, por lo que si expandiéramos el eje horizontal, la caída en número de células sería más suave gráficamente.

PS: 10%	Pre-quimio 1 CM – CT - %	Post-quimio1	Pre-quimio2	Post-quimio2	Final
Tumor 1	44 – 17137 0.25%	0 - 956 0%	0 - 1168 0%	0 - 658 0%	0 - 0 0%
Tumor 2	32 – 14794 0.21%	1 – 897 0.11%	1 – 1163 0.08%	1 – 715 0.13	1 – 1076 0.09%
Tumor 3	48 – 17718 0.27%	11 – 3305 0.33%	12 – 4806 0.24%	10 – 2959 0.33	14 – 5904 0.23%
Tumor 4	68 – 23044 0.29%	8 – 2018 0.39%	11 – 3185 0.34%	6 – 1403 0.42	8 – 5188 0.15%
Tumor 5	76 – 29794 0.25%	9 – 3935 0.22%	9 – 5743 0.15%	3– 3133 0.09%	3 – 4803 0.10%

Tabla 5: Porcentajes de células madre en diferentes momentos de la simulación.
CM: Células Madre | CT: Células tumorales

Se observa que las dos dosis de Quimioterapia destruyen la mayor parte de los tumores en las cinco simulaciones. Destacar el caso en el que queda una sola célula madre cancerígena y el tumor sobrevive y vuelve a crecer. Esto demuestra la importancia de la eliminación de todas las células madre tumorales para conseguir la erradicación real de la masa cancerígena (Enderling, 2009). Para verificar la importancia de la forma y posición de la masa tumoral con respecto a los capilares de la simulación, se mostrarán las concentraciones de quimioterapia (que dependen de la posición de los vasos sanguíneos) junto a la masa cancerígena para comprobar la eliminación de las zonas con mayor concentración.



Tumor 5

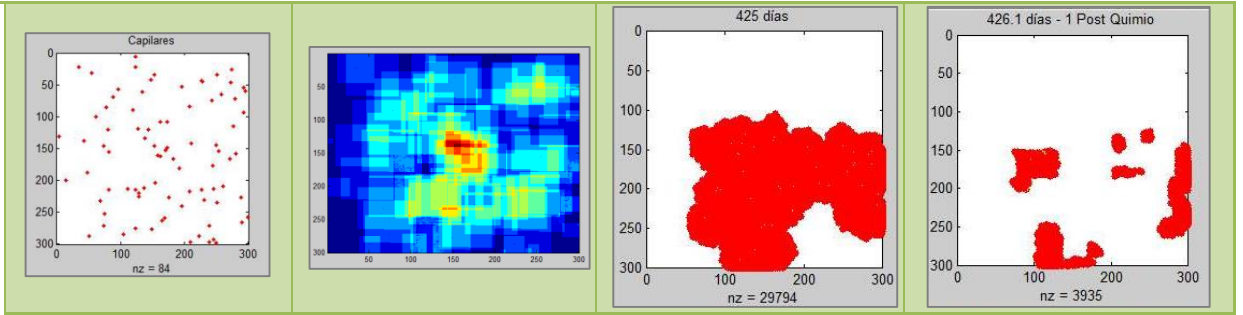


Tabla 6 – Importancia de la estructura y posición de la masa tumoral con respecto a la distribución capilar. Se representan 4 imágenes para 5 tumores diferentes: Capilares – Concentración de Quimioterapia – Tumor Pre tratamiento – Tumor Post tratamiento. La mayor concentración se produce en las zonas de mayor densidad capilar donde exista masa tumoral. Se observa la eliminación tumoral en las zonas de mayor concentración.

- **Porcentaje de división simétrica: 25%**

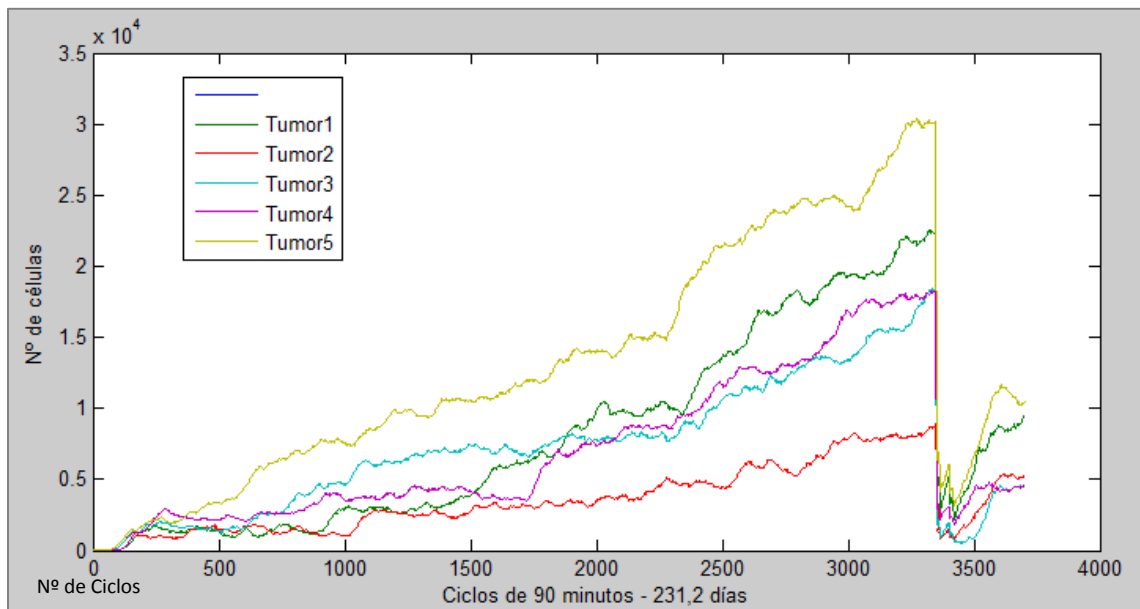


Figura 16 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 25%. La aplicación de la quimioterapia se produce al mismo tiempo. Se observa la destrucción de células debido a las dosis de Quimioterapia. La terapia tiene una duración de 16 ciclos, por lo que si expandiéramos el eje horizontal, la caída en número de células sería más suave gráficamente.

PS: 25%	Pre-quimio 1 CM – CT - %	Post-quimio1	Pre-quimio2	Post-quimio2	Final
Tumor 1	150 – 22360 0.67%	21 - 2954 0.71%	16- 5193 0.50%	16 - 2150 0.74%	32 – 9594 0.33%
Tumor 2	51 – 8877 0.57%	6 – 875 0.68%	8 – 1466 0.54%	9 – 840 1.07%	22 – 5143 0.42%
Tumor 3	159 – 18717 0.84%	6 – 986 0.60%	10 – 1936 0.51%	8 – 601 1.33%	26 – 4476 0.58%
Tumor 4	114 – 18444 0.61%	9 – 2221 0.40%	11 – 1807 0.35%	10 – 1403 0.55%	20 – 4482 0.44%

Tumor 5	251 – 30078 0.83%	36 – 4243 0.84%	44 – 6053 0.72%	27– 3164 0.85%	51 – 10473 0.48%
----------------	----------------------	--------------------	--------------------	-------------------	---------------------

Tabla 7: Porcentajes de células madre en diferentes momentos de la simulación.

CM: Células Madre | CT: Células tumorales

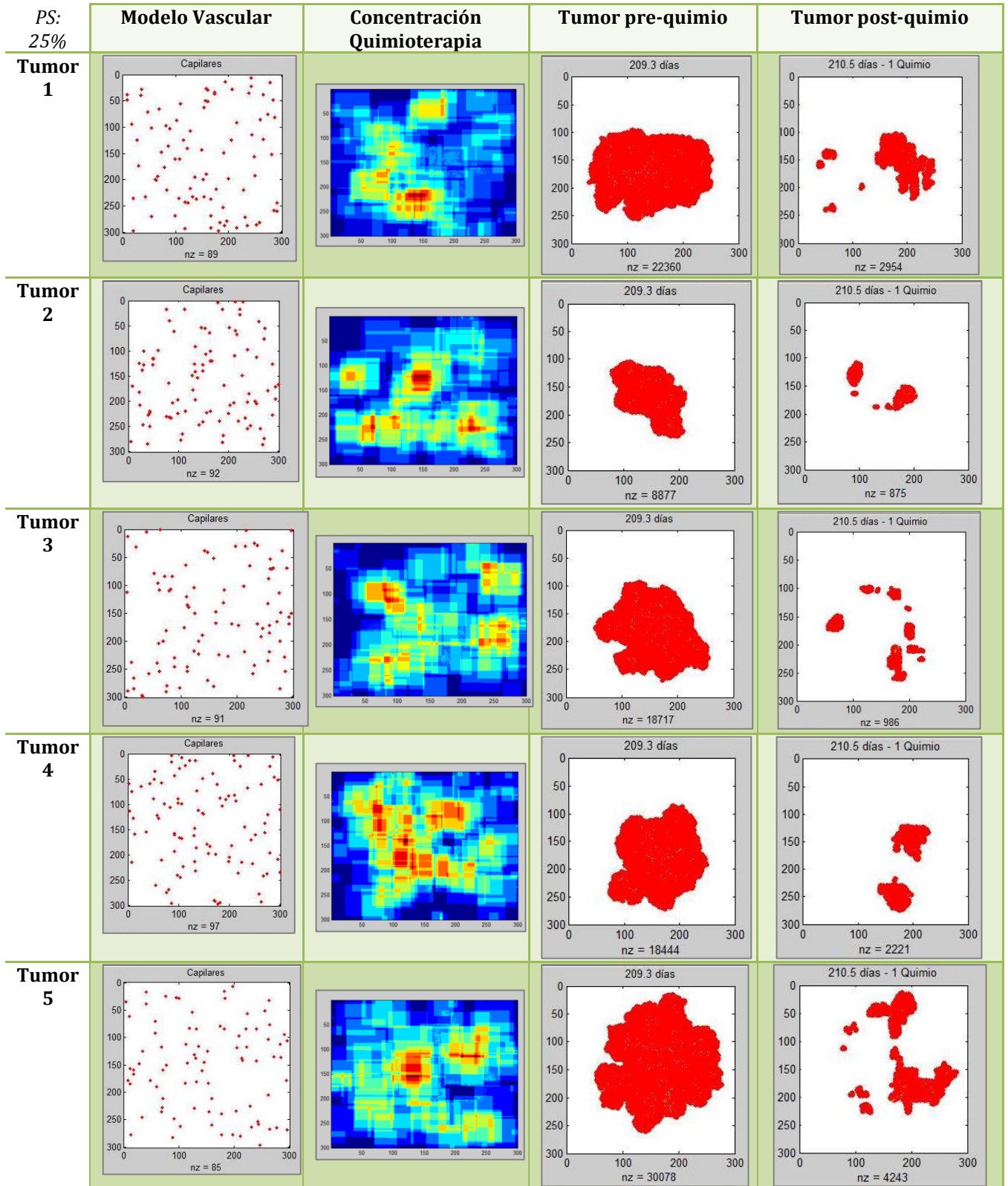


Tabla 8 – Importancia de la estructura y posición de la masa tumoral, con respecto a los capilares de cada simulación. Se representan 4 imágenes para 5 tumores diferentes: Capilares – Concentración de Quimioterapia – Tumor Pre tratamiento – Tumor Post tratamiento. La mayor concentración se produce en las zonas de mayor densidad capilar donde exista masa tumoral. Se observa la eliminación tumoral en las zonas de mayor concentración.

- **Porcentaje de división simétrica: 50%**

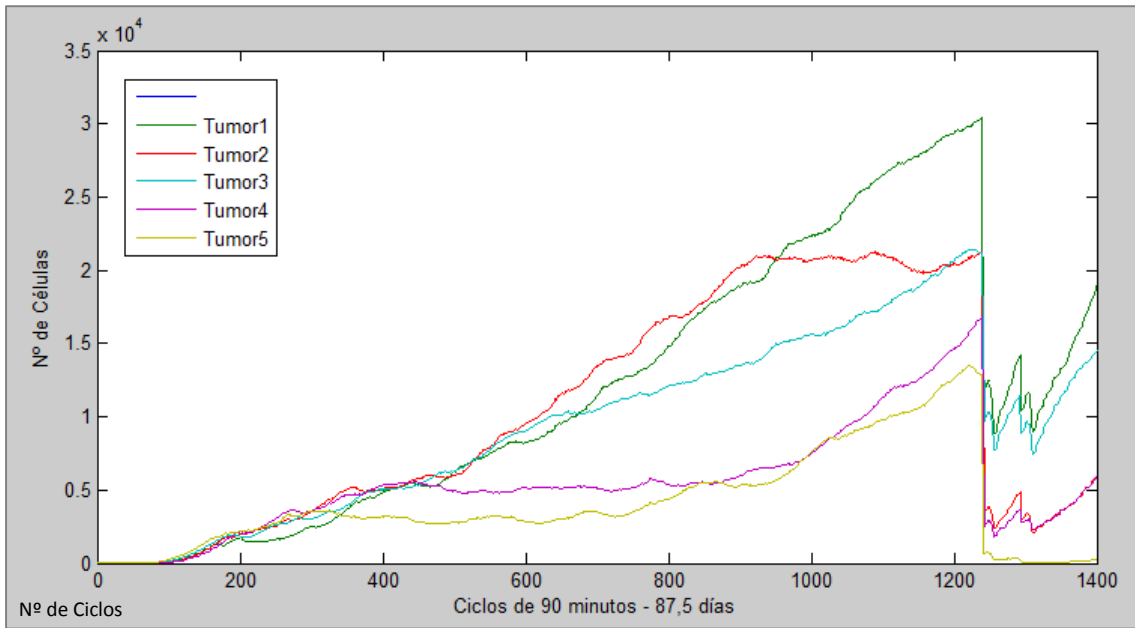
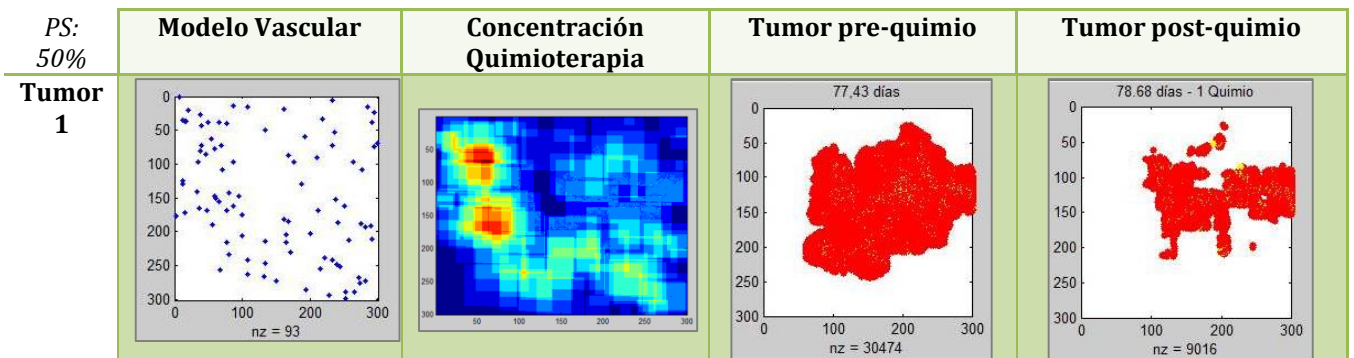


Figura 17 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 50%. La aplicación de la quimioterapia se produce al mismo tiempo. Se observa la destrucción de células debido a las dos dosis de Quimioterapia. La terapia tiene una duración de 16 ciclos, por lo que si expandiéramos el eje horizontal, la caída en número de células sería más suave gráficamente.

PS: 50%	Pre-quimio 1 CM – CT - %	Post-quimio1	Pre-quimio2	Post-quimio2	Final
Tumor 1	835 – 30474 2.7%	344 - 9016 3.8%	368 - 10502 3.5%	351 - 9031 3.8%	708 – 18964 3,7%
Tumor 2	593 – 21265 2.7%	84 – 2475 3.4%	90 – 3014 2.9%	70 – 2147 3.2%	247 – 5872 4.2%
Tumor 3	542 – 21207 2.5%	291 – 7873 3.6%	314 – 8896 3.5%	301 – 7486 4.0%	564 – 14531 3.8%
Tumor 4	474 – 16751 2.8%	62 – 1887 3.2%	90 – 2755 3.2%	95 – 2305 4.1%	240 – 5904 4.0%
Tumor 5	267 – 12927 2.0%	3 – 220 1.3%	3 – 64 4.3%	0 – 12 0.0%	0 – 0 0.0%

Tabla 9: Porcentajes de células madre en diferentes momentos de la simulación.

CM: Células Madre | CT: Células tumorales



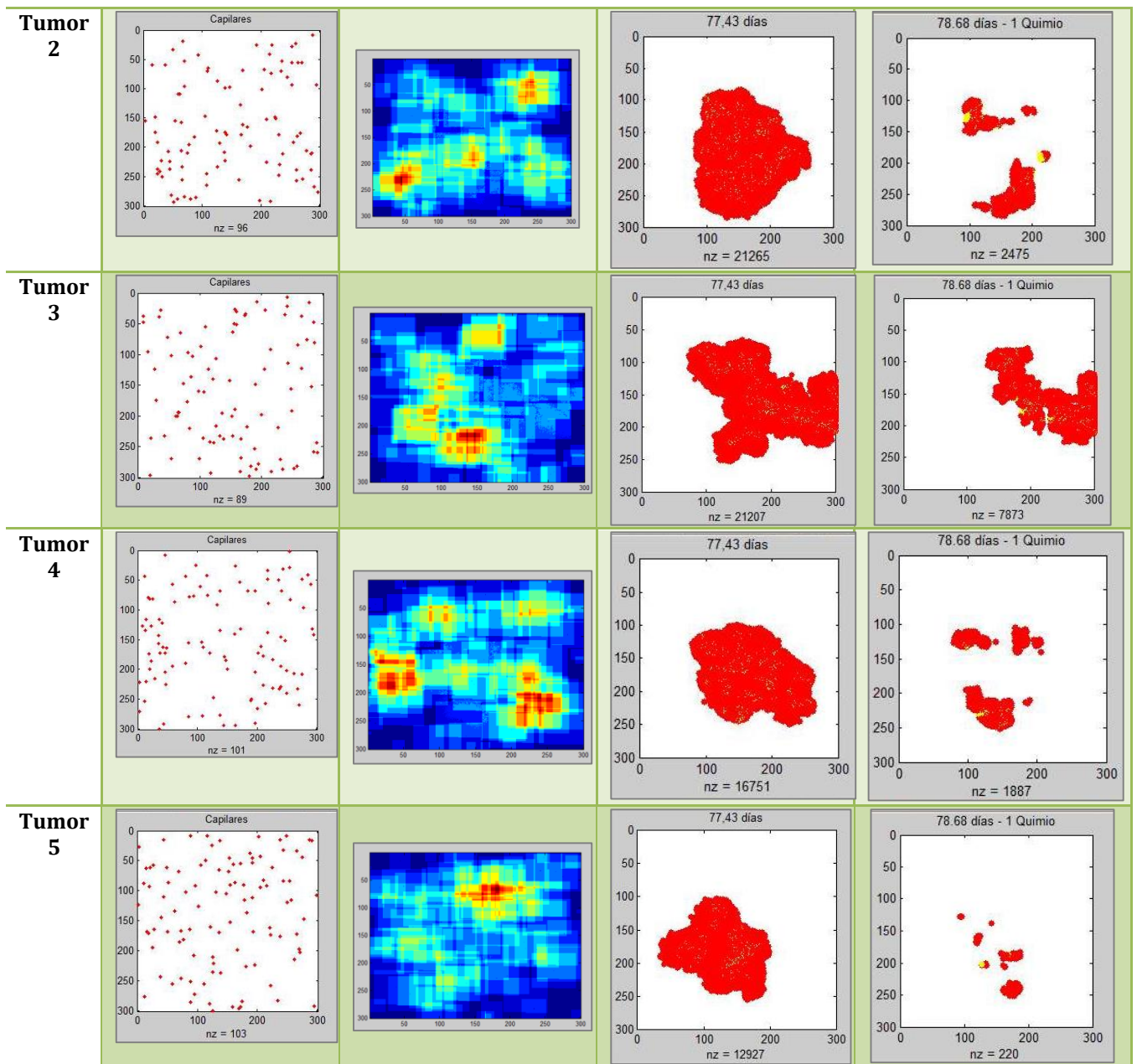


Tabla 10 – Importancia de la estructura y posición de la masa tumoral, con respecto a los capilares de cada simulación. Se representan 4 imágenes para 5 tumores diferentes: Capilares – Concentración de Quimioterapia – Tumor Pre tratamiento – Tumor Post tratamiento. La mayor concentración se produce en las zonas de mayor densidad capilar donde exista masa tumoral. Se observa la eliminación tumoral en las zonas de mayor

Porcentaje de división simétrica: 75%

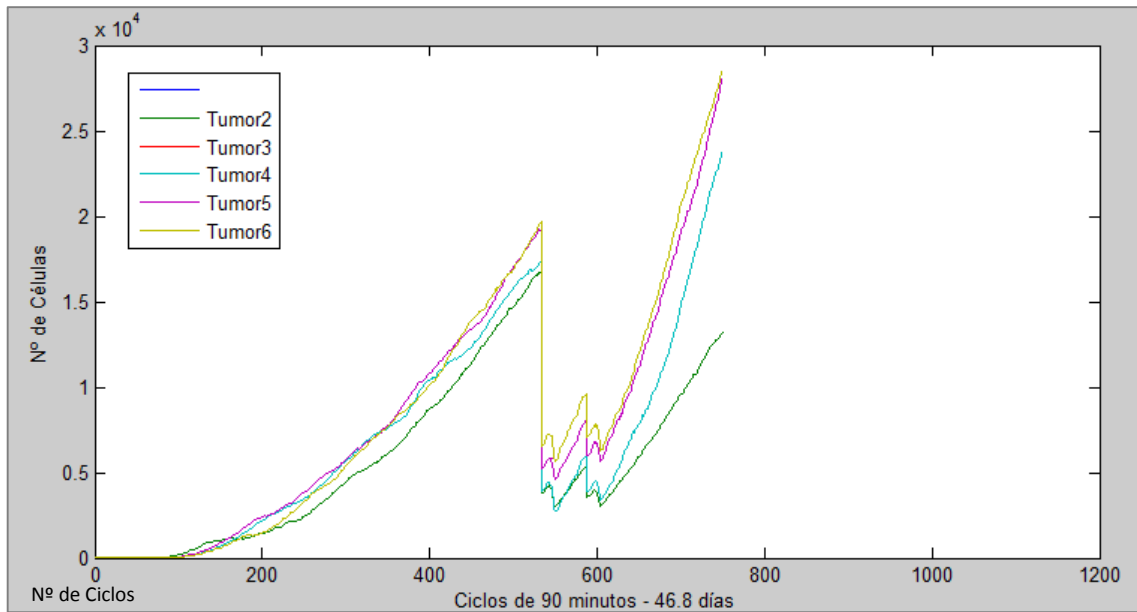


Figura 18 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 75%. La aplicación de la quimioterapia se produce al mismo tiempo. Se observa la destrucción de células debido a las dosis de Quimioterapia. La terapia tiene una duración de 16 ciclos, por lo que si expandiéramos el eje horizontal, la caída en número de células sería más suave gráficamente.

PS: 75%	Pre-quimio 1 CM – CT - %	Post-quimio1	Pre-quimio2	Post-quimio2	Final
Tumor 1	1884 – 16805 11.2%	628 - 3894 16.1%	835 - 5347 15.6	539 – 3098 17.3%	1944 – 13234 14.6
Tumor 2	1926 – 17384 11.0%	393 – 4063 9.6%	752 – 6004 12.5%	484 – 3436 14.0%	4119 – 23795 17.3%
Tumor 3	1773 – 14639 12.1%	306 – 1754 17.4%	518 – 2373 21.8%	280 – 1291 21.6%	1502 – 8748 17.1%
Tumor 4	2083 – 19220 10.8%	803 – 5357 14.9%	1434 – 8091 17.7%	1074 – 5780 18.5%	4774 – 28150 16.9%
Tumor 5	2381 – 19700 12.0%	728 – 6738 10.8%	1102 – 9640 11.4%	695 – 6357 10.9%	4221 – 28575 14.7%

Tabla 11: Porcentajes de células madre en diferentes momentos de la simulación.
CM: Células Madre | CT: Células tumorales

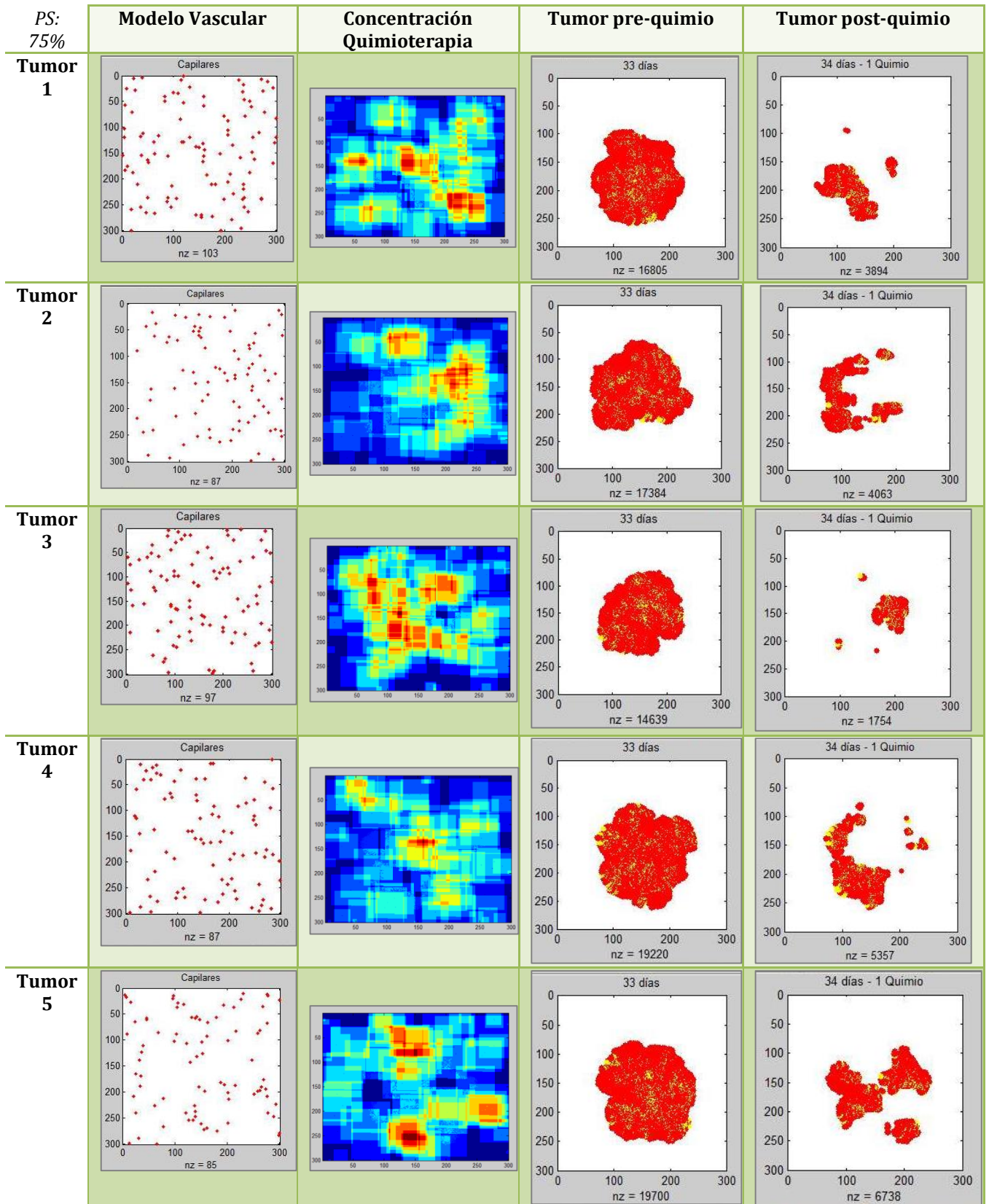


Tabla 12 – Importancia de la estructura y posición de la masa tumoral, con respecto a los capilares de cada simulación. Se representan 4 imágenes para 5 tumores diferentes: Capilares – Concentración de Quimioterapia – Tumor Pre tratamiento – Tumor Post tratamiento. La mayor concentración se produce en las zonas de mayor densidad capilar donde exista masa tumoral. Se observa la eliminación tumoral en las zonas de mayor concentración.

Se observa la relación directa entre los capilares, las concentraciones de quimioterapia y la forma del tumor. Cuando estas tres características coinciden, el tumor pierde una gran cantidad de masa en todos los casos. En las masas cancerígenas agresivas (con mayor PS), es prácticamente imposible destruir el tumor con las dos dosis de quimioterapia que hemos utilizado, es por ello que aplicaremos un modelo de radioterapia en la siguiente sección. La supervivencia de las células madre cancerígenas producen un rebrote de la masa, aun cuando sobrevivan un porcentaje ínfimo de ellas, por lo que las terapias tendrán que centrarse en su total erradicación (Enderling, 2009).

Modelo de Híbrido de Crecimiento Tumoral: Modelo Vascular y de difusión - Modelo de Quimioterapia – Modelo de Radioterapia

Finalmente se presentan los resultados obtenidos mediante el modelo híbrido completo. Se realizará un estudio de Células madres tumorales mediante el tratamiento combinado comentado anteriormente:

a) Tratamiento 1: Radioterapia – Quimioterapia 1 – Quimioterapia 2

a.1) Probabilidad de división simétrica (PS): 10%

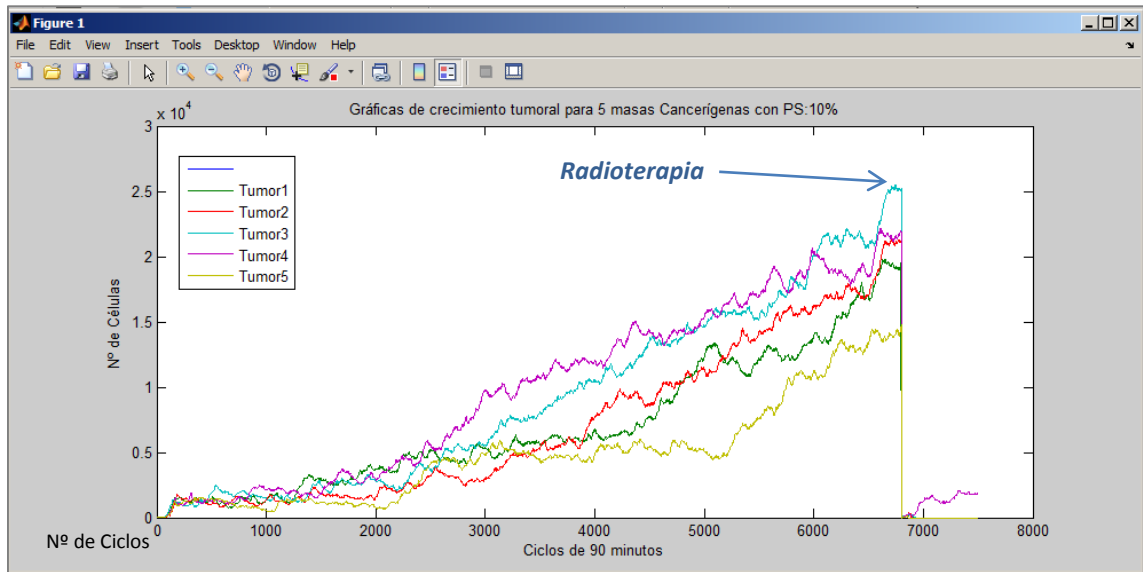


Figura 19 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 10%. Se indica la aplicación de la radioterapia y la gran destrucción celular que produce. Prácticamente todos los tumores son erradicados antes de la aplicación de la quimioterapia.

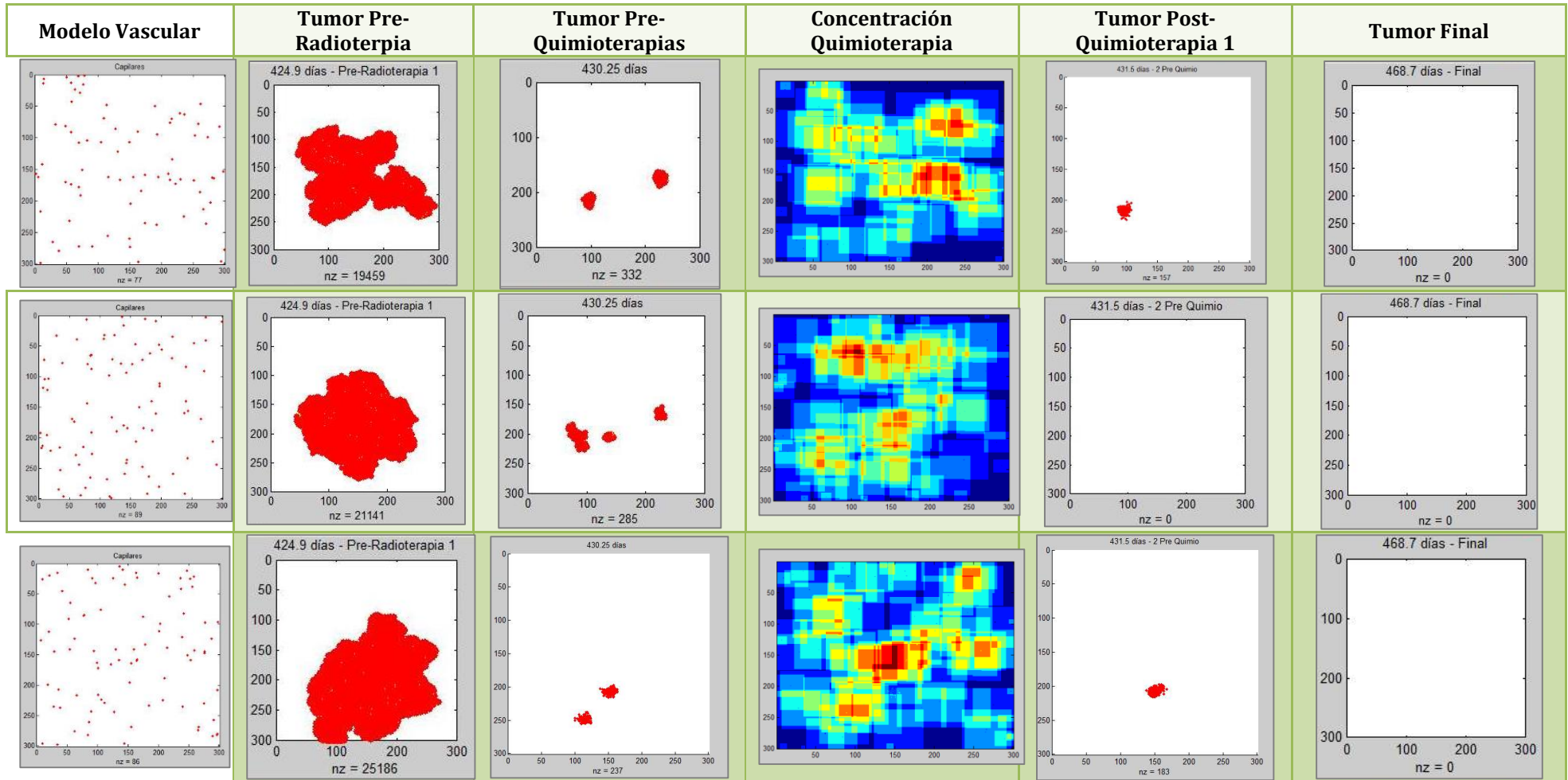
Se observa que prácticamente todos los tumores son erradicados con la sesión de Radioterapia. Una probabilidad de división simétrica reducida produce una cantidad de células madre cancerígenas muy pequeña, al ser todas erradicadas por la radioterapia el tumor muere (se da una excepción con el tumor 4, ya que ninguna de las terapias combinadas ha sido capaz de destruir todas las células madre cancerígenas, por lo que el tumor sobrevivirá).

PS:10% Días / ciclos	Tumor1	Tumor2	Tumor3	Tumor4	Tumor5
	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %
150 / 2400	5087 - 6 0.11	2501 - 7 0.27	4238 - 9 0.21	4270 - 19 0.44	2791 - 7 0.25
300 / 4800	10411 - 16 0.15	10418 - 38 0.33	13711 - 33 0.24	14328 - 38 0.26	5916 - 13 0.13

424.9 / 6799 Radioterapia	19459 – 50 0.25	21141 – 73 0.34	25186 – 73 0.28	21895 – 54 0.24	14751 – 32 0.21
430 / 6880	238 – 2 0.84	291 – 1 0.34	253 – 0 0	262 – 1 0.38	0 – 0
430.25 / 6884 Quimioterapia1	332 – 2 0.60	285 – 1 0.35	237 – 0 0	207 – 1 0.48	0 – 0
431.3 / 6902	161 - 0	0 - 0	193 – 0 0	118 – 1 0.84	0 – 0
431.5 / 6904 Quimioterapia2	157 - 0	0 - 0	183 – 0 0	117 – 1 0.85	0 – 0
432.6 / 6922	0 - 0	0 - 0	83 – 0 0	232 – 1 0.43	0 - 0
468.7 / 7500	0 - 0	0 - 0	0 - 0	1824 – 1 0.05	0 - 0

Tabla 13 – Número de células cancerígenas madre (CM) y no madres (CN) en determinados momentos importantes de la simulación. Se añade el porcentaje de CM que existe en cada uno de dichos momentos.

En la tabla superior destacan dos tumores, el tumor número cinco es prácticamente erradicado después de la sesión de radioterapia, y el tumor número cuatro sobrevive a la terapia combinada. El resto de tumores son eliminados ya que todas sus células madre son destruidas mediante las dosis de radio y quimioterapia. Gracias a los resultados obtenidos en el tumor número cuatro, se puede verificar la importancia de la destrucción del conjunto de células madre para conseguir una erradicación completa del tumor, incluso quedando una sola célula madre viva.



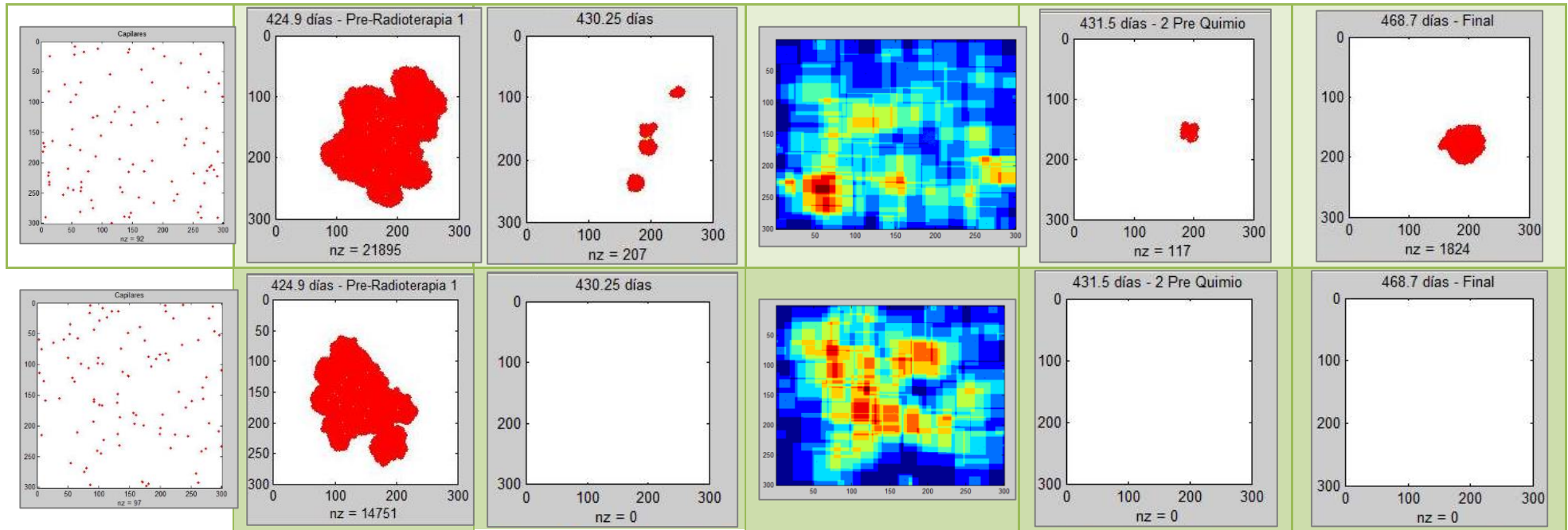


Tabla 14– Ejemplos visuales de la acción de la terapia combinada en los cinco tumores estudiados para PS:10%. Se observa claramente la gran destrucción que provoca la radioterapia. Para esta probabilidad la quimioterapia solo es necesaria en algunos casos, ya que la radioterapia elimina todas las células madre cancerígenas en el 90% de los casos provocando la muerte final del Tumor. Se observa el caso en el que el tumor sobrevive con una sola célula madre cancerígena y vuelve a expandirse (Tumor 4)

a.2) Probabilidad de división simétrica (PS): 25%

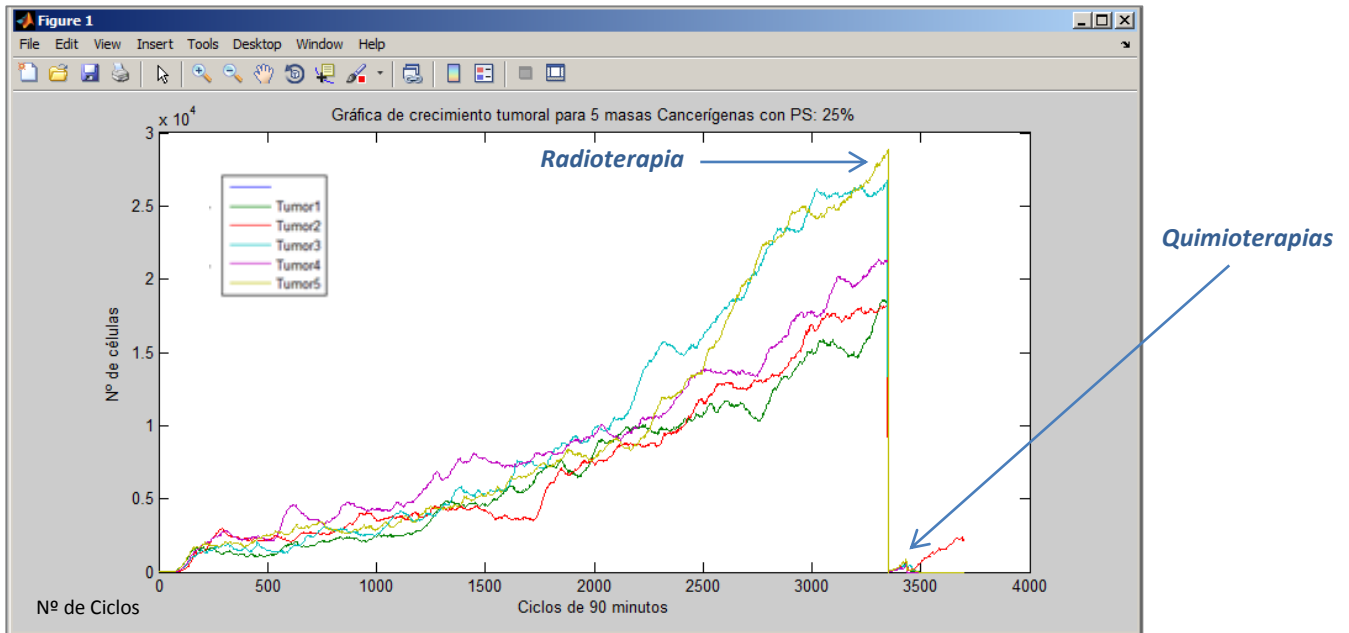


Figura 20 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 25%. Se indica la aplicación de la radioterapia y la gran destrucción celular que produce. Prácticamente todos los tumores son erradicados antes de la aplicación de la quimioterapia.

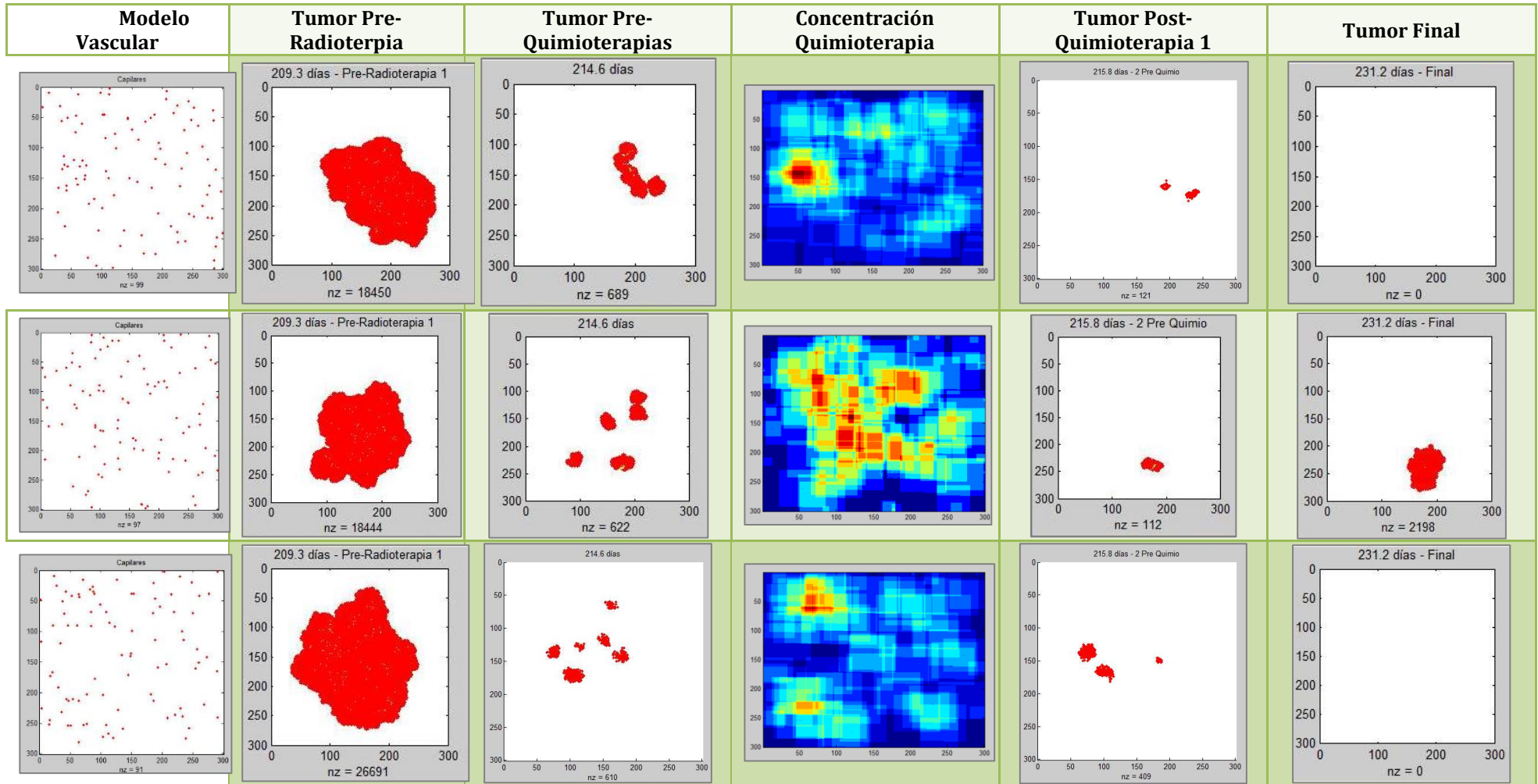
Aun cuando la probabilidad de división simétrica se ha aumentado considerablemente (un 15% con respecto a los primeros resultados), los tumores siguen siendo destruidos en su mayoría. Estos resultados coinciden con los de Enderling -2009, donde la mayor parte de los tumores con PS igual a un 10% y a un 25% son destruidos con la aplicación de la radioterapia (realmente se destruyen el total del conjunto de células madre cancerígenas, produciendo la muerte del tumor).

PS:25%	Tumor1	Tumor2	Tumor3	Tumor4	Tumor5
Días / ciclos	CN - CM	CN - CM	CN - CM	CN - CM	CN - CM
	%	%	%	%	%
75 / 1200	2851 - 24 0.84	3781 - 22 0.58	3513 - 24 0.68	5320 - 42 0.78	3884 - 27 0.69
150 / 2400	10099 - 77 0.76	9825 - 66 0.67	14947 - 107 0.71	12180 - 100 0.82	12328 - 106 0.85
209.3 / 3349	18450 - 143	18444 - 114	26691 - 230	21254 - 172	28869 - 248
Radioterapia	0.77	0.61	0.86	0.80	0.85
214.3 / 3430	634 - 8 1.2	525 - 3 0.57	522 - 0 0	384 - 0 0	762 - 6 0.78
214.6 / 3434	689 - 8 1.16	622 - 4 0.64	610 - 0 0	445 - 0 0	739 - 6 0.81
Quimioterapia1					
215.7 / 3452	135 - 0	112 - 3	408 - 0	0 - 0	119 - 0

215.8 / 3454 Quimioterapia2	0	2.6	0	0	0
	121 – 0	112 – 3	409 – 0	0 – 0	126 – 0
217 / 3472	0	2.67	0	0	0
	8 – 0	226 – 4	153 – 0	0 – 0	118 – 0
231.2 / 3700	0	1.76	0	0	0
	0 – 0	2198 – 7	0 – 0	0 – 0	0 – 0
	0	0.31	0	0	0

Tabla 15 – Número de células cancerígenas madre (CM) y no madres (CN) en determinados momentos importantes de la simulación. Se añade el porcentaje de CM que existe en cada uno de dichos momentos.

Volvemos a obtener los resultados esperados, la mayor parte de los tumores con ps: 25% son eliminados con la terapia combinada (Enderling – 2009). El tumor número dos es la excepción, ha sobrevivido a la terapia combinada gracias a la supervivencia de un pequeño número de células madre cancerígenas. Al sobrevivir a la radioterapia, la quimioterapia es la encargada de erradicar el tumor (tumores 1 y 5), pero en este caso depende de la posición de dichas células supervivientes y del sistema vascular que se esté utilizando, se puede ver a continuación con mayor claridad.



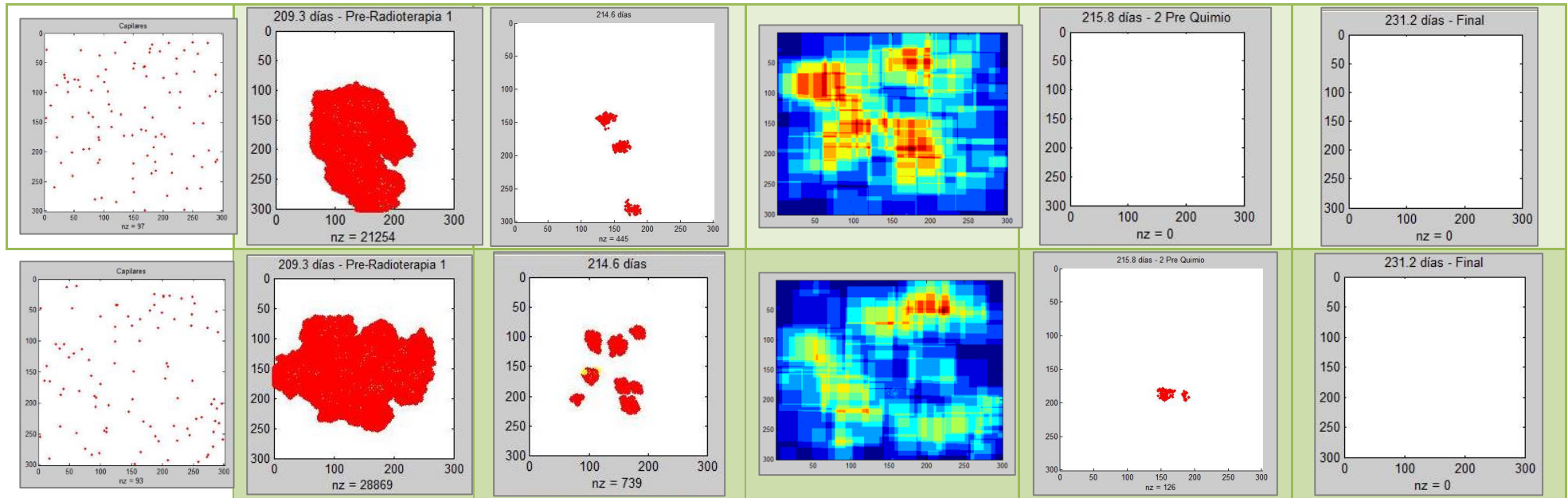


Tabla 16– Ejemplos visuales de la acción de la terapia combinada en los cinco tumores estudiados para PS::25%. Los tumores 3 y 4 sucumben directamente a la Radioterapia, mientras que el tumor 1 y el tumor 5 necesitan de las dosis de quimioterapia para conseguir erradicar su conjunto de células madre cancerígenas. El tumor 2 sobrevive a ambas terapias gracias a la supervivencia de un pequeño número de CM.

a.3) Probabilidad de división simétrica (PS): 50%

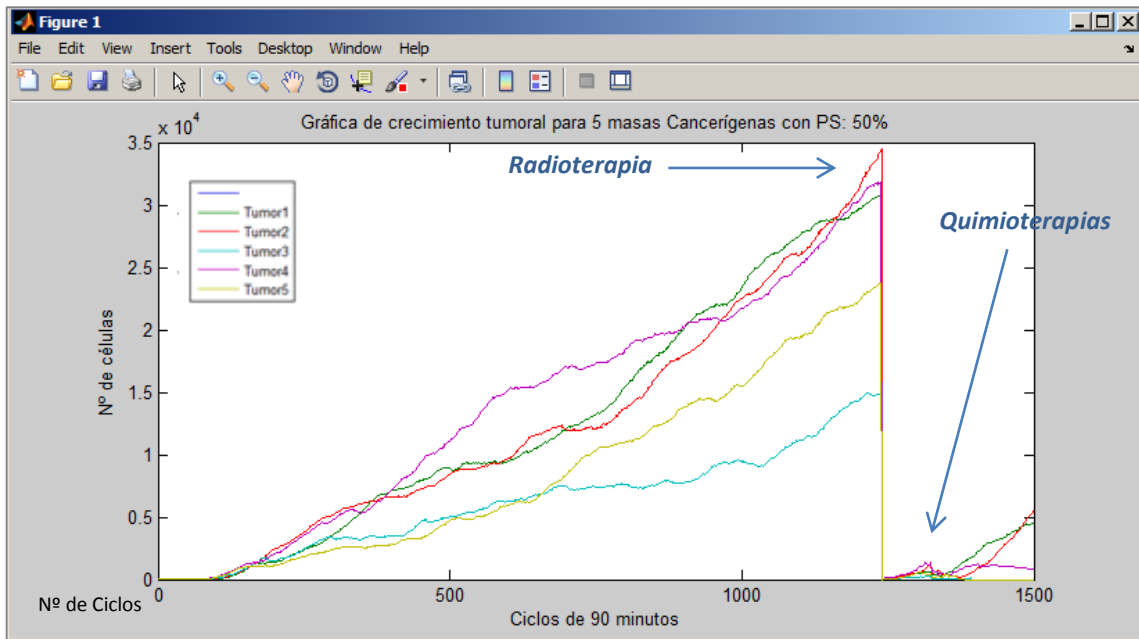
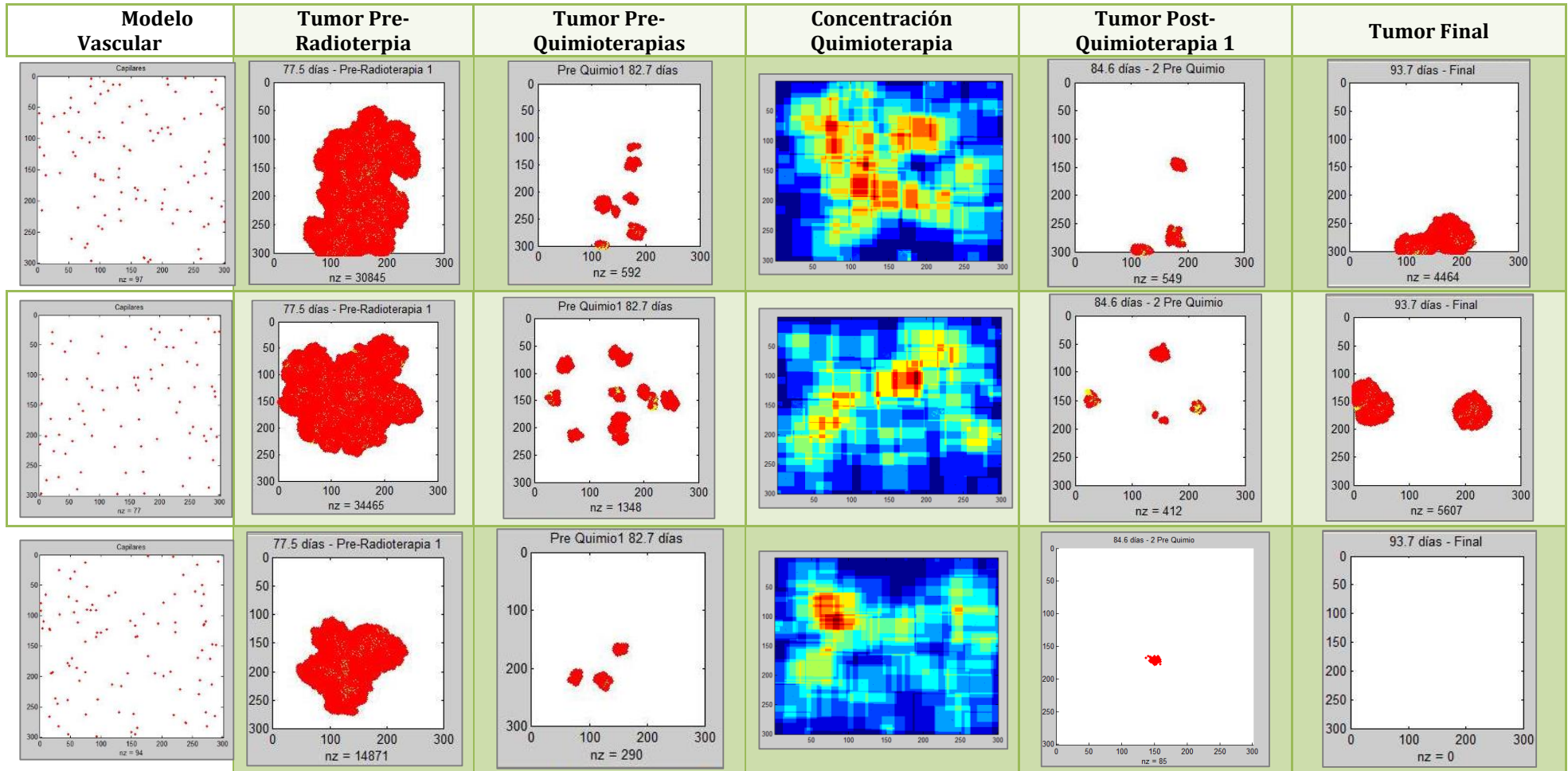


Figura 21 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 50%. Se indica la aplicación de la radioterapia y la gran destrucción celular que produce. En este caso la supervivencia ha aumentado al ser mayor el conjunto de células madre cancerígenas que hay que destruir

PS:50% Días / ciclos	Tumor1	Tumor2	Tumor3	Tumor4	Tumor5
	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %
20 / 320	4285 – 175 4.08	5724 – 145 2.5	3406 – 72 2.1	5371 – 124 2.3	2630 – 52 1.9
40 / 640	10318 – 340 3.2	11503 – 292 2.5	6639 – 198 2.9	15437 – 418 2.7	6259 – 164 2.6
77.5 / 1239 Radioterapia	30845 – 942 3.0	34465 – 883 2.5	14871 – 425 2.8	31885 – 908 2.8	23777 – 714 3.0
82.5 / 1320	621 – 24 3.8	1153 – 35 3.0	239 – 6 2.5	1210 – 12 0.9	433 – 17 3.9
82.7 / 1324 Quimioterapia1	592 – 25 4.2	1348 – 35 2.5	290 – 6 2.0	1414 – 12 0.8	548 – 18 3.2
83.8 / 1342	307 – 37 12.0	401 – 21 5.2	48 – 0 0	443 – 5 1.1	185 – 0 0
84.6 / 1354 Quimioterapia2	549 – 48 8.7	412 – 29 7.0	85 – 0 0	394 – 8 2.0	353 – 0 0
85.7 / 1372	1035 – 64 6.1	206 – 36 17.4	34 – 0 0	788 – 9 1.1	73 – 0 0
93.7 / 1500	4464 – 116 2.5	5607 – 202 3.6	0 – 0 0	897 – 10 1.1	0 – 0 0

Tabla 17 – Número de células cancerígenas madre (CM) y no madres (CN) en determinados momentos importantes de la simulación. Se añade el porcentaje de CM que existe en cada uno de dichos momentos.



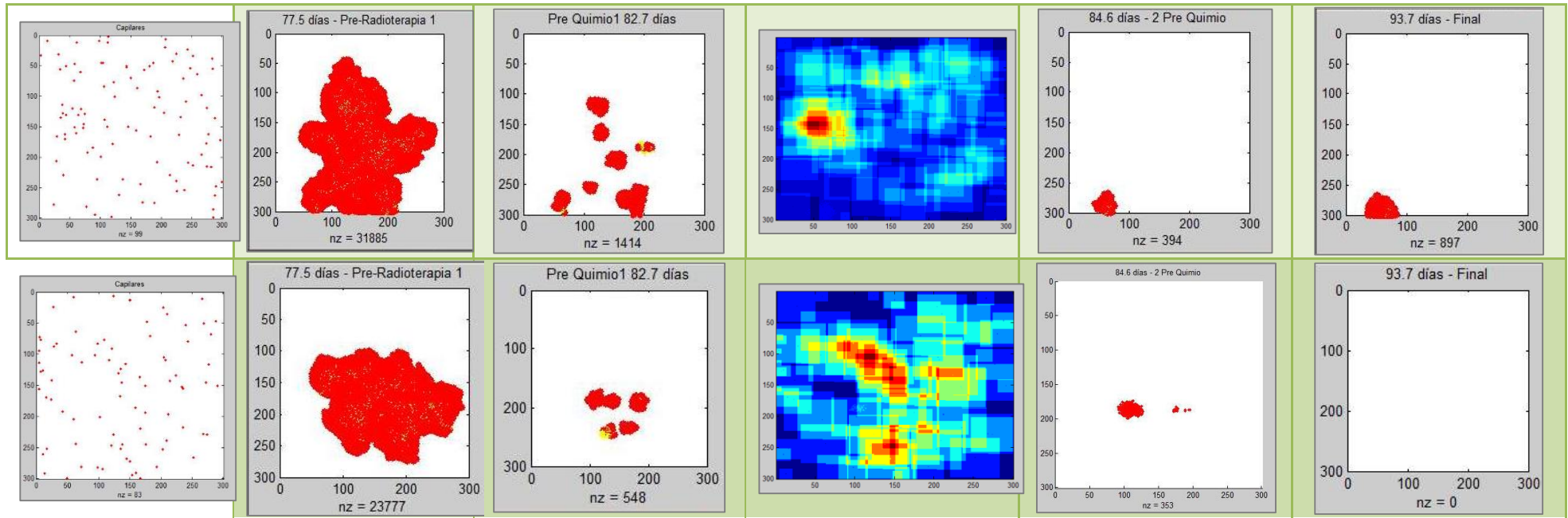


Tabla 18– Ejemplos visuales de la acción de la terapia combinada en los cinco tumores estudiados para PS::50%. Los tumores 3 y 4 sucumben directamente a la Radioterapia, mientras que el tumor 1 y el tumor 5 necesitan de las dosis de quimioterapia para conseguir erradicar su conjunto de células madre cancerígenas. El tumor 2 sobrevive a ambas terapias gracias a la supervivencia de un pequeño número de CM.

a.4) Probabilidad de división simétrica (PS): 75%

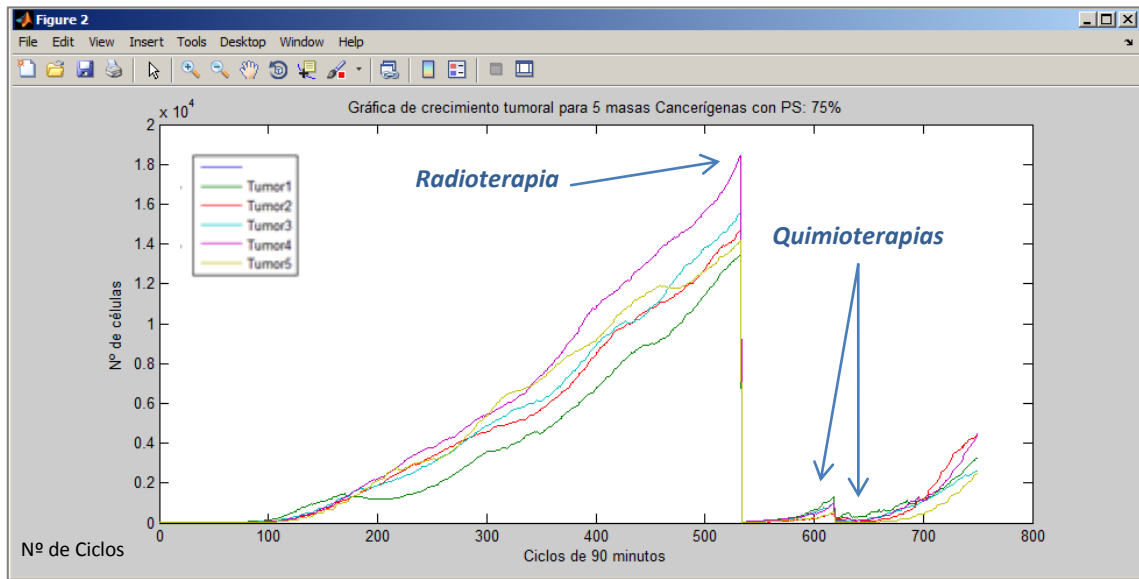
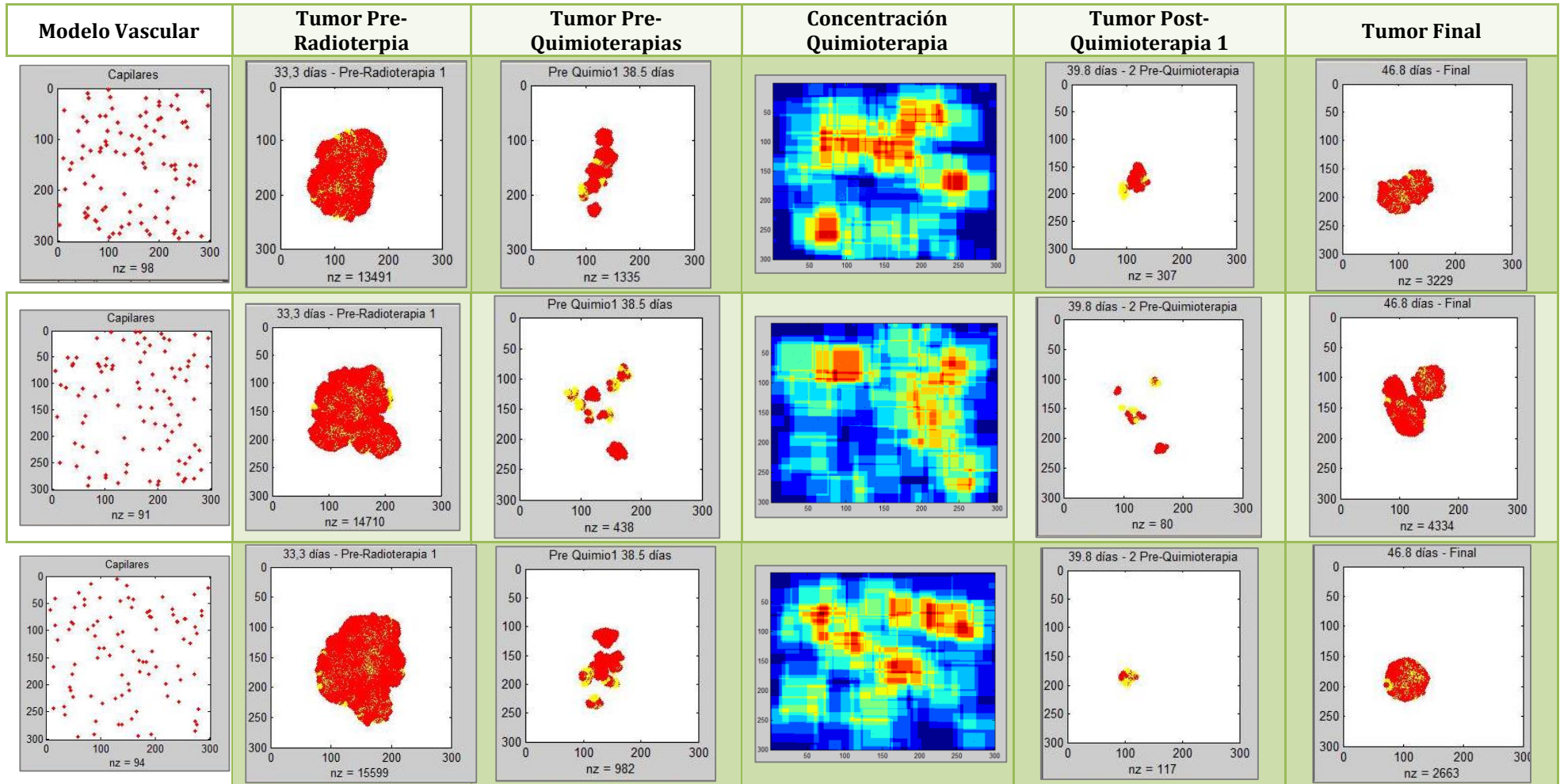


Figura 22 – Se presentan 5 desarrollos de crecimiento tumoral para una PS: 75%. Se indica la aplicación de la radioterapia y de la quimioterapia. La supervivencia en este caso es prácticamente del 100%

PS:75%	Tumor1	Tumor2	Tumor3	Tumor4	Tumor5
Días / ciclos	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %	CN - CM %
10 / 160	1318 – 38 2.8	890 – 175 19.6	1013 – 188 18.5	979 – 169 17.2	737 – 172 23.3
20 / 320	3772 – 352 9.3	4930 – 542 10.9	5501 – 605 10.9	6027 – 521 8.6	6474 – 638 9.8
33.3 / 533 Radioterapia	13491 – 1434 10.6	14710 – 1628 11.0	15599 – 1581 10.1	18427 – 2243 12.1	14204 – 1308 9.2
38.2 / 614	1135 – 51 4.4	428 – 100 23.3	816 – 74 9.0	795 – 100 12.5	412 – 35 8.4
38.5 / 618 Quimioterapia1	1335 – 51 3.8	438 – 100 22.8	982 – 95 9.6	990 – 100 10.1	555 – 35 6.3
39.7 / 636	310 – 39 12.5	77 – 25 32.4	110 – 70 63.6	153 – 37 24.1	23 – 17 73.9
39.8 / 638 Quimioterapia2	307 – 39 12.7	80 – 25 31.2	117 – 70 59.8	154 – 40 25.9	23 – 17 73.9
40.3 / 646	338 – 69 20.4	85 – 42 49.4	142 – 67 47.1	144 – 56 38.8	40 – 31 77.5
46.8 / 750	3229 – 598 18.5	4334 – 462 10.6	2663 – 616 23.1	4526 – 790 17.4	2543 – 502 19.7

Tabla 19 – Número de células cancerígenas madre (CM) y no madres (CN) en determinados momentos importantes de la simulación. Se añade el porcentaje de CM que existe en cada uno de dichos momentos.



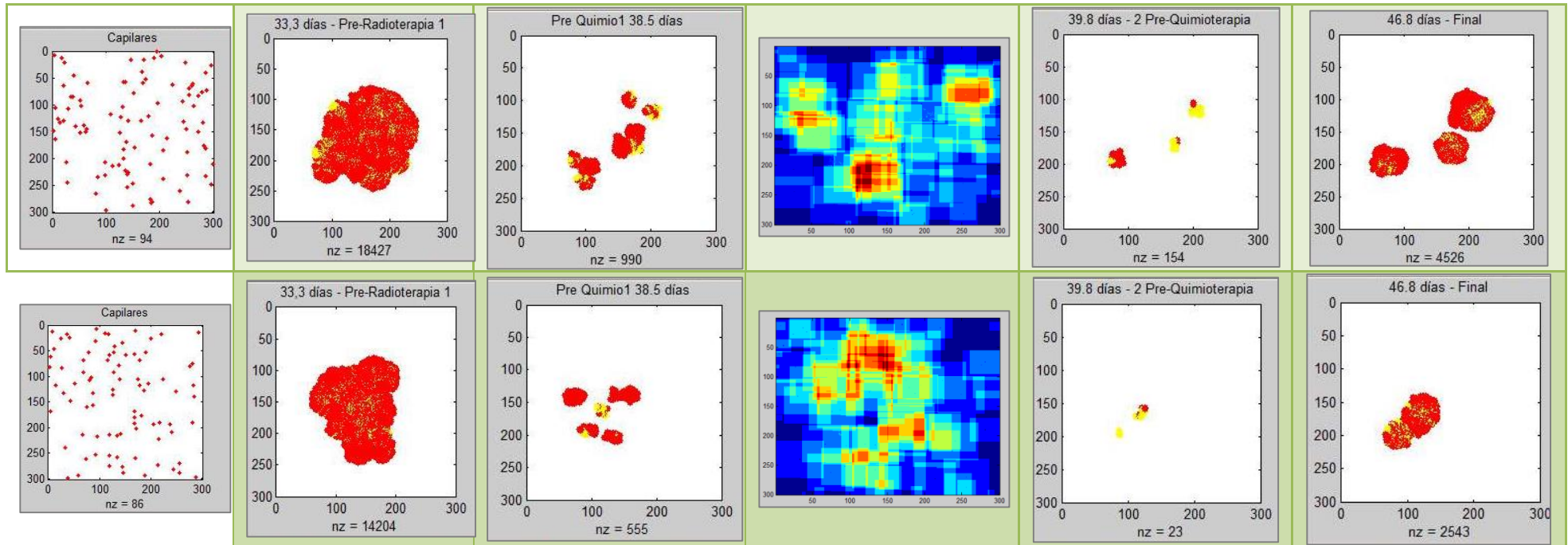


Tabla 20– Ejemplos visuales de la acción de la terapia combinada en los cinco tumores estudiados para PS::75%. Todos los tumores sobreviven con un alto porcentaje de células madre cancerígenas. Destacar el tumor 5 cuyo porcentaje de CM supera el 75% después de aplicarle las dosis de quimioterapia. Estos tumores requieren de terapias más agresivas para poder ser exterminados, aunque en la mayoría de los casos sería imposible sin provocar graves daños al paciente.

Los resultados obtenidos para los tumores con PS igual al 50% y al 75% coinciden con los datos proporcionados por Enderling -2009, donde estos tumores sobreviven a las terapias en prácticamente el 90% de los casos estudiados (En nuestro caso han sobrevivido dos tumores con PS: 50%, se ha debido a la buena posición de las masas que han resistido a la radioterapia, con respecto a los vasos sanguíneos utilizados a la simulación). El conjunto tan grande de células madre cancerígenas que se genera hace que sea prácticamente imposible destruir el tumor, ya que siempre sobreviven en mayor o menor medida, produciendo la regeneración y crecimiento de la masa. Otro ejemplo más de la importancia de la erradicación de este conjunto de células para conseguir la eliminación del Cáncer.

En los ejemplos expuestos también se verifica la importancia de la forma del tumor y su posición relativa con respecto a los capilares del modelo de vasos sanguíneos, si las masas supervivientes de las radioterapias están posicionadas cerca de los capilares, las concentraciones de quimioterapia serán mayores, por lo que las probabilidades de eliminación aumentarán (como ha ocurrido con dos tumores con PS: 50%).

Conclusión

El modelo híbrido presentado ha demostrado la importancia de centrarse en el conjunto de células madre cancerígenas para conseguir unos resultados satisfactorios en la erradicación completa de la masa tumoral. Las numerosas simulaciones realizadas sobre diferentes tipos de tumores, han verificado que mientras sobreviva una sola célula madre a los tratamientos de radio y quimioterapia, el tumor volverá a crecer y a desarrollarse.

Es importante destacar que los resultados se adecuan a los obtenidos en nuestra referencia principal, aun cuando el modelo híbrido desarrollado incluye más características que lo hacen más cercano a la realidad (modificaciones en el modelo de crecimiento tumoral, modelo de difusión de oxígeno y nutrientes y modelo de quimioterapia) y, por lo tanto, con unos resultados aún más seguros.

El tratamiento combinado de radio y quimioterapia ha dado como resultado la destrucción total de los tumores con baja probabilidad de división simétrica - P_s (10% y 25%), mientras que los tumores agresivos con alta probabilidad (50% y 75%) sobreviven en su mayoría, debido principalmente a la alta densidad de células madre cancerígenas, lo que se adecua a los datos obtenidos por Enderling – 2009.

La utilización de un modelo vascular y el desarrollo de un modelo de difusión, han proporcionado la información necesaria para demostrar que la distribución vascular en la zona de crecimiento de la masa tumoral, es un factor muy importante a tener en cuenta en el estudio de los tratamientos anti cáncer. La masa tumoral se sustenta a través de este sistema, por lo que si el inicio del crecimiento se produce en una zona poco vascularizada, el crecimiento se verá enlentecido (siempre hablando de tumores de pequeño tamaño sin vascularización propia). A su vez, los tratamientos que utilicen estas vías como medios de difusión, pueden ver su efecto comprometido si la zona es de pobre vascularización. Las pruebas realizadas confirman dicha teoría, los tratamientos de quimioterapia aplicados dependen de la estructura vascular y su posición con respecto a la masa tumoral, por lo que un análisis temprano a nivel vascular de la zona de tratamiento puede dar información importante con respecto a la cantidad de quimioterapia que hay que aplicar para garantizar la eliminación tumoral.

Todo ello confirma lo esperado, el conjunto de células madre cancerígenas deben ser el objetivo primordial para conseguir la eliminación total del cáncer, se confirma el primer objetivo del proyecto. El segundo objetivo también se verifica, la distribución vascular de la zona a tratar es de suma importancia para determinar el resultado en la aplicación de los tratamientos que utilicen estas vías como medios para alcanzar la masa tumoral.

- **Bibliografía**

[] A.R.A. Anderson, M.A.J. Chaplain, K.A. Rejniak (2007). Single-Cell-Based Models in Biology and Medicine. Birkhauser, Basel.

[] J. Bront, Federico (2011). VALORACION RADIOBIOLÓGICA DE TRATAMIENTOS RADIANTES MEDIANTE EL PROGRAMA ALBIREO TARGET. Instituto Balseiro Universidad Nacional de Cuyo Comisión Nacional de Energía Atómica Argentina

[] Gibin G. Powathil, Kirsty E. Gordon, Lydia A. Hill, Mark A.J. Chaplain (2012). Modelling the effects of cell-cycle heterogeneity on the response of a solid tumour to chemotherapy: Biological insights from a hybrid multiscale cellular automaton model. Journal of Theoretical Biology 308 1–19

[] Gibin G. Powathil, Kirsty E. Gordon, Lydia A. Hill, Mark A.J. Chaplain (2013). Modelling the effects of cell-cycle heterogeneity on the response of a solid tumour to chemotherapy and radiotherapy: Biological insights from a hybrid multiscale cellular automaton model. Journal of Theoretical Biology

[] H. Enderling, D. Park, L. Hlatky and P. Hahnfeldt (2009). The Importance of Spatial Distribution of Stemness and Proliferation State in Determining Tumor Radioresponse. Math. Model. Nat. Phenom. Vol. 4, No. 3, pp. 117-133

[] Koutmosakos, Petros. Pivkin, Igor. Milde, Florian (2013). The Fluid Mechanics of Cancer and Its Therapy. Annu. Rev. Fluid Mech. 325-355.

[] Liebert, Mary Ann. (2004). Use of the Linear-Quadratic Radiobiological Model for Quantifying Kidney Response in Targeted Radiotherapy. CANCER BIOTHERAPY & RADIOPHARMACEUTICALS Volume 19, Number 3

[] Maini, P.K., D.L.S. McElwain, D.I. Leavesley. Traveling wave model to interpret a woundhealing cell migration assay for human peritoneal mesothelial cells. Tissue Eng., 10 (2004),No.(3-4), 475–482.

[] Masunaga, K. Ono, M. Abe (1991). A method for the selective measurement of the radiosensitivity of quiescent cells in solid tumors – combination of immunofluorescence staining to BrdU and micronucleus assay. Radiat Res, 125, No. 3, 243–247.

[] Stanley, J.A., W.U. Shipley, G.G. Steele. Influence of tumour size on hypoxic fraction and therapeutic sensitivity of Lewis lung tumour. Br J Cancer, 26 (1977), No.1, 105–113.

[] Usher, JR. (1993) Some mathematical models for Cancer Chemotherapy. School of Computer and Mathematical Sciences. The Robert Gordon University. Scotlan UK.