



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Electricidad y Computación

“DISEÑO Y CONSTRUCCIÓN DE UN SOFTWARE PARA
SIMULAR LA ANGIOGÉNESIS TUMORAL EN 2D UTILIZANDO
MODELOS DISCRETOS Y CONTINUOS”

INFORME DE PROYECTO DE GRADUACIÓN

Previa a la obtención del Título de:

**INGENIERO EN CIENCIAS COMPUTACIONALES
ORIENTACIÓN SISTEMAS DE INFORMACIÓN**

Presentado por:

ISAAC MANUEL TORRES BERMEO

Guayaquil – Ecuador

2015

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento especial al M.Sc. Carlos Jordán por su guía en el presente trabajo.

DEDICATORIA

A mis padres, el Dr. Isaac Torres Peasle y la Dra. Ana Bermeo Martínez de Torres, por su apoyo incondicional a lo largo de estos años y por sentar los cimientos para que sea la persona que soy.

A los profesores que me han dejado grandes enseñanzas: M.Sc. Margarita Martínez, M.Sc. Gaudencio Zurita, Ing. Félix Ramírez, M.Sc. Carlos Jordán, Ph.D. Daniel Ochoa, Ph.D. Katherine Chiluzza y Ph.D. Enrique Peláez.

Al M.Sc. Carlos Jordán, por su guía, dirección y apoyo en mis primeros pasos como investigador, lo cual ha dado como resultado una experiencia invaluable.

TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN



M.Sc. Sara Ríos O.

SUBDECANA DE LA FIEC



M.Sc. Carlos Jordán V.

DIRECTOR DEL PROYECTO DE GRADUACIÓN



Ph.D. Enrique Peláez J.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de este Informe, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Escuela Superior Politécnica del Litoral".



ISAAC MANUEL TORRES BERMEO

RESUMEN

En el presente trabajo se ha construido un software que simula el fenómeno de angiogénesis tumoral, para dicho efecto se ha hecho uso de modelos discretos y continuos capaces de describir los diferentes mecanismos biológicos que la hacen posible.

El algoritmo metrópolis ha sido usado para la simulación de los modelos discretos, los modelos continuos son independientes, por lo que se ha diseñado una variante de metrópolis para integrar ambos; el software ha sido implementado usando el lenguaje de programación y ambiente de desarrollo matlab.

Los resultados muestran que la angiogénesis tumoral puede ser simulada de forma aproximada siempre y cuando se suministren valores adecuados para los parámetros de entrada del software.

Palabras claves: Systems Biology ,GGH ,angiogénesis, Metrópolis, cáncer

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	vi
ÍNDICE GENERAL.....	vii
ABREVIATURAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xiv
INTRODUCCIÓN	xv
CAPITULO 1.....	1
ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Angiogénesis Tumoral	2
1.3. Objetivo General.....	2
1.4. Objetivos Específicos.....	2
1.5. Alcance	3
1.6. Justificación	3
CAPITULO 2.....	5
FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	5
2.1. La Biología de la Angiogénesis Tumoral.....	5
2.2. Modelo Discreto Glazier – Graner - Hogeweg	11
2.3. Modelos Continuos Complementarios	12
2.3.1. Modelo de Bauer.....	12
2.3.2. Modelo de Alarcón.....	14

2.3.3. Modelo de Owen.....	17
2.4. Modelamiento de los mecanismos de interacción entre células	20
2.5. Algoritmo para la Simulación	24
2.5.1. Metrópolis	24
2.5.2. Variante de Metrópolis	25
CAPITULO 3.	27
ANÁLISIS DE REQUERIMIENTOS DE LA APLICACIÓN	27
3.1. Requerimientos Funcionales.....	27
3.2. Requerimientos no Funcionales.....	45
CAPITULO 4.	46
DISEÑO DE LA APLICACIÓN	46
4.1 Arquitectura del Sistema.....	47
4.2 Diseño del Módulo para el Modelo Discreto de la Angiogénesis	48
4.3 Diseño del Módulo para el modelo continuo	50
4.4 Diseño de la Base de Datos	51
4.5 Diseño de la Interfaz con el Usuario	52
4.6 Diseño de las pruebas	58
CAPITULO 5.	67
IMPLEMENTACIÓN, PRUEBAS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	67
5.1 Detalles de la Implementación.....	67
5.2 Resultados y Análisis de los Casos de Prueba.....	69
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	92

ANEXOS 96

BIBLIOGRAFÍA 97

ABREVIATURAS

TAF: Factores Angiogénicos

Tumorales.

VEGF: Factor de Crecimiento

Vascular Endotelial

ECM: Matriz Extracelular.

CPM: Cellular Potts Model.

GGH: Glazier – Graner –

Hogeweg.

MCS: Monte Carlo Step.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1 – Etapas de la angiogénesis tumoral.....	6
Figura 2.2 – Agrupamiento Celular producido por la adhesión diferencial.....	8
Figura 4.1 – Arquitectura del sistema	47
Figura 4.2 – Modelo entidad relación.....	51
Figura 4.3 – Modelo lógico.....	52
Figura 4.4 – Pantalla principal de ingreso de datos	53
Figura 4.5 – Formulario de ingreso de parámetros del lattice.....	54
Figura 4.6 – Formulario de ingreso de parámetros de volumen, área y elasticidad.....	55
Figura 4.7 – Ingreso de parámetros para crecimiento y activación de células endoteliales.....	55
Figura 4.8 – Ingreso de parámetros de adhesión diferencial	56
Figura 4.9 – Ingreso de parámetros de degradación de matriz extracelular por células endoteliales tip.....	56
Figura 4.10 – Ingreso de parámetros de haptotaxis y quimiotaxis.....	57
Figura 4.11 – Ingreso de parámetros de secreción y consumo de VEGF.....	57
Figura 5.1 – Estado inicial del lattice en la prueba # 1.....	70
Figura 5.2 – Estado final del lattice en la prueba # 1	71
Figura 5.3 – Energía total del lattice en la prueba # 1.....	72
Figura 5.4 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la prueba # 1....	73
Figura 5.5 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la prueba # 1...	74

Figura 5.6 – Estado inicial del lattice en la prueba # 2.....	75
Figura 5.7 – Estado final del lattice en la prueba # 2	76
Figura 5.8 – Energía total del lattice en la prueba # 2.....	76
Figura 5.9 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la prueba # 2....	77
Figura 5.10 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la prueba # 2.	78
Figura 5.11 – Estado inicial del lattice en la simulación # 3	79
Figura 5.12 – Estado final del lattice en la simulación # 3	80
Figura 5.13 – Energía total del lattice en la simulación # 3.....	81
Figura 5.14 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la simulación # 3	82
Figura 5.15 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la simulación # 3	83
Figura 5.16 – Estado inicial del lattice en la simulación # 4	83
Figura 5.17 – Estado final del lattice en la simulación # 4	84
Figura 5.18 – Energía total del lattice en la simulación # 4.....	85
Figura 5.19 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la simulación # 4	86
Figura 5.20 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la simulación # 4	87
Figura 5.21 – Estado inicial del lattice en la simulación # 5	87
Figura 5.22 – Estado final del lattice en la simulación # 5	88
Figura 5.23 – Energía total del lattice en la simulación # 5.....	89

Figura 5.24 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la simulación # 5	
.....	90
Figura 5.25 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la simulación # 5	
.....	91

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 4.1 – Especificación de primera prueba.....	58
Tabla 4.2 – Especificación de segunda prueba	62
Tabla 4.3 – Especificación de tercera prueba.....	63
Tabla 4.4 – Especificación de cuarta prueba	64
Tabla 4.5 – Especificación de quinta prueba	65

INTRODUCCIÓN

La angiogénesis tumoral es el fenómeno biológico por el cual células malignas reclutan vasos sanguíneos para poder alimentarse y de esa forma crecer y reproducirse [6]. En los últimos años se lo considera como un factor clave en la búsqueda de una posible cura para el cáncer, ya que si este proceso de angiogénesis pudiese inhibirse, eventualmente dichas células cancerosas morirían al no poder nutrirse de los recursos disponibles [6] [16] – [19].

El estudio de dicho fenómeno demanda realizar trabajos experimentales muy costosos que requieren tiempos considerables, no obstante con el desarrollo reciente de una disciplina conocida como la Biología de Sistemas (Systems Biology), el estudio de muchos sistemas biológicos se realiza complementando el trabajo experimental con el modelaje y la simulación de dichos sistemas, utilizando la tecnología informática como apoyo para un mejor y más rápido progreso en dichos campos.

Así, desde hace algunos años se vienen construyendo modelos de tejidos de varios tipos de células [1] – [7] [9] – [15] , como también de los mecanismos de interacción entre ellas, con el propósito de estudiar el proceso de la angiogénesis tumoral [16] – [25].

En este trabajo se propone diseñar e implementar una herramienta de software para simular dicho proceso, aislando y combinando varios tipos de interacción entre las células de un tejido [6], y presentando gráficamente los resultados de dicha simulación. Este software permitiría reconocer que mecanismos son los más significativos en el fenómeno de la angiogénesis, con lo que posiblemente se podría entender mejor el cáncer y, quizás, sugerir tratamientos alternativos para esta terrible enfermedad, que constituye un azote de nuestros tiempos.

Este trabajo se encuentra estructurado de la siguiente forma: en el capítulo 1 se muestran los antecedentes, objetivos y justificación del trabajo; el capítulo 2 presenta los fundamentos teóricos, los modelos y algoritmos a utilizar; el capítulo 3 describe los requerimientos y arquitectura del sistema; el capítulo 4 proporciona en detalle el diseño de la aplicación; el capítulo 5 se realiza el análisis y discusión de los resultados obtenidos; finalmente se presentan las conclusiones y perspectivas para futuros trabajos de investigación.

CAPÍTULO 1.

ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

1.1. Antecedentes

En los últimos años (2000 – presente) se han propuesto varios enfoques para simular la angiogénesis tumoral, entre los que se encuentran [16] – [26]; sin embargo, la mayoría se concentran en atacar uno u otro aspecto de la misma. En el año 2012, Mahoney [6] propuso un modelo más completo, resultado de una combinación de modelos discretos y continuos, el cual toma en consideración aspectos presentados por separado; en este trabajo se busca implementar dicho modelo y simular el fenómeno de angiogénesis tumoral.

1.2. Angiogénesis Tumoral

La angiogénesis tumoral es el proceso biológico en el cual el tumor recluta vasos sanguíneos para crecer y reproducirse, con la simulación en silico de la misma se puede obtener resultados aproximados a la realidad en tiempos muy cortos, marcando así pautas a seguir en las investigaciones de laboratorio.

1.3. Objetivo General

Construir un software para simular el proceso de angiogénesis tumoral en 2 dimensiones, de tal forma que pueda ser modificado con facilidad para incorporar avances futuros en este campo.

1.4. Objetivos Específicos

- i. Implementar modelos discretos y continuos del proceso, que en conjunto constituyen el modelo de angiogénesis tumoral.
- ii. Diseñar e implementar un algoritmo para la interacción de dichos modelos continuos y discretos, con el fin de lograr una representación aproximada del fenómeno de la angiogénesis tumoral.
- iii. Implementar una interfaz de usuario amigable, a fin de facilitar el uso de esta herramienta por parte de investigadores en las áreas de biología y/o medicina.

1.5. Alcance

Debido a las limitaciones de nuestro medio, tales como la falta de laboratorios especializados y no acceso a supercomputadores, el presente software sólo será probado de manera teórica y bajo ciertas restricciones para que el tiempo de ejecución no sea muy grande; se basará en el modelo presentado por Mahoney [6], y los resultados serán comparados con el mismo.

1.6. Justificación

En Ecuador son escasas las investigaciones relacionadas con el cáncer en laboratorios especializados, incluso no hay referencias de las mismas, una razón es la falta de recursos económicos para mantenerlos; con esta herramienta se podrían ejecutar pruebas, conocer las direcciones más prometedoras y desarrollar proyectos basados en ellas, con lo cual se obtendría un costo menor al normalmente proyectado.

Además, con este trabajo se fortalecería la investigación en la ESPOL del campo de la Biología de Sistemas, disciplina que aún se encuentra en una etapa de desarrollo incipiente en nuestra institución. Por otra parte, esperamos que el producto a construirse en este trabajo sea utilizado por estudiantes de biología, medicina e ingeniería en el estudio de este importante fenómeno de la angiogénesis tumoral. En principio, esta

simulación permitiría estudiar los diferentes mecanismos de interacción entre células y reconocer cuales son los más importantes en este proceso.

CAPÍTULO 2.

FUNDAMENTOS TEÓRICOS

Se recomienda leer el anexo antes de continuar con este capítulo.

2.1 La Biología de la Angiogénesis Tumoral

Angiogénesis es el proceso en el cual nuevos vasos sanguíneos emergen a partir de vasos ya existentes, se inicia a partir de una condición patológica tal como inflamación o hipoxia [21], éste es parte fundamental en desarrollo de los órganos, cicatrización de heridas, ovulación, embarazo, y también del cáncer [27].

En nuestro caso, la angiogénesis tumoral involucra a células cancerígenas que secretan un determinado número de químicos denominados Factores Angiogénicos Tumorales (TAF), el más renombrado es el Factor de

Crecimiento Vascular Endotelial (VEGF), los cuales se difunden por el tejido creando un gradiente químico con la vasculatura existente; al llegar a cualquier vaso sanguíneo vecino, las células endoteliales que los recubren son estimuladas a degradarlos y luego migrar por dicha membrana rota hacia el tumor; a continuación pequeños brotes son formados, éstos crecen en longitud por la migración y posterior reclutamiento de más células endoteliales hasta llegar al tumor [23].

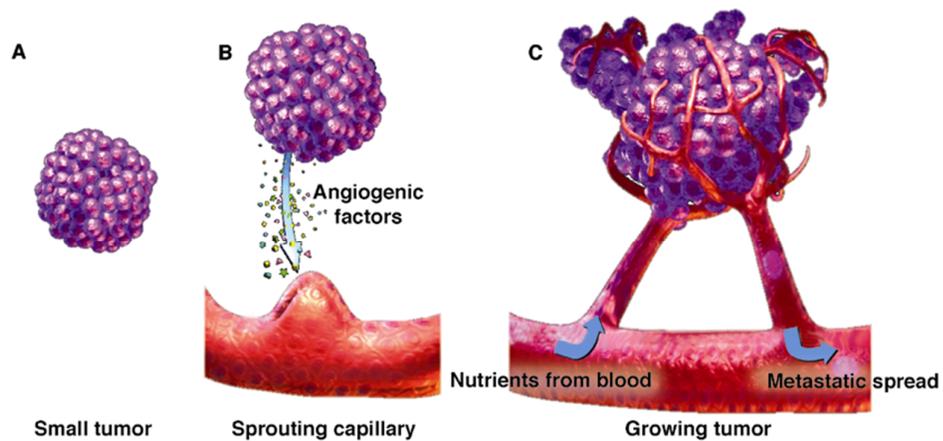


Figura 2.1 – Etapas de la angiogénesis tumoral. Tomada de [28].

Para que ésta se lleve a cabo se requiere que varios mecanismos actúen coordinadamente, los que este trabajo toma en consideración son [6] :

- Contigüidad celular, área y forma
- Adhesión diferencial
- Haptotaxis y Quimiotaxis
- Activación y crecimiento de células endoteliales
- Degradación de ECM por células endoteliales tip
- Filopodia de células endoteliales tip
- Secreción y consumo de VEGF
- Flujo de oxígeno

Contigüidad celular, área y forma [1] – [15]

En la angiogénesis tumoral, las células sufren cambios en su forma, tamaño y ubicación debido a los diferentes procesos que se desencadenan debido a la existencia de células malignas, por ejemplo, las células de tipo endotelial stalk se alargan y forman filas simples o dobles estimuladas por el VEGF secretado por el tumor; éstas después maduran y forman nuevos vasos sanguíneos, por su parte las endoteliales tip se estiran y extienden la Filopodia.

Adhesión diferencial [1] – [15]

Cuando hay contacto entre células de diferente tipo se produce este fenómeno, el cual permite que las células de un mismo tipo se agrupen; durante la angiogénesis se tiene un medio en el que interactúan varios tipos de célula, en este trabajo se toman en consideración: células tumorales, endoteliales, estromales, medio (fluido), matriz extracelular y estromales.

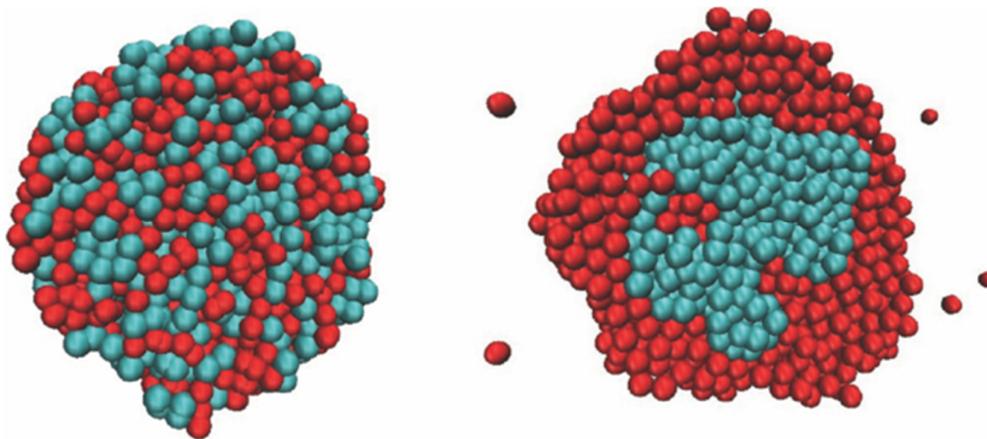


Figura 2.2 – Agrupamiento Celular producido por la adhesión diferencial. Tomada de [29].

Haptotaxis y Quimiotaxis [2] [5] [17]

Haptotaxis es el movimiento espontáneo de células hacia sitios de mayor variación de adhesión.

Quimiotaxis es el movimiento de las células a sitios de concentración de ciertas sustancias químicas.

En la angiogénesis tumoral, las células endoteliales migran mediante haptotaxis basado en las concentraciones locales de la matriz extracelular (ECM), mientras por quimiotaxis migran en base a las concentraciones locales de VEGF.

Activación y crecimiento de células endoteliales [6] [16]

Durante la angiogénesis tumoral, las células endoteliales absorben VEGF y se activan cuando la cantidad absorbida excede un determinado límite; una vez activadas comienzan a crecer.

Degradación de ECM por células endoteliales tip [6] [22]

Las células endoteliales secretan enzimas proteolíticas, las cuales degradan la ECM cuando se encuentran a su alrededor; este proceso es responsable de la degradación inicial de la membrana que permite a un nuevo brote extenderse desde la vasculatura existente, así también del control del estiramiento de dicho brote. A medida que la ECM es degradada, ya no representa una barrera para el movimiento celular.

Filopodia de células endoteliales tip [6] [20]

Filopodia son delgadas proyecciones temporales de la membrana que se extienden más allá de su límite en células en migración. Emanan desde las células endoteliales tip y permiten que las mismas exploren su vecindario en busca de células endoteliales de otros brotes; al parecer es un proceso crítico en la rápida formación de vasos.

Influencia la haptotaxis, ya que guía el movimiento a lo largo de la ECM, y a través de la quimiotaxis el movimiento hacia las concentraciones de VEGF.

Secreción y consumo de VEGF [6] [16]

El VEGF es secretado por células tumorales y consumido por células endoteliales, estas dos acciones forman una variación de difusión entre el tumor y la vasculatura padre; las células endoteliales tip son activadas por VEGF y comienza la quimiotaxis hacia el tumor.

Flujo de oxígeno [6] [19]

La difusión de oxígeno en el tejido es un factor clave en la muerte de las células; aunque las células cancerígenas resisten mayores períodos de tiempo sin oxígeno, también morirían en ausencia muy prolongada del mismo.

2.2. Modelo Discreto Glazier – Graner - Hogeweg

Para efecto de describir la interacción entre células se ha usado el modelo Glazier-Graner-Hogeweg (GGH), el cual fue propuesto por Glazier y Graner [9]; en 1993 ellos quisieron probar la hipótesis de adhesión diferencial (DAH), formulada por Steinberg[2], en la regeneración de la hydra adulta, formulando así un modelo basado en el trabajo de Ising [36]; fue inicialmente conocido como Cellular Potts Model (CPM) y sólo era capaz de describir aspectos relacionados a la DAH, ésto es, adhesión entre varios tipos de célula y un volumen fijo de cada una[11]. Con el tiempo ha ido evolucionando llegándose a convertir en un framework para describir fenómenos biológicos que requieren de interacciones celulares, ya que es lo suficientemente flexible como para incorporar nuevos términos a su núcleo (hamiltoniano).

Este modelo describe el tejido celular como un lattice de dimensiones $n \times m$, en el cual cada posición $(1 \dots n, 1 \dots m)$ es un lattice site con índice i , una célula está representada por el conjunto de lattice sites con el mismo índice $(\sigma(i))$, para efecto de la descripción de la DAH cada célula tiene un tipo (τ) , además se ofrece más realismo al incorporar volumen y área en las mismas $(v(\sigma), a(\sigma))$. Se ofrece competición entre células mediante la minimización de energía dada por un hamiltoniano definido de la siguiente forma [1] – [15]:

$$H = \sum_{(i,j)-(i',j')} J_{\tau\tau'} (1 - \delta_{\sigma\sigma'}) + \lambda_{V\tau} \sum_{\sigma} (v(\sigma) - V_{\tau}) + \lambda_{A\tau} \sum_{\sigma} (a(\sigma) - A_{\tau}) \quad (2.1)$$

donde $(i, j) - (i', j')$ representa la interacción de un lattice site con uno vecino, $\delta_{\sigma\sigma'}$ es la función delta de Kroenecker, cuyo valor es 1 si ambos lattice sites pertenecen a la misma célula y 0 si son de diferentes, V_τ y A_τ el volumen y área objetivo de un tipo de célula respectivamente, $\lambda_{V\tau}$ y $\lambda_{A\tau}$ elasticidades de volumen y área.

2.3. Modelos Continuos Complementarios

2.3.1 Modelo de Bauer

Este modelo [16] se enfoca en las interacciones célula-célula y célula-matriz, e incorpora algunos aspectos de la dinámica de ciertos bioquímicos en el tejido. Éste trata de abarcar lo siguiente:

1. Desarrollar un modelo celular que aproxime el crecimiento, división, y migración durante la etapa inicial de angiogénesis.
2. Incorporar las interacciones bioquímicas y biomecánicas claves que ocurren entre células endoteliales y la matriz extra celular (ECM).

Para abordar el punto 1) se hace uso del CPM, en el cual se considerarán cuatro tipos de célula: endoteliales, fibras de ECM, tejido y fluido intersticial; al conjunto de células de ECM, tejido y fluido intersticial se lo denomina estroma.

Las células endoteliales se moverán para promover lazos de adhesión fuertes sobre los débiles, límites de células cortos sobre los largos, y

favorecerá el movimiento hacia regiones de alta concentración química; solamente a este tipo de célula le es permitido crecer, moverse e invadir, además de interactuar mecánica y bioquímicamente con la ECM; cuando han alcanzado el doble de su tamaño normal ocurre una división, dejando como resultado una célula padre y una hija; se reconocen dos subtipos de estas células, las tip y stalk, las tip cuando son activadas por el VEGF migran quimotácticamente usando la ECM como respaldo, aunque también son capaces de degradarla .

Las células ECM, de tejido y de fluido intersticial no crecen o se invaden entre sí o las células endoteliales.

Otro aspecto que incluye es la chemotaxis , la cual es inducida por el movimiento de las células endoteliales hacia sitios con mayor concentración de VEGF, para poder introducirla al CPM, se añade un nuevo término al hamiltoniano, éste es:

$$\Delta E_{Chemotaxis} = \mu_{\sigma}[V(x) - V(x')] \quad (2.2)$$

donde μ es la fuerza de la chemotaxis y $V(x)$ es el gradiente químico local.

También se intenta reproducir la haptotaxis, la cual es generada por lazos químicos entre células endoteliales y ECM, ésta se encuentra implícitamente representada mediante la energía de adhesión dichos tipos de célula.

El punto 2) es modelado a través de un enfoque continuo bajo el cual se representa la evolución del VEGF, es secretado por el tumor y se difunde por el estroma, luego decae a una tasa constante y además es consumido por

las células endoteliales; su representación se la hace mediante una ecuación diferencial parcial, definida a continuación:

$$\frac{\partial V}{\partial t} = D \nabla^2 V - \lambda V - B(x, y, V) \quad (2.3)$$

donde D es un coeficiente de difusión de VEGF en el tejido, λ es la tasa a la que decae el VEGF, y B una función que describe el consumo de VEGF por las células endoteliales y está definida por:

$$B(x, y, V) = \begin{cases} \beta, & \text{si } \beta \leq V \text{ y } \{(x, y) \subset \text{célula endotelial}\} \\ V, & \text{si } 0 \leq V < \beta \text{ y } \{(x, y) \subset \text{célula endotelial}\} \\ 0, & \text{si } \{(x, y) \notin \text{célula endotelial}\} \end{cases}$$

2.3.2 Modelo de Alarcón

Este modelo [19] busca replicar un ambiente heterogéneo con respecto a la distribución de oxígeno, similares a aquellos reales, con el propósito de ver su impacto en el crecimiento de las colonias de células; además, también se ocupa de la dinámica celular en dicho ambiente.

Para modelar la dinámica celular usa dos tipos de células, normales y cancerígenas, y su evolución es determinada por un autómata híbrido (combina aspectos continuos y discretos). Usa un arreglo de NxN elementos que representan células reales; cada una tiene tres características: a) ocupación, si el elemento está ocupado por una célula normal, cancerígena, o está vacío, b) estado celular, si la célula está en estado proliferativo o

inactivo, c) la concentración local de oxígeno; estas características evolucionan de acuerdo a las siguientes reglas:

1. Un elemento que está vacío u ocupado por un vaso sanguíneo no evoluciona directamente. Un elemento vacío puede evolucionar indirectamente cuando la división celular toma lugar en un elemento vecino que es ocupado por una célula.
2. La distribución de oxígeno es calculado mediante la resolución del valor límite del problema.
3. Las células intentan dividirse en cada incremento en el tiempo. Las reglas de división dependen del tipo de célula.
4. Para una célula normal, primero se determina la concentración de oxígeno local; si está por debajo de un límite muere, caso contrario intenta dividirse. El valor límite se determina mediante el muestreo de la ocupación de sus vecinos más cercanos. Si la célula está rodeada por más células normales que cancerígenas, el valor límite asignado es $NT1$. Si hay más células cancerígenas que normales, el valor límite asignado es $NT2 > NT1$.
5. Las reglas para las células cancerígenas son similares a aquellas normales, excepto que la comparación entre el nivel de oxígeno y el valor límite sólo determina si la célula se va a dividir: las reglas para la muerte de una célula cancerígena son determinadas independientemente (se las describe abajo). Si hay más células

cancerígenas que normales, rodeando la célula, el valor límite es asignado en $CT1$, caso contrario es asignado en $CT2 > CT1$. Se asume que $CT1 < CT2$ y $NT1 < NT2$, lo cual indica que las células tienden a dividirse si están principalmente rodeadas de células del mismo tipo. Esto introduce competencia en el modelo.

6. Elementos ocupados por células cancerígenas cuyas concentraciones locales de oxígeno caen por debajo del valor límite entran a un estado inactivo, durante el cual la mayoría de funciones celulares son suspendidas, incluyendo proliferación. Al entrar en este estado, un reloj es iniciado. El reloj es incrementado en uno por cada iteración que la célula se mantenga en estado inactivo (mientras el nivel de oxígeno permanece por debajo del valor límite). Si el reloj llega a un determinado valor, la célula muere. Sin embargo, si en algún instante el nivel de oxígeno sube por encima del valor límite, la célula retorna a su estado de proliferación y su reloj es vuelto a cero nuevamente.
7. Elementos ocupados por células normales y cancerígenas son sumideros de oxígeno.
8. Si el nivel de oxígeno en un elemento ocupado por una célula está por encima del valor límite, se determina si la división celular ocurre mediante el muestreo en una zona de radio R alrededor del elemento. Si hay solamente espacio vacío, la célula se divide, y la célula nueva ocupa el mismo. Si hay más de un espacio vacío, la célula va hacia el

elemento vacío con la mayor concentración de oxígeno. Si no hay espacios vacíos, la célula falla en dividirse, y muere.

Para la concentración de oxígeno se plantea una solución continua, ésto es, una ecuación diferencial parcial que determine su evolución espacio-temporal en todo el arreglo de elementos, a partir de la misma se podrá determinar la concentración local de oxígeno. A continuación se presenta la ecuación [19]:

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D_p \nabla^2 P - K(x)P \quad (2.4)$$

Donde D_p es el coeficiente de difusión, y $K(x)$ es la tasa de consumo de oxígeno en la posición x .

La función $K(x)$, la cual es actualizada en cada iteración, depende en la distribución de las células, y es definida por:

$$K(x) = \begin{cases} K_N & \text{si hay una célula normal en la posición } x \\ K_C & \text{si hay una célula cancerígena en la posición } x \\ 0 & \text{caso contrario} \end{cases}$$

2.3.3 Modelo de Owen

Este modelo [17] ha sido diseñado como un autómata celular híbrido, el cual es capaz de describir división celular, expresión del VEGF, competición entre células normales y cancerígenas, flujo sanguíneo, transporte de oxígeno y adaptación vascular. Constituye una mejora del modelo de Alarcón [19] descrito anteriormente.

La dinámica celular es similar a la del modelo anterior, pero presenta cambios en algunos puntos; las características de las células son cuatro,

ahora se incluye los niveles intracelulares de VEGF, gen p-53, y proteínas del ciclo celular. Así mismo, obedece a reglas parecidas, la diferencia radica en un cambio a la regla 4), ya que la concentración local del gen p53 sí es tomada en consideración; la regla quedaría estipulada de la siguiente forma:

- Para una célula normal, se determina el nivel intracelular del gen p53; si está por debajo de un límite muere. El valor límite se determina mediante el muestreo de la ocupación de sus vecinos más cercanos. Si la célula está rodeada por más células normales que cancerígenas, el valor límite asignado es NT1. Si hay más células cancerígenas que normales, el valor límite asignado es NT2 > NT1.

El flujo sanguíneo(concentración de oxígeno) es calculado del mismo modo que el modelo anterior, mediante una ecuación diferencial parcial, sin embargo se la ha variado mediante la imposición de condiciones de límite cero-flujo, se trata a las células como sumideros y a los vasos sanguíneos como fuentes de oxígeno:

$$0 = D_p \nabla^2 P + h_p (P_{vess} - P) - \lambda_{cell} P \quad (2.5)$$

donde h_p es la tasa a la que el oxígeno es transportado entre la pared de los vasos, $P_{vess} = P_{vess}(H)$ es la concentración de oxígeno relacionada con el hematocrito H, y λ_{cell} es la tasa constante a la cual las células consumen oxígeno, con diferentes valores para células normales y cancerígenas.

El perfil de VEGF, a escala macro, es un factor nuevo para este modelo, se lo incluye de forma continua por medio de una ecuación diferencial parcial

con las mismas condiciones que la de flujo sanguíneo, con excepción que las células son tratadas como fuentes de VEGF:

$$0 = D_V \nabla^2 V - h_V V + \gamma_{cell} - \lambda_V V \quad (2.6)$$

donde D_V es la constante de difusión de VEGF, h_V la tasa a la que el VEGF cruza por las paredes de los vasos sanguíneos, γ_{cell} la tasa a la cual los elementos ocupados por células liberan sus almacenes intracelulares de VEGF al entorno extracelular, λ_V es la vida media del VEGF.

A nivel subcelular, las concentraciones del gen p53 y del VEGF dentro de una célula específica son calculados mediante ecuaciones diferenciales ordinarias que dependen directamente del flujo de oxígeno:

$$\frac{dp}{dt} = k_7 - \frac{k'_7 P}{C+P} p \quad (2.7)$$

$$\frac{dq}{dt} = \mathcal{E}(p, q) - \frac{k'_8 P}{D+P} q \quad (2.8)$$

donde p y q son las concentraciones del gen p53 y de VEGF respectivamente, P el flujo de oxígeno, k_i y J_i constantes positivas y

$$\mathcal{E}(p, q) = \begin{cases} k_8 - k_8^n \frac{pq}{J_s^n + q} & \text{para células normales} \\ k_8 + k_8^t \frac{pq}{J_s^t + q} & \text{para células cancerígenas} \end{cases}$$

2.4 Modelamiento de los mecanismos de interacción entre células

En este trabajo, cada mecanismo que hace posible la angiogénesis tiene como base uno de los modelos descritos anteriormente; es por eso que nuestro modelo es una combinación de procesos continuos y discretos.

Para la parte discreta se tomó como base el modelo GGH, mientras que la parte continua depende exclusivamente de cada mecanismo a modelar [6] :

Contigüidad celular, área y forma

La contigüidad celular, área y forma son descritas mediante el modelo GGH; se las incluye como términos de su Hamiltoniano [6] [11] [9] [14]:

$$\lambda_{V\tau} \sum_{\sigma} (v(\sigma) - V_{\tau}) + \lambda_{A\tau} \sum_{\sigma} (a(\sigma) - A_{\tau}) \quad (2.9)$$

Adhesión diferencial

Así mismo, para la adhesión diferencial se hace uso del modelo GGH, en el cual se agrega un término al hamiltoniano, se tendrán 6 tipos de células: de medio, tumorales, endoteliales stalk, endoteliales tip, estromales y fibras de ECM [6] [11] [9]:

$$J_{\tau\tau'}(1 - \delta_{\sigma\sigma'}) \quad (2.10)$$

Haptotaxis y Chemotaxis

La haptotaxis se encuentra implícita en la adhesión diferencial entre células de tipo endotelial y ECM; por otro lado, la chemotaxis es incorporada mediante un término del Hamiltoniano [6] [16]:

$$\mu_{\sigma}[V(x) - V(x')] \quad (2.11)$$

Es así como nuestro Hamiltoniano final luce de la siguiente manera:

$$H = \sum_{(i,j)-(i',j')} J_{\tau\tau'}(1 - \delta_{\sigma\sigma'}) + \lambda_{V\tau} \sum_{\sigma} (v(\sigma) - V_{\tau}) + \lambda_{A\tau} \sum_{\sigma} (a(\sigma) - A_{\tau}) + \mu_{\sigma}[V(x) - V(x')] \quad (2.12)$$

Activación y crecimiento de células endoteliales

Este proceso se lo implementa en el modelo al hacer que las células endoteliales consuman VEGF, se activen y comiencen a crecer; tres parámetros controlan la activación por VEGF, φ la tasa de crecimiento de células endoteliales activas, α_t el límite de interno de VEGF cuando las células endoteliales se activan, y ϵ_t la tasa de acumulación de VEGF dentro de cada célula endotelial.

En cada MCS las células endoteliales absorben una cantidad de VEGF, el mínimo entre ϵ_t y la concentración disponible de VEGF; una vez que dicha cantidad llega a α_t la célula se activa y su área objetivo (target area) es incrementado por φ .

Cuando el área actual de una célula endotelial alcanza el doble de su área objetivo original, se divide en dos células iguales [6] [16].

Degradación de ECM por células endoteliales tip

En este modelo la ECM es degradada mediante k_{nt} cada vez que una célula endotelial tip se encuentra a su lado, y mediante k_{ut} cada vez que la ECM está debajo de una. Cuando la ECM es degradada hasta un límite η , ya no representa una barrera al movimiento celular [6] [22].

Filopodia de células endoteliales tip

La Filopodia es modelada como protuberancias desde la superficie de la célula; tres parámetros la controlan, la duración promedio (en MCS) T_f de una protuberancia individual, y dos parámetros de forma implementados como términos del hamiltoniano: l_f una longitud de extensión objetivo y λ_f su respectivo peso [6] [20].

Secreción y consumo de VEGF

En el modelo, el nivel de VEGF en el lattice está controlado por una ecuación diferencial parcial de difusión de Vegf que se encuentra compuesta de 4 parámetros: D_v un coeficiente de difusión, $\lambda_v \geq 0$ la tasa a la que decae el VEGF, β la cantidad máxima de VEGF que puede ser absorbido por una célula endotelial y B una función que describe el consumo de VEGF; la ecuación es la siguiente [6] [16]:

$$\frac{\partial V}{\partial t} = D \nabla^2 V - \lambda V - B(x, y, V) \quad (2.13)$$

donde B está definido de la siguiente forma:

$$B(x, y, V) = \begin{cases} \beta, & \text{si } \beta \leq V \text{ y } \{(x, y) \subset \text{célula endotelial}\} \\ V, & \text{si } 0 \leq V < \beta \text{ y } \{(x, y) \subset \text{célula endotelial}\} \\ 0, & \text{si } \{(x, y) \notin \text{célula endotelial}\} \end{cases}$$

Flujo de oxígeno

Es calculado mediante una ecuación diferencial parcial:

$$\frac{\partial P}{\partial t} = D_p \nabla^2 P - K(x)P \quad (2.14)$$

donde D_p es una constante de difusión y $K(x)$ la tasa de consumo en la posición x ; $K(x)$ es definido de la siguiente forma:

$$K(x) = \begin{cases} K_N & \text{si hay una célula normal en la posición } x \\ K_C & \text{si hay una célula cancerígena en la posición } x \\ 0 & \text{caso contrario} \end{cases}$$

El efecto de la concentración de oxígeno sobre las células es modelado de la siguiente forma: Para una célula normal si dicha concentración se encuentra debajo de un límite, muere, caso contrario intenta dividirse; si está rodeada de más células normales que cancerígenas, el límite es fijado en N_{T1} , caso contrario el límite es fijado en $N_{T2} > N_{T1}$.

Para una célula cancerígena si la concentración de oxígeno está debajo de un límite entra en un estado inactivo, al entrar en este estado un reloj es inicializado a cero y aumenta en 1 en cada MCS que la concentración de oxígeno permanezca bajo ese límite; si el reloj alcanza un determinado valor la célula muere, sin embargo si en algún instante el nivel de oxígeno sube por encima del límite la célula vuelve a activarse y el reloj vuelve a cero; al igual que en las células normales, si el nivel de oxígeno sube por encima del

límite, las células cancerígenas intentan dividirse; si hay más células cancerígenas rodeando a la célula, entonces el límite es asignado en C_{T1} , caso contrario es asignado en $C_{T2} > C_{T1}$ [6] [19].

2.5 Algoritmo para la Simulación

2.5.1 Metrópolis

Entre algunas clases de métodos de Monte Carlo se encuentra el Markov Chain, comúnmente conocido por Markov Chain Monte Carlo (MCMC), genera puntos en forma de “camino aleatorio”, cada uno independiente del otro; la probabilidad de saltar de un punto a otro depende solamente del generado anteriormente y no de todo el historial. Hay algunos algoritmos para MCMC, siendo el más popular Metrópolis [37], entre sus ventajas podemos encontrar: puede ser aplicado a la mayoría de problemas, su implementación requiere poco conocimiento adicional aparte del modelo, su evaluación o mejora no necesita de más habilidades y experiencia [38].

El mismo ha sido usado para simulaciones con el CPM desde sus inicios [2], su aplicación al modelo GGH se muestra a continuación.

Inicialmente se tiene un cierto número de células distribuidas aleatoriamente en el lattice, se escoge un lattice site aleatoriamente (l_{es}), a continuación se calcula un hamiltoniano (H_i) entre l_{es} y sus vecinos, después se escoge a uno de los vecinos aleatoriamente (l_{tr}), y se calcula otro hamiltoniano (H_f)

bajo el supuesto que la configuración de l_{es} fuese cambiada por la de l_{tr} , se acepta este cambio con probabilidad:

$$P = \begin{cases} e^{\frac{-(\Delta H - H_0)}{T}} & ; \Delta H > H_0 \\ 1 & ; \Delta H < H_0 \end{cases} \quad (2.15)$$

donde $\Delta H = H_f - H_i$, T es la temperatura del sistema y H_0 es un threshold introducido por Hogeweg [10]. Este proceso es repetido un cierto número de Monte Carlo Steps (MCS).

Según [9] un MCS representa un número de iteraciones igual a dieciséis veces el tamaño del lattice.

2.5.2 Variante de Metrópolis

Como en este trabajo es usado el modelo GGH como base para los mecanismos intercelulares, se modificará el algoritmo metrópolis para poder incluir las partes continuas del modelo.

La modificación consiste en el siguiente procedimiento al inicio de cada MCS: primero se calcula la cantidad de VEGF que van a absorber las células endoteliales tip, si esta cantidad sobrepasa un límite entonces se activan y su volumen objetivo comienza a incrementarse mediante una constante de crecimiento a lo largo de la simulación; si el volumen actual de una célula endotelial alcanza el doble de su volumen objetivo original, se divide; a continuación se calcula la concentración de VEGF en el lattice y su consumo por parte de las células endoteliales, luego su variación en el tiempo (MCS);

además se calcula la concentración actual de ECM de acuerdo a su progresivo decaimiento, si está por debajo de un límite ya no representa una resistencia a las demás células por el resto de la simulación.

En el presente trabajo no se incluyen los mecanismos de Filopodia de células endoteliales tip y flujo de oxígeno, por lo que su implementación no se incluye en esta variante de Metrópolis.

CAPÍTULO 3.

ANÁLISIS DE REQUERIMIENTOS DE LA APLICACIÓN

3.1. Requerimientos Funcionales

Debido a la naturaleza de este trabajo, los biólogos sólo deben proporcionar parámetros de entrada al software, y así de acuerdo a los modelos implementados, observar los posibles cambios a través del tiempo en el tejido (lattice).

Los valores de dichos parámetros por lo general son obtenidos a partir de estudios sobre organismos vivos, los cuales marcan una pauta para los mismos in silico.

A continuación se muestra una descripción de cada uno:

Nombre:	Número de células tumorales
Descripción:	Indica el número de células tumorales que habrá en el lattice
Notas:	Este tipo de células estarán ubicadas en la parte inferior del lattice

Nombre:	Número de células endoteliales stalk
Descripción:	Indica el número de células endoteliales stalk que habrá en el lattice
Notas:	Este tipo de células estarán ubicadas en la parte superior del lattice

Nombre:	Número de células endoteliales tip
Descripción:	Indica el número de células endoteliales tip que habrá en el lattice
Notas:	Este tipo de células estarán ubicadas en la parte superior del lattice después de las células endoteliales stalk

Nombre:	Número de células estromales
Descripción:	Indica el número de células estromales que habrá en el lattice
Notas:	Este tipo de células estarán ubicadas en la parte central del lattice

Nombre:	Número de células de matriz extracelular
Descripción:	Indica el número de células de matriz extracelular que habrá en el lattice
Notas:	Este tipo de células estarán ubicadas en la parte central del lattice

Nombre:	Número de filas del lattice
Descripción:	Indica el número de filas del lattice
Notas:	

Nombre:	Número de columnas del lattice
Descripción:	Indica el número de columnas del lattice
Notas:	

Nombre:	Límite de Hogeweg
Descripción:	Límite introducido por Hogeweg que afecta la probabilidad de aceptación de un nuevo estado en el modelo GGH [10]
Notas:	

Nombre:	Temperatura
Descripción:	Temperatura del tejido
Notas:	

Nombre:	Límite de acumulación de VEGF en células endoteliales
Descripción:	Es la cantidad de VEGF que deben tener acumulado las células endoteliales para que se activen
Notas:	

Nombre:	Concentración inicial de VEGF
Descripción:	Cantidad de VEGF disponible al inicio de la simulación
Notas:	

Nombre:	Tasa de acumulación de VEGF en células endoteliales
Descripción:	Cantidad de VEGF que absorben las células endoteliales cada unidad de tiempo (MCS)
Notas:	

Nombre:	Fuerza de quimiotaxis
Descripción:	Valor de la fuerza de quimiotaxis
Notas:	

Nombre:	Tasa de crecimiento de células endoteliales
Descripción:	Valor al cual se multiplica el volumen objetivo de las células endoteliales una vez que están activas
Notas:	

Nombre:	Estado inicial de activación de células endoteliales
Descripción:	Indica si las células endoteliales están activas al inicio de la simulación
Notas:	

Nombre:	Cantidad inicial de VEGF en las células endoteliales
Descripción:	Cantidad de VEGF que hay al inicio de la simulación
Notas:	

Nombre:	Factor de multiplicación para obtener Monte Carlo Step
Descripción:	Valor que se multiplica por el tamaño del lattice para obtener el número de iteraciones que tendrá un Monte Carlo Step
Notas:	En el primer trabajo que se describe el modelo GGH se asigna el valor de 16 a este parámetro [9], sin embargo varía en otros trabajos.

Nombre:	Número de Monte Carlo Steps de la simulación
Descripción:	Cantidad de Monte Carlo steps que durará la simulación
Notas:	

Nombre:	Constante de decaimiento de VEGF en el tejido
Descripción:	Valor al que decae naturalmente el VEGF en cada unidad de tiempo
Notas:	

Nombre:	Constante de difusión de VEGF en el tejido
Descripción:	Valor que restringe la difusión del VEGF en el tejido
Notas:	

Nombre:	Cantidad de VEGF secretada por cada célula endotelial
Descripción:	Cantidad de VEGF que secreta cada célula endotelial
Notas:	

Nombre:	Concentración inicial de matriz extra celular
Descripción:	Valor de la concentración de matriz extra celular al inicio de la simulación
Notas:	

Nombre:	Tasa de decaimiento de la matriz extracelular cuando está al lado de una célula endotelial
Descripción:	Valor al cual disminuye la matriz extra celular cuando está al lado de una célula endotelial cada unidad de tiempo
Notas:	

Nombre:	Tasa de decaimiento de la matriz extra celular cuando está debajo de una célula endotelial
Descripción:	Valor al cual disminuye la matriz extra celular cuando está bajo una célula endotelial
Notas:	

Nombre:	Límite de resistencia de la matriz extra celular
Descripción:	Valor al que debe llegar la cantidad de matriz extra celular en el tejido para ya no representar una resistencia al resto de células
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula tumoral y de medio
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo tumoral y una de medio
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y de medio
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo endotelial stalk y una de medio
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula endotelial tip y de medio
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo endotelial tip y una de medio
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula stromal y de medio
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo estromal y una de medio
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula de matriz extra celular y de medio
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo matriz extra celular y una de medio
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula tumoral y endotelial stalk
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo tumoral y una endotelial stalk
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula tumoral y endotelial tip
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo tumoral y una endotelial tip
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula tumoral y stromales
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo tumoral y una estromal
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula tumoral y de matriz extra celular
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo tumoral y una de matriz extra celular
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y endotelial tip
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo endotelial stalk y una endotelial tip
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y estromal
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo endotelial stalk y una estromal
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y de matriz extra celular
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo endotelial stalk y una de matriz extra celular
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula endotelial tip y estromal
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo endotelial tip y una estromal
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula endotelial tip y de matriz extra celular
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo endotelial tip y una de matriz extra celular
Notas:	

Nombre:	Energía de adhesión entre célula estromal y de matriz extra celular
Descripción:	Valor que representa la adherencia superficial entre una célula de tipo estromal y una de matriz extra celular
Notas:	

Nombre:	Volumen objetivo de célula de medio
Descripción:	Volumen al que debería llegar una célula de medio
Notas:	

Nombre:	Volumen objetivo de célula tumoral
Descripción:	Volumen al que debería llegar una célula tumoral
Notas:	

Nombre:	Volumen objetivo de célula endotelial stalk
Descripción:	Volumen al que debería llegar una célula endotelial stalk
Notas:	

Nombre:	Volumen objetivo de célula endotelial tip
Descripción:	Volumen al que debería llegar una célula endotelial tip
Notas:	

Nombre:	Volumen objetivo de célula estromal
Descripción:	Volumen al que debería llegar una célula estromal
Notas:	

Nombre:	Volumen objetivo de célula de matriz extra celular
Descripción:	Volumen al que debería llegar una célula de matriz extra celular
Notas:	

Nombre:	Superficie objetivo de célula de medio
Descripción:	Superficie a la que debería llegar una célula de medio
Notas:	

Nombre:	Superficie objetivo de célula tumoral
Descripción:	Superficie a la que debería llegar una célula tumoral
Notas:	

Nombre:	Superficie objetivo de célula endotelial stalk
Descripción:	Superficie a la que debería llegar una célula endotelial stalk
Notas:	

Nombre:	Superficie objetivo de célula endotelial tip
Descripción:	Superficie a la que debería llegar una célula endotelial tip
Notas:	

Nombre:	Superficie objetivo de célula estromal
Descripción:	Superficie a la que debería llegar una célula estromal
Notas:	

Nombre:	Superficie objetivo de célula de matriz extra celular
Descripción:	Superficie a la que debería llegar una célula de matriz extra celular
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de volumen de célula de medio
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en volumen de una célula de medio
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de volumen de célula tumoral
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en volumen de una célula tumoral
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de volumen de célula endotelial stalk
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en volumen de una célula endotelial stalk
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de volumen de célula endotelial tip
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en volumen de una célula endotelial tip
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de volumen de célula estromal
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en volumen de una célula estromal
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de volumen de célula de matriz extra celular
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en volumen de una célula de matriz extra celular
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de superficie de célula de medio
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en superficie de una célula de medio
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de superficie de célula tumoral
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en superficie de una célula tumoral
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de superficie de célula endotelial stalk
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en superficie de una célula endotelial stalk
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de superficie de célula endotelial tip
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en superficie de una célula endotelial tip
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de superficie de célula estromal
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en superficie de una célula estromal
Notas:	

Nombre:	Elasticidad de superficie de célula de matriz extra celular
Descripción:	Valor que restringe el crecimiento en superficie de una célula de matriz extra celular
Notas:	

3.2 Requerimientos no Funcionales

Los requerimientos no funcionales son los siguientes:

1. **Eficiencia:** El rendimiento del software estará dado por la rapidez de transferencia de datos de la memoria disponible, mejor si es de primer nivel (cache), la frecuencia a la que puede trabajar el procesador y si el hardware por default implementa algún tipo de paralelismo. Mientras mayor sea la magnitud de estas variables, se tendrán tiempos de ejecución cada vez menores.
2. **Usabilidad:** El software debe ser de fácil uso, por lo que el ingreso de cada parámetro debe estar claramente especificado en la interfaz.
3. **Escalabilidad:** El producto final puede ser mejorado involucrando otros mecanismos biológicos mediante la modificación o inclusión de nuevos modelos.
4. **Validación:** Todos los parámetros de este software son numéricos, por lo que se debería validar la entrada de los mismos.
5. **Configuración del equipo:** Para poder ejecutar el software en algún equipo, se debe tener instalado al menos el paquete básico de matlab.

CAPÍTULO 4.

DISEÑO DE LA APLICACIÓN

4.1 Arquitectura del Sistema

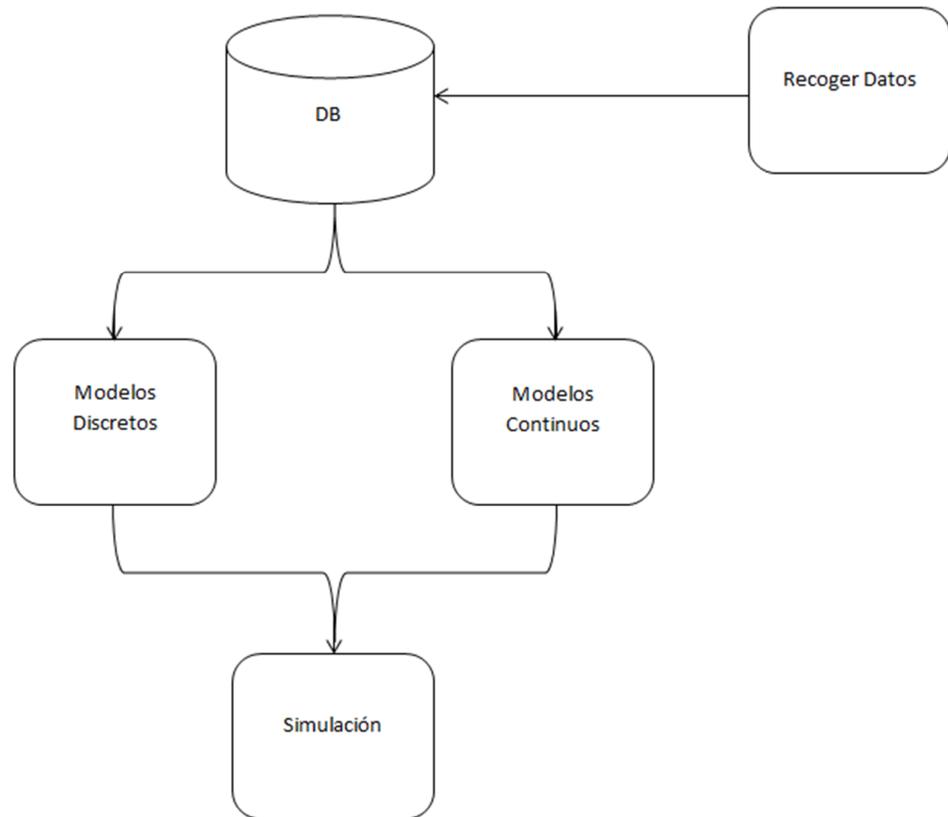


Figura 4.1 – Arquitectura del sistema.

El diseño del software aísla el ingreso y manipulación de datos del núcleo de la simulación, permitiendo así implementar mejoras a nivel de interfaz de usuario, a nivel de modelo y a nivel gráfico de manera más fácil y separada.

4.2 Diseño del Módulo para el Modelo Discreto de la Angiogénesis

El diseño del módulo está constituido por 22 funciones, cada una ha sido encapsulada en un archivo debido a las propias restricciones de matlab, éstos son:

- **calcula_probabilidad:** Calcula la probabilidad con la que se rechaza o acepta un cambio en el lattice.
- **calcular_energia:** Calcula la energía producida por el lattice site escogido y sus vecinos de acuerdo a sus tipos, volumen y área.
- **calcular_surface_celula:** Calcula el área de una célula.
- **calcular_volumen_celula:** Calcula el volumen de una célula.
- **cambia_lattice_colores:** Se encarga de cambiar visualmente el lattice en cada iteración.
- **cambiar_valores_actuales:** Cambia los atributos del lattice site escogido por los del vecino seleccionado.
- **escoger_celula_cambio:** Escoge el lattice site vecino.
- **escoger_vecinos_h_local:** Escoge un lattice site y su lista de vecinos, se lo usa en el Hamiltoniano local.
- **escoger_vecinos_h_total:** Devuelve una lista de vecinos de acuerdo al lattice site recorrido en cada instante, se lo usa en el Hamiltoniano total.

- **generar_condiciones_iniciales:** Accede a la base de datos para obtener los parámetros y condiciones de la simulación, además genera otras variables necesarias.
- **guardar_valores_actuales:** Guarda los atributos del lattice site escogido, para luego poder reestablecerlos en caso que se rechaze el cambio con el vecino.
- **Hamiltonian_local:** Devuelve la energía entre el lattice site escogido y sus vecinos.
- **Hamiltonian_total:** Devuelve la energía de todo el sistema.
- **imprime_array:** Muestra el lattice site con sus cambios en cada iteración.
- **main:** Función principal, tiene la estructura de la simulación, se encarga de llamar al resto de funciones y hacer que el modelo discreto y continuo interactúen.
- **next:** Se encarga de la evolución del modelo discreto en cada iteración.
- **reversar_valores_nuevos:** Si se rechaza el cambio entre el lattice site escogido y el vecino escogido, reversa los atributos del lattice site escogido para que queden como antes.
- **ubicar_celula_ecm_lattice:** Distribuye las células de matriz extracelular inicialmente en el lattice.

- **ubicar_celula_endotelial_stalk_lattice:** Distribuye las células endoteliales stalk inicialmente en el lattice.
- **ubicar_celula_endotelial_tip_lattice:** Distribuye las células endoteliales tip inicialmente en el lattice.
- **ubicar_celula_estromal_lattice:** Distribuye las células estromales inicialmente en el lattice.
- **ubicar_celula_tumoral_lattice:** Distribuye las células tumorales inicialmente en el lattice.

4.3 Diseño del módulo para el modelo continuo

Este módulo está constituido por 6 funciones, así como en el módulo anteriormente descrito, fueron encapsuladas en varios archivos de matlab, éstos son:

- **actualizar_concentracion_local_vegf:** Actualiza la concentración de VEGF en cada célula endotelial, cada Monte Carlo step.
- **calcular_concentracion_vegf_lattice:** Calcula la cantidad total de VEGF en todo el lattice, cada Monte Carlo step.
- **calcular_decaimiento_ecm:** Calcula la cantidad de matriz extracelular que disminuye en cada Monte Carlo step.
- **calcular_endothelial_cell_binding_and_uptake:** Calcula la absorción y consumo de VEGF por todas las células endoteliales, en cada Monte Carlo step.

- **cambiar_celula_endotelial_tip:** El modelo falla en describir la diferenciación de las células endoteliales. Esta función provee un parche.
- **dividir_celulas_endoteliales_stalk:** Divide las células endoteliales stalk que están listas.

4.4 Diseño de la Base de Datos

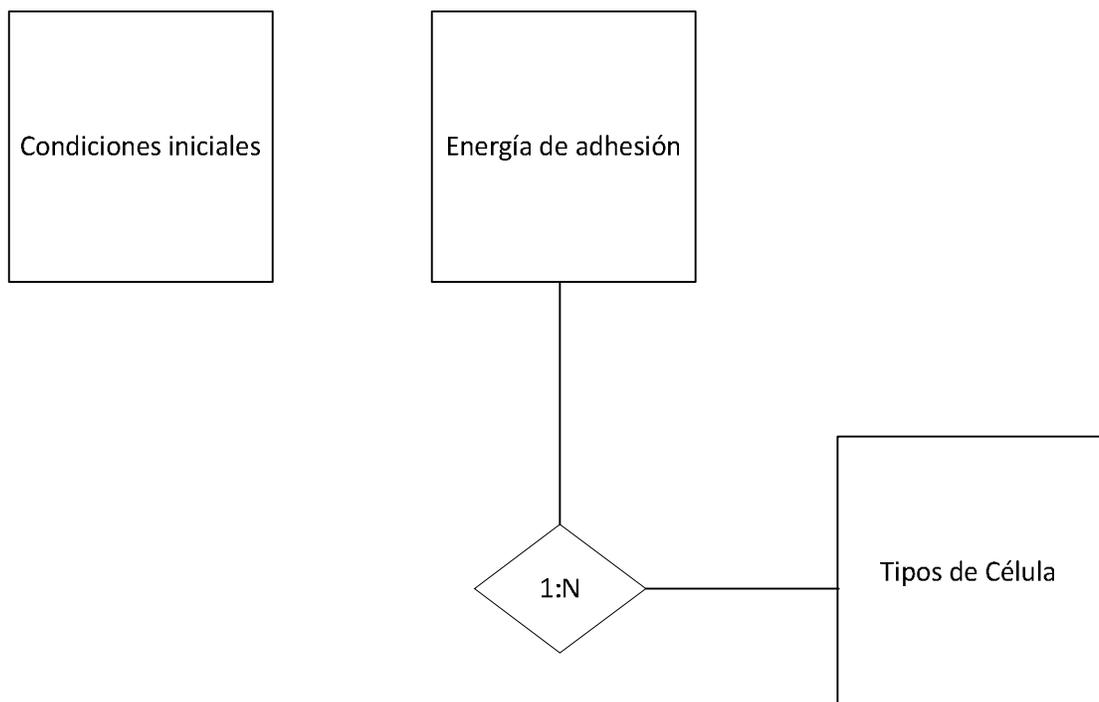


Figura 4.2 – Modelo entidad relación.

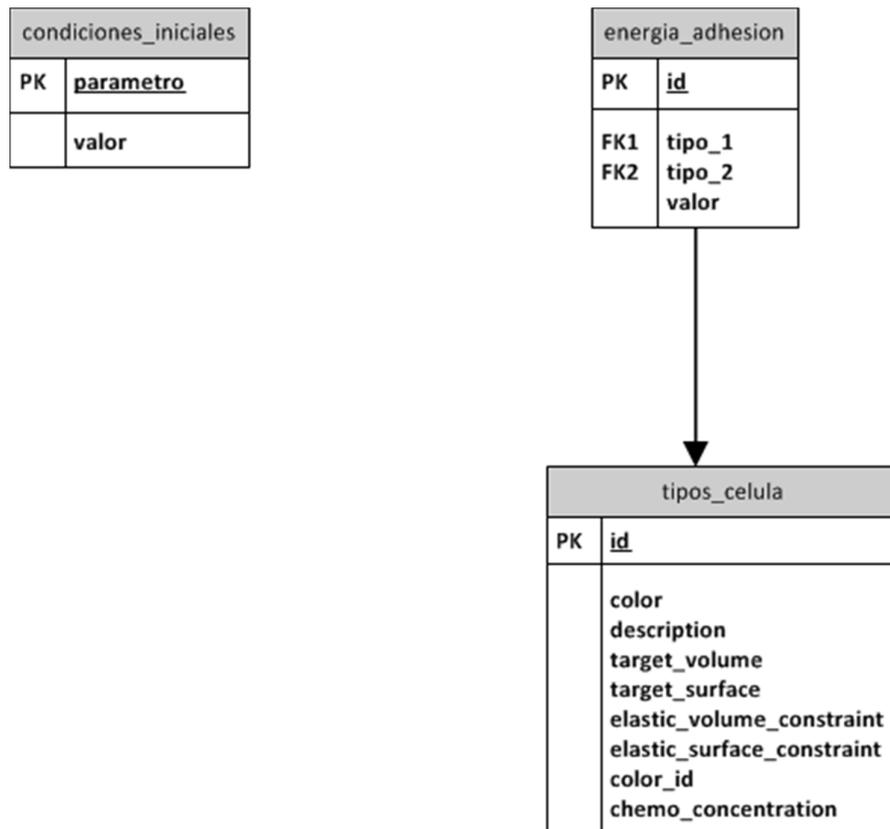


Figura 4.3 – Modelo lógico.

4.5 Diseño de la Interfaz con el Usuario

La interfaz gráfica de este trabajo sólo será útil para ingresar o editar parámetros, los cuales serán almacenados en una base de datos; no habrá interacción directa con la simulación.

El ingreso de dichos parámetros es dividido en varios formularios de acuerdo a su tipo, cada vez que se cargue uno mostrará los datos que en ese momento estén en la base de datos y quedará a criterio del usuario editarlos;

se han realizado validaciones para no permitir el ingreso de caracteres sino sólo números.

La siguiente figura es la pantalla de ingreso de datos principal, a partir de ella se van a poder llamar a los formularios de ingreso respectivos:

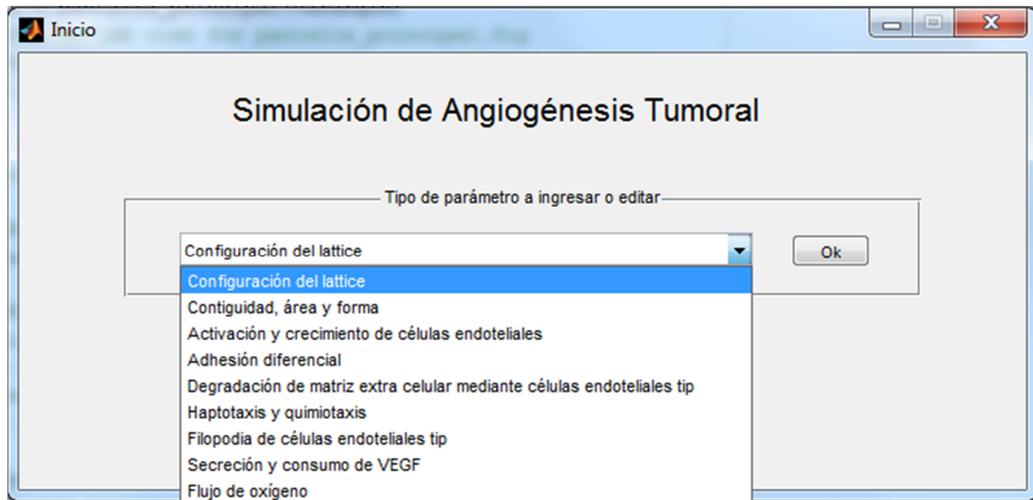


Figura 4.4 – Pantalla principal de ingreso de datos.

En el siguiente formulario se podrán configurar parámetros generales del lattice:

Número de filas	10
Número de columnas	10
Número de células tumorales	10
Número de células endoteliales stalk	10
Número de células endoteliales tip	10
Número de células estromales	5
Número de células de matriz extracelular	5
Factor de multiplicación de Montecarlo Steps	3
Número de Montecarlo Steps	2
Temperatura	10
Límite de Hoheweg	0

Guardar Cancelar

Figura 4.5 – Formulario de ingreso de parámetros del lattice.

Mediante este formulario se almacenan datos concernientes al volumen, área y elasticidad de las células de diferentes tipos:

Cell Type	Volumen objetivo	Superficie objetivo	Elasticidad de volumen	Elasticidad de superficie
Volumen objetivo de célula de medio	100	50	50	20
Volumen objetivo de célula tumoral	48	7	5	2
Volumen objetivo de célula endotelial stalk	45	6	3	1
Volumen objetivo de célula endotelial tip	45	7	8	3
Volumen objetivo de célula estromal	36	4	3	1
Volumen objetivo de célula de matriz extra celular	50	10	10	10

Figura 4.6 – Formulario de ingreso de parámetros de volumen, área y elasticidad.

El siguiente formulario es responsable del ingreso de datos para la activación y crecimiento de células endoteliales:

Tasa de acumulación de VEGF en células endoteliales	1
Límite de acumulación de VEGF en células endoteliales	0.004
Tasa de crecimiento de células endoteliales	1
Concentración inicial de VEGF	0
Estado inicial de activación de células endoteliales	0
Cantidad inicial de VEGF en las células endoteliales	0

Figura 4.7 – Ingreso de parámetros para crecimiento y activación de células endoteliales.

Los datos de adhesión diferencial se pueden ingresar en el siguiente formulario:

Descripción	Valor	Descripción	Valor	Descripción	Valor
Energía de adhesión entre célula tumoral y de medio	14	Energía de adhesión entre célula tumoral y de matriz extra celular	16	Energía de adhesión entre célula tumoral y tumoral	8
Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y de medio	15	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y endotelial tip	5	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y endotelial stalk	5
Energía de adhesión entre célula endotelial tip y de medio	10	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y estromal	10	Energía de adhesión entre célula endotelial tip y endotelial tip	1
Energía de adhesión entre célula estromal y de medio	16	Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y de matriz extra celular	32	Energía de adhesión entre célula estromal y estromal	16
Energía de adhesión entre célula de matriz extra celular y de medio	0	Energía de adhesión entre célula endotelial tip y estromal	16	Energía de adhesión entre célula de matriz extra celular y matriz extra celular	16
Energía de adhesión entre célula tumoral y endotelial stalk	8	Energía de adhesión entre célula endotelial tip y de matriz extra celular	15		
Energía de adhesión entre célula tumoral y endotelial tip	12	Energía de adhesión entre célula estromal y de matriz extra celular	15		
Energía de adhesión entre célula tumoral y estromal	13	Energía de adhesión entre célula de medio y medio	0		

Botones: Guardar, Cancelar

Figura 4.8 – Ingreso de parámetros de adhesión diferencial.

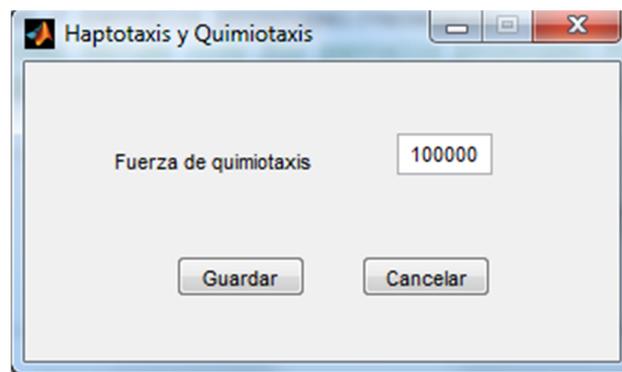
El siguiente formulario acepta el ingreso de datos relacionados a la degradación de la matriz extracelular por células endoteliales tip:

Concentración inicial de matriz extra celular	0.3
Tasa de decaimiento de la matriz extra celular cuando está al lado de una célula endotelial	0.008
Tasa de decaimiento de la matriz extra celular cuando está debajo de una célula endotelial	0.008
Límite de resistencia de la matriz extra celular	0.25

Botones: Guardar, Cancelar

Figura 4.9 – Ingreso de parámetros de degradación de matriz extracelular por células endoteliales tip.

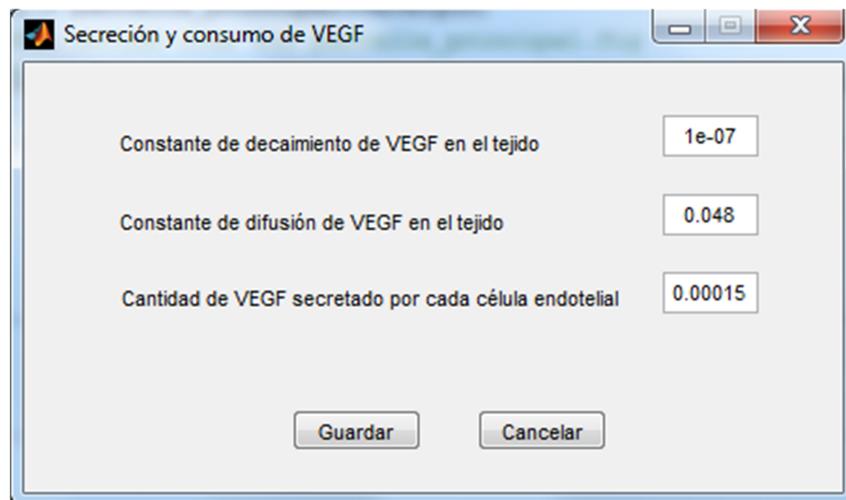
El fenómeno de haptotaxis se implementa implícitamente mediante la adhesión diferencial de células de tipo endotelial y matriz extracelular, por ende en el siguiente formulario sólo se aceptan datos de Quimiotaxis:



Fuerza de quimiotaxis	100000
<input type="button" value="Guardar"/>	<input type="button" value="Cancelar"/>

Figura 4.10 – Ingreso de parámetros de haptotaxis y quimiotaxis.

Para el ingreso de datos concernientes a la secreción y consumo de VEGF se usa el formulario que está a continuación:



Constante de decaimiento de VEGF en el tejido	1e-07
Constante de difusión de VEGF en el tejido	0.048
Cantidad de VEGF secretado por cada célula endotelial	0.00015
<input type="button" value="Guardar"/>	<input type="button" value="Cancelar"/>

Figura 4.11 – Ingreso de parámetros de secreción y consumo de VEGF.

4.6 Diseño de las pruebas

Las pruebas serán realizadas tomando en consideración los datos de prueba presentados por [6]. En la primera prueba se detallarán todos los parámetros y sus valores, sin embargo en las demás sólo se detallarán aquellos cuyos valores cambien respecto a la misma.

Especificación de prueba #1

Configuración del lattice	
Número de filas	30
Número de columnas	30
Número de células tumorales	200
Número de células endoteliales stalk	100
Número de células endoteliales tip	100
Número de células estromales	50
Número de células de matriz extracelular	50
Factor de multiplicación de Monte Carlo steps	5
Número de Monte Carlo steps	5
Temperatura	10
Límite de Hoheweg	0
Contiguidad, área y forma celular	
Volumen objetivo de célula de medio	100

Volumen objetivo de célula tumoral	48
Volumen objetivo de célula endotelial stalk	45
Volumen objetivo de célula endotelial tip	45
Volumen objetivo de célula estromal	51
Volumen objetivo de célula de matriz extracelular	55
Superficie objetivo de célula de medio	50
Superficie objetivo de célula tumoral	8
Superficie objetivo de célula endotelial stalk	6
Superficie objetivo de célula endotelial tip	7
Superficie objetivo de célula estromal	8
Superficie objetivo de célula de matriz extracelular	10
Elasticidad de volumen de célula de medio	50
Elasticidad de volumen de célula tumoral	5
Elasticidad de volumen de célula endotelial stalk	3
Elasticidad de volumen de célula endotelial tip	8
Elasticidad de volumen de célula estromal	5
Elasticidad de volumen de célula de matriz extracelular	10
Elasticidad de superficie de célula de medio	20
Elasticidad de superficie de célula tumoral	3
Elasticidad de superficie de célula endotelial stalk	1
Elasticidad de superficie de célula endotelial tip	3

Elasticidad de superficie de célula estromal	2
Elasticidad de superficie de célula de matriz extracelular	10
Activación y crecimiento de células endoteliales	
Tasa de acumulación de VEGF en células endoteliales	1
Límite de acumulación de VEGF en células endoteliales	0.004
Tasa de crecimiento de células endoteliales	1
Concentración inicial de VEGF	0
Estado inicial de activación de células endoteliales	0
Cantidad inicial de VEGF en las células endoteliales	0
Adhesión diferencial	
Energía de adhesión entre célula tumoral y de medio	14
Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y de medio	15
Energía de adhesión entre célula endotelial tip y de medio	10
Energía de adhesión entre célula estromal y de medio	16
Energía de adhesión de matriz extracelular y de medio	0
Energía de adhesión entre célula tumoral y endotelial stalk	8
Energía de adhesión entre célula tumoral y endotelial tip	12
Energía de adhesión entre célula tumoral y estromal	13
Energía de adhesión entre célula tumoral y de matriz extracelular	18
Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y endotelial	5

tip	
Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y estromal	10
Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y de matriz extracelular	32
Energía de adhesión entre célula endotelial tip y estromal	16
Energía de adhesión entre célula endotelial tip y de matriz extracelular	15
Energía de adhesión entre célula estromal y de matriz extracelular	15
Energía de adhesión entre célula de medio y de medio	0
Energía de adhesión entre célula tumoral y tumoral	8
Energía de adhesión entre célula endotelial stalk y endotelial stalk	5
Energía de adhesión entre célula endotelial tip y endotelial tip	1
Energía de adhesión entre célula estromal y estromal	16
Energía de adhesión entre célula de matriz extracelular y matriz extracelular	0
Degradación de la matriz extracelular mediante células endoteliales	
tip	
Concentración inicial de la matriz extracelular	0.3
Tasa de decaimiento de la matriz extracelular al lado de una	0.008

célula endotelial	
Tasa de decaimiento de la matriz extracelular debajo de una célula endotelial	0.008
Límite de resistencia de la matriz extracelular	0.25
Haptotaxis y quimiotaxis	
Fuerza de quimiotaxis	100000
Secreción y consumo de VEGF	
Constante de decaimiento de VEGF en el tejido	10^{-7}
Constante de difusión de VEGF en el tejido	0.048
Cantidad de VEGF secretado por cada célula endotelial	0.00015

Tabla 4.1 – Especificación de primera prueba.

Especificación de prueba #2

Configuración del lattice	
Número de células tumorales	150
Número de células estromales	30
Número de células de matriz extracelular	30
Contiguidad, área y forma celular	
Volumen objetivo de célula estromal	36
Volumen objetivo de célula de matriz extracelular	50

Superficie objetivo de célula tumoral	7
Superficie objetivo de célula estromal	4
Elasticidad de volumen de célula estromal	3
Elasticidad de superficie de célula tumoral	2
Elasticidad de superficie de célula estromal	1
Adhesión diferencial	
Energía de adhesión entre célula tumoral y de matriz extracelular	16
Energía de adhesión entre célula de matriz extracelular y matriz extracelular	16

Tabla 4.2 – Especificación de segunda prueba.

Especificación de prueba #3

Configuración del lattice	
Número de células tumorales	120
Número de células estromales	25
Número de células de matriz extracelular	25
Contiguidad, área y forma celular	
Volumen objetivo de célula tumoral	35
Volumen objetivo de célula estromal	36
Volumen objetivo de célula de matriz extracelular	50
Superficie objetivo de célula tumoral	5

Superficie objetivo de célula estromal	4
Elasticidad de volumen de célula tumoral	3
Elasticidad de volumen de célula estromal	3
Elasticidad de superficie de célula tumoral	1
Elasticidad de superficie de célula estromal	1
Adhesión diferencial	
Energía de adhesión entre célula tumoral y de matriz extracelular	16
Energía de adhesión entre célula de matriz extracelular y matriz extracelular	16

Tabla 4.3 – Especificación de tercera prueba.

Especificación de prueba #4

Configuración del lattice	
Número de células tumorales	120
Número de células estromales	25
Número de células de matriz extracelular	25
Contiguidad, área y forma celular	
Volumen objetivo de célula de medio	48
Volumen objetivo de célula tumoral	35

Volumen objetivo de célula estromal	36
Volumen objetivo de célula de matriz extracelular	45
Superficie objetivo de célula de medio	10
Superficie objetivo de célula tumoral	5
Superficie objetivo de célula estromal	4
Elasticidad de volumen de célula de medio	10
Elasticidad de volumen de célula tumoral	3
Elasticidad de volumen de célula estromal	3
Elasticidad de superficie de célula de medio	10
Elasticidad de superficie de célula tumoral	1
Elasticidad de superficie de célula estromal	1
Adhesión diferencial	
Energía de adhesión entre célula tumoral y de matriz extracelular	16
Energía de adhesión entre célula de matriz extracelular y matriz extracelular	16

Tabla 4.4 – Especificación de cuarta prueba.

Especificación de prueba #5

Configuración del lattice	
Número de células tumorales	120
Número de células estromales	25

Número de células de matriz extracelular	25
Contiguidad, área y forma celular	
Volumen objetivo de célula de medio	46
Volumen objetivo de célula tumoral	35
Volumen objetivo de célula estromal	36
Volumen objetivo de célula de matriz extracelular	45
Superficie objetivo de célula de medio	8
Superficie objetivo de célula tumoral	5
Superficie objetivo de célula estromal	4
Elasticidad de volumen de célula de medio	8
Elasticidad de volumen de célula tumoral	3
Elasticidad de volumen de célula estromal	3
Elasticidad de superficie de célula de medio	5
Elasticidad de superficie de célula tumoral	1
Elasticidad de superficie de célula estromal	1
Adhesión diferencial	
Energía de adhesión entre célula tumoral y de matriz extracelular	16
Energía de adhesión entre célula de matriz extracelular y matriz extracelular	16

Tabla 4.5 – Especificación de quinta prueba.

CAPÍTULO 5.

IMPLEMENTACIÓN, PRUEBAS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

5.1 Detalles de la Implementación

Matlab ha sido el lenguaje de programación escogido debido al fácil manejo de ecuaciones y matrices que provee. Además, en cuanto a gráficos, no necesita librerías o paquetes complementarios para desarrollarlos, configurarlos, editarlos en tiempo de ejecución, y su uso es muy intuitivo para el programador.

El ambiente utilizado para el desarrollo del presente software fue una PC con procesador core 2 duo, dos Gigabytes de memoria RAM, la cual tenía instalado la versión completa de Matlab 2014. Para la puesta en producción se requiere al menos una pc que tenga instalado los paquetes básicos de Matlab 2014; Matlab requiere que el PC tenga como mínimo 1 GB de

memoria RAM, sin embargo la cantidad de la misma y el procesador no tienen un requisito mínimo para el despliegue del software, ya que sólo influiría en un aumento o disminución de su tiempo de ejecución.

De los ocho mecanismos necesarios para que sea posible la angiogénesis tumoral, descritos en el capítulo uno, sólo se implementaron seis debido a una reducción en el tiempo del proyecto, sin embargo se ha logrado simularla de manera muy aproximada; los mecanismos implementados son:

- Contiguidad, área y forma celular
- Activación y crecimiento de células endoteliales
- Adhesión diferencial
- Degradación de matriz extracelular mediante células endoteliales tip
- Haptotaxis y quimiotaxis
- Secreción y consumo de VEGF

Los dos faltantes serán implementados como una mejora al presente trabajo, éstos son:

- Filopodia de células endoteliales tip
- Flujo de oxígeno

Se ha tenido una limitación importante en la ejecución de la simulación, el poder computacional, ya que sólo se ha podido contar con una máquina core 2 duo con 2 Gigabytes de memoria ram; por esta razón se ha tenido que

disminuir la complejidad del problema mediante la fijación de un tamaño relativamente pequeño para el lattice.

5.2 Resultados y Análisis de los Casos de Prueba

Para que el fenómeno de angiogénesis sea correctamente apreciado, la distribución inicial de células en el lattice es la siguiente: las tumorales (negras) en la parte inferior, estromales (azules) y de matriz extracelular (amarillas) en el medio, y endoteliales stalk (rojas) y tip (verdes) en la parte superior.

Por causa del tiempo de ejecución, se eligió para todas las pruebas un lattice de 30x30 y un factor de multiplicación de Monte Carlo step de 5, consecuentemente cada uno será equivalente a 4500 iteraciones; cada prueba tuvo una duración de 5 Monte Carlo steps.

A continuación se presentan los resultados de cada caso de prueba:

Prueba1

En esta figura se puede observar el lattice al inicio de esta simulación:

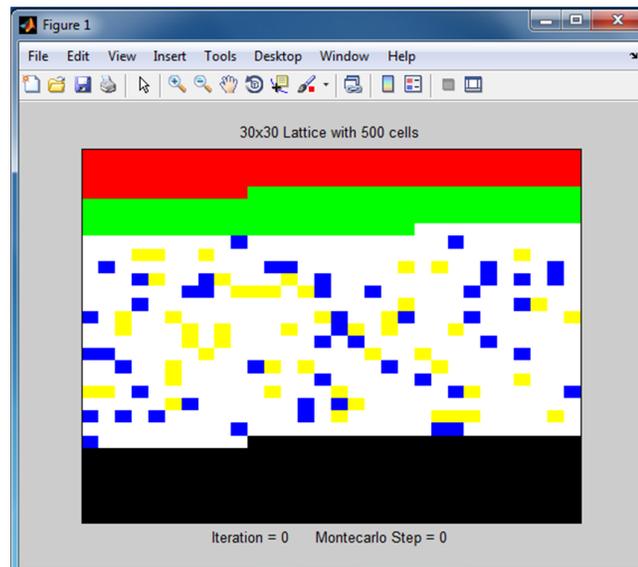


Figura 5.1 – Estado inicial del lattice en la prueba # 1.

Esta figura muestra el lattice al final de la simulación, aquí se puede observar que las células endoteliales, las cuales madurarán y se convertirán en vasos sanguíneos, han avanzado hacia el tumor, así mismo el tumor ha crecido, por lo que el fenómeno de angiogénesis ha sido descrito de forma aproximada:

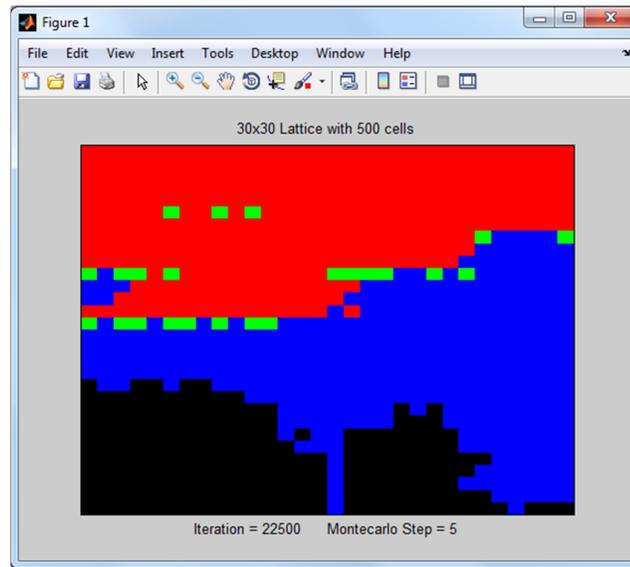


Figura 5.2 – Estado final del lattice en la prueba # 1.

La siguiente figura representa la energía total del sistema en cada iteración, se observa que el sistema alcanza un estado estable (energía = 0) aproximadamente a las 5000 iteraciones, sin embargo la misma naturaleza del modelo implementado no permite que el avance de las células endoteliales hacia el tumor y el crecimiento de éste último altere dicho estado:

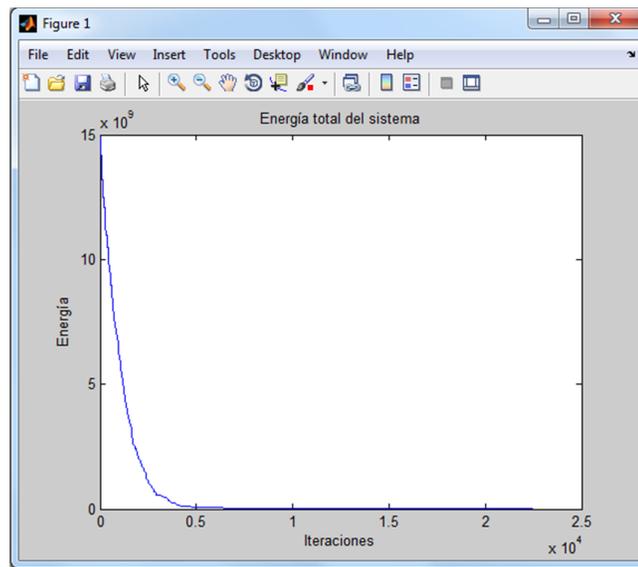


Figura 5.3 – Energía total del lattice en la prueba # 1.

A continuación se presenta el número de lattice sites pertenecientes a cada tipo de célula con respecto al número total de lattice sites, medido en cada MCS; se puede observar que las células de medio desaparecen en su totalidad a partir del segundo MCS (9000 iteraciones); las células endoteliales tip disminuyen su densidad debido a su naturaleza, ya que cada una representa sólo la parte más frontal de una célula endotelial y no crecen; cada célula endotelial stalk representa la parte posterior de una célula endotelial, se les permite crecer y producto de ello su densidad crece en el tiempo; las células tumorales presentan un aumento de densidad hasta la mitad de la simulación y a partir de allí una ligera disminución, esto se debe a la competición entre células inducida por el modelo, sin embargo el resultado final de la simulación no se ve afectado; las células de matriz extracelular

desaparecen en el segundo MCS debido al degradamiento influenciado por las células endoteliales tip, ésto es, una vez que su concentración llega a un límite, ya no representan una barrera para el avance de los demás tipos de célula; las células estromales aumentan su densidad, sin embargo ellas no deben seguir un comportamiento en particular en el fenómeno de angiogénesis:

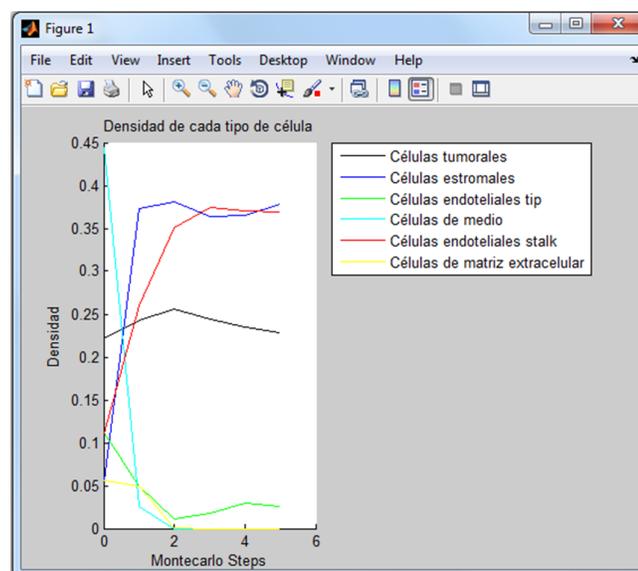


Figura 5.4 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la prueba # 1.

La figura a continuación muestra el cambio en el número de lattice sites pertenecientes a cada tipo de célula por iteración, en cada MCS; por ejemplo, se observa que en el primer MCS las células estromales crecen a razón de 0.06 sites/iteración, las de medio disminuyen a razón de 0.08 sites/iteración, las tumorales casi no crecen, las endoteliales stalk crecen a razón de 0.03 sites/iteración y las endoteliales tip, a pesar de una disminución en su

velocidad, crecen a razón de 0.01 sites/iteración. Así mismo se puede ver que a medida que avanza la simulación, todos los tipos de célula disminuyen su tasa de crecimiento hasta llegar a ser casi cero en el final; ésto se debe a que algunos tipos de célula disminuyen su densidad en favor de otros, por lo que a medida que transcurre el tiempo cada cambio de configuración propuesto (modelo GGH) es muy probable que sea entre lattice sites que posean un mismo tipo de célula:

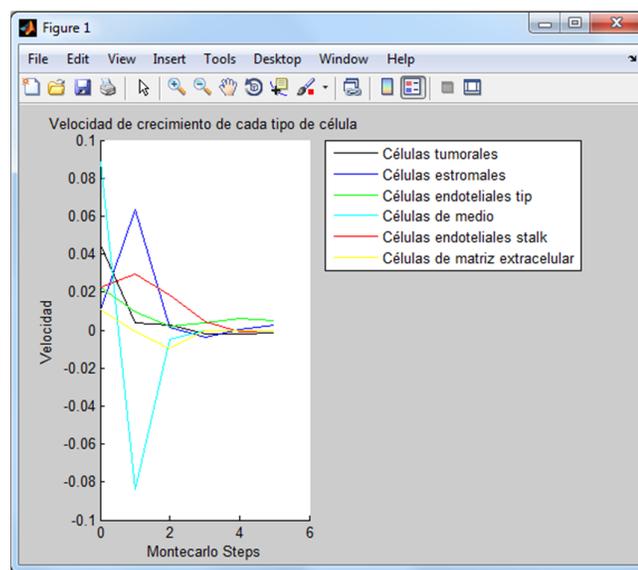


Figura 5.5 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la prueba # 1.

Prueba 2

La siguiente figura muestra el lattice al inicio de la simulación:

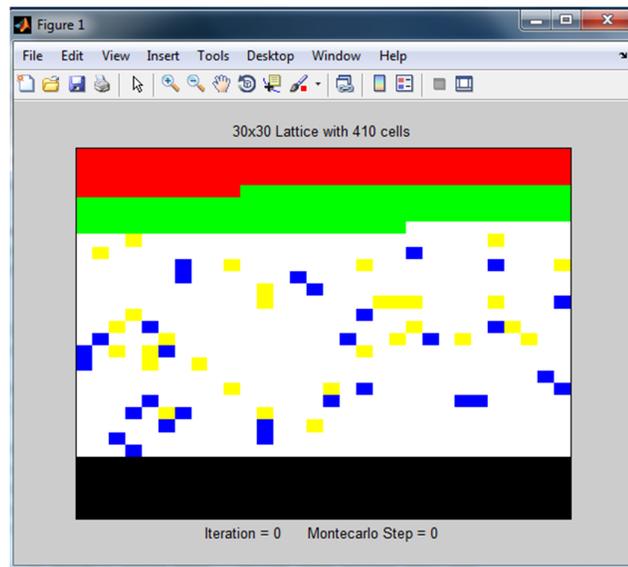


Figura 5.6 – Estado inicial del lattice en la prueba # 2.

A continuación se puede observar que el resultado final de esta prueba no fue satisfactorio; el fenómeno de angiogénesis tumoral no pudo ser simulado debido a los cambios efectuados en los parámetros de área y contigüidad celular de las células endoteliales; estos cambios se los propuso para ajustar los datos de prueba con aquellos usados por [6], sin embargo no se tomó en cuenta que los mismos parámetros también debieron ser cambiados para las células tumorales para ofrecer mayor competición entre estos tipos de célula. En los datos de prueba de [6] no se proporcionan valores de área y contigüidad celular para las células tumorales, por lo que en pruebas posteriores se los ajustó a conveniencia.

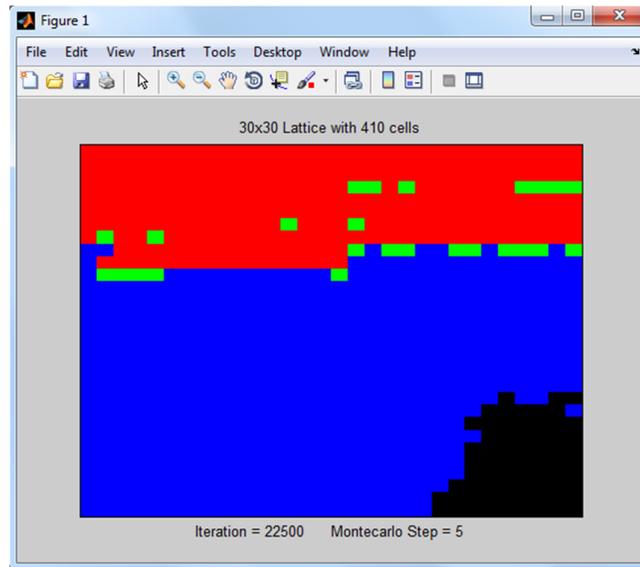


Figura 5.7 – Estado final del lattice en la prueba # 2.

En la siguiente figura se puede observar que el sistema alcanza un estado estable cerca de las 5000 iteraciones, sin embargo en esta prueba se logra también efectuar cambios posteriores en el lattice sin alterar dicho estado.

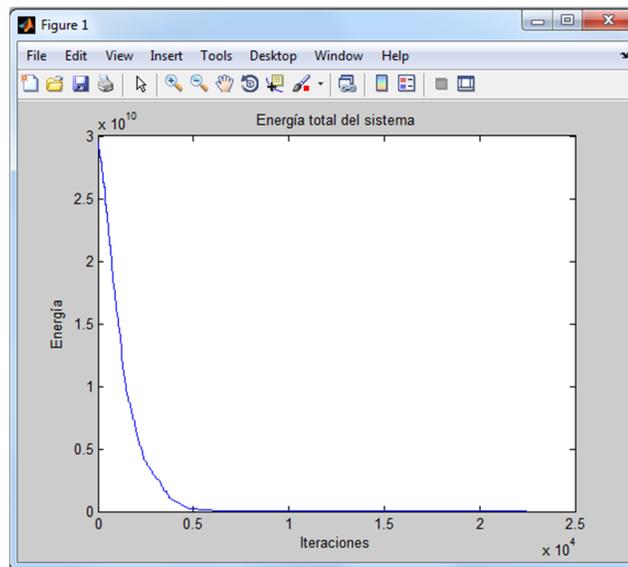


Figura 5.8 – Energía total del lattice en la prueba # 2.

La figura a continuación muestra la densidad de lattice sites por cada tipo de célula; se observa que a partir del segundo MCS las células de medio desaparecen, mientras que las de matriz extracelular lo hacen a partir del tercero; lo curioso en este gráfico es la diferencia entre las células estromales y tumorales, lo cual confirma que el fenómeno de angiogénesis no pudo ser simulado, ya que la densidad de las células tumorales es muy baja desde la mitad de la simulación; las células endoteliales stalk y tip tuvieron comportamientos esperados, las primeras crecieron, las segundas decrecieron y luego ambas se mantuvieron constantes.

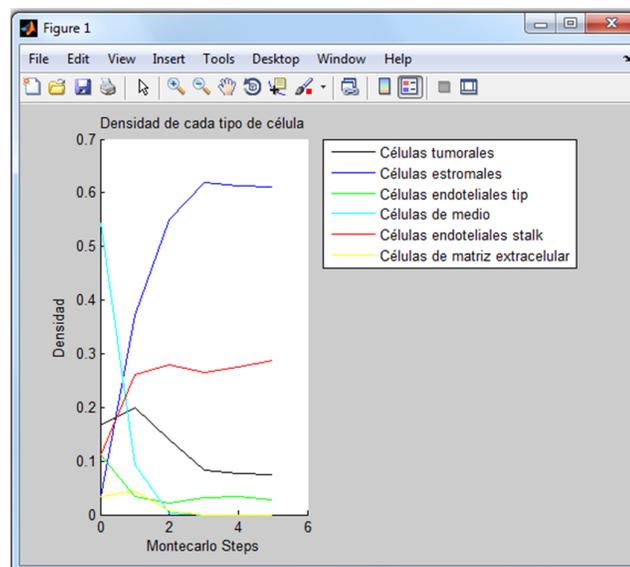


Figura 5.9 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la prueba # 2.

En la siguiente gráfica se presenta la velocidad de crecimiento de cada tipo de célula, en cada MCS; tal como se esperaba, al inicio ciertos tipos de célula tendrán una tasa de cambio mayor a otros debido a la competición alentada por el modelo, pero después de algunos MCS dicha tasa tiende a cero para todos los tipos hasta el final de la simulación.

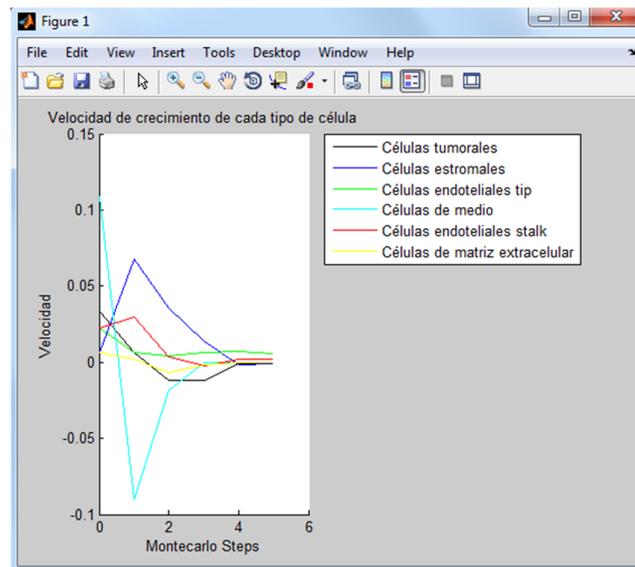


Figura 5.10 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la prueba # 2.

Prueba 3

La figura a continuación presenta el lattice al inicio de la simulación:

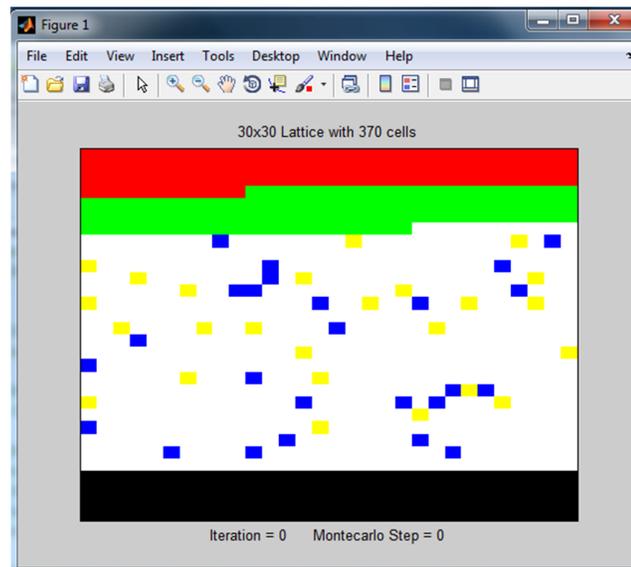


Figura 5.11 – Estado inicial del lattice en la simulación # 3.

La siguiente gráfica muestra el lattice al final de la simulación; se puede observar que el fenómeno de angiogénesis tumoral no pudo ser simulado, en este caso por causa de las células endoteliales, las cuales han casi desaparecido en favor de las células estromales; ésto se debe a los cambios efectuados en los valores del volumen objetivo, superficie objetivo, elasticidad de volumen y elasticidad de superficie de las células tumorales sin alterar aquellos correspondientes a la matriz extracelular, lo cual permitió que las células estromales disminuyan su volumen con respecto a las tumorales; esto último favoreció a las células estromales en la competición con las células endoteliales.

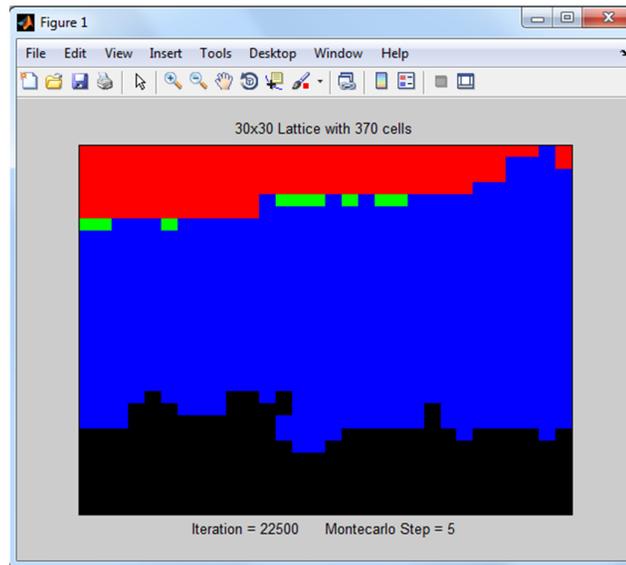


Figura 5.12 – Estado final del lattice en la simulación # 3.

La próxima figura presenta la energía total del sistema en cada iteración; se puede apreciar que llega a un estado estable a las 5000 iteraciones, tal como sucede en pruebas anteriores, el lattice sufre cambios posteriores sin que dicho estado varíe.

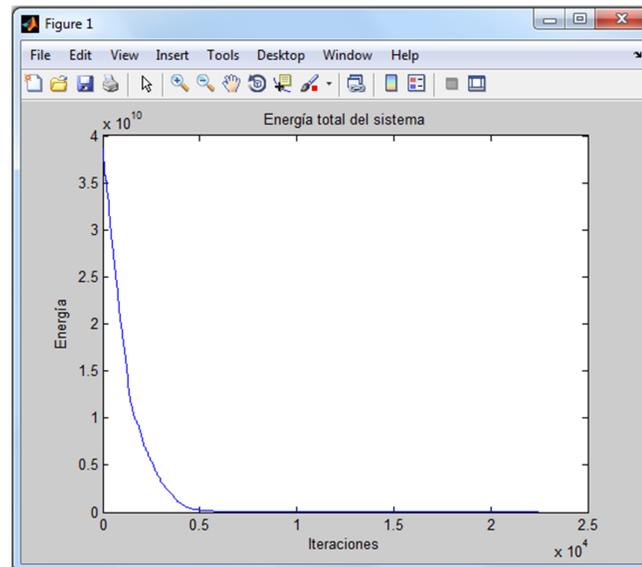


Figura 5.13 – Energía total del lattice en la simulación # 3.

En la siguiente gráfica se observa la densidad de lattice sites de cada tipo de célula; en esta ocasión se puede observar que las células estromales crecieron de buena forma, así mismo las tumorales, sin embargo la combinación de ambos eventos provocó el declive de las células endoteliales, impidiendo que el fenómeno de angiogénesis pueda ser simulado.

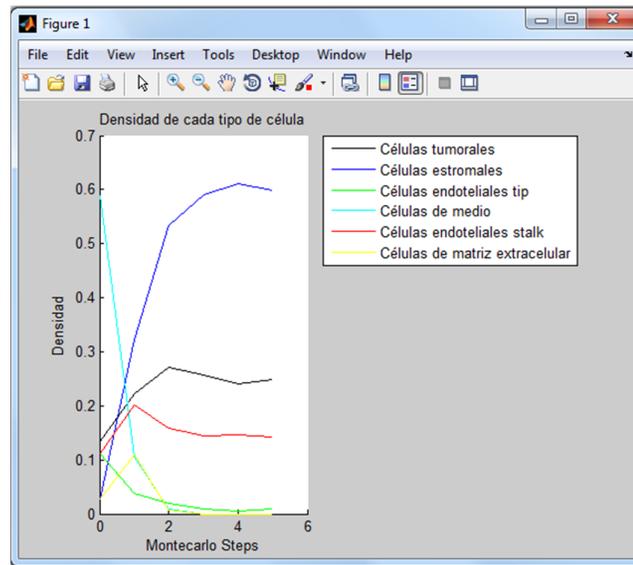


Figura 5.14 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la simulación # 3.

La siguiente figura muestra el cambio en el número de lattice sites por iteración de cada tipo de célula; tal como en anteriores pruebas, el ritmo de crecimiento de unos tipos de célula es mayor que otros, y en algunos casos ocurre un decrecimiento, sin embargo al final todos los tipos tienen un ritmo bajo o nulo.

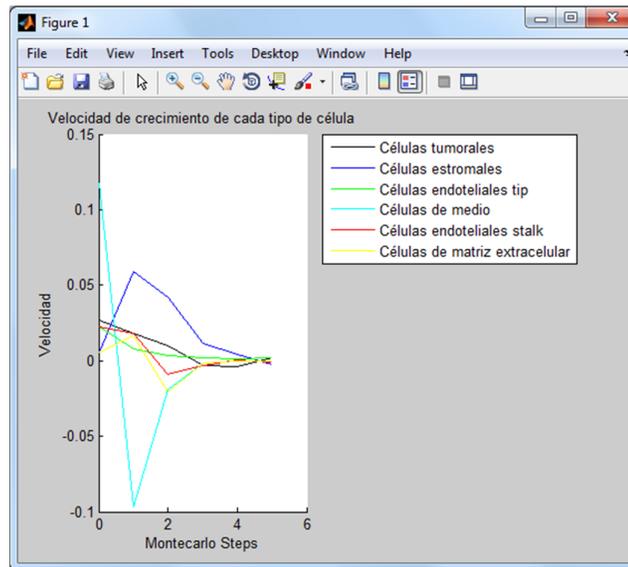


Figura 5.15 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la simulación # 3.

Prueba 4

A continuación se presenta el lattice al inicio de la simulación:

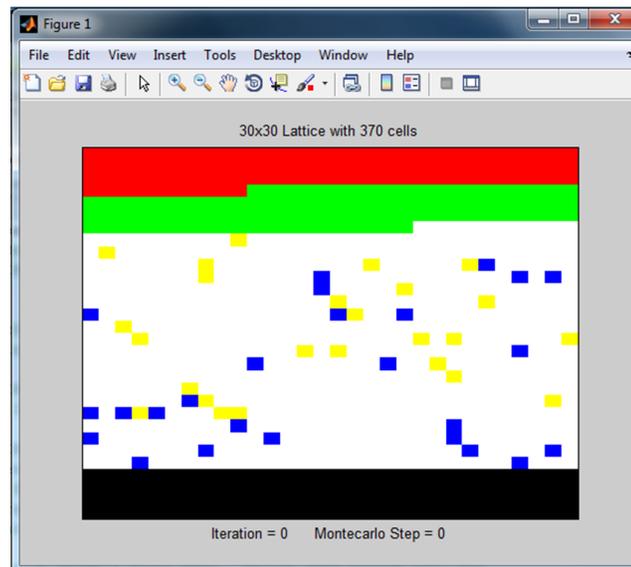


Figura 5.16 – Estado inicial del lattice en la simulación # 4.

En la siguiente figura se aprecia el lattice al final de la simulación; se observa que el fenómeno de angiogénesis tumoral fue simulado de forma aproximada, las células tumorales crecieron y las endoteliales se les acercaron; a diferencia de la prueba anterior, esta vez sí se cambiaron los parámetros de volumen objetivo, superficie objetivo, elasticidad de volumen y elasticidad de superficie para las células tumorales y de matriz extracelular, dando como resultado una correcta simulación.

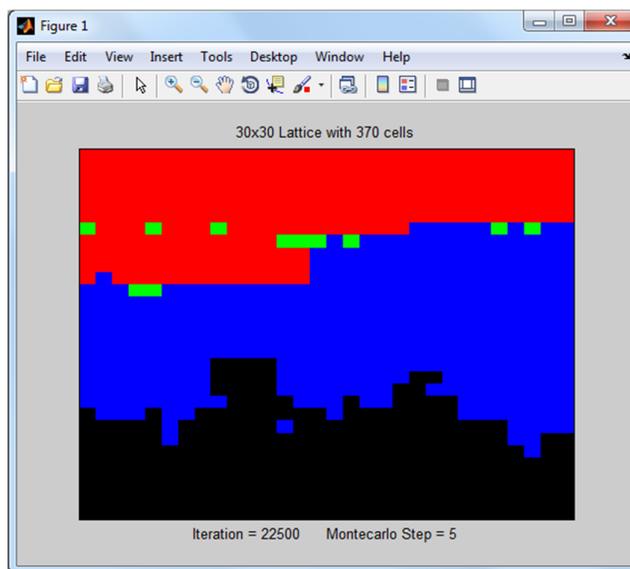


Figura 5.17 – Estado final del lattice en la simulación # 4.

A continuación se muestra la energía total del sistema en cada iteración; esta vez el estado estable se alcanzó a las 6000 iteraciones aproximadamente, producto de una mayor competición entre células provocado por el cambio en los parámetros antes mencionados de las células de matriz extracelular.

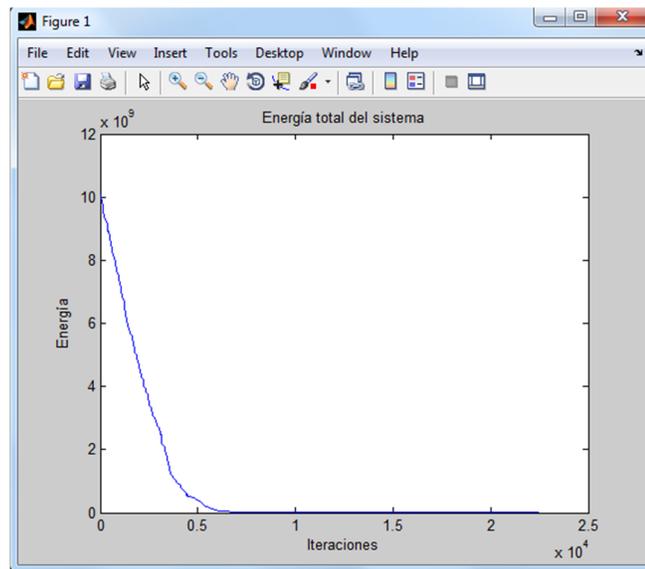


Figura 5.18 – Energía total del lattice en la simulación # 4.

La siguiente figura muestra la densidad de lattice sites de cada tipo de célula, con ella podemos corroborar lo presentado por la figura 5.35; tanto las células endoteliales stalk como las tumorales aumentan, por lo cual la angiogénesis es posible.

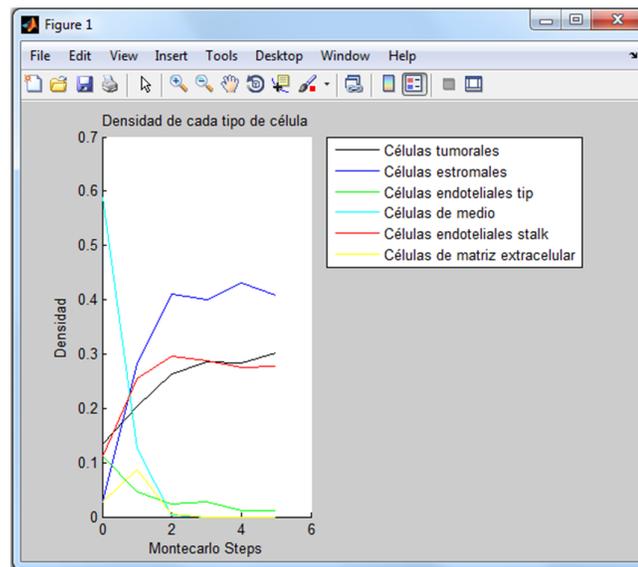


Figura 5.19 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la simulación # 4.

En la próxima gráfica se presenta la razón de cambio en el número de lattice de cada tipo de célula; se puede observar que las células endoteliales y tumorales nunca llegan a tener tasas negativas en cada MCS, lo cual nos indica que su población de lattice sites no decrece a pesar de existir desaceleraciones; tal como en todas las pruebas anteriores, al final de la simulación la tasa de crecimiento de cada tipo de célula es muy bajo.

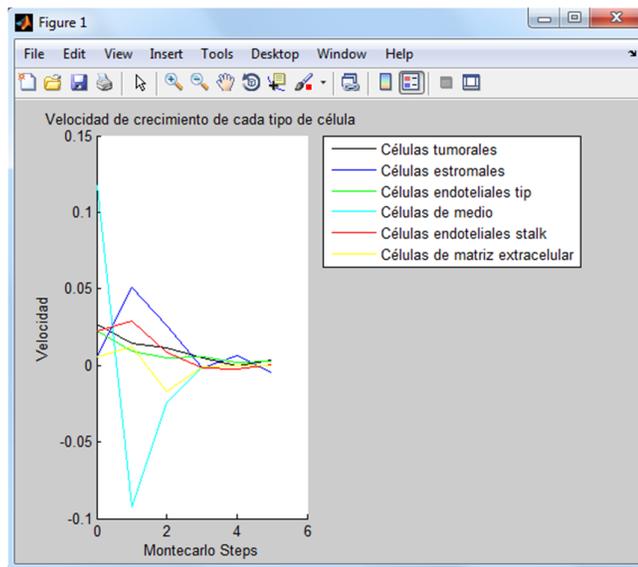


Figura 5.20 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la simulación # 4.

Prueba 5

En la siguiente figura se muestra el lattice al inicio de la simulación, el cual ha coincidido con el de la prueba anterior:

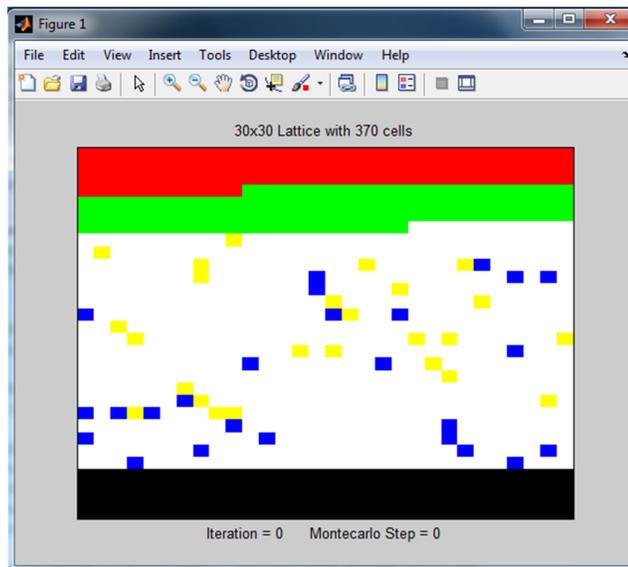


Figura 5.21 – Estado inicial del lattice en la simulación # 5.

A continuación se presenta el lattice al final de la simulación; aunque el fenómeno de angiogénesis pudo ser simulado, aquí se da un hecho muy curioso, habiendo sólo modificado el volumen objetivo, superficie objetivo, elasticidad de volumen y elasticidad de superficie de las células de medio, el resultado obtenido ha sido el mismo con respecto a la prueba anterior; ésto nos da a entender que incluso variando ciertos parámetros en su favor, el gran volumen inicial de este tipo de células impide que haya una competición más pareja con los otros tipos.

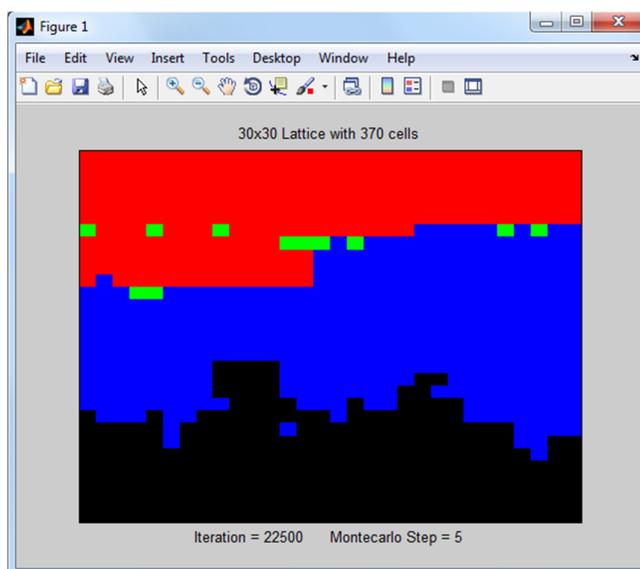


Figura 5.22 – Estado final del lattice en la simulación # 5.

La siguiente figura nos muestra la energía total del sistema en cada iteración; tal como en la prueba anterior, el estado estable se alcanza a las 6000 iteraciones y los cambios posteriores en el lattice no lo alteran.

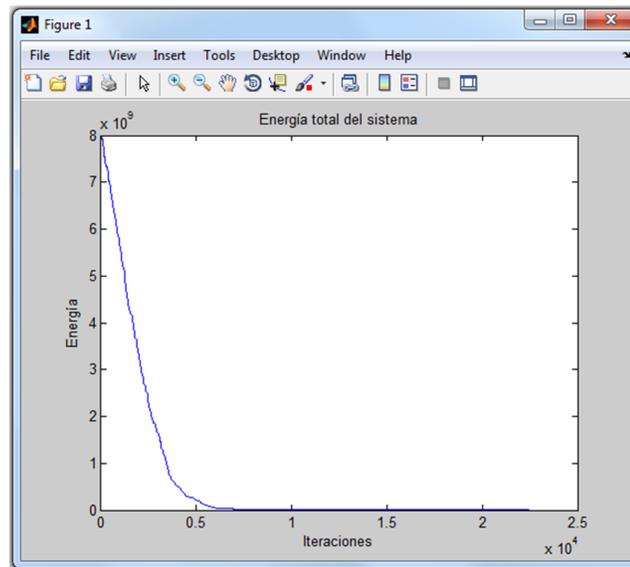


Figura 5.23 – Energía total del lattice en la simulación # 5.

La próxima figura muestra la densidad de lattice sites de cada tipo de célula. Tal como ocurrió en la prueba anterior, las células tumorales y endoteliales crecieron, corroborando así que la angiogénesis se produjo; por otro lado, las células de medio muestran un descenso a pesar de tener condiciones más favorables.

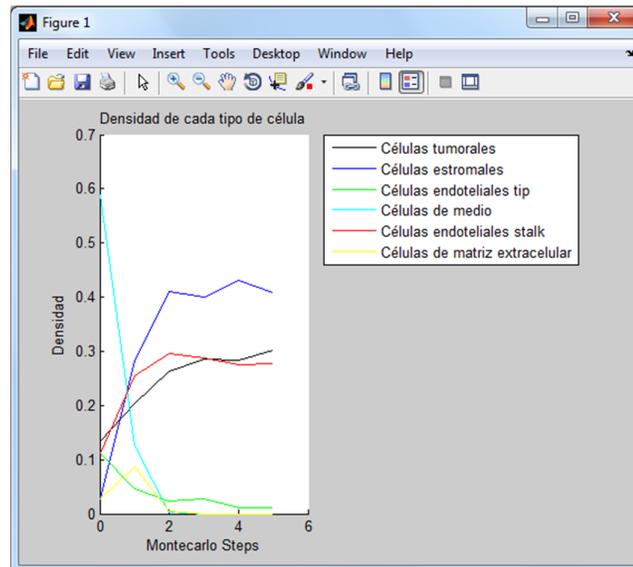


Figura 5.24 – Densidad de lattice sites por tipo de célula en la simulación # 5.

En la siguiente figura se muestra la velocidad de crecimiento de cada tipo de célula; se puede apreciar un patrón similar al de la prueba anterior, tanto las células tumorales como las endoteliales nunca tienen un valor negativo; las células de medio decrecen incluso habiéndolas favorecido; y tal como en todas las pruebas pasadas, al final todos los tipos de célula tienen una velocidad muy baja.

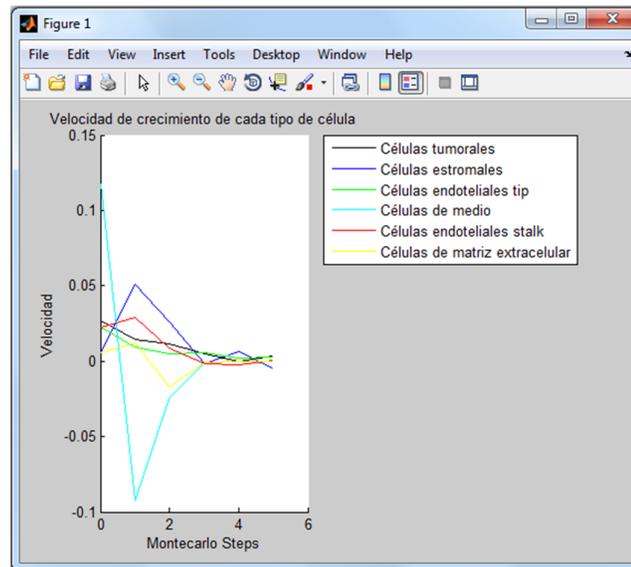


Figura 5.25 – Velocidad de crecimiento por tipo de célula en la simulación # 5.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En este trabajo se presentó un software para simular de manera aproximada el fenómeno de la angiogénesis tumoral, que constituye probablemente una de las claves para entender y procurar tratamientos para el cáncer en el futuro. Las simulaciones o terapias in sílico de este proceso suministran a los biólogos pautas sobre caminos a seguir con mayor probabilidad de éxito; de esta manera se optimizan los tiempos de investigación y se puede probar una mayor cantidad de enfoques en un determinado período.

La parte principal de este simulador la constituye un conjunto de modelos discretos y continuos con los que se describen diferentes mecanismos que participan en el proceso de la angiogénesis. Por una parte, los modelos discretos para considerar las interacciones entre células, aplicándolas sobre una representación de los tejidos a nivel microscópico mediante un modelo

GGH; y, por otra, los modelos continuos con los que se representan eventos que afectan a todo el conjunto de células o tejido, a nivel macroscópico. La simulación, en la que interactúan todos estos modelos, se realiza mediante una variación del algoritmo Metrópolis.

En cuanto a los resultados obtenidos luego de realizar varias simulaciones, se puede concluir lo siguiente:

1. Para que el proceso de la angiogénesis pueda ser observado, es necesario que conjuguen los valores de los parámetros de cada tipo de célula, estando coordinados unos con otros; de esta manera se logra que las células de varios tipos compitan adecuadamente.
2. Cuando se varía el valor de uno o varios parámetros para cierto tipo de célula, se afecta su competición con los otros tipos de célula que participan en el fenómeno, motivo por el cual la simulación del proceso de la angiogénesis resultará afectada; en algunos casos se observa con mayor precisión, pero en otros puede perderse totalmente
3. Cuando se observa la angiogénesis tumoral, las células tumorales y endoteliales aumentan su densidad a expensas de las células de medio y de la matriz extra celular, pero en cambio la densidad de células estromales también crece.
4. Cuando se observa la angiogénesis, a partir del segundo paso de Monte Carlo, las células estromales decrecen a una velocidad mayor que las células endoteliales y que las tumorales.

5. En general, las células de tipo matriz extracelular desaparecen cualquiera sea el valor de los parámetros, tan pronto como en el segundo paso de Monte Carlo; esto se debe a una propiedad del modelo que establece que después de que su densidad haya alcanzado cierto valor límite, este tipo de células ya no representa más una barrera en su interacción con las otras.
6. Aunque el sistema alcance tempranamente un estado de equilibrio (energía tiende a 0), la competencia entre diferentes tipos de célula se mantiene a lo largo de toda la simulación.
7. Las células endoteliales de tipo tope crecen debido al agrandamiento de las células endoteliales de tipo tallo.

Perspectivas para Futuros Trabajos

Este software tiene limitaciones, por lo que a partir del mismo podrían salir algunos proyectos, entre las posibles mejoras se puede mencionar:

1. Agregar al modelo continuo componentes que describan los mecanismos de filopodia de células endoteliales tip y flujo de oxígeno.
2. Validar los modelos, su implementación y resultados con el centro de biotecnología (CIBE).
3. Rediseñar la implementación tomando en consideración un paradigma y luego un modelo de paralelización [42], de manera que se pueda aprovechar al máximo el poder computacional que ofrecen

los computadores y supercomputadores actuales; también se podría optar por una alternativa de bajo costo como la paralelización usando tarjetas gráficas; ésto no se lo realizó en el presente trabajo debido a un acortamiento de tiempo en la entrega del proyecto.

ANEXOS

Definiciones no Comunes en el Texto

Estroma: Es el tejido encargado de conectar o rodear a los órganos del cuerpo, se compone de fibras de matriz extracelular, fluido y demás tejido, en este trabajo se los modela como células de matriz extracelular, de medio y estromales respectivamente [40].

Matriz extracelular: Es una red molecular similar a una malla compuesta de proteínas de colágeno, elastina, proteínas adhesivas y proteoglicanos [16].

Células endoteliales: Son células que recubren el interior de los vasos sanguíneos y capilares, formando parte de su pared [39].

VEGF: Es una proteína señalizadora que estimula la vasculogénesis y angiogénesis [41].

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Voss-Böhme , A. (2012). Multi-scale Modeling in Morphogenesis: A Critical Analysis of the Cellular Potts Model. PLoS ONE 7(9): e42852. doi:10.1371/journal.pone.0042852.
- [2] Glazier, J. , Balter , A. , & Poplawsky , N. (2007) . Magnetization to Morphogenesis: A Brief History of the Glazier-Graner-Hogeweg Model. In A. Anderson , M. Chaplain , & K. Rejniak (Eds.) , Single-cell based models in biology and medicine (pp. 79-106) . Basel: Birkhäuser Verlag AG.
- [3] Mareé , A. , Grieneisen , V. , & Hogeweg , P. (2007) . The Cellular Potts Model and Biophysical Properties of Cells, Tissues and Morphogenesis. In A. Anderson , M. Chaplain , & K. Rejniak (Eds.) , Single-cell based models in biology and medicine (pp. 107-136) . Basel: Birkhäuser Verlag AG.
- [4] Savill , N. , & Merks , R. (2007) . The Cellular Potts Model in Biomedicine. In A. Anderson , M. Chaplain , & K. Rejniak (Eds.) , Single-cell based models in biology and medicine (pp. 137-150) . Basel: Birkhäuser Verlag AG.
- [5] Balter , A. , Merks , R. , Poplawski , N. , Swat , M. , Glazier , J. (2007) . The Glazier-Graner-Hogeweg Model: Extensions, Future Directions, and

Opportunities for Further Study. In A. Anderson , M. Chaplain , & K. Rejniak (Eds.) , Single-cell based models in biology and medicine (pp. 151-168) . Basel: Birkhäuser Verlag AG.

- [6] Mahoney , A. , Podgorski , G. , & Flann , N. (2012). Multiobjective Optimization Based-Approach for Discovering Novel Cancer Therapies. IEEE/ACM Transactions on Computational Biology and Bioinformatics, 9(1), 169-184.
- [7] Ghaemi , M. , & Shahrokhi , A. Combination of the Cellular Potts Model and Lattice Gas Cellular Automata for simulating the avascular cancer growth. Theran: Theran University.
- [8] Izaguirre , J. , Chaturvedi , R. , & Huang , C. (2003). CompuCell, a multi-model framework for simulation of morphogenesis. Bioinformatics, 20(7), 1129-1137.
- [9] Glazier , J. , & Graner , F. (1993). Simulation of the differential adhesion driven rearrangement of biological cells. Physical Review E, 47(3), 2128-2152.
- [10] Hogeweg , P. (2000). Evolving Mechanisms of Morphogenesis: on the Interplay between Differential Adhesion and Cell Differentiation. Journal of Theoretical Biology, 203, 317-333.
- [11] Graner , F. , & Glazier , J. (1992). Simulation of Biological Cell Sorting Using a Two-Dimensional Extended Potts Model. Physical Review

Letters, 69(13), 2013-2016.

- [12] Scianna , M. , & Preziosi , L. (2013). A cellular potts model simulating cell migration on and in matrix environments. *Mathematical Biosciences and Engineering*, 10(1), 235-261.
- [13] Scianna , M. (2012). Multiscale extensions of the cellular potts models: toward a nested-hybrid approach. *Communications in Applied and Industrial Mathematics*, 3(1), 1-27.
- [14] Zhang, Y. , Thomas, G. L. , Swat, M. , Shirinifard, A. , & Glazier J. A. (2011). Computer Simulations of Cell Sorting Due to Differential Adhesion. *Plos One*, 6(10). doi:10.1371/journal.pone.0024999.
- [15] Ouchi, N. B. , Glazier, J. A. , Rieu, J. , Upadhyaya, A. , & Sawada, Y. (2002). Improving the realism of the cellular potts model in simulations of biological cells. *Physica A*, 329, 451 – 458.
- [16] Bauer, A. , Jackson, T. , Jiang, Y. (2007). A cell-based model exhibiting branching and anastomosis during tumor-induced angiogenesis. *Biophysical Journal*, 92, 3105 – 3121.
- [17] Byrne, H. , Owen, M. , Alarcón, T. , Murphy, J. , Maini, P. (2006). Modelling the response of vascular tumors to chemotherapy: A multiscale approach. *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, 16(7), 1219 – 1241.
- [18] Merks, R. , Brodsky, S. , Goligorsky, M. , Newman, S. , Glazier, J. (2006).

Cell elongation is key to in silico replication of in vitro vasculogenesis and subsequent remodeling. *Developmental biology*, 289, 44 – 54.

- [19] Alarcón, T. , Byrne, H. , Maini, P. (2003). A cellular automaton model for tumour growth in inhomogeneous environment. *Journal of Theoretical Biology*, 225, 257 – 274.
- [20] Gerhardt, H. , Golding, M. , Fruttiger, M. (2003). Vegf guides angiogenic sprouting utilizing endothelial tip cell filopodia. *The journal of cell biology*, 161(6), 1163 – 1177.
- [21] Stetler-Stevenson, W. (1999). Matrix metalloproteinases in angiogenesis: a moving target for therapeutic intervention. *The Journal of Clinical Investigation*, 103(9), 1231 – 1236.
- [22] Bauer, A. , Jackson, T. , Jiang, Y. (2009). Topography of extracellular matrix mediates vascular morphogenesis and migration speeds in angiogenesis. *Plos Computational Biology*, 5(7).
- [23] McDougall, S. , Anderson, A. , Chaplain, M. (2002). Mathematical model of flow through vascular networks: Implication for tumour-induced angiogenesis and chemotherapy strategies. *Bulletin of Mathematical Biology*, 64, 673 – 702.
- [24] Chaplain, M. , McDougall, S. , Anderson, A. (2006). Mathematical modeling of tumour-induced angiogenesis. *The Annual Review of Biomedical Engineering*, 8, 233 – 257.

- [25] Turner, S. , Sherratt, J. (2001). Intercellular adhesion and cancer invasion: A discrete simulation using the extended potts model. *Journal of Theoretical Biology*, 216, 85 – 100.
- [26] Kafer, J. , Hogeweg, P. , Marée, A. (2006). Moving Forward Moving Backward: Directional Sorting of Chemotactic Cells due to Size and Adhesion Differences. *Plos Computational Biology*, 2(6), 518 – 529.
- [27] Gabhann, F. , Popel, A. (2006). Targeting Neuropilin-1 to Inhibit VEGF Signaling in Cancer: Comparison of Therapeutic Approaches. *Plos Computational Biology*, 2(12), 1649 – 1662.
- [28] Correia, P. , Functional Performance Training,
<https://pedrocorreiatraining.wordpress.com/2012/05/14/as-verdades-sobre-a-prevencao-do-cancro-parte-2/>, fecha de consulta marzo 2015.
- [29] Basan, M. , Prost, J. , Joanny, J. , Elgeti, J. (2011). Dissipative particle dynamics simulations for biological tissues: rheology and competition. *Physical Biology*, 8(2).
- [30] <http://en.wikipedia.org/wiki/Chemotaxis>
- [31] <http://www.medscape.org/viewarticle/473658>
- [32] http://www.nature.com/nrc/journal/v13/n12/fig_tab/nrc3627_F1.html
- [33] <http://www.nature.com/nrc/journal/v14/n6/full/nrc3726.html>
- [34] <http://rsif.royalsocietypublishing.org/content/11/100/20140687>
- [35] <http://www.hyperbaricconsultants.com.au/principles-of-hyperbaric-oxyge/>

- [36] Ising, E. (1925). Beitrag zur Theorie des Ferromagnetismus. Z. Physik, 31.
- [37] Metropolis, N. , Rosenbluth, A. , Rosenbluth, M. , Teller, A. , Teller, E. (1953). Equation of state calculations by fast computing machines. J. Chem. Phys., 21.
- [38] <http://hua-zhou.github.io/teaching/st758-2014fall/top10/metropolis.pdf>.
- [39] http://es.wikipedia.org/wiki/C%C3%A9lula_endotelial
- [40] [http://en.wikipedia.org/wiki/Stroma_\(animal_tissue\)](http://en.wikipedia.org/wiki/Stroma_(animal_tissue))
- [41] http://en.wikipedia.org/wiki/Vascular_endothelial_growth_factor
- [42] Moura, L. , Buyya, R. (1999). Parallel Programming Models and Paradigms. Recuperado desde <http://www.buyya.com/cluster/v2chap1.pdf>