

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Evaluado y acreditado por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación
Universitaria (CONEAU). Resolución N° 170/16. Calificación "B".

MODELOS DE CRECIMIENTO TUMORAL Y METÁSTASIS

Trabajo de tesis para optar al título de Doctor en Ciencia y Tecnología
de la Universidad Nacional de General Sarmiento

Autor: David Hipólito Margarit

Directora: Dra. Lilia M. Romanelli
Codirector: Dr. Alejandro J. Fendrik

Instituto de Ciencias, Universidad Nacional de General Sarmiento

Los Polvorines, Buenos Aires, 11 de diciembre de 2020.

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Evaluado y acreditado por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU). Resolución N° 170/16. Calificación "B".

FORMULARIO "E" TESIS DE POSGRADO

Niveles de acceso al documento autorizados por el autor

El autor de la tesis puede elegir entre las siguientes posibilidades para autorizar a la UNGS a difundir el contenido de la tesis: a

- a) *Liberar el contenido de la tesis para acceso público.*
 - b) *Liberar el contenido de la tesis solamente a la comunidad universitaria de la UNGS:*
 - c) *Retener el contenido de la tesis por motivos de patentes, publicación y/o derechos de autor por un lapso de cinco años.*
-
- a. Título completo del trabajo de Tesis: Modelos de crecimiento tumoral y metástasis.
 - b. Presentado por: Margarit, David Hipólito
 - c. E-mail del autor: dmargarit@campus.ungs.edu.ar, dhmargarit@gmail.com
 - d. Estudiante del Posgrado: Doctorado en Ciencia y Tecnología
 - e. Institución o Instituciones que dictaron el Posgrado: Instituto de Ciencias - Universidad Nacional de General Sarmiento
 - f. Para recibir el título de:
 - a) Grado académico que se obtiene: Doctor
 - b) Nombre del grado académico: Doctor en Ciencia y Tecnología
 - g. Fecha de la defensa: 11/12/2020
 - h. Director de la Tesis: Dra. Lilia Romanelli
 - i. Codirector de la Tesis: Dr. Alejandro Fendrik
 - j. Colaboradores con el trabajo de Tesis: -
 - k. Descripción física del trabajo de Tesis (cantidad total de páginas, imágenes, planos, videos, archivos digitales, etc.): 121 páginas (incluyendo Formulario E), 22 imágenes y 8 cuadros.

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Evaluado y acreditado por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU). Resolución N° 170/16. Calificación "B".

- l. Alcance geográfico y/o temporal de la Tesis: Alcance internacional y vigente siempre que se estudien modelos de cáncer mediante el enfoque de los sistemas complejos.
- m. Temas tratados en la Tesis (palabras claves): Cáncer; Tumor; Sistemas Complejos; Metástasis; Diferenciación Celular Cancerosa.
- n. Resumen en español (hasta 1000 caracteres):

En el presente trabajo se estudian modelos que describen el desarrollo de procesos cancerosos en humanos a distintas escalas. A partir de un modelo que describe la interacción de las células del sistema inmune con células tumorales, cuyos parámetros se pueden variar por medio de diferentes estrategias terapéuticas, se estudió la respuesta del crecimiento tumoral ante diferentes variaciones temporales de dichos parámetros. Con el objeto de estudiar el crecimiento espacial de los tumores sólidos, se elaboró un modelo de autómatas celulares. Se tuvo en cuenta la diferenciación celular de células cancerosas, eventual plasticidad y la importancia de la distribución en la zona periférica de células madre cancerosas en relación con circunstancias de metástasis. Finalmente, se desarrolló una caracterización de las rutas de metástasis para órganos específicos mediante el uso de Cadenas de Markov, mostrando la propagación de metástasis desde diferentes sitios primarios hacia otros secundarios y terciarios, resaltando la relación y el análisis sobre los estados absorbentes.

- o. Resumen en portugués:

No presente trabalho, modelos que descrevem o desenvolvimento de processos cancerígenos em humanos em diferentes escalas são estudados. A partir de um modelo que descreve a interação de células do sistema imunológico com células tumorais, cujos parâmetros podem ser variados por meio de diferentes estratégias terapêuticas, foi estudada a resposta do crescimento tumoral a diferentes variações temporais dos referidos parâmetros. Para estudar o crescimento espacial de tumores sólidos, foi desenvolvido um modelo de autômato celular. A diferenciação celular das células cancerígenas, a eventual plasticidade e a importância da distribuição na zona periférica das células-tronco cancerígenas em relação às metástases circunstanciais foram levadas em consideração. Por fim, uma caracterização das vias de metástase para órgãos específicos foi desenvolvida usando Cadeias de Markov, mostrando a

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Evaluado y acreditado por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU). *Resolución N° 170/16. Calificación "B"*.

disseminação de metástases de diferentes locais primários para secundários e terciários, destacando a relação e a análise dos estados absorventes.

p. Resumen en inglés:

In this thesis work, cancer is analysed from the perspective of complex systems using different scales. From an immunotherapeutic model of interaction between cells of the immune system and cancer, the different responses of the system were studied, by means of different types of temporal variations, for the possible ranges that the parameters can take. Next, a model of a cellular automaton was carried out in space for a solid tumour, taking into account the cellular differentiation of cancer cells, eventual plasticity and the importance of the distribution in the peripheral zone of cancer stem cells in relation to circumstantial metastases. Finally, a characterization of the metastasis pathways for specific organs was developed through the use of Absorbing Markov Chains, showing the spread of metastases from different primary sites to secondary and tertiary ones, highlighting the relationship and analysis on the absorbent states.

q. Aprobado por (Apellidos y Nombres del Jurado):

Dra. Susana A. A. Blanco (Instituto Nacional del Cáncer (Ministerio de Salud) – CONICET)

Dra. Silvina M. Ponce Dawson (Universidad de Buenos Aires – CONICET)

Dra. Alejandra C. Ventura (Universidad de Buenos Aires – CONICET)

Firma y aclaración de la firma del Presidente del Jurado: Dra. Silvina M. Ponce Dawson

Firma del autor de la tesis: David Hipólito Margarit

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Evaluado y acreditado por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU). Resolución N° 170/16. Calificación "B".

Aportes Originales:

Esta tesis propone aportes originales sobre el estudio del cáncer, contribuyendo al mismo mediante las tres publicaciones de referato internacional y presentaciones en diversos eventos científicos.

Publicaciones en revistas internacionales con referato

- *A 3D Cellular Automaton for Cell Differentiation in a Solid Tumor with Plasticity.* D. H. Margarit, L. Romanelli and A. J. Fendrik, *Biophysical Reviews and Letters*, Vol. 13, No 1, pp. 19-28, 2018.
<http://dx.doi.org/10.1142/S1793048018500029>
- *A mathematical model of absorbing Markov chains to understand the routes of metastasis.* David H. Margarit and Lilia Romanelli, *BIOMATH* 5, 1607281, 2016.
<http://dx.doi.org/10.11145/j.biomath.2016.07.281>
- *A simple model for control of tumor cells.* D. H. Margarit and L. Romanelli, *Journal of Biological Systems*, Vol. 23, Supp. 1, S33-S41, 2015.
<http://dx.doi.org/10.1142/S0218339015400033>

Presentaciones en congresos/reuniones/jornadas y/o workshops

- *Cellular automaton for cell differentiation in a solid tumour with plasticity.* David H. Margarit, Lilia Romanelli, Alejandro Fendrik (Póster). Presentado en Regulation and Inference in Biological Networks, Bardonecchia, Italia, 22 a 26 de enero de 2018.
- *Autómata celular para diferenciación celular en un tumor sólido con plasticidad.* David H. Margarit, Lilia Romanelli, Alejandro Fendrik (Póster). Presentado en la 102° Reunión Anual de la Asociación Física Argentina (AFA), realizado en La Plata, Buenos Aires, septiembre de 2017.
- Expositor del trabajo *El cáncer, un fenómeno a distintas escalas.* David H. Margarit y Lilia Romanelli. Presentado en la III Jornadas de Investigadores en Formación del ICI (Instituto de Ciencias), Universidad Nacional de General Sarmiento, julio de 2017.

DOCTORADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

Evaluado y acreditado por la Comisión Nacional de Evaluación y Acreditación Universitaria (CONEAU). Resolución N° 170/16. Calificación "B".

- *Un modelo de diferenciación de células tumorales con plasticidad.* David H. Margarit, Lilia Romanelli (Póster). Presentado en la 100° Reunión Anual de la Asociación Física Argentina (AFA), realizado en Merlo, San Luis, septiembre de 2015.
- *Immunotherapy: a new model to control of tumor cells.* David H. Margarit, Lilia Romanelli (Póster). Presentado en Winter School and Workshop: Approaches to biological systems. La Habana, Cuba, marzo de 2015.
- *Controlling Tumor Cells.* Autores: David H. Margarit, Lilia Romanelli (Póster). Presentado en XV III Conference on Nonequilibrium Statistical Mechanics and Nonlinear Physics (Medyfinol), Maceió, Brasil, octubre de 2014.
- *Markov Chains and the Routes of Metastasis.* Autores: David H. Margarit, Lilia Romanelli, Cintia N. Simoncini (Póster). Presentado en XVIII Conference on Nonequilibrium Statistical Mechanics and Nonlinear Physics (Medyfinol), Maceió, Brasil, octubre de 2014.
- Expositor oral del trabajo *Un modelo simple para el control de células tumorales* Autores: David H. Margarit, Lilia Romanelli. Taller de Sistemas Complejos, Universidad Nacional de Salta, Salta, Argentina, 9 a 12 de diciembre de 2013.
- *Estudio de la dinámica poblacional de células cancerosas.* Autores: David H. Margarit, Lilia Romanelli, Cintia N. Simoncini (Póster). Presentado en la 98° Reunión Anual de la Asociación Física Argentina (AFA), realizado en San Carlos de Bariloche, septiembre de 2013.
- Expositor oral del trabajo *Modelo preliminar para el control de células tumorales* Autores: David H. Margarit, Lilia Romanelli. II Congreso Latinoamericano de Biología Matemática, realizado en Luján, Buenos Aires, Argentina, octubre 2013.

Agradecimientos

A mi familia: Caro, Marcos, Ruth, David, Sol y Ángel que me bancan siempre, ustedes son el soporte necesario para ser feliz y seguir adelante cuando algo se pone difícil.

A los que ya no están: mis hermanos, Isaías y Horacio; y a mis viejos, Susana y Alberto, quienes me educaron con el mejor método: el ejemplo.

A Lili Romanelli y Alejandro Fendrik que no solo me acompañaron en lo académico y laboral, sino también en lo personal con una gran calidez humana.

A la Universidad Nacional de General Sarmiento (UNGS) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por brindarme el espacio y medios para poder formarme y perfeccionarme. La educación pública, en todos sus niveles, son las bases del desarrollo nacional y el principal camino para el progreso social y económico de un país.

A los compañeros de la Oficina 7130 de la UNGS con quien compartimos mucho más que un lugar de trabajo.

“La falta de ostentación es fundamental en todo hombre que quiera ejercitar una acción docente de cualquier finalidad... para ser útil hay que ser austero, desinteresado y modesto.”

ARTURO ILLIA

“Cuando la vida se funde en una aspiración suprema de justicia, de derecho, de honor y de verdad, hacia los cuales nos lleva los impulsos generosos de nuestra propia alma, no solo debemos resguardarnos de todo aquello que pudiera desvirtuarnos y empequeñecernos, sino que debemos transformarnos en apóstoles incorruptibles de tan nobles aspiraciones.”

HIPÓLITO YRIGOYEN

Índice general

Índice general	15
Lista de figuras	19
Lista de cuadros	21
1 Introducción	23
1.1 Sistemas biológicos	23
1.1.1 El cuerpo humano y su orden de complejidad	24
1.2 Neoplasias	24
1.2.1 Cáncer	26
1.3 El cáncer: un sistema complejo	28
1.4 Análisis multiescalar y estructura de la tesis	29
2 Inmunoterapia	31
2.1 Introducción	31
2.2 Metodología	35
2.3 Sistema dinámico con dependencia temporal de los parámetros . .	40
2.3.1 Dependencia temporal de los parámetros	40
2.3.2 Dependencia temporal del parámetro c (término antigénico)	41

2.3.3	Dependencia temporal del parámetro s (término inmunoterapéutico)	43
2.3.4	Dependencia temporal de parámetro a (término de remoción)	45
2.4	Dependencia temporal simultánea de los parámetros c y s	47
2.4.1	Variación del período de oscilación $\Gamma = \frac{1}{\nu}$ de c y s	50
2.5	Conclusiones del capítulo	53
3	Autómata celular y diferenciación celular	57
3.1	Introducción	57
3.2	Diferenciación en células cancerosas y reglas del autómata	61
3.2.1	Estructura jerárquica para la diferenciación celular	61
3.2.2	Reglas del autómata celular utilizado	63
3.3	Metodología	65
3.4	Análisis	66
3.4.1	Rango del parámetro de plasticidad (γ)	67
3.4.2	Visualización espacial de $CSCs$	70
3.5	Tendencia hacia la metástasis	70
3.6	Conclusiones del capítulo	74
4	Rutas de metástasis	77
4.1	Introducción	77
4.2	Metodología	81
4.3	Matriz de transición, probabilidades y estados absorbentes	83
4.3.1	Matriz de transición y sus probabilidades	84
4.3.2	Estados absorbentes	86
4.4	Matriz de transición para sitios terciarios (segunda metástasis) . . .	87

4.5	Análisis del número esperado de pasos y probabilidad de absorción por estados absorbentes	88
4.6	Conclusiones del capítulo	94
4.7	Apéndices del capítulo 4	96
4.7.1	Proceso estocástico, Cadena y Propiedad de Markov	96
4.7.2	Matriz fundamental (F) , Matriz de probabilidades de absorción de estados no absorbentes (matriz Z) y Tiempo de absorción (\bar{t}).	96
4.7.3	Matriz P : Probabilidades de generar metástasis en un <i>sitio secundario</i> desde un <i>sitio primario</i>	99
4.7.4	Matriz $P^{(2)}$: Probabilidades de generar metástasis en un <i>sitio terciario</i>	100
4.7.5	Matriz $P^{(3)}$: Probabilidades de generar metástasis en un <i>sitio cuaternario</i>	101
5	Conclusiones generales, reflexiones y trabajo futuro	103
	Bibliografía	107
	Índice alfabético	120

Índice de figuras

2.1	Serie temporal para células tumorales. Cuando $E(0) = T(0) = 10^3$ células, el modelo estocástico converge al de comportamiento determinista.	37
2.2	Serie temporal para las células del sistema y espectro de potencia de las mismas, donde la frecuencia natural es $\nu_{system} = 0.01039/\text{días}$ para ambas, lo que implica un período $\Gamma_{system} = 96.24$ días.	38
2.3	Series temporales para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro c : (a) Oscilaciones, (b) Picos periódicos y (c) Picos aleatorios.	42
2.4	Series temporales para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro s : (a) Oscilaciones, (b) Picos periódicos y (c) Picos aleatorios.	44
2.5	Series temporales para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro a : (a) Oscilaciones, (b) Picos periódicos y (c) Picos aleatorios.	46
2.6	Series temporales para la dependencia temporal en simultáneo de los parámetros c y s : (a) modo oscilatorio; (b) con picos periódicos; y (c) con picos aleatorios.	48

2.7	Series temporales para las dependencias temporales en simultáneo de c y s en forma oscilatoria para distintos valores de $\nu < \nu_{system}$.	51
2.8	Series temporales para las dependencias temporales en simultáneo de c y s en forma oscilatoria para distintos valores de $\nu \geq \nu_{system}$.	51
2.9	Relación $\frac{T_{max}}{T_{basal}}$ (línea azul) y $\frac{T_{max}}{T_0}$ (línea naranja) para distintos períodos (variaciones de $\frac{1}{\nu_{system}}$). La línea punteada hace referencia a Γ_{system} .	52
2.10	K_O^T (línea azul) y J_O^T (línea naranja) para distintos períodos (variaciones de $\frac{1}{\nu}$). La línea punteada hace referencia a Γ_{system} .	52
2.11	Series temporales para células efectoras (E) y células tumorales (T) con condiciones iniciales $T(0) = 5 \cdot 10^5$ y $E(0) = 10^3$.	55
3.1	Estructura jerárquica. La división 1 es la representación de la división simétrica de una CSC en otras dos equivalentes; la división 2 hace referencia a la división asimétrica de una CSC en una CSC y una DC ; finalmente la división 3 muestra la diferenciación simétrica de una CSC en dos DCs , también conocida como diferenciación total o final. Las flechas punteadas hacen referencia a la plasticidad.	63
3.2	Simulación del autómata celular sin plasticidad. (a) Vista de todas las células tumorales sin distinciones. (b) En gris las DCs y azul las $CSCs$. El valor que está en cada una de las coordenadas espaciales corresponden a un radio normalizado.	67
3.3	(a) Series temporales, sin plasticidad, de las proporciones $CSCs$ y DCs respecto al total de células tumorales N . Se puede observar que la proporción de $CSCs$ es considerablemente menor que las DCs . (b) Ampliación de la serie temporal de $\frac{CSCs}{N}$ visualizada en (a) en términos de porcentajes ($\frac{CSCs}{N} \times 100$).	68

3.4	(a) Serie temporales de $CCSs$ para diferentes valores del parámetro de plasticidad γ . (b) Porcentaje de $CSCs$, discriminadas por su procedencia, para los distintos valores de γ	69
3.5	Distribución espacial para las células tumorales (radio normalizado) para el valor máximo de γ . En gris DCs , en azul $CSCs$ y en rojo $PCSCs$ ($CSCs$ por plasticidad). (a) Para todas las células cancerosas. (b) Para toda $CSCs$. (c) Para solo $PCSCs$	71
3.6	Proporción de $\frac{CSCs}{N_p}$ en la periferia del tumor. En naranja con plasticidad máxima ($\gamma = 0.0025$), en azul sin plasticidad ($\gamma = 0$).	73
4.1	Grafo para las principales conexiones de metástasis para tumores en hombres según estadísticas del INC y NCIUE. Los nombres de los órganos están mostrados mediante símbolos de su sigla en inglés, que están explicados en el Cuadro 4.1.	82
4.2	Visualización de la matriz de transición P para sitios secundarios. .	85
4.3	Probabilidades (en porcentaje) de metástasis in órganos desde cáncer de próstata (a) y estómago (b) respectivamente.	86
4.4	Probabilidad (en porcentaje) para tumores malignos en sitios terciarios desde (a) colon/recto (CR) and (b) pulmón (L).	89
4.5	Visualización de la matriz de transición $P^{(2)}$ para sitios terciarios. .	90

Índice de cuadros

2.1	Parámetros del modelo y sus rangos.	36
2.2	Valores de J y K en condiciones basales	40
2.3	Valores de J y K para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro c	43
2.4	Valores de J y K para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro s	44
2.5	Valores de J y K para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro a	45
2.6	Valores de J y K para variaciones en simultáneo de c y s	49
3.1	Diámetro promedio de tumores sólidos más recurrentes en hombres y mujeres.	74
4.1	Símbolos de órganos	83

Introducción

1.1. Sistemas biológicos

Preguntarnos como funcionan los seres vivos puede llevarnos a interrogantes tan amplios como difíciles de responder. Desde hace décadas, la biología generó subdisciplinas para poder investigar y comprender en mayor profundidad los amplios temas e interrogantes que naturalmente surgen día a día. Los sistemas biológicos son definidos como aquellos que involucran el estudio parcial o total de un ser viviente. No podemos entender un sistema biológico simplemente como una suma de partes, sino como una interacción entre todas aquellas que lo conforman[2] teniendo en cuenta su desarrollo y evolución estructural temporal y espacial. Estos sistemas, están conformados como una red compleja de amplia variabilidad de funciones y escalas[3]. A su vez, son capaces de funcionar, conservar y/o modificar estados ante perturbaciones internas (o externas), lo que nos da eventualmente condiciones de robustez y/o adaptabilidad[4]. Pese a esto, son sistemas que pueden de dejar de funcionar parcialmente o totalmente.

1.1.1. El cuerpo humano y su orden de complejidad

Un sistema biológico, como lo es el cuerpo humano, está caracterizado por un orden de complejidad y jerarquización que da su comienzo en la célula (la unidad de menor tamaño considerada como elemento con vida[5]), continuando por los tejidos (agrupación de células del mismo tipo) y los órganos (unión de tejidos organizados que funcionan conjuntamente) que conforman al organismo:

$$\text{CÉLULA} \longrightarrow \text{TEJIDO} \longrightarrow \text{ÓRGANO} \longrightarrow \text{CUERPO HUMANO}$$

COMPLEJIDAD ASCENDENTE ↘

No obstante, para abordar el estudio del cuerpo humano, puede ser de utilidad dividirlo en otros *sistemas* de órganos que sean de funciones similares y trabajen en conjunto (sistema nervioso, sistema endócrino, y sistema inmunológico, entre otros) o en *aparatos*, que son órganos de diferente tipo que se coordinan para realizar una función (aparato digestivo, aparato locomotor, etc.). Ejemplo de la relación entre sistemas y aparatos puede ser el sistema muscular (conjunto de músculos controlados mediante contracción) y osteoarticular (conjunto de huesos y articulaciones que sirven para estructura y movilidad del cuerpo) con el locomotor, donde ambos producen de manera sincronizada desplazamientos y movimientos[6].

$$\text{CUERPO HUMANO} \left\{ \begin{array}{l} \text{SISTEMAS} \\ \text{APARATOS} \end{array} \right.$$

1.2. Neoplasias

En el cuerpo, dependiendo del sector, tejido u órgano específico, las células tienen varias propiedades y funciones definidas, las más destacables y generales

son la tasa de reproducción definida y el tiempo de vida promedio. Cuando hay cambios en este habitual funcionamiento, generando alteraciones de los tejidos produciendo aumento de su volumen, manifiestan acumulaciones de células que no necesariamente se comportan como sanas y generan un eventual desorden en el sistema. Estas acumulaciones son conocidas como “neoplasias”[7], pueden eventualmente afectar de manera parcial o total un órgano, diseminarse a otros, y tener consecuencias mortales en caso de no ser tratados a tiempo o de manera no eficiente.

Existen dos tipos de neoplasias:

- Las **benignas**, son aquellas que generalmente están encapsuladas, no se extienden a otras partes del cuerpo y, en el caso que sea necesario, pueden ser extirpadas sin consecuencias mayores mediante cirugías. Lo esencial, en términos de salud, es que no generan cambios en el normal funcionamiento de un órgano. Ejemplo de este tipo de neoplasias son los pólipos intestinales (que pueden ser retirados mediante colonoscopia), lipomas, adenomas y hamartomas, entre otros. Respecto a las dos últimas neoplasias mencionadas, pueden desarrollarse en distintos órganos, como en el corazón, el parénquima pulmonar, el hígado y/o el riñón, por citar algunas[8].

- Las **malignas**, donde las células que la componen se dividen de una manera descontrolada, sus tiempos de vida están fuera de lo normal y dañan considerablemente el órgano que las aloja como así también sus tejidos cercanos, con el agravante de poder entrar al sistema circulatorio y diseminarse a otros tejidos y/u órganos.

1.2.1. Cáncer

La definición de la palabra “tumor” implica simplemente el aumento de masa ocupante en un tejido; siendo junto al rubor, el dolor y el calor (eventualmente también la impotencia funcional del tejido) los signos clínicos de la respuesta inflamatoria[9]. Comúnmente, a la neoplasia benigna se la asocia como “tumor benigno”; en cambio, cuando una neoplasia es maligna, perjudicando de distinta manera a tejidos y/o órganos, se la denomina *cáncer*[10].

Generalmente, se asocia el concepto de neoplasia maligna a “tumor maligno” aunque no sea del todo correcta esta relación por la etimología de la palabra tumor. No obstante, cabe aclarar que cuando se haga referencia en esta tesis a células tumorales, nos estaremos refiriendo a aquellas que están vinculadas a una neoplasia del tipo maligna, en consecuencia, a células cancerosas.

La denominación de los distintos tipos de cánceres depende del órgano involucrado y del sitio de origen del mismo. A su vez, se los puede discriminar por sólidos o hematológicos. Ejemplo de sólidos pueden ser cáncer de colon-recto, cáncer de estómago o cáncer de hígado; en el caso de los segundos lo son los distintos tipos de leucemia (mieloide, linfoide, no hodgkiniano, etc.)[11].

$$\text{NEOPLASIA} \begin{cases} \text{BENIGNA} \\ \text{MALIGNA} \rightarrow \text{CÁNCER} \end{cases} \begin{cases} \text{SÓLIDO} \\ \text{HEMATOLÓGICO} \end{cases}$$

Dado su carácter nocivo, el cáncer ha sido objeto de extensos y variados estudios e investigaciones. Es sabido que junto a las enfermedades cardiovasculares,

el cáncer es la causa de muerte por enfermedad más importante en el mundo[12], generando de parte del ámbito científico-académico, una constante búsqueda en la prevención, tratamiento y cura[13]. Respecto a las enfermedades cardiovasculares, el desarrollo y avance de la medicina han logrado controlar numerosas patologías que eran mortales en adultos (como el aneurisma de aorta), aumentando significativamente la expectativa de vida media[14]. Esto determinó un aumento considerable en el porcentaje de muertes por cáncer a nivel mundial, poniendo en evidencia que si no se discrimina por su tipo, la edad es el factor determinante en el riesgo global de ser afectado por cualquier clase de cáncer[15]. Paradójicamente, siendo que los adultos mayores (más de 60 años) son el grupo etario con mayor probabilidad de tener cáncer, estos tienen un crecimiento y desarrollo tumoral más lento, ya que su tasa metabólica es mucho menor en comparación a personas de etapas etarias anteriores[16] (infancia, juventud y/o adultez menor a 60 años).

A nivel mundial, dependiendo de la zona geográfica, los hábitos y costumbres pueden desencadenar mayor cantidad de tipos específicos de cáncer. En Argentina, el cáncer es una de las principales causas de muerte por enfermedad. Según el Instituto Nacional del Cáncer (INC) de Argentina[17], los principales son mama y próstata en mujeres y hombres respectivamente. En relación a aquellos que más afectan a ambos sexos son pulmón y colon-recto. Las causas principales son muy diversas, desde el consumo de tabaco (hábito de fumar de manera activa o pasiva), agentes cancerígenos, mutaciones genéticas heredadas o adquiridas, obesidad, radiación excesiva y algunos virus como el del papiloma humano o a través de bacterias como *Helicobacter pylori*[18, 19].

Agentes cancerígenos (compuestos en base a arsénico, cadmio, cromo, entre otros). Radiación excesiva. Mutaciones genéticas heredadas o adquiridas. Consu-

mo de tabaco (hábito de fumar de manera activa o pasiva). Obesidad. Virus como el del papiloma humano (cáncer de útero principalmente) o a través de bacterias como *Helicobacter pylori* (cáncer de estómago principalmente)

En nuestro organismo, previo a cualquier tratamiento y diagnóstico, la única barrera natural para prevenir y generar mecanismos estructurados de defensa para agentes extraños, internos o externos, es el sistema inmunitario. En las etapas iniciales de un tumor, cuando las células comienzan a formar una acumulación de masa anormal de tejido, cuyo crecimiento excede y está sin coordinación, la denominada “vigilancia inmunológica” es la encargada de reconocer y eliminar estas células. Este reconocimiento y eliminación de las células cancerosas no es sencillo y en algunos casos es poco eficiente. Cuando las células normales desarrollan proteínas defectuosas por mutación o falla en la expresión genética, desencadena la reacción del sistema inmunitario para destruirlas; las células cancerosas, a diferencia de las normales, “engañan” al sistema inmunitario generando moléculas en su superficie que sirven como señales ante el sistema inmunitario para no ser destruidas. Por lo tanto, la terapias basadas en mecanismos inmunológicos, utilizan factores externos para estimular la respuesta inmunitaria natural y hacerla más eficiente, dando como resultado terapias menos invasivas y nocivas en relación a las tradicionales[20] (radioterapia, quimioterapia y remoción de órganos, entre otros).

1.3. El cáncer: un sistema complejo

El abordaje y análisis del cáncer, como objeto de nuestro estudio, no puede ser solamente encarado por un conjunto de conocimientos acotados que provengan de una rama específica de la ciencia. Esto sería, al menos, insuficiente por el nivel de variabilidad en los distintos ordenes de escalas y las funcionalidades involucra-

das en cada una de ellas.

El cáncer puede presentarse como un fenómeno pseudo-aleatorio en la sangre o en un tejido sano sin dar indicio o síntoma alguno. A su vez, la evolución espacial y temporal en una neoplasia maligna es variable. La estructura clonal de un tumor cambia generalmente para cada persona (pudiendo tener diversas mutaciones en uno o más órganos), lo que hace que cada cáncer sea prácticamente único[21] en cada persona desde el punto de vista genético. Por otro lado, el mismo es un sistema adaptativo, ya que dependiendo del órgano o tejido, genera distintos mecanismos durante su crecimiento y expansión para la adquisición de energía y nutrientes provenientes del organismo huésped[22].

Por lo tanto, el cáncer debe ser tratado desde un conjunto de herramientas que provengan de distintas perspectivas: la física, la matemática, la biología, la medicina y la informática, entre otros[23]. El estudio de un sistema biológico (más allá del que involucra esta tesis) no debe minimizarse a una sumatoria de objetos a investigar sino a la interacción, interrelaciones y propiedades que surgen del conjunto de las mismas teniendo en cuenta su relación ante fluctuaciones tanto externas como internas. Es así, que la investigación desarrollada en este trabajo, es definida y estudiada como un “sistema complejo”[24].

1.4. Análisis multiescalar y estructura de la tesis

La organización de este trabajo tiene un lineamiento acorde al orden ascendente de escala y sus interrelaciones. Cada capítulo contendrá individualmente su marco teórico, introducción, antecedentes, conclusiones y, en caso de ser necesario, los anexos que correspondan. Esta forma de presentación, es con la intención

de distinguir los capítulos por los tópicos tratados y cada una de las escalas analizadas en los mismos.

La presente tesis comienza con la “Escala Poblacional”, investigando la interacción de células cancerosas con el sistema inmunitario (las denominadas células efectoras) mediante un modelo de competencia poblacional y la variación de los parámetros que son biológicamente plausibles.

Se continúa con la “Escala Espacio-Poblacional”, donde se estudia el crecimiento de un tumor en el espacio teniendo en cuenta su diferenciación celular (modificaciones de sus propiedades genéticas, en un determinado linaje, para cumplir una función determinada en el organismo) entre células madre y diferenciadas tumorales. Además, dependiendo de la ubicación de células en los sectores cercanos al borde del tumor, se analiza la influencia en posibles metástasis (migración y creación de nuevos tumores en otros órganos).

Posteriormente, se realiza un análisis de las rutas de metástasis en una “Escala de Órganos” para los principales tipos de cáncer, donde cada uno de los mismos será estudiado como un nodo (o unidad). Las probabilidades de generar metástasis en un determinado órgano (sitio primario de metástasis), o de concretarse una segunda metástasis (sitio secundario de metástasis) desde el sitio primario, se caracterizan mediante herramientas de teoría de probabilidad.

Finalmente, se presentan conclusiones generales y reflexiones. Además, en base a los resultados obtenidos, se exponen nuevas preguntas y posibles investigaciones que surgen en consecuencia de los mismos.

Inmunoterapia

2.1. Introducción

El sistema inmunitario es aquel que está compuesto por varios tipos de células (que se forman principalmente en dos órganos del cuerpo, el timo y la médula ósea) y proteínas que distinguen componentes celulares normales y anormales, como así también lo propio de lo extraño en el organismo[25]. Esta distinción entre propio y extraño no está desarrollado completamente desde el nacimiento, sino que se va desarrollando principalmente en los primeros años de vida, logrando reconocer fundamentalmente lo propio para no generar autolesiones[26]. La denominada selección “positiva-negativa” es aquella que distingue lo extraño para responder a las posibles amenazas (se calcula que un sistema inmunitario desarrollado puede responder a aproximadamente 10^{11} de ellas) mediante clones preformados que se activan de modo selectivo ante cada una de las mismas[27].

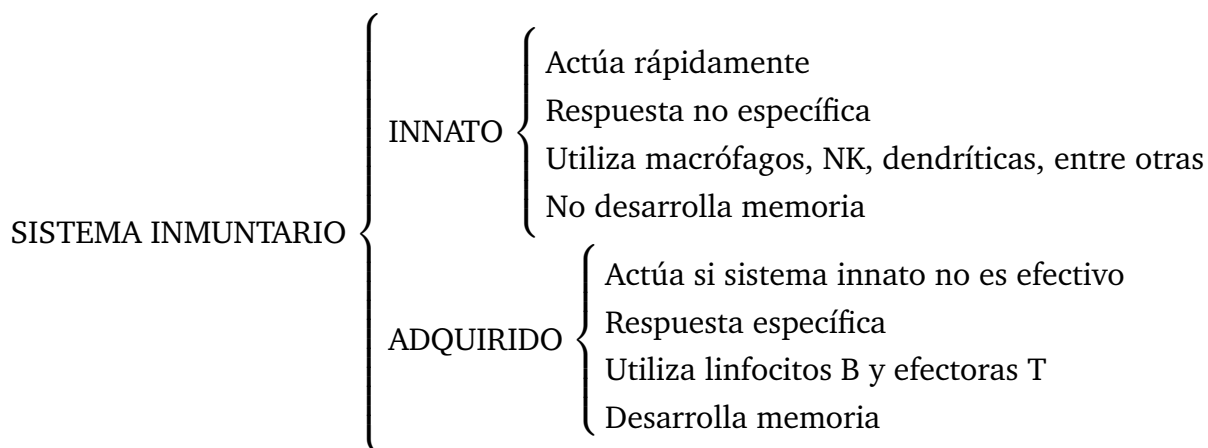
Respecto a las acciones específicas del sistema inmunitario, al reconocer agentes patógenos (virus, bacterias, protozoos, helmintos, etc.) y/o químicos de invasión externa o interna, injertos o neoplasias, reacciona de manera tal que pueda degradarlos y eliminarlos del organismo previniendo o contrarrestando efectos adversos en el mismo. La inmunoterapia es el conjunto de estrategias en tratamientos médicos para la estimulación y respuesta veloz del sistema inmunitario

contra el cáncer[28, 29, 30]. La diferencia fundamental, en comparación a otras terapias como la quimioterapia, la radioterapia o la cirugía, son los efectos secundarios menos agresivos y la rápida recuperación[31, 32].

Las células de un tumor maligno tienen superficies que expresan leves diferencias en sus receptores respecto a las células normales. Estas sustancias, que son proteínas, son conocidos como “antígenos del cáncer”[33]. Estos tipos de antígenos, pueden ser detectados por el sistema inmunitario como agentes nocivos al organismo.

A nivel general, los antígenos tumorales se pueden agrupar en dos grandes grupos: *antígenos específicos de tumor*, expresados por las células tumorales pero no por las células normales; y los *antígenos asociados a tumores*. Estos últimos son expresados en tumores y en células normales, pero su expresión es excesiva o presenta una regulación atípica en los tumores[34]. Es relevante destacar que existen dos tipos de inmunidad en el cuerpo humano y ambas tienen mecanismos de acción frente a neoplasias malignas. La *inmunidad innata*[35] es la que actúa rápidamente contra agentes extraños, aunque no tiene memoria. Se compone de piel y mucosas (como una primera barrera inmunitaria del cuerpo), componentes que estimulan la inflamación y células como macrófagos y Natural Killers (*NK*), donde estas últimas tienen una relevancia considerable en la acción contra tumores. La *inmunidad adquirida* (o adaptativa)[35] es la más relacionada con la respuesta inmune contra tumores, debido a que su desarrollo resulta posterior al contacto con un agente extraño, generando mecanismos de memoria mediante receptores de linfocitos. Los linfocitos son células sanguíneas que regulan la respuesta de este tipo de inmunidad, circulando por todo el organismo a través del aparato circulatorio y el sistema linfático. Esta propiedad de memoria es importante, ya que ante un nuevo contacto con el mismo agente extraño, el sistema inmunitario lo reconoce rápidamente, reaccionando y activando los mecanismos de defensa (este sistema de aprendizaje y memoria es similar al de los sistemas *machine learning*[36] o de *redes neuronales artificiales*[37]). De manera similar al caso de las *NK* del sistema inmune innato, los linfocitos son las células principales en la respuesta inmune antitumoral. De este modo, los dos tipos de inmunidad

son complementarias, las células presentadoras de antígenos (dendríticas y macrófagos) expresan fragmentos de los antígenos de las células tumorales (que se capturan y se destruyen) presentándolos a los linfocitos *T*, las *células efectoras* del sistema inmune. Así, se genera el mecanismo de memoria comentado previamente, dando una respuesta específica donde cada linfocito *T* tiene la capacidad de reconocer sólo un antígeno.



A modo de resumen, el sistema inmunitario tiene la capacidad de vigilar la aparición de tumores mediante distintos mecanismos, debido a que las células tumorales expresan antígenos detectados como extraños. El sistema inmune vigila y elimina a estas células tumorales aberrantes, impidiendo así su crecimiento y expansión. Sin embargo, factores tanto tumorales como del propio organismo alteran el adecuado funcionamiento de este mecanismo de vigilancia inmune, provocando el desarrollo y crecimiento de un tumor, y su posterior propagación por el organismo, en forma descontrolada. La manipulación del sistema inmune para que se active contra los tumores es la base de la inmunoterapia.

Se designa a tumor en estado de latencia a aquel donde sus células tumorales se mantienen durante largos períodos con aumentos no significativos en su población celular. Estos estados se dan tanto en las etapas iniciales o después de un tratamiento invasivo. Células propias del sistema inmunitario, como las T-citotóxicas (*CTL*), macrófagos y las células asesinas naturales “Natural Killers (*NK*)”, pueden participar en el mantenimiento de un estado latente del tumor y, manipulando

exteriormente su dinámica, lograr contrarrestarlo[38].

Las células del sistema inmunitario mencionadas previamente (también conocidas como activadas y/o efectoras) son aquellas que actúan de manera inmediata en la respuesta inmunitaria frente a la presencia de antígenos, dando lugar a lo que se conoce como “respuesta primaria” [2]. Este rol de las células efectoras es trasladable a su reacción al estar en presencia de células tumorales o cancerosas que se manifiesten en algún órgano del cuerpo humano.

Una manera de llevar a cabo la inmunoterapia es introducir antígenos en el tumor o la zona circundante (siempre que sea posible), permitiendo que las células efectoras del sistema inmunitario [40], como los linfocitos (que están involucrados en la inmunidad mediada por células), reconozcan las células cancerosas y puedan contrarrestar su replicación y propagación. Además de estimular de manera más veloz el sistema para dar respuestas a otros estímulos similares.

Actualmente, la relación entre los modelos matemáticos y la respuesta del sistema inmunitario está dando grandes pasos para ayudar y dar tratamientos alternativos. Kuznetsov [38] en 1994 aplicó el modelo de Lotka-Volterra[39] para modelar la interacción entre células tumorales y células efectoras del sistema inmunitario. Kirschner-Panetta[41] en su modelo (que llamaremos KP) introdujeron células efectoras utilizadas ampliamente en la comunicación del sistema inmunitario; Arciero[42], y finalmente Tsygvintsev[43], se basan en el modelo KP y desarrollaron una cuantificación para los parámetros a partir de datos experimentales. Estos últimos, en su trabajo sugieren que algunos de los parámetros del modelo pueden tener dependencia temporal, lo que abre un nuevo enfoque de alternativas para introducir nuevos experimentos y pruebas para controlar el crecimiento de tumores.

Como objetivo principal en este capítulo, proponemos formas de controlar el crecimiento de células tumorales basadas en el modelo de KP mediante el uso de datos experimentales proporcionados por Arciero [42] y siguiendo las observaciones de Tsygvintsev [43]. Apelaremos a la variabilidad temporal de algunos

parámetros que pueden ser modificados externamente y aplicados efectivamente como una terapia alternativa[42].

Este capítulo está organizado de la siguiente manera: En la sección 2.2 hacemos una introducción del modelo e identificamos los parámetros relevantes para el problema y su análisis. La dinámica correspondiente al modelo se muestra en la Sec. 2.3. La Sec. 2.4, está dedicada al análisis de las variaciones temporales simultáneas en los parámetros y, finalmente, la Sec. 2.5 muestra resultados en general, resumen y algunas conclusiones de los mismos.

2.2. Metodología

El modelo de KP es un modelo de competencia poblacional entre las células del sistema inmunitario “efectoras” y células cancerosas “tumorales”. Estas dos poblaciones de células las denotaremos con las letras E y T . Las células cancerosas T son generalmente homogéneas y tienen un crecimiento del tipo logístico[46]. Por su parte, las células E representan aquellas células que han sido estimuladas y están listas para responder a la anomalía (ver referencias [41], [42] and [43] para más detalles), que en este caso son las células tumorales (eventualmente las células efectoras pueden responder ante otros síntomas que no son necesariamente tumorales, esto no será tenido en cuenta ya que se aleja del objeto de este trabajo). El modelo que describe la dinámica poblacional consiste en un sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden en el que estas dos especies de células interactúan son:

$$\frac{dE}{dt} = cT - \mu E + p \frac{E}{E + f} + s \quad (2.1)$$

$$\frac{dT}{dt} = rT(1 - bT) - a \frac{ET}{T + g} \quad (2.2)$$

Este modelo, cualitativamente hablando, expresa la interacción entre células del sistema inmunitario que tratan de destruir a las células del tumor e impedir su

crecimiento mediante antígenos y aportes al sistema inmunitario. El significado de los parámetros y los valores obtenidos a partir de datos experimentales [42] están representados en el Cuadro 2.1.

Nombre	Definición	Valor Basal (<i>unidades</i>)	Rango
μ	Tasa de mortalidad de células efectoras E	0.03 (1/día)	0.03
p	Tasa de proliferación de E	0.1245 (1/día)	0.1245
f	Saturación media de E	10^{-3} (células)	$[10^{-5}, 1]$
s	Término inmunoterapéutico	1 (células/día)	$[10^{-2}, 10^2]$
c	Término de antigenicidad del cáncer	0.05 (1/día)	$[10^{-3}, 0.5]$
r	Tasa de crecimiento tumoral	0.18 (1/día)	$[0.1, 2]$
b	Capacidad de cáncer (crecimiento logístico)	10^{-9} (1/células)	10^{-9}
a	Término de remoción de cáncer	1 (1/día)	$[10^{-2}, 10^2]$
g	Saturación media de T	10^5 (células)	10^5

Cuadro 2.1: Parámetros del modelo y sus rangos.

Estos parámetros describen en su mayoría factores intrínsecos al tumor y su interacción con el sistema inmunitario. No obstante, resaltamos tres que son fundamentales para inferencia externa y fortalecimiento del sistema inmunitario en relación al tumor, los parámetros c , s y a . La importancia del primero radica en que es el activador principal de las células efectoras y de este depende en gran parte la eficiencia de la respuesta inmune ante el tumor; la del segundo en que hace referencia a la inferencia externa con células (con citocinas por ejemplo) que potencien el sistema inmunitario (vacunas) en pos de la aniquilación del tumor; y finalmente la del tercero porque es el que determina la interacción entre células E y células T y su grado de eliminación del tumor. Más adelante hablaremos con mayor detalle sobre estos parámetros.

Basándonos en las propiedades generales de los sistemas biológicos, es sabido que los mismos están sujetos al ruido intrínseco [47, 48]. Por lo tanto, para considerar esto último y garantizar un acercamiento mayor a la realidad en el modelo utilizado, se introduce el mismo en las ecuaciones correspondientes a las

células efectoras (Ec. 2.1) y a las células tumorales (Ec. 2.2). En consecuencia, el modelo KP para los parámetros en condiciones basales, queda modificado por la influencia del ruido de la siguiente manera:

$$\frac{dE}{dt} = cT - \mu E + p \frac{E}{E+f} + s + \left\{ \zeta_a \sqrt{cT} - \zeta_b \sqrt{\mu E} + \zeta_c \sqrt{p \frac{E}{E+f}} + \zeta_d \sqrt{s} \right\} \quad (2.3)$$

$$\frac{dT}{dt} = rT(1 - bT) - a \frac{ET}{T+g} + \left\{ \zeta_e \sqrt{rT(1 - bT)} - \zeta_f \sqrt{a \frac{ET}{T+g}} \right\} \quad (2.4)$$

Donde ζ_i $i = a, b, c, d, e$ y f son variables aleatorias con Distribución Normal $N(0, 1)$, es decir con $\sigma = 1$ (desviación estándar), $\mu = 0$ (media) y sin correlación entre ellas $\langle \xi_i \xi_j \rangle = 0$ con $j \neq i$.

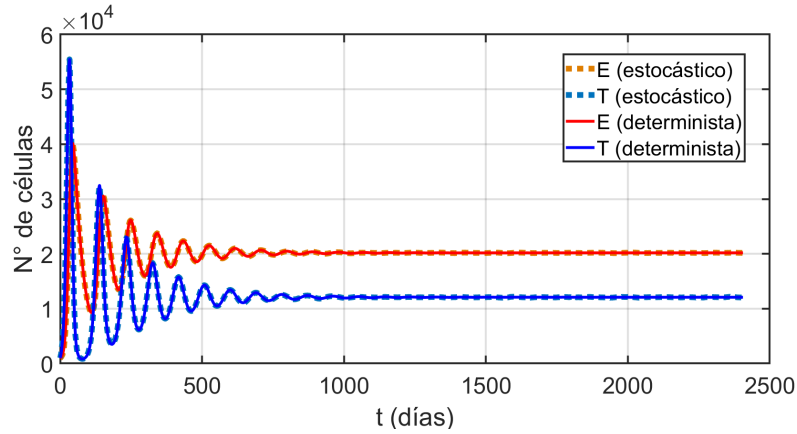


Figura 2.1: Serie temporal para células tumorales. Cuando $E(0) = T(0) = 10^3$ células, el modelo estocástico converge al de comportamiento determinista.

Utilizaremos como condiciones iniciales del problema $E(0) = T(0) = 10^3$ células. Esto es en base al trabajo inicial de este modelo (Ver Ref. [43]) que contempla condiciones donde el sistema es estable y se correlaciona con la observación “in vivo”.

Si el número de células tumorales es mayor o del orden de 10^3 , la simulación estocástica tiende a un comportamiento determinista. Esto nos quiere decir que el

sistema, para este número de células tumorales, es robusto bajo el efecto del ruido intrínseco. Entonces, de ahora en adelante, trabajaremos con el sistema determinista a partir de un número inicial de células efectoras y tumorales expresadas previamente. Es decir, no tendremos en cuenta las fluctuaciones ya que para este tamaño del sistema, las mismas no son significativas.

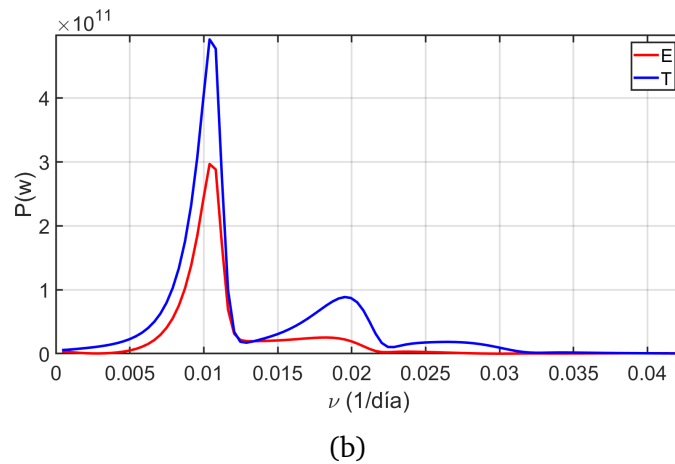
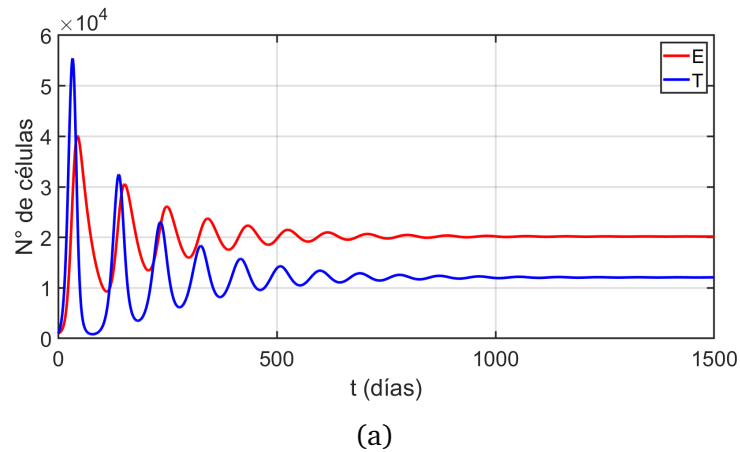


Figura 2.2: Serie temporal para las células del sistema y espectro de potencia de las mismas, donde la frecuencia natural es $\nu_{system} = 0.01039/\text{días}$ para ambas, lo que implica un período $\Gamma_{system} = 96.24 \text{ días}$.

Los resultados de la evolución temporal de las células tumorales y su espectro de potencia se pueden observar en la Fig. 2.2a y 2.2b respectivamente. El número de células efectoras y tumorales alcanzan un valor constante en la serie temporal y, además, se puede observar una frecuencia característica en el espectro de potencia ($\nu_{system} = 0.01039/\text{día}$). Asimismo, podemos obtener las cantidades de células efectoras (E) y tumorales (T) en el estacionario para los parámetros definidos en condiciones basales, las mismas son $E_{basal} = 2.017 \times 10^4$ células y $T_{basal} = 1.208 \times 10^4$ células.

Con la intención de cuantificar la relación entre la cantidades finales e iniciales de células E y T definimos:

$$J^E = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células E en el estado estacionario}}{E_0} = \frac{E_{est}}{E_0} \quad (2.5)$$

$$J^T = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células T en el estado estacionario}}{T_0} = \frac{T_{est}}{T_0} \quad (2.6)$$

Por otro lado, para relacionar la cantidad final de células E y T con respecto a sus valores en el estado estacionario para los parámetros establecidos en las condiciones basales (Cuadro 2.1) establecemos:

$$K^E = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células E en el estado estacionario}}{E_{basal}} = \frac{E_{est}}{E_{basal}} \quad (2.7)$$

$$K^T = \frac{\text{N}^\circ \text{ de células T en el estado estacionario}}{T_{basal}} = \frac{T_{est}}{T_{basal}} \quad (2.8)$$

Por lo tanto, para el sistema en condiciones basales, las cuatro relaciones expresadas recientemente nos dan los valores representados en el Cuadro 2.2:

Relación	Valor
J^E	20.17
K^E	1
J^T	12.10
K^T	1

Cuadro 2.2: Valores de J y K en condiciones basales

Cabe aclarar que a pesar de ser muy evidente que $K^E = K^T = 1$, éstas relaciones serán de importancia para caracterizar la evolución del sistema en los desarrollos que se dan a continuación.

2.3. Sistema dinámico con dependencia temporal de los parámetros

2.3.1. Dependencia temporal de los parámetros

Analizamos el comportamiento del sistema utilizando tres diferentes dependencias temporales en los parámetros que son de singular importancia[43]. Estos parámetros son el término *inmunoterapéutico* (s), el término de *antigenicidad del cáncer* (c) y el término de *remoción de cáncer* (a). La consideración respecto al tipo de dependencia temporal viene dada por las siguientes funciones denominadas $F(t)$:

1. Oscilaciones periódicas de cada parámetro ($c(t)$, $a(t)$ y $s(t)$) con la frecuencia natural del sistema ν_{system} .

$$F(t) = \frac{(F_{max} - F_{min})}{2} \cdot \sin(2\pi\nu_{system} \cdot t) + \frac{(F_{max} + F_{min})}{2} \quad (2.9)$$

2. Tren de picos periódicos (“spikes”) de cada parámetro ($c(t)$, $a(t)$ y $s(t)$) con la frecuencia natural del sistema $\nu_{system} = 0.01039/\text{día}$, es decir con un período $\Gamma_{system} = \frac{1}{\nu_{system}} = 96.24$ días.

$$F(t) = \begin{cases} F_{max} & \text{para } t = \Gamma_{system} \cdot n \text{ con } n = 1, 2, 3, \dots \\ F_{min} & \text{para } t \neq \Gamma_{system} \cdot n \end{cases} \quad (2.10)$$

F_{max} y F_{min} son los valores máximos y mínimos respectivamente (según el Cuadro 2.1) que puede tomar cada uno de los parámetros a variar.

3. Tren aleatorio de “spikes” de cada parámetro ($c(t)$, $a(t)$ y $s(t)$).

Si x es una variable aleatoria con Distribución Normal $\sigma = 1$ y $\mu = 0$

$$F(t) = \begin{cases} F_{max} & \text{para } x \leq 0 \\ F_{min} & \text{para } x > 0 \end{cases} \quad (2.11)$$

$F(t)$ es siempre es una función positiva, la distribución normal es solo para dar la misma probabilidad de ocurrencia para F_{max} o F_{min} . Por otro lado, existe una restricción para este último caso, el tiempo mínimo entre una ocurrencia y la siguiente debe ser de la unidad de tiempo utilizada en este modelo, es decir, un día.

Se analiza la evolución del sistema estudiando la dependencia temporal de un parámetro a la vez, mientras que los otros permanecen constantes. Primero se variará c , luego s y finalmente a . Posteriormente, se simula la evolución correspondiente a la dependencia temporal de los parámetros en simultáneo de acuerdo a las dependencias funcionales ya indicadas.

Por otro lado, cuando la evolución del sistema en el estado estacionario sea una oscilación, los valores de K^E , K^T , J^E y J^T serán teniendo en cuenta el valor medio de la misma.

2.3.2. Dependencia temporal del parámetro c (término antigénico)

Este parámetro está asociado al reconocimiento de células tumorales y estimula la duplicación de las células efectoras para contrarrestar y atacar el tumor

de manera constante. Su rango, especificado en el Cuadro 2.1 es $[10^{-3}, 0.5]$ y su unidad correspondiente es (1/día).

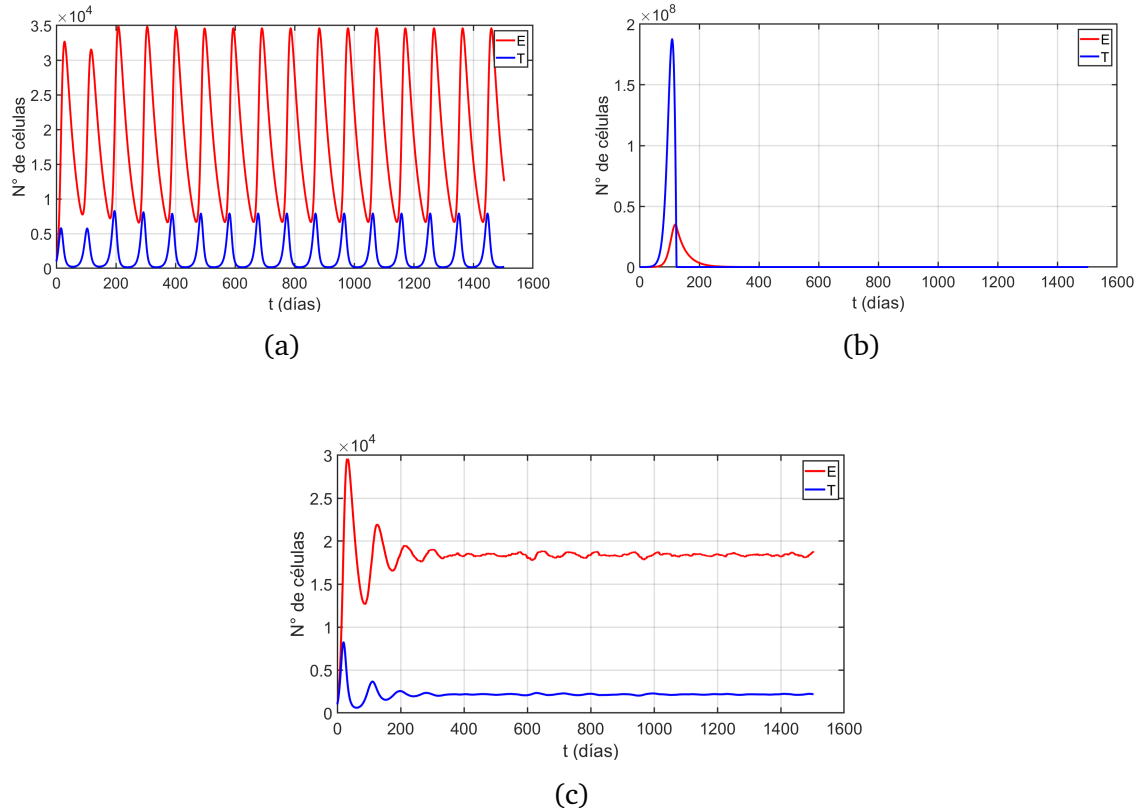


Figura 2.3: Series temporales para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro c : (a) Oscilaciones, (b) Picos periódicos y (c) Picos aleatorios.

Como podemos ver en la Fig.2.3a, si la dependencia temporal de c viene dada por la Ec. 2.9, el sistema es claramente oscilante, con valores de K muy por debajo de las condiciones basales (donde les prestamos atención e importancia principalmente las tumorales). Asimismo $J > 1$, lo cual muestra un aumento respecto a las condiciones iniciales.

	Oscilación	Picos periódicos	Picos aleatorios
J^E	18.28	0.375	18.3972
K^E	0.906	0.0019	0.9121
J^T	1.8724	0	2.16
K^T	0.1550	0	0.1789

Cuadro 2.3: Valores de J y K para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro c .

Si la dependencia temporal viene dada por la Ec. 2.11 (Fig. 2.3c) Se dan condiciones similares al caso oscilatorio pero con amplitudes menores de oscilación tanto para células tumorales (T) como efectoras (E).

En cambio, si las variación se da por la Ec. 2.10Ec. (Fig.2.3b) la respuesta en las series temporales de T y E muestran comportamientos similares y que son biológicamente deseados en el estacionario ($T \rightarrow 0$), aunque preocupa considerablemente el valor máximo que alcanzan las células tumorales al principio de la serie, algo que efectivamente es un problema al pensarlo como eventual terapia para el cáncer.

2.3.3. Dependencia temporal del parámetro s (término inmunoterapéutico)

Este parámetro está relacionado con la estimulación y propagación del sistema inmunológico. Por ejemplo, por la entrada de células estimuladas con citocinas^I cerca de la ubicación del tumor. El rango es $[10^{-2}, 10^2]$ y su unidad es células/día.

Considerando las dependencias temporales indicadas en las Ec. 2.9, 2.10 y 2.11 para este parámetro, se puede observar que la respuesta oscilatoria del sistema se

^I Proteínas que produce el cuerpo en bajas cantidades y median la comunicación entre células. En el tratamiento de cáncer, la citocina Interleuquina-2 ($IL - 2$) incrementa la acción inmunológica de las células efectoras que atacarán a las células tumorales[44].

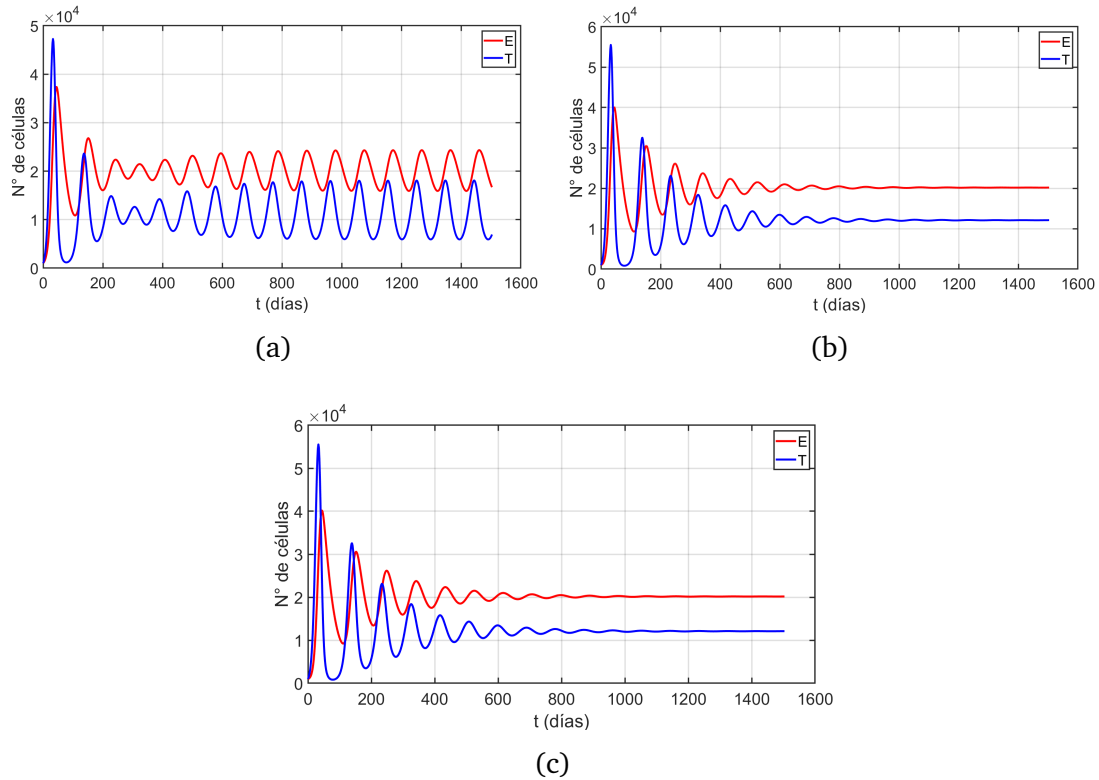


Figura 2.4: Series temporales para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro s : (a) Oscilaciones, (b) Picos periódicos y (c) Picos aleatorios.

	Oscilación	Picos periódicos	Picos aleatorios
J^E	19.95	20.1786	20.1784
K^E	0.9893	1.0004	1.004
J^T	10.79	12.104	12.1022
K^T	0.8940	1.0002	1.018

Cuadro 2.4: Valores de J y K para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro s .

da para las tres situaciones. No obstante esta es más notoria en el primer caso (Fig. 2.4a), en las otras dos situaciones (Fig. 2.4b y 2.4c) por cuestiones de escala, no es tan visible.

Cuando la dependencia temporal de $s(t)$ viene dada por la Ec. 2.9, el comportamiento es similar a la obtenido cuando la dependencia de $c(t)$ es de la misma forma (comparar Cuadros 2.3 y 2.4). Para caso particular de las células T , $K_O^T = 0.894$ y $J_O^T = 10.79$ (el sub-índice O hace referencia al modo oscilatorio del parámetro), los que muestra un crecimiento grande respecto a las condiciones iniciales pero una disminución respecto al valor en el estacionario respecto a la simulación en condiciones basales. Para los casos de picos periódicos y aleatorios, tanto las Fig. 2.4b y 2.4c como los cuadros , como los Cuadros 2.3 y 2.4 muestran un comportamiento prácticamente igual al caso en condiciones basales.

2.3.4. Dependencia temporal de parámetro a (término de remoción)

Este es un término de remoción de las células tumorales debido a la interacción de las mismas con las células efectoras. $[10^{-2}, 10^2]$, unidades de (1/día). Representa una noción de intensidad limitada del sistema inmunitario (en la Ec. 2.2 relaciona E y T mediante una expresión de Michaelis-Menten), dado que las células efectoras solo podrían interactuar con la periferia de un tumor y no con su totalidad.

	Oscilación	Picos periódicos	Picos aleatorios
J^E	0.4830	1.49×10^6	0.3618
K^E	0.0239	7.41×10^4	0.0179
J^T	0.2673	8.97×10^5	0.1943
K^T	0.0221	7.42×10^4	0.0161

Cuadro 2.5: Valores de J y K para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro a .

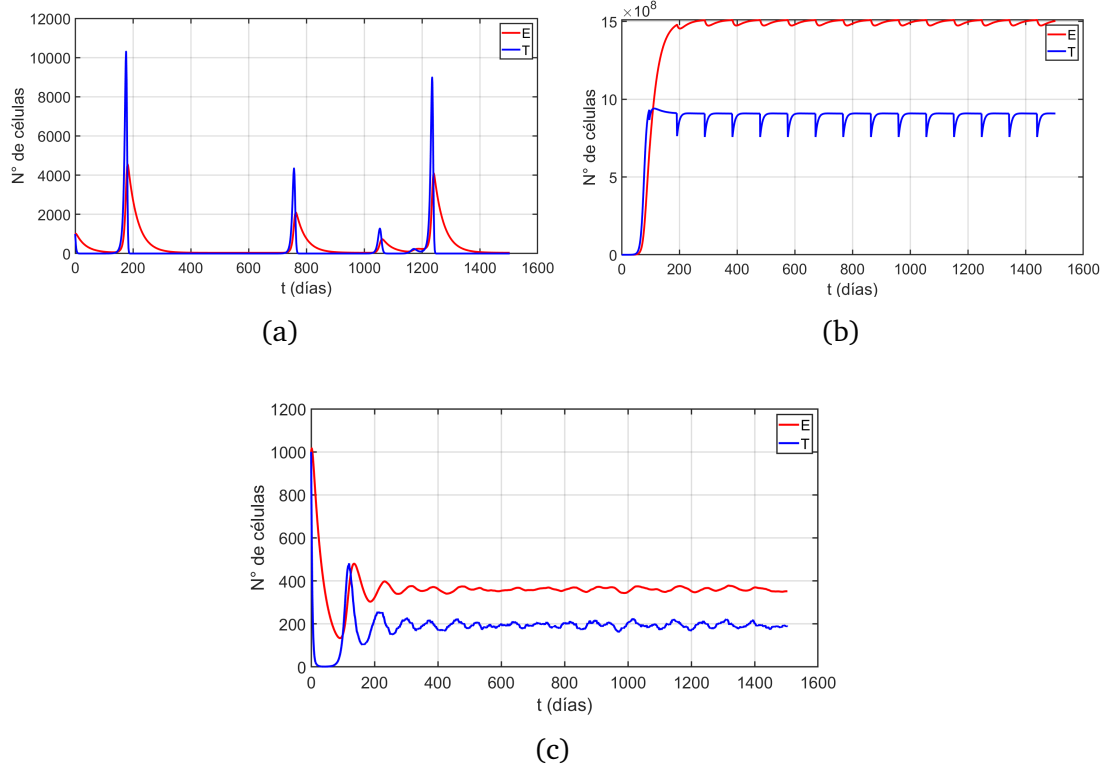


Figura 2.5: Series temporales para las distintas formas de dependencia temporal del parámetro a : (a) Oscilaciones, (b) Picos periódicos y (c) Picos aleatorios.

Podemos ver que en la Fig.2.5a, que si $a(t)$ está dada por la Ec. 2.9, el comportamiento muestra “picos” de amplitudes variables de células tumorales y caen rápidamente a cero. En general esto puede ser un resultado favorable desde el punto de vista que hay decaimientos hasta llegar a $T = 0$, pero los picos muestran las recaídas en el tratamiento tumoral, que se da cuando parece curado el tumor pero después de algunos años aparece repentinamente (ya sea en una metástasis del órgano de origen o en el mismo sitio). Para esta situación de variación de $a(t)$: $[K_O^E, J_O^E, K_O^T, J_O^T] < 1$, lo que habla de buenos resultados teóricos pero no posibles resultados terapéuticos.

Si $a(t)$ viene dado por la Ec. 2.10 hay un comportamiento claramente periódico (con un período $T = 1.42 \Gamma_{system}$) con valores medios muy altos, tanto para las células tumorales T (las que pretendemos que se anulen en un caso ideal) como

las células efectoras E , algo que nuevamente no es terapéuticamente viable. Para el caso que $a(t)$ viene dado por la Ec. 2.11 los valores son $[K_O^E, J_O^E, K_O^T, J_O^T] < 1$, marcando una reducción del número de células tumorales T con respecto al valor inicial T_0 como con respecto a T en el estacionario en condiciones basales. Un resultado en principio positivo respecto a las aspiraciones de disminuir el número de células tumorales.

Aclaración

Al realizar las simulaciones, en algunos casos las series temporales pueden alcanzar un comportamiento estacionario oscilatorio (como por ejemplo en la Fig. 2.4a). No necesariamente deben interpretarse las oscilaciones como un crecimiento y decrecimiento del volumen del tumor a la par de las mismas, sino que debe relacionarse con el valor medio de estas oscilaciones para dar una interpretación más real. Por otro lado, es importante señalar que hay una cantidad de células tumorales muertas que forman parte de lo que se denomina “núcleo necrótico” del tumor. Este núcleo no es tenido en cuenta para los análisis realizados dado que no es de relevancia, debido a que el principal sector nocivo del tumor es su zona periférica por su potencial vascularización, deformación de tejidos adyacentes y eventual metástasis[45].

2.4. Dependencia temporal simultánea de los parámetros c y s

Teniendo en cuenta los tres parámetros analizados (c , s y a), el término de remoción a es el más difícil de modificar externamente. Generalmente depende de las propiedades intrínsecas del tipo de tumor y su localización. Según el tejido u órgano de alojamiento, puede eventualmente tener mayor o menor respuesta a la acción de las células efectoras E del sistema inmunitario.

Considerando los motivos mencionados, el parámetro a se mantendrá de manera constante en su valor basal de referencia ($a = 1/\text{día}$) para todas las simula-

ciones. Para los parámetros c y s , cuyos rangos son los expresados en el Cuadro 2.1, las dependencias temporales están dadas por las siguientes funciones:

- $c(t)$ y $s(t)$ serán dados por las Ec. 2.9.
- $c(t)$ y $s(t)$ serán de la forma descriptas en Ec. 2.10.
- $c(t)$ y $s(t)$ serán aquellas mediante la Ec. 2.11.

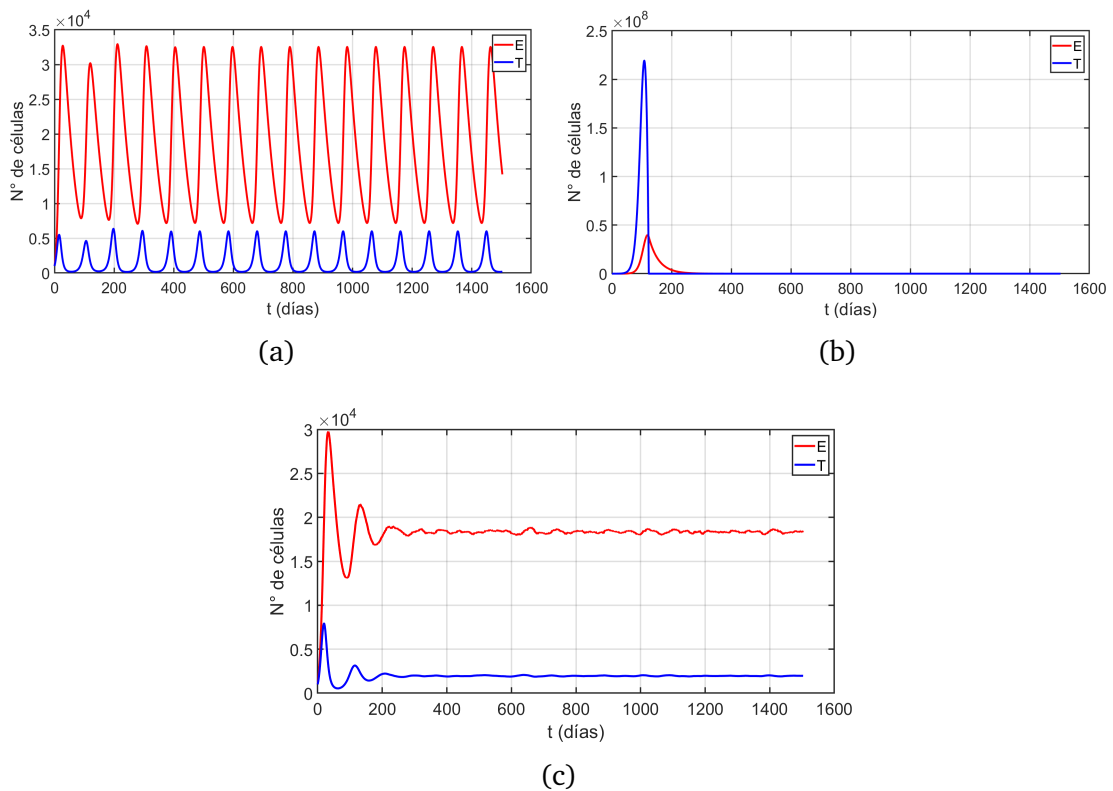


Figura 2.6: Series temporales para la dependencia temporal en simultáneo de los parámetros c y s : (a) modo oscilatorio; (b) con picos periódicos; y (c) con picos aleatorios.

	Oscilación	Picos periódicos	Picos aleatorios
J^E	18.2995	0.0211	18.35
K^E	0.9030	0.001	0.91
J^T	1.5054	0	1.9606
K^T	0.1171	0	0.1623

Cuadro 2.6: Valores de J y K para variaciones en simultáneo de c y s .

Respecto a la respuesta del sistema ante una dependencia temporal simultánea dada por la Ec. 2.10 (picos periódicos, Fig. 2.6b), el sistema responde con un gran pico cantidad de células tumorales T y después una anulación total de las mismas. No obstante, el pico de T es demasiado alto y no es confiable para una eventual terapia. Cuando la dependencia temporal simultánea es efectuada por la Ec. 2.11 (picos aleatorios, Fig. 2.6c), se obtiene $K^T < 1$ y $K^T \simeq 2$, lo que habla de un crecimiento de células tumorales respecto a la de las condiciones iniciales (aunque es más bajo que en otros casos vistos previamente en este análisis), aunque su implementación como terapia es dificultosa dado el carácter aleatorio. Finalmente, cuando la dependencia temporal simultánea de los parámetros es mediante la Ec. 2.9, como podemos ver en la Fig. 2.6a (oscilaciones), el sistema tiene una respuesta oscilante, con el valor de células efectoras mayor a las tumorales. Aquí $K_O^T = 0.1171$, algo positivo si tenemos en cuenta como evoluciona el sistemas en condiciones basales, aunque $J_O^T \simeq 1.5$, indicando un aumento respecto de T a las condiciones iniciales.

Los casos donde la dependencia temporal simultánea es generada por las Ec. 2.10 (picos periódicos) y 2.11 (picos aleatorios), son descartados por los argumentos mencionados previamente. Particularmente, sobre la incidencia de los parámetros de manera aleatoria, estos son procesos experimentales altamente dificultosos de realizar por la complejidad de introducirlos de en algún tipo de tratamiento oncológico.

2.4.1. Variación del período de oscilación $\Gamma = \frac{1}{\nu}$ de c y s

Profundizando el tipo de variación simultánea en el caso oscilatorio, es interesante analizar el comportamiento del sistema para distintas variaciones de la frecuencia (ν_{system}) del mismo. Estas variaciones, pueden ser interpretadas en función del período Γ_{system} ($\Gamma_{system} = \frac{1}{\nu_{system}}$). Las Fig. 2.7 y 2.8 muestran como la evolución puede diferir cuando ν cambia. Según lo comentado, podemos distinguir entre dos casos:

- Si $0 < \nu \leq \nu_{system}$ (períodos mayores al período característico del sistema Γ_{system}) donde $K_O^T < 1$; además que $T \simeq 0$ en grandes lapsos temporales. Desafortunadamente, se genera un efecto de recidiva, fenómeno que ocurre cuando se vuelve a observar un crecimiento importante de células tumorales después de tiempos prolongados sin haberlas, pero con una cantidad máxima de células tumorales (T_{max}) muy alta (Fig. 2.7).
- Si $\nu > \nu_{system}$, $K_O^T < 1$ (períodos menores al período característico del sistema Γ_{system}), el sistema mantiene un comportamiento del tipo oscilatorio, con valores de $J_O^T < 2$. Además, en general $K_O^T < 0.2$. Esta situación puede contemplarse en la Fig. 2.8.

Otra manera de ver la como repercute esta variación de la frecuencia ν es ver que valores toman K_O^T y J_O^T en un función del período Γ (recordemos que $\Gamma = \frac{1}{\nu}$). De similar modo, podemos ver que relación existe entre los valores máximos de células tumorales y el valor en el estacionario para condiciones basales (T_{basal}) y con respecto el valor en el estacionario con respecto a las condiciones iniciales (T_0). Es decir, las relaciones $\frac{T_{max}}{T_{basal}}$ y $\frac{T_{max}}{T_0}$ en función de Γ . Las Fig. 2.9 y Fig. 2.10 representan las relaciones expresadas previamente para variaciones del período $\frac{\Gamma_{system}}{2} \leq \Gamma \leq 2\Gamma_{system}$.

Por lo tanto, se puede observar que cuando el período de oscilación de c y s es menor a el período característico de sistema $\Gamma < \Gamma_{system}$ (o lo mismo decir que $\nu > \nu_{system}$) los valores de la cantidad de células tumorales son los esperados para una eventual terapia dado que siempre tanto K_O^T , como así también J_O^T , son menores a 1.

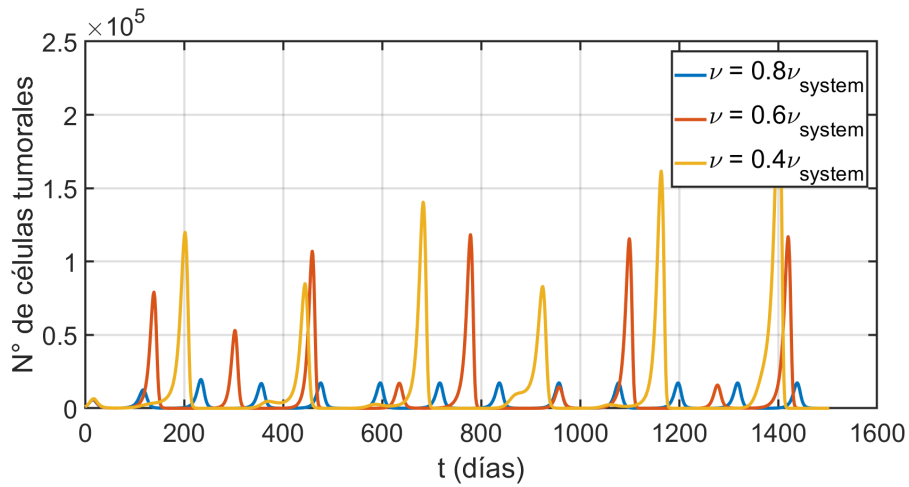


Figura 2.7: Series temporales para las dependencias temporales en simultáneo de c y s en forma oscilatoria para distintos valores de $\nu < \nu_{system}$.

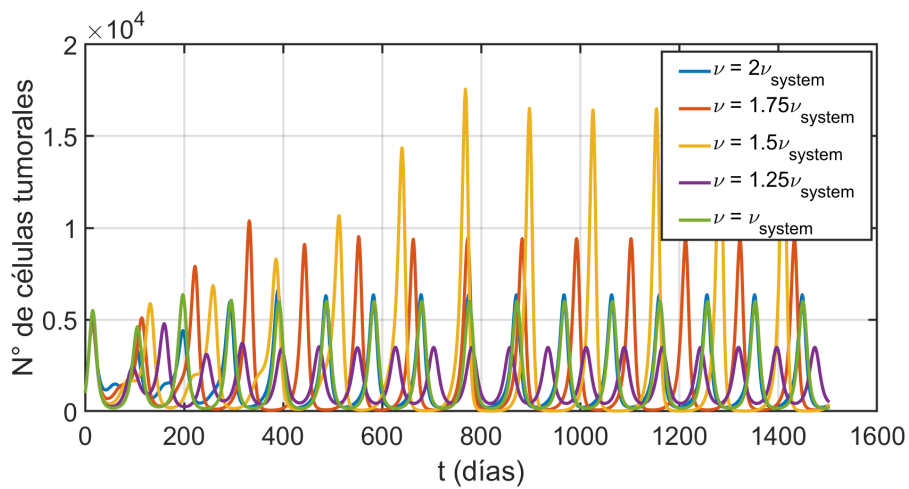


Figura 2.8: Series temporales para las dependencias temporales en simultáneo de c y s en forma oscilatoria para distintos valores de $\nu \geq \nu_{system}$.

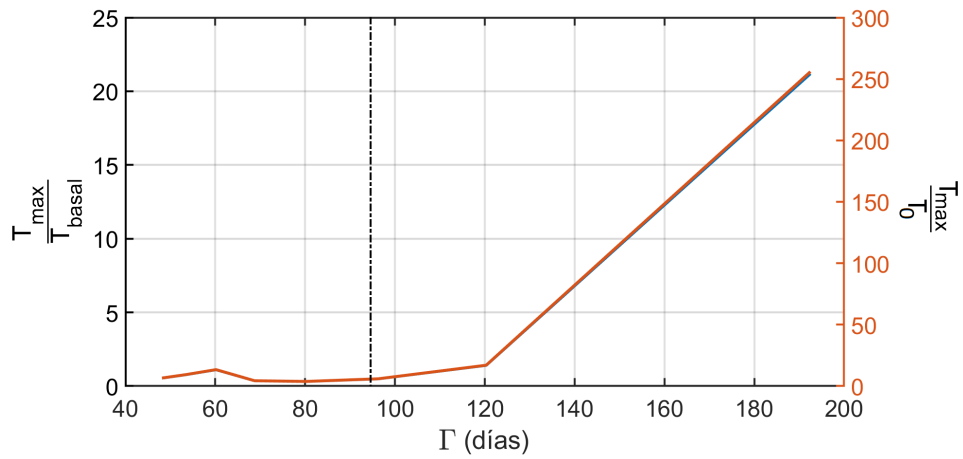


Figura 2.9: Relación $\frac{T_{max}}{T_{basal}}$ (línea azul) y $\frac{T_{max}}{T_0}$ (línea naranja) para distintos períodos (variaciones de $\frac{1}{\nu_{system}}$). La línea punteada hace referencia a Γ_{system} .

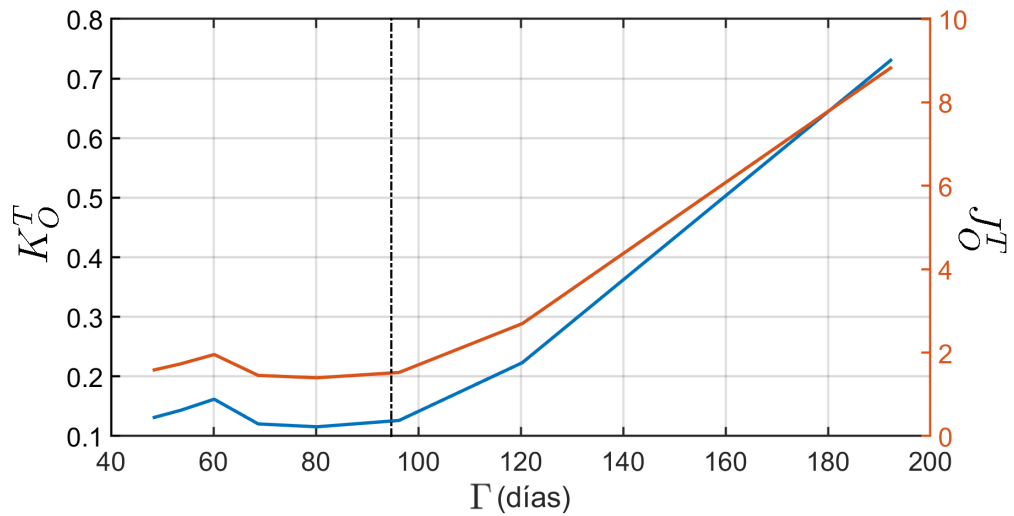


Figura 2.10: K_O^T (línea azul) y J_O^T (línea naranja) para distintos períodos (variaciones de $\frac{1}{\nu}$). La línea punteada hace referencia a Γ_{system} .

2.5. Conclusiones del capítulo

Con la intención de buscar nuevas formas de control para las células tumorales, podemos ver que el modelo KP se puede utilizar como tratamiento inmunológico. Focalizando en el modelo, basándonos en las modificaciones propuestas y los resultados obtenidos, cuando los parámetros $c(t)$ y $s(t)$ están dados por la Ec. 2.9 (esto es dependencia temporal oscilatoria) tenemos oportunidad de observar una disminución respecto a como el sistema se comporta en condiciones donde sus parámetros tienen valores basales. No obstante, la variación de la frecuencia ν (o período Γ) muestra casos donde si las oscilaciones son con un período menor al del sistema Γ_{system} podemos obtener relaciones de K^{To} y J^{To} menores a 1. Algo que implica ciertamente una disminución de las células tumorales respecto a sus condiciones iniciales y su valor en el estacionario de la serie temporal de T en condiciones basales.

Actualmente, existen terapias en las que el antígeno se introduce a través de vacunas en el propio tumor y en zonas vecinas para estimular el sistema inmunitario [51, 52, 53, 54]. De acuerdo con investigaciones biológicas y médicas recientes, donde se explica el uso de este tipo de vacunas, el tumor puede disminuir hasta desaparecer [55, 56] mediante *inputs* relacionados con oscilaciones periódicas de antígenos y células efectoras, situación análoga a lo desarrollado mediante la variación individual y/o simultánea de los parámetros c y s .

Con respecto a la incidencia de los parámetros de manera aleatoria, son procesos experimentales muy complejos de realizar y no necesariamente tienen correlación con los resultados expresados de manera teórica. Esto es debido, entre diversos motivos, a factores aleatorios internos y/o externos como así también clínicos, lo que conlleva a un factor de incerteza considerable[57] que es difícil de representar con las herramientas desarrolladas en el presente capítulo. Este tipo de análisis no es contemplado en este trabajo, pero eventualmente puede ser objeto de investigación futura. Asimismo, como posibilidad de extensión de este trabajo, se pueden considerar *ODEs* del tipo impulsivas[58] para simular los “input” de vacunas que fortalezcan los mecanismos del sistema inmunitario en función de los

resultados para las variaciones temporales simultáneas de los parámetros c y s .

Discusión

Con la intención de desarrollar e implementar un modelo más realista, se podrían cambiar las condiciones iniciales en función de la siguiente observación: Generalmente, mediante estudios tomografía computarizada, un tumor sólido generalmente es detectable a partir de un radio de $0.8mm$. aproximadamente (suponiéndolo cuasi-esférico y dependiendo del nivel de tecnología utilizado para su visualización)[59, 60]. Por otro lado, un radio de una célula tumoral se estima en $0.01mm$ aproximadamente (estimado en base a células de distintos órganos)[49, 50]. De esta manera, podemos obtener una relación de la cantidad de células T en un tumor al ser detectado:

$$\frac{4/3\pi(0.8mm)^3}{4/3\pi(0.01mm)^3} \sim 5.10^5$$

Este simple cálculo nos muestra que estamos en el orden de 5.10^5 células tumorales T como condición inicial de nuestro modelo. A partir de esto, si realizamos las simulaciones con las condiciones iniciales $T(0) = 5.10^5$ células tumorales T y $E(0) = 10^3$ células efectoras E (suponiendo siempre que hay una cantidad de células del sistema inmunitario innato que combaten el tumor desde el inicio aunque no lograron efectos relevantes), encontramos las soluciones del sistema tal como se representa en la Fig. 2.11.

Por lo tanto, si pretendemos modificar el modelo para hacerlo más realista sería conveniente, en principio, utilizar condiciones iniciales como las propuestas en este apartado. El inconveniente surge al observar que el sistema alcanza su régimen estacionario después de 560 días (alrededor de 1.53 años) respecto al inicio de la simulación.

En consecuencia, se observa la existencia de un *delay* considerable en el inicio de las oscilaciones del sistema en condiciones basales. Esto poco tiene que ver con un caso biológico real, ya que la primera implementación de una terapia como la presentada en esta capítulo sería extremadamente tardía. Asimismo, probablemente,

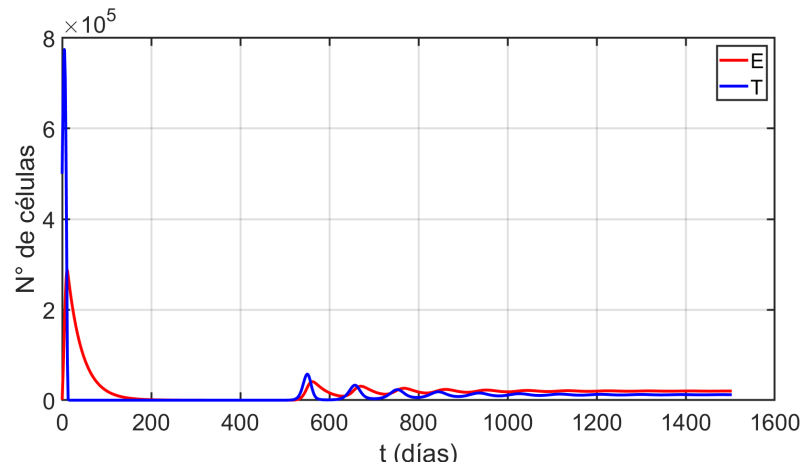


Figura 2.11: Series temporales para células efectoras (E) y células tumorales (T) con condiciones iniciales $T(0) = 5 \cdot 10^5$ y $E(0) = 10^3$.

la persona enferma ya hubiese manifestado otros síntomas y enfermedades relacionadas propias de estadios más avanzados del cáncer.

Queda como posible trabajo a futuro, la eventual modificación de parámetros del sistema (manteniendo la plausibilidad biológica) con la finalidad para aminorar ese tiempo de retraso en alcanzar el estacionario del sistema, como así también el posterior análisis de la dependencia temporal de los parámetros como ya se ha estudiado en este capítulo.

Autómata celular y diferenciación celular

3.1. Introducción

Las células madre (*SC*) son células pertenecientes a los organismos del tipo pluricelular y generan, a través de la mitosis, nuevas células con funciones definidas. Las *SC* pueden dividirse para crear nuevas células, estas pueden ser células madre, lo que conocemos como *autorrenovación*, u otras células con funciones específicas y/o especializadas, proceso conocido como *diferenciación*[61]. Cuando una célula ya está totalmente diferenciada, pierde la propiedad de generar nuevas células[62].

Las células madre de la mórula, llamadas *totipotentes*[63], son aquellas que originan el embrión y la placenta, por ende, tienen la capacidad de dar origen a todos los diferentes linajes celulares que formaran los tejidos y órganos que constituyen el organismo completamente desarrollado. La primera célula de este tipo (cigoto) es creada cuando un espermatozoide fecunda un ovocito, a partir de allí el cigoto se divide y formará el trofoblasto (precursor de la placenta) y alguna de las capas embrionarias (endodermo, mesodermo o ectodermo). Luego de algunos ciclos de división (al llegar a 16 células) durante aproximadamente 4

días, éstas células desarrollan la mórula que estará conformada por masa celular externa, encargada de la formación de la placenta; e interna, células embrionarias con un principio de especialización en sus funciones que dan origen a las células madre pluripotentes.

Las células madre *pluripotentes*[64] son aquellas que se encargan del desarrollo embrionario y tienen la facultad de diferenciarse en subconjuntos. Las células pluripotentes están presentes en todas las etapas del desarrollo embrionario (generando células de sus tres linajes); además el grupo de células dentro del blastocisto¹, llamada masa celular interna, pueden diferenciarse en todos los tipos celulares que conformarán el organismo adulto, es decir, órganos y tejidos. Es importante destacar que muchas de las células del blastocisto mantienen del desarrollo del embarazo pero son incapaces de generar un nuevo individuo por sí mismas. Una vez que las células madre pluripotentes están confinadas en un determinado tejido, son células madre adultas multipotentes.

Las células madre *multipotentes*[65] generar todos los tipos celulares de su mismo linaje embrionario, dando origen a las células madre hematológicas y células madre especializadas (huesos, nervios, músculos, etc.). Sus células generan células hijas que pueden diferenciarse en células del tejido de origen pero no en otros tipos de células. Asimismo, existe células madre multipotentes embrionarias, que son aquellas encargadas de generar gónadas (etapa inicial de la formación de los órganos sexuales (ovario o testículo) y sus respectivas células reproductoras (óvulo o espermatozoides).

Finalmente, las células madre *unipotentes*[66] (o progenitoras) solo se diferencian en un tipo de células, pueden autorrenovarse como así también diferenciarse dando células con funciones definidas y únicas para el tejido en el que se encuentran[67]. Las más comunes pueden ser las musculares[68].

$$\text{TOTIPOTENTE} \longrightarrow \text{PLURIPOTENTE} \longrightarrow \text{MULTIPOTENTE} \left\{ \begin{array}{l} \text{Hematológicas} \\ \text{Otras SC especializadas} \end{array} \right.$$

NIVEL DE DIFERENCIACIÓN DE LA CÉLULA MADRE

¹ El blastocisto se conforma por dos capas celulares: la externa, denominada trofoblasto, de aproximadamente 70 células; y la masa celular interna que está constituida alrededor de 30 células.

Los tumores están compuestos por una diversa cantidad de células con distintas características moleculares. Las células madre cancerosas (*CSC*) identifican a un subconjunto de células cancerosas que pueden autorrenovarse y diferenciarse como las células madre normales. No obstante, aunque comparten éstas características de las células madre, sus características fenotípicas y moleculares se distinguen claramente de las células madre normales (*SCs*) [69]. De esta manera, las *CSCs* son una subpoblación celular cancerosa cuyas superficies manifiestan marcadores celulares (“*CSC Markers*”)^{II} de células madre normales multipotentes (con restricción de linaje dependiendo del tipo de tumor la etapa del mismo) [70]. El origen de una *CSC* es desde una *SC* normal que adquiere características neoplásicas, es decir, severos cambios del material genético que repercuten en el control de su reproducción, entre otras cosas [71]. A partir de este suceso, la siguiente renovación o diferenciación de ésta célula generará otras que no son normales [72], dando inicio y crecimiento a un tumor.

El estudio de las *CSCs* y su organización es objeto de investigación en diversas disciplinas [73, 74, 75]. Su rol, es importante para entender y analizar la formación [76], tasas de crecimiento [77], agresividad [78], recidiva (es decir, cuando el cáncer parece curado pero después de un tiempo vuelve a aparecer) y metástasis [79].

Por lo expresado previamente, existe una hipótesis de estructura jerárquica [80, 81] de las *CSCs*^{III}, suponiendo que las mismas tienen la capacidad de generar células parcialmente progenitoras (*PC*) y diferenciadas (*DC*) con una función específica, impulsando así el crecimiento y posterior diseminación del cáncer. Dicho de otro modo, las únicas células que pueden renovarse y generar una población de células tumorales son las *CSCs* [83]. Las *CSCs* suelen ser más resistentes a terapias como la radioterapia y la quimioterapia [80], estos tratamientos generalmente eliminan a células que predominan en el tumor, como lo son las diferenciadas (*DC*), presentando a corto o largo plazo, una recidiva en el mismo órgano u otro si es que una *CSC* logró alojarse y colonizar otro sitio.

^{II} Moléculas de la pared celular que determina en que estado de diferenciación se encuentra la misma.

^{III} Las *CSCs* son también conocidas como Células Iniciadoras de Cáncer (*TICs*) [80].

Para nuestro trabajo, estudiaremos solo *CSC* y *DC*, donde las últimas las asumiremos independientemente de sus sub-etapas, siendo células totalmente diferenciadas que no son capaces de proliferar adquiriendo solamente capacidad funcional. Además, tendremos en cuenta la posibilidad de reversibilidad en la diferenciación de células cancerosas, proceso que es conocido como “plasticidad” de las mismas.

La plasticidad (transdiferenciación o reprogramación celular) es un proceso por el cual una célula, que no es madre, se transforma en una de otro fenotipo[84], incluso puede revertir la diferenciación para volver a ser una *SC*. Un claro ejemplo se da en las salamandras donde existe una transdiferenciación de células diferenciadas a células madre progenitoras que logra regeneración en una extremidad amputada[85]. La plasticidad de las células cancerosas es un mecanismo importante que, junto con las alteraciones genéticas y epigenéticas, promueve la diversidad de las células cancerosas y contribuye a la heterogeneidad intratumoral, generando dificultades para encontrar una terapia efectiva. La plasticidad provee a las células cancerosas la propiedad de cambiar dinámicamente entre un estado diferenciado (asociado a un potencial angiogénico limitado e independiente si es una célula parcialmente diferenciada (o progenitora (*PC*)) o totalmente diferenciada (*DC*)) y un estado de célula madre (*CSC*), lo que repercute en un crecimiento tumoral a largo plazo, aumentando sus competencias para invadir, diseminar y colonizar un órgano generando una metástasis[86]. En algunos casos, a las células cancerosas se las separan en dos grandes grupos: las *CSCs* y las que no lo son madre (*DCs* y *PCs*). A este último grupo se lo llama simplemente “diferenciadas cancerosas”, dado que son las que aportan la principal masa al tumor y ambas pueden dediferenciarse a *CSC* por igual[87, 88]. En resumen, las *CSC* pueden renovarse o generar células cancerosas diferenciadas *DCs*, y éstas últimas pueden transdiferenciarse nuevamente a *CSC*.

Las células cancerosas generan acumulaciones (en la mayoría de los casos pueden ser esferoides [89]) perturbando, como se dijo previamente, el normal funcionamiento del órgano, dispersándose eventualmente y generando metástasis. En ocasiones, el sistema inmune evita la metástasis anulando las células tumorales

[79], aunque las *CSCs* pueden modificarse genéticamente “engañando” al sistema inmune, originando un nuevo tumor en otro órgano. Las *CSCs* no generan metástasis en todos los órganos, pero generalmente hay algunos más propensos que otros. Estudios sobre marcadores de células madre (“*CSC Markers*”) muestran tipos de *CSCs* que predominan en algunos órganos frecuentes de tener esta enfermedad[90].

En este capítulo, se analiza el proceso de diferenciación celular en *CSCs*. Además, se determina la proporción de células madre ubicadas en la periferia del tumor, con intención de discutir las posibilidades de que éstas se desprendan, se dispersen y colonicen otros órganos. En consecuencia, proponemos un modelo tridimensional (3D) de “autómata celular” para la evolución de células cancerosas teniendo en cuenta la diferenciación de las mismas. Para este modelo, consideraremos además la plasticidad y su relación con la generación de posibles metástasis.

La organización del presente capítulo está dada de la siguiente manera: en la Sec. 3.2 introducimos la descripción de diferenciación celular tumoral para el modelo adoptado y las reglas del autómata; los parámetros utilizados se muestran en la Sec. 3.3; la Sección 3.4 está dedicada al análisis de este modelo y la estimación del rango de plasticidad; en la Sec. 3.5, analizamos la plasticidad y su relación con la metástasis. Finalmente, en la Sec. 3.6 resumimos algunas conclusiones.

3.2. Diferenciación en células cancerosas y reglas del autómata

3.2.1. Estructura jerárquica para la diferenciación celular

Para las células cancerosas, hay una estructura jerárquica de características similares a las células normales, donde la división se produce mediante una regulación que depende de su linaje celular [91].

En la actualidad, los modelos estructura jerárquica de células madre cancerosas

requieren una transformación bidireccional entre *CSC* y las células diferenciadas *DCs* [92]. El modelo que se presenta de *CSCs* tiene base en el modelo tradicional de *SC*, asumiendo la auto-renovación [93] y plasticidad en la estructura jerárquica de *CSCs* [94] y sus diferenciadas.

Para explicar la diferenciación utilizada en el modelo, tomaremos como punto de partida una *CSC*, donde pueden existir tres posibles eventos, de acuerdo a la estructura jerárquica a usar como se muestra en la Fig. 3.1.

1. División simétrica de *CSC*: Una *CSC* puede dividirse en dos *CSC* iguales (renovación).
2. División asimétrica de *CSC*: Una *CSC* puede dividirse en una *CSC* y en una *DC*.
3. Diferenciación simétrica de *CSC*: Una *CSC* puede dividirse en dos *DCs*.
4. Plasticidad: Una *DC* puede retrotraerse a su estadio previo de *CSC*.

Entonces, tendremos tres poblaciones involucradas en este modelo:

- a) *CSC*: Células madre cancerosas.
- b) *DC*: Células cancerosas diferenciadas (independiente de los estadios intermedios de diferenciación).
- c) *PCSC*: *CSCs* que provienen de *DC* mediante plasticidad.

Cabe aclarar que para este modelo no tendremos en cuenta la apoptosis (proceso de muerte celular). La misma no es de relevancia para nuestro análisis dado que este trabajo se enfoca principalmente en el crecimiento y los parámetros de diferenciación celular. Generalmente, las células muertas ocupan un espacio en el centro del tumor y su análisis no contribuye a nuestros objetivos. Por otro lado, el espacio ocupado por células tumorales muertas es generalmente en torno al centro del tumor sin llegar a la periferia del mismo.

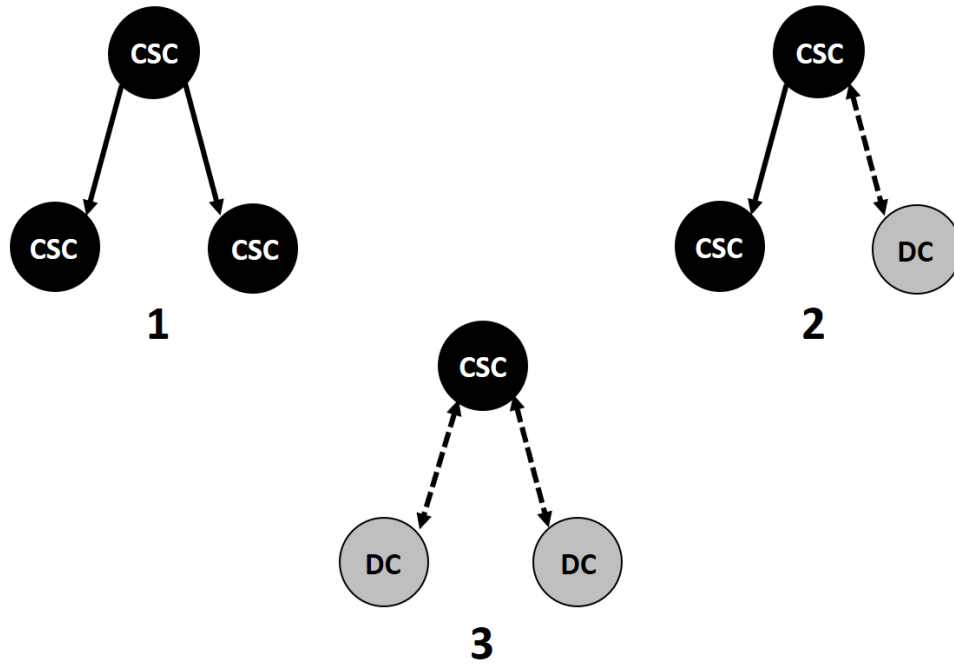


Figura 3.1: Estructura jerárquica. La división 1 es la representación de la división simétrica de una CSC en otras dos equivalentes; la división 2 hace referencia a la división asimétrica de una CSC en una CSC y una DC; finalmente la división 3 muestra la diferenciación simétrica de una CSC en dos DCs, también conocida como diferenciación total o final. Las flechas punteadas hacen referencia a la plasticidad.

3.2.2. Reglas del autómata celular utilizado

Los modelos de autómatas celulares permiten la caracterización y simulación computacional de un sistema dinámico de propiedades espaciales y/o temporales. Para esta evolución, el espacio y el tiempo evolucionan en celdas lindantes y mediante pasos (o tiempos) discretos[95]. Generalmente los autómatas consisten de una rejilla modelada en una, dos o tres dimensiones (espacio de evolución) con condiciones iniciales y reglas de interacción (o leyes) que evalúan los estados de las celdas contiguas entre sí; esto es definiendo como debe cambiar de estado cada celda dependiendo de los estados previos de sus vecinos.

Eventualmente, este modo de cambio puede ser una expresión algebraica. Una característica fundamental de los autómatas celulares es que dejan en manifiesto las propiedades que surgen de la dinámica propia de un sistema en base a su evolución temporal, con la posibilidad de observar propiedades emergentes que surjan[96]. Ejemplos conocidos de esta herramienta de simulación son modelos de epidemiología compartimental[97] (relación entre poblaciones de infectados, susceptibles y recuperados de una enfermedad), transmisión de información en sociedades[98] (la difusión de una determinada información en una comunidad) y tránsito vehicular[99] (ordenamiento de vehículos y espacios disponibles), entre otros.

Para este modelo, las reglas estructurales vienen dadas por el sistema:

- i. Espacio inicial de configuración cúbica con una única *CSC* en el centro.
- ii. El sistema se actualiza simultáneamente en tiempos discretos (pasos adimensionales) $t = 1, 2, 3, \dots, T$, con $T = 120$.
- iii. Cada celda (célula) interactúa con sus vecinas más cercanas en el espacio (26 celdas).

Si $X_{i,j,k}$ denota al espacio del autómata celular, donde i, j, k son los índices del mismo, cada celda puede tener 4 estados posibles:

$$X_{i,j,k} = \begin{cases} 0 & \text{si la celda } (i, j, k) \text{ está vacía.} \\ 1 & \text{si la celda } (i, j, k) \text{ es una } DC. \\ 2 & \text{si la celda } (i, j, k) \text{ es una } CSC. \\ 3 & \text{si la celda } (i, j, k) \text{ es una } PCSC. \end{cases}$$

En los gráficos se usará el color blanco para el estado 0, gris para el 1, azul para el 2 y rojo para el 3.

Para la división celular, siempre se evalúan las celdas que contengan *CSCs* en el borde del tumor en cada instante sucesivo t . Es decir, aquellas celdas cuyos

estados sean $X_{i,j,k} = 2$ (*células madre periféricas*) están contiguas a celdas con estados $X_{i,j,k} = 0$ (vacías).

Las reglas para las divisiones celulares vienen dadas por las siguientes condiciones:

Sea ζ un número aleatorio de Distribución Uniforme $U(0, 1)$,

- i. Si $\zeta \geq \beta$ (*parámetro de renovación de CSCs*) y $X = 2$, se efectúa una división simétrica de una *CSC* en dos iguales. Por lo tanto una celda vacía, en contacto con las periféricas, pasa de estado $X = 0$ a $X = 2$ (División celular *A* visualizada en la Fig. 3.1).
- ii. Si $\lambda < \zeta < \beta$ (β *parámetro de diferenciación*) y $X = 2$, entonces se produce una división asimétrica de una *CSC* en una *CSC* y otra *DC*. Por lo tanto una celda vacía, en contacto con las periféricas, pasa de estado $X = 0$ a $X = 1$ (División celular *B* visualizada en la Fig. 3.1).
- iii. Si $\zeta \leq \lambda$ y $X = 2$ se efectúa una división simétrica de diferenciación total de una *CSC* en dos *DCs*. Por lo tanto, la celda evaluada pasa de $X = 2$ a $X = 1$ y una celda vacía en contacto con esta última, pasa de estado $X = 0$ a $X = 1$ (División celular *C* visualizada en la Fig. 3.1).

Para el caso de la plasticidad (transdiferenciación celular), se recorrerá el volumen del autómata para las celdas $X = 1$ (*DCs*). *La plasticidad se dará cuando:*

Sea δ un número aleatorio de Distribución Uniforme $U(0, 1)$,

- i. Si la celda a evaluar es una *DC* y $\delta \leq \gamma$, entonces la *DC* volverá a su estadio previo de *CSC*. Por lo tanto la celda evaluada pasa del estado $X = 1$ a $X = 3$. γ es el *parámetro de plasticidad*.

3.3. Metodología

Generalmente el porcentaje de *CSCs* se encuentra entre el 0.6% y 1% del total de células cancerosas para la mayoría de los tumores sólidos[100, 101]^{IV}. Si

^{IV} Eventualmente hay unas pocas excepciones con porcentajes de *CSCs* cercanos al 5%[102]

llamamos N al número total de células tumorales a tiempo t , esto implica que en el estado estacionario $0.006 \leq \frac{CSC}{N} \leq 0.01$.

En base a lo mencionado, buscamos los parámetros β , λ y γ para representar un modelo real que se pueda usar en diferentes escenarios y que, a su vez, estos valores concuerden con los encontrados en la literatura. Estos parámetros, serán buscados en base a las series temporales de las proporciones de células $\frac{CSC}{N}$, $\frac{DC}{N}$ y $\frac{PCSC}{N}$ cuando las mismas alcancen un estado estacionario. Teniendo en cuenta que la proporción de CSC s debe tener el rango mencionado, tomaremos 0.8% como valor promedio del mismo. Bajo estas consideraciones, puede haber varios grupos de parámetros que pueden considerarse admisibles.

Hemos elegido, por simplicidad, el siguiente grupo de parámetros:

- $\beta = 0.925$
- $\lambda = 0.73$

Los valores elegidos de β y λ corresponden a un modelo donde no es tenida en cuenta la transdiferenciación, o reprogramación celular ($\gamma = 0$), de las células cancerosas diferenciadas. La búsqueda del rango que puede tomar γ será bajo la condición de que el porcentaje final de CSC no supere al 1% del total de las células tumorales del tumor. Es necesario aclarar que para los distintos valores que pueda tomar γ , el número final de CSC será diferente (hasta llegar al 1%), lo que será relevante a la hora de analizar la tendencia de las células madre cancerosas a colonizar otros órganos y generar una posible metástasis.

Las simulaciones fueron realizadas con el software GNU Octave [104].

3.4. Análisis

En las Fig. 3.2a y 3.2b se representan la evoluciones (sin plasticidad) para el autómata celular. Allí se puede ver su simetría cuasi-esférica del tumor para las todas las células tumorales en general y para las madre y diferenciadas respectivamente. Es relevante observar en la Fig.3.3a la tendencia estacionaria de la serie.

La baja proporción de *CSC* hace que éstas sean difíciles de observar en la Fig. 3.2. La Fig. 3.3b muestra la serie temporal de *CSC*, donde se alcanza un estacionario en 0,8 % del total de células cancerosas en el sistema para un valor de $\gamma = 0$.

El tiempo de evolución y el radio medio del tumor han sido normalizados, ya que dependen del órgano que aloja el tumor y del tipo de cáncer desarrollado [105, 106]. Este será nuestro punto de partida para encontrar γ . El intervalo de búsqueda será en incrementos discretos de 10^{-5} , teniendo como restricción que la proporción de *CSCs* será como máximo en torno al 1 %.

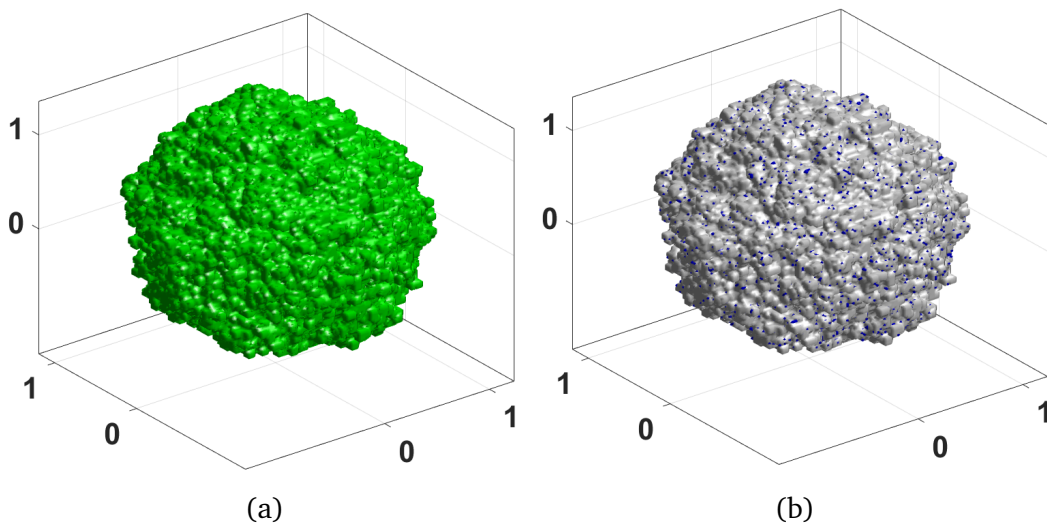


Figura 3.2: Simulación del autómata celular sin plasticidad. (a) Vista de todas las células tumorales sin distinciones. (b) En gris las *DCs* y azul las *CSCs*. El valor que está en cada una de las coordenadas espaciales corresponden a un radio normalizado.

3.4.1. Rango del parámetro de plasticidad (γ)

Las simulaciones fueron realizadas con la intención de encontrar el rango apropiado de plasticidad γ , siempre bajo las restricciones del máximo porcentaje de *CSCs* en el sistema, el mismo es:

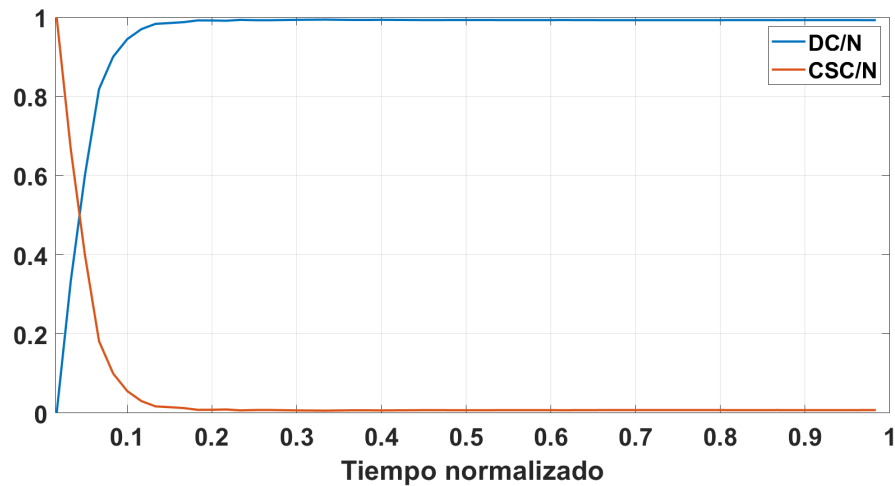
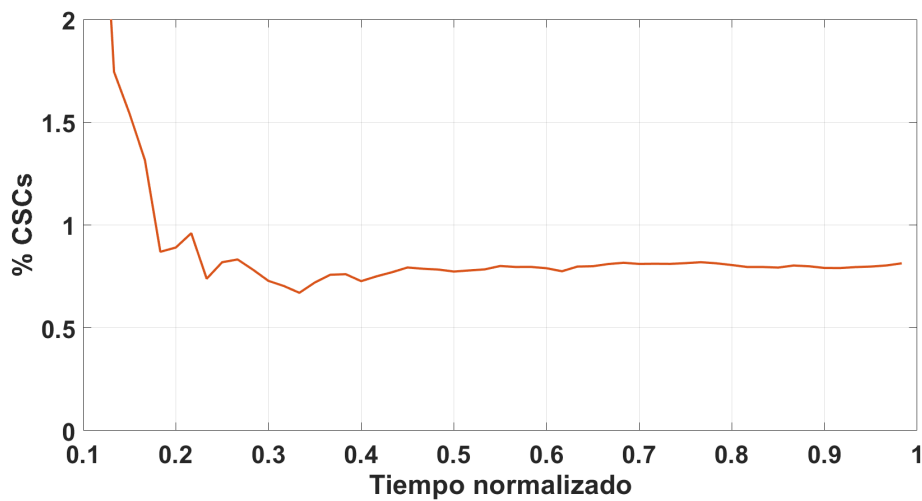
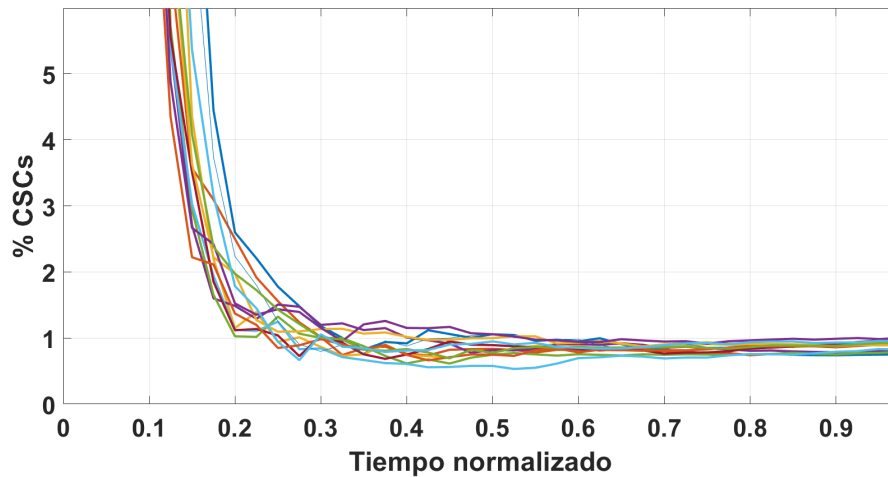
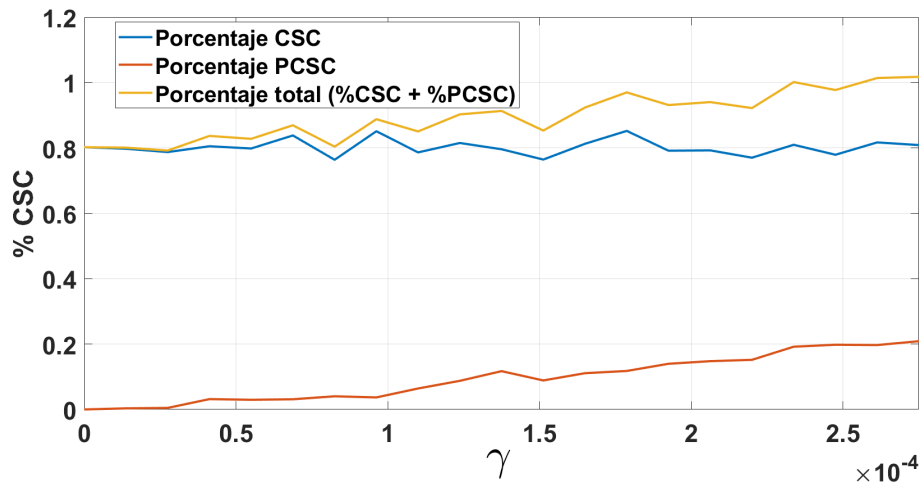
(a) *Proporciones de CSCs y DCs*(b) *Porcentaje de CSCs*

Figura 3.3: (a) Series temporales, sin plasticidad, de las proporciones $CSCs$ y DCs respecto al total de células tumorales N . Se puede observar que la proporción de $CSCs$ es considerablemente menor que las DCs . (b) Ampliación de la serie temporal de $\frac{CSCs}{N}$ visualizada en (a) en términos de porcentajes ($\frac{CSCs}{N} \times 100$).



(a) *CSCs* para diferentes valores de γ



(b) *CSCs* vs. γ

Figura 3.4: (a) Serie temporales de *CSCs* para diferentes valores del parámetro de plasticidad γ . (b) Porcentaje de *CSCs*, discriminadas por su procedencia, para los distintos valores de γ .

Plasticidad: $0 \leq \gamma \leq 0.0025$.

La Fig. 3.4a es una serie temporal de varios valores de plasticidad, que alcanza una meseta cercana a 1% de *CSCs*. La Fig. 3.4b muestra la proporción de célu-

las madre cancerosas provenientes de la plasticidad (*PCSC*) o por mitosis, donde está claro el crecimiento de las células en función del parámetro de transdiferenciación, o plasticidad, γ .

3.4.2. Visualización espacial de *CSCs*

La cantidad de *CSC* y *PCSCs* en el sistema es muy baja, es por esto que analizamos las series temporales y la distribución espacial con la intención de estudiar la proporción de las mismas. En la Fig. 3.5 podemos ver como las mismas están distribuidas espacialmente para el valor máximo de γ y apreciar como están diseminadas por todo el volumen del tumor. Además, es notable la simetría cuasi-esférica del volumen del tumor, con irregularidades debido al tipo de herramienta estocástica utilizada (autómata celular) para su simulación computacional.

La influencia de la plasticidad muestra un aumento claro de *CSCs* en todo el tumor además de las ya existentes por división celular simétrica o asimétrica. La Fig. 3.5c representa una visualización exclusiva de *PCSCs*. Teniendo en cuenta que por simplicidad para la visualización, la imagen en cuestión es solo para el mayor valor de plasticidad, podemos ver el alcance que las mismas tienen a medida que crece el radio del tumor. A distintos valores del mismo, podemos ver que siempre se alojan *CSCs*, lo cual es importante para entender la razón por la cual los tumores manifiestan recidiva[107] (reiniciación del tumor después de alguna terapia) después de suponerlos anulados o con solo células muertas, además de ser motivo por el cual algunos tumores producen metástasis debido a la migración de *CSCs* [108].

3.5. Tendencia hacia la metástasis

La metástasis es la propagación de las células tumorales circulantes (*CTC*) desde un tejido u órgano de origen (conocido como Sitio Primario) a otro cercano o distante por diferentes vías a través del torrente sanguíneo o el sistema linfático [109, 110] (llamado generalmente Sitio Secundario). Los factores de este proceso de diseminación pueden ser diferentes según el órgano, las condiciones

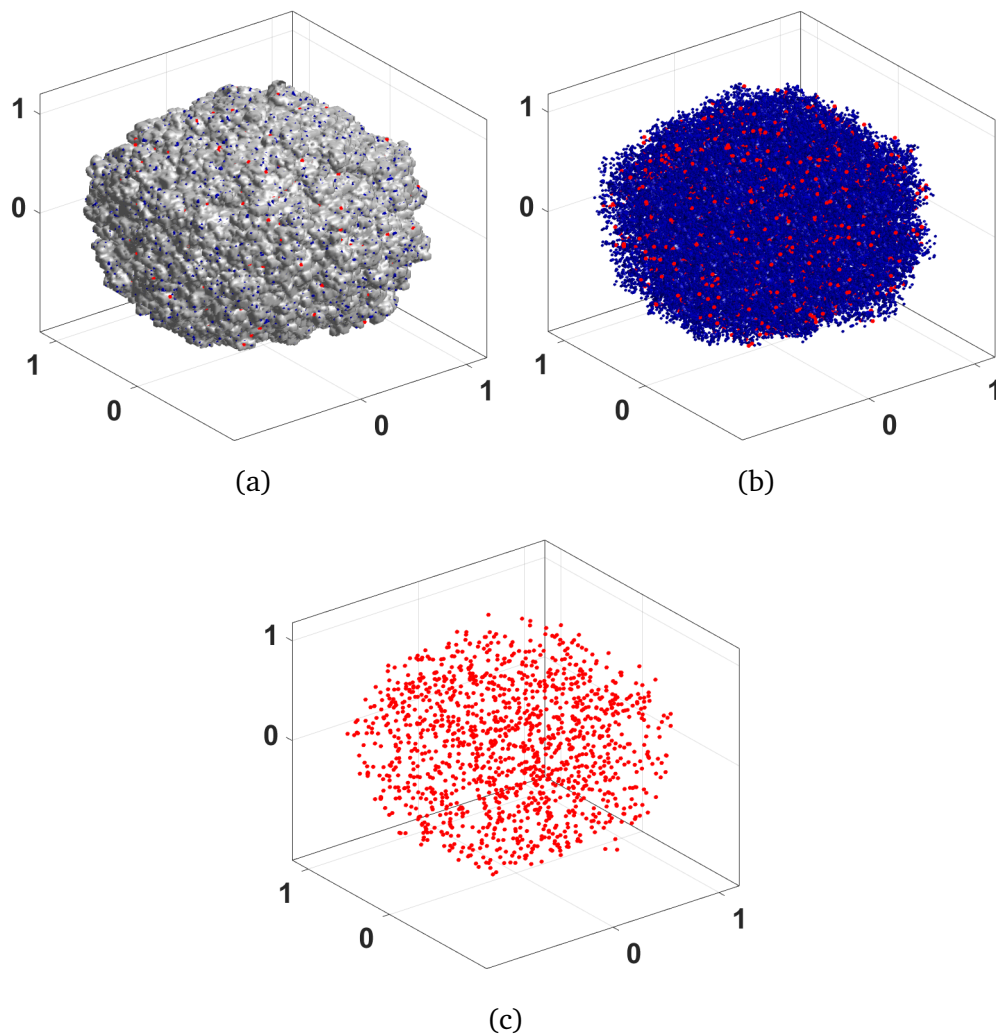


Figura 3.5: Distribución espacial para las células tumorales (radio normalizado) para el valor máximo de γ . En gris DCs, en azul CSCs y en rojo PCSCs (CSCs por plasticidad). (a) Para todas las células cancerosas. (b) Para toda CSCs. (c) Para solo PCSCs.

particulares de la historia clínica del paciente y su localización inicial. Como se mencionó anteriormente, consideramos que es crucial para comprender la metástasis la relación entre CSCs y su ubicación en el tumor. El volumen periférico

es importante para analizar considerando la posible migración desde este sector [111] hacia otros.

Con la intención de cuantificar la relación entre la proporción de células madre cancerosas (*CSCs*) en la periferia analizaremos el sector del tumor comprendido por el siguiente rango del radio:

$$0.95 \leq R \leq 1 \text{ (} R \text{ normalizado)}$$

Implica que el Volumen del Radio Periférico (*VRP*) es:

$$VRP = 1 - \frac{4/3 \cdot \pi \cdot (0.95 \cdot R)^3}{4/3 \cdot \pi \cdot R^3} = 1 - 0.857375 = 0.14265$$

Como se puede observar, el *VRP* es aproximadamente $\frac{1}{7}$ de todo el volumen del tumor. En esta porción del volumen es donde se da la mayor probabilidad de las células tumorales que puedan desprenderse y, posterior a sortear la reacción del sistema inmunitario, propagarse a través de los vasos sanguíneos o ganglios linfáticos que lo rodean hasta llegar a otro órgano y colonizarlo.

Definimos N_p para hacer referencia al número total de células cancerosas alojadas en el Volumen del Radio Periférico (*VRP*). Así, analizaremos como es la proporción $\frac{CSCs}{N_p}$ para este rango del radio normalizado R .

En la Fig. 3.6, se muestra la proporción de células madre cancerosas *CSCs* con respecto al total de células cancerosas N_p en el *VRP* ($\frac{CSCs}{N_p}$) en función del radio normalizado del tumor para el sector $0.95 \leq R \leq 1$. En naranja se muestra esta proporción para el valor más alto de plasticidad ($\gamma = 0.0025$), donde están incluidas de manera conjunta tanto las *CSCs* a través de división celular como por plasticidad; en color azul, la *CSCs* con plasticidad nula ($\gamma = 0$). Se observa además que en la Fig. 3.6 no pusimos valores de $\frac{CSCs}{N_p}$ cuando $R = 1$, ya que para ese radio son muy irregulares los bordes y sería inapropiado tomar un valor allí. Puede advertirse que la proporción de $\frac{CSCs}{N_p}$ es más alta para el valor máximo de

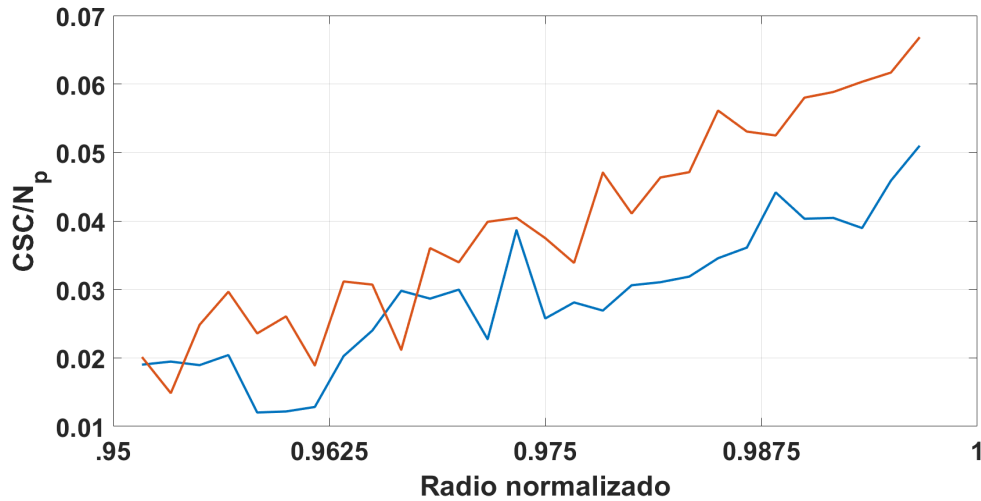


Figura 3.6: Proporción de $\frac{CSCs}{N_p}$ en la periferia del tumor. En naranja con plasticidad máxima ($\gamma = 0.0025$), en azul sin plasticidad ($\gamma = 0$).

γ , con un intervalo para ese rango del radio, en términos porcentuales, del 6.69%; en contraste del caso para $\gamma = 0$, donde el intervalo es del 5.1 %.

Por lo tanto, se puede comprobar que el incremento de células madre cancerosas en el borde del tumor generará mayores posibilidades para que las mismas pueden desprenderse, migrar y generar metástasis[112]. Asimismo, en la Fig. 3.6 se observa que estas posibilidades se incrementan si se tiene en cuenta la plasticidad de las células diferenciadas (DCs), ya que la proporción $\frac{CSCs}{N_p}$ es mayor al caso donde la misma es nula. La Fig. 3.6 refleja la relación mencionada solamente el parámetro γ en sus valores extremos con la intención de visualizar los casos más ilustrativos.

3.6. Conclusiones del capítulo

Actualmente, el estudio de diferenciación celular en tumores malignos y sus resultados establecen nuevos fundamentos y puentes entre la investigación teórica y experimental [113, 114]. Las estadísticas de datos clínicos actuales demostraron que las *CSCs* son una de las principales causas responsables del crecimiento, recidiva y metástasis del tumor durante o después de un tratamientos y/o terapias aplicadas en distintos tipos de cáncer. Esto conlleva a la necesidad de este análisis para un eventual tratamiento tomando como principal objetivo la destrucción o anulación de las *CSCs*[115, 116, 117].

Órgano	Diámetro (cm.)
Mama	0,2
Pulmón	7
Útero	4
Testículo	4,5
Tiroide	2
Melanoma	0,4
Páncreas	2
Colon/Recto	4
Vejiga	0,8

Cuadro 3.1: Diámetro promedio de tumores sólidos más recurrentes en hombres y mujeres.

Para comprender, complementar y caracterizar la diferenciación de las células cancerosas, contrastando con datos experimentales y/o bibliográficos, propusimos y construimos un modelo teórico-estocástico basado en un autómata celular de simetría cuasi-esférica que contempla células madre cancerosas (*CSCs*) (cuantificando los parámetros β y λ de renovación y diferenciación correspondientemente)

como así también el rango posible de transdiferenciación (o plasticidad, representado por el parámetro γ) de células diferenciadas (*DCs*) a madre cancerosas (*CSCs*). Asimismo, el rango encontrado para la plasticidad en el sistema está de acuerdo con los datos proporcionados en la literatura [100, 118, 119] de proporción de *CSCs*.

El análisis realizado refleja que la metástasis tiene mayores oportunidades de llevarse a cabo si en la periferia del tumor la proporción de *CSC* es mayor que en otros sectores del mismo o simplemente se incrementa. En nuestro análisis, esto se corresponde con el valor máximo del parámetro de plasticidad ($\gamma = 0.0025$) y ocurre lo contrario en los casos donde γ disminuye hasta llegar a ($\gamma = 0$). En conclusión, podemos observar una correlación directa entre los valores de γ y las posibilidades de generarse una metástasis en otro sitio debido al incremento de proporción de *CSCs*.

Además, considerando información sobre los diámetros promedio en tumores sólidos (tomados en la etapa previa de encontrar metástasis en otro órgano)[120] y el carácter adimensional del modelo, el mismo puede ser fácilmente extrapolado a tumores específicos como los que podemos observar en el Cuadro 3.1. Esto provee una herramienta importante, ya que con los respectivos cambios de escala espacial y temporal se pueden representar tumores reales, generando la apertura de una nueva ventana para el estudio y caracterización de las terapias contra el cáncer y el control ante la diseminación de *CSCs* [121, 122].

Rutas de metástasis

4.1. Introducción

Para comprender el concepto de metástasis primero debemos tener en cuenta las etapas, o estadios, de cánceres sólidos que se correlacionan con su nivel de evolución. Estas etapas pueden tener particularidades respecto a cada tumor maligno por el órgano o tejido que lo aloja (por ejemplo la evolución de una neoplasia maligna en el pulmón no es idéntica a la que ocurre en una mama), pero generalmente están representadas por cinco etapas[123]:

Etapas 0:

Esta etapa, considerada la inicial del cáncer porque se da generalmente cuando es detectado, considera que el tumor está y permanece en el sitio donde comenzó su formación (“in situ”). No tiene contacto de ningún tipo en tejidos cercanos. Es la etapa más adecuada para extirparlo.

Etapas 1:

Esta etapa generalmente involucra un aumento de volumen respecto a la etapa anterior. La neoplasia comienza a tener contacto con otros tejidos (pueden ser del mismo tipo) u órganos que lo rodean. A pesar de esto, no tiene consecuencias considerables en el normal funcionamiento de los mismos. Cabe destacar que en esta etapa, las células del cáncer no se han diseminado a los ganglios linfáticos u otras partes del cuerpo. Generalmente es conoci-

da como una edad temprana del cáncer y puede ser tratado localmente con radioterapia.

Etapa II y III:

Se da cuando los cánceres o tumores crecen de manera considerable e inciden sobre tejidos u órganos adyacentes causando complicaciones en sus funciones. En esta etapa comienzan a percibirse deformaciones considerables de los tejidos. Eventualmente, los cánceres de esta etapa comienzan a diseminar algunas de sus células a sectores externos del tumor como lo son los ganglios linfáticos pero no todavía a otros órganos (propagación local).

Etapa IV

Último estadio, aquí el cáncer ha logrado diseminar sus células a otros tejidos u órganos que no necesariamente son cercanos y generan un nuevo cáncer allí. Este estadio, es conocido como etapa de *metástasis*. En esta etapa, el tratamiento se dificulta por la cantidad de sitios donde hay tumores y los potenciales riesgos de generarse otros nuevos en nuevos sitios. Teniendo en cuenta que esta etapa finaliza cuando una nueva neoplasia maligna desarrollada en otro sitio, se inicia nuevamente la “Etapa 0” para el tumor generado en el nuevo tejido u órgano.

Detección → Crecimiento → Invasión a tejidos cercanos → Diseminación



Etapa 0 → Etapa I → Etapa II y III → Etapa IV

Metástasis es la diseminación de *Células Tumoraes Circulantes (CTC)* desde un sitio primario (donde se origina o detecta el origen del primer cáncer) hacia órganos cercanos o distantes mediante diferentes caminos. Este proceso depende del órgano en cuestión y su ubicación inicial, dándose a través del torrente sanguíneo o del sistema linfático (una colección de vasos que transportan fluidos y células del sistema inmune)[124, 125].

Claramente este proceso de diseminación es complejo, las células cancerosas tienen alto metabolismo y en consecuencia un mayor requerimiento de oxígeno,

existiendo genes que estimulan la angiogénesis tumoral^I para llevar esto a cabo, siendo éste el requerimiento inicial para el proceso de metástasis. Posteriormente, las *CTC* deben superar ciertos impedimentos para poder colonizar un nuevo sitio, ya que se calcula que solo el 0.01 % lo logra[126]. Los impedimentos principales para que una *CTC* tenga éxito en un nuevo sitio es que debe desprenderse de sus vecinas y trasladarse a través del espacio intercelular y atravesar la membrana basal, debe poder eludir los ataques del sistema inmunitario, ingresar a través de una pared vascular y tejido distinto al que originalmente pertenecía y poder reproducirse generando una nueva neoplasia maligna[127, 128]. Además, teniendo en cuenta que la *CTC* proviene de un tumor maligno de otro sitio, es necesario aclarar que el nuevo tumor metastásico es del mismo tipo de origen y comparte características genéticas similares[129].

Las Cadenas de Markov (*MCs*) son procesos estocásticos discretos donde la probabilidad de un estado depende solamente del estado anterior y no como una consecuencia de los estados previos sucesivos^{II}[132]. Las *MCs* son usadas para modelar entre otras cosas, sistemas biológicos de manera continua y dinámica [130, 131]. En la actualidad, mediante el uso de *MCs*, algunos trabajos han tomado diferentes enfoques para simular y modelar procesos de metástasis de pulmón, donde se cuantifican los mecanismos de progresión y las escalas de tiempo para caracterizar las micrometástasis internas del órgano [134, 135].

En el presente capítulo hacemos uso de *MCs* del tipo *absorbentes*. Este tipo de *MCs* son aquellas que tienen estados que al ser alcanzados tienen probabilidad cero de poder avanzar hacia otros[132]. Para el caso de nuestra investigación, serán los órganos con probabilidad prácticamente nula respecto a otros, de generar metástasis. Esta herramienta de probabilidad, es con la cual hacemos el análisis de las rutas de metástasis de tumores sólidos en diferentes órganos. Tomando como posibles “rutas”: desde el sitio primario a un sitio secundario (metástasis desde el sitio primario); y desde allí a un sitio terciario (metástasis desde el sitio secundario), de acuerdo a las estadísticas y órganos de importancia según el Instituto

^I Proliferación de vasos sanguíneos para el aporte de oxígeno y nutrientes al interior del tumor, regulado por moléculas que pueden estimular este proceso en la periferia del mismo.

^{II} Para más información ver Anexo 4.7.1.

Nacional del Cáncer (INC) de Argentina[133] y el National Cancer Institute de Estados Unidos (NCIUE).

En este capítulo se analizan las probabilidades de tener un tumor en un sitio secundario o terciario dependiendo del órgano donde se origina el primer cáncer, así como las probabilidades que un tumor originado en un sitio primario alcance un sitio secundario o terciario que no es propenso a generar una nueva metástasis (generalmente son aquellos órganos que tienen una probabilidad muy baja de propagar las *CTC*). Finalmente, se calcularon los pasos (es decir, las etapas entre la metástasis de un sitio primario a secundario y/o terciario) basados en estados absorbentes (en nuestro caso, estos estados son órganos con baja probabilidad de generar metástasis respecto a otros). El objetivo principal de este capítulo es comprender la relación entre los órganos en un escenario de metástasis y caracterizar las posibles vías de metástasis partiendo de un órgano en particular.

Los procesos de metástasis pueden diferir dependiendo del sexo dado que algunos tejidos y órganos son distintos. Puntualmente aquellos asociados al aparato reproductor (ovarios, vagina o útero en las mujeres y próstata o testículos en los hombres). Sin embargo, el análisis es similar en ambos casos. Por simplicidad, en este análisis solo se hace referencia a los tumores y metástasis en hombres como caso de estudio, con la certeza de saber que puede ser extrapolado fácilmente al caso de las mujeres puesto que el tratamiento es análogo.

Para mayor precisión, este capítulo está organizado en la siguiente forma: en la Sección 4.2 se proporciona una breve descripción de la metodología; La Sección 4.3 está dedicada a describir matrices de transición y estados absorbentes; la matriz de transición para los sitios terciarios se muestra en la Sección 4.4; en la Sección 4.5 se encuentra un análisis del número esperado de pasos y la probabilidad de que una ruta de metástasis finalice en alguno de los estados absorbentes; finalmente, los comentarios y conclusiones se presentan en la Sección 4.6.

4.2. Metodología

La matriz de transición P se utiliza para describir las transiciones en una MC , en nuestro caso fue construida y determinada por la cantidad de órganos con las más altas probabilidades de generar metástasis. Esta matriz muestra la probabilidad que un órgano pueda ser alcanzado por las $CTCs$ [136] desde otro y ha sido construida bajo la suposición de haber generado efectivamente la metástasis. Hasta ahora, se conocen tres rutas principales de metástasis: *Hematógena (circulación sanguínea)*, *linfática* y *transcelómica (por cavidad serosa o del líquido cefalorraquídeo)*. Con esta información, mediante las estadísticas del Instituto Nacional de Cáncer de Argentina[17] y del National Cancer Institute de Estados Unidos sobre los principales tumores y los datos cuantitativos sobre los principales órganos afectados desde el sitio primario[137], se realizó el grafo ilustrado en la Fig. 4.1. Este muestra los tumores más comunes y los sitios principales donde se pueden generar metástasis.

El grafo fue diseñado mediante el software libre *Visone 2.15* [138]. El tamaño de los nodos representan la proporción de casos de los principales tumores malignos. La conexión entre estos órganos (links) están basados, como dijimos previamente, acorde a las relaciones de metástasis referidas por el INCEEUU[137]. Además, las formas de los nodos dependen de la cantidad de órganos enlazados: los octágonos para aquellos órganos que tienen baja probabilidad de generar metástasis; los hexágonos para 2 o 3 órganos; los rombos con 4 o 5; y finalmente los círculos, con más de 6 órganos. Es importante tener en cuenta que los órganos con baja probabilidad de generar metástasis en comparación con el resto, se muestran en el gráfico como un enlace sobre sí mismos (no debe confundirse en que generan metástasis sobre sí mismos o casos de micrometástasis interna).

En la Fig. 4.1, se puede observar que el pulmón es el principal link entre los órganos. A su vez, podemos ver que los principales sitios primarios son la próstata y el colon/recto. El pulmón es el cáncer más común, pero es el lugar donde se genera la primera metástasis, siendo el principal sitio secundario[51, 52]. Para los casos particulares de cáncer de piel/músculo y melanoma, estos no deben ser aso-

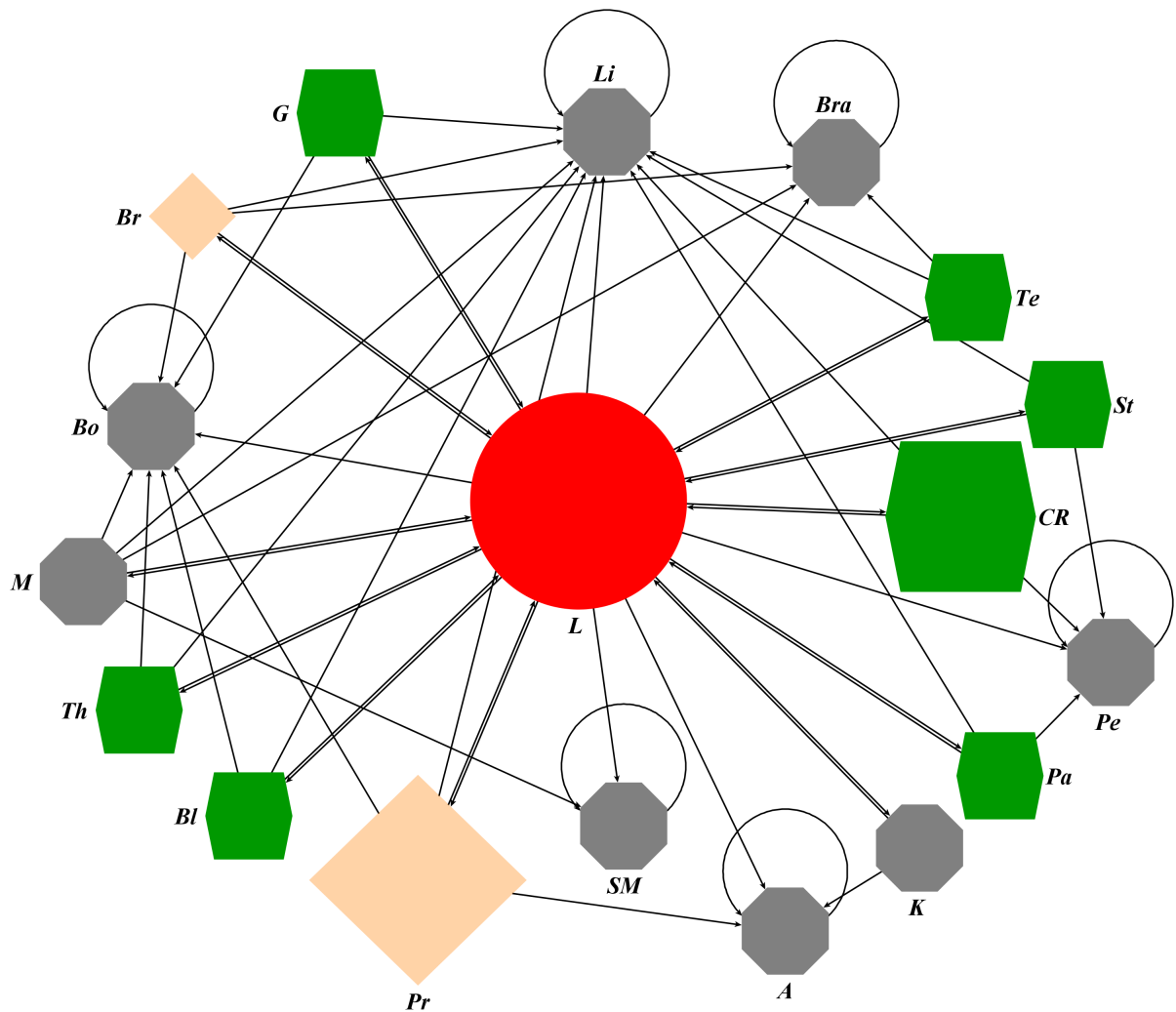


Figura 4.1: Grafo para las principales conexiones de metástasis para tumores en hombres según estadísticas del INC y NCIUE. Los nombres de los órganos están mostrados mediante símbolos de su sigla en inglés, que están explicados en el Cuadro 4.1.

ciados como iguales; el primero es asociado a aquél que se genera por neoplasias malignas de células basales y escamosas de la piel y/o músculos exteriores; en cambio el segundo, es generado por anomalías en los melanocitos[139].

Su adosó, a modo excepcional y teniendo en cuenta de de no ser muy frecuente en hombres, el cáncer de mama. Esto se fundamenta en que llegado el caso de

generarse un cáncer allí, existe una gran cantidad de órganos enlazados en los que puede generar metástasis. Esto es basándonos en la comparación con otros de los órganos expuestos en el Cuadro 4.1.

ÓRGANO	SÍMBOLO
Glándula suprarrenal (Adrenal Gland)	A
Vejiga (Bladder)	Bl
Hueso (Bone)	Bo
Cerebro (Brain)	Bra
Mama (Breast)	Bre
Colon/recto (Colon/Rectum)	CR
Vesícula biliar (Gallbladder)	G
Riñón (Kidney)	K
Hígado (Liver)	Li
Pulmón (Lung)	L
Melanoma	M
Pancreas	Pa
Peritonéo (Peritoneum)	Pe
Próstata (Prostate)	Pr
Piel/músculo (Skin/Muscle)	SM
Estómago (Stomach)	St
Testículo (Testicular)	Te
Tiroides (Thyroid)	Th

Cuadro 4.1: Símbolos de órganos

4.3. Matriz de transición, probabilidades y estados absorbentes

4.3.1. Matriz de transición y sus probabilidades

La caracterización de la evolución metastásica es desarrollada mediante Cadenas de Markov y se basa en la construcción de la red para sitios primarios mostrados en el grafo de la Fig. 4.1.

Sea X_0 (sitio primario) el órgano donde el tumor fue originado y X_1 el estado del proceso donde el nuevo tumor se forma a partir de X_0 y desarrolla metástasis. Entonces la probabilidad de que un órgano desarrolle metástasis desde otro es:

$$p_{ij} = P[X_1 = j | X_0 = i] \quad (4.1)$$

El tiempo de transición, sub-índice de X , no refiere a tiempo calendario, sino hace referencia a un tiempo en el cual ha sido observada y confirmada la formación de un nuevo tumor. Por otro lado, $i, j = 1, 2, 3, \dots, m$ es el número de órganos. A p_{ij} se lo denomina *probabilidad de transición*[53] y tiene dos propiedades fundamentales:

- $\sum_{j=1}^m p_{ij} = p_{i1} + p_{i2} + \dots + p_{im} = 1$. Como el sistema debe estar necesariamente en uno de los estados m la sumatoria de probabilidades debe ser igual a 1, resultado válido para la suma de todos los elementos de cualquier fila de la matriz de transición.
- Cada elemento $p_{ij} \geq 0$

Basado en las probabilidades de transición y extendiéndola a cada uno de los órganos se construye una matriz llamada *Matriz de transición* P y viene dada por:

$$P = [p_{ij}], \quad P \in \mathbb{R}^{m \times m} \quad (4.2)$$

Las rutas de metástasis en la mayoría de los órganos son conocidas cualitativamente. Pero no hay una probabilidad definida de que órganos “receptores” tienen ventaja sobre otros[137, 143]. Por este motivo, asumimos una equiprobabilidad

de que un órgano X_0 (sitio primario) alcance otro órgano X_1 (sitio secundario). Además, en los casos de órganos que no son generalmente colonizados por $CTCs$ de determinados sitios primarios (según las referencias [137, 140] y [141]) asumiremos una probabilidad $p_{ij} = 0$. Esto último, es con la intención de trabajar y analizar los sitios primarios y secundarios predominantes y más comunes en los cuales se genera metástasis.

Observando la matriz P , un tumor en un sitio primario, por ejemplo próstata en la Fig. 4.3a), tiene probabilidad no nula de desarrollar un nuevo tumor en un sitio secundario y será de $1/4$ para L , Li , Bo y Pe . Lo mismo si se considera un tumor en el estómago (4.3b), que será de $1/3$ para Li , Pe y L .

La descripción de la matriz de transición P se encuentra en el Apéndice 4.7.3. Otra forma de visualizar la matriz P se muestra en la Fig. 4.2. Allí, las probabilidades expresadas en la ecuación 4.2 puede ser observada en escala RGB.

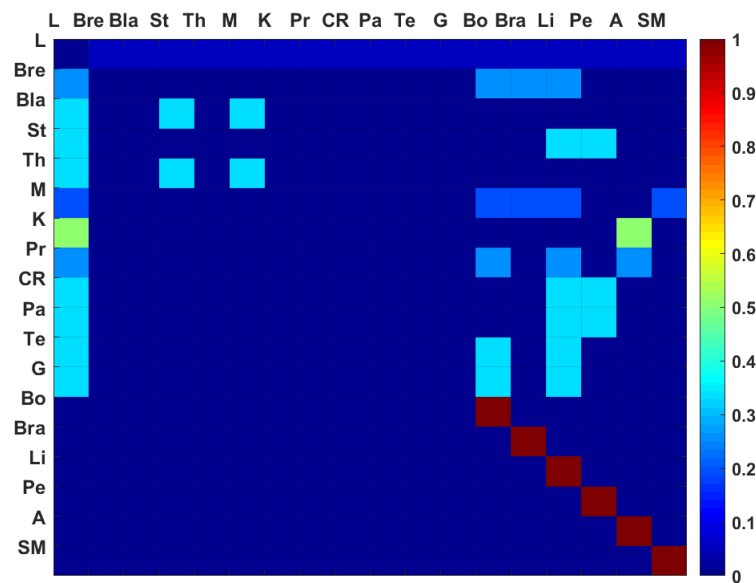


Figura 4.2: Visualización de la matriz de transición P para sitios secundarios.

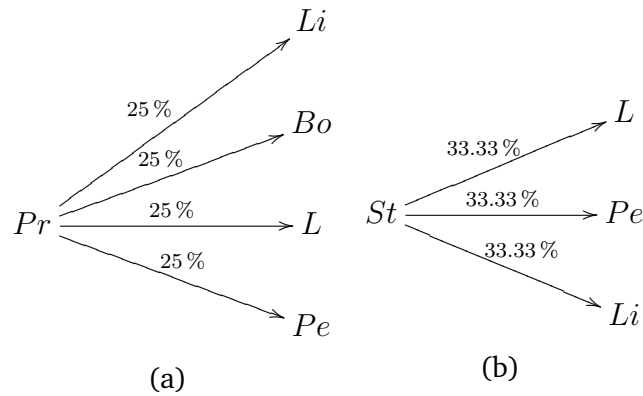


Figura 4.3: Probabilidades (en porcentaje) de metástasis in órganos desde cáncer de próstata (a) y estómago (b) respectivamente.

4.3.2. Estados absorbentes

Es importante denotar la existencia de estados absorbentes en el sistema, estos son estados donde es imposible salir y se encuentran si alguna fila de la matriz satisface [142]:

$$p_{ii} = 1 \text{ y } p_{ij} = 0 \text{ (si } i \neq j) \quad (4.3)$$

Las propiedades de las Cadenas de Markov Absorbentes ($AMCs$) son:

- La cadena tiene como mínimo un estado absorbente.
- La cadena termina en un estado de absorción con probabilidad 1 de permanecer allí y 0 de salir de allí.

Para algunos órganos, aún cuando el tumor se origina allí, en un sitio primario o en un sitio secundario, no genera una nueva metástasis. Los estados absorbentes son órganos que rara vez hacen metástasis. Para nuestro estudio en términos de $AMCs$, son órganos que no generan metástasis en el siguiente paso de la matriz de transición. Los estados absorbentes de P son: *hueso* (Bo), *cerebro* (Bra), *hígado* (Li), *peritoneo* (Pe), *glándula suprarrenal* (A) y *piel/músculo* (SM).

4.4. Matriz de transición para sitios terciarios (segunda metástasis)

En términos de *MCs*, para que el proceso pase del estado i al estado j en dos pasos, debe pasar necesariamente por un estado intermedio k . Si un tumor en un sitio secundario se propaga a un nuevo órgano (sitio terciario), se etiquetará como X_2 . La probabilidad de generar un nuevo tumor en un sitio terciario desde un sitio primario viene dada por:

$$p_{ij}^{(2)} = P[X_2 = j | X_0 = i] = \sum_{k=1}^m p_{ik} \cdot p_{kj} \quad (4.4)$$

donde $i, j, k = 1, 2, 3, \dots, m$ es el número de órganos. De igual manera que con la Ec. 4.2, la nueva *Matriz de transición para el segundo paso* $P^{(2)}$ se representa como:

$$P^{(2)} = [p_{ij}^{(2)}], \quad P^{(2)} \in \mathbb{R}^{m \times m} \quad (4.5)$$

Para esta sección del capítulo es necesario realizar una aclaración de relevancia. Es sabido que al generarse una metástasis, el órgano que le da origen continúa con la evolución de su cáncer y puede generar otras metástasis posteriormente. Al formular la matriz $P^{(2)}$ analizaremos sólo la probabilidad de originar metástasis en un sitio terciario específico desde un determinado sitio primario sin tener en cuenta las otras posibles metástasis intermedias ni la propia evolución del mismo. Ejemplo de esto, si se estudia la probabilidad de generarse una metástasis en un sitio terciario como el pulmón (L) desde un sitio como la próstata (Pr), no se tiene en cuenta que ocurre la propia evolución del cáncer en ese sitio ni las demás posibles metástasis desde el mismo descritas en las matrices de transición P y $P^{(2)}$.

La Ec. 4.5 proporciona información sobre la probabilidad de una segunda metástasis desde un sitio primario pasando por las posibles conexiones. Es sabido que las metástasis en sitio terciario (“metástasis de metástasis”) generalmente se dan en casos donde las esperanzas de vida disminuyen considerablemente, no obstan-

te existen casos de tratamiento exitoso a pesar de ello[144, 145]. La matriz $P^{(2)}$ se muestra en el Apéndice 4.7.4.

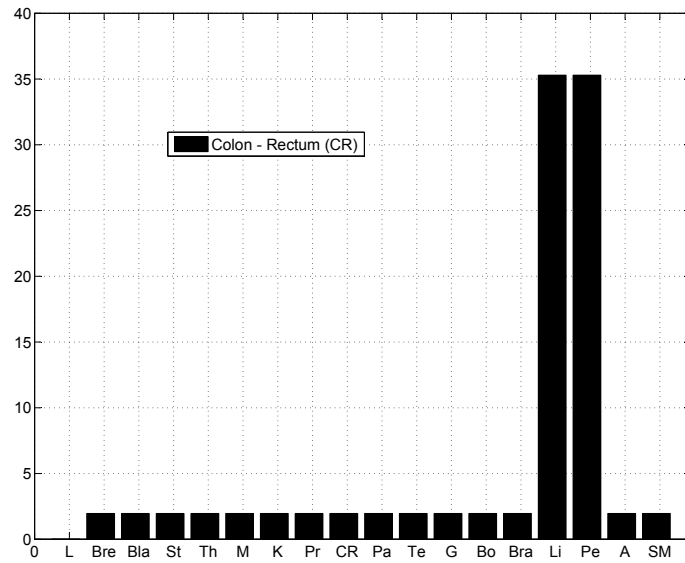
De esta manera, $P^{(2)}$ permite encontrar las probabilidades de que se alcance la metástasis en un determinado sitio terciario desde un sitio primario. Por razones de claridad, se muestran dos ejemplos en las Fig. 4.4a y 4.4b.

Un análisis global de la matriz $P^{(2)}$ muestra que si el sitio primario es el pulmón (L), los estados absorbentes son los sitios terciarios más probables como se observa en la Sección 4.3 (Bo , Bra , Li , Pe , A y SM). De esta manera, se evidencia el papel del pulmón como el vínculo principal entre los órganos [146]. Para otros órganos (sin tener en cuenta los estados de absorción) si el tumor se desarrolla, existe cierta probabilidad de generar metástasis en un sitio terciario.

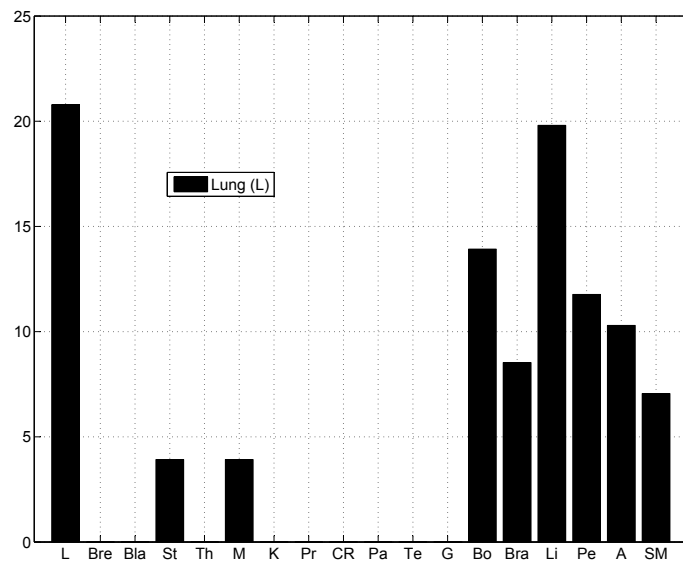
En resumen, según las estadísticas recientes[17], los tumores principales en la población son los tumores de pulmón (L) y colon/recto (CR). En la matriz de $P^{(2)}$ se pueden observar las probabilidades de desarrollar un tumor de sitio terciario a partir de esos dos. Si el tumor de colon/recto es un sitio primario, los sitios terciarios principales son el hígado (Li) y el peritoneo (Pe). Y si hay un tumor de pulmón, los principales sitios terciarios son los 6 estados absorbentes mencionados anteriormente. Esto se puede visualizar en la Fig. 4.5.

4.5. Análisis del número esperado de pasos y probabilidad de absorción por estados absorbentes

Cuando estamos en presencia de estados absorbentes y hay probabilidades de llegar a uno de ellos en una primera o segunda metástasis, se puede estimar la probabilidad de alcanzar estos estados a partir de un órgano definido. Como hemos mencionado previamente, cada metástasis la consideramos como un paso, es decir, la primera metástasis es un paso, la segunda metástasis son dos pasos y una eventual tercer metástasis son tres pasos. Así, se puede calcular la cantidad de pasos antes de alcanzar un estado absorbente y las probabilidades de que esto ocurra



(a)



(b)

Figura 4.4: Probabilidad (en porcentaje) para tumores malignos en sitios terciarios desde (a) colon/recto (CR) and (b) pulmón (L).

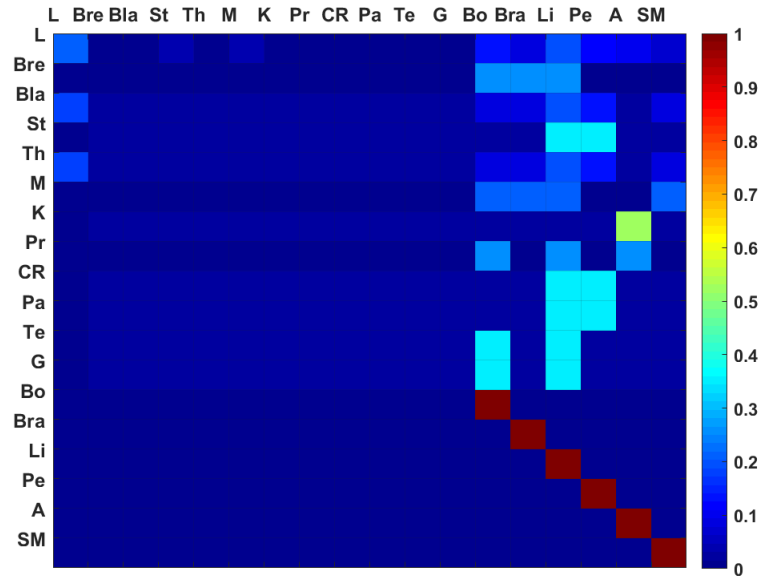


Figura 4.5: Visualización de la matriz de transición $P^{(2)}$ para sitios terciarios.

para cada uno de los órganos.

Para formalizar la cantidad de pasos y las probabilidades correspondientes para que esto suceda, la matriz de transición se representará en su forma canónica [142], que llamaremos J . La matriz J , es la representación de la matriz de transición P donde se caracterizan 4 sub-matrices que la componen dependiendo de las características de cada estado:

$$J = \left[\begin{array}{c|c} N & A \\ \hline O & I \end{array} \right] \quad (4.6)$$

- N contiene las probabilidades que se mueven de un estado no absorbente a otro estado no absorbente.
- A contiene las probabilidades de pasar de un estado no absorbente a otro estado absorbente.

- O es la sub-matriz secundaria de ceros.
- I es la sub-matriz secundaria de identidad.

Discriminando dentro de la matriz J aquellas sub-matrices que reflejan probabilidades referidas a los estados del sistema, podemos decir que en A están los elementos que originan a estados absorbentes y en N los que generan n estados no absorbentes. Por lo tanto, hay $m = a + n$ estados del sistema.

Otro análisis relevante respecto a las rutas de metástasis es calcular, a partir de un estado transitorio, el número esperado de pasos antes de ser absorbidos por un estado de absorción. Si llamamos t_i al número esperado de pasos antes de que la cadena se absorba comenzando en un estado transitorio i , y \bar{t} al vector de columna cuyas componentes sean los t_i , éste último vector (\bar{t}) puede ser estimado mediante la siguiente expresión [142]:

$$\bar{t} = F \cdot \bar{c} \quad (4.7)$$

Donde $F = (I - N)^{-1}$ es llamada matriz fundamental[142] y \bar{c} es un vector cuyas componentes son todos unos^{III}.

En \bar{t} (Ec. 4.7) se muestran los tumores con más de una etapa de metástasis (dado el entero más cercano, una etapa (o paso) es la primera metástasis en un sitio secundario, y dos pasos es la segunda metástasis en un sitio terciario). La vejiga y las tiroides tienen un mayor número de pasos, los pasos máximos para el pulmón y el riñón son en torno a dos, valor en concordancia con la principal tendencia de mortalidad en los hombres debido a estos tipos de tumores [140, 149].

Además, el cálculo de la probabilidad de absorción de cualquier estado no absorbente por cualquier estado absorbente viene dado por la matriz Z [142].

^{III} Para más información acerca de la construcción del vector \bar{t} y de la matriz F ver Anexo 4.7.2.

4.6. Conclusiones del capítulo

Con el fin de buscar nuevas formas de entender el proceso de metástasis, su propagación y sus relaciones entre órganos, se utilizaron las Cadenas de Markov, particularmente Cadenas de Markov Absorbentes (*AMCs*), como una herramienta matemática eficaz para lograr este objetivo. Se desarrolló una caracterización general de las rutas de metástasis bajo perspectivas de probabilidades y estadísticas. Además, se observó que el pulmón es el órgano conector principal entre un sitio primario y un sitio terciario.

El grafo y sus conexiones, para desarrollar las matrices de transición para la aparición de nuevos tumores, han resultado ser una buena aproximación a la realidad. Estas matrices muestran las conexiones y la existencia de estados absorbentes en órganos con probabilidades más bajas (casi nulas respecto a otras) para generar metástasis ([147, 148]) en sitios secundarios y/o terciarios. Los estados absorbentes representan órganos que no son la fuente de metástasis, definidos en la literatura, en términos de Newton et al.[134], como órganos “esponjas”.

Mediante el análisis del número de pasos esperado y la probabilidad de absorción por los estados de absorción, es posible predecir los sitios terciarios a partir de otros sitios[150]. Además, se puede obtener una aproximación cuantificada de las matrices de transición del segundo paso $P^{(2)}$. Dado su carácter predictivo, es un resultado útil para tratamientos y terapias. Por otro lado, a medida que haya exista mayor información respecto a estadísticas de metástasis, o por células tumorales predominantes que prevalezcan en cada órgano, el análisis será más preciso y amplio.

Por otra parte, mediante las propiedades de las Cadenas de Markov Absorbentes, se encontró que en no más de dos pasos (segunda metástasis desde el sitio primario al sitio terciario) se alcanza cualquier estado absorbente (*Bo*, *Bra*, *Li*, *Pe*, *A* y *SM*), resultado corroborado en la literatura [151, 152, 153, 154, 155]. Esto también se puede ver como un resultado desde el punto de vista de nuestro modelo, el punto principal es el hecho de que en 3 pasos (P^3) alcanzamos un estado

de absorción con una alta probabilidad (ver Apéndice 4.7.5), donde la suma de probabilidades de cada fila, en las columnas de órganos absorbentes, es aproximadamente 1.

$$\sum_{abs=1}^6 P_{abs}$$

<i>L</i>	0.845
<i>Bre</i>	0.928
<i>Bla</i>	0.790
<i>St</i>	0.905
<i>Th</i>	0.790
<i>M</i>	0.943
<i>K</i>	0.857
<i>Pr</i>	0.928
<i>CR</i>	0.905
<i>Pa</i>	0.905
<i>Te</i>	0.905
<i>G</i>	0.905

Donde $abs = Bo, Bra, Li, Pe, A$ y SM (estados absorbentes).

Como comentario final mencionemos gustaría recordar que el análisis realizado en este capítulo es bastante similar para las mujeres. Para ello se debe tener en cuenta los órganos específicos del género (como ovarios, vagina y útero), y cánceres particulares que puedan predominar a diferencia de los hombres. Los estados absorbentes serían los mismos.

4.7. Apéndices del capítulo 4

4.7.1. Proceso estocástico, Cadena y Propiedad de Markov

Cuando un proceso no es del tipo determinista (donde no existe el azar en la predictibilidad de la evolución de un sistema) se lo define estocástico. Dicho de otra manera, es cuando la sucesión de estados futuros del sistema tienen relación con procesos, elementos aleatorios o secuencias cambiantes^V.

Una Cadena de Markov (*MC*) es un proceso estocástico discreto donde la probabilidad de ocurrencia para un evento tiene dependencia solamente del evento anterior. A esta particularidad de “falta de memoria” se la denomina “Propiedad de Markov”.

Formalmente, una MC^{VI} es una secuencia de variables aleatorias X_1, X_2, X_3, \dots , en un tiempo n el estado será X_n . Entonces, la probabilidad del evento en el tiempo siguiente X_{n+1} viene dado por una dependencia única de X_n :

$$P(X_{n+1} = x_{n+1} | X_n = x_n, X_{n-1} = x_{n-1}, \dots, X_1 = x_1) = P(X_{n+1} = x_{n+1} | X_n = x_n).$$

Donde i es una instante intermedio entre 1 y n .

4.7.2. Matriz fundamental (F) , Matriz de probabilidades de absorción de estados no absorbentes (matriz Z) y Tiempo de absorción (\bar{t}).

Basándonos en que la matriz de transición P puede ser escrita de forma canónica (Ec. 4.6) como:

$$P = J = \left[\begin{array}{c|c} N & A \\ \hline O & I \end{array} \right]$$

^V Montroll, E. (Ed.). (2012). Fluctuation phenomena (Vol. 7). Elsevier.

^{VI} Introducción a las series de tiempo. Métodos paramétricos. *Universidad De Medellin*, 2007.

Procederemos a avanzar k pasos hasta $k \rightarrow \infty$, así obtenemos:

$$P^2 = \begin{bmatrix} N & A \\ 0 & I \end{bmatrix}^2 = \begin{bmatrix} N^2 & A + N.A \\ 0 & I \end{bmatrix} \quad (4.9)$$

$$P^3 = \begin{bmatrix} N^3 & A + N.A + N^2.A \\ 0 & I \end{bmatrix} \quad (4.10)$$

$$P^k = \begin{bmatrix} N^k & (I + N + N^2 + \dots + N^{k-1}) A \\ 0 & I \end{bmatrix} \quad (4.11)$$

Si tenemos en cuenta que N es la sub-matriz que contiene las probabilidades de que un estado no absorbente alcance otro de igual clasificación, significa que cualquier p_{ij} de N será $0 \leq p_{ij} < 1$. A su vez, siempre la suma de cada fila será $\sum_{j=1}^n p_{ij} < 1$ ya que es una sub-matriz de la matriz de transición P cuya sumatoria por fila es 1 por definición. Por esta razón, para k pasos, se cumple siempre que $p_{ij}^k < p_{ij}$. Entonces, para la sub-matriz N , $N^k \rightarrow 0$ si $k \rightarrow \infty$.

Además, por lo expresado previamente, la norma de esta sub-matriz será

$$\|N\| = \max_i \sum_{j=1}^{j_{max}} |n_{ij}| < 1$$

Y esto implica que:

$$I + N + N^2 + \dots + N^{k-1} = (I - N)^{-1}$$

dado que es una serie geométrica convergente^{VII} debido a $\|N\| < 1$.

Esta matriz se denomina “*matriz fundamental*” en procesos de Markov y la llamaremos F . Esta matriz se calcula mediante la expresión $F = (I - N)^{-1}$.

^{VII} Gómes, M., & Induráin, E. (1999). Series Geométricas Generalizadas. Revista de educación matemática, 14(1).

Reemplazando F y N^k para el caso donde la cantidad de pasos tiende al infinito ($k \rightarrow \infty$) obtenemos $P^k = P^\infty$ que resulta:

$$P^\infty = \begin{bmatrix} 0 & F.A \\ 0 & I \end{bmatrix} \quad (4.12)$$

De aquí se obtiene la sub-matriz $Z = F.A$ (Ec. 4.8), que contiene las probabilidades de ser “absorbido” en cada uno de estos estados partiendo de aquellos que no lo son^{VIII}.

Por otro lado, a través de F se proporciona el número esperado de pasos antes de que un estado no absorbente caiga en uno absorbente. Si t_i es la cantidad de pasos mencionada desde un estado i , la suma de cada una de las filas de F dará la sumatoria de los tiempos (pasos) después de haber pasado por todos los posibles estados no absorbentes hasta llegar al primer absorbente.

Para realizar esta sumatoria de las i filas de F , es necesario multiplicar F por un vector columna cuyas todas sus componentes sean 1. De esta manera el tiempo de absorción \bar{t} (Ec. 4.7) está determinado por:

$$\bar{t} = F.\bar{c}$$

Donde c es el vector columna con todas sus componentes igual a 1.

^{VIII} Grinstead, C. M., & Snell, J. L. (2012). Introduction to probability. American Mathematical Soc.

Conclusiones generales, reflexiones y trabajo futuro

La realización de este trabajo no tuvo como objetivo la elaboración de una tesis específica de física, matemática, biología, o cualquier etiqueta de rama tradicional de la ciencia que en general adquieren las tesis doctorales. Esto es un desafío planteado debido a la temática elegida, e implicó proveer de carácter multidisciplinario a la presente investigación. Aunque parezca trivial mencionarlo, el problema complejo del cáncer debe ser analizado desde el punto de vista de, valga la redundancia, los sistemas complejos.

Teniendo en cuenta el desafío expresado, los modelos analizados en los distintos capítulos tienen correlación con resultados experimentales previos. Sabemos además, que la modelización biológica a través de la interdisciplinariedad, en algunos casos, adiciona dificultades cuando se trata de tener en cuenta la mayor cantidad de fenómenos representados. Esto genera riesgos de concretar modelos poco robustos y posiblemente con falta de correlación con la realidad. En consecuencia, realizamos y encontramos resultados usando los modelos descriptos con una gran rigurosidad. Esto logró converger a un apropiado equilibrio de la balanza “*realista-modelizable*”, al iniciar y desarrollar una investigación de lo que implica el cáncer en diferentes escalas y métodos de abordaje.

Como hemos mencionado anteriormente, se analizaron y desarrollaron métodos para analizar el cáncer desde varias perspectivas y aproximaciones. A partir de los mismos, se obtuvieron resultados que pueden orientarse a eventuales terapias inmunoterapéuticas para tumores sólidos con parámetros biológicamente plausibles; como así también caracterizaciones respecto a la distribución espacial de células madre cancerosas y diferenciadas, teniendo en cuenta transdiferenciación celular (plasticidad) y su importancia en las posibles metástasis. Respecto a este último fenómeno, se estudiaron y se cuantificaron de manera probabilística las posibles rutas que pueden generarse a partir de un órgano (sitio primario) hacia otros mediante estadísticas.

En general, la obtención de información estadística en medicina difiere de la metodología utilizada en otras ciencias. Esto no sucede adrede, ocasionalmente los enfoques y finalidades de la información son usados de distintas maneras y con distintos criterios. Para dar ejemplo de esto, en varias publicaciones de medicina las estadísticas hacen referencia a poblaciones de muy pocos pacientes que a nosotros no nos es suficiente para generalizar y repercute en el momento de cuantificar información. De esta manera, nuestros análisis y perspectivas obligaron a encauzar la investigación desde un conjunto de distintas escalas y con una búsqueda rigurosa de datos. Esto último, es debido a que en muchos casos la misma fue dispar y hasta contradictoria, generando importantes discusiones respecto a como interpretarlos y utilizarlos de manera congruente y correlacionada con la observación *in vivo* (*in vitro* según la escala) y/o datos clínicos según corresponda.

Como hemos visto en las conclusiones de cada uno de los capítulos, las mismas pueden generar nuevos puntos de partida para nuevas preguntas e hipótesis, siendo éstas las bases que den sustento a futuras investigaciones y posteriores estudios del tema. Una de las posibles futuras direcciones de investigación, respecto a solamente los tópicos de esta tesis, es realizar un modelo integrador que contemple lo analizado hasta aquí (y otras investigaciones que puedan contribuir) con el objetivo de poder generar un software[156] accesible que tenga en cuenta situaciones particulares (historia clínica del paciente, alimentación, hábitos de tabaco o alcohol, exceso de peso, recidiva y demás factores). Este desarrollo sería teniendo

en cuenta una optimización automática de parámetros (que puede ser mediante el uso de redes neuronales artificiales) para determinar rangos de variables inmunoterapéuticas, de evolución espacial y ubicación de células madre cancerosas, como así también la consideración de distintas probabilidades de generarse metástasis en un órgano determinado dependiendo del sitio primario.

A su vez, como posibles trabajos futuros derivados (o motivados) a partir de los resultados obtenidos, es de interés analizar las interacciones entre distintas poblaciones celulares teniendo en cuenta la diferenciación celular del sistema inmunitario y la correspondiente en las células cancerosas[157]; estudiar la relación y crecimiento espacial de las mismas con posibles condiciones de contorno debidas a restricciones físicas y/o químicas[158]; analizar los vínculos entre las células madre cancerosas en base a sus marcadores y las posibles predicciones probabilísticas en las incidencias de potenciales metástasis en distintos órganos[159]; caracterizar y crear modelos predictivos respecto al metabolismo de las células tumorales y sus ciclos o redes más importantes, como por ejemplo los de metionina y folato[160]; crear modelos de sistemas cancerosos no sólidos; determinar la relación por distintos grupos etarios y la relaciones genéticas para cáncer hereditario[161]; entre otras posibles opciones.

Bibliografía

- [1] J. (Ed.). (1999). *Biological complexity and the dynamics of life processes* (Vol. 34). Elsevier.
- [2] Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., & Walter, P. (2007). *Molecular biology of the cell: Reference edition*.
- [3] Muggianu, F., Benso, A., Bardini, R., Hu, E., Politano, G., & Di Carlo, S. (2018, December). Modeling biological complexity using Biology System Description Language (BiSDL). In *2018 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM)* (pp. 713-717). IEEE.
- [4] Kitano, H. (2004). Biological robustness. *Nature Reviews Genetics*, 5(11), 826.
- [5] Ellinger, I., & Ellinger, A. (2014). Smallest unit of life: cell biology. In *Comparative Medicine* (pp. 19-33). Springer, Vienna.
- [6] Moore, K. L. (1992). The upper extremity. Moore KL. *Clinically Oriented Anatomy*. 3rd ed. Baltimore, Md: Williams & Wilkins, 553-606.
- [7] M. Á. Sánchez González, *Historia de la medicina y humanidades médicas*, 2nd Edition, Elsevier, 2012.
- [8] Cotran, R. S., Kumar, V., & Collins, T. (1999). *Robbins pathology basis of disease* 6th ed. Philadelphia, Pennsylvania, P1425.
- [9] León Regal, M. L., Borges, A. A., de Armas García, J. O., Miranda Alvarado, L., Cedeño, J. A. V., & del Sol, J. Á. C. (2015). Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. *Revista de Enfermedades no Transmisibles Finlay*, 5(1), 47-62.

- [10] Willis, R. A. (1952). The spread of tumours in the human body.
- [11] Albrecht, T. A. (2014, May). Physiologic and psychological symptoms experienced by adults with acute leukemia: an integrative literature review. In *Oncology nursing forum* (Vol. 41, No. 3, p. 286). NIH Public Access.
- [12] World Health Organization, https://www.who.int/gho/mortality_burden_disease/causes_death
- [13] Bignold, L. P. (2015). *Principles of tumors*. Academic Press.
- [14] A. Navarrete-Reyes et al. Cancer and Aging: A Complex Biological Association, *Rev Inves Clin.*, 2016, 68:17-24.
- [15] J. Ferlay et al. GLOBOCAN 2012, Cancer Incidence and Mortality Worldwide, *IARC Data Base*, 2013, 11.
- [16] Beheshti, A., Benzekry, S., McDonald, J. T., Ma, L., Peluso, M., Hahnfeldt, P., & Hlatky, L. (2015). Host age is a systemic regulator of gene expression impacting cancer progression. *Cancer research*, 75(6), 1134-1143.
- [17] Instituto Nacional del Cáncer, <https://www.argentina.gob.ar/salud/inc>.
- [18] Blackadar, C. B. (2016). Historical review of the causes of cancer. *World journal of clinical oncology*, 7(1), 54.
- [19] Helicobacter and Cancer Collaborative Group. (2001). Gastric cancer and Helicobacter pylori: a combined analysis of 12 case control studies nested within prospective cohorts. *Gut*, 49(3), 347-353.
- [20] Murphy, K., & Weaver, C. (2016). *Janeway's immunobiology*. Garland Science.
- [21] Greaves, M., & Maley, C. C. (2012). Clonal evolution in cancer. *Nature*, 481(7381), 306-313.
- [22] Laboratorio de Inmunología Integrativa. Estudio del cáncer como sistema complejo adaptativo (2020). Archivo PDF. Universidad Nacional Autónoma de México. Dra. Lourdes Barrera. Obtenido de http://www.medicinaycomplejidad.org/Coloquio/coloquioV_MyC-Barrera.pdf.
- [23] Pellegrini, C., Cerrai, P., Freguglia, P., Benci, V., & Israel, G. (Eds.). (2013). *Determinism, Holism, and Complexity*. Springer Science & Business Media.

- [24] Abarca-García, C. A. (2016). Complejidad y sistemas complejos: Un acercamiento multidimensional. CopIt ArXives.
- [25] Cancer Quest. (2020). El Sistema Inmunológico. Marzo 2020, de Emory Winship Cancer Institute. Sitio web: <https://www.cancerquest.org/es/biologia-del-cancer/el-sistema-inmune>.
- [26] Regueiro Gonzalez, J. R., & López-Vázquez, A. (2010). Inmunología: biología y patología del sistema inmunitario (No. 616.079 616.079 I5 2010 INMR7 2010).
- [27] Parham, P. (2014). The immune system. Garland Science.
- [28] Goldman, L., & Ausiello, D. A. (Eds.). (2008). Cecil medicine (pp. 1212-1216). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- [29] Ribas, A. (2015). Adaptive immune resistance: how cancer protects from immune attack. *Cancer discovery*, 5(9), 915-919.
- [30] Pandya, P. H., Murray, M. E., Pollok, K. E., & Renbarger, J. L. (2016). The immune system in cancer pathogenesis: potential therapeutic approaches. *Journal of immunology research*, 2016.
- [31] Rayner, A. A., Grimm, E. A., Lotze, M. T., Chu, E. W., & Rosenberg, S. A. (1985). Lymphokineactivated killer (LAK) cells. Analysis of factors relevant to the immunotherapy of human cancer. *Cancer*, 55(6), 1327-1333.
- [32] Kazemi, T., Younesi, V., Jadidi-Niaragh, F., & Yousefi, M. (2016). Immunotherapeutic approaches for cancer therapy: an updated review. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 44(3), 769-779.
- [33] Costa, F. F., Le Blanc, K., & Brodin, B. (2007). Concise review: cancer/testis antigens, stem cells, and cancer. *Stem Cells*, 25(3), 707-711.
- [34] Adusumilli, P. S., Cha, E., Cornfeld, M., Davis, T., Diab, A., Dubensky, T. W., ... & Olwill, S. A. (2017). New Cancer Immunotherapy Agents in Development: a report from an associated program of the 31 st Annual Meeting of the Society for Immunotherapy of Cancer, 2016. *Journal for immunotherapy of cancer*, 5(1), 50.
- [35] Chen, D. S., & Mellman, I. (2013). Oncology meets immunology: the cancer-immunity cycle. *Immunity*, 39(1), 1-10.

- [36] Andrés-Rodríguez, L., Borràs, X., Feliu-Soler, A., Pérez-Aranda, A., Rozadilla-Sacanell, A., Arranz, B., ... & Luciano, J. V. (2019). Machine Learning to Understand the Immune-Inflammatory Pathways in Fibromyalgia. *International journal of molecular sciences*, 20(17), 4231.
- [37] Lu, P., Abedi, V., Mei, Y., Hontecillas, R., Philipson, C., Hoops, S., ... & Bassaganya-Riera, J. (2015). Supervised Learning with the Artificial Neural Networks Algorithm for Modeling Immune Cell Differentiation.
- [38] Kuznetsov, V. A., Makalkin, I. A., Taylor, M. A., & Perelson, A. S. (1994). Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis. *Bulletin of mathematical biology*, 56(2), 295-321.
- [39] Lotka, A. J. (1998). *Analytical theory of biological populations*. Springer Science & Business Media.
- [40] d'Onofrio, A. (2006). Tumor-immune system interaction: modeling the tumor-stimulated proliferation of effectors and immunotherapy. *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, 16(08), 1375-1401.
- [41] Kirschner, D., & Panetta, J. C. (1998). Modeling immunotherapy of the tumor-immune interaction. *Journal of mathematical biology*, 37(3), 235-252.
- [42] Arciero, J. C., Jackson, T. L., & Kirschner, D. E. (2004). A mathematical model of tumor-immune evasion and siRNA treatment. *Discrete and Continuous Dynamical Systems Series B*, 4(1), 39-58.
- [43] Tsygvintsev, A., Marino, S., & Kirschner, D. E. (2013). A mathematical model of gene therapy for the treatment of cancer. In *Mathematical Methods and Models in Biomedicine* (pp. 367-385). Springer, New York, NY.
- [44] Berraondo, P., Sanmamed, M. F., Ochoa, M. C., Etxeberria, I., Aznar, M. A., Pérez-Gracia, J. L., ... & Melero, I. (2019). Cytokines in clinical cancer immunotherapy. *British journal of cancer*, 120(1), 6-15.
- [45] Forster, J. C., Harriss-Phillips, W. M., Douglass, M. J., & Bezak, E. (2017). A review of the development of tumor vasculature and its effects on the tumor microenvironment. *Hypoxia*, 5, 21.
- [46] Gerlee, P. (2013). The model muddle: in search of tumor growth laws. *Cancer research*, 73(8), 2407-2411.

- [47] Stelling, J., Sauer, U., Szallasi, Z., Doyle III, F. J., & Doyle, J. (2004). Robustness of cellular functions. *Cell*, 118(6), 675-685.
- [48] EiSSing, T., Allgöwer, F., & Bullinger, E. (2005). Robustness properties of apoptosis models with respect to parameter variations and intrinsic noise. *IEE Proceedings-Systems Biology*, 152(4), 221-228.
- [49] Hosokawa, M., Kenmotsu, H., Koh, Y., Yoshino, T., Yoshikawa, T., Naito, T., ... & Shukuya, T. (2013). Size-based isolation of circulating tumor cells in lung cancer patients using a microcavity array system. *PloS one*, 8(6), e67466.
- [50] Hou, H. W., Warkiani, M. E., Khoo, B. L., Li, Z. R., Soo, R. A., Tan, D. S. W., ... & Lim, C. T. (2013). Isolation and retrieval of circulating tumor cells using centrifugal forces. *Scientific reports*, 3, 1259.
- [51] Li, Y., Liu, S., Margolin, K., & Hwu, P. (2009). Summary of the primer on tumor immunology and the biological therapy of cancer.
- [52] Palucka, K., & Banchereau, J. (2013). Dendritic-cell-based therapeutic cancer vaccines. *Immunity*, 39(1), 38-48.
- [53] Caravagna, G., dOnofrio, A., Milazzo, P., & Barbuti, R. (2010). Tumour suppression by immune system through stochastic oscillations. *Journal of theoretical biology*, 265(3), 336-345.
- [54] Banerjee, S. (2008). Immunotherapy with interleukin-2: a study based on mathematical modeling. *International Journal of Applied Mathematics and Computer Science*, 18(3), 389-398.
- [55] Donahue, R. N., Duncan, B. B., Fry, T. J., Jones, B., Bachovchin, W. W., Kiritsy, C. P., ... & Tsang, K. Y. (2014). A pan inhibitor of DASH family enzymes induces immunogenic modulation and sensitizes murine and human carcinoma cells to antigen-specific cytotoxic T lymphocyte killing: implications for combination therapy with cancer vaccines. *Vaccine*, 32(26), 3223-3231.
- [56] Schuler, P. J., Harasymczuk, M., Visus, C., DeLeo, A., Trivedi, S., Lei, Y., ... & Ferris, R. L. (2014). Phase I dendritic cell p53 peptide vaccine for head and neck cancer. *Clinical Cancer Research*, 20(9), 2433-2444.

- [57] Fennell, M. L., Prabhu Das, I., Clauser, S., Petrelli, N., & Salner, A. (2010). The organization of multidisciplinary care teams: modeling internal and external influences on cancer care quality. *Journal of the National Cancer Institute Monographs*, 2010(40), 72-80.
- [58] Zhang, M., & Gao, L. (2018). Input-to-state stability for impulsive switched nonlinear systems with unstable subsystems. *Transactions of the Institute of Measurement and Control*, 40(7), 2167-2177.
- [59] Tsujimoto, H., Ichikura, T., Aiko, S., Yaguchi, Y., Kumano, I., Takahata, R., ... & Hase, K. (2012). Multidetector-computed tomography attenuation values between the tumor and aortic wall in response to induction therapy for esophageal cancer and its predictive value for aortic invasion. *Experimental and therapeutic medicine*, 3(2), 243-248.
- [60] Howlader, N., Noone, A. M., Krapcho, M., Garshell, J., Neyman, N., Altekruse, S. F., ... & Cho, H. (2013). SEER cancer statistics review, 1975-2010. Bethesda, MD: National Cancer Institute, 12.
- [61] Nombela, C., & Cano, C. N. (2007). *Células madre: Encrucijadas biológicas para la Medicina: del tronco embrionario a la regeneración adulta*. Edaf.
- [62] Tuch, B. E. (2006). Stem cells: A clinical update. *Australian family physician*, 35(9), 719.
- [63] Jaenisch, R., Dubois, N., Rasko, J. E., Deng, H., Alvarado, A. S., Fuchs, E., ... & Baldwin, K. (2018). Challenging stem cells. *Cell*, 173, 1063-1065.
- [64] Trounson, A., & DeWitt, N. D. (2016). Pluripotent stem cells progressing to the clinic. *Nature reviews Molecular cell biology*, 17(3), 194.
- [65] Mirzaei, H., Sahebkar, A., Sichani, L. S., Moridikia, A., Nazari, S., Sadri Nahand, J., ... & Jaafari, M. R. (2018). Therapeutic application of multipotent stem cells. *Journal of cellular physiology*, 233(4), 2815-2823.
- [66] Lee, E., Piranlioglu, R., Wicha, M. S., & Korkaya, H. (2019). Plasticity and potency of mammary stem cell subsets during mammary gland development. *International journal of molecular sciences*, 20(9), 2357.
- [67] Mitalipov, S., & Wolf, D. (2009). Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming. In *Engineering of stem cells* (pp. 185-199). Springer, Berlin, Heidelberg.

- [68] Schöler, H. R. (2016). The potential of stem cells: An inventory. In *Humanbiotechnology as social challenge* (pp. 45-72). Routledge.
- [69] Kuolu, A., & Avc, Ç. B. (2019). Cancer stem cells: A brief review of the current status. *Gene*, 681, 80-85.
- [70] Dalerba, P., Diehn, M., Weissman, I. L., & Clarke, M. F. (2020). Stem Cells, Cell Differentiation, and Cancer. In *Abeloff's Clinical Oncology* (pp. 97-107).
- [71] Angosto, M. C. (2009). Células madre y cáncer. In *Anales de la Real Academia de Doctores* (Vol. 13, No. 1, pp. 61-82). Real Academia de Doctores.
- [72] Papaccio, F., Paino, F., Regad, T., Papaccio, G., Desiderio, V., & Tirino, V. (2017). Concise review: cancer cells, cancer stem cells, and mesenchymal stem cells: influence in cancer development. *Stem cells translational medicine*, 6(12), 2115-2125.
- [73] Batlle, E., & Clevers, H. (2017). Cancer stem cells revisited. *Nature medicine*, 23(10), 1124.
- [74] Papaccio, F., Paino, F., Regad, T., Papaccio, G., Desiderio, V., & Tirino, V. (2017). Concise review: cancer cells, cancer stem cells, and mesenchymal stem cells: influence in cancer development. *Stem cells translational medicine*, 6(12), 2115-2125.
- [75] Zarrintaj, P., Mostafapoor, F., Milan, P. B., & Saeb, M. R. (2019). Theranostic platforms proposed for cancerous stem cells: a review. *Current stem cell research & therapy*, 14(2), 137-145.
- [76] Plaks, V., Kong, N., & Werb, Z. (2015). The cancer stem cell niche: how essential is the niche in regulating stemness of tumor cells?. *Cell stem cell*, 16(3), 225-238.
- [77] Fukatsu, A., Tsuzuki, T., Sassa, N., Nishikimi, T., Kimura, T., Majima, T., ... & Gotoh, M. (2013). Growth pattern, an important pathologic prognostic parameter for clear cell renal cell carcinoma. *American journal of clinical pathology*, 140(4), 500-505.
- [78] Seymour, T., Nowak, A., & Kakulas, F. (2015). Targeting aggressive cancer stem cells in glioblastoma. *Frontiers in oncology*, 5, 159.
- [79] Sampieri, K., & Fodde, R. (2012, June). Cancer stem cells and metastasis. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 22, No. 3, pp. 187-193). Academic Press.

- [80] Li, Y., & Huang, J. (2017). Cancer Stem Cells. Precision Molecular Pathology of Prostate Cancer, 99113.
- [81] Fulawka, L., Donizy, P., & Halon, A. (2014). Cancer stem cellsthe current status of an old concept: literature review and clinical approaches. Biological research, 47(1), 66.
- [82] Magee, J. A., Piskounova, E., & Morrison, S. J. (2012). Cancer stem cells: impact, heterogeneity, and uncertainty. Cancer cell, 21(3), 283-296.
- [83] Matesanz, R. (2010). Medicina regenerativa y células madre (Vol. 2). Editorial CSIC-CSIC Press.
- [84] Tang, D. G. (2012). Understanding cancer stem cell heterogeneity and plasticity. Cell research, 22(3), 457.
- [85] Kumar, A., Velloso, C. P., Imokawa, Y., & Brookes, J. P. (2004). The regenerative plasticity of isolated urodele myofibers and its dependence on MSX1. PLoS biology, 2(8), e218.
- [86] da Silva-Diz, V., Lorenzo-Sanz, L., Bernat-Peguera, A., Lopez-Cerda, M., & Muñoz, P. (2018, December). Cancer cell plasticity: Impact on tumor progression and therapy response. In Seminars in cancer biology (Vol. 53, pp. 48-58). Academic Press.
- [87] Jang, H., Yang, J., Lee, E., & Cheong, J. H. (2015). Metabolism in embryonic and cancer stemness. Archives of pharmacal research, 38(3), 381-388.
- [88] Rich, J. N. (2016). Cancer stem cells: understanding tumor hierarchy and heterogeneity. Medicine, 95(Suppl 1).
- [89] Deng, L., Li, D., Gu, W., Liu, A., & Cheng, X. (2015). Formation of spherical cancer stem-like cell colonies with resistance to chemotherapy drugs in the human malignant fibrous histiocytoma NMFH-1 cell line. Oncology letters, 10(5), 3323-3331.
- [90] Clevers, H. (2011). The cancer stem cell: premises, promises and challenges. Nature medicine, 17(3), 313.
- [91] Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F., & Weissman, I. L. (2001). Stem cells, cancer, and cancer stem cells. nature, 414(6859), 105.
- [92] Meacham, C. E., & Morrison, S. J. (2013). Tumour heterogeneity and cancer cell plasticity. Nature, 501(7467), 328-337.

- [93] Reya, T., Morrison, S. J., Clarke, M. F., & Weissman, I. L. (2001). Stem cells, cancer, and cancer stem cells. *nature*, 414(6859), 105.
- [94] Hama, A., Codogno, P., & Mehrpour, M. (2014). Cancer stem cells and autophagy: facts and perspectives. *J. Cancer Stem Cell Res*, 2, e1005.
- [95] Zeigler, B. P. (1982). Discrete event models for cell space simulation. *International Journal of Theoretical Physics*, 21(6-7), 573-588.
- [96] Sipper, M. (1997). *Evolution of parallel cellular machines (Vol. 4)*. Heidelberg: Springer.
- [97] Situngkir, H. (2004). Epidemiology through cellular automata: case of study avian influenza in Indonesia. *arXiv preprint nlin/0403035*.
- [98] Nowak, A., & Lewenstein, M. (1996). Modeling social change with cellular automata. In *Modelling and simulation in the social sciences from the philosophy of science point of view* (pp. 249-285). Springer, Dordrecht.
- [99] Figols, R. S. S. (2014). Tráfico de vehículos con autómatas celulares. *Lat. Am. J. Phys. Educ.* Vol, 8(1), 104.
- [100] Bao, B., Ahmad, A., Azmi, A. S., Ali, S., & Sarkar, F. H. (2013). Overview of cancer stem cells (CSCs) and mechanisms of their regulation: implications for cancer therapy. *Current protocols in pharmacology*, 61(1), 14-25.
- [101] Najafi, M., Mortezaee, K., & Majidpoor, J. (2019). Cancer stem cell (CSC) resistance drivers. *Life sciences*, 116781.
- [102] Bessonov, N., Pinna, G., Minarsky, A., Harel-Bellan, A., & Morozova, N. (2019). Mathematical modeling reveals the factors involved in the phenomena of cancer stem cells stabilization. *PloS one*, 14(11).
- [103] Singh, A. K., Arya, R. K., Maheshwari, S., Singh, A., Meena, S., Pandey, P., ... & Datta, D. (2015). Tumor heterogeneity and cancer stem cell paradigm: updates in concept, controversies and clinical relevance. *International journal of cancer*, 136(9), 1991-2000.
- [104] GNU Octave, Version 4.7.0, 2016.
- [105] Sarapata, E. A., & de Pillis, L. G. (2014). A comparison and catalog of intrinsic tumor growth models. *Bulletin of mathematical biology*, 76(8), 2010-2024.

- [106] Bayyurt, B., Tincer, G., Almacioglu, K., Alpdundar, E., Gursel, M., & Gursel, I. (2017). Encapsulation of two different TLR ligands into liposomes confer protective immunity and prevent tumor development. *Journal of Controlled Release*, 247, 134-144.
- [107] Mitra, A., Mishra, L., & Li, S. (2015). EMT, CTCs and CSCs in tumor relapse and drug-resistance. *Oncotarget*, 6(13), 10697.
- [108] Lee, N., Barthel, S. R., & Schatton, T. (2014). Melanoma stem cells and metastasis: mimicking hematopoietic cell trafficking?. *Laboratory investigation*, 94(1), 13.
- [109] Taylor, D. P., Wells, J. Z., Savol, A., Chennubhotla, C., & Wells, A. (2013). Modeling boundary conditions for balanced proliferation in metastatic latency. *Clinical Cancer Research*, 19(5), 1063-1070.
- [110] Wells, A., Griffith, L., Wells, J. Z., & Taylor, D. P. (2013). The dormancy dilemma: quiescence versus balanced proliferation. *Cancer research*, 73(13), 3811-3816.
- [111] Udagawa, H., Ishii, G., Morise, M., Umemura, S., Matsumoto, S., Yoh, K., ... & Ochiai, A. (2015). Comparison of the expression levels of molecular markers among the peripheral area and central area of primary tumor and metastatic lymph node tumor in patients with squamous cell carcinoma of the lung. *Journal of cancer research and clinical oncology*, 141(8), 1417-1425.
- [112] Stoletov, K., Kato, H., Zardouzian, E., Kelber, J., Yang, J., Shattil, S., & Klemke, R. (2010). Visualizing extravasation dynamics of metastatic tumor cells. *J Cell Sci*, 123(13), 2332-2341.
- [113] Prasetyanti, P. R., & Medema, J. P. (2017). Intra-tumor heterogeneity from a cancer stem cell perspective. *Molecular cancer*, 16(1), 41.
- [114] Aponte, P. M., & Caicedo, A. (2017). Stemness in cancer: stem cells, cancer stem cells, and their microenvironment. *Stem cells international*, 2017.
- [115] Shiozawa, Y., Nie, B., Pienta, K. J., Morgan, T. M., & Taichman, R. S. (2013). Cancer stem cells and their role in metastasis. *Pharmacology & therapeutics*, 138(2), 285-293.
- [116] Chang, J. C. (2016). Cancer stem cells: Role in tumor growth, recurrence, metastasis, and treatment resistance. *Medicine*, 95(Suppl 1).

- [117] Lee, S. Y., Jeong, E. K., Ju, M. K., Jeon, H. M., Kim, M. Y., Kim, C. H., ... & Kang, H. S. (2017). Induction of metastasis, cancer stem cell phenotype, and oncogenic metabolism in cancer cells by ionizing radiation. *Molecular cancer*, 16(1), 10.
- [118] Huang, S. D., Yuan, Y., Tang, H., Liu, X. H., Fu, C. G., Cheng, H. Z., ... & Chen, J. (2013). Tumor cells positive and negative for the common cancer stem cell markers are capable of initiating tumor growth and generating both progenies. *PLoS One*, 8(1), e54579.
- [119] Enderling, H., Hlatky, L., & Hahnfeldt, P. (2013). Cancer stem cells: a minor cancer subpopulation that redefines global cancer features. *Frontiers in oncology*, 3, 76.
- [120] <https://www.cancer.org/cancer.html>
- [121] Yang, T., & Rycaj, K. (2015). Targeted therapy against cancer stem cells. *Oncology letters*, 10(1), 27-33.
- [122] Dragu, D. L., Necula, L. G., Bleotu, C., Diaconu, C. C., & Chivu-Economescu, M. (2015). Therapies targeting cancer stem cells: Current trends and future challenges. *World journal of stem cells*, 7(9), 1185.
- [123] Brierley, J., Gospodarowicz, M., & OSullivan, B. (2016). The principles of cancer staging. *ecancermedicalscience*, 10.
- [124] Taylor, D. P., Wells, J. Z., Savol, A., Chennubhotla, C., & Wells, A. (2013). Modeling boundary conditions for balanced proliferation in metastatic latency. *Clinical Cancer Research*, 19(5), 1063-1070.
- [125] Wells, A., Griffith, L., Wells, J. Z., & Taylor, D. P. (2013). The dormancy dilemma: quiescence versus balanced proliferation. *Cancer research*, 73(13), 3811-3816.
- [126] Leong, S. P. (2014). From local invasion to metastatic cancer. *Humana*.
- [127] Lyden, D., Welch, D. R., & Psaila, B. (Eds.). (2011). *Cancer metastasis: biologic basis and therapeutics*. Cambridge University Press.
- [128] Wells, A. (Ed.). (2006). *Cell motility in cancer invasion and metastasis* (Vol. 8). Springer Science & Business Media.
- [129] Lapis, K., Liotta, L. A., & Rabson, A. S. (Eds.). (2012). *Biochemistry and Molecular Genetics of Cancer Metastasis: Proceedings of the Symposium on Biochemistry and*

- Molecular Genetics of Cancer Metastasis Bethesda, Maryland March 1820, 1985 (Vol. 41). Springer Science & Business Media.
- [130] Glaus, P., Honkela, A., & Rattray, M. (2012). Identifying differentially expressed transcripts from RNA-seq data with biological variation. *Bioinformatics*, 28(13), 1721-1728.
- [131] Hadfield, J. D., & Nakagawa, S. (2010). General quantitative genetic methods for comparative biology: phylogenies, taxonomies and multitrait models for continuous and categorical characters. *Journal of evolutionary biology*, 23(3), 494-508.
- [132] Tierney, L. (1996). Introduction to general state-space Markov chain theory. *Markov chain Monte Carlo in practice*, 59-74.
- [133] Estadísticas e incidencias, Instituto Nacional del Cáncer, Argentina.
www.argentina.gob.ar/salud/instituto-nacional-del-cancer/estadisticas/incidencia.
Acceso a la información de la web en diciembre 2014.
- [134] Newton, P. K., Mason, J., Bethel, K., Bazhenova, L., Nieva, J., Norton, L., & Kuhn, P. (2013). Spreaders and sponges define metastasis in lung cancer: a Markov chain Monte Carlo mathematical model. *Cancer research*, 73(9), 2760-2769.
- [135] Newton, P. K., Mason, J., Bethel, K., Bazhenova, L. A., Nieva, J., & Kuhn, P. (2012). A stochastic Markov chain model to describe lung cancer growth and metastasis. *PloS one*, 7(4), e34637.
- [136] Aguirre-Ghiso, J. A. (2010). On the theory of tumor self-seeding: implications for metastasis progression in humans. *Breast Cancer Research*, 12(2), 304.
- [137] <https://www.cancer.gov/types/metastatic-cancer>
- [138] <http://www.visone.info>
- [139] Clebak, K. (2020). Dermatoscopy and Skin Cancer: A Handbook for Hunters of Skin Cancer and Melanoma. *Family Medicine*, 52(2), 148-149.
- [140] Loria, D., Lence Anta, J. J., Guerra Yí, M. E., Galán Álvarez, Y., Barrios Herrera, E., Alonso Barbeito, R., ... & Fernández Garrote, L. M. (2010). Tendencia de la mortalidad por cáncer en Argentina, Cuba y Uruguay en un período de 15 años. *Revista Cubana de Salud Pública*, 36, 115-125.

- [141] Navarro, C., Molina, J. A., Barrios, E., Izarzugaza, I., Loria, D., Cueva, P., ... & Fernández, L. (2013). Evaluación externa de registros de cáncer de base poblacional: la Guía REDEPICAN para América Latina. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 34, 336-342.
- [142] Modica, G., & Poggiolini, L. (2013). *A first course in probability and Markov Chains*. Wiley.
- [143] Talmadge, J. E., & Fidler, I. J. (2010). AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer research*, 70(14), 5649-5669.
- [144] Stanley, G. A., Balani, J. P., Miller, D. S., Mansour, J. C., & Schwarz, R. E. (2012). Clinical evidence: metastases can metastasize. *World journal of oncology*, 3(3), 138.
- [145] Norton, L., & Massagué, J. (2006). Is cancer a disease of self-seeding?. *Nature medicine*, 12(8), 875.
- [146] Zetter, B. R. (1990). The cellular basis of site-specific tumor metastasis. *New England Journal of Medicine*, 322(9), 605-612.
- [147] Duffy, S. W., Chen, H. H., Tabar, L., & Day, N. E. (1995). Estimation of mean sojourn time in breast cancer screening using a Markov chain model of both entry to and exit from the preclinical detectable phase. *Statistics in medicine*, 14(14), 1531-1543.
- [148] Mazabraud, A. (1998). Metastases (secondary cancers of bone). In *Pathology of bone tumours* (pp. 381-390). Springer, Berlin, Heidelberg.
- [149] Weiss, L., Haydock, K., Pickren, J. W., & Lane, W. W. (1980). Organ vascularity and metastatic frequency. *The American journal of pathology*, 101(1), 101.
- [150] Nakamura, E., Shimizu, M., Itoh, T., & Manabe, T. (2001). Secondary tumors of the pancreas: clinicopathological study of 103 autopsy cases of Japanese patients. *Pathology international*, 51(9), 686-690.
- [151] Vanharanta, S., & Massagué, J. (2013). Origins of metastatic traits. *Cancer cell*, 24(4), 410-421.
- [152] Cummings, M. C., Simpson, P. T., Reid, L. E., Jayanthan, J., Skerman, J., Song, S., ... & O'Rourke, P. (2014). Metastatic progression of breast cancer: insights from 50 years of autopsies. *The Journal of pathology*, 232(1), 23-31.

- [153] McKay, R. R., Kroeger, N., Xie, W., Lee, J. L., Knox, J. J., Bjarnason, G. A., ... & Rha, S. Y. (2014). Impact of bone and liver metastases on patients with renal cell carcinoma treated with targeted therapy. *European urology*, 65(3), 577-584.
- [154] Gzell, C. E., Kench, J. G., Stockler, M. R., & Hruby, G. (2013). Biopsy-proven brain metastases from prostate cancer: a series of four cases with review of the literature. *International urology and nephrology*, 45(3), 735-742.
- [155] Xue, J., Peng, G., Yang, J. S., Ding, Q., & Cheng, J. (2013). Predictive factors of brain metastasis in patients with breast cancer. *Medical Oncology*, 30(1), 337.
- [156] Fehlmann, T. M. (2020). *Autonomous Real-Time Testing: Testing Artificial Intelligence and Other Complex Systems*. Logos Verlag Berlin GmbH.
- [157] Vahidian, F., Duijf, P. H., Safarzadeh, E., Derakhshani, A., Baghbanzadeh, A., & Baradaran, B. (2019). Interactions between cancer stem cells, immune system and some environmental components: friends or foes?. *Immunology letters*, 208, 19-29.
- [158] Liao, J., Jia, Y., Wu, Y., Shi, K., Yang, D., Li, P., & Qian, Z. (2020). Physical, chemical, and biological responsive nanomedicine for cancer therapy. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 12(1), e1581.
- [159] Lathia, J., Liu, H., & Matei, D. (2020). The clinical impact of Cancer stem cells. *The oncologist*, 25(2), 123.
- [160] Pietzke, M., Meiser, J., & Vazquez, A. (2020). Formate metabolism in health and disease. *Molecular metabolism*, 33, 23-37.
- [161] Rozhok, A. I., & DeGregori, J. (2020). The three dimensions of somatic evolution: Integrating the role of genetic damage, lifehistory traits, and aging in carcinogenesis. *Evolutionary Applications*.

Índice alfabético

- Angiogénesis, 79
- Autómata celular, 63
- Cadenas de Markov, 79, 84
 - Estado absorbente, 86
- Cáncer, 26
- Célula, 24
 - Diferenciada cancerosa (*DC*), 60
 - Efectora (*E*), 34
 - Madre (*SC*), 57
 - Madre cancerosa (*CSC*), 59
- Diferenciación celular, 61
- Etapas del cáncer, 77
- Inmunoterapia, 31
- Metástasis, 70, 78
 - Rutas y conexiones, 82
- Neoplasia, 25
 - Benigna, 25
 - Maligna, 25
- Plasticidad, 60
- Sistema
 - Biológico, 23
 - Complejo, 29
 - Inmunitario, 28
- Sitio de alojamiento del tumor, 77
 - Primario, 78
 - Secundario, 79
 - Terciario, 79
- Tumor, 26
 - Benigno, 26
 - Maligno, 26
- Vigilancia inmune, 33