

Proceeding Series of the Brazilian Society of Computational and Applied Mathematics

Modelo Híbrido para o Crescimento Tumoral do Carcinoma Avascular

Heber L. Rocha¹Regina C. Almeida²

Laboratório Nacional de Computação Científica, LNCC/MCTI, Petrópolis/RJ, Brasil

Ernesto A. B. F. Lima³

Institute for Computational Engineering and Sciences, ICES, Austin/UT, EUA

Resumo. O crescimento tumoral é resultado de uma série de complexos fenômenos que ocorrem em múltiplas escalas de tempo e espaço. Na escala sub-celular ocorre uma variedade de cascatas de reações moleculares que regulam as atividades celulares. Na escala da célula, destacam-se os mecanismos de agregação, adesão e sinalização entre células e entre os componentes do microambiente. Fenômenos típicos dos meios contínuos ocorrem na escala do tecido, tais como difusão de nutrientes, fatores de crescimento, etc. Eventos que ocorrem em uma escala interferem com os que ocorrem em outras e vice-versa, de modo que o entendimento destes mecanismos é fundamental para a compreensão da doença e para o desenvolvimento de terapias. Neste trabalho, desenvolvemos um modelo híbrido que representa fenômenos que ocorrem nas escalas tecidual e celular. A escala celular é descrita através de um modelo baseado em agentes (MBA), que possibilita tratar cada célula individualmente e descrever seu comportamento no microambiente. Na escala do tecido representamos a dispersão de nutrientes no meio através de uma equação diferencial parcial de difusão-reação. Sem perda de generalidade, este modelo é usado para descrever o crescimento tumoral do carcinoma avascular e experimentos computacionais são realizados para demonstrar o potencial uso da metodologia desenvolvida.

Palavras-chave. Crescimento tumoral, modelo híbrido, modelo baseado em agentes

1 Introdução

Modelos híbridos têm sido crescentemente usados para descrever interações entre fenômenos que ocorrem em diversas escalas espaço-temporais do crescimento de tumores [2,3]. Neste trabalho desenvolvemos um modelo híbrido para o crescimento tumoral avascular que integra fenômenos que ocorrem em duas escalas, uma escala a nível celular e outra a nível de tecido. Este modelo é baseado na abordagem híbrida desenvolvida em [3]. Na macroescala ou escala tecidual, modelamos o transporte de oxigênio quase-estacionário no tecido através de uma equação difusão-reação. Na escala celular, construímos um modelo

¹heberlr@lncc.br

²rcca@lncc.br

³lima@ices.utexas.edu

baseado em agentes para descrever o comportamento e interações entre células normais e tumorais. As duas escalas são integradas através da taxa consumo de oxigênio no meio. Com a inclusão de células normais, o crescimento do tumor é fortemente influenciado pelas interações mecânicas no microambiente. Para descrever estes efeitos, desenvolvemos um modelo para representar o acúmulo das tensões de compressão no interior do tumor à medida que o tumor cresce, o qual atua inibindo a probabilidade de proliferação das células tumorais. As simulações realizadas demonstram que o modelo desenvolvido consegue representar qualitativamente a dinâmica de tumores em um microambiente genérico e a estagnação do crescimento típica de tumores avasculares.

2 Modelo Híbrido

No MBA, atribuímos propriedades fenotípicas e quantidades físicas a cada célula, assumida circular por simplicidade. A disponibilidade de oxigênio, única fonte de nutrientes, no microambiente juntamente com eventos aleatórios de proliferação e apoptose determinam a dinâmica do crescimento tumoral e balanço das forças que atuam em cada célula determina o seu movimento, conforme a segunda lei de Newton. O MBA e o modelo de difusão de nutrientes são apresentados a seguir.

2.1 Modelo celular: Forças que atuam sobre as células

Para modelar o comportamento das forças, assumimos que o núcleo de cada célula é incompressível, não podendo ocorrer sobreposição de núcleos. A sobreposição de citoplasmas é possível, representando a deformação celular. As forças dependem do espaço, tempo e do microambiente, de forma que a distância de uma célula i a uma célula j no tempo t determina se há força entre elas. Consideramos as seguintes forças: (i) *adesão e repulsão célula-célula* (\mathbf{F}_{cca} e \mathbf{F}_{ccr}); (ii) *adesão célula-matriz extracelular* (\mathbf{F}_{cma}); (iii) *locomotiva* (\mathbf{F}_{loc}), submetidas às células em movimento, determinando suas trajetórias; (iv) *atrito* (\mathbf{F}_{drag}), entre a célula em movimento e o fluido intersticial; (v) *compressão e resistência à compressão do tecido* (\mathbf{F}_{ct} e \mathbf{F}_{rct}), associadas ao estado de tensões causado pelo crescimento do tumor. Pela segunda lei de Newton, o balanço de forças na célula i é dado por:

$$m_i \dot{\mathbf{v}}_i = \sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^{N(t)} \overbrace{(\mathbf{F}_{cca}^{ij} + \mathbf{F}_{ccr}^{ij})}^{\text{célula-célula}} + \overbrace{(\mathbf{F}_{cma}^i + \mathbf{F}_{drag}^i + \mathbf{F}_{ct}^i + \mathbf{F}_{rct}^i)}^{\text{célula-meio}} + \mathbf{F}_{loc}^i, \quad (1)$$

onde $N(t)$ é o número de células no tempo t , e m_i e $\dot{\mathbf{v}}_i$ representam a massa e a aceleração da célula i , respectivamente. Assumindo que as forças entram em equilíbrio rapidamente e desprezando os efeitos da inércia, temos que $\sum \mathbf{F} = 0$. Como em [3], desconsideramos o processo migratório das células ($\mathbf{F}_{loc} = 0$), assumimos $\mathbf{F}_{drag}^i = -\nu \mathbf{v}_i$ e $\mathbf{F}_{cma}^i = -c_{cma} \mathcal{L}_{E,i} E \mathbf{v}_i$, onde ν representa a viscosidade do fluido intersticial, E é a densidade da matriz extracelular, $\mathcal{L}_{E,i}$ representa a distribuição dos ligantes da célula i na

matriz extracelular E , e \mathbf{v}_i é a velocidade da célula i . Assim, da equação (1) obtemos a velocidade da célula i :

$$\mathbf{v}_i = \frac{1}{\nu + c_{cma}\mathcal{I}_{E,i}E} \left(\sum_{\substack{j=1 \\ j \neq i}}^{N(t)} (\mathbf{F}_{cca}^{ij} + \mathbf{F}_{ccr}^{ij}) + \mathbf{F}_{ct}^i + \mathbf{F}_{rct}^i \right). \quad (2)$$

As forças \mathbf{F}_{cca}^{ij} , \mathbf{F}_{ccr}^{ij} , \mathbf{F}_{ct}^i e \mathbf{F}_{rct}^i são definidas a partir das funções potenciais $\varphi(\mathbf{r}; R_A, n)$ e $\psi(\mathbf{r}; R_N, R, M, m)$ tais que:

$$\nabla\varphi = \begin{cases} \left(1 - \frac{|\mathbf{r}|}{R_A}\right)^{n+1} \frac{\mathbf{r}}{|\mathbf{r}|}, & 0 \leq |\mathbf{r}| \leq R_A; \\ \mathbf{0} & \text{caso contrário;} \end{cases} \quad \nabla\psi = \begin{cases} -\left(c \frac{|\mathbf{r}|}{R_N} + M\right) \frac{\mathbf{r}}{|\mathbf{r}|}, & 0 \leq |\mathbf{r}| \leq R_N; \\ -\left(1 - \frac{|\mathbf{r}|}{R}\right)^{m+1} \frac{\mathbf{r}}{|\mathbf{r}|}, & R_N \leq |\mathbf{r}| \leq R; \\ \mathbf{0} & \text{caso contrário,} \end{cases}$$

onde $c = [(1 - R_N/R)^{m+1} - M]$. Note que estas funções potenciais e suas derivadas têm suporte compacto (ver [1, 3]). Definindo c_{cca} e c_{ccr} como os coeficientes de atração e repulsão célula-célula; c_{ct} e c_{rct} , os coeficientes de compressão e resistência à compressão do tecido, respectivamente, determinamos as forças através das seguintes relações:

$$\mathbf{F}_{cca}^{ij} = -c_{cca} \nabla\varphi(\mathbf{x}_j - \mathbf{x}_i; R_A^i + R_A^j, n_{cca}); \quad (3)$$

$$\mathbf{F}_{ccr}^{ij} = -c_{ccr} \nabla\psi(\mathbf{x}_j - \mathbf{x}_i; R_N^i + R_N^j, R^i + R^j, M, n_{ccr}); \quad (4)$$

$$\mathbf{F}_{ct}^i = -c_{ct} K(V, t) \nabla\varphi(d(\mathbf{x}_i)\mathbf{n}(\mathbf{x}_i); R_A^i, n_{ct}); \quad (5)$$

$$\mathbf{F}_{rct}^i = -c_{rct} K(V, t) \nabla\psi(d(\mathbf{x}_i)\mathbf{n}(\mathbf{x}_i); R_N^i, R^i, M, n_{rct}), \quad (6)$$

onde R_A^i é o raio de ação da célula i e $K(V, t)$ é uma função real definida no intervalo $[0,1]$, que representa o volume do tumor no instante t . As relações (3) e (4) foram definidas em [3]. Neste trabalho, desenvolvemos as forças \mathbf{F}_{ct} e \mathbf{F}_{rct} para modelar os efeitos das tensões sólidas impostas pelo meio e as tensões geradas pelo crescimento do tumor, respectivamente [4]. Para estudos iniciais, consideramos a função $K(V, t)$ constante e estabelecemos uma correlação entre o número de células que deixam o domínio e à tensão de compressão que atua no tumor. O número de células que deixam o domínio é então usado para regular a inibição da proliferação, conforme apresentado mais adiante.

2.2 Modelo celular: Estados fenotípicos

Cada célula no modelo pode ser tumoral ou normal, sendo as células normais mantidas em homeostase. As células tumorais são diferenciadas pelos estados fenotípicos (quiescente, proliferativa, apoptótica, hipóxica e necrótica). As transições entre estes estados estão relacionadas ao estado proteômico e genético da célula, e à disponibilidade de oxigênio no microambiente. Algumas destas transições foram modeladas como eventos estocásticos, através de variáveis aleatórias com distribuição exponencial, e outras como eventos determinísticos (ver Figura 1).

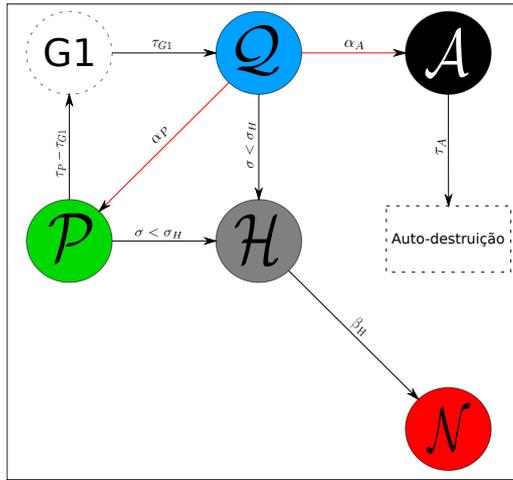


Figura 1: Ilustração das possíveis transições entre estados fenotípicos. As transições modeladas como eventos estocásticos e determinísticos estão indicadas por setas em vermelho e em preto, respectivamente.

Q quiescente: são as células que possuem nutriente suficiente para sobrevivência e aguardam o momento de se dividir;

P proliferativa: são células que irão sofrer mitose;

H hipóxica: são células que estão em regiões do microambiente onde a concentração de nutrientes encontra-se abaixo do nível apropriado para divisão;

A apoptótica: são células que irão morrer devido ao processo natural de morte celular;

N necrótica: são células que morrem depois de passar certo tempo em estado de hipóxia, e sofrem calcificação.

As transições entre os estados proliferativo e quiescente para o estado de hipóxia são determinísticas e ocorrem sempre que a concentração de oxigênio, denotada por σ , estiver abaixo de certo limiar σ_H . Como o modelo é avascular, células hipóxicas não podem retornar ao estado quiescente, passando imediatamente para o estado necrótico ($\beta_H \rightarrow \infty$). A transição do estado quiescente para o proliferativo é determinada por uma probabilidade α_P , dada por:

$$\alpha_P(\mathcal{S}, \bullet, \circ)(t) = \bar{\alpha}_P(\bullet, \circ) \left(\frac{\sigma - \sigma_H}{1 - \sigma_H} \right) \left(1 - \frac{N_{out}(t)}{N_{out}^{max}} \right), \quad (7)$$

onde $\bar{\alpha}_P$ é a taxa de transição quando $\sigma = 1$, $N_{out}(t)$ é o número acumulado de células que deixam o domínio até o instante t e N_{out}^{max} é o número máximo a partir do qual a taxa de transição se anula e o crescimento estagna. Este modelo, então, pressupõe a inibição da proliferação celular em função da redução da disponibilidade de nutriente e do aumento das tensões sobre o tumor [4]. A transição do estado quiescente para apoptótico se dá quando a probabilidade α_A for satisfeita, onde $\alpha_A(\mathcal{S}, \bullet, \circ)(t) = \bar{\alpha}_A(\bullet, \circ)$. Os modelos específicos associados a cada uma das transições são descritos a seguir.

Submodelo do ciclo celular: a transição do estado quiescente para o proliferativo é interpretada como transição entre as fases G_0 e S do ciclo celular. Durante um tempo $\tau = \tau_P - \tau_{G1}$, ocorrem as fases S , G_2 e M do ciclo celular. Em seguida a “célula-mãe” gera duas “células -filhas” idênticas, com metade da área da célula de origem, o que determina o início da fase G_1 , na qual permanecem por um tempo τ_{G1} . Este é o momento de maturidade, quando ocorre a transição da fase G_1 para G_0 (ou Q).

Submodelo da apoptose celular: após a transição do estado quiescente para o

apoptótico, a célula permanece neste estado durante um tempo τ_A . No decorrer deste intervalo de tempo, a célula vai diminuindo de tamanho, apresentando incrementais decréscimos da sua área até ser extinta.

Submodelo da necrose celular: após a transição do estado de hipoxia para necrótico, a célula passa por um processo de retenção de líquido durante um tempo τ_{NL} . Durante este processo, a célula incha progressivamente até finalmente ocorrer o rompimento da membrana plasmática. Após o rompimento da membrana, a área do citoplasma é reduzida até que a célula se reduz ao tamanho de seu núcleo, iniciando o processo de calcificação. Neste processo, de duração τ_C , as células incrementalmente acumulam mais cálcio, conforme indicado pela diferenciação na cor da célula apresentada na Figura 2.

2.3 Modelo macroscópico: Transporte de oxigênio

A concentração de oxigênio no microambiente tem influência direta nas transições entre estados fenotípicos. Aplicando a lei fundamental de balanço de conservação de massa, o transporte de oxigênio no tecido é modelado através de uma equação de difusão-reação. Tal transporte é assumido quase estacionário e, sem perda de generalidade, assumimos que o oxigênio é difundido de maneira homogênea no meio. Definidas condições de contorno apropriadas, o transporte de oxigênio no meio é modelado por

$$D(\nabla^2\sigma) - \Lambda\sigma = 0, \quad (8)$$

onde D é o coeficiente de difusão e Λ é a taxa de consumo/decaimento de oxigênio. Utilizamos o método de diferenças finitas para resolver a equação (8). A taxa de consumo Λ atua como componente integrador entre os modelos de difusão de oxigênio e o de agentes. $\Lambda(x, t)$ é obtida através de um mapeamento que determina o consumo do conjunto das diferentes células que estão na vizinhança do ponto x em cada tempo t (ver [4]).

3 Simulações computacionais

Para o cenário de evolução de um carcinoma avascular não-específico, consideramos uma região de um tecido qualquer, composta por células normais e tumorais. Por simplicidade, assumimos que o domínio computacional do modelo discreto é circular de raio $250\mu m$. O domínio computacional do problema contínuo é quadrangular de lado $500\mu m$, envolvendo completamente a região do modelo celular. Os parâmetros e condições de contorno do tipo Dirichlet utilizados estão especificados na Tabela 1. Destacamos aqui que utilizamos os mesmos valores de parâmetros utilizados em [3], exceto para a concentração de oxigênio no contorno (σ_B) e o número máximo de células que deixam o domínio (N_{out}^{max}). Estes foram estimados de modo a obter uma evolução do tumor qualitativamente coerente com a biologia. Para a caracterização visual dos diferentes estados fenotípicos, definimos a notação apresentada na Figura 2.

Valores diferentes para K (equações (5) e (6)) ajustam as tensões no meio de tal forma que a quantidade de células que sai do domínio retroalimenta o modelo desenvolvido para a inibição de proliferação, definido em (7). O valor de $K = 0,1$ conduziu à um equilíbrio das células no domínio, provocando a estagnação do crescimento tumoral (Figura 3).

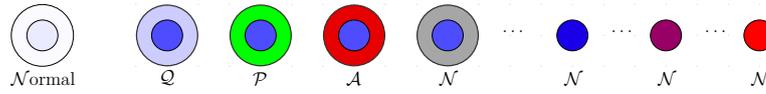


Figura 2: Notação utilizada no modelo. Da esquerda para direita: célula normal e células tumorais classificadas de acordo com seu fenótipo: quiescente (\mathcal{Q}), proliferativa (\mathcal{P}), apoptótica (\mathcal{A}), estágio inicial da necrose (\mathcal{N}) e três diferentes níveis de calcificação da célula necrótica, com o vermelho indicando calcificação mais intensa.

Tabela 1: Parâmetros utilizados na simulação do carcinoma avascular.

Parâmetros	Significado físico	Valor
R	raio celular	$9,953 \mu\text{m}$
R_N	raio do núcleo celular	$5,295 \mu\text{m}$
R_A	distância máxima de adesão (raio de ação)	$1.214R$
c_{cer}	coeficiente da força repulsiva célula-célula	$10,0\nu \mu\text{m}/\text{min}$
c_{rct}	coeficiente da força de resistência à compressão do tecido	c_{cer}
c_{cca}	coeficiente da força adesiva célula-célula	$0.488836c_{cer}$
c_{ct}	coeficiente da força de compressão do tecido	$10c_{cca}$
n_{cca}	expoente potencial de adesão célula-célula	1
n_{cer}	expoente potencial de repulsão célula-célula	1
n_{ct}	expoente potencial de adesão célula-BM	1
n_{rct}	expoente potencial de repulsão célula-BM	1
M	valor máximo de $ \nabla\psi $	1
N_{out}^{max}	número máximo de células que deixam o domínio	1500
σ_B	concentração de oxigênio no contorno	0,6
σ_H	limiar de oxigênio para hipoxia	0,2
$\bar{\alpha}_P^{-1}$	taxa de transição característica de $\mathcal{Q} \rightarrow \mathcal{P}$ quando $\sigma = 1$	$115,27 \text{ min}$
α_A	taxa de transição característica de $\mathcal{Q} \rightarrow \mathcal{A}$	$0,0012728 \text{ h}^{-1}$
τ_P	tempo do ciclo celular	18 h
τ_{G1}	tempo da G_1	9 h
τ_A	tempo da apoptose	8,6 h
τ_{NL}	tempo da lise celular necrótica	6 h
τ_C	tempo de calcificação celular necrótica	360 h
f_{NS}	aumento do volume celular necrótica	1
L	escala de comprimento da difusão do oxigênio	$100 \mu\text{m}$
λ	taxa de consumo do oxigênio para células tumorais	$0,1 \text{ min}^{-1}$
λ_b	taxa de consumo do oxigênio para células não-tumorais e ambiente	$0,01\lambda$

4 Conclusões

O modelo híbrido desenvolvido descreve o comportamento e interações entre células normais e tumorais num meio com disponibilidade limitada de nutrientes. Consideramos os efeitos de inibição de crescimento do tumor devido ao acúmulo das tensões de compressão no interior do tumor à medida que o tumor cresce. Isto foi feito através da definição de forças de compressão e resistência à compressão do tecido. Estas forças regulam a quantidade de células que saem do domínio, as quais reduzem a proliferação do tumor. Apesar de necessitar de calibração, simulações demonstraram que o modelo consegue representar qualitativamente a dinâmica de tumores em um microambiente qualquer e a estagnação do crescimento típica de tumores avasculares. O modelo foi desenvolvido de forma estruturada, utilizando a linguagem de programação C++, na qual aplicamos o paradigma OpenMP de programação paralela. Isto o torna bastante versátil, permitindo a fácil incorporação de novos processos e fenomenologias.

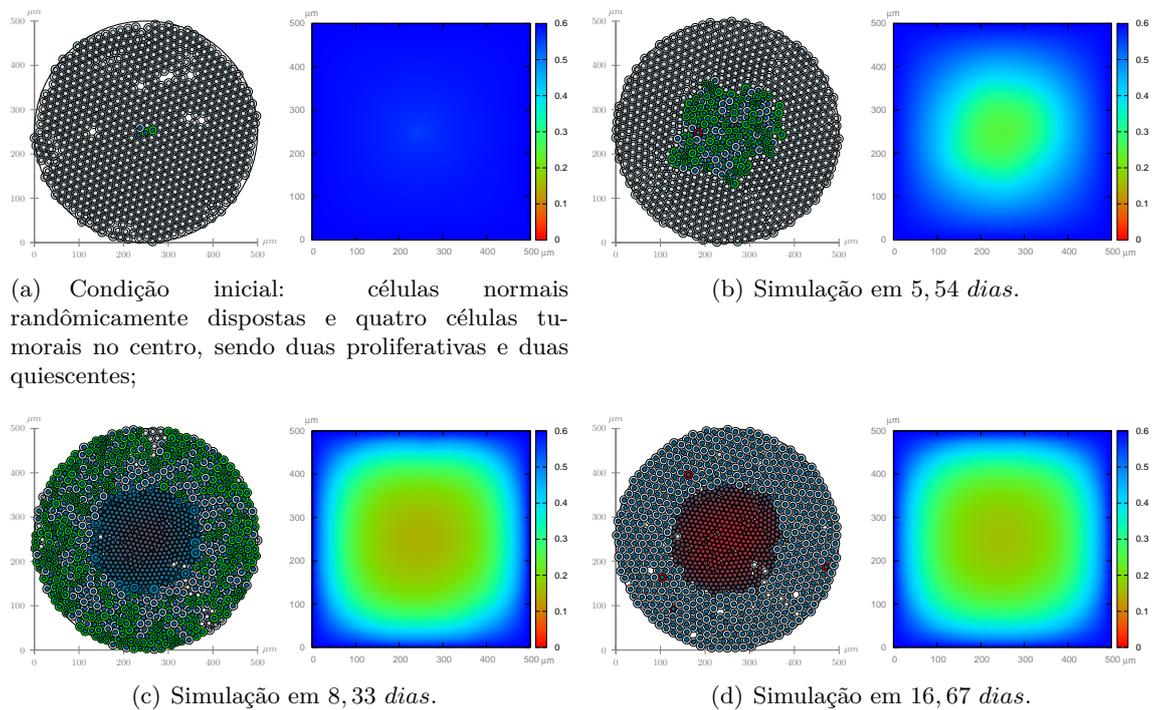


Figura 3: Ilustração do modelo celular (esquerda) e da concentração de oxigênio (direita) para $K = 0, 1$.

Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio financeiro concedido pelo CNPq e pela CAPES.

Referências

- [1] D. Drasdo, R. Kree, and J. S. McCaskill. Monte Carlo approach to tissue-cell populations, *Physical Review E*, 52:6635-6657, 1995. DOI: 10.1103/PhysRevE.52.6635.
- [2] J. S. Lowengrub, H. B. Frieboes, F. Jin, Y-L Chuang, X. Li, P. Macklin, S. M. Wise, and V. Cristini. Nonlinear modelling of cancer: bridging the gap between cells and tumours, *Nonlinearity*, 23:R1-R91, 2010. DOI: 10.1088/0951-7715/23/1/R01.
- [3] P. Macklin, M. E. Edgerton, A. M. Thompson, and V. Cristini. Patient-calibrated agent-based modelling of ductal carcinoma in situ (DCIS): From microscopic measurements to macroscopic predictions of clinical progression, *Journal of Theoretical Biology*, 301:122-140, 2012. DOI: 10.1016/j.jtbi.2012.02.002.
- [4] H. L. Rocha. Modelagem Híbrida Multiescala para o Crescimento Tumoral. Dissertação de Mestrado, LNCC/MCTI, 2016.