



XXXVII IBERIAN LATIN AMERICAN CONGRESS  
ON COMPUTATIONAL METHODS IN ENGINEERING  
BRASÍLIA - DF - BRAZIL

## MODELAGEM HÍBRIDA EM TRÊS ESCALAS PARA O CRESCIMENTO TUMORAL

**Heber L. Rocha**

**Regina C. Almeida**

**Anna Claudia M. Resende**

heberlr@lncc.br

rcca@lncc.br

annacmr@lncc.br

Laboratório Nacional de Computação Científica (LNCC)

Av. Getúlio Vargas 333, 25651-075, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil.

**Ernesto A. B. F. Lima**

lima@ices.utexas.edu

Institute for Computational Engineering and Sciences (ICES)

201 East 24th St, 78712-1229, Austin, Texas, EUA.

**Abstract.** *O crescimento tumoral é resultado de uma série de complexos fenômenos que ocorrem em múltiplas escalas de tempo e espaço. Neste trabalho, desenvolvemos um modelo híbrido que representa fenômenos do crescimento tumoral avascular que ocorrem nas escalas tecidual, celular e sub-celular. A dispersão de nutrientes e de fatores de crescimento ocorrem na escala do tecido. Na escala da célula, destacam-se as interações mecânicas entre células e entre os componentes do microambiente. Na escala sub-celular ocorre uma variedade de cascatas de reações moleculares que regulam as atividades celulares. Eventos que ocorrem em distintas escalas se inter-relacionam, de modo que o entendimento destes mecanismos é fundamental para a compreensão da doença e para o desenvolvimento de terapias. Experimentos computacionais são realizados para demonstrar o potencial uso da metodologia desenvolvida.*

**Palavras-chave:** *Crescimento tumoral, Modelo híbrido, Reações moleculares*

# 1 INTRODUÇÃO

Modelos híbridos têm sido bastante usados para descrever interações entre fenômenos que ocorrem em diversas escalas espaço-temporais do crescimento de tumores (Lowengrub *et al.*, 2010; Macklin *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2007). Neste trabalho desenvolvemos um modelo híbrido para o crescimento tumoral avascular baseado nas abordagens descritas em Macklin *et al.* (2012) e Wang *et al.* (2007). Na macroescala ou escala tecidual, modelamos a dispersão de oxigênio e de fatores de crescimento (EGF-*Epidermal Growth Factor*) através de equações do tipo difusão-reação. Na escala celular, construímos um modelo baseado em agentes (MBA) para descrever o comportamento e interações entre células normais e tumorais. O estado celular é orquestrado por uma complexa rede de sinalização que é desencadeada a partir da percepção de estímulos extracelulares por receptores específicos situados na membrana celular, que eventualmente produz uma resposta regulatória. Neste trabalho, estamos particularmente interessados na modelagem da sinalização que controla a proliferação celular, utilizando equações diferenciais ordinárias. A Figura 1 apresenta uma descrição esquemática do modelo híbrido desenvolvido, incluindo os mecanismos de acoplamento entre as escalas. Nas próximas seções descrevemos em detalhes cada um de seus componentes.

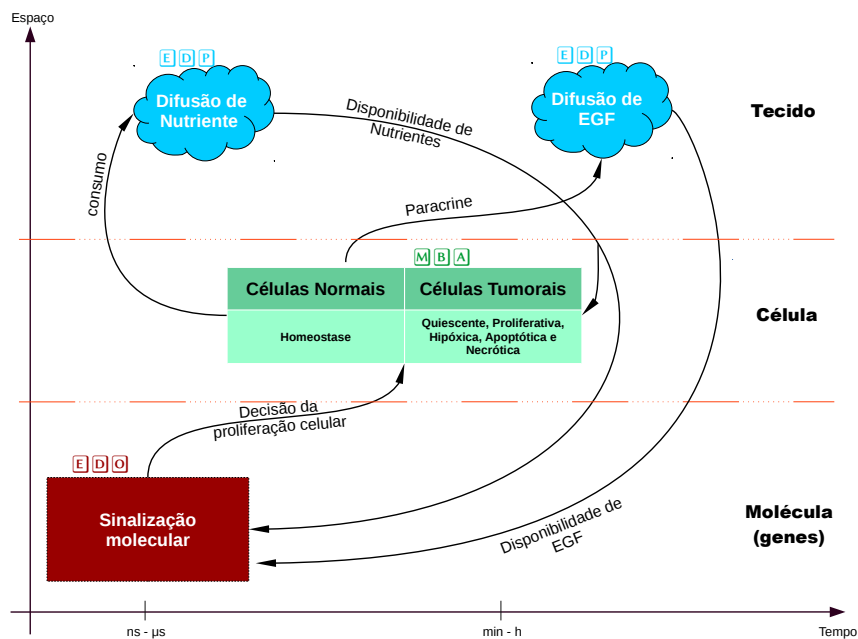


Figura 1: Esquema conceitual do modelo híbrido desenvolvido.

# 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 o balanço das forças que atuam em cada célula determina o seu movimento, conforme a segunda lei de Newton. Os modelos são apresentados a seguir.

## 2.1 Modelo celular: Forças que atuam sobre as células

As forças são modeladas assumindo 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, e são definidas a partir de um raio de ação  $R_A$ , que expressa a distância máxima possível para que ocorra alguma interação. Assim, a distância entre 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 e repulsão célula-membrana basal* ( $\mathbf{F}_{cba}$  e  $\mathbf{F}_{cbr}$ ); (iii) *adesão célula-matriz extracelular* ( $\mathbf{F}_{cma}$ ); (iv) *locomotiva* ( $\mathbf{F}_{loc}$ ), submetidas às células em movimento, determinando suas trajetórias; (v) *atrito* ( $\mathbf{F}_{drag}$ ), entre a célula em movimento e o fluido intersticial; (vi) *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:

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

em que  $N(t)$  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,  $\sum \mathbf{F} = 0$ . Como em Macklin *et al.* (2012), desconsideramos o processo migratório das células ( $\mathbf{F}_{loc} = 0$ ), assumimos  $\mathbf{F}_{drag}^i = -\nu \mathbf{v}_i$  e  $\mathbf{F}_{cma}^i = -c_{cma} \mathcal{I}_{E,i} E \mathbf{v}_i$ , em que  $\nu$  representa a viscosidade do fluido intersticial,  $E$  é a densidade da matriz extracelular,  $\mathcal{I}_{E,i}$  representa a distribuição dos ligantes da célula  $i$  na matriz extracelular  $E$ , e  $\mathbf{v}_i$  é a velocidade da célula  $i$ . A nova posição da célula é obtida da velocidade da célula  $i$  que resulta do balanço das forças, isto é,

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

As forças  $\mathbf{F}_{cca}^{ij}$ ,  $\mathbf{F}_{ccr}^{ij}$ ,  $\mathbf{F}_{cba}^i$ ,  $\mathbf{F}_{cbr}^i$ ,  $\mathbf{F}_{ct}^i$  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:

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

em que  $c = [(1 - R_N/R)^{m+1} - M]$ . Note que estas funções potenciais e suas derivadas têm suporte compacto (Drasdo *et al.*, 1995; Macklin *et al.*, 2012). Definindo  $c_{cca}$ ,  $c_{ccr}$ ,  $c_{cba}$  e  $c_{cbr}$  como os coeficientes de atração e repulsão célula-célula e célula-membrana basal, respectivamente;

$c_{ct}$  e  $c_{rct}$ , os coeficientes de compressão e resistência à compressão do tecido, respectivamente, determinamos as forças através das seguintes relações:

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

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

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

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

$$\mathbf{F}_{ct}^i = -c_{ct} K(V, t) \nabla \varphi(d(\mathbf{x}_i)\mathbf{n}(\mathbf{x}_i); R_A^i, n_{ct}); \quad (7)$$

$$\mathbf{F}_{rct}^i = -c_{rct} K(V, t) \nabla \psi(d(\mathbf{x}_i)\mathbf{n}(\mathbf{x}_i); R_N^i, R_i, M, n_{rct}), \quad (8)$$

em que  $R_A^i$  é o raio de ação da célula  $i$  e  $K(V, t)$  é uma função real definida no intervalo  $[0,1]$ , que depende do volume do tumor no instante  $t$ . As relações (3-6) foram definidas em Macklin *et al.* (2012). 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 (Rocha, 2016). Consideramos a função  $K(V, t)$  constante, inicialmente, e estabelecemos uma correlação entre o número acumulado de células que deixam o domínio no tempo  $t$  ( $N_{out}^t$ ) e a tensão de compressão que atua no tumor;  $N_{out}^t$  regula a inibição da proliferação, conforme apresentaremos na próxima seção.

## 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 Fig. 2). Por simplicidade, as transições dos estados proliferativo e quiescente para o estado de hipoxia são determinísticas e ocorrem sempre que a concentração de oxigênio, denotada por  $\sigma$ , estiver abaixo de certo limiar  $\sigma_H$ . Como o modelo é avascular, células hipóxicas não podem retornar ao estado quiescente, passando imediatamente para o estado necrótico ( $\beta_H \rightarrow \infty$ ). Como modelado em Macklin *et al.* (2012), as transições probabilísticas ocorrem de um estado  $\mathcal{S}_1$  para um estado  $\mathcal{S}_2$  em um intervalo de tempo  $(t, t + \Delta t]$  segundo a seguinte relação:

$$Pr(\mathcal{S}(t + \Delta t) = \mathcal{S}_2) | \mathcal{S}(t) = \mathcal{S}_1 = 1 - \exp\left(-\int_t^{t+\Delta t} \alpha_{12}(\mathcal{S}, \bullet, \circ) ds\right), \quad (9)$$

em que  $\alpha_{12}$  é uma função intensidade,  $(\bullet)$  representa o estado genético e proteômico da célula e  $(\circ)$  representa o estado do microambiente ao redor da célula. Para passos de tempo suficientemente pequenos, esta expressão pode ser simplificada para  $Pr(\mathcal{S}(t + \Delta t) = \mathcal{S}_2) | \mathcal{S}(t) = \mathcal{S}_1 \approx 1 - \exp(-\alpha_{12}(\mathcal{S}, \bullet, \circ)(t)\Delta t)$ . Quando  $\mathcal{S}_1 = \mathcal{Q}$  e  $\mathcal{S}_2 = \mathcal{P}$ , definimos  $\alpha_{12}(\mathcal{S}, \bullet, \circ) \equiv \alpha_P(\mathcal{P}, \bullet, \circ)$  como

$$\alpha_P(\mathcal{S}, \bullet, \circ)(t) = \bar{\alpha}_P(\bullet, \circ) \left(\frac{\sigma - \sigma_H}{1 - \sigma_H}\right) \left(1 - \frac{N_{out}^t}{N_{out}^{max}}\right). \quad (10)$$

Observe que, neste modelo, estabelecemos que as condições do microambiente atuam na inibição da proliferação celular em função tanto da disponibilidade de oxigênio quanto do aumento das

tensões de compressão no tumor (Cheng *et al.*, 2009; Stylianopoulos *et al.*, 2012). Assim,  $\sigma_H$  define o limiar de oxigênio abaixo do qual a célula não tem nutriente suficiente para sofrer mitose e  $N_{out}^{max}$ , que expressa o número máximo de células que deixam o domínio, está correlacionado à tensão de compressão máxima acima da qual o crescimento estagna. A intensidade de probabilidade de transição do estado quiescente para o proliferativo ( $\bar{\alpha}_P(\bullet, \circ)$ ) depende do estado genético e proteômico da célula ( $\bullet$ ) em resposta ao estímulo do EGF do microambiente na vizinhança da célula ( $\circ$ ). Tal intensidade é regulada pelo sistema de sinalização molecular, conforme mostraremos a seguir. Como neste trabalho focamos nos efeitos da proliferação celular, por simplicidade assumimos que a transição de  $\mathcal{S}_1 = \mathcal{Q}$  para  $\mathcal{S}_2 = \mathcal{A}$  é homogênea, com  $\alpha_{12}(\mathcal{S}, \bullet, \circ) \equiv \alpha_A(\mathcal{A}) = constante$ . Os modelos específicos associados a cada uma das transições são descritos a seguir.

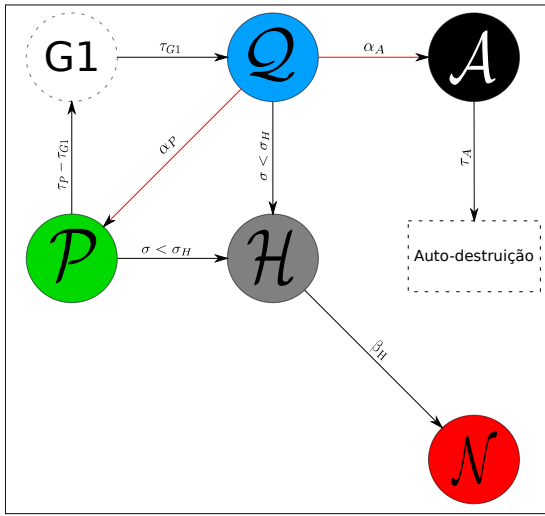


Figura 2: Ilustração das possíveis transições entre estados fenotípicos. As transições modeladas como eventos estocásticos e determinísticos estão indicadas por setas em vermelho e em preto, respectivamente.

- 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 hipoxia, e sofrem calcificação.

**Submodelo da proliferação celular:** a transição do estado quiescente para o proliferativo é interpretada como transição entre as fases  $G_0$  e  $S$  do ciclo celular, conforme ilustrado na Fig. 3. Durante um tempo  $\tau = \tau_P - \tau_{G_1}$ , 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  $\tau_{G_1}$ . Este é o momento de maturidade, quando ocorre a transição da fase  $G_1$  para  $G_0$  (ou  $\mathcal{Q}$ ).

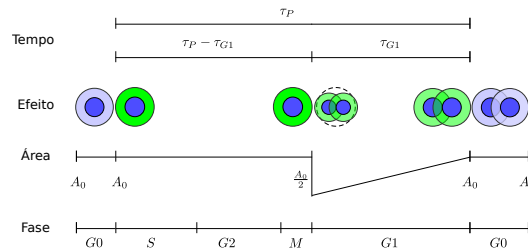


Figura 3: Submodelo da proliferação celular (inspirada em Macklin *et al.* (2012)).

**Submodelo da apoptose celular:** após a transição do estado quiescente para o apoptótico, a célula permanece neste estado durante um tempo  $\tau_A$ . No decorrer deste intervalo de tempo, a célula vai diminuindo de tamanho, apresentando incrementais decréscimos da sua área até ser extinta, como ilustrado na Fig. 4.

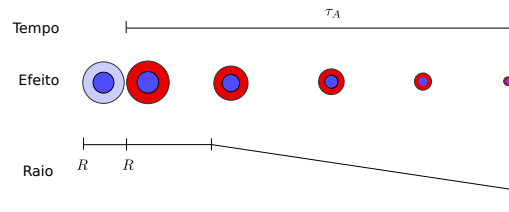


Figura 4: Submodelo da apoptose celular.

**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  $\tau_{NL}$ . Durante este processo, a célula incha progressivamente até finalmente ocorrer o rompimento da membrana plasmática, quando então 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  $\tau_C$ , as células incrementalmente acumulam mais cálcio, conforme indicado pela diferenciação na cor da célula. Este processo está esquematicamente ilustrado na Fig. 5.

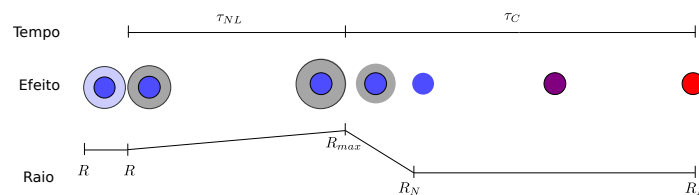


Figura 5: Submodelo da necrose celular.

## 2.3 Sinalização molecular

Assumimos que a proliferação celular é controlada por um mecanismo de sinalização que responde especificamente ao estímulo do EGF (Schoeberl *et al.*, 2002; Wang *et al.*, 2007). Assumimos também que o EGF é produzido pelas células quiescentes, e se dispersa pouco no micro-ambiente tumoral, representando a sinalização parácrina (entre células vizinhas). Sabemos que estas hipóteses são abstrações ou simplificações dos complexos mecanismos de sinalização intracelular e extracelular que regulam o ciclo celular das células cancerosas (Hannahan & Weinberg, 2011; Kholodenko *et al.*, 2010). Entretanto, como é conhecido que o receptor de EGF está hiperativado em aproximadamente 30% de todos os cânceres, incluindo os de cólon, pulmão, pâncreas, dentre outros, a seleção deste mecanismo específico se mostra adequada para a modelagem desejada neste trabalho.

Associado a cada célula definimos um modelo sub-celular em que proteínas e moléculas interagem bioquimicamente entre si. Especificamente, com base no modelo apresentado em Wang *et al.* (2007), um sistema de equações diferenciais ordinárias modela a sinalização entre 20 moléculas/complexos distintos. A descrição de cada molécula e associada reação cinética

é apresentada nas Tabelas 1 e 2 . Duas dessas moléculas,  $PCL_\gamma$  e ERK, são proteínas que têm papel crucial na mudança de fenótipos celulares. Aqui, como em (Wang *et al.* , 2007), assumimos que se a taxa de variação do  $PLC_\gamma$  for menor que um certo limiar, denotado por  $T_{PLC}$  e a taxa de variação do ERK for maior que um limiar  $T_{ERK}$ , a célula adquire uma potencial vantagem de se proliferar. Assim, definimos a resposta do mecanismo de sinalização como

$$\bar{\alpha}_P = \begin{cases} \mathbf{1}, & ROC_{PLC} < T_{PLC} \text{ e } ROC_{ERK} > T_{ERK}; \\ \mathbf{0}, & \text{caso contrário.} \end{cases} \quad (11)$$

Nestas definições,  $ROC_{PLC}$  e  $ROC_{ERK}$  representam a taxa de variação do  $PLC_\gamma$  e ERK, respectivamente. Para obtermos essas taxas resolvemos numericamente o sistema de 20 equações diferenciais ordinárias expressas na Tabela 1, utilizando o método de Runge-Kutta de quarta ordem. As condições iniciais utilizadas são também apresentadas na Tabela 1.

**Tabela 1: Equações cinéticas e concentrações iniciais. Para complementar, veja a Tabela 2.**

Reagente	Variável Molecular	Condição inicial [nM]	EDO
$X_1$	EGF	variável	$d(X_1)/dt = -v_1$
$X_2$	EGFR	80	$d(X_2)/dt = -v_1$
$X_3$	EGF-EGFR	0	$d(X_3)/dt = v_1 - 2v_2$
$X_4$	(EGF-EGFR) <sub>2</sub>	0	$d(X_4)/dt = v_2 + v_4 - v_3$
$X_5$	EGF-EGFR-P	0	$d(X_5)/dt = v_3 + v_7 - v_4 - v_5$
$X_6$	$PLC_\gamma$	10	$d(X_6)/dt = v_8 - v_5$
$X_7$	EGF-EGFR- $PLC_\gamma$	0	$d(X_7)/dt = v_5 - v_6$
$X_8$	EGF-EGFR- $PLC_\gamma$ -P	0	$d(X_8)/dt = v_6 - v_7$
$X_9$	$PLC_\gamma$ -P	0	$d(X_9)/dt = v_7 - v_8 - v_9 - v_{10}$
$X_{10}$	$PLC_\gamma$ -P-I	0	$d(X_{10})/dt = v_9$
$X_{11}$	PKC	10	$d(X_{11})/dt = -v_{10}$
$X_{12}$	PKC*	0	$d(X_{12})/dt = v_{10} - v_{11}$
$X_{13}$	Raf	100	$d(X_{13})/dt = -v_{11}$
$X_{14}$	Raf*	0	$d(X_{14})/dt = v_{11} - v_{12} - v_{14}$
$X_{15}$	MEK	120	$d(X_{15})/dt = v_{13} - v_{12}$
$X_{16}$	MEK-P	0	$d(X_{16})/dt = v_{12} + v_{15} - v_{13} - v_{14}$
$X_{17}$	MEK-PP	0	$d(X_{17})/dt = v_{14} - v_{15} - v_{16} - v_{18}$
$X_{18}$	ERK	100	$d(X_{18})/dt = v_{17} - v_{16}$
$X_{19}$	ERK-P	0	$d(X_{19})/dt = v_{16} + v_{19} - v_{17} - v_{18}$
$X_{20}$	ERK-PP	0	$d(X_{20})/dt = v_{18} - v_{19}$

## 2.4 Escala Tecidual

### Transporte de oxigênio

Aplicando a lei fundamental de conservação de massa, o transporte quase estacionário de oxigênio no tecido é modelado através de uma equação de difusão-reação. Sem perda de

**Tabela 2: Reações e parâmetros cinéticos. Concentrações e as constantes de Michaelis-Menten ( $K$ ) são dadas em  $[nM]$ . Taxas constantes de primeira e segunda ordem são dadas em  $[s^{-1}]$  e  $[nM^{-1}s^{-1}]$ , respectivamente.  $V$  são expressos em  $[nMs^{-1}]$ .**

Reação	Equação	Parâmetros cinéticos	
$v_1$	$k_1 X_1 X_2 - k_{-1} X_3$	$k_1 = 0.003$	$k_{-1} = 0.06$
$v_2$	$k_2 X_3 X_3 - k_{-2} X_4$	$k_2 = 0.01$	$k_{-2} = 0.1$
$v_3$	$k_3 X_4 - k_{-3} X_5$	$k_3 = 1$	$k_{-3} = 0.01$
$v_4$	$V_4 X_5 / (K_4 + X_5)$	$V_4 = 450$	$K_4 = 50$
$v_5$	$k_5 X_5 X_6 - k_{-5} X_7$	$k_5 = 0.06$	$k_{-5} = 0.2$
$v_6$	$k_6 X_7 - k_{-6} X_8$	$k_6 = 1$	$k_{-6} = 0.05$
$v_7$	$k_7 X_8 - k_{-7} X_5 X_9$	$k_7 = 0.3$	$k_{-7} = 0.006$
$v_8$	$V_8 X_9 / (K_8 + X_9)$	$V_8 = 1$	$K_8 = 100$
$v_9$	$k_9 X_9 - k_{-9} X_{10}$	$k_9 = 1$	$k_{-9} = 0.03$
$v_{10}$	$k_{10} X_9 X_{11} - k_{-10} X_{12}$	$k_{10} = 0.214$	$k_{-10} = 5.25$
$v_{11}$	$V_{11} X_{12} X_{13} / (K_{11} + X_{13})$	$V_{11} = 4$	$K_{11} = 64$
$v_{12}$	$V_{12} X_{14} X_{15} / [K_{12} (1 + X_{16} / K_{14}) + X_{15}]$	$V_{12} = 3.5$	$K_{12} = 317$
$v_{13}$	$V_{13} X_{16} / [K_{13} (1 + X_{17} / K_{15}) + X_{16}]$	$V_{13} = 0.058$	$K_{13} = 2200$
$v_{14}$	$V_{14} X_{14} X_{16} / [K_{14} (1 + X_{15} / K_{12}) + X_{16}]$	$V_{14} = 2.9$	$K_{14} = 317$
$v_{15}$	$V_{15} X_{17} / [K_{15} (1 + X_{16} / K_{13}) + X_{17}]$	$V_{15} = 0.058$	$K_{15} = 60$
$v_{16}$	$V_{16} X_{17} X_{18} / [K_{16} (1 + X_{19} / K_{18}) + X_{18}]$	$V_{16} = 9.5$	$K_{16} = 1.46 \times 10^5$
$v_{17}$	$V_{17} X_{19} / [K_{17} (1 + X_{20} / K_{19}) + X_{19}]$	$V_{17} = 0.3$	$K_{17} = 160$
$v_{18}$	$V_{18} X_{17} X_{19} / [K_{18} (1 + X_{18} / K_{16}) + X_{19}]$	$V_{18} = 16$	$K_{18} = 1.46 \times 10^5$
$v_{19}$	$V_{19} X_{20} / [K_{19} (1 + X_{19} / K_{17}) + X_{20}]$	$V_{19} = 0.27$	$K_{19} = 60$

generalidade, assumimos que o oxigênio é difundido de maneira homogênea no meio segundo a seguinte equação

$$D(\nabla^2 \sigma) - \Lambda \sigma = 0, \quad (12)$$

em que  $D$  é o coeficiente de difusão e  $\Lambda$  é a taxa de consumo/decaimento de oxigênio. A equação anterior é definida no domínio  $\Omega \in \mathbb{R}^2$  que contém a região definida no MBA. Condições de contorno do tipo Dirichlet são definidas no contorno regular de  $\Omega$ , denotado por  $\Gamma$ . Tais condições modelam a existência de vasos sanguíneos nesta região. A solução da Eq. 12 é obtida utilizando o método de diferenças finitas via diferença centrada. A taxa de consumo  $\Lambda$  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 espacial  $x$  em cada tempo  $t$  (Rocha, 2016).

### Difusão de EGF

Consideramos que somente as células quiescentes liberam fatores de crescimento no microambiente. A equação de conservação de EGF no meio é dada por

$$\frac{\partial \sigma_{egf}}{\partial t} = D_{egf}(\nabla^2 \sigma_{egf}) + F_{egf}, \quad (13)$$

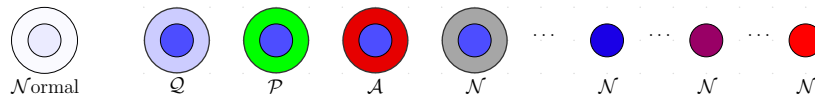
em que  $D_{egf}$  é o coeficiente de difusão de EGF e  $F_{egf}$  é a fonte de EGF. Este termo é responsável pela integração entre as escalas, sendo computado de maneira análoga ao coeficiente



de consumo de oxigênio. É importante ressaltar que  $D_{egf} \ll D$ , pois a dispersão de EGF está associada à mecanismo de sinalização parácrina, que ocorre apenas entre células vizinhas. O domínio computacional de definição da Eq. 13 é o mesmo da Eq. 12, sendo que condições de Dirichlet homogêneas são agora utilizadas.

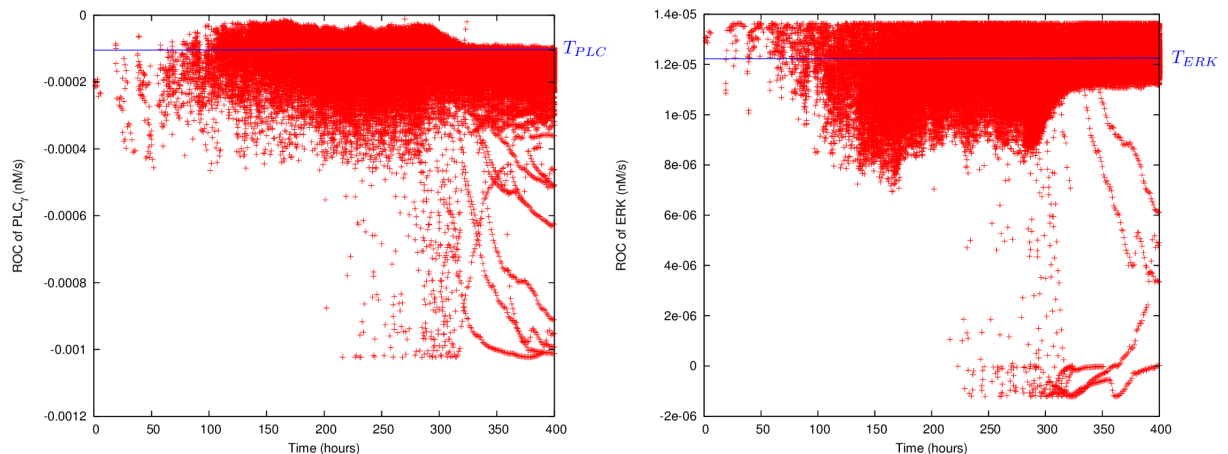
### 3 SIMULAÇÕES COMPUTACIONAIS

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  $250 \mu\text{m}$ . O domínio computacional do problema contínuo é quadrangular de lado  $500 \mu\text{m}$ , envolvendo completamente a região do modelo celular. Os parâmetros e condições de contorno do tipo Dirichlet utilizados estão especificados na Tabela 3. Para a caracterização visual dos diferentes estados fenotípicos, definimos a notação apresentada na Fig. 6.



**Figura 6:** Notação utilizada para a visualização das simulações. Da esquerda para direita: célula normal e células tumorais classificadas de acordo com seu fenótipo: quiescente ( $Q$ ), proliferativa ( $P$ ), apoptótica ( $A$ ), estágio inicial da necrose ( $N$ ) e três diferentes níveis de calcificação da célula necrótica, com o vermelho indicando calcificação mais intensa.

Não encontramos na literatura valores limites para  $ROC_{PLC}$  e  $ROC_{ERK}$  que conferem, ou caracterizam, vantagem de proliferação celular. Na tentativa de representar comportamentos típicos, realizamos uma série de simulações computacionais e observamos a evolução dos valores de  $ROC_{PLC}$  e  $ROC_{ERK}$  em todas as células. Uma destas evoluções é apresentada na Fig. 7. Com base nas informações obtidas, escolhemos  $T_{PLC} = -1 \times 10^{-4}$  e  $T_{ERK} = 1,2 \times 10^{-5}$ . A calibração sistemática destes e dos demais parâmetros é tema de trabalhos futuros.



**Figura 7:** Escolha dos limites  $T_{PLC}$  e  $T_{ERK}$ . Os pontos vermelhos representam os valores do  $ROC_{PLC}$  e  $ROC_{ERK}$  das células quiescentes em cada passo de tempo da simulação.

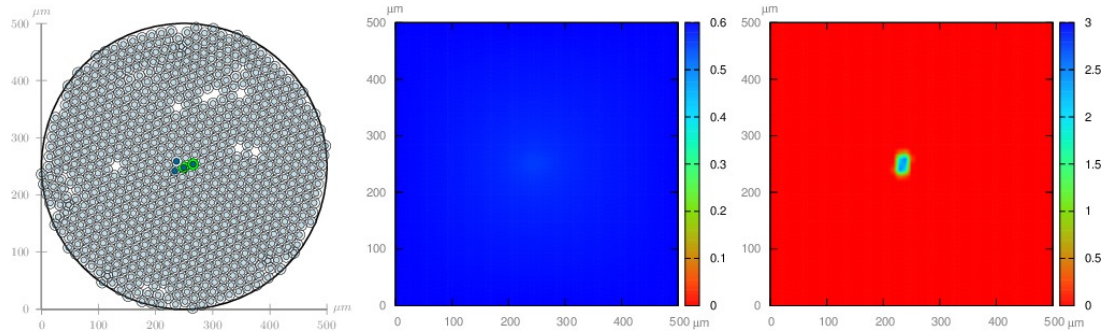
Valores diferentes para  $K$  (equações (7) e (8)) ajustam as tensões no meio. Conforme experimentos realizados em Rocha (2016), observamos que o valor de  $K = 0,1$  conduziu à uma

**Tabela 3: Parâmetros utilizados na simulação do carcinoma avascular.**

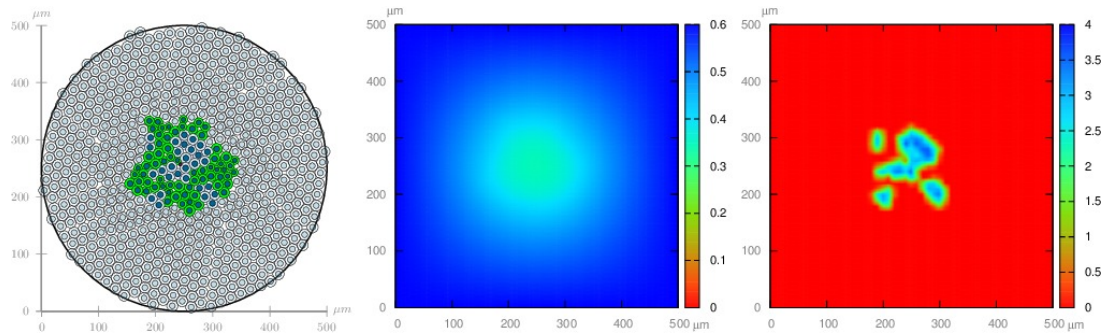
Parâmetros	Significado físico	Valor
$R, R_N$	raio celular e raio do núcleo celular	9,953 e 5,295 $\mu\text{m}$
$R_A$	distância máxima de adesão (raio de ação)	1.214 $R$
$c_{ccr}$	coeficiente da força repulsiva célula-célula	10,0 $\nu$ $\mu\text{m}/\text{min}$
$c_{rct}$	coeficiente da força de resistência à compressão do tecido	$c_{ccr}$
$c_{cca}$	coeficiente da força adesiva célula-célula	0.488836 $c_{ccr}$
$c_{ct}$	coeficiente da força de compressão do tecido	10 $c_{cca}$
$n_{cca}$ e $n_{ccr}$	expoentes dos potenciais de adesão e repulsão célula-célula	1 e 1
$n_{ct}$ e $n_{rct}$	expoentes dos potenciais de adesão e repulsão célula-BM	1 e 1
$M$	valor máximo de $ \nabla\psi $	1
$N_{out}^{max}$	número máximo de células que deixam o domínio	1500
$\sigma_B$	concentração de oxigênio no contorno	0,6
$\sigma_H$	limiar de oxigênio para hipoxia	0,2
$\alpha_A$	taxa de transição característica de $\mathcal{Q} \rightarrow \mathcal{A}$	0,0012728 $\text{h}^{-1}$
$\tau_P$	tempo do ciclo celular	18 h
$\tau_{G1}$ e $\tau_A$	tempo da $G_1$ e tempo da apoptose	9 e 8,6 h
$\tau_{NL}$	tempo da lise celular necrótica	6 h
$\tau_C$	tempo de calcificação celular necrótica	360 h
$f_{NS}$	aumento do volume celular necrótica	1
$L$	escala de comprimento da difusão do oxigênio	100 $\mu\text{m}$
$\lambda$	taxa de consumo do oxigênio para células tumorais	0,1 $\text{min}^{-1}$
$\lambda_b$	taxa de consumo do oxigênio para células não-tumorais e ambiente	0,01 $\lambda$
$D_{egf}$	coeficiente de difusão de EGF	$1 \times 10^{-12}$ $\mu\text{m}^2/\text{h}$
$F_{egf}^i$	quantidade de EGF liberado pelas células quiescentes $i$	2,65 nM

representação da evolução tumoral compatível, com acúmulo gradativo da compressão no tumor. Eventualmente,  $N_{out}^t = N_{out}^{max}$ , levando à estagnação do crescimento. Assim,  $K = 0,1$  é utilizado nas simulações apresentadas a seguir. Na Fig. 8 apresentamos uma realização da evolução tumoral controlada pela sinalização intracelular. A partir de um pequeno tumor no centro do domínio e uma distribuição uniforme de oxigênio, o tumor se desenvolve e gradativamente consome o oxigênio disponível. Em  $t = 4,17$  dias, o tumor é formado majoritariamente por células proliferativas, representando a fase inicial do crescimento tumoral avascular. A intensa proliferação produz um rápido decréscimo do oxigênio na direção do centro do tumor, onde o nível de nutrientes é incapaz de sustentar a viabilidade celular. A dispersão de EGF produzido pelas células quiescentes é restrita, localizada na vizinhança das células que liberam o fator de crescimento. Em  $t = 8,33$  dias, observamos a formação de três níveis de diferentes fenótipos: uma região mais interna que representa o núcleo necrótico, uma intermediária onde as células quiescentes são predominantes e uma região externa onde a maioria das células são proliferativas. A proliferação controlada pela sinalização molecular gera um padrão de crescimento mais irregular e heterogêneo. Finalmente, em  $t = 16,67$  dias, as células tumorais preenchem todo o domínio computacional. Neste momento, o oxigênio disponível no interior do domínio está abaixo do necessário para a viabilidade celular e observamos a formação de um núcleo necrótico calcificado, configuração típica observada em tumores avasculares.

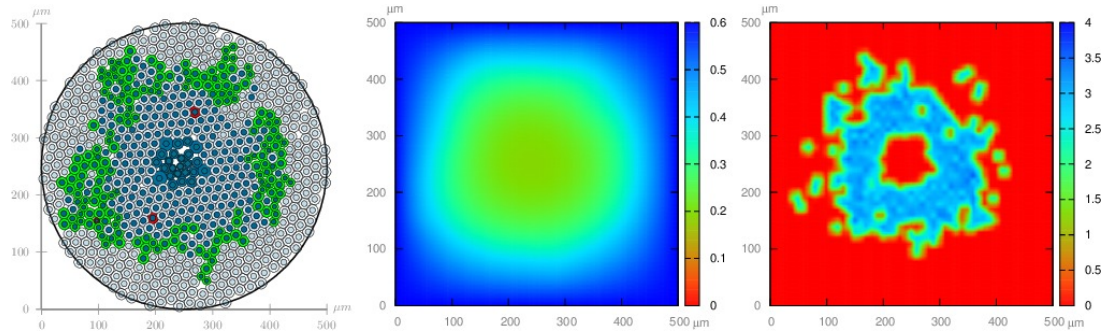
Na Fig. 9, comparamos a evolução dos diferentes fenótipos celulares para a simulação em



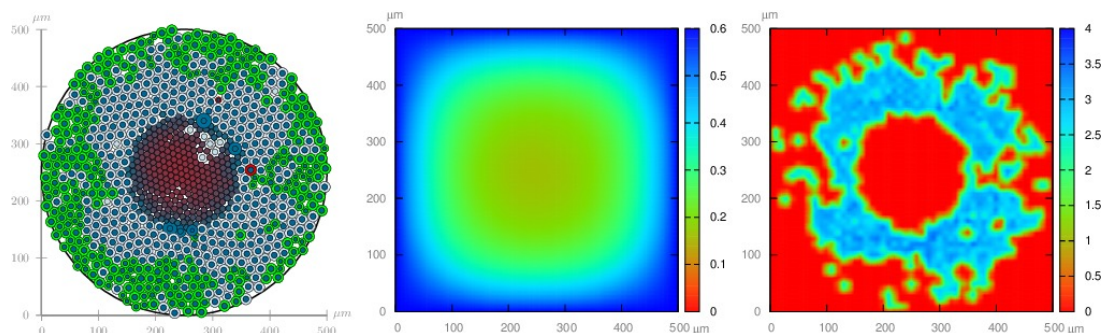
(a) Condição inicial: células normais aleatoriamente dispostas e quatro células tumorais no centro, sendo duas proliferativas e duas quiescentes;



(b) Simulação em 4, 17 dias: predominância das células proliferativas.



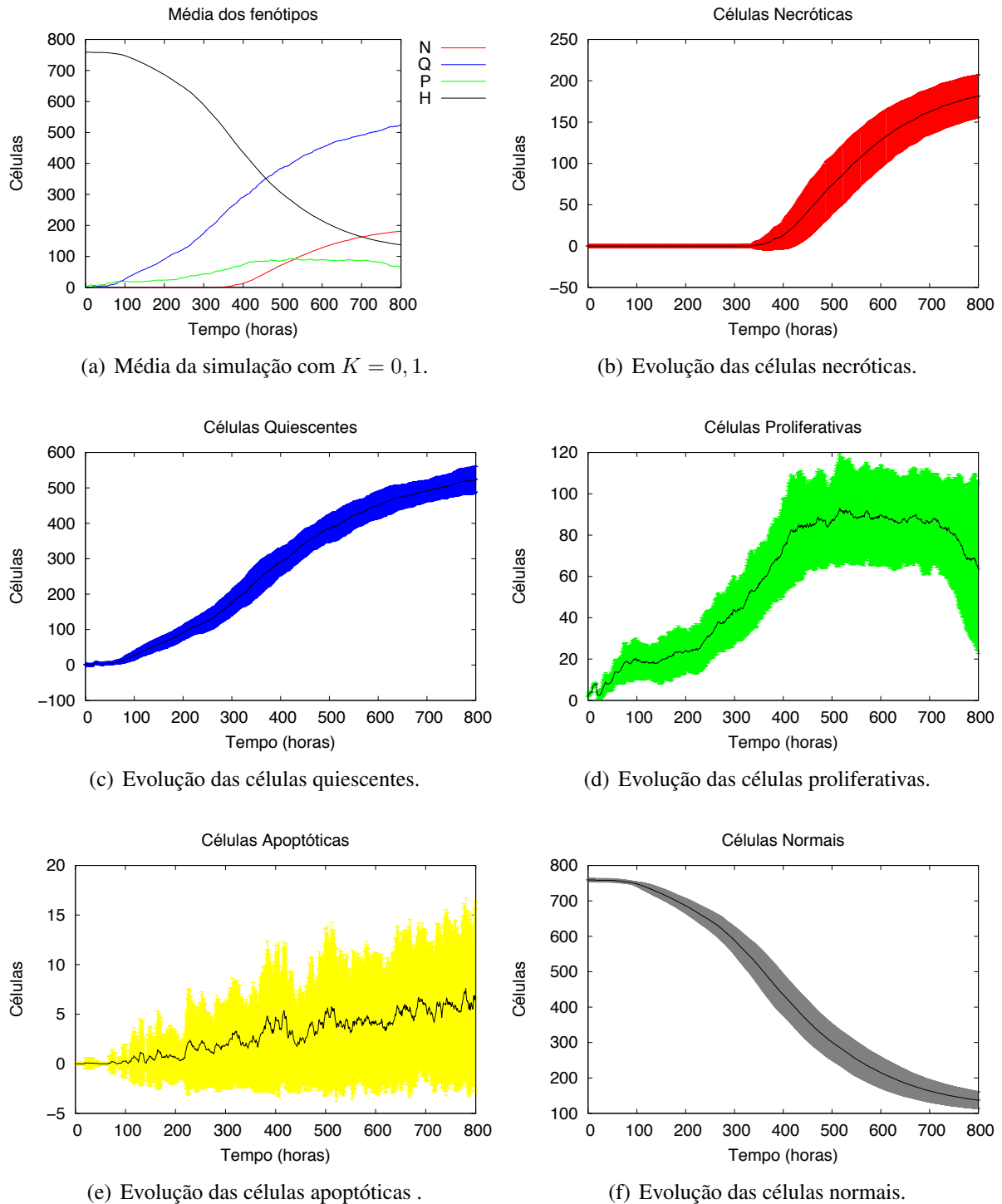
(c) Simulação em 8, 33 dias: formação de estrutura em três níveis fenotípicos.



(d) Simulação em 16, 67 dias: calcificação do núcleo e redução significativa do oxigênio na direção do centro do tumor.

**Figura 8:** Uma realização do modelo celular (esquerda), concentração de oxigênio (centro) e concentração de EGF (direita) para  $K = 0, 1$ .

100 realizações. Como esperado, os modelos de transição estocástica introduzem uma grande variabilidade para a evolução das células proliferativas e apoptóticas. Na média, a evolução da células proliferativas estagna em decorrência dos feitos de compressão sobre o tumor.



**Figura 9: Evolução dos diferentes fenótipos para  $K = 0, 1$ . Os valores N, Q, P e H representam o número de células necróticas, quiescentes, proliferativas e normais, respectivamente. As barras de erro representam o desvio padrão em cada tempo simulado.**

A Figura 10 apresenta a média da evolução dos fenótipos quando não há controle realizado pela sinalização intracelular e  $\bar{\alpha}_P$  é fixado em quatro diferentes valores entre 0 e 1. À medida que  $\bar{\alpha}_P$  aumenta, o máximo do número de células proliferativas é maior, embora um valor fixo de  $\bar{\alpha}_P$  não seja capaz de sustentar a proliferação. Quanto maior é  $\bar{\alpha}_P$ , mais rápido é o decaimento do número médio de células proliferativas. Este comportamento reforça a importância do controle introduzido pelo mecanismo de sinalização intracelular, que conduz à sustentação do crescimento tumoral, conforme ilustrado na Fig. 9(a).

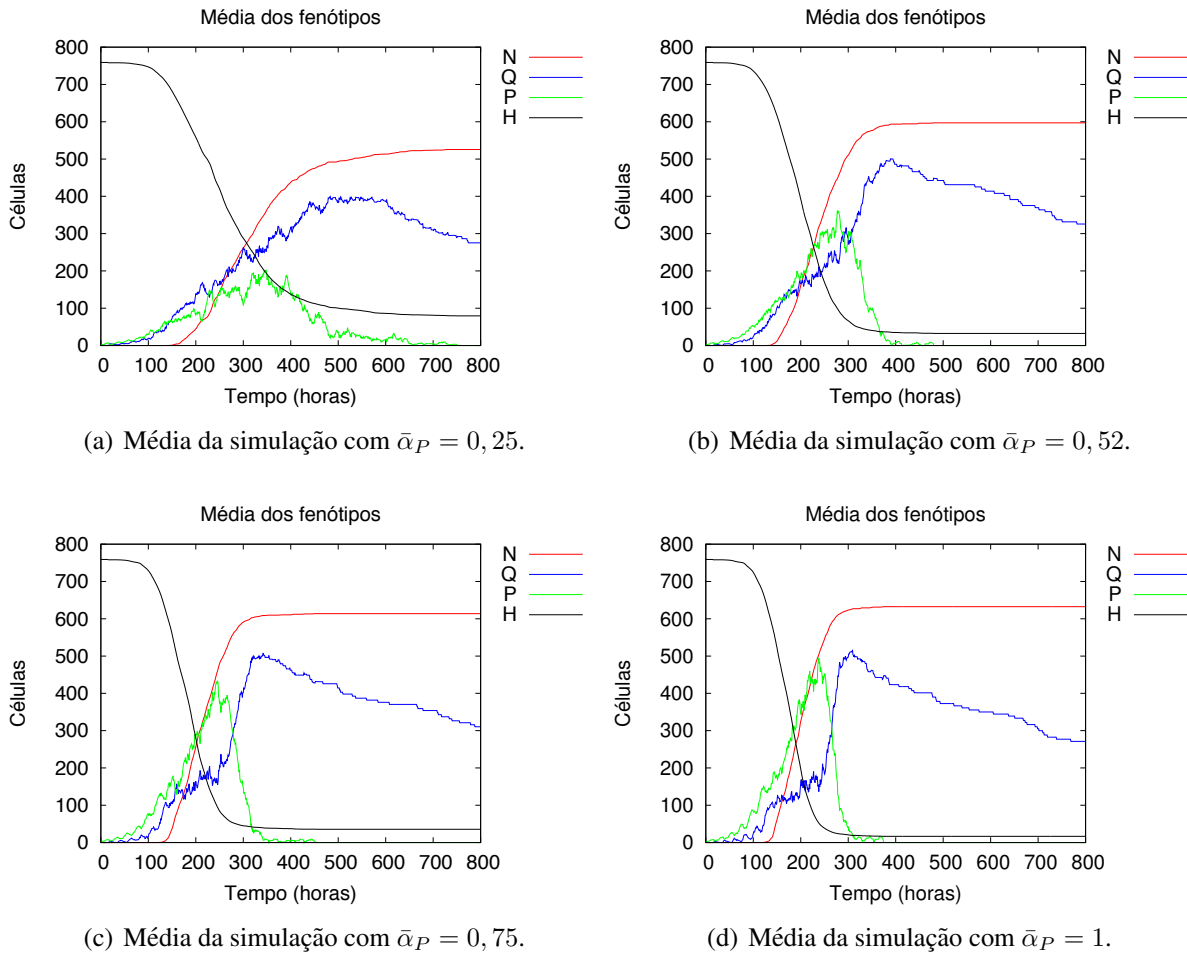


Figura 10: Média da evolução dos diferentes fenótipos para diferentes valores de  $\bar{\alpha}_P$ .

## 4 CONCLUSÕES

O modelo híbrido desenvolvido descreve o comportamento e interações entre células normais e tumorais num meio com disponibilidade limitada de nutrientes. Fenômenos de sinalização intracelular foram integrados à cada célula, e foram capazes de controlar a proliferação celular. Além disso, simulações realizadas apontam que o mecanismo intracelular tem papel fundamental na sustentação da evolução do tumor. Consideramos também os efeitos adicionais de inibição da proliferação devido ao acúmulo das tensões de compressão no interior do tumor e da disponibilidade de nutrientes. O acúmulo das tensões foi modelado através das forças de compressão e resistência à compressão do tecido. Estas forças regulam a quantidade de células que

saem do domínio, as quais por sua vez regulam a inibição da proliferação. Apesar de necessitar de calibração, simulações demonstraram que o modelo consegue representar qualitativamente a dinâmica de tumores em um microambiente. 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.

## REFERÊNCIAS

- Cheng, G., Tse, J., Jain, R. K., & Munn, L. L. 2009. Micro-Environmental Mechanical Stress Controls Tumor Spheroid Size and Morphology by Suppressing Proliferation and Inducing Apoptosis in Cancer Cells. *PLoS ONE*, vol. 4(n. 2), pp. e4632.
- Drasdo, D., Kree, R., & McCaskill, J. S. 1995. Monte Carlo approach to tissue-cell populations. *Physical Review E*, vol. 52(n. 6), pp. 6635.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. 2011. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell*, vol. 144, pp. 646.
- Kholodenko, B. N., Hancock, J. F., & Kolch, W. 2010. Signalling ballet in space and time. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, vol. 11, pp. 414.
- Lowengrub, J. S., Frieboes, H. B., Jin, F., Chuang, Y-L, Li, X., Macklin, P., Wise, S. M., & Cristini, V. 2010. Nonlinear modelling of cancer: bridging the gap between cells and tumours. *Nonlinearity*, vol. 23, pp. R1.
- Macklin, P., Edgerton, M. E., Thompson, A. M., & Cristini, V. 2012. Patient-calibrated agent-based modelling of ductal carcinoma *in situ* (DCIS): From microscopic measurements to macroscopic predictions of clinical progression. *Journal of Theoretical Biology*, vol. 301, pp. 122.
- Rocha, H. L. 2016. *Modelagem Híbrida Multiescala para o Crescimento Tumoral*. Dissertação de Mestrado, LNCC/MCTI.
- Schoeberl, B., Eichler-Jonsson, C., Gilles, E. D., & Müller, G. 2002. Computational modeling of the dynamics of the MAP kinase cascade activated by surface and internalized EGF receptors. *Nature Biotechnology*, vol. 20, pp. 370.
- Stylianopoulos, T., Martin, J. D., Chauhan, V. P., Jain, S. R., Diop-Frimpong, B., Bardeesy, N., Smith, B. L., Ferrone, C. R., Hornicek, F. J., Boucher, Y., Munn, L. L., & Jain, R. K. 2012. Causes, consequences, and remedies for growth-induced solid stress in murine and human tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, vol. 109(n. 38), pp. 15101.
- Wang, Z., Zhang, L., Sagotsky, J., & Deisboeck, T. S. 2007. Simulating non-small cell lung cancer with a multiscale agent-based model. *Theor Biol Med Model*, vol. 4, pp. 50.