

Master en Ingeniería de Sistemas y Control

Proyecto Fin de Máster

Análisis, modelado y simulación de
sistemas y procedimientos matemáticos
orientados al control del tratamiento de
la Leucemia Mieloide Crónica

Curso 2016-2017

Convocatoria: Febrero 2017



Autor: Gabriel Pérez Rodríguez

Director: Fernando Morilla García

Master en Ingeniería de Sistemas y Control

Proyecto Fin de Máster

Análisis, modelado y simulación de
sistemas y procedimientos matemáticos
orientados al control del tratamiento de
la Leucemia Mieloide Crónica

Curso 2016-2017

Convocatoria: Febrero 2017

Autor: Gabriel Pérez Rodríguez

Director: Fernando Morilla García

Departamento: Informática y Automática (UNED)



Autorización

Autorizo a la Universidad Complutense y a la UNED a difundir y utilizar con fines académicos, no comerciales y mencionando expresamente a sus autores, tanto la memoria de este Trabajo Fin de Máster, como el código, la documentación y/o el prototipo desarrollado.

Madrid, 13 de Febrero de 2017

Firmado: Gabriel Pérez Rodríguez

Agradecimientos

Al Profesor **D. Fernando Morilla García**

por el apoyo, sugerencias y soporte en el desarrollo del PFM

Al **Dr. D. Jorge Sanchez-Calero Guilarte** del Servicio de Hematología del Hospital Universitario de Móstoles y profesor de la Facultad de Medicina de la Universidad “Rey Juan Carlos” por el asesoramiento en la enfermedad Leucemia Mieloide Crónica (LMC).

A los **alumnos de 4º de Medicina** de la Universidad “Rey Juan Carlos” por sus comentarios al modelo del Sistema Hematopoyético

Palabras clave

Leucemia Mieloide Crónica, Sistema Hematopoyético, Modelos matemáticos de la Hematopoyesis, Modelos matemáticos de Leucemia Mieloide Crónica, ITK, Imatinib

Resumen

En la médula ósea tiene lugar la hematopoyesis que es el proceso de producción de células sanguíneas. La enfermedad Leucemia Mieloide Crónica (LMC) tiene su origen en una mutación de una célula madre. Esta enfermedad se manifiesta en edad madura (~55 – 65 años) y la padece entre un 3~4 % por cada 100.000 habitantes.

El tratamiento de la LMC se realiza con fármacos específicos (fármacos diana como *imatinib*, *dasatinib*, etc) que atacan directamente a las células leucémicas. Los enfermos en tratamiento con estos fármacos experimentan una notable mejoría.

Los modelos matemáticos de la LMC presentados en este trabajo intentan explicar en primer lugar (**modelo-1**) el fenómeno de la hematopoyesis en individuos sanos, este proceso se modela mediante un sistema de ecuaciones diferenciales que comprende las diferentes poblaciones celulares que por diferenciación de las células madres se desarrollan y evolucionan en la médula ósea hasta la producción de células maduras en la corriente sanguínea. El resultado del modelo muestra una producción estable y regulada capaz de responder a alteraciones (por ejemplo, pérdida de sangre) con reposición de las poblaciones basales.

En segundo lugar (**modelo-2**), se genera y reproduce el comportamiento de una población de células leucémicas que surge a partir del crecimiento de una célula madre mutada (*cromosoma Filadelfia en las células LMC*) y va a competir con las células sanas. Los modelos sugieren la evolución de la enfermedad en sus fases de crecimiento y crónica.

En tercer lugar (**modelo-3**) y tras el modelado de la LMC se incorpora la acción de un fármaco que actúa en los términos de las ecuaciones diferenciales promoviendo la disminución de las células LMC y al mismo tiempo generando y sugiriendo comportamientos típicos de pacientes en tratamiento.

Un aspecto clave en el tratamiento de esta enfermedad es la aparición de células mutantes como manifestación de la resistencia al fármaco. Esta eventualidad es igualmente incorporada en el **modelo-4** incorporando un tercer bloque de ecuaciones diferenciales. La aparición de una población mutante obliga al incremento de las dosis de fármaco con los riesgos asociados (intolerancias).

Todos los modelos se han simulado usando el paradigma de la dinámica de sistemas de Forrester a través de la herramienta Vensim¹.

¹ <https://vensim.com/>

Índice general

1. Introducción.....	1
1.1 Organización del documento	1
2 El sistema Hematopoyético	3
2.1 Compartimentos celulares	4
2.2 Quiescencia celular.....	6
2.3 Modelos de crecimiento poblacional.....	7
2.4. Regulación homeostática. Señalización	8
2.5. Valores normales de las células sanguíneas en la población normal.....	10
3. Enfermedades asociadas con la Hematopoyesis	11
3.1 Leucemia Mieloide Crónica. Descripción de la enfermedad.....	11
3.2 Origen de la enfermedad. El cromosoma Filadelfia	12
3.3 Fases de la enfermedad LMC.....	13
3.4 Diagnóstico de la enfermedad LMC	14
3.5 Tratamiento.....	14
3.6 La Leucemia Mieloide Crónica en España	16
4. Modelos matemáticos del sistema hematopoyético	17
4.1 Objetivos de modelado y simulación de la LMC.	18
4.2 Diferentes enfoques en el modelado del S.H.....	19
4.3 Modelo de varios compartimentos y varios linajes.	19
4.4 Modelos de varios compartimentos y un solo linaje.....	19
4.4.1 Modelo de 6 compartimentos.....	19
4.4.2 Modelo de 5 compartimentos.....	19
4.4.3 Modelo de 4 compartimentos.....	20
4.4.4 Modelo 2 compartimentos.....	20
4.5 La acción del sistema inmunológico sobre las células LMC	20
4.6. Diferentes paradigmas para el modelado del S.H.....	20
4.7 Modelos matemáticos de la Hematopoyesis y de la enfermedad LMC.....	22
4.8 Hipótesis generales de los modelos	22
4.9 Definiciones	22
5. Modelo matemático del S. H. sano. Modelo-1.....	23
5.1 Ecuaciones del modelo.....	24

5.2	Análisis de las ecuaciones del modelo-1	25
5.2.1	Condiciones de existencia y de equilibrio	25
5.2.2	Propiedades de los parámetros de auto-renovación	27
5.3	Simulación del modelo con herramienta Vensim.	27
5.3.1	Conexión entre compartimentos	28
5.4	Comportamiento del modelo del S.H. en condiciones normales.....	29
5.5	Perturbaciones en la circulación sanguínea.	30
5.5.1	Respuesta de las poblaciones celulares a la perturbación.....	31
5.5.2	Análisis del periodo transitorio	32
5.6	Conclusiones modelo-1	33
6.	Modelos Matemáticos de la enfermedad LMC sin fármacos (Modelo 2).	36
6.1	Objetivos del Modelo-2	36
6.2	Caracterización de la LMC	37
6.3	Propuesta de funciones homeostáticas.	38
6.4	Resumen de objetivos del modelo-2.....	39
6.5	Hipótesis del modelo:.....	40
6.6	Ecuaciones generales del modelo-2.....	40
6.7	Modelos matemáticos del Modelo-2	41
6.7.1	Ecuaciones del Modelo 2.1.....	41
6.7.1.1	Condiciones de existencia y de equilibrio.	43
6.7.1.2	Resumen de comportamientos del modelo.	45
6.7.1.3	Simulación del modelo-2.1 en Vensim.	46
6.7.1.4	Análisis de parámetros de rango amplio.....	46
6.7.1.5	Análisis de parámetros rango estrecho.....	47
6.7.1.6	Parámetros definitivos en comportamiento C3	48
6.7.1.7	Parámetros definitivos en comportamiento C4 (LMC-neutra).....	49
6.7.1.8	Comportamiento LMC ante otros valores de los parámetros.....	51
6.7.2	Ecuaciones del modelo 2.2	51
6.7.2.1	Condiciones de existencia y de equilibrio	52
6.7.2.2	Resumen comportamiento del modelo	52
6.7.2.3	Simulación del Modelo-2.2 en Vensim.....	52
6.7.2.4	Análisis de parámetros de rango amplio.....	53
6.7.2.5	Análisis de parámetros de rango estrecho.....	54
6.7.2.6	Parámetros definitivos en comportamiento C3.....	55

6.7.2.7 Parámetros definitivos en comportamiento C4 (LMC-neutra).....	55
.....	56
6.8 Conclusiones modelo-2	56
7. Modelo Matemático de la enfermedad LMC bajo la acción de fármacos. (Modelo-3). .	61
7.1 Acción del fármaco en fase crónica de la LMC.....	61
7.2 Ecuaciones del modelo-3.....	65
7.3 Condiciones de existencia y de equilibrio	66
7.4 Simulación con herramienta Vensim del modelo 3.	66
7.4.1 Simulación en P.D de 1500 días.....	66
7.4.2 Simulación en Puntos de Diagnóstico (P.D.) anteriores a los 1500 días. .	68
7.5 Conclusiones modelo-3	70
8 Modelos Matemáticos de la enfermedad LMC bajo la acción de fármacos. Aparición de mutantes (Modelo-4).....	75
8.1 Aparición de células mutantes	75
.....	77
8.2 Hipótesis del modelo-4.....	77
8.3 Ecuaciones del modelo.....	78
8.4 Simulación con herramienta Vensim.....	81
8.5 Simulación de mutante extrínseco.....	82
8.6 Conclusiones modelo-4.	83
9 Conclusiones finales y Próximos pasos.....	85
9.1 Conclusiones finales.	85
9.2 Próximos pasos y propuestas de desarrollo.....	88
9.2.1 Propuesta de ampliaciones futuras en los modelos matemáticos de la LMC.	88
9.2.2 Propuesta de desarrollo: Sistema de personalización de LMC (SP-LMC). .	89
Anexo-A Células pluripotenciales. Diferenciación y Quiescencia.....	91
Anexo B. Regulación homeostática. Citoquinas	92
Anexo C. Curvas Bifásicas de pacientes LMC.....	94
Referencias	97

Índice de figuras.

Figura-1. Estructura de los modelos matemáticos del PFM.....	2
Figura-2 Jerarquías celulares del Sistema Hematopoyético. Fuente: Biología molecular de la célula. Autor: Alborts, B. Ed. Omega 2010	4
Figura-3. Anatomía de la médula ósea y del microentorno de producción celular. Fuente: Instituto Nacional del Cancer (USA) http://www.cancer.gov/espanol/instituto	5
Figura-4 Modelo de Sistema Hematopoyético de 6 compartimentos. Fuente: Autor del TFM basado en [45]	5
Figura-5. Ciclo celular con quiescencia	7
Figura-6. Modelado de la quiescencia celular	7
Figura-7. Las citoquinas actúan en compartimentos específicos del S.H.	9
Figura-8 La señalización molecular como elemento regulador de la producción celular	9
Figura 9 Proceso de traslocación entre los genes del cromosoma 9 y el cromosoma 22. Fuente [23].....	12
Figura-10. Fases de la enfermedad LMC. Fuente: [31]	13
Figura-11. Proceso de formación de la proteína Tirosina quinasa Bcr-Abl. Fuente: autor del TFM basado en [23]	14
Figura-12. Caso real de remisión de LMC tras el diagnóstico y tratamiento con Imatinib. Fuente: Hospital Universitario de Móstoles	16
Figura-13. Metáfora de sistema de producción logístico. Fuente: autor TFM	17
Figura-14. Modelos matemáticos planteados en el TFM. Fuente: autor del TFM	18
Figura-15. Entorno varios departamentos y varios linajes	19
Figura16. Modelo 6 compartimentos. Fuente [5]	19
Figura-17 . Modelo de 5 compartimentos	19
Figura-18. Modelo de 4 compartimentos.....	20
Figura-19. Modelo de 2 compartimentos.....	20
Figura-20. Regulación homeostática externa	24
Figura-21 A medida que las células migran a otros compartimentos aguas abajo sus fracciones de auto-renovación disminuyen y las tasas de diferenciación aumentan. Fuente: autor del TFM basado en [5].....	27
Figura-22. Simulación en herramienta Vensim del Modelo-1.....	27
Figura-23. Interacción entre compartimentos de forma compacta	28
Figura-24. Gráfico de poblaciones c1, c2, c3, c4, c5 y c6.....	29
Figura-25. Perturbación provocada por una donación de sangre	30
Figura-26 Respuesta de las diferentes poblaciones a la perturbación.....	31
Figura-27. Incremento de las poblaciones celulares	31
Figura-28 Análisis del periodo transitorio de la perturbación.....	32
Figura-29. Modelo de 6 compartimentos con estado de quiescencia.	34
Figura-30 Evolución de la enfermedad LMC.....	36
Figura-31 Gráfico superior izquierda: Punto de diagnóstico de la LMC. Gráficos inferiores: Volúmenes de células LMC en el diagnóstico. Fuentes [52, 90].....	37

Figura 32. Competencia por citoquinas y por espacio de nicho aplicada a la fracción de auto-renovación.	39
Figura-33 Competencia por citoquinas y por espacio de nicho aplicada como tasa de muerte celular	39
Figura-34. Equilibrio población sana	44
Figura-35 Equilibrio de población LMC y declive de población sana.....	44
Figura-36. Bi-estabilidad de las dos poblaciones.....	45
Figura-37. Bi-estabilidad de ambas poblaciones con predominio de la sana	45
Figura-38 Modelo Vensim de las poblaciones sanas y leucémica	46
Figura-39. Análisis de sensibilidad en el espacio paramétrico $\theta_i \times \theta_l$ *	47
Figura-40 Comportamiento de las poblaciones leucémicas (izquierda) y la sana (derecha) con un espacio de parámetros de margen estrecho	47
Figura-41. Evolución del porcentaje sanas versus LMC.....	48
Figura-42. Evolución de las poblaciones LMC y sanas	48
Figura-43 Variación de poblaciones para la LMC-neutra	49
Figura-44. Bi-estabilidad con predominio de células sanas. LMC neutra.....	50
Figura-45 Diferentes dinámicas poblaciones LMC-sanas	51
Figura-46 Análisis de sensibilidad poblaciones LMC y sanas (gráficos superiores).	53
Figura-47. Variación de las poblaciones celulares LMC sanas en análisis de sensibilidad (gráficos superiores). Variación porcentaje modelo-2.2 (inferior izquierda) versus modelo-2.1 (inferior derecha).....	54
Figura-48 Evolución población LMC y sana (izquierda). Porcentaje sanas versus LMC (derecha).....	55
Figura-49 Evolución LMC-neutra	56
Figura-50 Evolución de población LMC y sanas (gráficos superiores). Evolución de porcentajes de sanas versus LMC.....	57
Figura-51 Modelo de Neiman B. de la fase acelerada de la LMC	58
Figura-52 Modelo de LMC en fase blástica. Modelo Wodarz [69]	58
Figura-53 Arquitectura integrada de las distintas fases de la LMC	59
Figura-54 Actuación del fármaco imatinib en los diferentes compartimentos LMC.....	63
Figura-55 La acción del fármaco	64
Figura-56 Difusión del fármaco hacia la médula ósea	64
Figura-57. Resultados de la acción del fármaco en las distintas poblaciones	67
Figura-58 Porcentaje BCR-ABL/ABL	67
Figura-59 Ratios BCR-ABL obtenidos en diferentes puntos de diagnóstico	68
Figura-60 Comportamiento del ratio BCR-ABL/ABL en diferentes P.D. al disminuir la dosis un 10 y 20%.....	69
Figura-61 Evolución del porcentaje del volumen poblacional LMC	70
Figura-62 Fases del ratio BCR-ABL/BCR	71
Figura-63 Porcentaje BCR-ABL/ABL para un paciente. Fuente: [32]	72
Figura-64 Personalización del modelo-3 a los datos de un paciente.	73
Figura-65 Propuesta de sistema personalizado LMC. Fuente: autor del PFM	73
Figura-66 Número de mutaciones más frecuentes	75
Figura-67 Aparición de células mutantes en el transcurso del tratamiento	76
Figura-68 Aparición de múltiples poblaciones mutantes. Fuente: [32]	77

Figura-69 Dinámica de	78
Figura-70 Tasa de generación de población mutante	80
Figura-71 Modelo Vensim para tres poblaciones (sanas, LMC y LMC-mutantes).....	81
Figura-72 Curvas ratio BCR-ABL de población LMC con mutantes. Personalización datos pacientes.....	82
Figura-73 Porcentaje sanas versus LMC en modelos 2.1 y 2.2.....	86
Figura-74 Sistema de Seguimiento Personalizado de Pacientes con LMC (SP-LMC). Fuente de la imagen: www.sosmedichat.com	89
Figura-75 Quiescencia en células madre del S.H.. Fuente:autor del PFM basado en [101, 99, 98].....	91
Figura-76. Auto-renovación y proliferación celular desde el punto de vistas estocástico...	93
Figura-77.Enfoque estocástico versus enfoque determinista	93
Figura-78. Curvas bifásicas de pacientes del Hospital Universitario de Móstoles	96

Índice de tablas

Tabla 1. Volúmenes celulares en sangre en individuos adultos sanos. Fuente [6]	10
Tabla 2. Incidencia de la enfermedad LMC en varias regiones españolas [41]	16
Tabla-3.Parámetros y valores poblacionales de equilibrio en modelo-1	26
Tabla-4 Respuesta de las poblaciones celulares a la perturbación	31
Tabla 5. Porcentajes celulares en quiescencia	34
Tabla 6. Componentes de la arquitectura integrada de fases de la LMC.....	60
Tabla 7. Tasas de la acción del fármaco.....	62
Tabla 8. Comportamiento de la reducción de dosis de fármaco en función del P.D.	70
Tabla 9. Tasas de población mutante LMC.....	83
Tabla 10. Valores de las tasas de fármacos administradas cuando hay mutante	83
Tabla 11. Propuestas de desarrollos adicionales de los modelos	88

Capítulo 1

1. Introducción

La Leucemia Mieloide Crónica (LMC) es una enfermedad que se desarrolla dentro de la médula ósea y ocasiona una proliferación incontrolada de células mutadas que se acumulan en la médula ósea y en la sangre. Es una enfermedad grave pues si esta proliferación no se detecta y controla puede producir la muerte. El tratamiento actual consiste en fármacos diana que actúan sobre estas células frenando su reproducción y en algunos casos provocando su total desaparición. Existen enfoques científicos muy diferentes, basados en modelos matemáticos, que han abordado esta enfermedad.

Este proyecto fin de máster pretende profundizar en los procesos que tienen lugar en la médula ósea y en la corriente sanguínea y que dan lugar a la LMC utilizando para ello modelos matemáticos y una herramienta de simulación de los mismos (Vensim).

1.1 Organización del documento

El **capítulo 2** de la memoria explica el funcionamiento del sistema hematopoyético (S.H.) como el proceso de producción de células de la sangre. La médula ósea es el entorno en el que se desenvuelve el proceso. Para el planteamiento de un modelo matemático del S.H es necesario en primer lugar concretar el entorno del modelo, los objetos del entorno y la interacción entre los mismos.

En el **capítulo 3** se describe la enfermedad LMC, su formación, fases de crecimiento y recomendaciones para su diagnóstico. Destacamos una característica del tratamiento como son las curvas bifásicas en las que se mide la evolución de la población LMC tras el tratamiento. En anexo C se muestran curvas bifásicas de pacientes del Hospital Universitario de Móstoles. Algunas de estos tratamientos han servido de patrones de ajuste para el modelado de la LMC.

En el **capítulo 4** se describen los diversos enfoques de modelos matemáticos de la LMC según diversos autores y con distintas hipótesis de entorno. Proponemos una estructura de desarrollo del PFM consistente en el desarrollo de modelos matemáticos acordes con la

evolución de la enfermedad (figura-1). Todos los modelos se basan en sistemas de ecuaciones diferenciales (EDOs). En el **modelo-1** se modela un S.H. sano que produce diariamente un volumen celular suficiente para reponer la merma de células desechadas por el organismo. En el **modelo-2** aparece un nuevo bloque de EDOS que representa una célula mutante que va a evolucionar con el tiempo (células leucémicas) y va a competir por recursos con las sanas. En el **modelo-3** se introduce la acción de un fármaco que va a actuar contra las células LMC. En el **modelo-4** se incorpora un nuevo bloque de EDOs que representan la aparición de una célula mutante como consecuencia de su resistencia al fármaco.

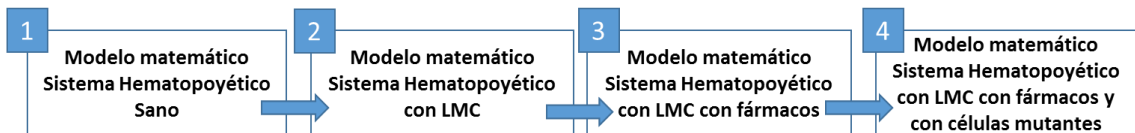


Figura-1. Estructura de los modelos matemáticos del PFM

En los **capítulos 5, 6, 7 y 8** se implementan los modelos anteriores. En el **capítulo-9** se exponen las conclusiones del PFM y propuestas de futuros desarrollos. Se incluyen anexos con información complementaria así como la bibliografía que ha servido de soporte al desarrollo del PFM.

Capítulo 2

2 El sistema Hematopoyético

Diariamente se producen en nuestro organismo cantidades extraordinarias de células sanguíneas. En condiciones normales de salud en una persona de 60 kg de peso, la producción es de: $2,21 \times 10^{11}$ eritrocitos, leucocitos y plaquetas² entre otras [1]. Lo anterior compensa la pérdida diaria de dichas células de tal manera que, en condiciones normales, los niveles de circulación de eritrocitos, leucocitos y plaquetas se mantienen constantes.

El proceso a través del cual se generan las células de la sangre se denomina hematopoyesis y ocurre bajo condiciones muy específicas en el interior de los huesos, en la llamada *médula ósea*. Al conjunto de mecanismos biológicos que intervienen se le denomina Sistema Hematopoyético (que lo denominaremos S.H.) o hematopoyesis.

La hematopoyesis es un proceso extraordinariamente complejo en el que intervienen una gran variedad de tipos celulares y que está regulado por diversos factores. Hoy en día, y gracias al avance de diversos campos de la biología se ha logrado obtener un panorama muy amplio y detallado de este proceso. Intervienen tres tipos de células: las células madres que generan las denominadas células troncales que, a su vez proliferan y se diferencian en los distintos linajes celulares (rama linfóide y rama mieloide) que finalmente producen las células maduras circulantes en la corriente sanguínea y en los tejidos (por ejemplo, eritrocitos, granulocitos, linfocitos, monocitos, plaquetas, etc.).

² Para un adulto de 60 kg: según Mackey, M.C [1] la producción diaria de eritrocitos, leucocitos y plaquetas es de $3,6 \times 10^{11}$, en Mayoni, H. [21] es de 2×10^{11} y en Dingli, D. [17] es de $1,75 \times 10^{11}$. En [100] consideran una producción $>10^{11}$. En [101] consideran $4,2 \times 10^{11}$ células por día. En MacLean *et al* $1,82 \times 10^{11}$. Para este trabajo hemos adoptado un valor promedio de los anteriores: $2,21 \times 10^{11}$ por día para un adulto de 60 kg.

En la figura-2 se muestra el modelo clásico denominado *modelo de sucesión clonal de células hematopoyéticas* [2] en el que todas células maduras de la sangre periférica son la progeñie de una sola célula madre hematopoyética. Un modelo alternativo es el denominado *modelo de diversidad clonal* [3] en el que proponen distintos tipos de células madre capaces de contribuir a la formación de todos los linajes. Este trabajo lo basamos en el modelo de la figura-2.

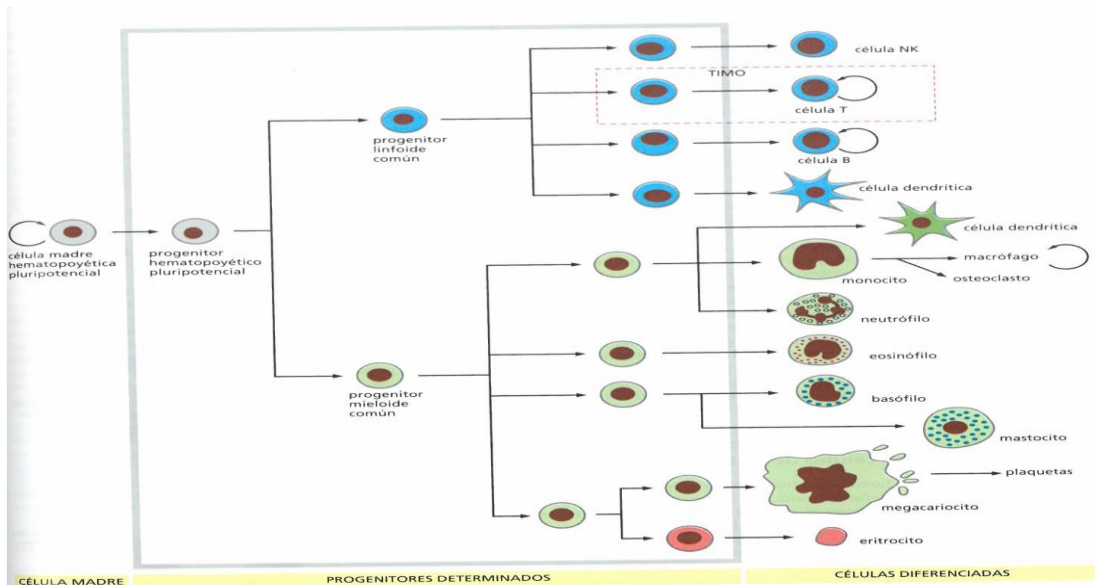


Figura-2 Jerarquías celulares del Sistema Hematopoyético. Fuente: Biología molecular de la célula. Autor: Alborns, B. Ed. Omega 2010

En esta jerarquía se diferencian dos ramas: la *rama linfoide* que da origen a células del sistema inmunológico (parte superior de la figura) y la *rama mieloide* que da origen a diferentes células con funcionalidades específicas (glóbulos rojos, plaquetas, etc). Las alteraciones en la hematopoyesis pueden conducir a situaciones de sobreproducción de células hematopoyéticas (como las leucemias), o a una producción deficiente de las mismas (como la anemia).

2.1 Compartimentos celulares

Para una mejor comprensión del fenómeno, el conjunto de células de la médula ósea se divide en *compartimentos* según los grados similares de madurez y de linaje. Esta división es teórica y sirve como clasificación de la evolución celular. El conjunto de células de iguales características se asocian a un *compartimento* que es un concepto muy útil para la realización de los modelos matemáticos.

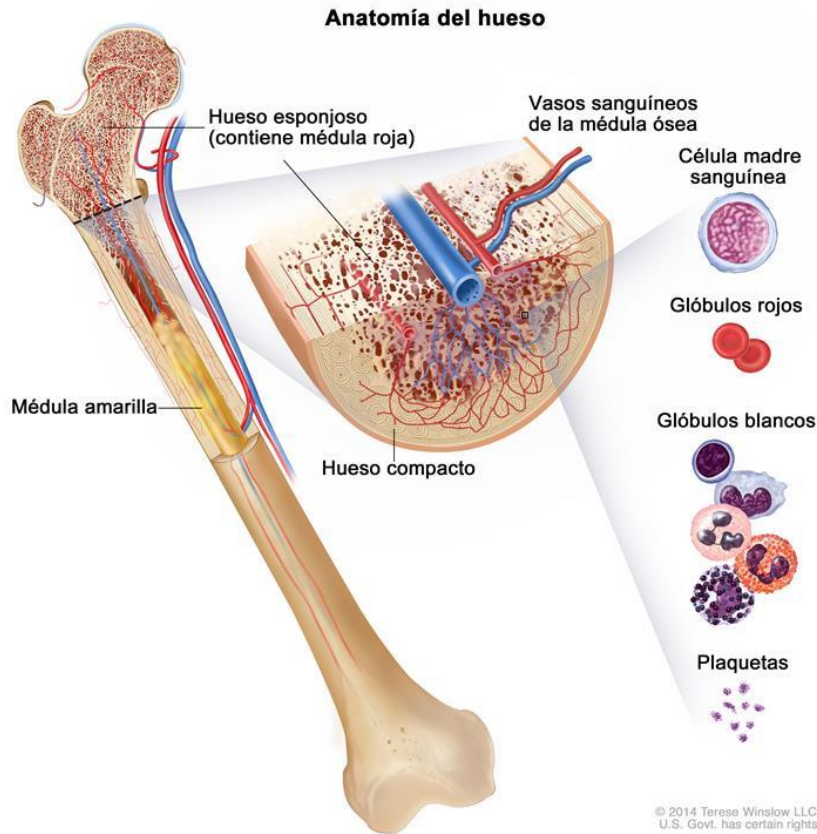


Figura-3. Anatomía de la médula ósea y del microentorno de producción celular. Fuente: Instituto Nacional del Cancer (USA) <http://www.cancer.gov/espanol/instituto>

La figura-3 muestra la anatomía de la médula ósea que se ubica en la parte denominada hueso esponjoso. Se observan igualmente los vasos sanguíneos que conectan la médula con la sangre periférica. Los autores Kirouac *et al* [4] exploran el comportamiento de células hematopoyéticas *in vitro* en el que detectan 20 compartimentos celulares. Otros autores [5] [6] simplifican la jerarquía en 5 o 6 compartimentos, así según A. Marciniak *et al* [5] el S.H. se asocia a 6 compartimentos (figura-4):

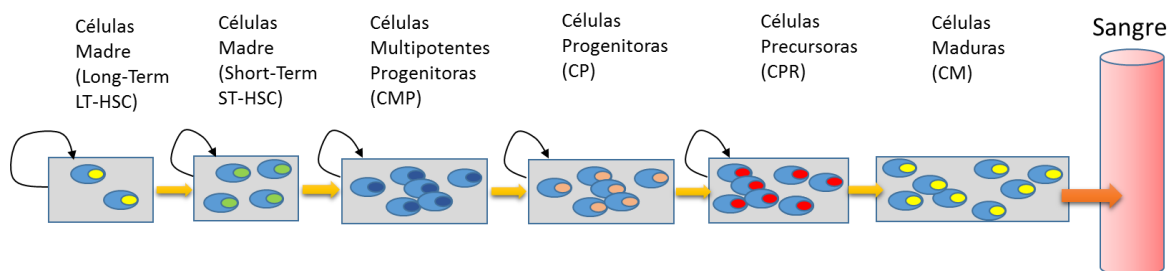


Figura-4 Modelo de Sistema Hematopoyético de 6 compartimentos. Fuente: Autor del TFM basado en [45]

- El primer compartimento corresponde a las células más primitivas, que son las células madre (denominadas también células *long-term stem*) con sus características de auto-renovación y su *multipotencialidad* (capacidad para diferenciarse en otras células). Estas células pueden mantener la hematopoyesis indefinidamente y bajo condiciones de equilibrio (*steady state*) una gran mayoría de estas células están en estado de reposo (quiescencia celular) [2].

- Las células *madre* dan origen a células madre a corto plazo (*short-term stem*), estas son células activas con capacidad de auto-renovación y diferenciación entre 6-8 meses [2].
- El tercer compartimento se asocia a *células multipotentes progenitoras* con capacidad de auto-renovación más baja pero con gran potencial para la diferenciación entre 4-6 semanas.
- El cuarto compartimento está constituido por *células progenitoras* ya comprometidas con un linaje con capacidad menor de auto-renovación y altas capacidades de proliferación.
- El quinto los constituyen las células que están en vías de preparación muy avanzada, son las denominadas *células precursoras*.
- El sexto compartimento lo constituyen las *células maduras* listas para cumplir su función en la corriente sanguínea periférica.

Las características de las células madre del S.H se pueden resumir en [7]:

1. Habilidad de auto-renovación.
2. Mantenimiento de un *pool* de células madre.
3. Generar múltiples tipos celulares a través la división celular asimétrica.
4. Regenerar poblaciones celulares después de un cultivo *ex vivo*³.
5. Pasar a un estado de quiescencia (reposo) que permita alargar su tiempo de vida.

En Anexo-A se detallan otras características del proceso S.H.

2.2 Quiescencia celular

El objetivo de este punto es revisar la división celular específica de las células madre hematopoyéticas incorporando el estado quiescencia. Las células se reproducen mediante un ciclo de división en el que primero se duplica su contenido y luego se dividen en dos células hijas. Los detalles de la división celular pueden variar pero hay dos requerimientos imprescindibles: que el ADN de la célula madre se replique exactamente y que los cromosomas replicados se segreguen entre las dos células hijas. Se puede considerar la quiescencia como un mecanismo regulador del equilibrio poblacional de las células del S.H. Cuando una célula madre adopta el estado de quiescencia (figura-5) temporalmente detiene su ciclo celular hasta que se activa nuevamente [8]. Esto ocurre por ejemplo, si en el momento actual no hay necesidad de una producción adicional de células. El 75% de las células madre a *largo plazo (long-term stem cell)* permanecen en estado de quiescencia [9].

³ El término *ex vivo* se refiere a los experimentos o medidas realizados en o sobre tejidos biológicos de un organismo en un ambiente artificial fuera del organismo con las alteraciones mínimas de las condiciones naturales. *In-vivo* se refiere a experimentación hecha dentro o en el tejido vivo de un organismo vivo. *In-vitro* se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. *In-silico* es una expresión que significa "hecho por computadora o vía simulación computacional".

En las poblaciones de células LMC se han observado pequeños grupos en estado de quiescencia, detenidas en la fase Q_0 (tal como se denomina este estado) [2, 10, 11]. Esto contrasta con las células madre sanas en las que la mayoría pueden estar en estado de

quiescencia. La entrada de células leucémicas en Q_0 es un proceso más frecuente en los compartimentos superiores.

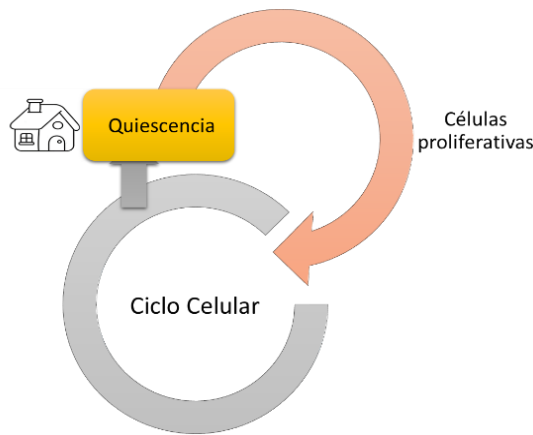


Figura-5. Ciclo celular con quiescencia

Las células en estado de reposo tienen la habilidad de salir espontáneamente de este estado y entrar en el proceso regular de división celular (figura-5) [12]. En [13] se realiza un detallado estudio de la quiescencia en células madre destacando el carácter regulador y protector de este estado celular.

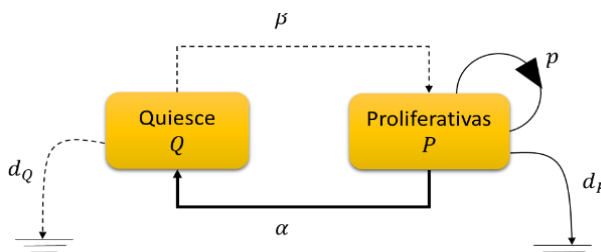


Figura-6. Modelado de la quiescencia celular

En muchos tumores (incluyendo la LMC) las células madre tumorales adoptan la estrategia del paso a la quiescencia como medida de protección. Por tanto y desde el punto de vista de modelado (figura-6), hay células proliferativas que con tasa α pasan a estado de quiescencia mientras otras células siguen proliferando con tasa p . Por otra parte se ha demostrado el paso del

estado de reposo al proliferativo con tasa β y hay autores [10, 14] que afirman que la tasa β es menor que la tasa α .

El mecanismo de la figura-6 puede ser también considerado como un mecanismo de regulación a través del cual la población (tumoral o no) se asegura un crecimiento continuado. Una merma en el volumen de células proliferativas implicaría un “despertar” de células en reposo para iniciar el ciclo celular, es decir convertirse en proliferativas y de esta forma compensar la pérdida. En [14] se afirma: “*la quiescencia es un proceso fundamental que regula la cinética de la proliferación celular especialmente en células madre*”

2.3 Modelos de crecimiento poblacional

El crecimiento de una población celular perteneciente al compartimiento i , viene regulado de forma individual por el ciclo celular que hemos comentado en el punto anterior. Este crecimiento desde el punto de vista de los modelos matemáticos que trataremos en este trabajo, está determinado por tres parámetros:

- a) **Tasa de proliferación.** [3, 4, 5] Es la capacidad de división celular de una célula en un instante dado t . La división *simétrica* (ambas células hijas comparten el mismo destino: ser idénticas a su madre o ser diferentes) o *asimétrica* (una igual y otra diferente a la

- madre) es considerada por algunos autores como un mecanismo de regulación para determinar el destino de la progenie (ser iguales que la madre o diferenciarse) [15].
- b) **Fracción de auto-renovación**⁴. Capacidad de generación de células hijas iguales a las células madre y que por tanto permanecerán en el mismo compartimento i . [5, 4]. Algunos autores caracterizan la auto-renovación como una probabilidad [16, 17]. Desde el punto de vista matemático ambos conceptos son equivalentes si la fracción de auto-renovación $\in [0,1]$.
- c) **Fracción de diferenciación**. En cuanto a la capacidad de generar células diferentes a la progenitora y que migrarán al compartimento $i + 1$ (Fracción de diferenciación = $1 -$ fracción de auto-renovación) [5, 17].

Existen diferentes modelos de crecimiento globales (la población celular en su conjunto):

- a) **Crecimiento exponencial**. Caracterizado por una tasa de crecimiento y una evolución creciente en el tiempo.
- b) **Crecimiento asintótico**. Caracterizado por un crecimiento de la población hasta un límite relacionado con la capacidad de los recursos disponibles. En los modelos biológicos se plantean (entre otros) los modelos:
- i. Crecimiento Logístico
 - ii. Crecimiento Gompertz

Se ha comprobado que en ciertos tumores su crecimiento poblacional sigue un modelo tipo Gompertz [18].

2.4. Regulación homeostática. Señalización

Como hemos mencionado en los puntos anteriores, el objetivo del S.H. es la producción celular necesaria para mantener los niveles de equilibrio demandados por los diferentes órganos y tejidos del ser vivo con el objetivo de cumplir sus funciones vitales. Este fenómeno de autorregulación en los seres vivos se conoce con el nombre de homeostasis. El fisiólogo francés Claude Bernard (1813-1878) fue el descubridor de estos mecanismos y los caracteriza como *“todos los mecanismos vivientes, tan variados como son, tienen un solo objetivo: el de preservar constantes las condiciones de la vida en un medio interno”* [19]

A este respecto, la dinámica de producción celular del S.H. está regulada por señalizaciones homeostáticas muy diversas y especializadas [20]. Estas señalizaciones que llegan a la médula ósea procedentes de diferentes órganos, están constituidas por moléculas de sustancias que promueven el crecimiento celular y es una de las muchas manifestaciones de la homeostasis. Existen varios tipos de señalización:

- La trombopoyetina (THPO) también conocida como el factor de crecimiento de células megacariocitos (MGDF) es una hormona generada por el hígado y riñón.

⁴ Este concepto está relacionado con la división celular simétrica y asimétrica. Por otra parte, hay autores [24] que prefieren denominar este fenómeno como “auto-replicación” en vez de “auto-renovación”, aducen que esta última denominación implica una recuperación de una propiedad perdida lo que implicaría una reversibilidad en el proceso S. H. Entendemos que se trata de un enfoque semántico.

Estimula la producción y diferenciación de megacariocitos y por ende de plaquetas como células maduras.

- La **eritropoyetina** o simplemente EPO es una hormona que estimula la formación de eritrocitos y es el principal agente estimulador de la eritropoyesis natural y en definitiva de la producción de glóbulos rojos. En los seres humanos, es producida principalmente por el riñón (del 85 al 90 %), el resto en el hígado y glándulas salivales (del 10 al 15 %).
- El **factor estimulante** de colonias de granulocitos (**G-CSF, GCSF o CSF 3** por sus siglas en inglés (*Granulocyte colony-stimulating factor*), es una glicoproteína que se produce en diferentes tejidos y promueve la maduración de células precursoras localizadas en la médula ósea a neutrófilos, un tipo de glóbulo blanco presente en la sangre. Cuando tiene lugar una infección bacteriana, la liberación de G-CSF aumenta de forma natural, debido a que algunos componentes del agente infeccioso estimulan su producción. El G-CSF produce un aumento en la maduración de los neutrófilos y su liberación a la sangre. Los neutrófilos a su vez atacan a los agentes infecciosos, favoreciendo su destrucción.

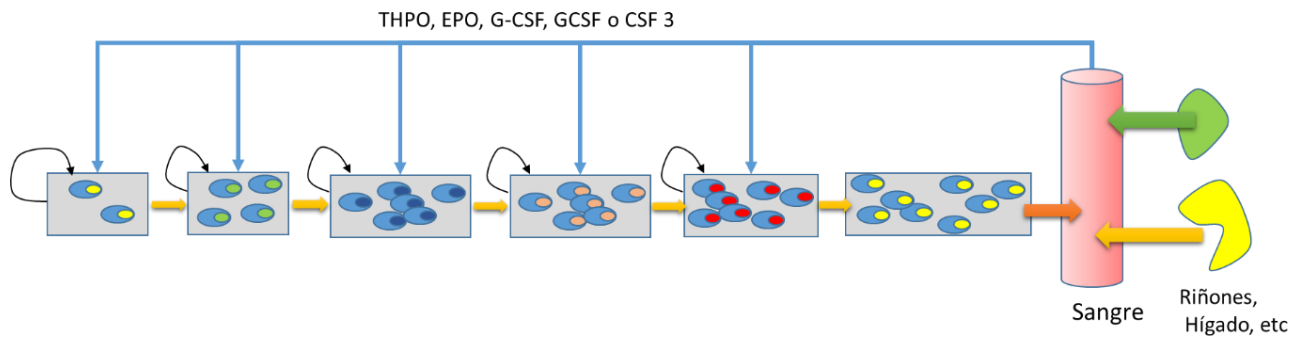


Figura-7. Las citoquinas actúan en compartimentos específicos del S.H.

Los dos grupos de linajes (el mieloide y el linfóide) están regulados individualmente por los factores mencionados anteriormente que actúan como señales de **retroalimentación negativa** (a mayor concentración de células maduras en la corriente sanguínea menor concentración de señales en la médula ósea). Como simplificación del modelo matemático se considera que cada linaje está regulado por una única *citoquina* (nombre genérico que

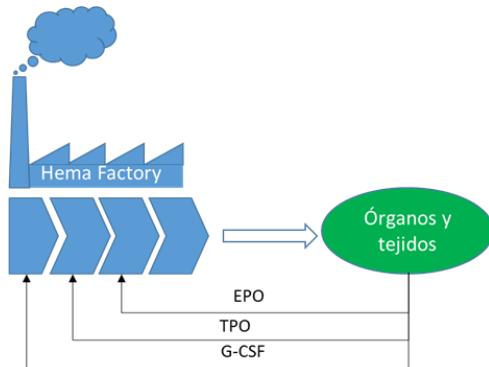


Figura-8 La señalización molecular como elemento regulador de la producción celular del S.H. (metáfora logística)

empleamos para designar a las moléculas de señalización por retroalimentación negativo). Los modelos matemáticos del S.H. incorporan la homeostasis como componente regulador del sistema.

La figura-7 muestra la generación de citoquinas, estas moléculas se acoplan en las capas celulares produciendo los fenómenos regulatorios mencionados. Cada señal es recibida por células de un compartimento para producir el efecto deseado. En los modelos que detallamos en este PFM trataremos con más detalle la regulación homeostática. La figura-8 enfoca la homeostasis como elemento de retroalimentación desde la metáfora logística.

Este enfoque lo trataremos más adelante en el modelo-1. En el anexo B se describen con más detalle los mecanismos de regulación así como el papel de las citoquinas en la estimulación de la producción celular.

2.5. Valores normales de las células sanguíneas en la población normal

Glóbulos rojos (eritrocitos)	Transportan O_2 y CO_2	5×10^{12}
Glóbulos blancos (leucocitos)		
Neutrófilos	Fagocitan y destruyen bacterias invasoras	5×10^9
Eosinófilos	Destruyen parásitos y modulan respuestas inflamatorias de tipo alérgico	2×10^8
Basófilos	Liberan histamina en ciertas reacciones inmunitarias	4×10^7
Monocitos	Se convierten en macrófagos y pueden fagocitar y digerir microorganismos invasores, cuerpos extraños y células envejecidas	4×10^8
<i>Linfocitos</i>		
Células B	Fabrican anticuerpos	2×10^9
Células T	Eliminan células infectadas por virus y regulan la actividad de otros leucocitos	1×10^9
Células citotóxicas	Eliminan células infectadas por virus y algunas células tumorales	1×10^8
Plaquetas	Inician el proceso de coagulación	3×10^{11}

Tabla 1. Volúmenes celulares en sangre en individuos adultos sanos. Fuente [21]

Capítulo 3

3. Enfermedades asociadas con la Hematopoyesis

En la hematopoyesis participan muchos tipos de células y muchos productos moleculares para la señalización tanto interna como externa. Todos estos componentes actúan de forma coordinada para permitir que la producción de células sanguíneas ocurra de manera controlada para alcanzar un equilibrio permanente que garantice la salud.

Es claro que al ocurrir alteraciones en alguno de esos componentes del sistema hematopoyético la producción de células sanguíneas puede verse modificada, de manera que los niveles de células circulantes (en sangre) desciendan o se incrementen por encima de sus valores normales; cualquiera de estas condiciones puede conducir a enfermedades. Se han detectado hasta 44 anomalías diferentes relacionadas con la producción y la circulación sanguínea [22]. Dentro de este grupo, la enfermedad que nos ocupa es la **Leucemia Mieloide Crónica (LMC)**.

3.1 Leucemia Mieloide Crónica. Descripción de la enfermedad

La leucemia es un cáncer de la médula ósea y la sangre. Los cuatro tipos de leucemia son la leucemia mieloide aguda (LMA), la leucemia mieloide crónica (LMC), la leucemia infoblástica aguda (LIA) y la leucemia linfocítica crónica (LLC). A su vez estos tipos principales de leucemia se clasifican en varios subtipos en base a las características específicas de las células. La rama mieloide de las leucemias se denomina así porque afecta a cambios en los linajes celulares que generan los glóbulos rojos, blancos y plaquetas que forman la ramificación mieloide del sistema hematopoyético [23].

La leucemia mieloide crónica (LMC) surge como consecuencia de un cambio (mutación) en el ADN de **una sola célula madre sana** de la médula ósea. Esta mutación es “adquirida” (no está presente al nacer [24]). La célula mutada de la médula se multiplica en varias células. Las células LMC proliferan y sobreviven mejor que las normales porque tienen una mayor capacidad de auto-renovación y diferenciación (*fitness* [25]). Como resultado de lo anterior hay un aumento de células LMC en la sangre originado por una sobreproducción de células mieloides maduras e inmaduras en la sangre periférica [26]. Este aumento (al menos en sus etapas iniciales) no interfiere con el desarrollo de las células sanas (glóbulos rojos, glóbulos

blancos, etc) por lo que la LMC suele ser menos seria (en sus inicios) que la leucemia aguda [23].

Una guía muy completa de la enfermedad LMC (orientada a pacientes) se puede obtener en https://www.lls.org/sites/default/files/file_assets/PS31S_CML_Booklet_2014_Spanish_FIN_AL.pdf

3.2 Origen de la enfermedad. El cromosoma Filadelfia

Las células normales tienen 23 pares de cromosomas, 22 pares más el par de caracterización sexual (XX para una mujer y XY para un hombre) que constituye el par 23. En 1960, dos médicos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Pennsylvania en Filadelfia, observaron que en los pacientes con LMC el cromosoma 22 es más corto que el mismo cromosoma en células normales. A este cromosoma se le denominó “cromosoma Filadelfia”.

En estudios posteriores se demostró [27] que en las células tipo LMC los cromosomas 9 y 22 eran anormales. Una porción del cromosoma 9 se mueve hacia el extremo del cromosoma 22 y además una porción del cromosoma 22 se mueve hacia el extremo del cromosoma 9

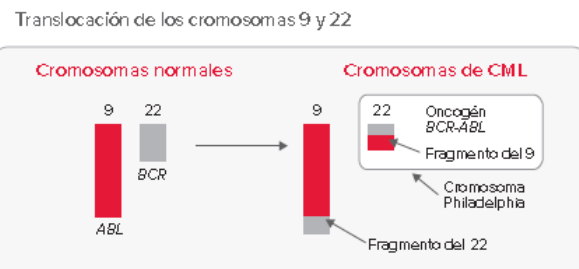


Figura 9 Proceso de traslocación entre los genes del cromosoma 9 y el cromosoma 22. Fuente [23]

(figura-9). Este intercambio de partes de los cromosomas solo se encuentra en células LMC. Una teoría que los científicos han propuesto sobre la causa de este cambio es que, cuando las células se están dividiendo, los cromosomas 9 y 22 están muy cerca entre sí, haciendo más probable el error.

La ruptura en el cromosoma 9 provoca una mutación del gen llamado “ABL” (iniciales de uno de los científicos descubridores de la mutación). La ruptura del cromosoma 22 afecta al gen “BCR”. Por tanto, el gen ABL mutado se mueve al cromosoma 22 y se fusiona con la porción restante del gen BCR. El resultado de esta fusión es el gen causante de la leucemia denominado BCR-ABL, estos genes dan instrucciones a las células para la producción de proteínas. En este caso, el gen BCR-ABL produce una proteína denominada “tirosina quinasa Bcr-Abl” que provoca una regulación anormal de la proliferación y supervivencia de células y es responsable de la enfermedad LMC. La tirosina quinasa Bcr-Abl es el objetivo de los fármacos específicos (*imatinib*, por ejemplo [28]). Existen evidencias de que las células LMC poseen características de células madre y en consecuencia con capacidad de generar linajes celulares especialmente en la rama mieloide [2, 11].

Todavía no se conocen muy bien las causas del por qué el gen BCR-ABL se forma en algunas personas y en otras no. Hay autores que sostienen que la mutación aparece en el 3 % de individuos sanos [29, 30] y que no progresa a la enfermedad LMC debido a una baja proliferación de las células BCR-ABL lo que permite una convivencia con las células maduras sanas sin perjuicio para la salud y que finalmente son eliminadas por el sistema inmunológico (a esta situación la denominamos LMC-neutra). La mayoría de los casos de

LMC se presentan en adultos, la edad media en el momento de diagnóstico es de 66 años. La incidencia media se estima entre 3 a 4 % por cada 100.000 individuos.

3.3 Fases de la enfermedad LMC

La evolución de la enfermedad sin la administración de fármacos se manifiesta en cuatro fases (figura-10):

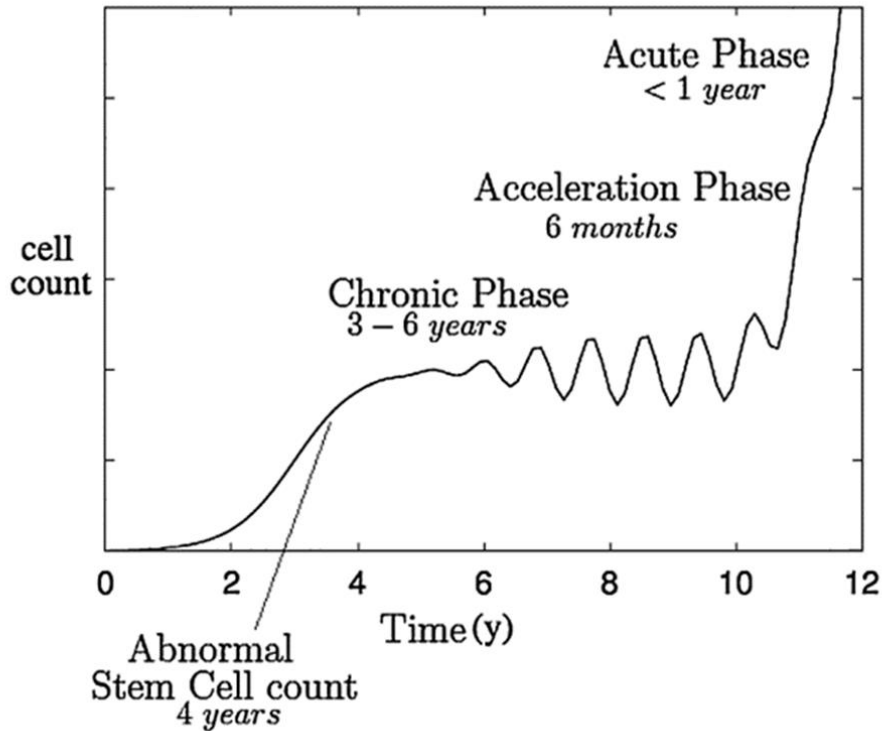


Figura-10. Fases de la enfermedad LMC. Fuente: [31]

Fase de crecimiento. La duración de esta fase comienza con la aparición en una célula con el gen BCR-ABL; su duración se estima en $\approx 4 - 5$ años. En esta fase los pacientes no tienen por lo general ningún síntoma, no obstante puede ser detectada por un análisis rutinario de sangre y posteriormente otro más específico (análisis molecular). Es en esta fase en la que actualmente se produce un elevado porcentaje de diagnósticos (> 90 % en España [32]) .

Fase Crónica. En esta fase hay una elevada producción diaria de células LMC lo que provoca un declive de la población de células sanas, tanto en la médula como en la sangre. Se acusan los primeros síntomas: cansancio, dificultades de respiración, inflamación del bazo (esplenomegalia), palidez debido a la anemia, sudoración nocturna entre otros [23].

Fase acelerada. En algún momento y en ausencia de fármacos ($\approx 6 - 7$ años desde el comienzo de la LMC) la fase crónica deja de ser estable (para las células LMC) dando paso a una inestabilidad conocida como fase acelerada de una duración de ≈ 6 meses [23, 31] en las que se presentan unas variaciones en los volúmenes de células LMC.

Fase aguda (crisis blástica). Esta fase recibe su nombre de los glóbulos blancos inmaduros (conocidos como blastos) que pueden ocupar gran parte de la médula ósea. En esta fase la

cantidad de células LMC aumenta con tasa exponencial tanto en la médula ósea como en la sangre [23]. En el transcurso de esta fase se provocan graves desórdenes en órganos vitales.

3.4 Diagnóstico de la enfermedad LMC

El diagnóstico y el tratamiento dependen de la fase de LMC en la que se encuentre el paciente. Si el paciente se encuentra en los inicios de la fase de crecimiento es normalmente asintomático y la enfermedad puede ser detectada por un análisis de sangre rutinario y otro específico.

Si se encuentra en estado avanzado de la fase de crecimiento o inicios de la fase crónica el paciente presenta los primeros síntomas de la enfermedad, en este caso además de los análisis de sangre convencionales, se realiza un análisis molecular de una muestra celular de la médula ósea en el que se determina:

a) la existencia del gen BCR-ABL

b) el porcentaje de células LMC respecto a las sanas y de este modo se encuadra la enfermedad en su fase correspondiente (crónica, acelerada o blástica). Actualmente en torno al 90 % de los pacientes se encuentran en los inicios de la fase crónica cuando se les diagnostican [33] (este porcentaje se determina como mencionamos más adelante, por el ratio denominado BCR-ABL/ABL).

3.5 Tratamiento

La Leucemia mieloide crónica (LMC) es el primer cáncer humano con tratamiento molecular (fármacos “diana”). El fármaco imatinib⁵ es un potente inhibidor de la tirosina kinasa Bcr-Abl e induce a una remisión en todos los estados de la enfermedad (figura-11). Sin embargo, en muchos pacientes permanecen células residuales en la médula ósea que pueden originar un repunte de la LMC (células en estado de quiescencia o mutaciones). Estudios clínicos han demostrado [2, 34] que estas células residuales forman parte de las células leucémicas madre en estado de quiescencia. Este tipo de fármacos se denominan Inhibidores de la Tirosina Quinasa (ITK). Utilizaremos también el acrónimo ITK para referirnos a estos fármacos en este trabajo.

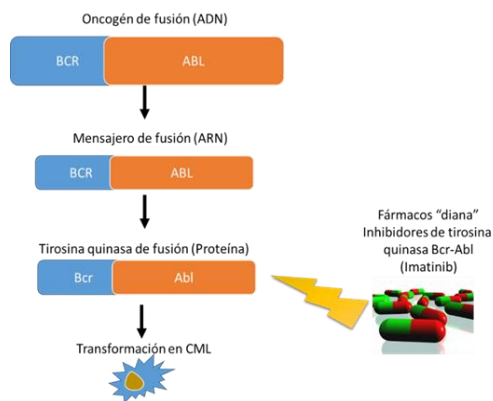


Figura-11. Proceso de formación de la proteína Tirosina quinasa Bcr-Abl. Fuente: autor del TFM basado en [23]

Lo anterior pone de manifiesto la incapacidad de los fármacos ITK en destruir las células leucémicas madre en estado de quiescencia y por ende su capacidad de proliferación [35]. Por otra parte, una fracción de pacientes desarrollan una resistencia o una intolerancia al fármaco [36]. El origen de la resistencia se debe a mutaciones de células LMC producidas durante la administración continuada del fármaco, estas mutaciones adquiridas se denominan extrínsecas [37]. A veces las mutaciones resistentes están ya presentes antes del tratamiento farmacológico y fueron generadas en los momentos iniciales de la enfermedad (mutaciones intrínsecas o clones) [38].

⁵ <https://www.novartis oncology.com/news/product-portfolio/glivec>

El objetivo del tratamiento en la *fase crónica* es restaurar los conteos sanguíneos hasta niveles normales, reducir drásticamente las células LMC y que el paciente tenga una calidad de vida aceptable. Actualmente existen varios fármacos ITK: *imatinib*, *dasatinib*, *nilotinib*, *bosutinib*, *Ponatinib* [38] como terapia inicial para la LMC en fase crónica. Estos fármacos operan por un bloqueo de la tirosina característica de las células LMC y en consecuencia provocando su muerte.

En las *fases acelerada y blástica* el objetivo, al igual que en la fase crónica, es destruir todas las células que contengan el gen BCR-ABL, si esto no fuera posible se trataría de volver a la fase crónica. El trasplante de células madre sigue siendo una opción de tratamiento para algunos pacientes que se diagnostican en fase avanzada o que han progresado a la fase blástica y no responden adecuadamente al tratamiento con fármacos [36].

Actualmente se considera que los estudios genéticos son imprescindibles para el diagnóstico y seguimiento de la LMC. Los pacientes son sometidos a unos análisis periódicos de carácter molecular para comprobar el declive de la enfermedad. En estos estudios moleculares se mide la cantidad de BCR-ABL contenido en una muestra de RNA obtenida a partir de la sangre del paciente (y también desde la médula ósea).

De estos análisis se obtiene el porcentaje de células LMC a dicho porcentaje se le denomina *ratio BCR-ABL/ABL*. La gráfica de este ratio (figura-12) se denomina *curva bifásica* por ser *unión* de dos funciones exponenciales: *fase-1* y *fase-2*, con las siguientes características:

- En los primeros meses de tratamiento con ITK los pacientes, en general, acusan un descenso apreciable del ratio *BCR-ABL/ABL*, este descenso se denomina *fase-1 de declive*. En esta fase se destruyen las células LMC diferenciadas en la médula ósea (la destrucción de las células LMC circulantes en sangre sigue su propio proceso de muerte natural con una duración menor que el tiempo de entrada en acción de las dosis de *imatinib*), las células objetivo del fármaco son las de la médula ósea.
- Tras este periodo de la *fase-1* se aprecia otro *periodo de descenso* más suave (F. Michor *et al* [6] [39]). La interpretación biológica de esta segunda fase es que el ITK sigue destruyendo células diferenciadas a medida que las células LMC madre las producen. Sin embargo, el fármaco como se sugiere en [24] [40], es incapaz de destruir todas las células madre debido a sus estados de quiescencia celular. Una prueba de este comportamiento celular es el crecimiento repentino de la población LMC si el tratamiento se interrumpe (por efectos secundarios graves u otras incompatibilidades), lo que prueba que las células LMC madre no han sido atacadas o lo han sido en una proporción menor [41] [40] [39].

En la figura-12 se muestra un caso real de un paciente del Hospital Universitario de Móstoles en el que se aprecian las *curvas bifásicas* en el tratamiento con *imatinib*. El gráfico muestra la primera fase en los 5 primeros meses de tratamiento y el segundo descenso en los meses posteriores. Como conclusión: con el tratamiento con fármacos ITK disminuyen los niveles poblacionales de la fase crónica pero no se eliminan las células madre LMC por lo que, en la mayoría de los casos, los pacientes están obligados a la administración continuada del fármaco. En el anexo-C se presentan otros casos reales de pacientes con tratamiento.

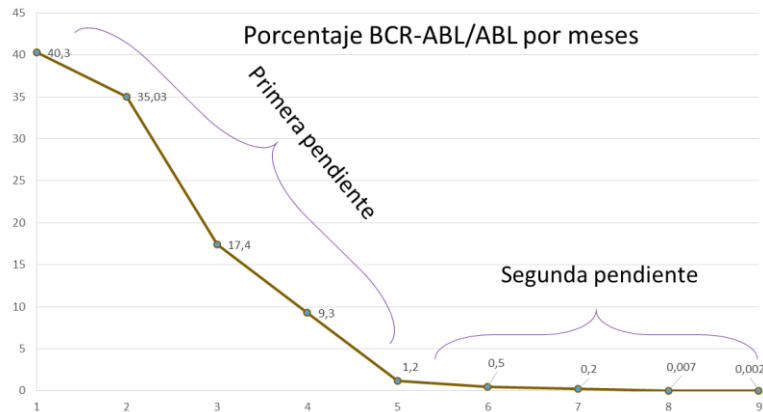


Figura-12. Caso real de remisión de LMC tras el diagnóstico y tratamiento con Imatinib. Fuente: Hospital Universitario de Móstoles

3.6 La Leucemia Mieloide Crónica en España

En Marzo 2016 [42] se publicó un trabajo sobre la incidencia de la LMC en ciertas regiones españolas: Madrid, Castilla-La Mancha y Aragón (Tabla-2). Su objetivo es la incorporación de datos estadísticos y clínicos globales sobre esta epidemiología al registro poblacional EUTOS de la *European LeukemiaNet* sobre casos nuevos de LMC en pacientes mayores de 18 años en 22 áreas europeas. El estudio se realizó en el periodo 1-2-2010 al 31-12-2012. Se registraron 250 casos en 35 meses. La incidencia global fue de 1,8 casos por cada 100.000 habitantes por año, con predominio masculino (58 %). La mediana de edad fue de 54 años. La incidencia aumentó con la edad, siendo máxima en mayores de 65 años. Un 4 % se diagnosticaron en fases avanzadas (2,4 % en fase acelerada, 1,6% en crisis blástica), el 56 % estaban asintomáticos, el 38 % presentaban inflamación del bazo (esplenomegalia). El 96 % de los pacientes (235) fueron diagnosticados en la fase crónica, el 2,4 % en la fase acelerada y el 1,6 % en la fase de crisis blástica. Solo el 44 % de los pacientes eran sintomáticos.

Overall incidence	2010	2011	2012	Total 3 years				
				RI	SI			
Madrid	1.35	1.08	1.04	1.16	1.10			
Aragón	1.58	0.90	0.89	1.12	1.11			
Castilla-La Mancha	1.11	0.77	0.58	0.82	0.78			
In the 3 regions	1.33	0.99	0.92	1.08	1.04			
Incidence by age and sex	Madrid		Castilla-La Mancha		Aragón		Total	
	RI	SI	RI	SI	RI	SI	RI	SI
Male	1.4	1.39	0.69	0.74	1.9	1.89	1.31	1.3
Female	0.95	0.86	0.94	0.83	0.37	0.32	0.87	0.78
20-44 years	0.78		0.34		0.92		0.73	
45-65 years	1.19		1.18		1.39		1.22	
>65 years	2.16		1.39		1.17		1.81	

Abbreviations: RI, raw incidence rate; SI, standardized incidence rate.

	Mean	Range
Hemoglobin	13 g/dL	6.3-18 g/dL
Leukocytes	$85,400 \times 10^6/L$	$2800-791,000 \times 10^6/L$
Platelets	$458,000 \times 10^6/L$	$19,000-2,068,000 \times 10^6/L$
Percentage of blast cells in peripheral blood	1.3	0-41
Sokal (n=240)	High 11%	Intermediate 41% Low 48%
Hasford (n=221)	High 5%	Intermediate 34% Low 61%

Tabla 2. Incidencia de la enfermedad LMC en varias regiones españolas [42]

Capítulo 4

4. Modelos matemáticos del sistema hematopoyético

En estos puntos vamos a desarrollar las condiciones de entorno que consideran los modelos matemáticos sobre el sistema hematopoyético en general y de la enfermedad LMC en particular. El S.H. es un sistema de producción celular sometido a un estricto y complejo control y regulación. En este contexto y desde el punto de vista de *Ingeniería de Sistemas y de Control* es inevitable asociar conceptualmente (como metáfora) el sistema hematopoyético con un sistema de fabricación convencional (figura-13).

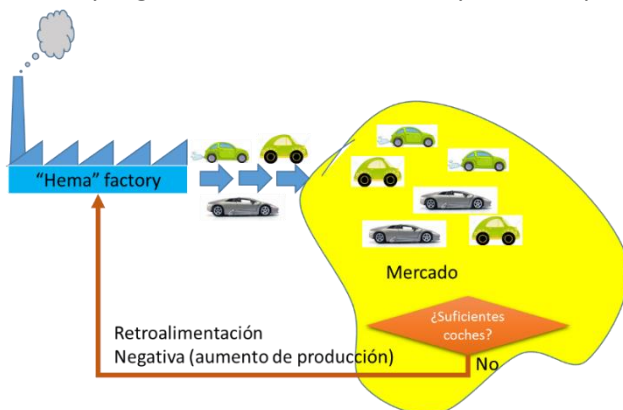


Figura-13. Metáfora de sistema de producción logístico.
Fuente: autor TFM

El sistema hematopoyético produce diferentes células maduras (*automóviles de diferentes tipos*) que satisfacen las necesidades de todos los órganos y tejidos (*segmentos de mercado*). Que a su vez recibe señales de variación en la

producción a través de citoquinas y moléculas internas (*demanda del mercado*) y que puede haber fallos y alteraciones en las células maduras (*averías, retrasos en las entregas, alteraciones en los vehículos, etc*), con una reserva de células madre en estado *quiesce* (reposo) listas para reponerse y diferenciarse en los distintos linajes (*patios con automóviles en stock que pueden satisfacer una demanda imprevista, stocks de seguridad, etc*). Aunque no lo abordamos en este TFM, podría ser interesante el estudio comparativo entre el sistema S.H. de producción celular y la logística con su matemática asociada a fin de encontrar aportaciones y explicaciones de esta rama de la *investigación operativa* al fenómeno de la hematopoyesis.

4.1 Objetivos de modelado y simulación de la LMC.

El objetivo principal pero no el único, será el planteamiento del modelo matemático y su simulación con la herramienta Vensim⁶ y simular los diferentes supuestos en los modelos (figura-14):

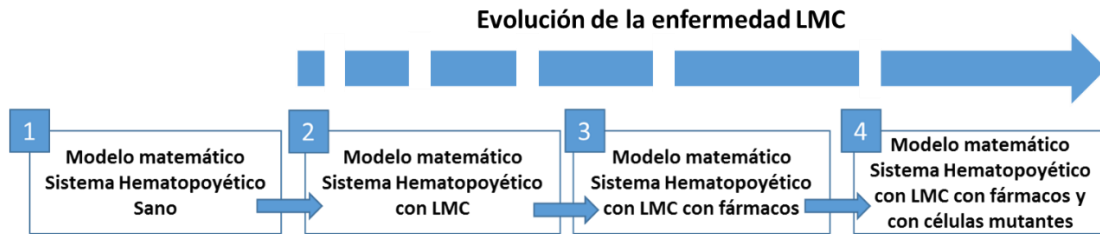


Figura-14. Modelos matemáticos planteados en el TFM. Fuente: autor del TFM

Modelo-1. Modelo matemático del S.H Sano. Su objetivo es modelar matemáticamente la producción estable de células sanguíneas y la recuperación de la estabilidad a través de homeostasis ante perturbaciones (por ejemplo, pérdida de sangre por donación). Este modelo va a constituir la base matemática del resto de modelos.

Modelo-2. Tomando como base la estructura matemática del modelo-1 para las células sanas y los datos que caracterizan a esta fase, se incorpora un segundo bloque de ecuaciones que modelan:

- La aparición de una célula LMC.
- La dinámica de la población de células LMC en competencia con las sanas.

En el sistema de ecuaciones resultante se incorpora como valor inicial de la población LMC **una célula** [6, 42, 43] con el cromosoma Filadelfia (célula LMC madre).

Modelo-3. Tomando como base el modelo 2 se incorpora al modelo la acción del fármaco ITK tras el momento o punto de diagnóstico (P.D.) del paciente.

Modelo-4. Tomando como base el modelo 3 se incorpora un tercer sistema de ecuaciones que modela la aparición de células LMC mutantes [6, 44]. El objetivo de este modelo será la obtención de escenarios de enfermedad con aparición de mutantes extrínsecos (generados como consecuencia de la resistencia al fármaco). Para el ajuste del modelo utilizaremos los datos reales de un paciente en el que se detectó la presencia de células LMC mutantes [32].

⁶ Software de simulación <http://vensim.com/>

4.2 Diferentes enfoques en el modelado del S.H.

En este punto analizamos las diferentes hipótesis de trabajo en los modelos matemáticos en relación a los compartimentos.

4.3 Modelo de varios compartimentos y varios linajes.

Es el modelo más completo (figura-15) ya que se modela el S.H. en su parte troncal y sus

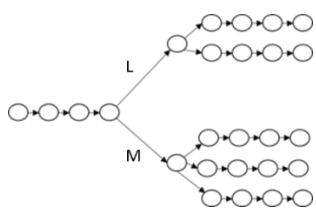


Figura-15. Entorno varios departamentos y varios linajes

partes diferenciadas. Estas últimas se distribuyen en dos ramas: la mielocítica (M) y la linfocítica (L) con sus respectivos linajes. El único modelo de este tipo que hemos encontrado es el propuesto por los autores *Manesso et al* [45] que comprende compartimentos troncales y dos grupos de sendos linajes que producen células maduras de la rama mielocítica y linfocítica respectivamente. En total el modelo contempla 19 tipos de células.

4.4 Modelos de varios compartimentos y un solo linaje.

Es una simplificación del S.H. La parte troncal se modela con uno o dos compartimentos y la parte diferenciada en un solo linaje (en general el *mielocítico*) con varios compartimentos. El último compartimento (aguas abajo) pertenece a las células maduras. Los más importantes son:

4.4.1 Modelo de 6 compartimentos.

Es el propuesto por los autores A. Marciniak-Czochra *et al* [5] (figura-16) en el que se consideran 6 compartimentos: Células madre a largo plazo (LS-SCH), células madre a corto

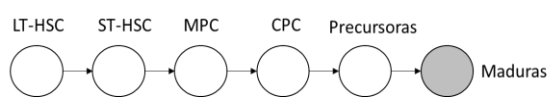


Figura16. Modelo 6 compartimentos. Fuente [5]

plazo (ST-HSC), células progenitoras multipotentes (MPC), células progenitoras comprometidas (CPC), células precursoras y células maduras.

4.4.2 Modelo de 5 compartimentos.

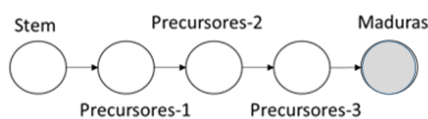


Figura-17 . Modelo de 5 compartimentos

Es el propuesto por los autores Jayachandran D. *et al* [46] . Estos autores replican este modelo para la rama mielocítica y linfocítica pero sin ningún compartimento común (figura-17)

4.4.3 Modelo de 4 compartimentos.

Es el propuesto por F. Michor [6] (figura-18). En este modelo se consideran: células madre, células progenitoras, células diferenciadas y células maduras o totalmente diferenciadas. En este caso Los compartimentos troncales son los dos primeros.

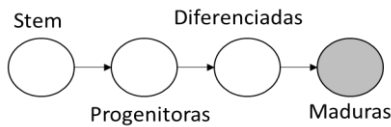


Figura-18. Modelo de 4 compartimentos

4.4.4 Modelo 2 compartimentos.

Es una estructura utilizada en los modelos que incorporan la quiescencia celular (figura-19).

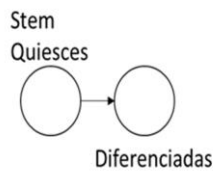


Figura-19. Modelo de 2 compartimentos

Este modelo no contempla las células maduras ya que éstas no se dividen y sufren la muerte celular en días, en el caso de LMC se centra en la acción del fármaco sobre las células diferenciadas y las células madre. En [41] se modela igualmente otro bloque de 2 compartimentos para las células leucémicas (en quiescencia y diferenciadas). Otro modelo de dos compartimentos es el de los autores N. L. Komarova *et al* [14] en el que se considera que la población de células madre está en estado de quiescencia.

4.5 La acción del sistema inmunológico sobre las células LMC

Otros enfoques de modelos matemáticos de la LMC se fundamentan en el enfrentamiento directo de las células leucémicas con el sistema inmunológico (linfocitos). En este caso no se consideran compartimentos sino poblaciones celulares que luchan a “campo abierto” (linfocitos, en sus distintas variedades, contra células LMC). El ataque del sistema inmunológico a las células LMC forma parte de lo que se denomina *respuesta inmune*. La finalidad de la respuesta inmune es la defensa de la integridad biológica del individuo, actuando como un sistema de mantenimiento de la *homeostasis* del organismo, es decir, garantizando el funcionamiento estable de los sistemas [47].

4.6. Diferentes paradigmas para el modelado del S.H.

La implementación del modelado del sistema hematopoyético la podemos clasificar en los siguientes tipos o paradigmas:

- **Matemáticos**

- **Modelos Deterministas.** En tiempo continuo se utilizan las ecuaciones diferenciales ordinarias [4, 5, 18, 39, 44] entre otros. Ecuaciones diferenciales con retardo, en especial en el tratamiento mixto con varios fármacos y la cooperación del sistema inmunológico [31, 48, 49]. Igualmente en [50] se desarrolla un modelo de S.H con retardo considerando la quiescencia.

- **Modelos Estocásticos.** El trabajo más representativo es el de J. Becker, E. McCulloch y J. Till considerados pioneros en el estudio de la hematopoyesis, realizaron un modelo estocástico de S.H. en 1963 [51]. En [10] se plantea un análisis estocástico del LMC con resistencia al fármaco.
- **Algorítmicos.** Utilización de algoritmos convencionales y su implementación computacional. Los autores I. Roeder *et al* implementan un modelo algorítmico desarrollado en C++ sobre la hematopoyesis con LMC considerando estados de quiescencia y activos basado en un enfoque estocástico y orientado a agentes [12]. Horn *et al* realizan un modelo de tratamiento con imatinib basado en reglas de decisión, se trata de un modelo predictivo en el que se hace uso de datos de seguimiento de diagnóstico de pacientes con 7 años de tratamiento.
- **Inteligencia artificial.** Esencialmente en dos ramas:
 - **Sistemas multi-agente.** La estructura del sistema hematopoyético en compartimentos y sus diferentes linajes celulares se presta a una implementación en este paradigma. Zulueta *et al* [52] plantean una metodología de transformación de EDOs a modelos basado en agentes en el que cada célula individual se trata como un elemento autónomo que interactúa con otros. Implementan el modelo LMC de H.Moore [53] a SMA a través de un procedimiento estocástico apoyándose en el método Monte-Carlo .
 - Greene *et al* [54] desarrollan un modelo basado en agentes (SMA) para el estudio de la resistencia al fármaco de células cancerosas. Consideran tres compartimentos con estado de quiescencia.
 - Krinner *et al* [55] implementan un modelo del S.H. basado igualmente en agentes en el que incorporan sistemas ODES con 5 compartimentos. En el modelo SMA incorporan la acción de citoquinas específicas a las diferentes poblaciones (THPO, EPO, G-CSF). El modelo lo implementa en Simulink y Matlab.
 - La ventaja de los modelos SMA es la flexibilidad en la incorporación de varios paradigmas dentro del modelo
 - **Aprendizaje automático.** Recientemente se han implementado modelos basados en técnicas de aprendizaje automático [56] y en especial sobre la predicción del linaje celular [57]. Destacamos el trabajo de Sieburg H.B *et al* en el que se estudia la evolución de las características de auto-renovación de células madres hematopoyéticas y sus clones utilizando técnicas de *machine learning* y *autómatas celulares* [58]
- **Simulación ex-vivo.** Los autores Ma, CYJ *et al* [59] realizan una implementación ex-vivo de la médula ósea consistente en la incorporación de poblaciones celulares sanas y LMC en un bio-reactor. En este experimento incorporan citoquinas e intentan emular las condiciones de una LMC. Desarrollan igualmente un modelo matemático mixto. Por un lado modelan el fluido entrante y saliente del bio-reactor mediante ecuaciones de dinámica de fluidos y por otra parte modelan el compartimento interno del bio-reactor en poblaciones activas y quiescentes de las células sanas y leucémicas por un sistema

de EDOs. Demuestran que diferentes concentraciones de citoquinas pueden alterar la proliferación, auto-renovación y diferenciación de células LMC, lo que prueba en cualquier caso que estas células son sensibles a las señalizaciones típicas de un S.H. sano.

4.7 Modelos matemáticos de la Hematopoyesis y de la enfermedad LMC

En este punto se establecen las hipótesis, definiciones y nomenclatura generales para los modelos 1, 2, 3 y 4.

4.8 Hipótesis generales de los modelos

Se formulan hipótesis para todos los modelos, independientemente de que cada modelo en particular plantee sus propias hipótesis.

1. Se plantea un modelo de 6 compartimentos de un solo linaje basado en el modelo de A. Marciniak [5].
2. Asociamos el compartimento superior (aguas arriba) a las células madre y el inferior (aguas abajo) a las células maduras, los intermedios se asocian a células madres *short-term*, células multipotentes, comprometidas y precursoras.
3. Se consideran señalizaciones feedback solo externas procedentes de diferentes órganos (riñón, hígado, etc).
4. Aunque cada compartimento puede detectar su señalización con sus citoquinas específicas (EPO, CSFs, etc) solo consideraremos en los modelos una señalización única para todos los compartimentos.

4.9 Definiciones

Proliferación. En un instante t , la población celular del compartimento i entra en el proceso de ciclo celular (división) con una tasa p_i denominada *tasa de proliferación* [5, 60] que refleja el número de divisiones celulares por unidad de tiempo (en nuestro modelo es el día). Consideramos que esta tasa $p_i > 0$ es constante en el compartimento i , ($1 \leq i \leq 5$).

Auto-renovación. Tomamos la definición de A. Marciniak *et al* [5]. Es la fracción $a_i \in [0,1]$ de células en compartimento i que tras el ciclo celular son idénticas a la célula primitiva. Es decir, es la probabilidad de que una célula hija permanezca en el mismo estado de diferenciación que la madre. Por ejemplo: Supongamos que tenemos $N_i(t)$ células en el instante t en el compartimento i , el número de células que inician el ciclo celular en ese instante es $p_i N_i(t)$ y supongamos que todas sufren división celular (no consideramos quiescencia en este ejemplo) por tanto resultan $2p_i N_i(t)$ células hijas, de las cuales $2a_i p_i N_i(t)$ son idénticas a la célula madre, es decir se han auto-renovado y por tanto seguirán en el compartimento i . En esta definición no se tiene en cuenta si la división es simétrica (dos células hijas iguales o diferentes a la madre) o asimétrica (una célula igual y otra diferente). El concepto de fracción de auto-renovación engloba todas las células que se auto-renuevan procedan de una forma u otra de división celular.

Diferenciación. Lo definimos como la fracción de células resultantes de la mitosis que no se auto-renuevan y por tanto son distintas a la célula madre, es la aportación celular del compartimento i al $i + 1$. En el ejemplo anterior, las células diferenciadas y que migrarán al compartimento $i + 1$ son: $2(1 - a_i)p_i N_i(t)$.

Capítulo 5

5. Modelo matemático del S. H. sano. Modelo-1.

Este modelo se basa en los trabajos de A. Marciniak-Czochra *et al* (2009) [5]. Las hipótesis específicas del modelo son:

1. El número de compartimentos es 6. La justificación de esta elección se basa en nuestro interés por conocer la evolución de la dinámica de estas poblaciones durante la progresión de la enfermedad y en especial durante su tratamiento con fármacos (modelo-3).
2. Todas las poblaciones celulares excepto las células maduras c_6 , tienen tasa de proliferación y fracción de auto-renovación [61, 4, 5].
3. Consideramos que la producción diaria desde la médula ósea es de $2,21 \times 10^{11}$ células en un adulto de 60 kg de peso. Se toma la población de eritrocitos por ser los más abundantes [1]
4. Este modelo caracteriza el S.H. sano, es decir en equilibrio, por tanto la tasa de diferenciación y fracción de auto-renovación son independientes del tiempo: $c_i(t) = c_i$, $p_i(t) = p_i, \forall i \in \{1,5\}$ [61, 4]. Auto-renovación y diferenciación se producen en el mismo instante de tiempo [4].
5. La tasa de muerte se fija en el parámetro d_i . Solo se considera, como simplificación, una tasa de muerte mayor que cero para el compartimento de las células maduras c_6 , en el resto de compartimentos consideramos que esta tasa es cero. En [4] se justifica esta consideración por la reducción de la apoptosis celular debido a las concentraciones de citoquinas.
6. El funcional homeostático o *feedback negativo* (ya comentado anteriormente) contribuye a:
 - i) Mantener una estabilidad en las poblaciones celulares.
 - ii) Recuperar los niveles de producción celular tras una alteración.

El funcional propuesto es un control tipo tipo Hill [5] [10].

$$S(t) = \frac{1}{1 + k_i N_i(t)}$$

La constante k_i define el grado de control. $N_i(t)$ es la población sobre la que se va a ejercer el control por parte del órgano externo de evaluación (hígado, riñón, etc). En nuestro caso $N_i(t) = c_6(t)$, es decir la evaluación se va efectuar sobre los niveles de la población de células maduras sanas $c_6(t)$ en sangre periférica en el instante t y en función de este nivel se calcula el valor de $\mathcal{S}(t)$. La figura-20 muestra una relación entre el *órgano evaluador* del nivel celular c_6 , la valoración $\mathcal{S}(t)$ y los compartimentos receptores. La acción de $\mathcal{S}(t)$ en cada compartimento afectará a la fracción de auto-renovación a_i de la población c_i .

- En [4] se consideran varias citoquinas \mathcal{S}_i que actúan en diferentes compartimentos celulares. Nosotros proponemos la actuación de una sola regulación homeostática $\mathcal{S}(t)$ (figura-20).

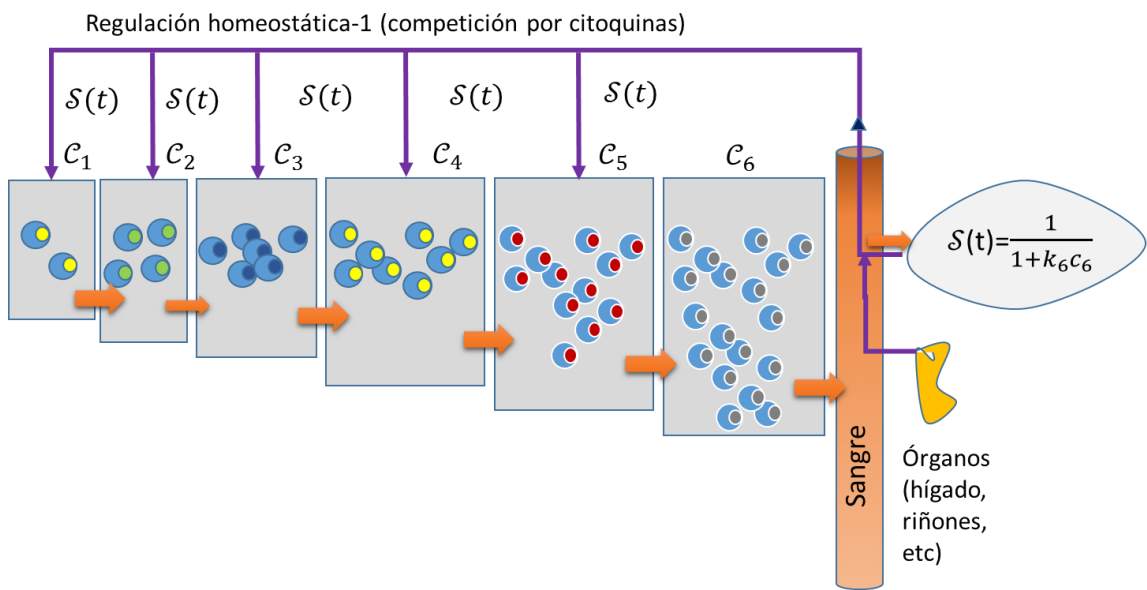


Figura-20. Regulación homeostática externa

5.1 Ecuaciones del modelo.

Consideramos que el sistema hematopoyético propuesto en este modelo se compone de un solo linaje formado por 6 compartimentos (figura-20) :

- Población de células madre (c_1)
- Población de células madre a corto plazo (c_2)
- Población de células multipotentes progenitoras (c_3)
- Población de células progenitoras comprometidas con un linaje (c_4)
- Población de células precursoras (c_5)
- Población de células maduras (c_6)

En función de las hipótesis, planteamos un sistema de 6 ecuaciones diferenciales ordinarias una por cada compartimento y una ecuación algebraica para el funcional homeostático \mathcal{S} . Prescindimos de la referencia al tiempo: $c_i(t) = c_i$, $p_i(t) = p_i$, $a_i(t) = a_i$, $\mathcal{S}(t) = s$.

El sistema de ecuaciones es:

$$\frac{dc_1}{dt} = (2a_1s - 1)p_1c_1 - d_1c_1 \quad \text{Ec. (5.1.1)}$$

$$\frac{dc_2}{dt} = (2a_2s - 1)p_2c_2 + 2(1 - a_1s)p_1c_1 - d_2c_2 \quad \text{Ec. (5.1.2)}$$

$$\frac{dc_3}{dt} = (2a_3s - 1)p_3c_3 + 2(1 - a_2s)p_2c_2 - d_3c_3 \quad \text{Ec. (5.1.3)}$$

$$\frac{dc_4}{dt} = (2a_4s - 1)p_4c_4 + 2(1 - a_3s)p_3c_3 - d_4c_4 \quad \text{Ec. (5.1.4)}$$

$$\frac{dc_5}{dt} = (2a_5s - 1)p_5c_5 + 2(1 - a_4s)p_4c_4 - d_5c_5 \quad \text{Ec. (5.1.5)}$$

$$\frac{dc_6}{dt} = 2(1 - a_5s)p_5c_5 - d_6c_6 \quad \text{Ec. (5.1.6)}$$

$$s = \frac{1}{1 + k_6c_6(t)} \quad \text{Ec. (5.1.7)}$$

La explicación de los términos de las ecuaciones la haremos posteriormente con el apoyo de un diagrama de la herramienta Vensim.

5.2 Análisis de las ecuaciones del modelo-1

5.2.1 Condiciones de existencia y de equilibrio

Por simplicidad hacemos cero las tasas de muerte c_i ($1 \leq i \leq 5$). Los puntos de equilibrio los denotamos por $(\bar{c}_1, \bar{c}_2, \bar{c}_3, \bar{c}_4, \bar{c}_5, \bar{c}_6)$. Estos puntos anulan las derivadas del sistema.

De la Ec. (5.1.1) obtenemos:

$$(2a_1s - 1)p_1\bar{c}_1 = 0 \Rightarrow a_1 = \frac{1}{2s} \Rightarrow a_1 > \frac{1}{2} \quad \text{Ec. (5.2.1)}$$

De la Ec. (5.1.7) y (5.2.1) :

$$k_6 = \frac{2 - a_1}{a_1\bar{c}_6}, \quad \text{con } \bar{c}_6 = 2,21 \times 10^{11}$$

De la Ec. (5.1.6):

$$\bar{c}_5 = \frac{d_6}{2(1 - a_5s)p_5} \times \bar{c}_6$$

De la Ec. (5.1.5):

$$\bar{c}_4 = \frac{p_5 - 2a_5p_5s}{2(1 - a_4s)p_4} \times \bar{c}_5$$

De la Ec. (5.1.4):

$$\bar{c}_3 = \frac{p_4 - 2a_4p_4s}{2(1 - a_3s)p_3} \times \bar{c}_4$$

De la Ec. (5.1.3):

$$\bar{c}_2 = \frac{p_3 - 2a_3p_3s}{2(1 - a_2s)p_2} \times \bar{c}_3$$

De la Ec. (5.1.2):

$$\bar{c}_1 = \frac{p_2 - 2a_2p_2s}{2(1 - a_1s)p_1} \times \bar{c}_2 \quad \text{Ec. (5.2.2)}$$

Los valores de equilibrio se deducen sucesivamente de las ecuaciones anteriores aplicando a los parámetros los valores de la tabla-3 y son consecuencia de imponer un estado estacionario a las poblaciones c_1 a c_5 teniendo en cuenta que el valor basal de c_6 es $2,21 \times 10^{11}$.

Parámetros (de A. Marciniak-Czochra et al [5])		Producción diaria de células en compartimentos ⁷	
a_1 (*)	0,7	\bar{c}_1	$4,0675 \times 10^7$
a_2	0,65	\bar{c}_2	$4,27 \times 10^8$
a_3	0,65	\bar{c}_3	$4,28 \times 10^9$
a_4	0,65	\bar{c}_4	$3,2 \times 10^{10}$
a_5	0,55	\bar{c}_5	$1,6 \times 10^{11}$
p_1	0,125	\bar{c}_6	$2,21 \times 10^{11}$
p_2	0,166	k	$2,92 \times 10^{-12}$
p_3	0,25	s	0,7142
p_4	0,5	(*) Los valores de los parámetros a_i ($1 \leq i \leq 5$) son máximos ya que en las ecuaciones estos valores están multiplicado por el feedback negativo $0 < s < 1$.	
p_5	0,5		

Tabla-3. Parámetros y valores poblacionales de equilibrio en modelo-1

Para el análisis de la estabilidad del modelo hemos realizado el cálculo (en Matlab) para la determinación del jacobiano en el punto de equilibrio $(\bar{c}_1, \bar{c}_2, \bar{c}_3, \bar{c}_4, \bar{c}_5, \bar{c}_6)$. Los autovalores resultantes son:

⁷ En este modelo la producción celular en cada compartimento es instantánea (ver conclusiones).

$$\begin{aligned} \lambda_1 &= -0.0077 + 0.0038i \\ \lambda_2 &= -0.0077 - 0.0038i \\ \lambda_3 &= -0.0140 \\ \lambda_4 &= -0.0501 \\ \lambda_5 &= -0.1266 + 0.3557i \\ \lambda_6 &= -0.1266 - 0.3557i \end{aligned}$$

Al tener las partes reales negativas se deduce que este punto de equilibrio es localmente asintótico. La solución numérica con Vensim sugiere que el equilibrio es global.

5.2.2 Propiedades de los parámetros de auto-renovación

De la Ec. (5.2.1) deducimos: $s = 1/(2a_1)$ y sustituyendo en Ec.(5.2.2):

$$\bar{c}_1 = \frac{p_1}{p_2} \left(1 - \frac{a_2}{a_1}\right) \times \bar{c}_2, \quad \left(1 - \frac{a_2}{a_1}\right) > 0 \Rightarrow a_1 > a_2$$

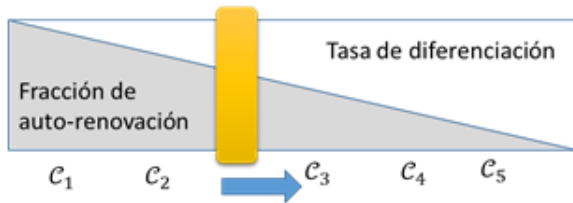


Figura-21 A medida que las células migran a otros compartimentos aguas abajo sus fracciones de auto-renovación disminuyen y las tasas de diferenciación aumentan. Fuente: autor del TFM basado en [5]

Se comprueba en el resto de ecuaciones que se verifica:

$$a_1 > a_2 \geq a_3 \geq a_4 \geq a_5 \quad \text{Ec. (5.3.1)}$$

Estas desigualdades indican que la auto-renovación celular que el compartimento C_1 (asociado a las células madre) contribuye a su propia amplificación es mayor que las del resto de compartimentos (figura 21). Si consideramos no nulas las tasas de

muerte, tenemos de la Ec. (5.2.1) :

$$a_1 = \frac{1}{2s} \left(\frac{d_1 + p_1}{p_1}\right), \quad \text{al ser} \quad \left(\frac{d_1 + p_1}{d_1}\right) > 1 \Rightarrow a_1 > \frac{1}{2s} > \frac{1}{2}$$

5.3 Simulación del modelo con herramienta Vensim.

En la figura-22 se muestra el diagrama Vensim que simula las ecuaciones anteriores. El diagrama presenta 6 variables de nivel correspondiente a los 6 compartimentos. La regulación homeostática $S(t)$ actúa en cada uno de los compartimentos.

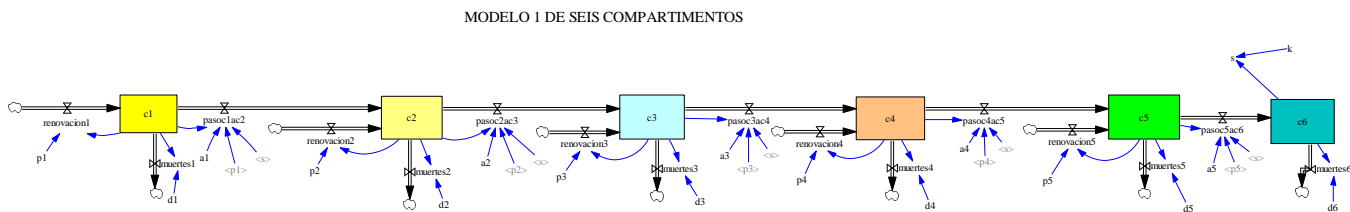


Figura-22. Simulación en herramienta Vensim del Modelo-1

5.3.1 Conexión entre compartimentos

En la figura 23 se muestra el diagrama vensim con la interconexión de los tres primeros compartimentos (variables de nivel). Los flujos de entrada son *renovación1*, *renovación2* y *renovación3* respectivamente y los flujos de salida son *pasoc1ac2*, *pasoc2ac3* (consideramos que el flujo muerte es cero). La relación entre los valores de estas variables vensim y los términos de las ecuaciones diferenciales son:

renovación1 = $p_1 c_1$ esta variable representa el volumen de células c_1 que se dividen en el instante de tiempo t y por tanto, hasta su diferenciación, incrementan el volumen de C_1 .

Pasoc1ac2 = $2(1 - a_1 s)p_1 c_1$ esta variable representa las células de C_1 que tras su división han evolucionado a C_2 (es decir, no se han auto-renovado) y en consecuencia engrosan el compartimento C_2 disminuyendo el C_1 . Por tanto el valor de la variable de nivel c_1 es:

$c_1 = \text{renovación1} - \text{pasoc1ac2} = p_1 c_1 - 2(1 - a_1 s)p_1 c_1$ que nos da como resultado el segundo miembro de la Ec. (5.1.1) igualmente en relación a la interacción entre C_2 y C_3 :

Renovación2 = $p_2 c_2$ esta variable representa el volumen de células C_2 que se dividen en el instante de tiempo t y por tanto, hasta su diferenciación, incrementan el volumen de C_2 .

Pasoc2ac3 = $2(1 - a_2 s)p_2 c_2$ esta variable representa las células de C_2 que tras su división han evolucionado a C_3 (es decir, no se han auto-renovado) y en consecuencia engrosan el compartimento C_3 disminuyendo el C_2 . Por tanto el valor de la variable de nivel c_2 es:

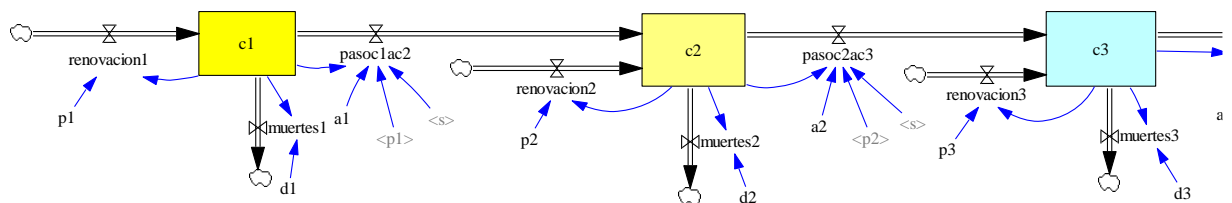


Figura-23. Interacción entre compartimentos de forma compacta

$$c_2 = \text{renovación2} - \text{pasoc2ac3} + \text{Pasoc1ac2}$$

$$= p_1 c_1 - 2(1 - a_1 s)p_1 c_1 + 2(1 - a_1 s)p_1 c_1$$

Tras simplificar la expresión nos da como resultado el segundo miembro de la Ec. (5.1.2). Todo lo anterior se aplica igualmente a la interacción entre el resto de compartimentos. Por tanto y desde un punto de vista biológico las variables de nivel representan el crecimiento neto de la población tras la división celular.

5.4 Comportamiento del modelo del S.H. en condiciones normales

A continuación se muestra gráficos (figura-24) de las poblaciones celulares en situación de equilibrio.

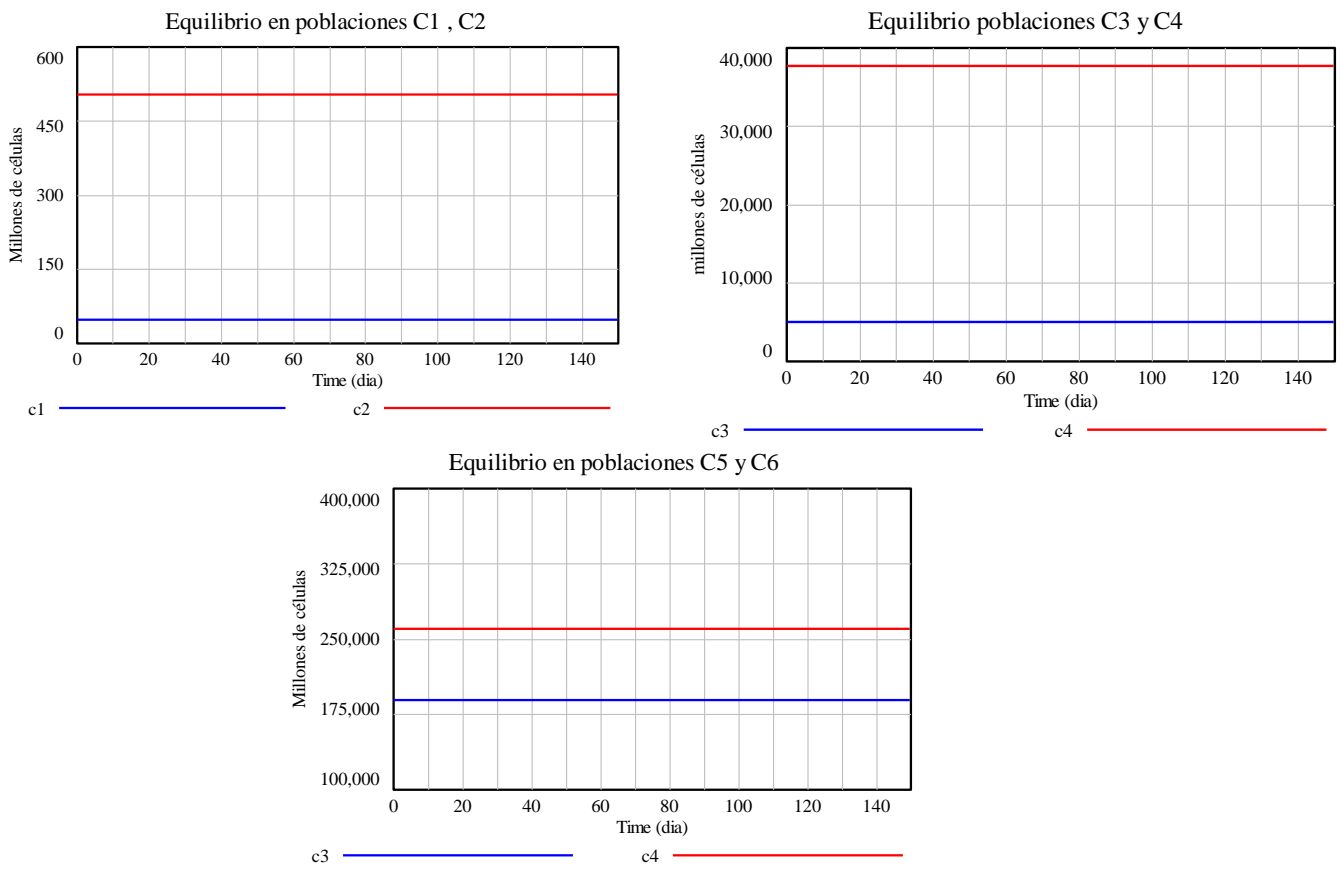


Figura-24. Gráfico de poblaciones c1, c2, c3, c4, c5 y c6

5.5 Perturbaciones en la circulación sanguínea.

En el modelo Vensim hemos simulado una perturbación al sistema de corta duración (donación de sangre). La figura-25 muestra una alteración en el día 10 de la simulación provocada por una donación convencional de sangre de 500 c.c. que afecta a la población de células maduras c_6 . Este volumen equivale a la pérdida de $\approx 1,36 \times 10^9$ células sanas [22]. La población recupera el volumen basal a los 35 días aproximadamente (el rango aceptado es de 3 a 6 semanas [22, 61]).

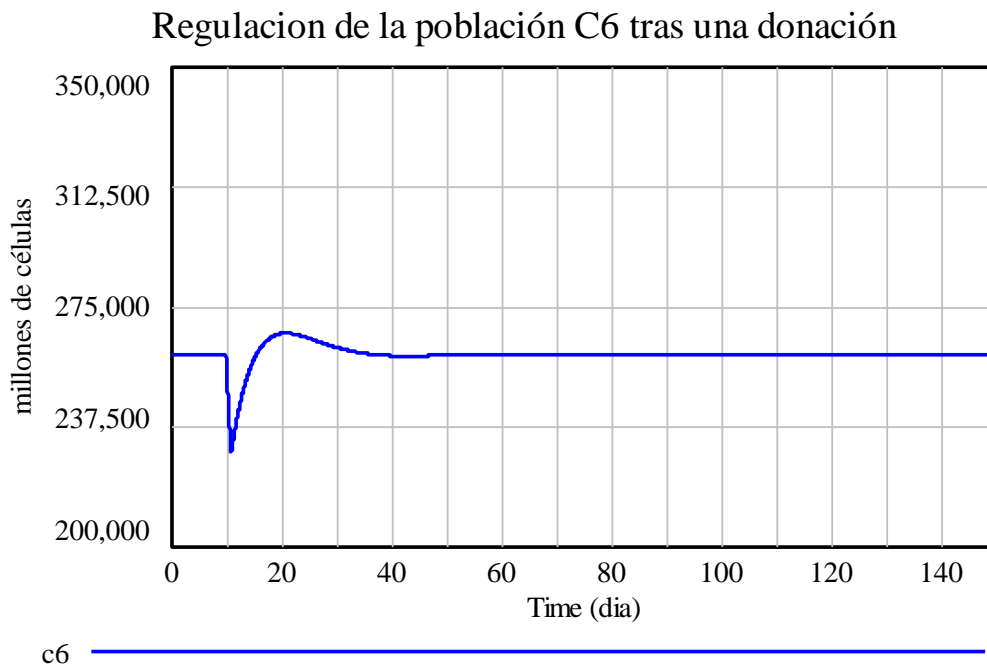


Figura-25. Perturbación provocada por una donación de sangre

5.5.1 Respuesta de las poblaciones celulares a la perturbación

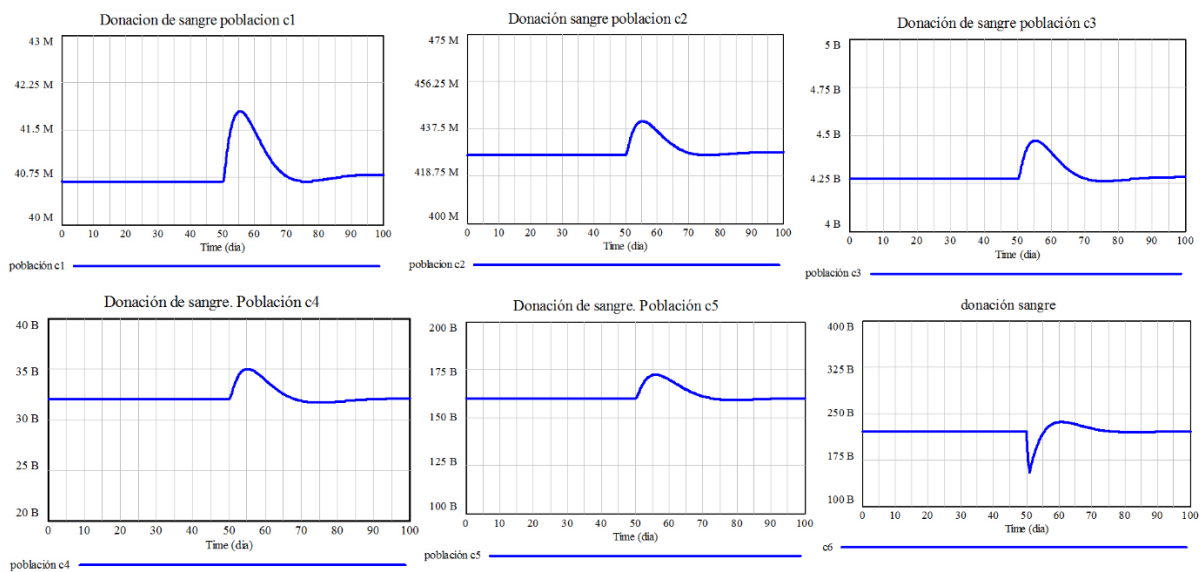


Figura-26 Respuesta de las diferentes poblaciones a la perturbación

Población celular	Población en pico transitorio (millones)	Diferencia respecto al valor de equilibrio (en millones)
c_1	48,3	0,45
c_2	508,25	5,85
c_3	5.111	87
c_4	38.940	1.256
c_5	193.600	5.176
c_6	266.500	6.500

Tabla-4 Respuesta de las poblaciones celulares a la perturbación



Figura-27. Incremento de las poblaciones celulares

La tabla-4 muestra la población celular de cada compartimento en el pico del periodo transitorio de la perturbación. Estas poblaciones en el pico son la producción necesaria para recuperar los niveles de equilibrio poblacionales (figura-26). Los datos se representan gráficamente en la figura-27. El modelo sugiere que la mayor contribución a la recuperación de los volúmenes celulares

normales se obtiene de los compartimentos con células ya comprometidas con el linaje (compartimentos 3, 4 y 5). Los compartimentos troncales (1, 2) producen las células indispensables para para el equilibrio. Desde el punto de vista biológico, el modelo confirma la protección que el sistema hematopoyético otorga a la población de células madre (c_1) de modo que ante perturbaciones de este tipo la “carga de trabajo” recae sobre los compartimentos ya diferenciados y comprometidos con un linaje (C_3, C_4, C_5).

5.5.2 Análisis del periodo transitorio

La figura-28-1 muestra la respuesta de la población c_1 a la perturbación (donación de sangre). Se observa un incremento de la población (aumento de la auto-renovación A-B) seguido de descenso de población c_1 (B-C) como consecuencia de su diferenciación hacia el compartimento C_2 .

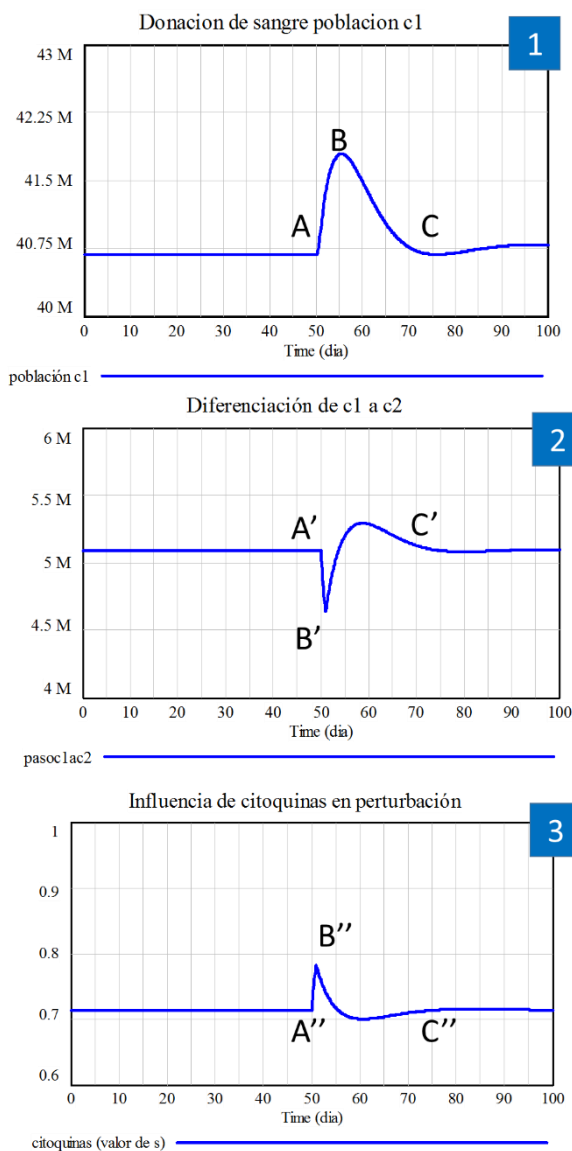


Figura-28 Análisis del periodo transitorio de la perturbación

La figura-28-2 muestra la evolución de la variable $pasoc1ac2$, es decir, evolución de la diferenciación de compartimento C_1 a C_2 (una disminución de la diferenciación en intervalo A'-B' y una recuperación de la misma en B'-C'). Las dos figuras anteriores muestran el comportamiento dinámico de c_1 .

La figura-28-3 muestra igualmente la evolución de la citoquinas (variable $S(t)$). Esta evolución explica el comportamiento de las dos figuras anteriores. El aumento de citoquinas en el periodo A''-B'', como consecuencia de la pérdida de población c_6 (donación de sangre), afecta (por construcción de las ecuaciones diferenciales) a la fracción de auto-renovación incrementando su valor y en consecuencia elevando la población (tramo A-B de figura-28-1). La recuperación progresiva de c_6 comporta una disminución progresiva de las citoquinas (tramo B''-C'' en figura-28-3) provocando igualmente una disminución de c_1 (la fracción de auto-renovación baja) y por ende un aumento progresivo de la diferenciación (tramo B'-C' en figura 28-2).

Como conclusión y desde el punto de vista biológico, el modelo sugiere (por su propia construcción) que ante una merma de células maduras es prioritario el

crecimiento por auto-renovación en C_i a la diferenciación hacia compartimentos aguas abajo C_{i+1} . Este comportamiento del modelo está acorde con los trabajos de Morrison S.J. *et al* [62], Wight *et al* [63] y Passequé *et al* [64] en los que se confirma que la respuesta del sistema S.H. ante una perturbación se produce en primer lugar por un incremento de la divisiones de auto-renovación para mantener el stock de células madre a largo plazo y después se procede a la movilización celular (*primero se fabrica después se distribuye*).

5.6 Conclusiones modelo-1

1. Tal como se indica en el punto 5.2.2, las fracciones de auto-renovación a_i son inferiores o iguales a a_1 . Este resultado se demuestra experimentalmente en el trabajo de Seiburg H.B. *et al* (2011) [58] en el que se mide *in vitro* el cambio (a menor) de la fracción de auto-renovación de las células madre a corto plazo (short term, c_2 en nuestro modelo) respecto a las de largo plazo (long term c_1). También se realiza en el trabajo citado un modelo matemático predictivo (por aprendizaje automático) que confirma *in silico* (computacionalmente) la serie de desigualdades (11.3.2); el resultado de este trabajo ayudó a la mejora de las metodologías clínicas en el proceso *ex-vivo* de células madre para el trasplante de médula. También se llega a la misma conclusión en [4].
2. En el modelo-1 hemos asociado la variable homeostática s a la fracción de auto-renovación a_i (hipótesis 7). Otra opción es asociar s a la tasa de proliferación p_i . En este caso las ecuaciones del modelo en estado de equilibrio serían:

$$0 = (2a_1 - 1)p_1sc_1 \quad Ec. (5.6.1)$$

$$0 = (2a_i - 1)p_isc_i + 2(1 - a_{i-1})p_{i-1}sc_{i-1}, 2 < i \leq 5$$

Se observa que la variable s desaparece de las ecuaciones de equilibrio y obliga a definir valores iniciales a la población c_1 para obtener los valores basales. También hay que reevaluar al mismo tiempo los parámetros a_i y p_i ya que la Ec. (5.6.1) exige que $a_1 = 1/2$ (asimetría total). En [5] se demuestra que esta opción es menos eficiente en situaciones no estables (perturbaciones).

3. Como hemos mencionado anteriormente el estado de *quiescencia* es típico de la población de las células madre cuando el S.H. está en estado de equilibrio. En [17] se sugiere que una pequeña cantidad de células madre a largo plazo están activas e incluso se propone que solo las células madre a largo plazo son las únicas que están dotadas de auto-renovación [65]. Sin embargo el trabajo de E. Passequé [66] asigna una progresiva reducción de los estados de quiescencia en los compartimentos celulares. La tabla-5 muestra el porcentaje de células en estado G_0 en los diferentes compartimentos del modelo-1 según [5, 64].

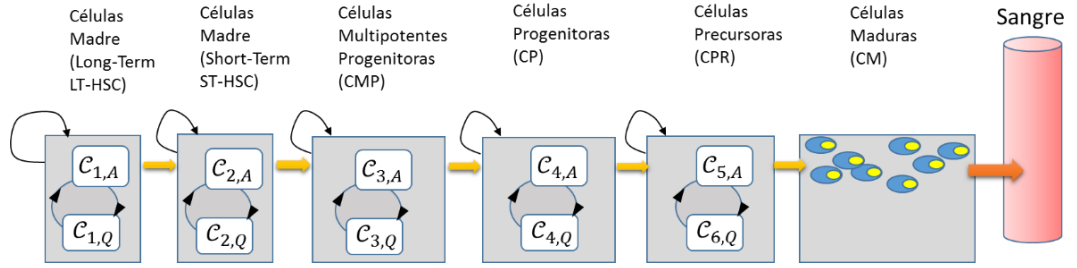


Figura-29. Modelo de 6 compartimentos con estado de quiescencia.

Igualmente en [64] se detalla la regulación molecular del paso quiescencia a ciclo activo y viceversa para las células madre a largo plazo.

Todo lo anterior motiva al replanteamiento del modelo-1 considerando la quiescencia en cada compartimento (figura-29), esto conduce a la modificación

C_1 LT-HSC	C_2 ST-HSC	C_3 MPC	C_4 CPC	C_5 MP
67 %	59 %	50 %	49 %	4%

Tabla 5. Porcentajes celulares en quiescencia

de las ecuaciones incorporando el paso de activo-quiescente y viceversa de acuerdo a tasas α_i y β_i respectivamente en cada ecuación, incluyendo las ecuaciones diferenciales de las poblaciones activas y quiescentes y las ecuaciones de restricción porcentual de las poblaciones de $C_{i,A}$ y $C_{i,Q}$. Este modelo-1 quiescente lo proponemos para un **desarrollo futuro** considerando dos enfoques de quiescencia y auto-renovación:

- a) Como propiedad exclusiva de las células madre a largo plazo (*long term*) en cuanto a la quiescencia y auto-renovación.
- b) Como propiedad extendida en compartimentos aguas abajo.

Ambos escenarios conducen a modelos matemáticos diferentes.

4. Si la perturbación considerada la hacemos mucho más intensa e incluso con pérdidas no controladas (hemorragias), se provocará una respuesta de auto-renovación y diferenciación de difícil justificación biológica. En este sentido, Arino, O. *et al* [65] indican que $\mathcal{S}(t)$ (a la que denominan como “*long-range feedback*” por su procedencia de órganos externos) puede colapsar el sistema hematopoyético. Los autores sugieren la existencia de una regulación adicional y contrapuesta procedente del micro-nicho de células madre que corta el suministro de células maduras si el nivel de la población de células madre crece por encima de un umbral límite. A esta regulación procedente del micro-nicho la denominan “*short-range feedback*” (\mathcal{H}). Proponemos un **desarrollo futuro** que contemple las dos señalizaciones \mathcal{S} y \mathcal{H} .

Por otra parte Giblett *et al* [67] en un estudio sobre la anemia determinan que la máxima producción de eritrocitos (c_6) en circulación es como mucho 10 veces

superior al valor de equilibrio (*stress production*), este valor es citado también en [1].

5. En este modelo se ha considerado que la producción celular es *instantánea*, sin embargo la realidad no es así. Según Mackey [1] el tiempo medio entre la entrada de una célula al compartimento comprometido en la línea mieloide ($\sim C_4$) hasta la producción de un eritrocito maduro (C_6) es de 5,7 días, por tanto para periodos cortos de tiempo (semanas o varios meses) habría que considerar la variable *edad celular* n_i e incorporar esta variable al sistema de ecuaciones. Sin embargo habida cuenta de que este modelo va servir de base al estudio de la enfermedad LMC en la que los tiempos van a ser superiores a 3-4 años el error cometido al no considerar el tiempo de maduración lo consideramos despreciable.

Proponemos como **desarrollo futuro** para el S.H. sano la incorporación del tiempo de maduración de la línea mieloide en las ecuaciones del modelo; este planteamiento conduce a funciones de dos variables $c_i = g(t, n_i)$ siendo n_i el tiempo de vida de una célula en el compartimento i antes de su diferenciación, lo que implica la formulación de sistemas de ecuaciones en derivadas parciales [1]. Un modelo no instantáneo es el de Adimy, M. *et al* [16] en el que se considera la quiescencia y el tiempo de ciclo celular para varios compartimentos del S.H. (3 compartimentos).

Capítulo 6

6. Modelos Matemáticos de la enfermedad LMC sin fármacos (Modelo 2).

En este punto proponemos un modelo matemático para la leucemia mieloide crónica (LMC) que denominamos modelo-2. El modelo considera la aparición de **una** célula ph^{+8} como inicio de la dinámica de la enfermedad.

6.1 Objetivos del Modelo-2

La figura-30 muestra la evolución de la enfermedad LMC a lo largo de los años. Esta figura

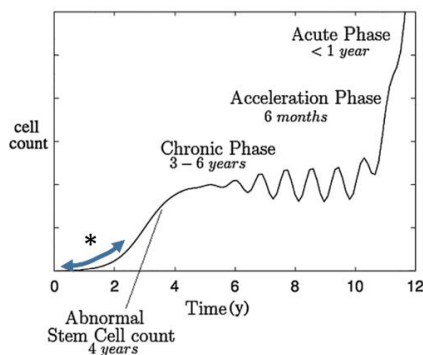


Figura-30 Evolución de la enfermedad LMC

es una representación cualitativa de la evolución de la LMC ya que carece de valores en el eje de abscisas, por lo que la hemos de considerar una curva que representa intuitivamente la evolución de la enfermedad LMC; por tanto, el aprovechamiento que podemos hacer de esta representación son los jalones temporales de las diferentes fases, que coinciden con los aportados en [23, 40]. La flecha azul señala lo que entendemos por el periodo de crecimiento previo a la fase crónica. Los objetivos específicos de este capítulo son:

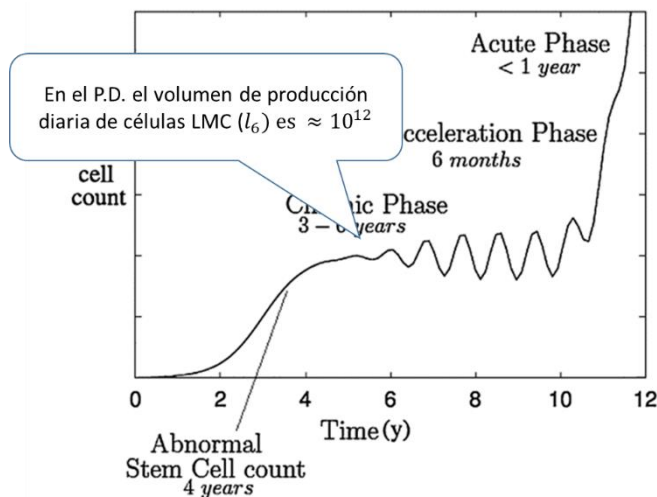
- Caracterización de la LMC en la fase crónica en cuanto volúmenes celulares (sanas y LMC) en el momento del diagnóstico.
- Propuesta de funciones homeostáticas por competencia en citoquinas y por espacio de nicho.
- Modelo matemático de las dos poblaciones (sana y leucémica) considerando la competencia por citoquinas y competencia de nicho.
- Simulación con herramienta Vensim en el periodo considerado en la figura-30 para la fase crónica.

⁸ Denominación para las células con cromosoma Filadelfia. En contraposición ph^{-} = células no mutadas

- Conclusiones

6.2 Caracterización de la LMC .

La LMC se caracteriza en su fase crónica por una excesiva producción de células mieloides (entre 4 y 5 veces más de la producción normal diaria [68]). Existen evidencias [69, 70, 71] de que el proceso de la enfermedad LMC opera en paralelo a la producción de células sanas, si bien disminuida ésta última por la competencia entre las dos poblaciones celulares. Las células LMC en su fase crónica son normales (pero con el gen BCR-ABL) excepto las inmaduras (denominadas *blastos*, aproximadamente un 10 % en la fase crónica [68] y < 15 % según [38]).



Actualmente el 90% de pacientes en España se les diagnostica la enfermedad en su fase crónica [32]. La detección de la LMC se realiza en lo que denominaremos *Momento de diagnóstico* o *Punto de Diagnóstico* (P.D.) referidos a la curva de la figura-31

Según [41, 72] el P.D. ocurre entre 5~7 años tras la aparición de la LMC.

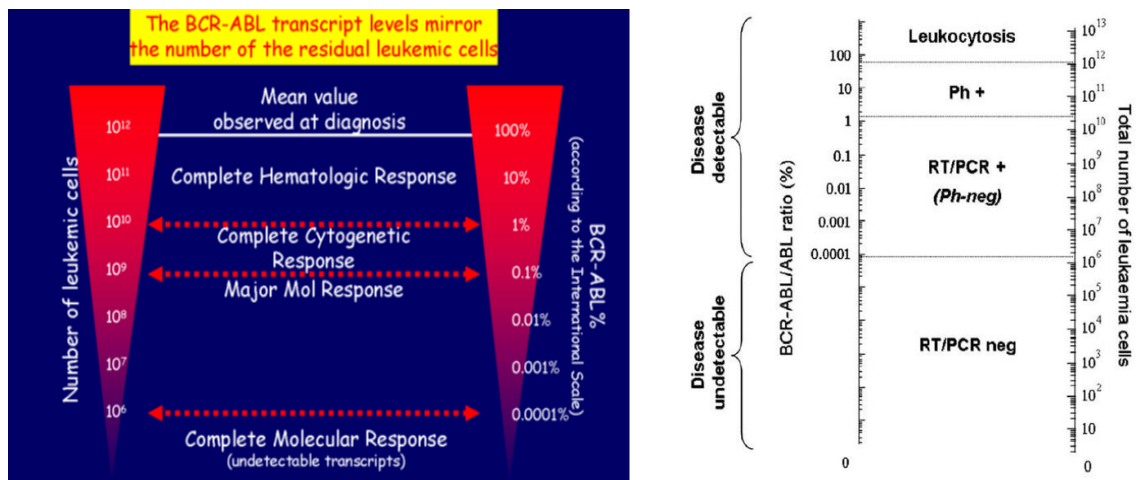


Figura-31 Gráfico superior izquierda: Punto de diagnóstico de la LMC. Gráficos inferiores: Volúmenes de células LMC en el diagnóstico. Fuentes [52, 90]

Los datos clínicos asociados al P.D. son dos:

- **Volumen celular de la población leucémica en sangre periférica (V_{LMC}) en la fase crónica.** Varios autores (F. Michor *et al* [6], D. Dingli *et al* , T.L. Holyoake *et al* [41, 72, 68]) consideran que $V_{LMC} = 10^{12}$ es el volumen de producción diaria de células maduras ph^+ hacia la sangre periférica en el curso de la fase crónica. En la figura-31 (gráficos inferiores) se muestra igualmente el valor de $V_{LMC} = 10^{12}$ como número medio de células leucémicas observadas en el diagnóstico por G. Saglio (Fuente:

Molecular Biology. Measuring and Reporting BCR-ABL Transcripts level. Giuseppe Saglio. European Leukemia Net) y por Roeder I. *et al*).

- **Proporción entre células sanas y LMC.** Se considera que en el P.D la proporción entre células sanas (c_6) y LMC (l_6) es de entre un 5 – 20 % [32]

En este modelo solo consideramos el V_{LMC} como punto de referencia para la población leucémica en situación de fase crónica.

6.3 Propuesta de funciones homeostáticas.

Se proponen las siguientes funciones homeostáticas:

Competencia por citoquinas $\mathcal{S}(t)$. Su formulación es igual a la del modelo-1 y actúa de acuerdo a la hipótesis-2.

Competencia por espacio de nicho.

Motivados por la coexistencia de ambas poblaciones celulares (temporal según [69]), los autores MacLean *et al* [70] enfocan el modelo matemático de la LMC desde la perspectiva ecológica, incorporando condiciones de competencia entre especies (por recursos comunes). En [60] se exponen tres razones biológicas que justifican la competencia por nicho: *i*) estrés físico por sobrepoblación que conduce a la extinción celular, *ii*) la competición por un limitado volumen de nicho se manifiesta en receptores de la membrana celular, *iii*) muerte celular si no hay contactos moleculares.

El espacio de nicho lo definimos como el total de población existente en la médula ósea: $(\sum_1^5(c_i + l_i))$ sin considerar las células maduras c_6 , l_6 (este enfoque de competencia por nicho se presenta también en los trabajos [60, 72, 70, 73]). Nuestra propuesta en este PFM son dos funcionales: uno asociado a la población sana $\mathcal{M}_c(t) = f[\sum_1^5(c_i + l_i)]$ y otro a la LMC: $\mathcal{M}_l(t) = g[\sum_1^5(c_i + l_i)]$ (l_i = población LMC en compartimento i).

La incorporación en el modelo de estos funcionales se puede realizar de dos maneras:

- Aplicación a la fracción de auto-renovación (como factor). Es la seguida en los trabajos [70, 72]
- Aplicación como función de muerte celular. Seguida por [60] sin especificar la naturaleza matemática de estas funciones pero justificando su fundamento biológico.

Estos dos enfoques nos llevan a dos tipos del modelo-2:

Modelo 2.1.

Modelo matemático de 12 poblaciones celulares (6 sanas y 6 LMC) en competencia por citoquinas $\mathcal{S}(t)$ y por nicho identificadas por las funciones $\mathcal{M}_c(t)$ y $\mathcal{M}_l(t)$. La figura-32 muestra la aplicación de estas funciones en la auto-renovación celular de las dos poblaciones. Proponemos dos funciones tipo Hill represoras [74, 75]:

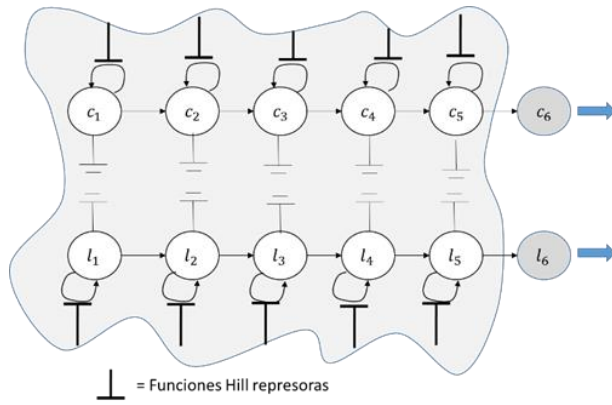


Figura 32. Competencia por citoquinas y por espacio de nicho aplicada a la fracción de auto-renovación.

$$\mathcal{M}_c(t) = \frac{1}{1 + k_c \sum_1^5 (c_i + l_i)}$$

$$\mathcal{M}_l(t) = \frac{1}{1 + k_l \sum_1^5 (c_i + l_i)}$$

Para la elección de los funcionales anteriores $(\mathcal{M}_c(t), \mathcal{M}_l(t))$ nos hemos basado en el trabajo de D. Dingli y F. Michor [72] en el que aplican funcionales similares para el control de competencia por nicho (estos autores no consideran competencia por citoquinas) en un

entorno celular de 2 compartimentos en los que conviven ambas especies (células madre y maduras ya diferenciadas sanas y LMC).

Modelo-2.2.

Constituido también por 12 poblaciones celulares (6 sanas, 6 LMC) en competencia por citoquinas y por nicho, identificadas por las funciones $\mathcal{M}_c^*(t)$ y $\mathcal{M}_l^*(t)$.

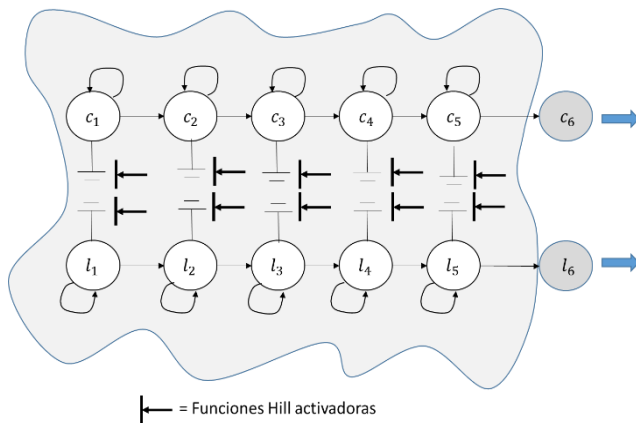


Figura-33 Competencia por citoquinas y por espacio de nicho aplicada como tasa de muerte celular

muestra la aplicación de estas funciones a la muerte celular. Proponemos como aportación en este PFM, funciones tipo Hill activadoras [74, 75]:

$$\mathcal{M}_c^*(t) = \frac{\sum_1^5 (c_i + l_i)}{k_c^* + \sum_1^5 (c_i + l_i)}$$

$$\mathcal{M}_l^*(t) = \frac{\sum_1^5 (c_i + l_i)}{k_l^* + \sum_1^5 (c_i + l_i)}$$

Como hemos mencionado anteriormente Sthiel *et al* [60] sugieren una competencia por nicho como causa directa de

muerte celular sin especificar la naturaleza matemática de estas funciones pero justificando su fundamento biológico.

6.4 Resumen de objetivos del modelo-2.

El objetivo fundamental del modelo-2 es explicar la progresión de la enfermedad LMC, su interacción por competencia con la población sana y de cómo se puede llegar a una coexistencia (tal como sugiere la fase crónica) entre ambas poblaciones a través de estas competencias. Buscamos igualmente caracterizar esta progresión a través de las hipótesis formuladas, de los parámetros asociados a las mismas y de los datos disponibles en el

momento del diagnóstico (P.D.) en la idea de obtener una dinámica de la LMC similar a la definida en sus diferentes fases.

6.5 Hipótesis del modelo:

1. El número de compartimentos es de 6 en los que evolucionan las poblaciones de células sanas c_i , $1 \leq i \leq 6$ y las poblaciones de células leucémicas l_i , $1 \leq i \leq 6$. Por tanto ambas poblaciones comparten el mismo nicho de la médula ósea. El compartimento 6 es de tránsito hacia la sangre periférica. Consideramos que las células LMC discurren por los mismos compartimentos que las sanas [35].
2. Existen evidencias de que la mutación BCR-ABL conserva los mecanismos de recepción de citoquinas en la membrana celular en todos los compartimentos [76, 77, 78], por tanto las fracciones de auto-renovación de las células LMC van a estar afectadas por el funcional $\mathcal{S}(t)$ al igual que las células sanas, es decir, va a haber competencia por señalización molecular externa.
3. Se considera también la competencia por nicho, es decir las células sanas y LMC compiten por espacio en la médula ósea. Esta competencia afecta a las poblaciones de las dos especies en los compartimentos \mathcal{C}_1 a \mathcal{C}_5 . En [79, 73] se muestran evidencias de esta competencia por nicho.
4. La quiescencia está incorporada en la fracción de auto-renovación de ambas especies. No se tiene en cuenta explícitamente este estado en este modelo.
5. Todos los compartimentos celulares excepto el de las células maduras en \mathcal{C}_6 , tienen tasas de proliferación, auto-renovación y diferenciación.
6. La ventaja competitiva intrínseca (*fitness*) la consideramos asociada a la fracción de auto-renovación de células madre leucémicas y es mayor que la de las madre sanas (ventaja proliferativa o *fitness* [76, 80, 79]): $a_{l1} > a_1$
7. Consideramos que no hay mutaciones de células LMC (las mutaciones serán tratadas en el modelo-4)
8. En la fase crónica la proporción de células sanas respecto a células ph^+ se estima entre un 5 y 20 % dependiendo del momento del diagnóstico [32].

6.6 Ecuaciones generales del modelo-2.

Establecemos dos bloques de ecuaciones diferenciales y ecuaciones algebraicas del modelo:

$$\frac{dc_i}{dt} = f(c_i, \theta_i)$$

$$\frac{dl_i}{dt} = g(l_i, \theta_{li})$$

$$\mathcal{M}_c(t), \mathcal{M}_l(t), \mathcal{S}(t)$$

$$\mathcal{M}_c^*(t), \mathcal{M}_l^*(t)$$

Donde c_i es la población sana y l_i la población LMC en los diferentes compartimentos ($1 \leq i \leq 6$) y dos espacios paramétricos: $\theta_i = (a_i, p_i, k, k_c, k_c^*)$ y $\theta_l = (a_{li}, p_{li}, k_l, k_l^*)$.

La solución del modelo la calcularemos por métodos numéricos a través de la herramienta Vensim. Planteamos el siguiente enfoque de resolución:

- **Por ajuste al comportamiento estacionario en la poblaciones en fase crónica.** De acuerdo a F. Michor *et al* [35] y D. Dingli *et al* [41] consideramos que el P.D. es el comienzo de la fase crónica en el que se manifiesta el volumen de producción diaria V_{LMC} . El tiempo de aparición de esta fase lo dictará el modelo de acuerdo a los parámetros del mismo.
- **Por exploración de regiones de valores para los parámetros** de modo que la región resultante tanto para θ_i como para θ_{li} , una vez llevadas a las ecuaciones anteriores, expliquen el comportamiento dinámico de la LMC acorde a la caracterización de la LMC mostrada en el punto 6.2. Este método es el seguido por los autores: MacLean A. *et al* [7], Moore H. *et al* [18, 53], Komarova *et al* [10], Crowell H.L *et al* [73].
- Los valores de los parámetros a_i, p_i, k serán los del modelo-1.
- Para la realización de estas exploraciones utilizaremos el análisis de sensibilidad de Vensim⁹.

La idea central del modelo es identificar las *regiones de valores de los parámetros* que expliquen el comportamiento dinámico de la LMC acorde a la caracterización de la LMC mostrada en el punto 6.2.1. Los pasos a seguir son:

- Planteamiento de las ecuaciones de los modelo 2.1 y 2.2.
- Condiciones de existencia y de equilibrio (relaciones paramétricas derivadas).
- Valores iniciales de parámetros acordes a las condiciones anteriores.
- Análisis de sensibilidad del espacio de parámetros través de la herramienta Vensim.
- Selección de regiones candidatas y conclusiones del modelo.

6.7 Modelos matemáticos del Modelo-2

Las dos poblaciones celulares (sanas y LMC) evolucionan en un espacio de nicho (médula ósea) y compiten por espacio y por citoquinas. Se presentan a continuación dos modelos matemáticos:

- **Modelo 2.1** en el que la competencia por espacio de nicho $\mathcal{M}_c(t), \mathcal{M}_l(t)$ es un factor aplicado a la fracción de auto-renovación.
- **Modelo 2.2** en el que la competencia por espacio de nicho $\mathcal{M}_c^*(t), \mathcal{M}_l^*(t)$ actúa como término de muerte celular en las ecuaciones.

6.7.1 Ecuaciones del Modelo 2.1.

Las ecuaciones del modelo 2.1 constan de un bloque de 6 ecuaciones para las células sanas, otro de 6 ecuaciones para las leucémicas y tres ecuaciones para las funciones de competencia. Al

⁹ https://vensim.com/?s=sensitivity+simulation&submit.x=6&submit.y=7&post_type=post

igual que en Modelo-1 prescindimos de la referencia al tiempo: $c_i(t) = c_i$, $p_i(t) = p_i$, $a_i(t) = a_i$, $S(t) = s$, $\mathcal{M}_c(t) = m_c$, $\mathcal{M}_l(t) = m_l$.

Bloque de ecuaciones para las células sanas:

$$\frac{dc_1}{dt} = 2a_1sm_cp_1c_1 - p_1c_1 - d_1c_1$$

$$\frac{dc_2}{dt} = 2a_2sm_cp_2c_2 - p_2c_2 + 2(1 - a_1sm_c)p_1c_1 - d_2c_2$$

$$\frac{dc_3}{dt} = 2a_3sm_cp_3c_3 - p_3c_3 + 2(1 - a_2sm_c)p_2c_2 - d_3c_3$$

$$\frac{dc_4}{dt} = 2a_4sm_cp_4c_4 - p_4c_4 + 2(1 - a_3sm_c)p_3c_3 - d_4c_4$$

$$\frac{dc_5}{dt} = 2a_5sm_cp_5c_5 - p_5c_5 + 2(1 - a_4sm_c)p_4c_4 - d_5c_5$$

$$\frac{dc_6}{dt} = 2(1 - a_5sm_c)p_5c_5 - d_6c_6$$

Para las células leucémicas

$$\frac{dl_1}{dt} = 2a_{l1}sm_lp_{l1}l_1 - p_{l1}l_1 - d_1l_1$$

$$\frac{dl_2}{dt} = 2a_{l2}sm_lp_{l2}l_2 - p_{l2}l_2 + 2(1 - a_{l1}sm_l)p_{l1}l_1 - d_2l_2$$

$$\frac{dl_3}{dt} = 2a_{l3}sm_lp_{l3}l_3 - p_{l3}l_3 + 2(1 - a_{l2}sm_l)p_{l2}l_2 - d_3l_3$$

$$\frac{dl_4}{dt} = 2a_{l4}sm_lp_{l4}l_4 - p_{l4}l_4 + 2(1 - a_{l3}sm_l)p_{l3}l_3 - d_4l_4$$

$$\frac{dl_5}{dt} = 2a_{l5}sm_lp_{l5}l_5 - p_{l5}l_5 + 2(1 - a_{l4}sm_l)p_{l4}l_4 - d_5l_5$$

$$\frac{dl_6}{dt} = 2(1 - a_{l5}sm_l)p_{l5}l_5 - d_6l_6$$

$$m_c = \begin{cases} 1 & \text{si } l_1 = 0 \\ \frac{1}{1 + k_c \sum_1^5 (c_i + l_i)} & \text{si } l_1 > 0 \end{cases}$$

$$m_l = \frac{1}{1 + k_l \sum_1^5 (c_i + l_i)},$$

$$s = \frac{1}{1 + kc_6(t)}$$

6.7.1.1 Condiciones de existencia y de equilibrio.

Mantenemos los mismos parámetros para la población sana que en el modelo-1, pues así garantizamos que, en ausencia de células LMC, se recuperan los niveles de equilibrio de la población sana. De las condiciones $\frac{dc_i}{dt} \geq 0, \frac{dl_i}{dt} \geq 0$ y de las primeras ecuaciones de cada bloque deducimos (considerando que $d_i = 0, 1 \leq i \leq 5$):

$$2a_1sm_cp_1c_1 - p_1c_1 \geq 0, \quad 2a_{l1}sm_lp_{l1}l_1 - p_{l1}l_1 \geq 0,$$

Y por tanto:

$$m_c \geq \frac{1}{2a_1s}, \quad m_l \geq \frac{1}{2a_{l1}s} \quad Ec(6.7.1.1)$$

El valor de s en situación de equilibrio (sin LMC) es $s = 0,7142$ (tal como se dedujo en modelo-1). Como el incremento de la población LMC va a provocar una merma de la población sana, el valor de s aumentará ($s \rightarrow 1$), por tanto unas cotas inferiores de m_c y m_l son:

$$m_c \geq \frac{0.5}{a_1}, \quad m_l \geq \frac{0.5}{a_{l1}}$$

Para las células LMC establecemos un *fitness* asociado a la fracción de auto-renovación a_{l1} [61] de modo que $a_{l1} \geq a_1$. Fijamos el resto de parámetros $a_{li} = a_i, (1 < i \leq 5), p_{li} = p_i (1 < i \leq 5)$ iguales a los del modelo-1. Por consiguiente $\theta_i \cap \theta_l = \{a_i, a_{li}, p_i, p_{li}\} \in$ modelo-1 para los índices i indicados. Los parámetros para los que necesitamos investigar su *región de factibilidad* acorde al comportamiento de la LMC son $\theta_i^* = k_c$ y $\theta_l^* = (a_{l1}, p_{l1}, k_l)$. Por tanto los únicos parámetros celulares intrínsecos desencadenantes de la evolución LMC serán a_{l1} y p_{l1} . Los parámetros k_c y k_l denotarán la fortaleza en la competencia por nicho de ambas poblaciones, tal como se destaca en [72].

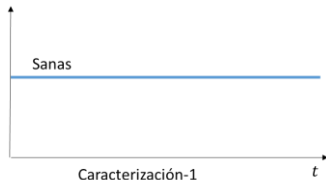
Condiciones e equilibrio.

De las condiciones de equilibrio: $\frac{dc_i}{dt} = 0, \frac{dl_i}{dt} = 0$, de la Ec(6.3.1.1) tenemos:

$$m_c = \frac{1}{2a_1s}, \quad m_l = \frac{1}{2a_{l1}s}$$

Proposición 2.1.1.

En el espacio $(\mathbb{R}^6 \times \mathbb{R}^6)$ asociado a los dos bloques de ecuaciones del modelo-2.1 existe punto de equilibrio (\bar{c}_i, \bar{l}_i) con $\bar{c}_i > 0, l_i = 0. (1 \leq i \leq 6)$



Caracterización-1
Figura-34. Equilibrio población sana

Prueba.

Al hacer $l_i = 0$ el segundo bloque de ecuaciones desaparece por tanto aplicamos las condiciones de equilibrio del modelo-1. Se trata en este caso de un S.H. sano (figura-34) ■

Proposición 2.1.2.

En el espacio $(\mathbb{R}^6 \times \mathbb{R}^6)$ asociado a los dos bloques de ecuaciones del modelo-2.1 existe al menos un vector (\bar{c}_i, \bar{l}_i) con $\bar{c}_i = 0$ y $\bar{l}_i > 0$, $(1 \leq i \leq 6)$ que es un punto de equilibrio (además de la solución trivial $\bar{c}_i = 0$ y $\bar{l}_i = 0$).

Prueba.

Ya que $\bar{c}_i = 0$ implica que $s = 1$, por tanto las ecuaciones del primer bloque desaparecen y las del segundo bloque son similares a las del modelo-1 y en consecuencia (evaluado $\sum_1^5(c_i + l_i) = \sum_1^5(l_i)$ a partir del punto de diagnóstico) el modelo es asintóticamente estable ■

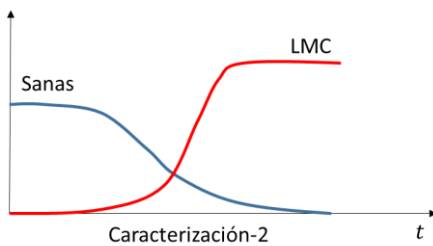


Figura-35 Equilibrio de población LMC y declive de población sana

Observación: los vectores $\bar{c}_i = 0$ y $\bar{l}_i = 0$ son una solución de equilibrio que caracteriza un comportamiento identificado por la desaparición en el tiempo de células sanas y la estabilidad en el tiempo de la población LMC (ejemplo en figura-35). Para esta solución la función de competencia por nicho tiene un valor de:

$$m_i = \frac{1}{2a_{l1}}$$

Este comportamiento no responde a la realidad de la enfermedad ya que la población de células sanas no desaparece en la fase crónica.

Proposición 2.1.3.

En el espacio $(\mathbb{R}^6 \times \mathbb{R}^6)$ asociado a los dos bloques de ecuaciones del modelo-2.1 existen puntos de equilibrio (\bar{c}_i, \bar{l}_i) con $\bar{c}_i > 0$, $\bar{l}_i > 0$ y $\bar{c}_i < \bar{l}_i$

Prueba.

La efectuaremos por análisis numérico con herramienta Vensim en el espacio paramétrico $\theta_i^* \times \theta_l^* = (a_{l1}, p_{l1}, k_c, k_l)$ ■.

Observación: los vectores $\bar{c}_i < \bar{l}_i$ y $\bar{l}_i > 0$ es una solución de equilibrio que caracteriza un comportamiento de LMC identificado por la coexistencia en situación de equilibrio de las

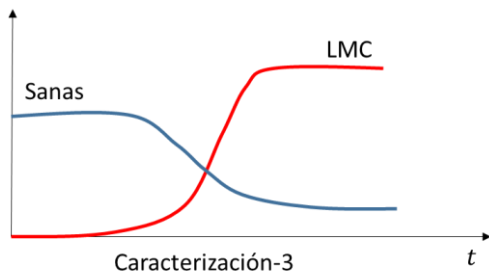


Figura-36. Bi-estabilidad de las dos poblaciones

dos poblaciones con predominio de las células LMC (bi-estabilidad). La figura-36 es un ejemplo que representa este comportamiento. Según [7] estas situaciones de bi-estabilidad, aunque teóricamente posibles, no son sostenibles en el tiempo desde un punto de vista biológico y ecológico (tendencia al predominio de una especie u oscilaciones). No obstante, este es el comportamiento observado en la fase crónica durante un periodo de tiempo (≈ 3 años) antes de la aparición de la fase acelerada.

Proposición 2.1.4.

En el espacio $(\mathbb{R}^6 \times \mathbb{R}^6)$ asociado a los dos bloques de ecuaciones del modelo-2.1 existen puntos de equilibrio (\bar{c}_i, \bar{l}_i) con $\bar{c}_i > 0$, $\bar{l}_i > 0$ y $\bar{c}_i > \bar{l}_i$.

Prueba.

La efectuaremos por análisis numérico con Vensim en el espacio paramétrico $\theta_i^* \times \theta_i^* = (a_{l1}, k_c, k_c)$ ■.

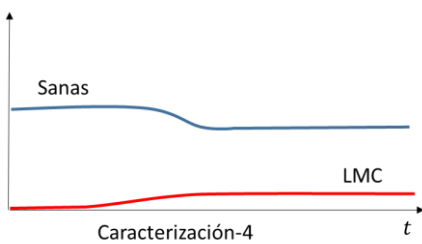


Figura-37. Bi-estabilidad de ambas poblaciones con predominio de la sana

Observación: el vector $\bar{c}_i < \bar{l}_i$ y $\bar{l}_i > 0$ es una solución de equilibrio que caracteriza un comportamiento identificado por la coexistencia en situación de equilibrio de las dos poblaciones con predominio de las células sanas, pero sin desarrollo de la enfermedad LMC. Estamos ante un comportamiento que hemos denominado LMC-neutra (no necesariamente convergente a la enfermedad LMC a juzgar por las estadísticas). La

figura-37 es un ejemplo de este comportamiento.

6.7.1.2 Resumen de comportamientos del modelo.

Las proposiciones anteriores caracterizan por tanto cuatro comportamientos del S.H:

- **Comportamiento-1:** S. H. sano (modelo-1)
- **Comportamiento-2 (C2):** S.H. con LMC. Estabilidad LMC en el tiempo y declive de células sanas (no justificado desde el punto de vista biológico).
- **Comportamiento-3 (C3):** S.H. con LMC. Coexistencia estable en el tiempo de LMC y sanas con predominio LMC.
- **Comportamiento-4 (C4):** S.H. con células BCR-ABL sin LMC. Coexistencia BCR-ABL y sanas con predominio de sanas (LMC neutra).

Por tanto, los dos comportamientos reales de la LMC son el C3 y el C4.

6.7.1.3 Simulación del modelo-2.1 en Vensim.

La simulación de los modelos anteriores la vamos a realizar en dos aproximaciones:

- En primer lugar se efectúa un análisis exploratorio del modelo considerando un amplio campo de variación de los parámetros. El objetivo es detectar que el campo de variación abarca los comportamientos 3 y 4.
- En segundo lugar realizamos un análisis exploratorio con un campo más estrecho de valores con objeto de poder identificar el espacio de parámetros compatibles con el comportamiento estacionario de las poblaciones en la fase crónica según los datos aportados en el punto 6.2.
- En ambos casos utilizaremos el análisis de sensibilidad de Vensim.

6.7.1.4 Análisis de parámetros de rango amplio.

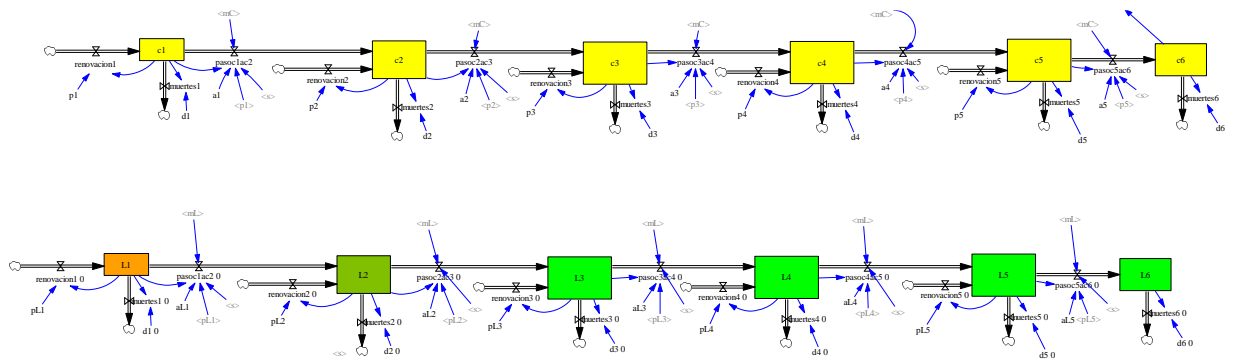


Figura-38 Modelo Vensim de las poblaciones sanas y leucémica

La figura-38 muestra el diagrama Vensim con los bloques asociados al modelo 2.1. En primer lugar realizamos la primera aproximación a través de un análisis exploratorio en el espacio de parámetros $\theta_i^* \times \theta_i^* = a_{l1} \times p_{l1} \times k_c \times k_l$. Fijamos como punto de partida un amplio rango de variación de parámetros:

$$k_c \in [1 \times 10^{-13}; 5 \times 10^{-12}], \quad k_l \in [1 \times 10^{-13}; 6 \times 10^{-12}],$$

$$a_{l1} \in [0,71; 0,85], \quad p_{l1} \in [0,170; 0,2],$$

Con estos rangos cubrimos los comportamientos 3 y 4. Los gráficos de la figura-39 muestra unas simulaciones de aproximadamente 13 años¹⁰ de duración aplicando un análisis de

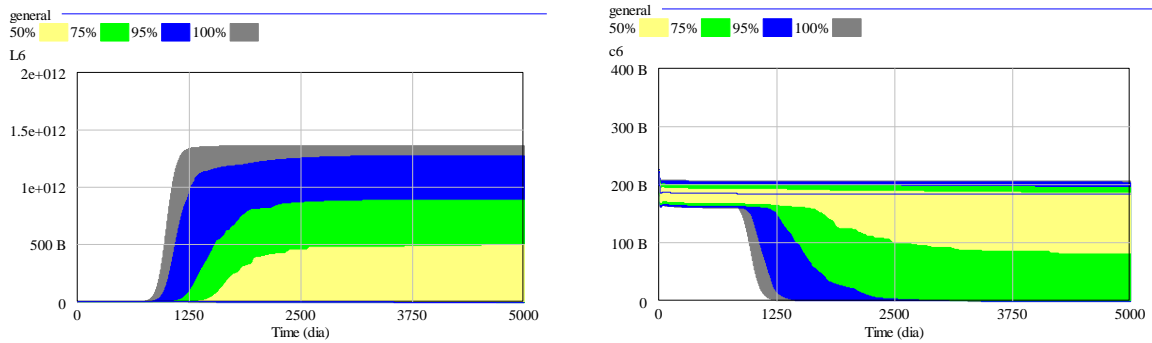


Figura-39. Análisis de sensibilidad en el espacio paramétrico $\theta_i^* \times \theta_i^*$.

sensibilidad de amplio rango en Vensim con técnica Monte-Carlo aplicada a distribuciones uniformes y muestreo por cubos latinos¹¹. El gráfico izquierdo de la figura-34 es la evolución de LMC y el derecho de la población sana. Se observa que los comportamientos (C3 y C4) están incorporados en esta región paramétrica. La población LMC alcanza niveles estables desde $\approx 10^{12}$ hasta valores inferiores a 1×10^{10} células-LMC. La población sana pasa de equilibrio de S.H. sana por valores estables intermedios (incluida su desaparición).

6.7.1.5 Análisis de parámetros rango estrecho.

En esta segunda aproximación se realiza un análisis de sensibilidad en unos intervalos paramétricos más estrechos que en el caso anterior:

$$k_c \in [2,7 \times 10^{-13}; 3,3 \times 10^{-12}], k_l \in [4,8 \times 10^{-13}; 5,2 \times 10^{-12}], a_{l1} \in [0,8; 0,83],$$

$$p_{l1} \in [0,170; 0,174],$$

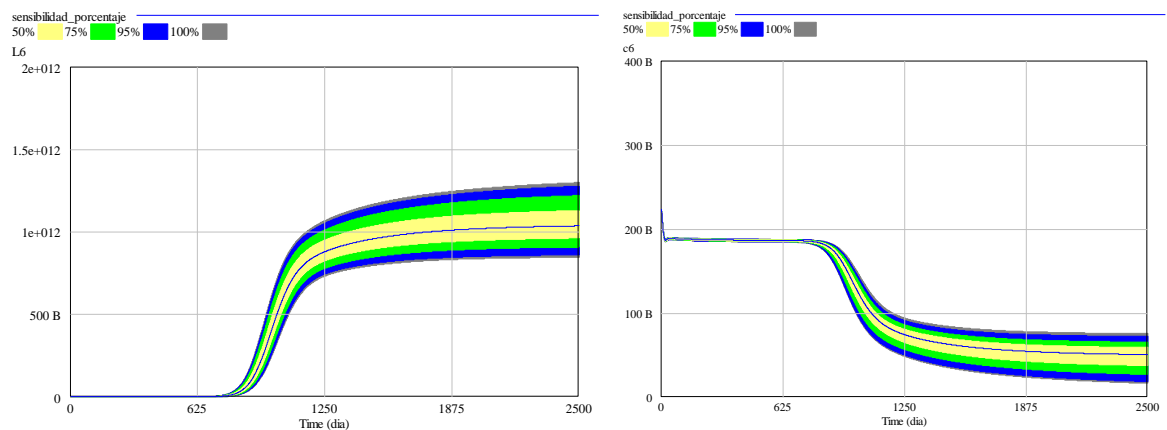


Figura-40 Comportamiento de las poblaciones leucémicas (izquierda) y la sana (derecha) con un espacio de parámetros de margen estrecho

¹⁰ El objetivo es comprobar que existe una estabilidad en este horizonte temporal.

¹¹ Técnicas similares se utilizan en [69, 53, 18]

La figura-40 son gráficos de análisis de sensibilidad según la región anterior. Ambos gráficos (izquierdo para población l_6 , derecho para la c_6) presentan regiones compatibles con la caracterización C3 de LMC. En C3 se confiere un *fitness* por auto-renovación de

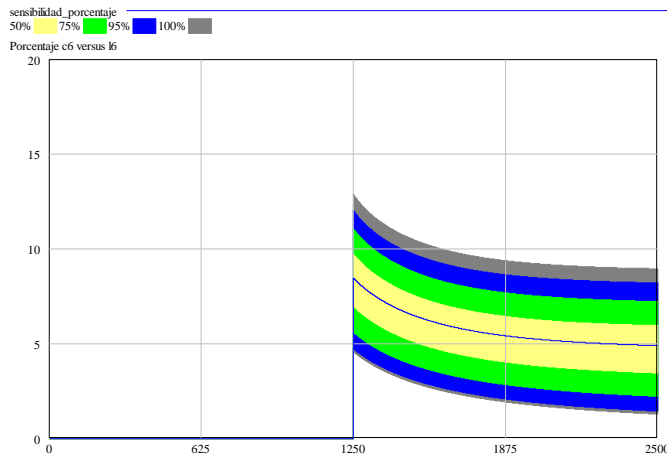


Figura-41. Evolución del porcentaje sanas versus LMC

$\sim 18\%$ respecto a la población sana (en [61] se asigna más de un 20%). En C4 se asigna más *fitness* pero menos competencia por nicho que en las sanas.

La figura-41 es el porcentaje de células sanas c_6 respecto a las l_6 . Tal como se indicó en la hipótesis 8 este porcentaje se estima entre un 5 y 15%. La figura indica una variación entre un 2 y un 9% en el periodo estable.

6.7.1.6 Parámetros definitivos en comportamiento C3

Tomamos como parámetros definitivos para la fase crónica en el modelo 2.1 para comportamiento C3 valores intermedios de los intervalos anteriores:

$$a_{l1} = 0,82, p_{l1} = 0.172, k_c = 2.82 \times 10^{-13}, k_l = 5 \times 10^{-13}$$

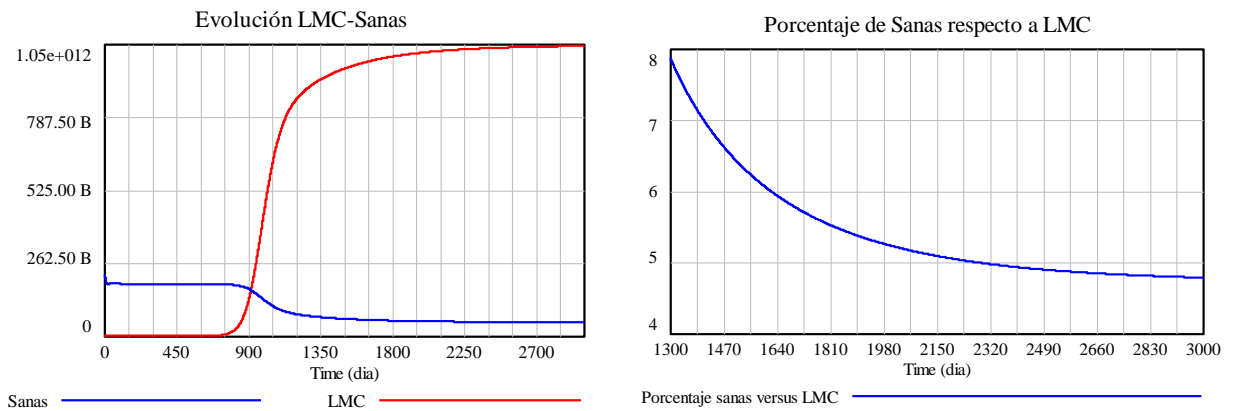


Figura-42. Evolución de las poblaciones LMC y sanas

La figura-42 muestra la evolución de células sanas y las células LMC en la que se alcanza una bi-estabilidad de ambas poblaciones a partir del día 2000. Por otra parte el porcentaje de sanas respecto a LMC es aproximadamente el 5% en el periodo estable.

6.7.1.7 Parámetros definitivos en comportamiento C4 (LMC-neutra)

En cuanto al comportamiento de la LMC-neutra (comportamiento C4), aplicamos igualmente un análisis de sensibilidad de los parámetros en rango estrecho:

$$k_c \in [8,7 \times 10^{-13}; 9 \times 10^{-13}], \quad k_l \in [2,6 \times 10^{-12}; 2,9 \times 10^{-12}],$$

$$a_{l1} \in [0,84; 0,87], \quad p_{l1} \in [0,170; 0,174],$$

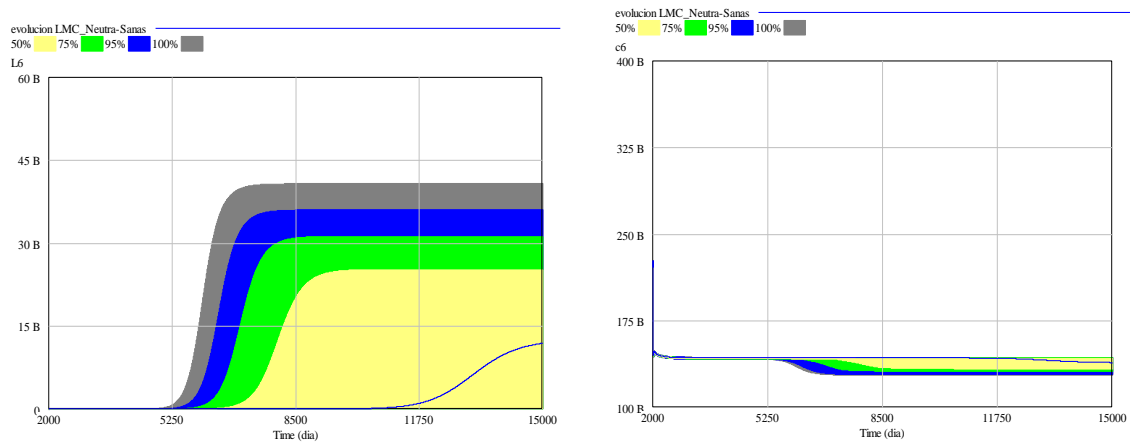


Figura-43 Variación de poblaciones para la LMC-neutra

La figura-43 muestra el comportamiento de la población LMC-neutra con una variación muy amplia entre 0 y 35×10^9 células LMC frente una variación más estrecha de células sanas (entre 140 y 120×10^9). Al no ser detectable en un análisis hematológico se sugiere que el porcentaje no debe ser superior al 10 % [81], teniendo en cuenta este porcentaje los parámetros del modelo-2 para la LMC-neutra (ph^0) son:

$$a_{l1} = 0.86, p_{l1} = 0.172, k_c = 8,8 \times 10^{-13}, k_l = 2,77 \times 10^{-12}$$

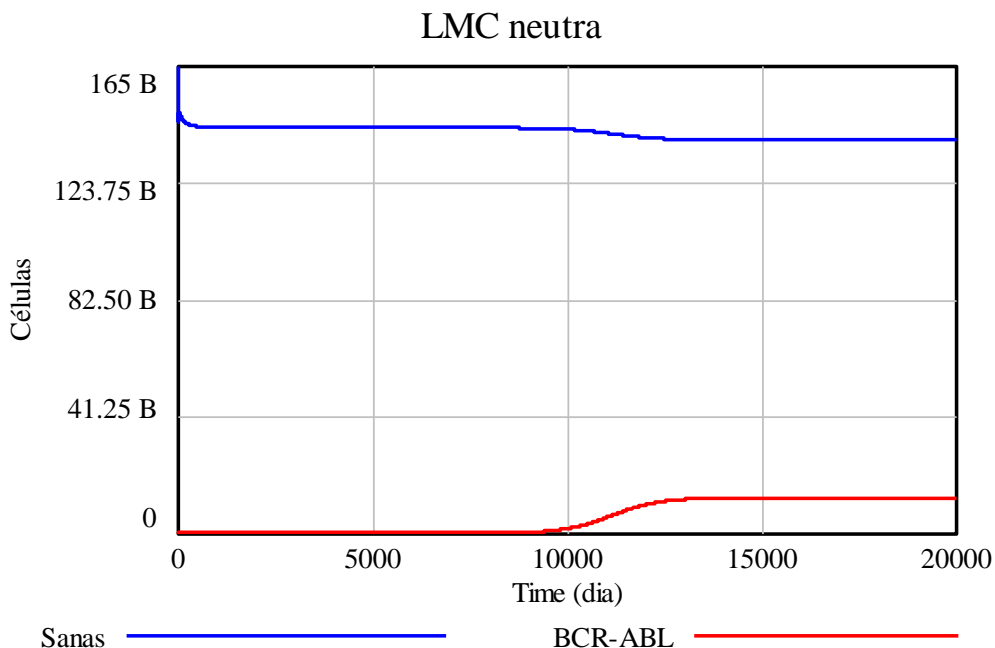


Figura-44. Bi-estabilidad con predominio de células sanas. LMC neutra

En [81] se sugiere que $\sim 3\%$ de individuos sanos portan el gen BCR-ABL. En [29] se estima en 1 célula ph^+ por cada 10^5 ph^- en individuos sanos, esto supone una producción diaria de $\sim 10^6$ ph^+ . En el modelo de la figura-44 esta condición se cumple hasta ~ 14 años desde la aparición del primer gen ph^+ . Destacamos que para la obtención de estos resultados ha sido preciso aumentar el *fitness* ph^+ un 23 %, sin embargo el factor de competencia m_c de las células sanas es mayor que el de las ph^+ (~ 1 frente a 0,73). La figura-44 representa la evolución de lo que hemos denominado LMC-neutra. El modelo sugiere la existencia de un volumen celular apreciable pasados los 40 años desde la aparición de la primera célula ph^+ y en todo caso asintomático [29].

6.7.1.8 Comportamiento LMC ante otros valores de los parámetros

La variación de los parámetros en las regiones de compatibilidad nos permite obtener otras dinámicas como las mostradas en la figura-45, que, aunque de difícil justificación biológica muestran la flexibilidad del modelo 2.1

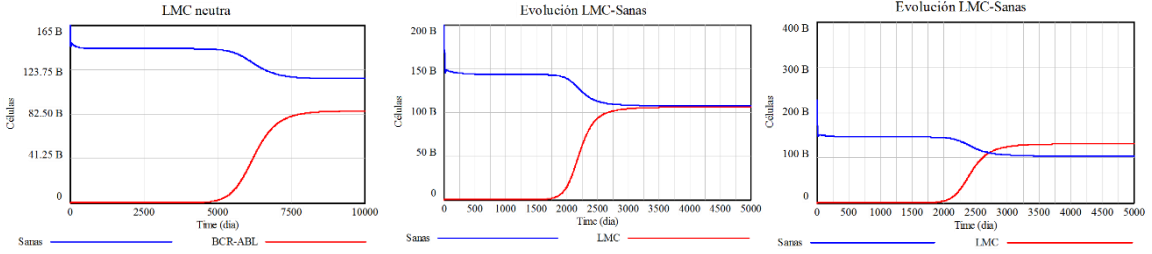


Figura-45 Diferentes dinámicas poblaciones LMC-sanas

6.7.2 Ecuaciones del modelo 2.2

En este caso las ecuaciones del modelo son (hacemos $\mathcal{M}_c^*(t) = m_c^*$, $\mathcal{M}_l^*(t) = m_l^*$, considerado además que $d_i \cong 0, 1 \leq i \leq 5$):

$$\frac{dc_1}{dt} = 2a_1sp_1c_1 - p_1c_1 - m_c^*c_1$$

$$\frac{dc_2}{dt} = 2a_2sp_2c_2 - p_2c_2 + 2(1 - a_1s)p_1c_1 - m_c^*c_2$$

$$\frac{dc_3}{dt} = 2a_3sp_3c_3 - p_3c_3 + 2(1 - a_2s)p_2c_2 - m_c^*c_3$$

$$\frac{dc_4}{dt} = 2a_4sp_4c_4 - p_4c_4 + 2(1 - a_3s)p_3c_3 - m_c^*c_4$$

$$\frac{dc_5}{dt} = 2a_5sp_5c_5 - p_5c_5 + 2(1 - a_4s)p_4c_4 - m_c^*c_5$$

$$\frac{dc_6}{dt} = 2(1 - a_5s)p_5c_5 - d_6c_6$$

Para las células leucémicas

$$\frac{dl_1}{dt} = 2a_{l1}sp_{l1}l_1 - p_{l1}l_1 - m_l^*l_1$$

$$\frac{dl_2}{dt} = 2a_{l2}s p_{l2}l_2 - p_{l2}l_2 + 2(1 - a_{l1}s) p_{l1}l_1 - m_l^*l_2$$

$$\frac{dl_3}{dt} = 2a_{l3}sp_{l3}l_3 - p_{l3}l_3 + 2(1 - a_{l2}s) p_{l2}l_2 - m_l^*l_3$$

$$\frac{dl_4}{dt} = 2a_{l4}s p_{l4}l_4 - p_{l4}l_4 + 2(1 - a_{l3}s) p_{l3}l_3 - m_l^*l_4$$

$$\frac{dl_5}{dt} = 2a_{l5}s p_{l5}l_5 - p_{l5}l_5 + 2(1 - a_{l4}s) p_{l4}l_4 - m_l^*l_5$$

$$\frac{dl_6}{dt} = 2(1 - a_{l5}s) p_{l5}l_5 - d_6l_6$$

$$\mathcal{M}_c^*(t) = \begin{cases} 0, & \text{si } l_1 = 0 \\ \frac{\sum_1^5(c_i + l_i)}{k_c^* + \sum_1^5(c_i + l_i)}, & \text{si } l_1 > 0 \end{cases}$$

$$\mathcal{M}_l^*(t) = \begin{cases} 0, & \text{si } l_1 = 0 \\ \frac{\sum_1^5(c_i + l_i)}{k_l^* + \sum_1^5(c_i + l_i)}, & \text{si } l_1 > 0 \end{cases}$$

$$s = \frac{1}{1 + kc_6(t)}$$

6.7.2.1 Condiciones de existencia y de equilibrio

De las condiciones $\frac{dc_i}{dt} \geq 0$, $\frac{dl_i}{dt} \geq 0$ y de las primeras ecuaciones de cada bloque deducimos:

De la primera ecuación del primer bloque:

$$m_c^* \leq p_1(2a_1s - 1) \Rightarrow a_1 > \frac{1}{2s}$$

igual a la Ec(11.3.1). En condiciones de equilibrio: $m_c^* = p_1(2a_1s - 1)$.

Haciendo $P = \sum_1^5(c_i + l_i)$:

$$p_1(2a_1s - 1) = \frac{P}{k_c^* + P}, \quad k_c^* = \frac{P - P(p_1(2a_1s - 1))}{p_1(2a_1s - 1)}$$

Con lo que $k_c^* > 0$ al cumplirse la condición anterior.

De las ecuaciones del segundo bloque deducimos relaciones similares a las anteriores pero con los parámetros asociados a la población LMC. En el modelo 2.2 se cumplen las proposiciones del modelo 2.1.

6.7.2.2 Resumen comportamiento del modelo

Los comportamientos en este modelo son similares a los del modelo-2.1: C1, C2, C3 y C4

6.7.2.3 Simulación del Modelo-2.2 en Vensim

De forma similar a lo realizado en modelo-2.1 la simulación se realizará en dos aproximaciones:

- En primer lugar se efectúa un análisis exploratorio del modelo considerando un amplio campo de variación de los parámetros. El objetivo es detectar que el campo de variación abarca los comportamientos 3 y 4.
- En segundo lugar realizamos un análisis exploratorio con un campo más estrecho de valores con objeto de poder identificar el espacio de parámetros compatibles

6.7.2.4 Análisis de parámetros de rango amplio

Al igual que en el modelo-1 realizamos dos exploraciones paramétricas. En primer lugar realizamos un análisis exploratorio en el espacio de parámetros $\theta_i^* \times \theta_i^* = a_{l1} \times p_{l1} \times k_c^* \times k_l^*$. Fijamos como punto de partida un amplio rango de variación de parámetros: c

$$k_c^* = [1 \times 10^{14}; 3 \times 10^{14}],$$

$$k_l^* = [2 \times 10^{13}; 4 \times 10^{13}],$$

$$a_{l1} = [0,71; 0,8].$$

$$p_{l1} = [0,170; 0,2]$$

Con estos rangos cubrimos los comportamientos (3 y 4). Los gráficos de la figura-44 muestran un análisis de sensibilidad en Vensim con simulación Monte-Carlo aplicada a distribuciones uniformes y muestreo por cubos latinos.

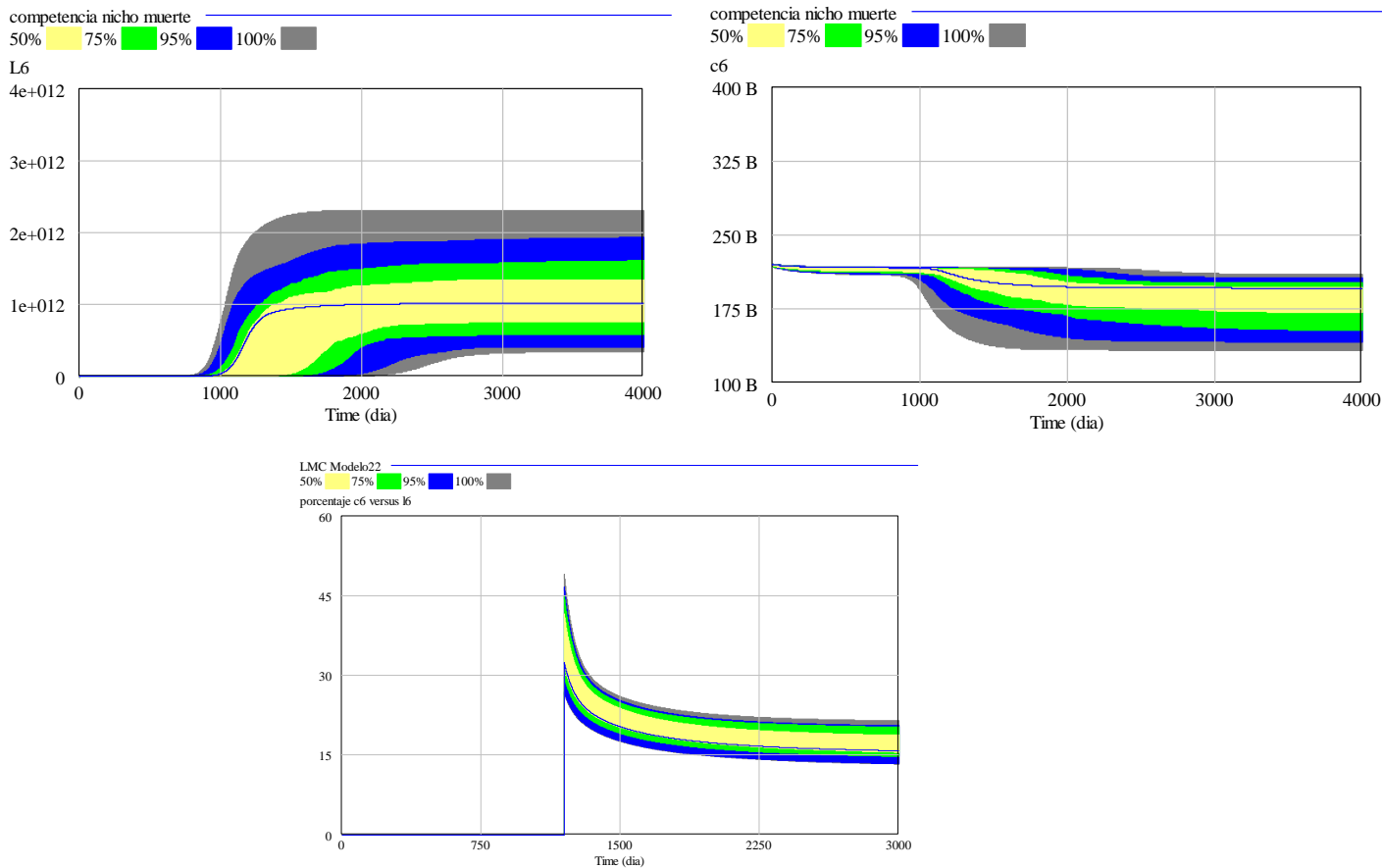


Figura-46 Análisis de sensibilidad poblaciones LMC y sanas (gráficos superiores).
Porcentaje de sanas versus LMC (gráfico inferior)

En la figura-46 el gráfico izquierdo superior es la evolución de LMC y el derecho de la población sana. Se observa que todos los comportamientos están incorporados en esta región paramétrica. La población LMC alcanza niveles estables desde $> 10^{12}$ hasta valores

inferiores a 1×10^{10} células-LMC. La población sana pasa del estado de equilibrio de S.H sana por valores estables intermedios. El gráfico inferior es el porcentaje de células sanas versus LMC, está comprendido entre un 12% y un 25 %.

6.7.2.5 Análisis de parámetros de rango estrecho.

En esta segunda aproximación se realiza un análisis de sensibilidad en unos intervalos paramétricos más estrechos que en el caso anterior:

$$k_c^* \in [0,5 \times 10^{14}, 1,3 \times 10^{14}], \quad k_i^* \in [2,5 \times 10^{13}, 3,3 \times 10^{13}]$$

sin variar en este caso los parámetros a_{l1} , p_{l1} ya que hemos comprobado que no afectan al resultado.

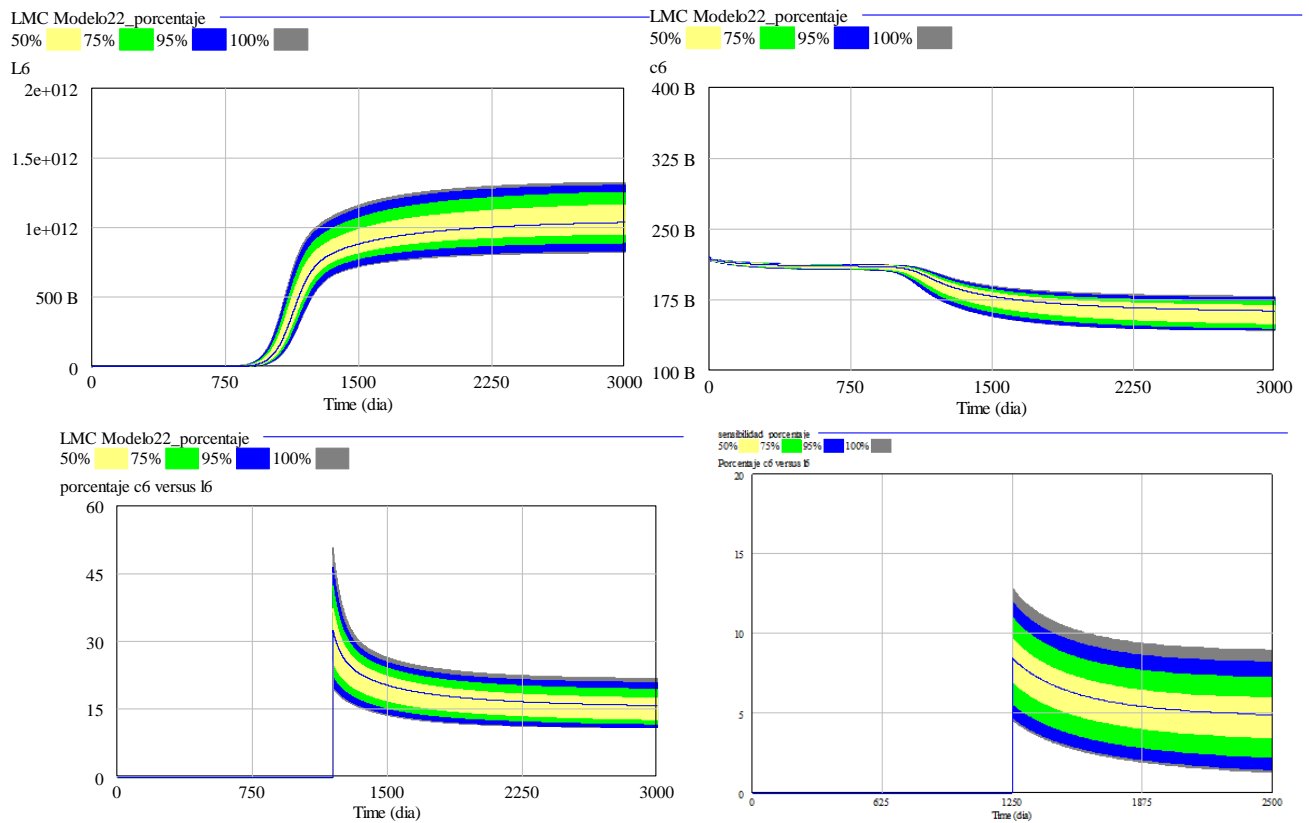


Figura-47. Variación de las poblaciones celulares LMC sanas en análisis de sensibilidad (gráficos superiores). Variación porcentaje modelo-2.2 (inferior izquierda) versus modelo-2.1 (inferior derecha)

La figura-47 muestra el comportamiento de las poblaciones LMC y sanas en el análisis de sensibilidad de estrecho margen. Los dos gráficos anteriores muestran los campos de variación de los porcentajes de sanas versus LMC (SaM%) en ambos modelos. Destacamos que en modelo-2-2 $SaM\% \in [25,14]$ y en el modelo-2.1 $SaM\% \in [3,9]$. Esto nos sugiere que ambos modelos pueden representar una LMC en fase crónica con diferentes sintomatologías (más leves en el caso del modelo-2.2)

6.7.2.6 Parámetros definitivos en comportamiento C3..

Los parámetros que consideramos representativos de la LMC en fase crónica en el modelo 2.2 son:

$$a_{l1} = 0.79, \quad p_{l1} = 0.173, \quad k_c^* = 1,1 \times 10^{14}, \quad k_l^* = 2,9 \times 10^{13}$$

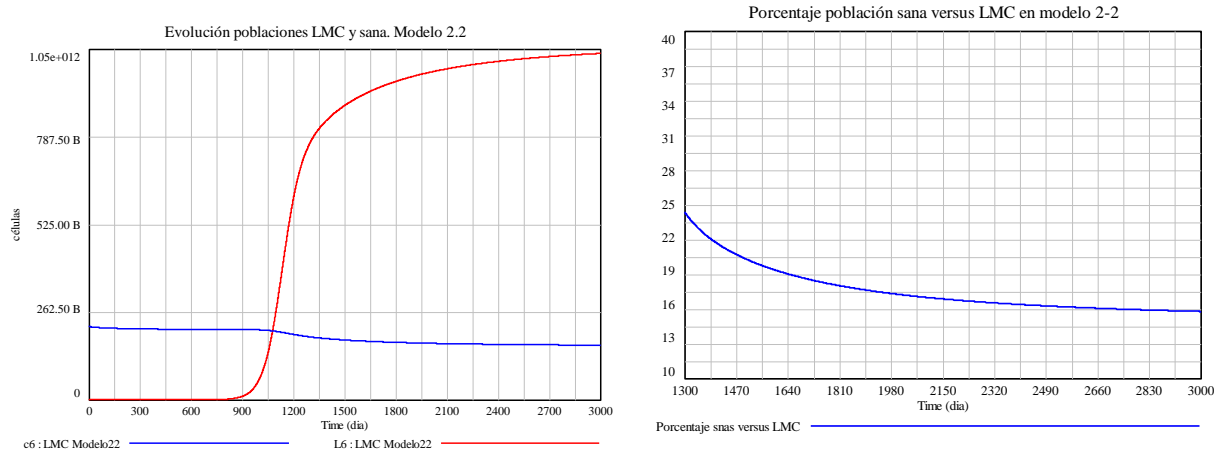


Figura-48 Evolución población LMC y sana (izquierda). Porcentaje sanas versus LMC (derecha)

La figura-48 muestra la evolución de células sanas respecto a LMC en la que se alcanza una bi-estabilidad de ambas poblaciones a partir del día 2000. Por otra parte el porcentaje de sanas respecto a LMC es aproximadamente el 15 % en el periodo estable.

6.7.2.7 Parámetros definitivos en comportamiento C4 (LMC-neutra).

Los parámetros que consideramos representativos de la LMC neutra (figura-49) en el modelo 2.2 son:

$$a_{l1} = 0.79, \quad p_{l1} = 0.173, \quad k_c^* = 2,8 \times 10^{14}, \quad k_l^* = 9 \times 10^{12}$$

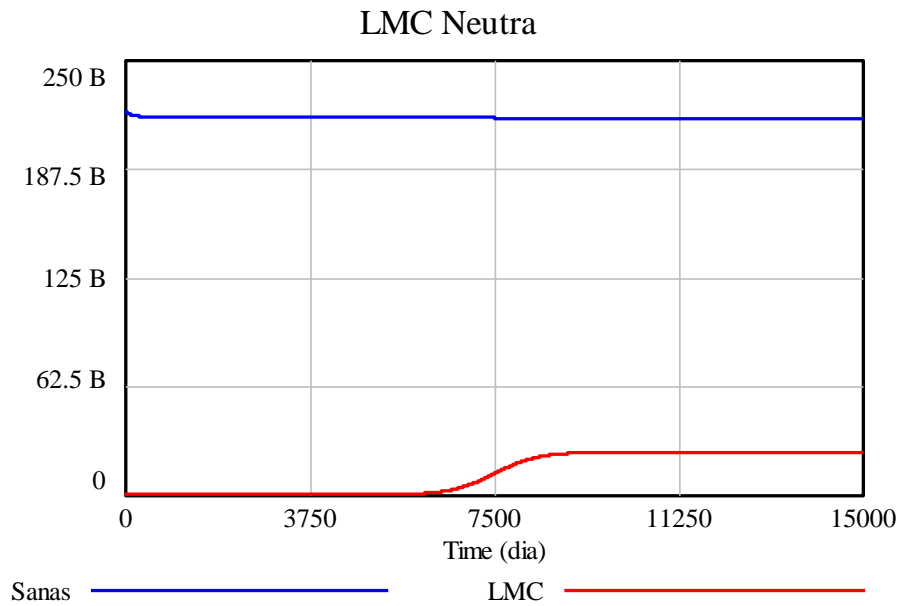


Figura-49 Evolución LMC-neutra

6.8 Conclusiones modelo-2

1. Los modelos 2.1 y 2.2 junto con los parámetros especificados en el punto anterior permiten modelar la enfermedad LMC en su fase de crecimiento y crónica tanto en el volumen celular en el momento de diagnóstico ($\sim 10^{12}$ células) como el periodo de inicio de la fase crónica ($\sim 5 - 6$ años desde el inicio). Sin embargo hay una diferencia importante entre ambos modelos en relación al volumen de células sanas en la fase crónica.

En la figura-44 mostramos la evolución celular en ambos modelos. En el modelo 2.1 (izquierda) el volumen de células sanas en equilibrio en la fase crónica desciende a $\sim 40 \times 10^9 = 0,4 \times 10^{11}$ mientras que en el modelo 2.2 (derecha) el volumen es $\sim 196 \times 10^9 = 1,96 \times 10^{11}$. En el primer caso supone una pérdida de producción diaria de ~ 58 veces menor que lo normal y en el segundo de $\sim 1,2$ veces.

En el gráfico inferior de la figura-50 se muestran los porcentajes de células sanas respecto a las LMC. Se observa que ambos modelos se aproximan inferior y superiormente al porcentaje estimado (hipótesis 8). Desde el punto de vista clínico, ambos modelos sugieren una representación de la sintomatología del paciente: el modelo 2.1 con un porcentaje de células sanas inferior al 5% sugiere síntomas en la fase crónica mientras que el modelo 2.2 se aproxima más a la ausencia de síntomas de la fase crónica en sus inicios [23]. Por tanto ambos modelos abarcan comportamientos clínicos diferentes de la LMC en su fase crónica. La línea verde gruesa de los gráficos representa la aparición de células LMC blásticas (no funcionales) que en la fase crónica es ~10% del total [38].

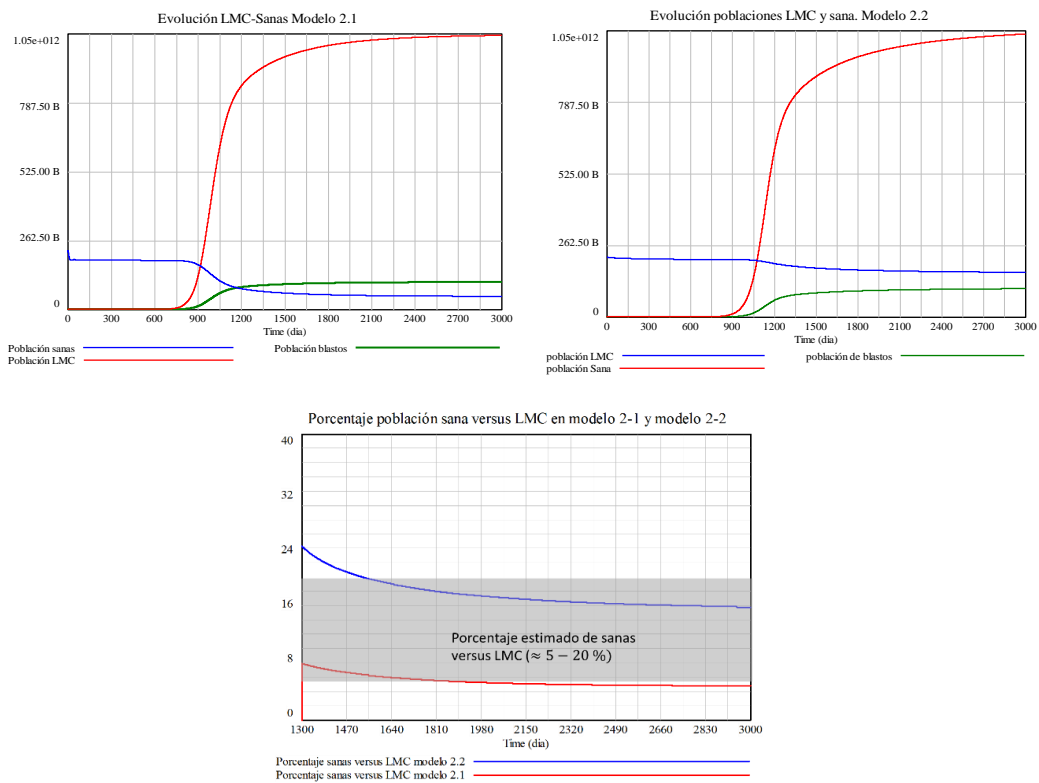


Figura-50 Evolución de población LMC y sanas (gráficos superiores). Evolución de porcentajes de sanas versus LMC.

- Los parámetros asociados al *fitness* de las células LMC son la auto-renovación a_{l_1} y la proliferación p_{l_1} en la población de células madre l_1 , el resto de los parámetros en las demás poblaciones LMC (l_1 a l_5) son iguales a sus correspondientes en las poblaciones sanas [5, 60]. Algunos autores [72] *trasladan* el *fitness* al compartimento de células progenitoras aduciendo como razón biológica la conservación del espacio del micro-nicho de células madre (compartido por células sanas y BCR-ABL). Hemos comprobado que si aplicamos el *fitness* a la población l_2 los resultados son los mismos, por tanto desde el punto de vista matemático el modelo se comporta de la misma manera.

3. El modelo en sus versiones 1 y 2 solo explica el crecimiento de la población LMC y su bi-estabilidad en la fase crónica. Sin embargo, la enfermedad LMC (en ausencia

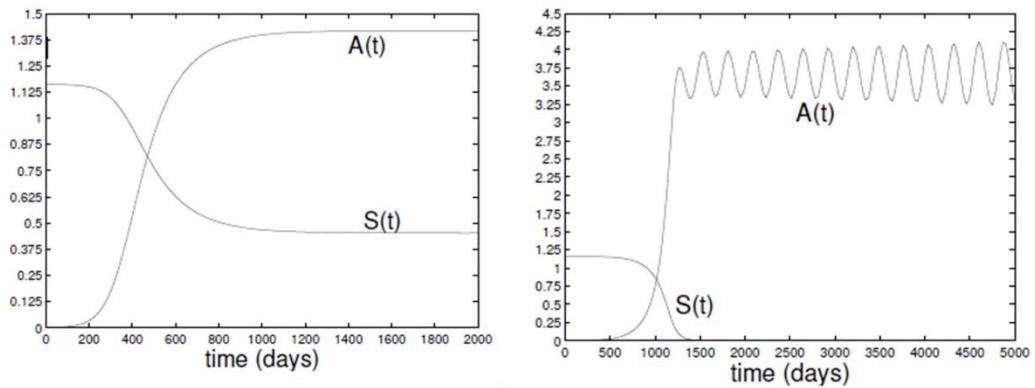


Figura-51 Modelo de Neiman B. de la fase acelerada de la LMC

de fármacos o por resistencia a los mismos o por aparición de mutantes) progresa hacia una fase acelerada y tras varios meses en esta fase (~6 meses) [78, 68] culmina en un explosivo crecimiento celular LMC con un alto porcentaje de *blastos* (> 20%) [38]. Neiman B. [82] modela la fase acelerada a través de un modelo ecológico basado en un crecimiento de tipo logístico de ambas poblaciones: sanas (S) y LMC (A) y una competencia por ocupación de espacio (capacidad de carga). A partir de este modelo básico incorpora el estado de quiescencia de células LMC y un tiempo de retardo que afecta al ciclo de vida (paso quiescente-activo como elemento regulatorio y también como portador de *energía* para sostener la oscilación).

La figura-51 representa el comportamiento de las dos poblaciones: en el gráfico de la izquierda no se considera el tiempo de retardo y en el de la derecha se incorpora la actuación en la fase crónica de células LMC quiescentes hacia/desde células LMC activas resultando la aparición brusca de una fase acelerada que se extiende *in crescendo* a lo largo del tiempo. Este autor no considera la crisis blástica en su modelo.

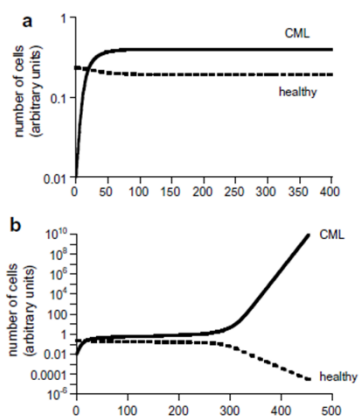


Figura-52 Modelo de LMC en fase blástica. Modelo Wodarz [69]

Por otra parte, Wodarz D. [69] realiza un modelo orientado al modelado de la crisis blástica (obviando la fase acelerada), para ello considera una competencia de nicho entre ambas poblaciones pero fijando una capacidad de carga como factor de decisión entre división celular simétrica versus asimétrica actuando la división como elemento regulador. De este modo si el número de células madre es inferior a la capacidad de carga se favorece la división simétrica. Esto se cumple para ambos tipos de células, sin embargo a las células LMC el autor les asigna una división celular *no*

regulada: las células LMC se dividen continuamente con tipo simétrico o asimétrico determinado por distintos mecanismos de regulación.

Este modelo conduce a la fase *blástica* tras el paso por una fase pseudo-crónica (casi estable) [27]. La figura-52 presenta la evolución de células LMC en la que a partir de un determinado volumen de población se produce un crecimiento explosivo de la población leucémica tras haber superado la capacidad de carga y en función de unos reguladores por *feedback* positivo que estimulan la diferenciación a través de la división celular asimétrica. Los valores mostrados en los ejes son unidades arbitrarias elegidas por el autor. En [15] se realiza igualmente un modelo estocástico basado en la transición de ciclo de división celular simétrico/asimétrico como elemento regulador.

4. En base a lo anterior y como resumen del capítulo podemos afirmar que disponemos de modelos parciales del fenómeno: fase crónica (propuesto en este PFM), fase acelerada (Neiman) y fase blástica (Wodarz) entre otros [5, 35, 17, 83]. Todos los modelos anteriores son parciales. La realización de un modelo que integre las tres fases de la LMC debe contemplar, en nuestra opinión, los mecanismos regulatorios mencionados anteriormente (siempre en ausencia de fármacos). En figura-53 proponemos una arquitectura en la que se plantean estados de quiescencia y de actividad de las poblaciones celulares, su relación con el entorno y entre ellas mismas a través de elementos reguladores. En la tabla-6 proponemos las funciones de regulación a incorporar en dicha arquitectura.

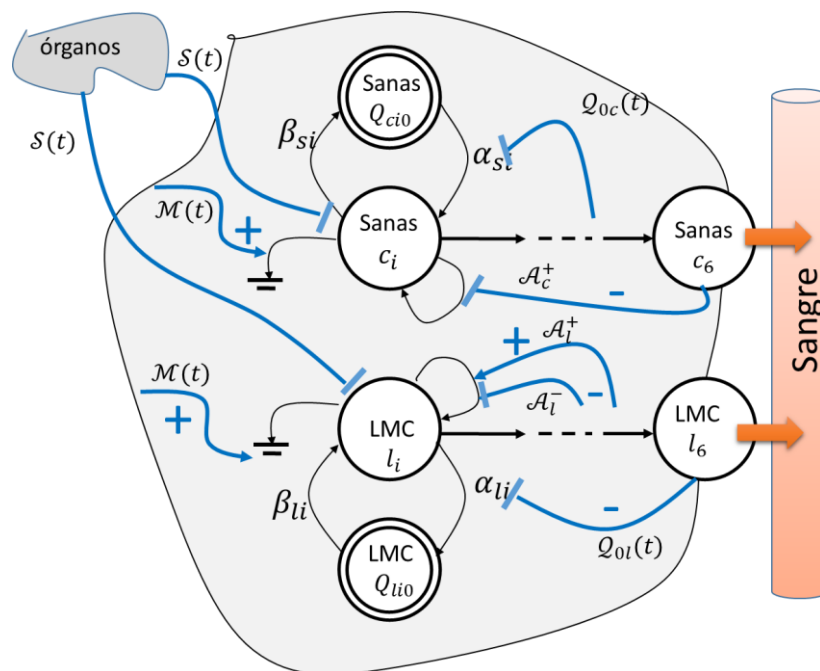


Figura-53 Arquitectura integrada de las distintas fases de la LMC

Elementos Reguladores	Tipo	Referencias
$\mathcal{S}(t)$	Regulación por citoquinas	[5, 60]
$\mathcal{M}(t)$	Regulación por ocupación de nicho	[60, 70, 69]
$\mathcal{Q}_{oc}(t)$	Regulación ciclo celular en población sana por paso hacia/desde quiescencia	[14, 10]
$\mathcal{Q}_{ol}(t)$	Regulación ciclo celular en población leucémica por paso hacia/desde quiescencia	[14, 10]
\mathcal{A}_l^+	Regulación tipo de división celular en población leucémica (feedback positivo)	[15, 69]
\mathcal{A}_l^-	Regulación tipo de división celular en población leucémica (feedback negativo)	[15, 69]
\mathcal{A}_c^-	Regulación tipo de división celular en población sana (feedback negativo)	[15, 69]

Tabla 6. Componentes de la arquitectura integrada de fases de la LMC

El análisis de este modelo integrado y su desarrollo lo planteamos como un **trabajo futuro** que pudiera ser implementado tanto en el paradigma determinista como en otros paradigmas (Inteligencia artificial: Sistemas Multiagentes).

Capítulo 7

7. Modelo Matemático de la enfermedad LMC bajo la acción de fármacos. (Modelo-3).

7.1 Acción del fármaco en fase crónica de la LMC

Como hemos mencionado en el capítulo 3 el tratamiento de la LMC con fármacos se inicia tras el diagnóstico y la comprobación a través de pruebas hematológicas y citogenéticas de la existencia y abundancia de la mutación BCR-ABL. En la mayoría de los casos el paciente se encuentra en fase crónica con los parámetros indicados en el capítulo anterior (10^{12} células LMC de producción diaria y $\leq 10\%$ de células blásticas).

Tras el diagnóstico y las pruebas se procede a la administración diaria de un fármaco TKI que en general es imatinib de 400 mg. Como ya indicamos en el capítulo 3, se ha comprobado que los fármacos TKI son potentes inhibidores de la enzima tirosina kinasa Bcr-Abl, provocando la eliminación drástica de células LMC en médula ósea desde el primer día [33, 41, 35, 12, 84, 85, 86]. Sin embargo no elimina del todo las células madre LMC (l_1). Una de las razones es la elevada población de l_1 en estado de quiescencia [87, 88].

La dosis estándar de imatinib provoca una respuesta hematológica completa (RHC) y una respuesta citogenética completa (RCC) en el 98% y 82% de los casos respectivamente, para pacientes con LMC en fase crónica [38, 89].

Los autores Berezansky *et al* y Glauche *et al* [31, 86] proponen una terapia combinada con dos fármacos: interferón- α (conocido como $IFN\alpha$) e imatinib. El objetivo del $IFN\alpha$ es la activación del ciclo celular de las células LMC en estado quiescente para que sean diana de imatinib. Esta combinación no siempre da buenos resultados ya que en algunos casos presenta unos efectos secundarios muy severos. Los autores Cortés, J. *et al* [89] consideran que la adición de $IFN\alpha$ a imatinib no mejora los resultados comparados con la terapia de una dosis más alta de imatinib de forma aislada (800 mg/d).

Hipótesis del modelo:

1. Tomamos como modelo base el modelo 2.2 ya que entendemos que es el más próximo a los casos de pacientes en LMC en fase crónica. A partir del momento del diagnóstico, los pacientes (tras los análisis pertinentes) comienzan la administración diaria del fármaco. En la mayoría de los casos se comienza con *Imatinib* de 400 mg. No incluimos otros fármacos adicionales como $IFN\alpha$.
2. El modelado de la acción del fármaco será como factor que provoca muerte celular (apoptosis). En un estudio de simulación Glauche *et al* [86] sugieren una tasa de eliminación de un 3,5% de células LMC (excepto l_1) por cada unidad de tiempo (día). F. Michor [6, 81] ha demostrado que la acción del fármaco se produce en dos etapas: la primera en los primeros tres meses de tratamiento en el que la producción de células LMC se reduce entre un 3-5 % diario y una segunda fase con una reducción entre un 0,4 y 0,7 % por día (curvas bifásicas). Los autores Berezansky *et al* proponen una tasa de muerte celular 5,6 para dosis de imatinib de 400 mg de forma aislada (sin $IFN\alpha$).
3. El seguimiento de la evolución de la LMC tras el comienzo de la administración del fármaco se determina por ratio $\frac{BCR-ABL}{ABL} \times 100$ que es evaluado periódicamente (3, 6, 12, 18 meses). F. Michor, M. Glauche y I. Roeder han determinado que la Remisión Hematológica Completa (RHC) se obtiene aproximadamente a los 200 días del comienzo del tratamiento para pacientes que no presentan mutaciones ni efectos secundarios al fármaco. La RHC se obtiene con un ratio $\frac{BCR-ABL}{ABL}$ del 10 % [52, 90].
4. Tomando en consideración estos datos hemos asignado unas tasas de muerte por acción del fármaco con los datos sugeridos por los autores anteriores efectuando un ajuste para la consecución de la RHC en el ratio del 10 % a los 200 días del inicio del tratamiento. La tabla-7 muestra los valores asignados a las tasas-

Población	Parámetro Tasa de muerte	Valor	Referencias
l_1	Fl_1	0,0235	F. Michor [81], I. Glauche [86]. Berezansky [31], Whichard [90]
l_2	Fl_2	0,0288	
l_3	Fl_3	0,033	
l_4	Fl_4	0,065	
l_5	Fl_5	0,125	

Tabla 7. Tasas de la acción del fármaco

La expresión del ratio con las variables del modelo es [81]:

$$\frac{BCR - ABL}{ABL} = \frac{l_6}{2c_6 + l_6} \times 100$$

Como hemos mencionado anteriormente, el fármaco se comporta como una tasa adicional de muerte de las células leucémicas.

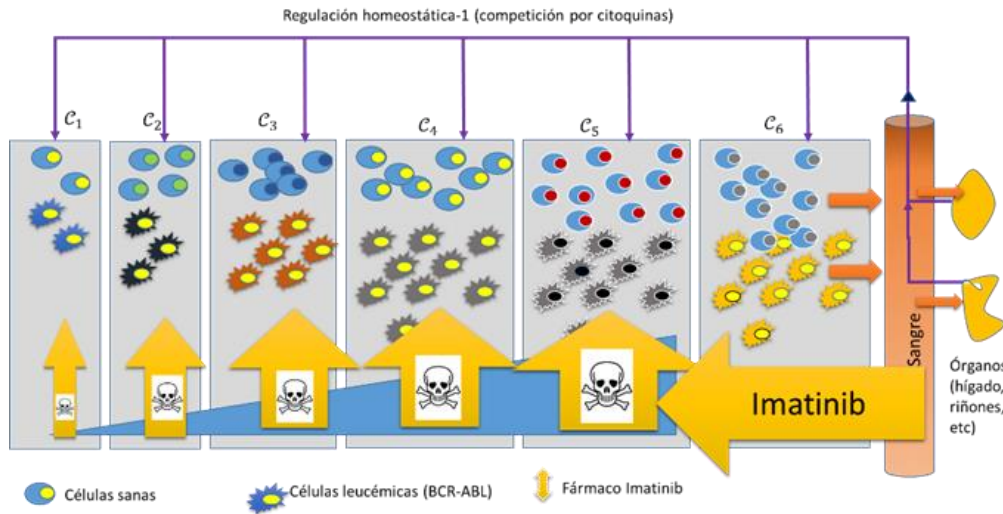


Figura-54 Actuación del fármaco imatinib en los diferentes compartimentos LMC

Actúa en todos los compartimentos (según la tabla anterior) pero no con la misma intensidad (figura-54) verificándose que $F11 < F12 < F13 < F14 < F15$ donde Fli es la tasa de muerte celular provocada por el fármaco. La base biológica de esta hipótesis es la naturaleza de las curvas bifásicas que se obtienen tras el tratamiento [6, 41]. El fármaco ataca con mayor intensidad en los compartimentos aguas abajo (primera pendiente), reduciéndose la intensidad en los compartimentos superiores (segunda pendiente) y disminuyendo su eficacia en el compartimento l_1 (células madre LMC). El fármaco no actúa en la población de células LMC circulantes l_6 dado que mueren por muerte natural en la corriente sanguínea.

5. Hemos aplicado una tasa de muerte a las células madre LMC l_1 . La justificación se basa en que no todas las células de esta población están en estado de quiescencia. Los autores Melo J. et al [87] sugieren que el número de células madre LMC (l_1) quiescentes en fase crónica de LMC es de $\sim 5 \times 10^7$. En nuestro modelo 2.2 la población l_1 en fase crónica y activas es de $8,7 \times 10^8$ lo que resulta, teniendo en cuenta lo anterior, una población total de células l_1 de $\sim (8,38 \times 10^8 + 5 \times 10^7)$ (activas y quiescentes)¹²
6. Hemos adoptado la tasa de 0,0235 como factor aproximado de muerte de células activas l_1 por la acción del fármaco (todas las l_1 consideradas como valor inicial del modelo en el momento de la administración del fármaco son activas, sujetas a mitosis y en consecuencia son diana para el fármaco). Esta tasa se ha estimado por ajuste con la segunda pendiente de la curva bifásica de la terapia. Hay que tener en cuenta que la reserva de células quiescentes l_1^0 está a salvo del fármaco lo que obliga, en la mayoría de

¹² En [88] se explica en detalle el mecanismo biológico de la insensibilidad de las células l_1 a los fármacos TKIs (imatinib en nuestro caso).

los casos, a su administración de por vida (debido al paso de quiescencia a actividad). También explica la recaída si dicha administración se interrumpe [6, 61, 91].

7. Desde el punto de vista del modelo matemático, el fármaco no anula la acción de los funcionales de competencia por nicho $\mathcal{M}_c^*(t)$, $\mathcal{M}_i^*(t)$ en todo caso aminora la influencia de la población LMC en la ocupación de nicho. Los autores Michor y Dingli [35] consideran

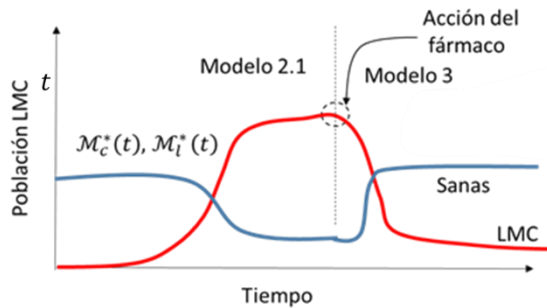


Figura-55 La acción del fármaco

modelos matemáticos distintos para la LMC con/sin fármacos. En el caso de fármacos no consideran ningún funcional homeostático por competencia. Nuestra aportación es mantener la estructura del modelo 2.2 sin bloquear los funcionales $\mathcal{M}_c^*(t)$, $\mathcal{M}_i^*(t)$. La figura-55 es un ejemplo en el que se muestra la continuidad del mismo modelo para las dos situaciones (con/sin fármaco). Desde el punto de vista matemático la

continuidad de uno a otro se produce activando la acción del fármaco: $Fl_i > 0$ ($1 \leq i \leq 5$).

8. El funcional homeostático por citoquinas $\mathcal{S}(t)$ lo mantenemos pues el fármaco no inhibe las capacidades de detección de señales en la membrana celular de células LMC [85].

9. Se supone que el fármaco no presenta retardo en su difusión hacia la médula ósea (lugar de encuentro con las células LMC).

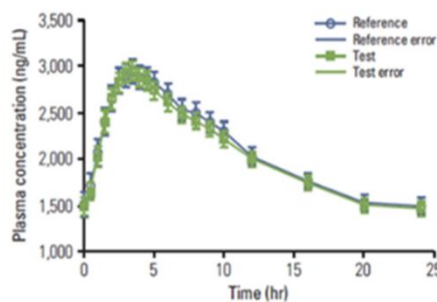


Figura-56. Difusión del fármaco hacia la médula ósea. Fuente [31]

Suponemos una concentración global constante de fármaco en la médula ósea. Su efecto se considera inmediato (realmente comienza a ser efectivo en menos de 10 horas [32]). No se consideran la aparición de resistencia al fármaco ni mutaciones (objetivos del modelo 4). La figura-56 muestra la evolución de la difusión del fármaco en la médula ósea.

10. La incorporación en el modelo 3 de dosis más elevadas de imatinib (de 400 mg a 800 mg) se llevaría a cabo incrementando las tasas de actuación del fármaco. Los autores Berezansky *et al* incorporan a su modelo dinámico (imatinib+ $IFN\alpha$) diferentes dosis de imatinib utilizando diferentes factores que aplican a las muertes celulares [31].

11. No se ha considerado la acción del sistema inmunológico (S.I.) como terapia natural y complementaria al fármaco. H. Moore *et al* [18] incorporan la acción del S.I. con un fármaco complementario (quimioterapia). La incorporación del S.I. es fundamental habida cuenta de los avances farmacológicos actuales en este campo [92]. Esta implementación la dejamos para una ampliación futura del modelo.

7.2 Ecuaciones del modelo-3.

En este modelo introducimos los parámetros $F_{l_i} \geq 0$, ($1 \leq i \leq 5$) que representan la acción del fármaco en el compartimento C_i leucémico.

Bloque de células sanas

$$\frac{dc_1}{dt} = 2a_1sp_1c_1 - p_1c_1 - m_c^*c_1$$

$$\frac{dc_2}{dt} = 2a_2sp_2c_2 - p_2c_2 + 2(1 - a_1s)p_1c_1 - m_c^*c_2$$

$$\frac{dc_3}{dt} = 2a_3sp_3c_3 - p_3c_3 + 2(1 - a_2s)p_2c_2 - m_c^*c_3$$

$$\frac{dc_4}{dt} = 2a_4sp_4c_4 - p_4c_4 + 2(1 - a_3s)p_3c_3 - m_c^*c_4$$

$$\frac{dc_5}{dt} = 2a_5sp_5c_5 - p_5c_5 + 2(1 - a_4s)p_4c_4 - m_c^*c_5$$

$$\frac{dc_6}{dt} = 2(1 - a_5s)p_5c_5 - d_6c_6$$

Bloque de células leucémicas

$$\frac{dl_1}{dt} = 2a_{l1}sp_{l1}l_1 - p_{l1}l_1 - m_l^*l_1 - F_{l_1}l_1$$

$$\frac{dl_2}{dt} = 2a_{l2}sp_{l2}l_2 - p_{l2}l_2 + 2(1 - a_{l1}s)p_{l1}l_1 - m_l^*l_2 - F_{l_2}l_1$$

$$\frac{dl_3}{dt} = 2a_{l3}sp_{l3}l_3 - p_{l3}l_3 + 2(1 - a_{l2}s)p_{l2}l_2 - m_l^*l_3 - F_{l_3}l_1$$

$$\frac{dl_4}{dt} = 2a_{l4}sp_{l4}l_4 - p_{l4}l_4 + 2(1 - a_{l3}s)p_{l3}l_3 - m_l^*l_4 - F_{l_4}l_4$$

$$\frac{dl_5}{dt} = 2a_{l5}sp_{l5}l_5 - p_{l5}l_5 + 2(1 - a_{l4}s)p_{l4}l_4 - m_l^*l_5 - F_{l_5}l_5$$

$$\frac{dl_6}{dt} = 2(1 - a_{l5}s)p_{l5}l_5 - d_6l_6$$

$$M_c^*(t) = \begin{cases} 0, & \text{si } l_1 = 0 \\ \frac{\sum_1^5 (c_i + l_i)}{k_c^* + \sum_1^5 (c_i + l_i)}, & \text{si } l_1 > 0 \end{cases}$$

$$\mathcal{M}_i^*(t) = \begin{cases} 0, & \text{si } l_1 = 0 \\ \frac{\sum_1^5 (c_i + l_i)}{k_i^* + \sum_1^5 (c_i + l_i)}, & \text{si } l_1 > 0 \end{cases}$$

$$s = \frac{1}{1 + kc_6(t)}$$

Los valores iniciales de c_i y l_i ($1 \leq i \leq 6$) son los del modelo-2.2 en el P.D.

7.3 Condiciones de existencia y de equilibrio

Como hemos mencionado en el punto 7.2 el efecto de imatinib es la incorporación de factores $F_{l_i} \geq 0$ que promueven la muerte celular en todas la poblaciones LMC.

Proposición 3.1.

En el espacio $(\mathbb{R}^6 \times \mathbb{R}^6)$ asociado a los bloques de ecuaciones del modelo-3, si $F_{l_i} > 0$ existe un punto de equilibrio \bar{c}_i para el primer bloque (células sanas) pero no existe un punto de equilibrio para la población LMC.

La demostración la efectuamos numéricamente a través de la herramienta Vensim. Lo que garantiza esta proposición es la recuperación de la población sana y el declive de la población leucémica (sólo declive puesto que no se puede asegurar que la LMC desaparezca).

7.4 Simulación con herramienta Vensim del modelo 3.

7.4.1 Simulación en P.D de 1500 días

La simulación la arrancamos desde el P.D de 1500 días desde el inicio de la LMC. Para lo cual incorporamos como valores iniciales de las poblaciones las alcanzadas en el equilibrio bi-estable del modelo-2. Por tanto: *Punto 0 de la simulación = punto de diagnóstico* (~ 5 años). Los parámetros de proliferación p_{li} y de auto-renovación a_{li} son los mismos que el modelo-2.2. Los resultados se muestran en la figura-57. Los Gráficos de esta figura muestran la evolución de las poblaciones LMC. Las poblaciones aguas abajo l_5, l_4, l_3 y por ende la l_6 son las más afectadas por la acción del fármaco.

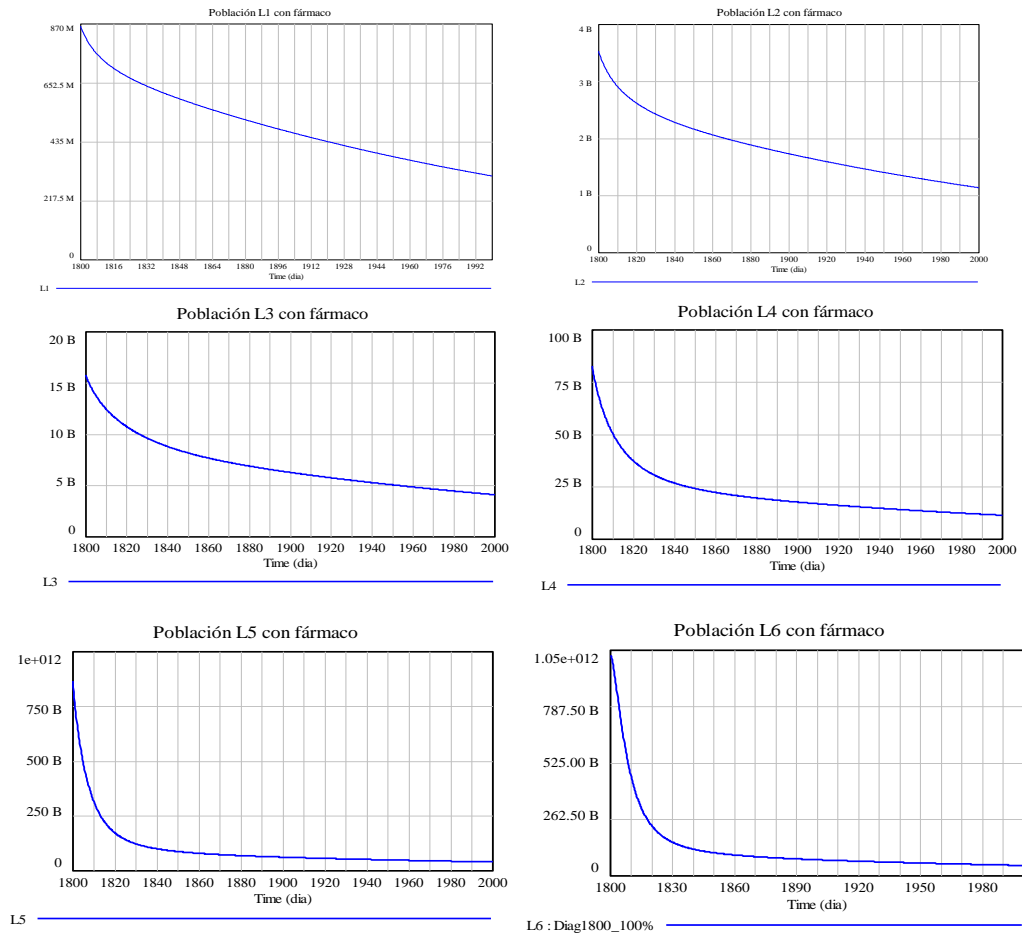


Figura-57. Resultados de la acción del fármaco en las distintas poblaciones

En la figura-58 se muestran dos gráficos de ratios BCR-ABL/BCR. El de la izquierda es el test BCR-ABL/BCR en el que aparecen los dos fases de declive de la enfermedad (el primero entre los primeros 40 y 60 días de terapia, el segundo el resto). De acuerdo a los valores de los parámetros, el valor inicial del ratio es de $\approx 75\%$. En el gráfico de la izquierda se confronta el gráfico anterior con un gráfico exponencial de tasa $y = \exp(-0,05t)$ que presenta una pendiente similar a la de la primera fase de declive y nos sugiere una merma diaria de un 5 % de células LMC (similar al obtenido por F. Michor [35]). El declive del gráfico de la izquierda en la segunda etapa es $< 1\%$ en el día 140. Según F. Michor este declive está comprendido entre el 0.004 y 0.007 lo que implica una merma de $\sim 0,05\%$.

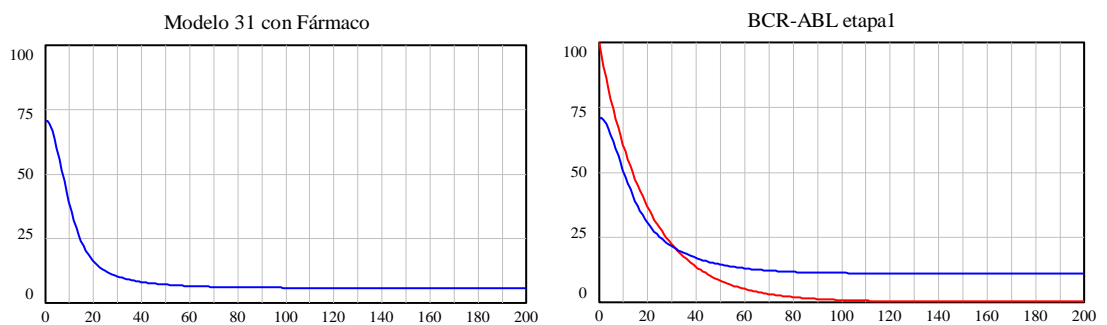


Figura-58 Porcentaje BCR-ABL/ABL

7.4.2 Simulación en Puntos de Diagnóstico (P.D.) anteriores a los 1500 días.

La figura 59 muestra gráficos de ratios BCR-ABL/ABL simulados en P.D. de 1800, 1600, 1400, 1200, 1100 y 1000 días sin variar la dosis de fármaco (es decir, las tasas son las mismas en todos los P.D.). Se considera una Remisión Hematológica Completa (RHC) [32] si se alcanza un 10 % de ratio antes de los 200 días de tratamiento. La línea discontinua representa el 10 % de ratio. Se observa que en todos los P.D. con las tasa de fármacos que hemos fijado se alcanza la RHC.

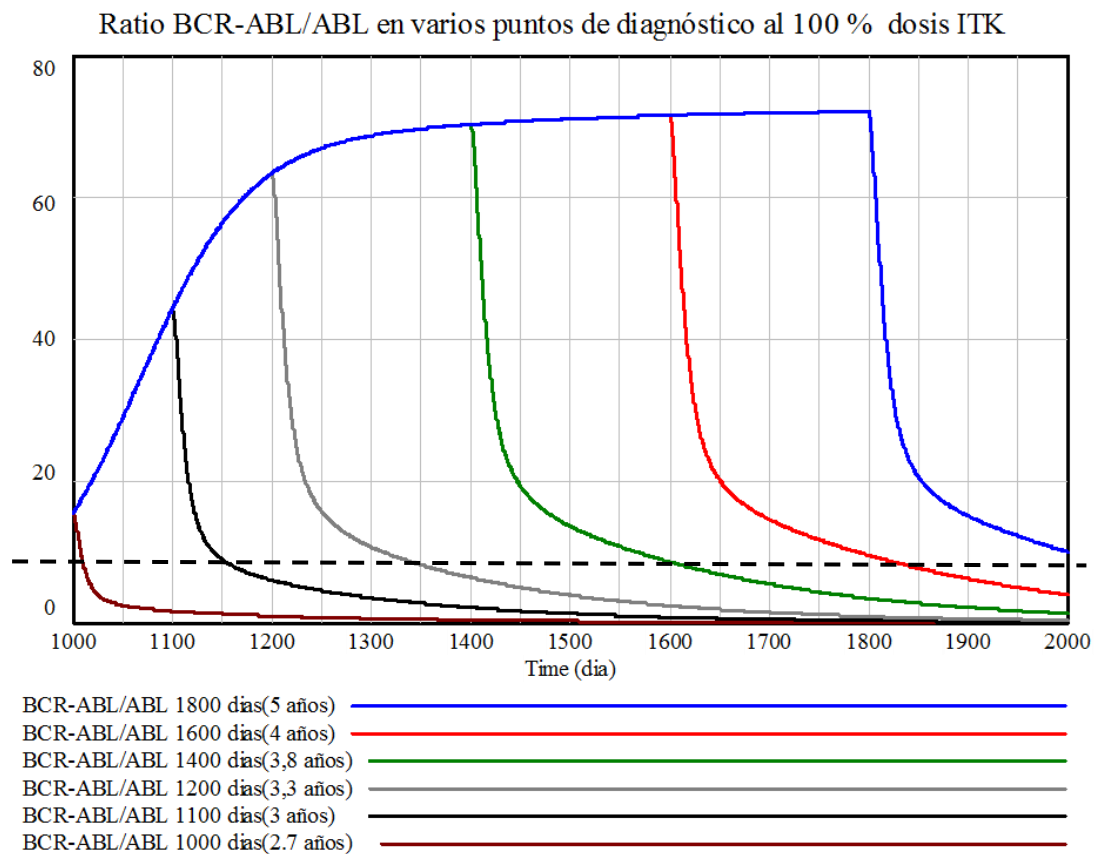


Figura-59 Ratios BCR-ABL obtenidos en diferentes puntos de diagnóstico

A la vista de lo anterior nos formulamos la posibilidad de si en un P.D. precoz (antes de 1800 días) una disminución de la dosis del fármaco pudiera obtener buenos resultados clínicos aceptables (RHC al 10 % antes de los 200 días del tratamiento). En la figura-60 representamos el comportamiento del ratio BCR-ABL en diferentes P.D. al disminuir la dosis del fármaco un 10 y un 20 % (P.Ds en 1800, 1600, 1400, 1200, 1100 y 1000 días).

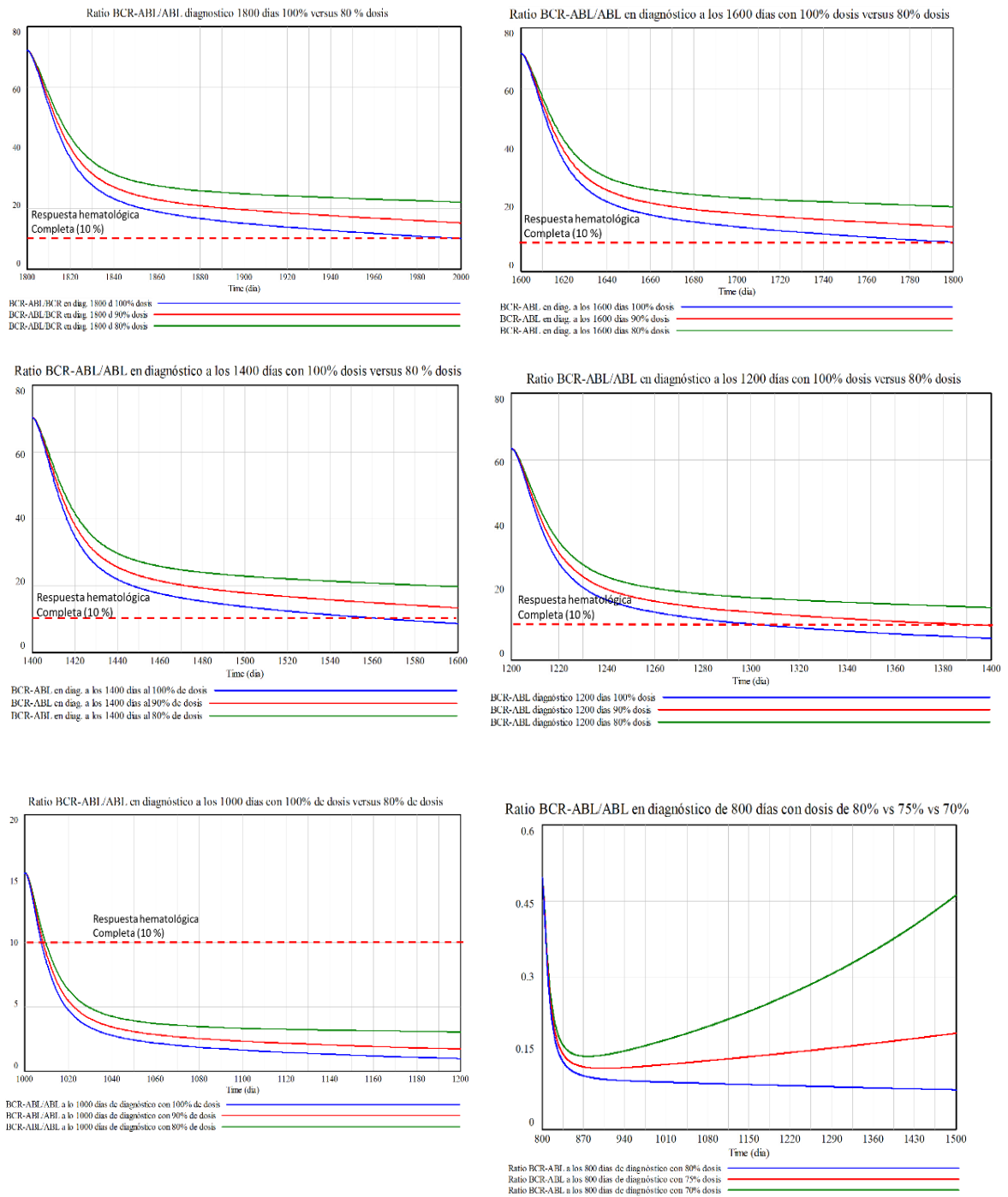


Figura-60 Comportamiento del ratio BCR-ABL/ABL en diferentes P.D. al disminuir la dosis un 10 y 20%

En la figura-60 representamos los ratios BCR-ABL en los diferentes P.D. Cada Gráfico tiene tres curvas de ratio: una con la dosis al 100% (inferior), otra al 90 % (intermedia) y otra al 80% (superior). Así en el primer gráfico superior izquierdo corresponde al P.D. de 1800 días se observa que no se cumple el requisito de R.H.C y por tanto no es aceptable la disminución de dosis. Cada uno de los gráficos representa un P.D. con las tres curvas referidas.

Consideramos un comportamiento de la dosis **inaceptable** cuando se obtiene una RHC más allá de los 200 días desde el inicio del tratamiento o la curva del ratio es ascendente. El comportamiento en los diferentes P.D. se muestra en la tabla-8.

Punto de diagnóstico (P.D.)	Comportamiento ante disminución de dosis al 10 %	Comportamiento ante disminución de dosis al 20 %
1800 días (5 años)	Inaceptable	Inaceptable
1600 días (4,4 años)	Inaceptable	Inaceptable
1400 días (3,8 años)	Inaceptable	Inaceptable
1200 días (3,3 años)	Aceptable	Inaceptable
1000 días (2,7 años)	Aceptable	Aceptable
800 días (2,2 años)	Aceptable	Aceptable
En el PD de 800 días las dosis de 75 y 70 % son inaceptables. Ver gráfico inferior derecha		

Tabla 8. Comportamiento de la reducción de dosis de fármaco en función del P.D.

El modelo sugiere que en puntos de diagnóstico inferiores o iguales a 1200 días (3,3 años) tras la aparición de la LMC, una disminución de la dosis del fármaco en un 10 % o un 20 % (en el caso de un P.D. igual o inferior a 2,7 años) proporciona una RHC en un periodo inferior o igual a los 200 días de tratamiento.

7.5 Conclusiones modelo-3

1. El resultado fundamental de la simulación anterior es la obtención de las fases de la evolución de la enfermedad tras la administración del fármaco. En la figura-55 representamos la evolución del porcentaje del volumen poblacional de $l_1 + l_2$ (curva azul) y de $l_3 + l_4 + l_5$ (curva roja).

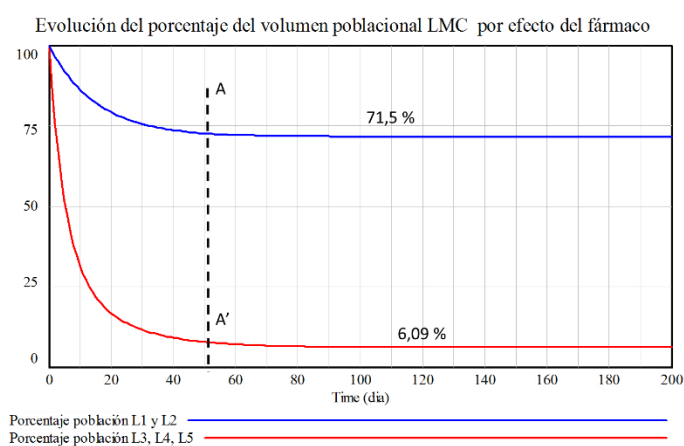


Figura-61 Evolución del porcentaje del volumen poblacional LMC

Los parámetros de acción del fármaco (F_{l_i}) incorporados al modelo-3 provocan una disminución de la población LMC *aguas abajo* (línea roja) de casi el 94 % a los 50 días de tratamiento (similar a lo obtenido en [35]) frente a una merma del 29,5 % de las poblaciones superiores (línea azul de la figura-61)

Si este porcentaje lo planteamos en el entorno de la sangre periférica a través del ratio (BCR-ABL/ABL) obtenemos el gráfico de la figura-56 en el que se sugieren dos fases:

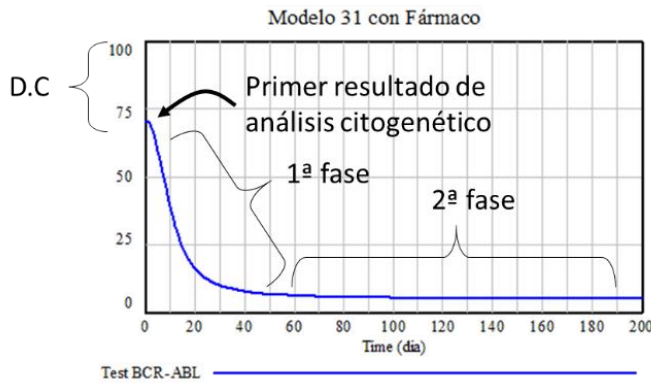


Figura-62 Fases del ratio BCR-ABL/BCR

Fase1: Con una pendiente $s_1 \cong 0.05\%$. Representa la merma diaria de células diferenciadas y progenitoras (l_5 a l_3).

Fase2: Con una pendiente $s_2 \cong 0.001\%$. Representa la merma diaria de la población de células madre y multipotenciales (l_1 y l_2).

La actuación clínica inicial (dosis de imatinib u otra alternativa) depende del resultado

citogenético expresado por el porcentaje BCR-ABL/ABL y de los síntomas del paciente. Estos análisis se repiten periódicamente (~ 3 meses) en función de los resultados anteriores.

La curva de la figura-62 presenta un dato que creemos interesante, se trata de la **diferencia a cien (DC)** del valor del primer del primer análisis. En la figura nn: $DC = 100 - 70,37 = 29,63$. Debido a que $\frac{BCR-ABL}{ABL} = \frac{l_6}{2c_6+l_6} \times 100 \Rightarrow DC = \frac{2c_6}{2c_6+l_6}$, por tanto DC nos aporta información sobre el volumen de células sanas y LMC en el momento del diagnóstico y por tanto del posicionamiento del paciente en la enfermedad (pre-fase crónica o fase crónica).

2. El valor $DC=29,63$ solo es válido para las hipótesis del modelo 3 y del modelo 2.2. Es decir este resultado lo hemos obtenido aplicando los parámetros de la tabla-7 al modelo 3 y los parámetros del espacio $\theta_i \times \theta_l$ al modelo 2.1. Por tanto no representa un perfil general de evolución en el tiempo de la LMC bajo fármacos sino un caso particular de comportamiento para un determinado valor en el espacio paramétrico del modelo 3 que sugiere la aparición de las dos fases. Este espacio paramétrico es:

$$\theta_i^* \times \theta_l^* \times \theta_{Fl}^* = (a_i, p_i, k, k_c, k_c^*) \times (a_{li}, p_{li}, k_l, k_l^*) \times (Fl_1, \dots, Fl_6)$$

3. La figura-63 representa un caso real de evolución de un paciente aportado por [32] para este PFM.

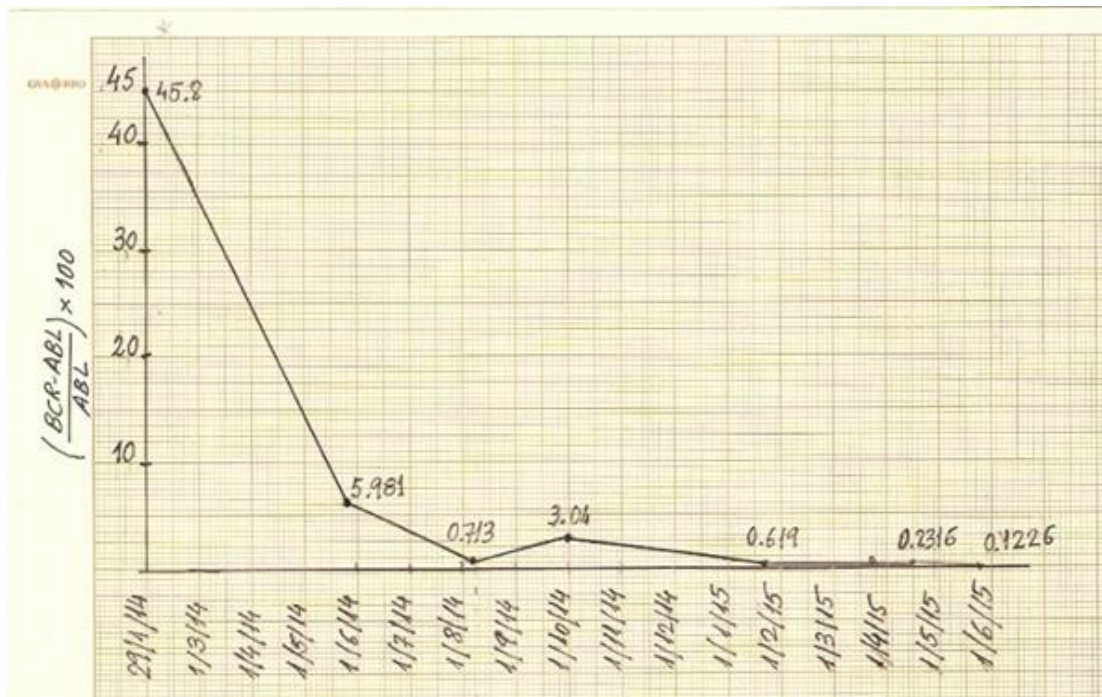


Figura-63 Porcentaje BCR-ABL/ABL para un paciente. Fuente: [32]

En este caso la fase 1 tiene una tasa de merma celular de $f_1 = 0,22\%$ y la fase 2 es $f_2 \sim 0,001\%$. Por otra parte, el valor de DC es de $100 - 45,8 = 54,2$, por lo que:

$$54.2 = \frac{2c_6}{2c_6 + l_6}, \quad Ec(7.5.1)$$

Por tanto para este paciente tenemos:

$$\mathcal{R} \equiv \begin{cases} 106,4 c_6 + 54,2 l_6 = 0 \\ f_1 \cong 0,22\% \\ f_2 \cong 0,001\%. \end{cases}$$

Que constituyen un conjunto de restricciones \mathcal{R} específicas para el paciente asociado a la figura-56. Estos son datos derivados de la analítica que pueden ser trasladados a un modelo. (El valor de los parámetros f_1 y f_2 se mejora a medida que se producen nuevos análisis). En vista de ello planteamos dos cuestiones:

Cuestión-1

¿Es posible “personalizar para un paciente” el modelo-2.2 de modo que, teniendo en cuenta las restricciones \mathcal{R} , se pueda obtener un modelo-3 igualmente “personalizado” para seguimiento de su LMC?

Cuestión-2

Caso de ser posible esta “personalización”: ¿qué datos complementarios aportaría para mejorar el tratamiento?

- La respuesta a la **cuestión 1** puede ser resuelta con la apropiada elección del P.D. en el modelo matemático. La figura-64 muestra una personalización del modelo-3 a la curva bifásica del paciente de la figura-63. En este caso, el modelo tiene el mismo ratio inicial (45 %) generado por P.D. de 1100 días (3 años). El punto de finalización de la primera pendiente es en ambos casos aproximadamente igual a un ratio del 6 %. El ajuste a la curva de un paciente se puede refinar variando las tasas de fármaco Fl_i . Por tanto disponemos de cuatro mecanismos de ajuste: *i*) elección del modelo-2.1 o modelo2.2 de acuerdo a la sintomatología en primer diagnóstico, *ii*) el P.D. *iii*) las tasas de acción de fármaco Fl_i y *iv*) las restricciones \mathcal{R} derivadas de la curva del paciente.

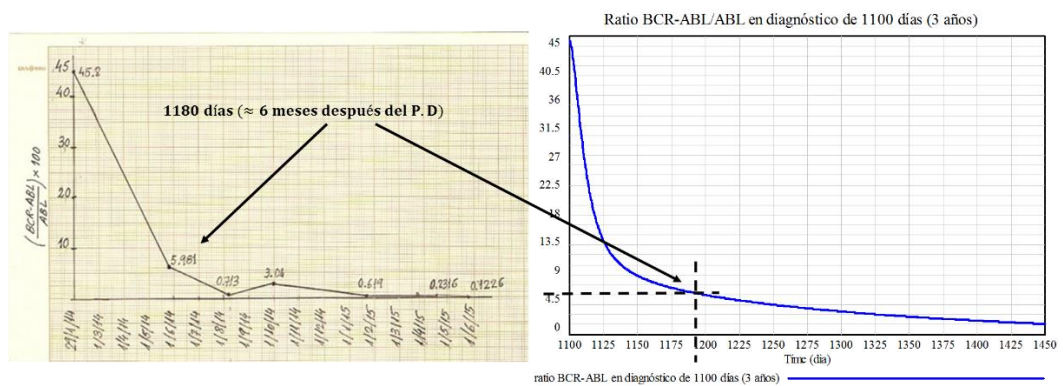


Figura-64 Personalización del modelo-3 a los datos de un paciente.

- La **cuestión 2** es difícil de contestar pero creemos que lo importante es aportar valor clínico desde el punto de vista del conocimiento de la LMC. Un valor añadido al punto anterior (tal como ampliamos en el punto de “trabajos futuros”) es el “conocimiento transversal” que puede obtenerse de la personalización del modelo matemático tal como proponemos en la figura-65.

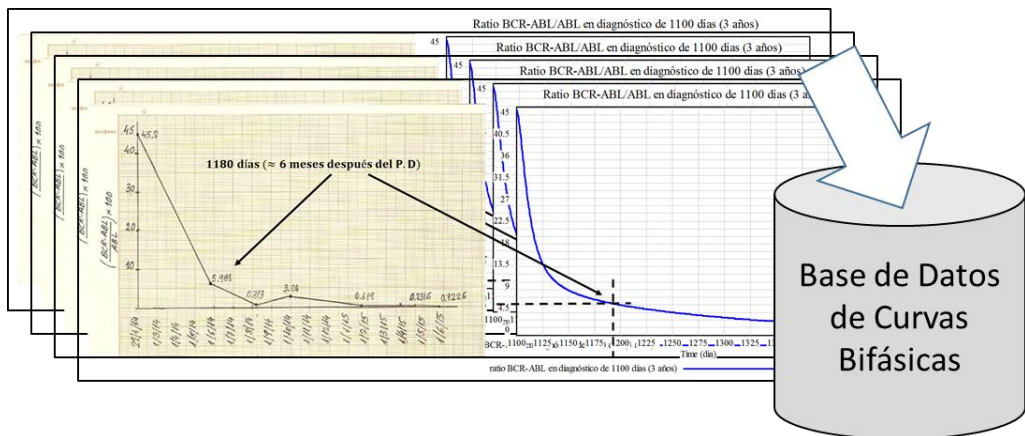


Figura-65 Propuesta de sistema personalizado LMC. Fuente: autor del PFM

6. Como última conclusión resaltamos que el modelo sugiere que se puede conseguir una RHC en los primeros 200 días de tratamiento en los diagnósticos iguales o inferiores a 2,7 años (1000 días) con una dosis de fármaco ITK un 20% menor. Un aspecto importante de esta sugerencia sería la posible disminución de los efectos secundarios debido a la reducción de la dosis.

Capítulo 8

8 Modelos Matemáticos de la enfermedad LMC bajo la acción de fármacos. Aparición de mutantes (Modelo-4).

8.1 Aparición de células mutantes

La resistencia al fármaco mostrada por algunos pacientes es un proceso originado por varios factores. Apperley *et al* [93, 94] identifican varios mecanismos de resistencia a imatinib: *i*)

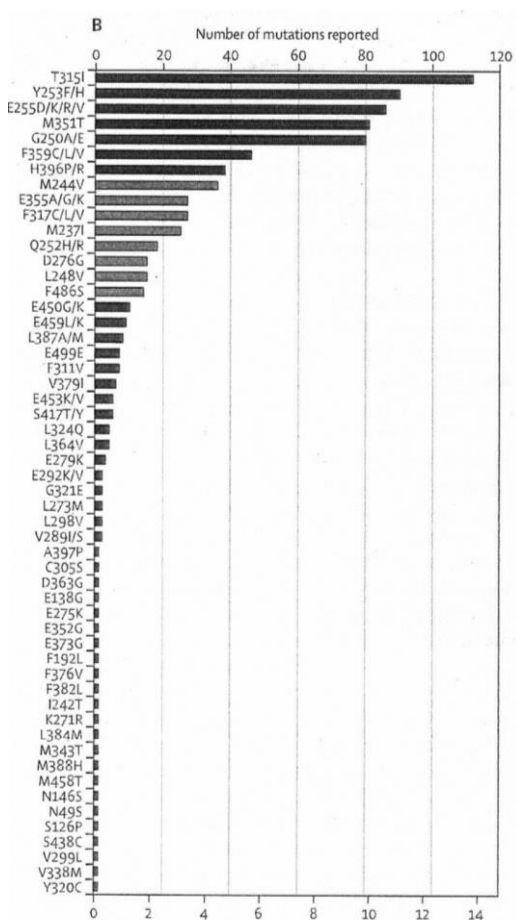


Figura-66 Número de mutaciones más frecuentes

la farmacocinética asociada a la absorción intestinal, *ii*) la llegada de la concentración necesaria para la inhibición de la enzima Bcr-Abl y *iii*) la aparición de una mutación que confiere a la célula ph^+ una insensibilidad hacia el fármaco. La resistencia se detecta entre el 20 – 25 % de pacientes que no alcanzan la remisión citogenética completa [93]. Roychowdhury *et al* [95] profundizan en los mecanismos de la resistencia e incorporan un algoritmo de uso clínico para la determinación de la resistencia en las fases crónica y acelerada. La figura-66 muestra la frecuencia de aparición de mutaciones en estudio realizado por J. F. Apperley [93]. F. Michor y T. Stiehl [6, 60] consideran dos modalidades en la aparición de una mutación:

a) Como una evolución de la célula LMC en instantes próximos a su aparición (tiempo 1 en el modelo), con una capacidad de reproducción (*fitness*) mucho menor que la célula ph^+ original [60]. Por tanto, esta célula va a tener unas características de crecimiento diferentes a las de la población primigenia (*resistencia intrínseca*) con

un crecimiento muy lento de modo que constituye un “*población subyacente*” de células ph^+ [96, 60, 38].

b) Aparición de células mutantes como respuesta adquirida a la acción del fármaco [38, 96] presentando una resistencia al mismo (*resistencia extrínseca*). Esta aparición ocurre en el transcurso del tratamiento tal como ha demostrado Press *et al* [26]. En la figura-67 mostramos un caso real de un paciente LMC [32] en el que se muestra la mutación L248V (número 14 en figura-66) detectada a los 7 meses después del inicio del tratamiento. La respuesta clínica fue el cambio a un TKI más potente (dasatinib) tal como recomienda la organización LeukemiaNet [38]. En este paciente el índice DC es de 50 y las fases tienen unas tasas de $f_1 \cong 0.2$ y $f_2 \cong 0.002$ por lo que sus restricciones \mathcal{R} son:

$$\mathcal{R} \equiv \begin{cases} 98 c_6 + 50 l_6 = 0 \\ f_1 \cong 0,2 \% \\ f_2 \cong 0,002 \%. \end{cases}$$

Figura-68 muestra el ratio BCR-ABL/ABL de otro paciente [32] con un $DC \cong 93$ lo que nos indica que o bien el diagnóstico inicial fue en una etapa muy temprana de la fase crónica o que hay ausencia de datos en los comienzos del tratamiento. En cualquier caso se observa la aparición periódica de mutaciones.

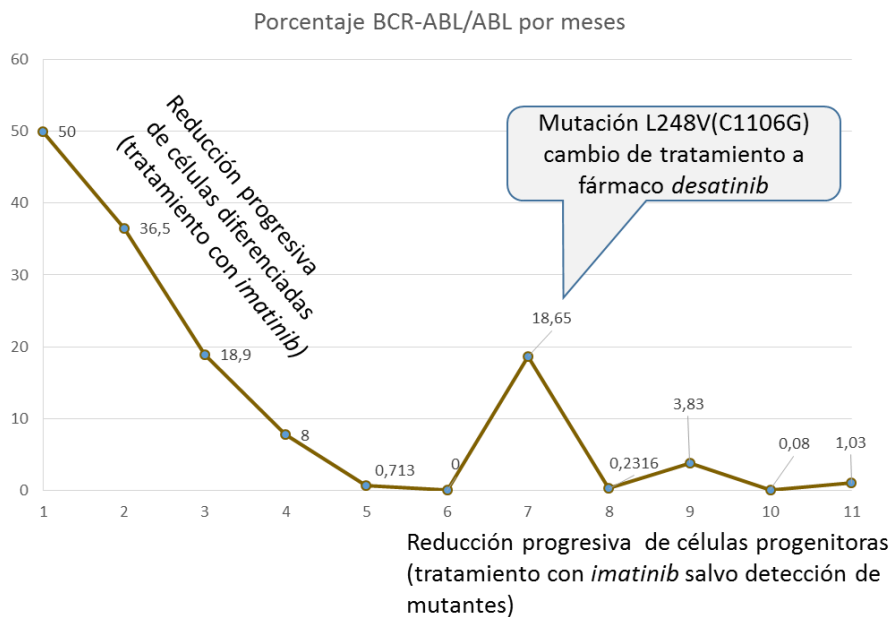


Figura-67 Aparición de células mutantes en el transcurso del tratamiento

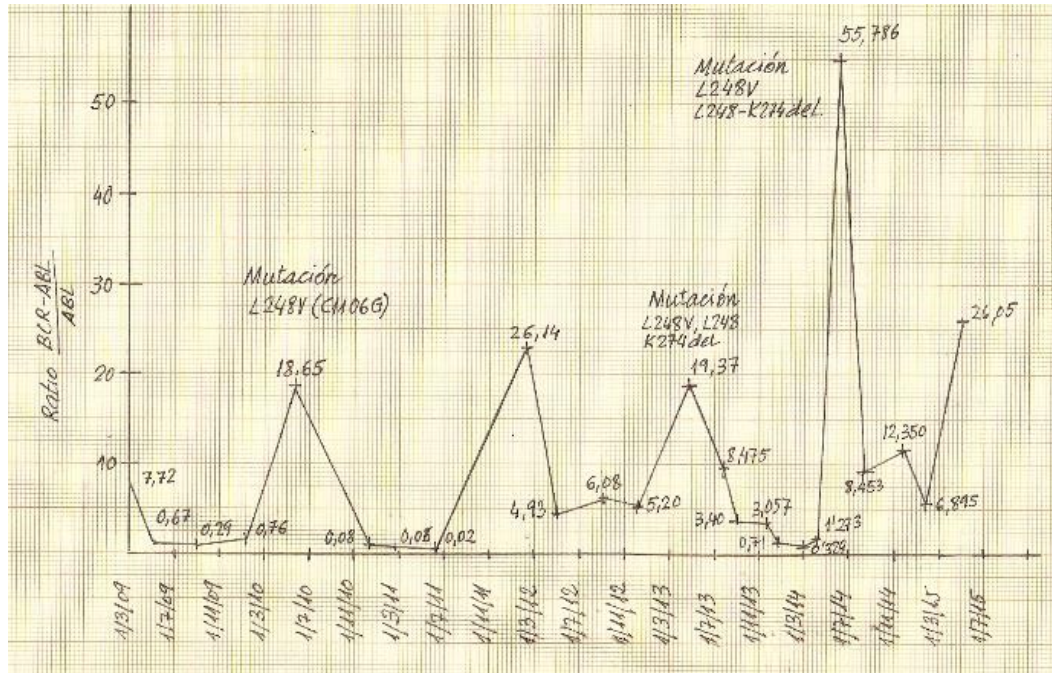


Figura-68 Aparición de múltiples poblaciones mutantes. Fuente: [32]

8.2 Hipótesis del modelo-4

1. En el modelo-4 consideraremos la aparición de una célula ph^+ mutante en la modalidad *extrínseca* es decir, formación de la mutación una vez iniciado el tratamiento. Simularemos esta modalidad ajustada a los datos del paciente de la figura-60. La modalidad intrínseca la dejamos para un trabajo futuro.
2. Consideramos un tratamiento de mayor concentración de TKI (dasatinib) que afecte a las células mutantes.
3. Solo consideraremos una población mutante¹³. Esta población convive con las sanas y ph^+ y evoluciona en la médula ósea a través de los 6 compartimentos.
4. Las células mutantes compiten por citoquinas y por nicho. En este último caso consideramos que la competencia será entre células ph^+ (mutantes y no mutantes) y células sanas (ph^0).
5. Al igual que en el modelo-3 la acción del fármaco provoca la muerte celular.
6. F. Michor [35] sugiere que La tasa m de producción de células mutantes ph^+ es de 4×10^{-7} por cada división celular de células madre LMC (l_1) en fase crónica (resistencia extrínseca). J. Apperley [93] sugiere una tasa de 10^{-9} por división celular (resistencia

¹³ Sthiel et al [60] sugieren la aparición de varias poblaciones mutantes al inicio de la Leucemia Mieloide Aguda, cada una de ellas con diferente *fitness*.

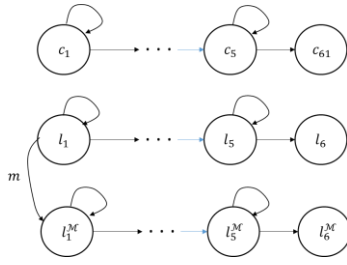


Figura-69 Dinámica de la población mutante

intrínseca, a partir del día 1 del modelo). La figura-69 muestra la dinámica de evolución de la población mutante l_i^M ($1 \leq i \leq 5$).

7. Los parámetros de proliferación y auto-renovación de las células mutantes (l_i^M, a_i^M) los ajustaremos para la producción de mutantes de acuerdo a las curva del paciente representada en la figura-67.

Nomenclatura

C_1 = compartimento de células LT-HSC sanas (c_1), células LT-HSC leucémicas (l_1) y células LT-HSC leucémicas mutadas (l_1^M)

C_2 = compartimento de células ST-HSC sanas (c_2), células ST-HSC leucémicas progenitoras (l_2) y células ST-HSC leucémicas mutadas (l_2^M)

C_3 = compartimento de células MPC sanas (c_3), células MPC leucémicas (l_3) y células MPC leucémicas mutadas (l_3^M)

C_4 = compartimento de células CPC sanas (c_4), células CPC leucémicas (l_4) y células CPC leucémicas mutadas (l_4^M)

C_5 = compartimento de células precursoras sanas (c_5), células precursoras leucémicas (l_5) y células precursoras leucémicas mutadas (l_5^M)

C_6 = compartimento de células maduras sanas (c_6), células maduras leucémicas (l_6) y células maduras leucémicas mutadas (l_6^M)

$a_{l_i^M}$ = fracción de auto-renovación de células mutadas en compartimento i

$p_{l_i^M}$ = tasa proliferación de células mutadas

m = tasa de producción de células mutantes en el proceso de división de una célula LMC madre (l_1)

8.3 Ecuaciones del modelo

Cosideramos que $d_i \cong 0, d_{li} \cong 0, d_{li}^M \cong 0, (1 \leq i \leq 5)$,

Bloque de ecuaciones para células sanas

$$\frac{dc_1}{dt} = 2a_{c_1}\bar{S}(t)p_{c_1}c_1 - p_{c_1}c_1 - d_1c_1 - m^*c_1$$

$$\frac{dc_2}{dt} = 2a_{c_2}\bar{S}(t)p_{c_2}c_2 - p_{c_2}c_2 + 2(1 - a_{c_1}\bar{S}(t))p_{c_1}c_1 - d_2c_2 - m^*c_2$$

$$\frac{dc_3}{dt} = 2a_{c_3}\bar{S}(t)p_{c_3}c_3 - p_{c_3}c_3 + 2(1 - a_{c_2}\bar{S}(t))p_{c_2}c_2 - d_3c_3 - m^*c_3$$

$$\frac{dc_4}{dt} = 2a_{c_4}\bar{S}(t)p_{c_4}c_4 - p_{c_4}c_4 + 2(1 - a_{c_3}\bar{S}(t))p_{c_3}c_3 - d_4c_4 - m^*c_4$$

$$\frac{dc_5}{dt} = 2a_{c_5}\bar{S}(t)p_{c_5}c_5 - p_{c_5}c_5 + 2(1 - a_{c_4}\bar{S}(t))p_{c_4}c_4 - d_5c_5 - m_c^*c_5$$

$$\frac{dc_6}{dt} = 2((1 - a_{c_5}\bar{S}(t))p_{c_5}c_5 - d_6c_6$$

Bloque de ecuaciones para células leucémicas

$$\frac{dl_1}{dt} = 2a_{l_1}sp_{l_1}l_1 - p_{l_1}l_1 - m_l^*l_1 - F_{l_1}l_1 - a_{l_1}ml_1 \quad Ec(8.3.1)$$

$$\frac{dl_2}{dt} = 2a_{l_2}s p_{l_2}l_2 - p_{l_2}l_2 + 2(1 - a_{l_1}s) p_{l_1}l_1 - m_l^*l_2 - F_{l_2}l_2$$

$$\frac{dl_3}{dt} = 2a_{l_3}sp_{l_3}l_3 - p_{l_3}l_3 + 2(1 - a_{l_2}s) p_{l_2}l_2 - m_l^*l_3 - F_{l_3}l_3$$

$$\frac{dl_4}{dt} = 2a_{l_4}s p_{l_4}l_4 - p_{l_4}l_4 + 2(1 - a_{l_3}s) p_{l_3}l_3 - m_l^*l_4 - F_{l_4}l_4$$

$$\frac{dl_5}{dt} = 2a_{l_5}s p_{l_5}l_5 - p_{l_5}l_5 + 2(1 - a_{l_4}s) p_{l_4}l_4 - m_l^*l_5 - F_{l_5}l_5$$

$$\frac{dl_6}{dt} = 2(1 - a_{l_5}s) p_{l_5}l_5 - d_6l_6$$

Bloque de ecuaciones para células mutantes

$$\frac{dl_1^M}{dt} = 2a_{l_1^M}sp_{l_1^M}l_1^M - p_{l_1^M}l_1^M - m_l^*l_1^M - F_{l_1^M}l_1^M + a_{l_1^M}ml_1 \quad Ec(8.3.2)$$

$$\frac{dl_2^M}{dt} = 2a_{l_2^M}sp_{l_2^M}l_2^M - p_{l_2^M}l_2^M + 2(1 - a_{l_1^M}s) p_{l_1^M}l_1^M - m_l^*l_2^M - F_{l_2^M}l_2^M$$

$$\frac{dl_3^M}{dt} = 2a_{l_3^M}sp_{l_3^M}l_3^M - p_{l_3^M}l_3^M + 2(1 - a_{l_2^M}s) p_{l_2^M}l_2^M - m_l^*l_3^M - F_{l_3^M}l_3^M$$

$$\frac{dl_4^M}{dt} = 2a_{l_4^M}sp_{l_4^M}l_4^M - p_{l_4^M}l_4^M + 2(1 - a_{l_3^M}s) p_{l_3^M}l_3^M - m_l^*l_4^M - F_{l_4^M}l_4^M$$

$$\frac{dl_5^M}{dt} = 2a_{l_5^M}sp_{l_5^M}l_5^M - p_{l_5^M}l_5^M + 2(1 - a_{l_4^M}s) p_{l_4^M}l_4^M - m_l^*l_5^M - F_{l_5^M}l_5^M$$

$$\frac{dl_6^M}{dt} = 2(1 - a_{l_5^M}s) p_{l_5^M}l_5^M - d_6l_6^M$$

$$\mathcal{M}_c^*(t) = \begin{cases} 0, & \text{si } l_1 = 0 \\ \frac{\sum_1^5(c_i + l_i + l_i^M)}{k_c^* + \sum_1^5(c_i + l_i + l_i^M)}, & \text{si } l_1 > 0 \end{cases}$$

$$\mathcal{M}_l^*(t) = \begin{cases} 0, & \text{si } l_1 = 0 \\ \frac{\sum_1^5(c_i + l_i + l_i^M)}{k_l^* + \sum_1^5(c_i + l_i + l_i^M)}, & \text{si } l_1 > 0 \end{cases}$$

$$s = \frac{1}{1 + kc_6(t)}$$

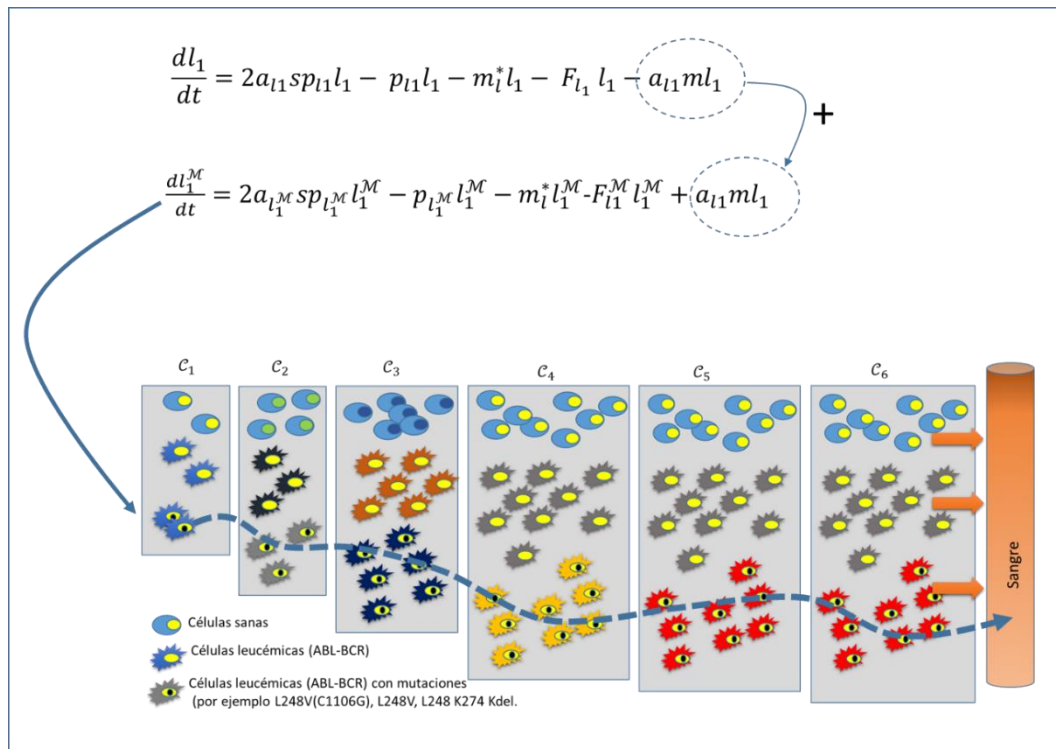


Figura-70 Tasa de generación de población mutante

La figura-70 muestra la tasa de generación de mutantes desde la población l_1 a l_1^M . El término $-a_{l_1} m l_1$ en la $Ec(8.3.1)$ es el volumen de células l_1 que en el instante t se mutan según la tasa m y por tanto pasan a engrosar a la población mutante l_1^M (término $+a_{l_1} m l_1$ en la $Ec(8.3.2)$) y por tanto disminuyen la población l_1 (de ahí el signo menos).

8.5 Simulación de mutante extrínseco.

En este caso simulamos la aparición de una célula mutante a partir del momento de diagnóstico.

El objetivo es simular el caso real de la figura-67 en la que aparece una mutación en el mes 7 del tratamiento que eleva a ~20 % el porcentaje BCR-ABL/ABL. Los gráficos de la figura-72 muestran el resultado de la simulación. En la figura-72 hemos ajustado el modelo para la aparición (en los datos de análisis BCR-ABL) de un mutante. El ajuste lo hemos realizado variando la tasa de proliferación de acuerdo al autor T. Sthiel [60] y dejando invariable la tasa de auto-renovación.

Para alcanzar los datos del paciente hemos fijado el P.D. al 50 % del ratio y la tasa de proliferación de la población mutante en 0,27 frente a 0,173 de las células LMC no mutantes. Este aumento en la proliferación origina un producción de 10^{11} células mutantes en el momento del segundo diagnóstico (7 meses). Este volumen se alcanza por las células LMC no mutantes a los 34 meses desde el inicio de la enfermedad. Esta gran cantidad de las células mutantes es la que origina el repunte en el ratio BCR-ABL. Sin embargo, una ampliación del período de simulación (gráfico central de figura-72) nos muestra un crecimiento del ratio detectado en otro punto de diagnóstico en el que hay que aplicar otra dosis mayor de fármaco.

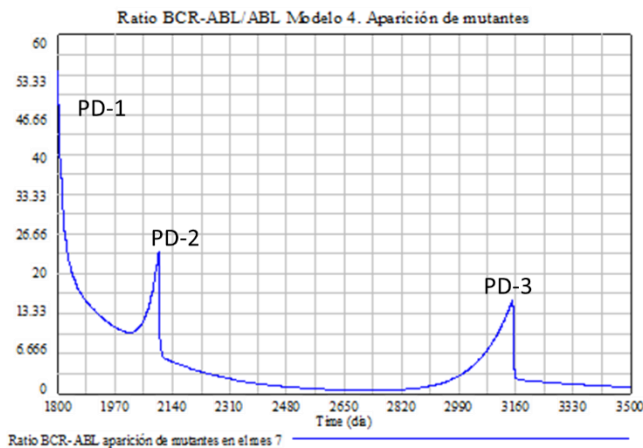
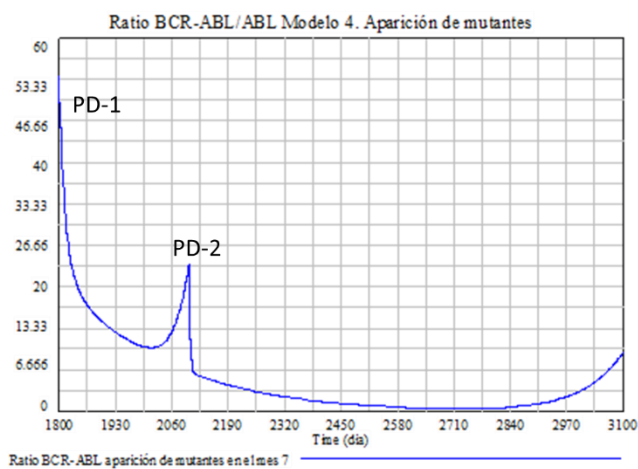
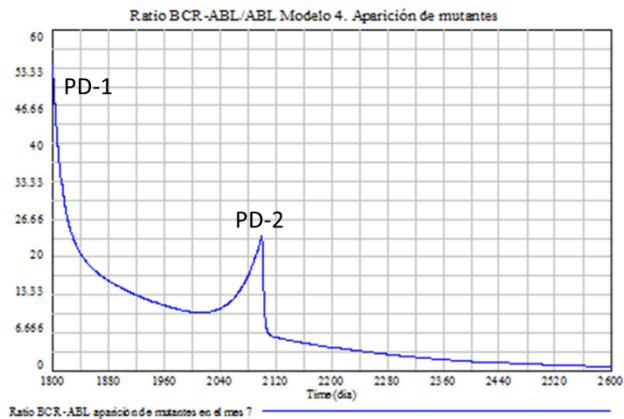


Figura-72 Curvas ratio BCR-ABL de población LMC con mutantes. Personalización datos pacientes

En este último caso hemos simulado un situación multi-mutante en la que las dosis crecen tanto que se hacen intolerables (caso de la figura 68) por lo que el paciente, en la mayoría de los casos, abandona el fármaco y se somete a otras alternativas de tratamiento (trasplante de médula en algunos casos).

La tabla-9 muestra los valores de los parámetros del modelo-4.

Parámetro	Valor	Referencia		
$p_{l_1^M}$	0,27	[60]		
$a_{l_1^M}$	Valores iguales al modelo 3			
$a_{l_2^M}$				
$p_{l_2^M}$				
$a_{l_3^M}$				
$p_{l_3^M}$				
$a_{l_4^M}$				
$p_{l_4^M}$				
$a_{l_5^M}$				
$p_{l_4^M}$				
Tasa generación mutantes m			4×10^{-7}	[94]

Tabla 9. Tasas de población mutante LMC

Las tasas de administración de fármacos son el los P.D. (tabla-10):

Tasa fármaco	PD-2	Valor
$F_{l_1^M}$	0,2	0,34
$F_{l_2^M}$	1,13	1,91
$F_{l_3^M}$	1,25	2,125
$F_{l_4^M}$	1,625	2,77
$F_{l_5^M}$	2	3,4

Tabla 10. Valores de las tasas de fármacos administradas cuando hay mutante

8.6 Conclusiones modelo-4.

1. En este modelo solo hemos considerado la mutación extrínseca, es decir, la que surge como resistencia al fármaco. En el modelo hemos tenido que asignar tasas más elevadas para obtener un perfil de curva similar a la del paciente de la figura-67. Es decir, en corto espacio de tiempo (~7 meses) hemos provocado un crecimiento mucho mayor que en periodos similares de la fase crónica.
2. En el gráfico central de la figura-72 el ratio se reconduce tras una dosis de mayor concentración de fármaco. Sin embargo el crecimiento de las células mutantes repunta

de modo que en PD-3 se hace necesario una dosis mayor de fármaco. Esta dinámica puede ser intolerable debido a efectos secundarios [32] ante elevadas dosis de fármacos lo que obliga a otras alternativas de tratamiento.

3. En el caso del paciente de la figura-68 se observan la aparición de *distintos* mutantes de forma periódica. El modelo de este fenómeno sería la incorporación de distintas poblaciones mutantes con diferentes *fitness*. Stiel *et al* [60] consideran que la administración de fármacos ITK durante largos periodos de tiempo pueden favorecer la aparición de múltiples mutaciones extrínsecas.
4. En el contraste con los datos del paciente de la figura-67, el modelo sugiere una inestabilidad en el comportamiento de ratio BCR-ABL/ABL debido a la expansión de la población mutante. En siete meses la población mutante alcanza un volumen de producción de 10^{11} células/día frente a $3,56 \times 10^8$ células/día de producción de células LMC no mutante en los primeros siete meses, es decir, una expansión 842 veces mayor por parte de las células mutantes. Frenar esta expansión obliga a en cada P.D. a variar el tratamiento con dosis mayores (ITKs más potentes). El modelo no garantiza la remisión de la LMC.

Capítulo 9

9 Conclusiones finales y Próximos pasos

9.1 Conclusiones finales.

El **modelo-1** presenta una dinámica de producción celular del sistema hematopoyético. La respuesta a alteraciones, como la donación controlada de sangre, otorga al modelo una capacidad temporal de recuperación a los valores basales similar al comportamiento real. Es sugerente la comparación del modelo a sistemas logísticos en los que la realimentación del exterior (mercado) es un factor de regulación de la producción.

La ausencia del comportamiento *quiescente* y la unificación de la señalización por citoquinas confieren sencillez al modelo pues considera por un lado que todas las poblaciones celulares son activas y por otro una similitud de la señalización molecular procedente de los órganos externos. Por tanto la **conclusión** más importante del modelo-1 es la sencillez en la representación del Sistema Hematopoyético y su relación con los órganos externos.

El **modelo-2** plantea la aparición de una mutación genética (origen de la LMC) que da lugar a una población celular con características diferentes (diferentes tasas de auto-renovación y proliferación) pero superiores a las de las células sanas. Esta población convive con la población sana en la médula ósea transfiriendo la mutación y *fitness* a sus descendientes en los mismos compartimentos de las células sanas y desembocando en la sangre periférica.

El modelo propone unas competencias entre ambas poblaciones por los recursos limitados de la médula. Son dos las competencias: por citoquinas y por espacio de nicho. Las células mutantes mantienen muchas características biológicas de las sanas, sin embargo, debido a su mayor *fitness* son capaces de ejercer un mayor factor de competencia por la posesión de los recursos disponibles. Esta presión celular da lugar a la dinámica de la enfermedad LMC en sus diferentes fases. Por tanto, las **conclusiones** que podemos extraer del modelo-2 son las siguientes:

- La competencia por el espacio de nicho se plantea con dos enfoques: como factor que potencia el *fitness*, y por tanto amplifica la auto-renovación y proliferación, y como factor aplicado a la muerte celular. Ambos enfoques se formulan mediante funciones Hill represoras y activadoras respectivamente dando lugar a dos modelos.

- En el **modelo-2.1** el factor de competencia se aplica al *fitness* de ambas poblaciones de modo que la presión competitiva se ejerce sobre la tasa de auto-renovación. Este planteamiento da lugar a un modelo en el que se fortalece el *fitness* de células LMC con el consiguiente retroceso de la población sana. Desde el punto de vista clínico el modelo sugiere valores hematológicos por debajo de lo normal (disminución de eritrocitos en un hemograma) y posibles síntomas LMC en el inicio de la fase crónica.
- Si la competencia se plantea como un factor aplicado a la muerte celular (apoptosis) obtenemos el **modelo-2.2**. En este modelo el *fitness* de células LMC no aumenta (en cualquier caso sigue siendo mayor que las sanas). Desde el punto de vista clínico, el modelo 2.2 sugiere una sintomatología de LMC más leve que en el modelo anterior en los inicios de la fase crónica.
- En cualquier caso los **modelos 1 y 2** horquillan la fase crónica e incluso variando los parámetros k_c, k_l, k_c^*, k_l^* se puede superar el valor de 10^{12} células LMC considerado

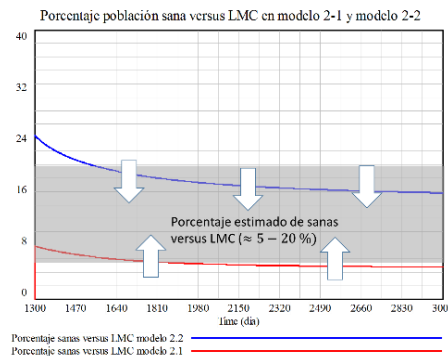


Figura-73 Porcentaje sanas versus LMC en modelos 2.1 y 2.2

como característico de dicha fase con lo que ambos modelos pueden aplicarse a pacientes cuyo nivel basal de células LMC en fase crónica supere a 10^{12} (figura-73). Esta flexibilidad constituye un componente adicional para la personalización del modelo; ante los datos de un determinado paciente puede elegirse el modelo 1 o 2 en función del porcentaje de células sanas versus LMC y efectuar el calibrado de los parámetros k_c, k_l, k_c^*, k_l^* en función del ratio BCR-ABL/ABL.

El **modelo-3** incorpora la acción del fármaco ITK (imatinib, dasatinib, etc). El fármaco provoca fuertes descensos de las poblaciones LMC aguas abajo. En aguas arriba (l_1 y l_2) los descensos son menores. El ITK no actúa en las células quiescentes por lo que su administración es, en general, de por vida. El ratio BCR-ABL/ABL es un dato clínico de gran importancia para valorar la evolución de la LMC durante el tratamiento. Las **conclusiones** de este modelo son:

- Se obtienen ratios BCR-ABL con perfiles bi-fásicos de pendientes similares a las obtenidas por F. Michor, R. Roeder y D. Dingli.
- La variación de la dosis de fármaco en función del punto de diagnóstico (P.D.) aporta resultados aceptables. El modelo sugiere una reducción de dosis de un 10 % para $PD \leq 3,3$ años y de un 20 % para $PD \leq 2,7$ años.

- Disponemos de cuatro mecanismos de ajuste del modelo para su personalización a los datos clínicos de un paciente: *i*) el punto de diagnóstico (P.D.), *ii*) la elección del modelo (modelo-2.1 o modelo-2.2), *iii*) las tasas de acción de fármaco en función de la respuesta del paciente y *iv*) las restricciones \mathcal{R} que se van obteniendo en el perfil de la curva bi-fásica.
- La personalización del modelo a un paciente sugiere un planteamiento más amplio que hemos denominado “conocimiento transversal”. La idea es la creación de una base de datos de curvas bi-fásicas con el fin de obtener patrones de comportamiento y poder mejorar los modelos.

El **modelo-4** tiene en cuenta la aparición de células mutantes ph^+ como consecuencia, generalmente aceptada, de la resistencia al fármaco. La simulación del ratio BCR-ABL para un paciente del Hospital de Móstoles [32] con la mutación L248V obliga a incrementar la tasa de proliferación 1,6 veces más ($\approx 50\%$) que la tasa de las células LMC no mutantes. El perfil de la curva de ratio BCR-ABL obtenida en la simulación se aproxima a la real en su PD-1, en el valor del ratio en el repunte mutante y en el periodo del PD-2. Las conclusiones del modelo son dos:

- El incremento de la tasa de proliferación implica dotar a la población mutante de una expansión poblacional 850 veces mayor que la población LMC. La contención de esta expansión desde el punto de vista del tratamiento, es aumentar la dosis del fármaco (ITKs más potentes) con los riesgos de efectos secundarios.
- El modelo no sugiere un declive de la LMC debido a los repuntes mutantes detectados en posteriores P.D.

9.2 Próximos pasos y propuestas de desarrollo.

9.2.1 Propuesta de ampliaciones futuras en los modelos matemáticos de la LMC.

En la tabla 11 resumimos las aportaciones y las mejoras específicas que proponemos en los modelos 1, 2, 3 y 4.

Modelo	Aportaciones del TFM	Ampliaciones futuras a los modelos
Modelo-1 Modelo de S.M sano	<ol style="list-style-type: none"> 1. Investigación del comportamiento del modelo ante perturbaciones. 2. Relación con los sistemas logísticos. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Incorporación al modelo de población quiescente de células madre. 2. Modelado del micro-nicho con citoquinas internas. 3. Modelado de Homeostasis “personalizada” a cada compartimento. Incluyendo perturbaciones específicas. 4. Modelado de quiescencia 5. Modelado de la “edad celular”
Modelo-3. Modelo de S.H con LMC sin fármacos	<ol style="list-style-type: none"> 3. Determinación de los parámetros de población leucémica para la obtención del modelo LMC (crecimiento + fase crónica) para población ph^+ y ph^{neutro} 4. Implementación de funciones Hill activadoras y represoras como representación de la competencia por nicho 	<ol style="list-style-type: none"> 6. Incorporación del sistema inmunológico 7. Incorporación de población quiescente 8. Modelado de la fase acelerada y blástica considerando la existencia de múltiples mutantes.
Modelo-3. Modelo de S.H. con LMC con fármacos	<ol style="list-style-type: none"> 5. Propuesta de personalización del modelo a pacientes. 6. Variación de dosis de fármaco en función del Punto de Diagnóstico 	<ol style="list-style-type: none"> 9. Incorporación de segundo fármaco complementario (activación sistema inmunológico/activación de salida de quiescencia). 10. Análisis más detallado de la interferencia entre Intolerancia versus población quiescente. 11. Modelado de estrategias de aplicación de series farmacológicas: fármaco/descanso/fármaco/... (recomendado por H. de Móstoles)
Modelo-4. Modelo de S.H con LMC con fármacos y con LMC Mutante	<ol style="list-style-type: none"> 7. Determinación de parámetros para la aparición de mutante extrínseco de acuerdo a datos clínicos de pacientes del H.U. de Móstoles. 	<ol style="list-style-type: none"> 12. Implementación del modelo mixto de mutantes intrínsecos y extrínsecos. 13. Implementación modelo multi-mutantes acorde a casos reales de detección de múltiple mutantes (H.U de Móstoles). 14. Estrategias de administración de fármacos ante escenarios multi-mutantes.
Para todos los modelos: Implementación en paradigma de Sistemas Multi-Agente (SMA)		

Tabla 11. Propuestas de desarrollos adicionales de los modelos

9.2.2 Propuesta de desarrollo: Sistema de personalización de LMC (SP-LMC)

El objetivo del SP-LMC es disponer de herramientas que complementen el tratamiento y seguimiento de la enfermedad LMC para cada paciente. El sistema que se propone consta de los siguientes componentes o subsistemas:

1. Subsistema de Base de Datos de curvas bifásicas (BCF) y modelos personalizados. Su objetivo es el registro de la información del tratamiento de la LMC para cada paciente. Los datos de los análisis clínicos son recogidos en la bb.dd. A partir de ella se podrá consultar y realizar informes. Como valor añadido se obtendrán las curvas bi-fásicas de cada paciente. Se propone que el sistema pueda no solo representar gráficamente estas curvas sino obtener información transversal de las mismas de modo que se puedan reconocer patrones de comportamiento aplicando técnicas de aprendizaje automático (*machine learning*) y con ayuda del modelo matemático personalizado permita realizar predicciones sobre la evolución de la LMC de un paciente como ayuda al tratamiento.

2. Subsistema de Guías de Práctica Clínica de la LMC (GPC). El documento de la *National Comprehensive Cancer Network* [97] referido a la LMC junto con el editado por la organización *LeukemiaNet* [38] contienen las guías para el tratamiento de la LMC en las diferentes fases de la enfermedad y sobretodo en función de los resultados del ratio BCR-ABL/ABL y otras pruebas. Estas guías son auténticos árboles de decisión para las distintas fases de tratamiento (fase de tratamiento primario, tratamiento a los 3 meses, tratamiento a los 6 meses, tratamiento a los 18 meses, etc). Cada rama del árbol contiene a su vez sub-ramas en función de resultados de pruebas (*if*) y como elementos terminales están las terapia. El objetivo del subsistema GPC es la incorporación de dichas guías en una bb.dd de modo que sea un complemento para el médico y permita como valor añadido la incorporación de su experiencia personal.

3. Subsistema de Seguimiento Personalizado LMC (SP-LMC). Su objetivo es la integración de los dos subsistemas anteriores de modo que constituya el entorno de tratamiento personalizado del paciente LMC (figura-74). Este subsistema recibe información de su curva bi-fásica (subsistema BCF) y de las predicciones de comportamiento y además está apoyado por las pautas recomendadas en las guías clínicas (subsistema GPC). La información de un paciente compuesta por las entradas anteriores y su sintomatología actual engrosa la BB.DD personalizada del paciente (SP-LMC)

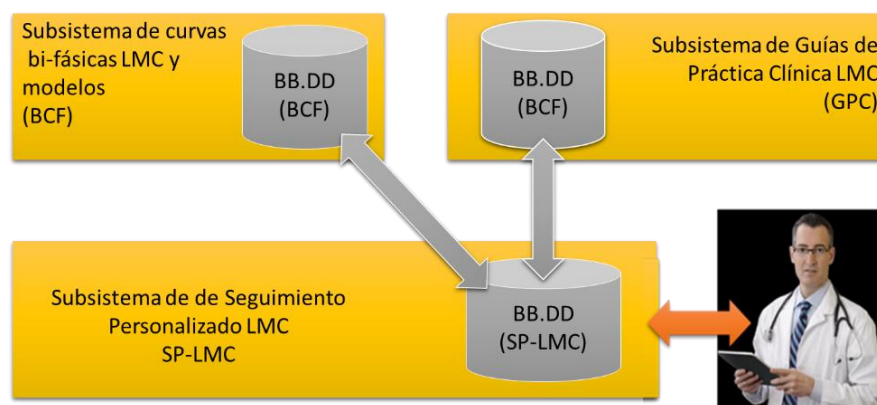


Figura-74 Sistema de Seguimiento Personalizado de Pacientes con LMC (SP-LMC). Fuente de la imagen: www.sosmedichat.com

Anexos

Anexo-A Células pluripotenciales. Diferenciación y Quiescencia

Las células madre hematopoyéticas no pasan directamente de un estado *pluripotencial* a uno maduro y listas para hacer su trabajo en la sangre, sino que atraviesan una serie de diferenciaciones progresivas. Por lo general, la primera etapa es el compromiso hacia un destino linfóide o mielóide. Este hecho es lo que da lugar a dos tipos de células *progenitoras*, una capaz de generar un gran número de distintos tipos de células mieloides y la otra de generar grandes cantidades de los diferentes tipos de células linfoides. Las etapas posteriores dan lugar a progenitores comprometidos en la producción de un solo tipo celular. Las etapas de la determinación se encuentran correlacionadas con los cambios de expresión de un determinado gen de proteínas reguladoras, necesarias para la producción de distintos subgrupos de células sanguíneas.

Por lo general, las células progenitoras hematopoyéticas se comprometen con una vía especial de diferenciación mucho antes de detener su proliferación y diferenciarse de forma terminal. Los progenitores comprometidos pasan por varias etapas de división celular hasta amplificar el número definitivo de células de un determinado tipo. De este modo, una división de una sola célula madre puede conducir a la producción de miles de progenies diferenciadas, lo cual explica por qué el número de células madre es una fracción tan pequeña de la población total de células hematopoyéticas.

Por este mismo motivo puede mantenerse una velocidad elevada de producción de células sanguíneas a pesar de que la velocidad de división de las células madre sea baja. La división poco frecuente o *quiescencia* es una característica común de las células madre de varios

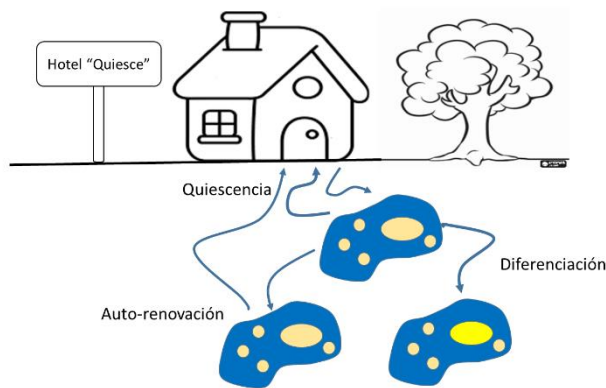


Figura-75 Quiescencia en células madre del S.H.. Fuente: autor del PFM basado en [101, 99, 98]

tejidos (figura-75). Mediante la reducción del número de divisiones que las células madre puedan presentar en el transcurso de su vida, se reduce el riesgo de generar mutaciones en las células madre (salvo enfermedades, como por ejemplo la LMC). El carácter escalonado de la determinación significa que el sistema hematopoyético puede considerarse como un

árbol genealógico jerárquico de células. Las células madre pluripotenciales dan lugar a las *células progenitoras comprometidas*, que se especializan en la producción de uno o de unos cuantos tipos celulares sanguíneos. Las células progenitoras comprometidas se dividen con rapidez, pero solo un número limitado de veces, antes de diferenciarse de forma terminal en células que ya no se dividen (*no mitóticas*) y migran a la sangre y mueren al cabo de unos días o de unas semanas.

Anexo B. Regulación homeostática. Citoquinas

Las células hematopoyéticas aisladas de la médula ósea se pueden cultivar *in vitro* añadiendo de forma artificial factores derivados de otras células. Debido a este aislamiento se puede comprobar como un progenitor neutrófilo comprometido llega a formar una colonia de miles de neutrófilos. Este sistema de cultivo ha proporcionado un sistema de análisis de los factores que *regulan* la hematopoyesis y permite purificarlos y estudiar su actividad. Estas sustancias se encuentran en forma de glucoproteínas y generalmente se denominan **factores estimuladores de colonias** (CSF: *colony-stimulating factors*). Estos factores pueden ser externos provenientes de órganos o internos como mediadores de procesos locales. El más conocido CSF que actúan como hormonas es la glicoproteína *eritropoyetina* que se fabrica en el riñón y regula la *eritropoyesis* o formación de glóbulos rojos. En resumen: cada uno de los tres principales linajes (células rojas, plaquetas y células blancas) tienen asociados sendos factores estimulantes: EPO para las células rojas, TPO (tromboproteína) para las plaquetas y G-CSF (granulocyte colony stimulating factor) para las células blancas. La regulación de la producción de las células de la sangre es muy complejo y constituye un desafío real si consideramos todos mecanismos que actúan.

Los CSF se han definido como factores que estimulan la producción de colonias de células sanguíneas diferenciadas. Pero ¿qué efecto preciso ejerce un CSF sobre una célula hematopoyética individual? Un factor de este tipo podría controlar la velocidad de división celular o el número de ciclos de división que la célula progenitora presenta en el transcurso de la diferenciación:

- Podría actuar tardíamente en el linaje hematopoyético facilitando la diferenciación.
- Podría actuar de forma temprana influyendo en su compromiso o simplemente incrementando la probabilidad de supervivencia celular.

Los estudios *in vitro* indican que existe un elevado componente de azar en el comportamiento de la célula hematopoyética (figura-76). Como mínimo alguno de los CSF parece que actúa regulando probabilidades y no dictan de forma directa lo que debe hacer la célula.

En los cultivos de células hematopoyéticas, incluso cuando las células seleccionadas constituyen una población lo más homogénea posible, se produce una marcada variabilidad en cuanto a tamaños y a menudo en cuanto a características de las colonias. Si dos células hermanas se separan inmediatamente después de una división y se cultivan aparte bajo condiciones idénticas, con frecuencia darán lugar a colonias que contengan distintos tipos de células sanguíneas o los mismos tipos pero en cantidades distintas. Así pues, parece que tanto en la programación de la división celular como en el proceso de compromiso de una célula en una vía concreta de diferenciación, participan una serie de acontecimientos aleatorios a nivel individual, aunque el comportamiento de un sistema pluricelular en su conjunto se regula de una forma más precisa. La secuencia de procesos mostrados en la figura-71 da la impresión “de un programa ejecutado con la precisión y lógica de un ordenador” [76]. Las células aisladas pueden ser más extravagantes y erráticas pero el

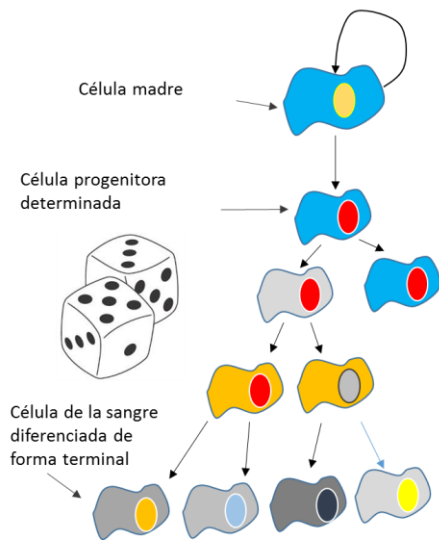


Figura-76. Auto-renovación y proliferación celular desde el punto de vistas estocástico

Parámetros controlables

P1. Frecuencia de división de la célula madre
 P2. Probabilidad de muerte de la célula madre
 P3. Probabilidad de que la célula hija de la célula madre se convierta en una célula progenitora de terminada de tipo específico

P4. Tiempo del ciclo de división de la célula progenitora determinada

P5. probabilidad de muerte de la célula progenitora

P6. Número de divisiones de la célula progenitora determinada, antes de la diferenciación terminal

P7. Vida media de la células diferenciadas

conjunto es una estructura ordenada y con objetivos concretos. La figura 70 muestra un mínimo número de parámetros controlables de los procesos

celulares.

En el trabajo titulado "Do Stem Cells Play Dice?" su autores T. Enver *et al* [98] se preguntan si las decisiones tomadas a nivel celular sobre perpetuación de la especie (auto-renovación)

o diferenciación se toman por factores intrínsecos a las células, por factores externos o por ambos. E igualmente se preguntan si el soporte decisional está basado en dinámica de poblaciones (determinista), en procesos estocásticos o en ambos (figura-77).

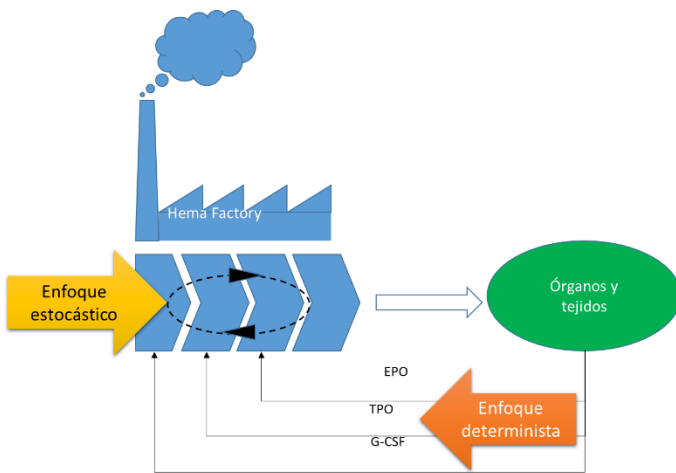
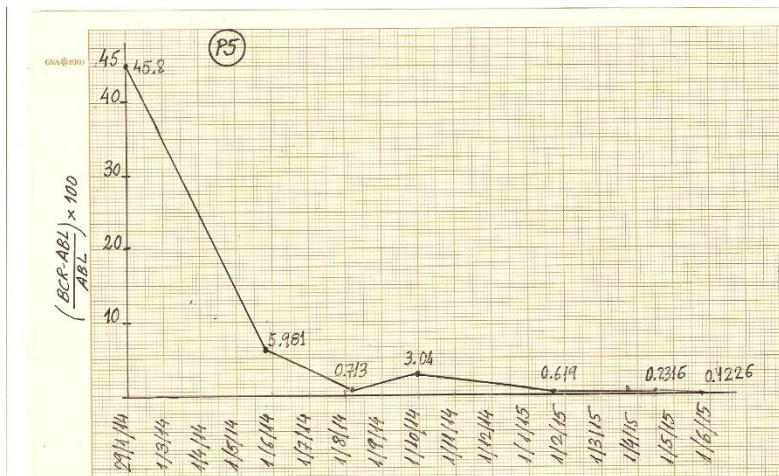
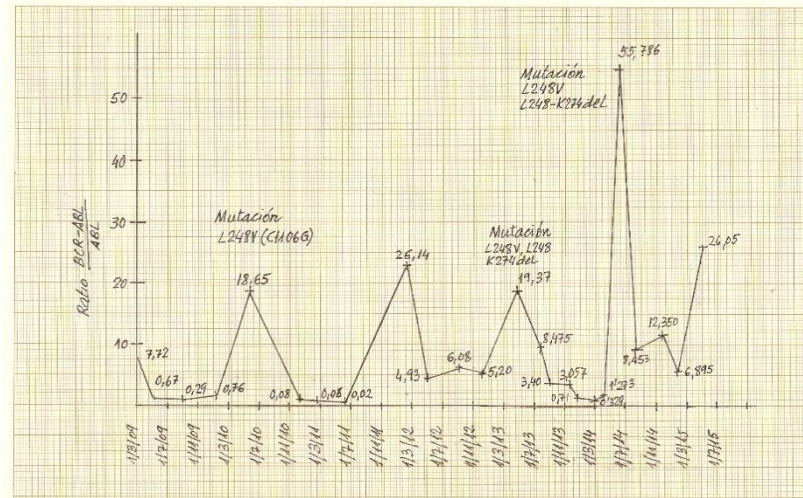


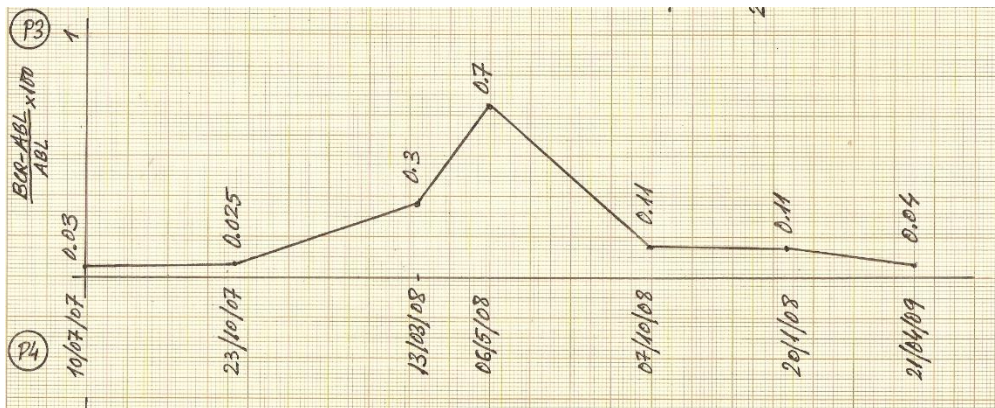
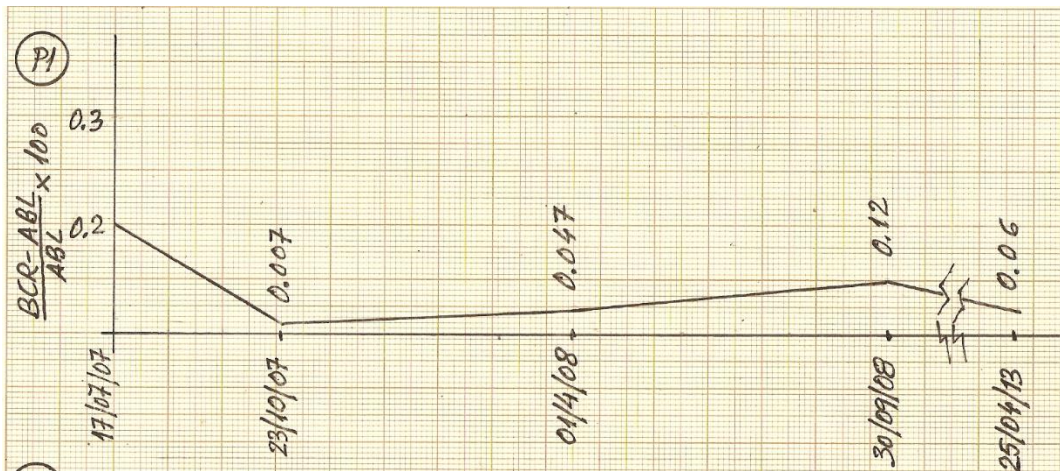
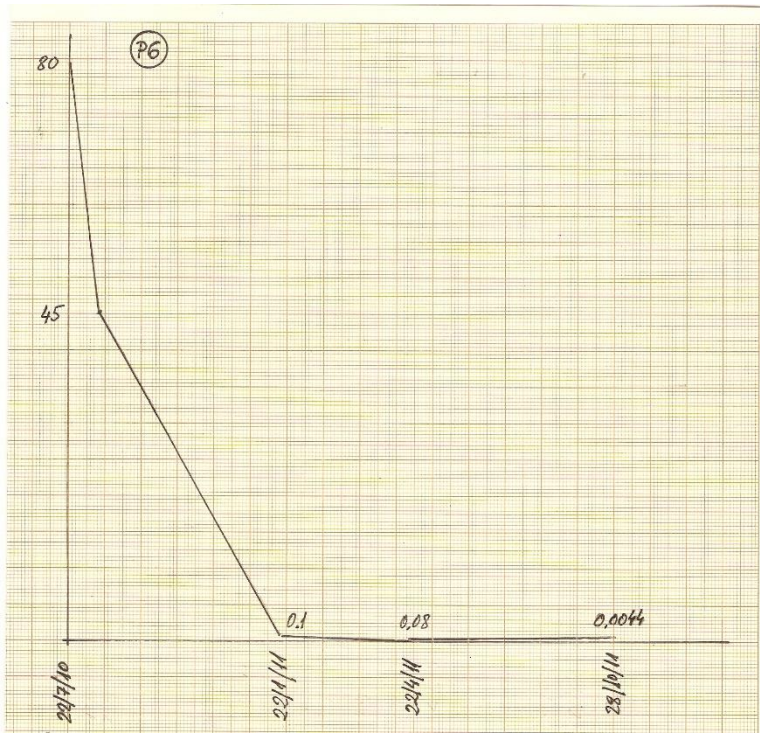
Figura-77. Enfoque estocástico versus enfoque determinista

En el modelo hematopoyético se ha pensado regularmente que la decisión de linaje en el proceso de diferenciación (*differentiation lineage commitment*) se inicia

por variación estocástica entre las diferentes posibilidades de elección, mientras que las citoquinas han sido vistas en un papel de estimulación para la proliferación de células maduras en función de su densidad en la sangre (*visión determinista*).

Anexo C. Curvas Bifásicas de pacientes LMC.





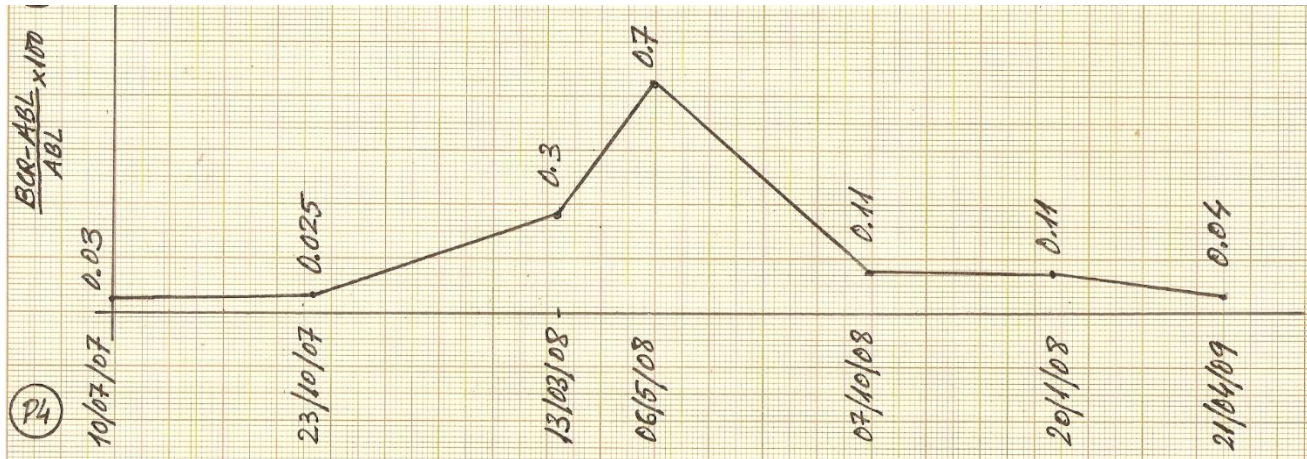
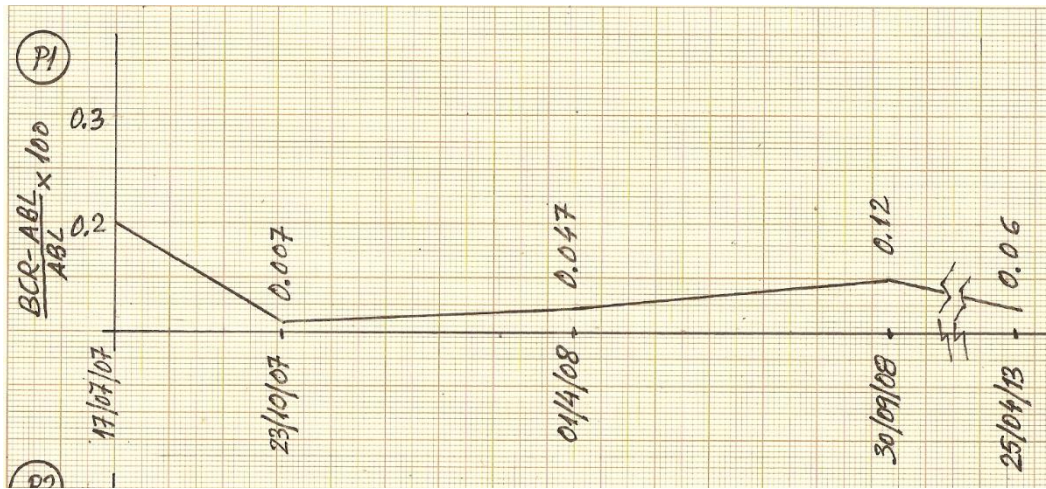


Figura-78. Curvas bifásicas de pacientes del Hospital Universitario de Móstoles

Referencias

- [1] M. Mackey, «Periodic auto-immune hemolytic anemia and induced dynamical disease,» vol. 41, 1979.
- [2] U. Testa, «Leukemia Stem Cells,» *Ann Hematology*, vol. 90, p. 247, 2011.
- [3] B. K. D. B. M. M. L. Dykstra, «Long-Term propagation of distinct hematopoietic differentiation programs in vivo,» *Cell Stem Cell*, pp. 218-229, 2007.
- [4] D. M. J. Y. M. S. E. I. C. Z. P. Kirouac, «Cell-cell interaction networks regulate blood stem and progenitor cell fate,» nº 293, 2009.
- [5] T. S. A. H. W. J. W. W. A. M. Marcinak-Czochra, «Modeling of Asymmetric Cell Division in Hematopoietic Stem Cells-Regulation of Self-Renewal Is Essential for Efficient Repopulation,» *Stem Cells and Development*, vol. 18, 2009.
- [6] F. e. a. Michor, «Dynamics of chronic myeloid leukemia,» *nature*, vol. 435, 2005.
- [7] A. L. C. C. S. M. MacLean, «Population dynamics of normal and leukemia stem cells in the haematopoietic stem cell niche show distinct regimes where leukemia will be controlled,» *Journal of the Royal Society*, 2013.
- [8] M. o. Q. H. S. C. i. t. O. Niche, «Arai, F. Suda, T.,» *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 10, 2007.
- [9] D. M. L. D. E. S. M. Agas, «The unbearable lightness of bone marrow homeostasis,» vol. 26, 2015.
- [10] N. W. D. Komarova, «Stochastic modeling of cellular colonies with quiescence: An application to drug resistance in cancer,» *Theoretical Population Biology*, vol. 72, 2007.
- [11] T. J. X. E. C. E. A. Holyoake, «Isolation of a highly quiescent subpopulation of primitive leukemic cells in chronic myeloid leukemia,» *Blood*, 1999.
- [12] I. H. K. T. E. M. T. A. R. L. Glauche, «Therapy of chronic myeloid leukemia can benefit from the activation of stem cells: simulation studies of different treatment combinations,» *British Journal of Cancer*, 2012.
- [13] T. M. Y. Yahata, «Quiescent Human Hematopoietic Stem Cells in the Bone Marrow Niches Organize the Hierarchical Structure of Hematopoietic,» *Stem Cells*, vol. 26, 2008.

- [14] N. W. D. Komarova, «Effect of Cellular Quiescence on Success of Targeted CML therapy,» *PLOS ONE*, nº 10, 2007.
- [15] D. A. T. Sánchez-Taltavull, «Robutness of differentiation cascades with symmetric stem cell division,» *Journal of Royal Society*, vol. 11, 2014.
- [16] M. C. A. T. T. Adimy, «A delay differential-difference system of hematopoietic stem cells dynamics,» *Academie de Sciences*, 2015.
- [17] D. T. A. P. J. Dingli, «Compartmental Architecture and Dynamics of Hematopoiesis,» *PLOS ONE*, vol. 4, 2007.
- [18] H. L. N. K. Moore, «A Mathematical model for chronic myelogenous leukemila (CML) and T cell interaction.,» *J Theor Biol*, vol. 227, pp. 513-523, 2004.
- [19] J. J. W. Baker, *Biología e Investigación Científica, Fonbdo Educativo Interamericano*, 1970.
- [20] D. Metcalf, «Hematopoietic cytokines,» *Blood*, 2007.
- [21] H. Mayoni, «Hematopoyésis,» vol. 2, nº 2007.
- [22] M. A. Lichtman, *Manual de Hematología*, Marbáb, 2005.
- [23] O. Novartis, «Leucemia Mieloide Cronica,» 2012. [En línea]. Available: https://www.lls.org/sites/default/files/file_assets/PS31S_CML_Booklet_2014_Spanish_FINAL.pdf.
- [24] I. e. a. Roeder, «New experimentaland theoretical investigations of hematopoietic stem cells and chronic myeloid leukemia,» *National Institut of Health*, Vols. %1 de %2Blood Cells Mol Dis, 2009, 2009.
- [25] A. Trausel, «On the dynamics of neutrl mutations in a mathematical model fot homogeneous nstem cell population».
- [26] R. e. a. Press, «BCR-ABL RT-qPCR for Monitoring the Molecular Response to Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia,» *The Journal of Molecular Diagnostic*, 2013.
- [27] T. e. a. Radivoyevtch, «Quantitative modeling of chronic myeloid leukemia: insights from radiobiology,» *Blood*, vol. 119, nº 19, Mayo 2012.
- [28] N. e. a. Pizzolato, «Evolutionary dynamics of imatinib-treated leukemic cells by stochastic approach,» *Central European Journal od Physics* , 2009.
- [29] e. a. Biernaux C, «Detection of major BCR-ABL gene expression at a very low level in blood cells of some healthy individuals,» *Blood*, 1995.
- [30] S. D. e. a. Bose, «The presence of BCR-ABL fusion genes in luekocytes of normal individuals: implications for the assesment of minimal residual deseases,» *Blood*, vol. 92, 1998.

- [31] L. e. a. Berenzansky, «A mathematical model with time-varying delays in the combined treatment of chronic myeloid leukemia,» *Advances en Difference Equations*, vol. 217, 2012.
- [32] S. H. H. U. d. Móstoles, 2016.
- [33] Bristol-Myers-Squib, «<http://www.mycmlife.eu/es/>».
- [34] M. E. e. a. Gorre, «Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification,» *Science*, vol. 293, pp. 876-880, 2001.
- [35] F. Michor, «Dynamics od chronic myeloid leukemia,» *nature*, vol. doi:10.1038/nature03669, 2005.
- [36] J. Radich, «How I monitor residual disease in chronic myeloid leukemia,» 2009.
- [37] R. e. a. Bhatia, «Persistence of malignant metapoeitic progenitors in chronic mielogenous leukemia patiens in complete cytogenetc remission following imanitib mesylate treatmen.,» *Blood*, vol. 105, 2003.
- [38] M. e. a. Baccarani, «European LeukemiaNet Recommendations for the Management os Chronic Myeloid Leukemia: 2103,» *Blood*, vol. 122, 2013.
- [39] F. e. a. Michor, «Eradication of Chronic Myeloid Leukemia Stem Cells: A Novel Mathematical Model Predicts No Therapeutic Benefit of Adding G-CSF to Imatinib,» *Plos Computational Biology*, vol. 5, nº 9, 2009 September.
- [40] Y. H. I. I. O. Buyukasik, «Chronic Myeloid Leukemia: Practical Issues in Diagnosis, Treatment and Follow-Up,» *International Journal of Hematology and Oncology*, vol. 20, nº 2, 2010.
- [41] D. e. a. Dingli, «Chronic Myeloid Leukemia: Origin, Development, Response to Therapy and Relapse,» *Clinical Leukemia*, vol. 2, nº 2, 2008.
- [42] S. e. a. Osorio, «Chronic myeloid leukemia in Spain: Its presentation characteristics have changed. Spanish section of the EUTOS population-based registry,» *Revista Clínica Española*, 2016.
- [43] R. Ai. J. Tiu, «Practical management of patients with chronic myeloid leukemia who develop tyrosine kinase inhibitor-resistant BCR-ABL1 mutations,» *Therapeutic Advances in Hematology*, 2014.
- [44] A. e. a. Marciniak_Czochra, «Cell Division in Acute Myeloid Leukemia Stem-like Cells Determine Clinical Course: A model to predict Patient Survival,» *Cancer Research*, 2015.
- [45] E. T. J. B. D. P. C. Manesso, «Dynamical modelling of hematopoiesis: an integrated view over the system in homeostasis and under perturbation,» *Journas of the royal society*, 2102.

- [46] D. e. a. Jayachandran, «Optimal Chemotherapy for leukemia: A Model-Based Strategy fir IndividuL tREATMENT,» *PLOS ONE*, vol. 9, 2014.
- [47] J. Peña Martinez, *Inmunología, Pirámide*, 1988.
- [48] M. K. P. N. S. I. L. D. Peet, «New Computational Tools for modeling Chronic Myelogenous Leukemia,» vol. 4, nº 2, 2009.
- [49] B. Leonid, Bunivomich-Medrazitsky, S y Domosshnitsky, A, «A mathematical model with time-varying delays in the combined treatment of chronic myeloid leukemia,» *Advances in Difference Equations*, 2012.
- [50] H. B. C. B. H. C. J. Özbay, «Stability Analysis of Cell Dynamics in Leukemia,» *Mathematical Modelling of Natural Phenomenom*, vol. 7, nº 1, 2012.
- [51] A. M. J. Becker, «Cytological demostration of the clonal nature of spleen colonies deriver from transplanted mouse marrow cells,» *Nature*, 1963.
- [52] I. H. M. G. I. H. A. M. M. L. M. Roeder, «Dynamic modeling of imatinib-treated chronic myeloid leukemia: functional insighits and clinical implications,» *Nature Medicine*, 2006.
- [53] H. Moore, «DIFFERENTIAL EQUATION MODELS OF DISEASES AND DRGUS DOSING,» *Mathematical Sciences Research Institute*, 2008.
- [54] J. e. a. Greene, «Modeling intrinsic heterogeneity and growth of cancer cellsJournal of Theoretical Biology,» 2014.
- [55] A. e. a. Krinner, «Merging concepts - coupling an agent-based model of hematopoietic stem cells with an ODE,» *BMC Systems Biology*, 2013.
- [56] P. L. P. L. D. Kim, «Dynamics and potential impact of the Inmune Response to Chronic Myelogenous Leukemia,» 2008.
- [57] M. Kroiss, *Predicting the Lineage Chioce of Hematopoietic Stem Cells*, Springer, 2016.
- [58] B. R. B. D. M.-S. C. Sieburg, «Predicting clonal self-renewal and extinction of hematopoietic stem cells,» *PNAS*, vol. 108, nº 11, 2011.
- [59] C. P. N. K. R. Ma, «Simulation of ex vivo bone morrow culture:Application to chronic myeloid leukemis grwth model,» *Biochemical Engineeing Journal*, 2012.
- [60] T. B. N. H. D. M.-C. A. Stiel, «Clonal selecton and therapy resistancein acute leukemias:mathematical modeling explains different proliferation patterns at diagnosis and relapse,» *Journal of the Royal Society*, vol. 11, 2014.
- [61] D. P. J. T. A. Dingli, «Reproductive fitness advantage of BCR-ABL expressing leukemia cells,» *Cancer Letters*, nº 294, 2010.

- [62] S. W. D. W. I. Morrison, «Cyclophosphamide/granulocyte colony-stimulation factor induces hematopoietic stem cells to proliferate prior to mobilitation,» 1997.
- [63] D. C. A. W. A. R. J. C. W. J. Wright, «Cyclophosphamide/granulocyte colony-stimulating factor causes selective mobilization of bone marrow hematopoietic stem cells into the blood after M phase of the cell cycle,» vol. 97, 2001.
- [64] E. W. A. G. S. A. W. W. I. Passegué, «Global analysis of proliferation and cell cycle gene expression in the regulation of hematopoietic stem and progenitors cell fates,» 2005.
- [65] O. K. M. Arino, «Stability analysis of models of cell production systems,» *Mathematical Modelling*, vol. 7, 1985.
- [66] E. W. A. G. S. A. W. W. I. E. Passegué, «Global Analisis of proliferation and cell cycle gene expression in the regulation of hematopoietic stem and progenitors cell fates,» *Journal of Exerimental Medicine*, vol. 202, 2005.
- [67] E. C. D. P.-B. P. D. M. M. F. C. C. Giblett, «Erythrokinetics: Quantitative Measurements od Red Cell Production and Destruction in Normal Subjects and Patients with Anemia,» vol. 11, 1956.
- [68] H. H. Jorgensen, «Characterization of cancer stem cells in chronic myeloid leukemis,» *Cancer*, 2007.
- [69] D. Wodartz, «Stem cell regulation and the development of blast crisis in chronic myeloid leukemia:Implicationsfor the outcoma of Imatinib treatment and discontinuation,» *Medical Hypotheses*, vol. 70, 2008.
- [70] A. F. S. S. M. MacLean, «The ecology in the hematopoietic stem cell niche determines the clinical outcome in chronic myeloid leukemia,» *PNAS*, 2014.
- [71] J. D. J. Wang, «Cancer stem cells: lessons from leukemia.,» *Trends in Cell Biology*, vol. 15, 2005.
- [72] D. M. F. Dingli, «Succesful Therapy Must Eradicate Cancer Stem Cells,» *Cancer Stem Cells*, vol. 24, 2006.
- [73] H. M. A. S. M. Crowell, «Feedback mechanism control coexistence in a stem cell model of acute myeloid leukemia,» *Journal of Theoretical Biology*, 2016.
- [74] U. Alon, *An Introduction to System Biology*, Chapman&Hall, 2007.
- [75] F. Morilla, «Bio-Sistemas, Master en Ingeniería de Sistemas y Control. UNED,» 2011.
- [76] G. d'Onofrio, *Morphology of Blood Disorders*, Wiley, 2007.

- [77] J. E. P. Maxson y e. a. Gotlib, «Oncogenic CSF3R Mutations in Chronic Neutrophilic Leukemia and Atypical CML,» *The New England Journal of Medicine*, May 9, 2013.
- [78] A. C. M. Perl, «BCR-ABL kinasa is dead; long live the CML stem cell,» *The Journal of Clinical Investigations*, nº 1, 2011.
- [79] S. e. a. Lane, «Differential niche and Wnt requirements during acute myeloid leukemia progression.,» *Blood*, 2011.
- [80] C. K. E. J. A. Megan Cornelison, «804 Dasatinib Combined with Interferon- α Achieves a Complete Cytogenetic Response (CCyR) and Major Molecular Response (MMR) in a Patient with Chronic Myelogenous Leukemia (CML) Harboring the T315I BCR-ABL1 Mutation,» *Proceedings of the Sixth International Hematologic Malignancies 2010 Conference*.
- [81] F. Michor, «Mathematical Models of Cancer Stem Cells,» *Journal of Clinical Oncology*, vol. 26, nº 17, June 2008.
- [82] N. Brent, «A Mathematical Model of Chronic Myelogenous Leukemia,» 2000.
- [83] S. M. H. L. S. Nanda, «Optimal Control of treatment in a mathematical model of chronic myelogenous leukemia,» *Mathematical Biosciences*, nº 210, 2007.
- [84] T. P. J. T. A. D. D. Lenaerts, «Tyrosine kinase therapy can cure chronic myeloid leukemia without hitting leukemic stem cells,» *Haematologica*, 2010.
- [85] D. e. a. Hiwase, «Blocking cytokine signaling along with intense Bcr-Abl kinase inhibition induces apoptosis in primary CML progenitors,» *Leukemia*, 2010.
- [86] I. e. a. Glauche, «Therapy of chronic myeloid leukemia can benefit from the activation of stem cells: simulation studies of different treatment combinations,» *British Journal of Cancer*, 2012.
- [87] J. B. D. Melo, «Primitive, Quiescent and Difficult to Kill: The Role of Non-Proliferating Stem Cells in Chronic Myeloid Leukemia,» *Cell Cycle*, 2006.
- [88] C. P. C. C. Y. L. D. L. S. Sullivan, «Targeted therapy of chronic myeloid leukemia,» *Biochemical Pharmacology*, 2010.
- [89] J. e. a. Cortes, «Immune modulation of minimal residual disease in early chronic phase chronic myelogenous leukemia,» *Cancer*, 2010.
- [90] Z. S. C. K. M. C. S. Whichard, «Hematopoiesis and its disorders: a system biology approach,» *Blood*, vol. 115, nº 12, 2010.
- [91] I. G. I. Roeder, «Pathogenesis, treatment effects, and resistance dynamics in chronic myeloid leukemia-insights from mathematical model analyses,» vol. 86, 2007.
- [92] «Revista Investigación y Ciencia,» Agosto 2016.

- [93] J. Apperley, «Mechanism of resistance to imatinib in chronic myeloid leukemia,» <http://oncology.thelancet.com>, 2007.
- [94] D. A. J. Milojkovic, «Mechanisms of Resistance to Imatinib and Second-Generation,» *Clinical Cancer Research*, 2009.
- [95] S. e. a. Roychowdhury, «Managing resistance in chronic myeloid leukemia,» *Blood*, 2011.
- [96] P. Valent, «Imatinib-resistant chronic myeloid leukemia (CML): Current concepts on pathogenesis and new emerging pharmacologic approaches,» *Biologics*, 2007.
- [97] NCCC.org, «NCCN clinical Practice Guidelines in Oncology. Chronic Myelogenous Leukemia Version 3.2014,» *National Comprehensive Cancer Network*, 2014.
- [98] T. H. C. D. T. Enver, «Do Stem Cells Play Dice?,» *Blood*, 1998.
- [99] T. S. T. Arai, «Maintenance of Quiescent Hematopoietic Stem Cells in the Osteoblastic Niche,» *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 41, 2007.
- [100] G. L. B. Clappa, «A Review of Mathematical Models for Leukemia and Lymphoma,» *Drug Discov Today Dis Models*, vol. 16, 2015.
- [101] E. S. D. Purton, «The hematopoietic stem cell. www.stembook.org/node/518.html,» *StemBook*, vol. www.stembook.org/node/518.html, 2016.
- [102] E. G. A. L.-G. J. C. I. Zulueta, «Simulación de sistemas Multi-Agente mediante un esquema Monte Carlo basado en ecuaciones diferenciales ordinarias,» 2011.