



Resumo Expandido

Título da Pesquisa: Dinâmica Populacional: modelagem matemática do crescimento de tumores		
Palavras-chave: célula-tronco; célula-tronco cancerígena; modelagem matemática		
Campus: Formiga	Tipo de Bolsa: PIBIC	Financiador:
Bolsista (as): Luís Ricardo Fernandes		
Professor Orientador: Maria Elizabeth de Gouvêa		
Autores: Luís Ricardo Fernandes, Hoyama Maria dos Santos, Thaís Oliveira Duque, Amanda Aparecida, Maria Elizabeth de Gouvêa		
Área de Conhecimento:		

Resumo: Apresenta-se um modelo matemático baseado na hipótese de que o crescimento de tumores tem sua origem nas células-tronco cancerígenas. O modelo apresentado tem uma estrutura hierárquica composta de dois compartimentos: o de células-tronco e o de células especializadas. Para as células-tronco, considera-se a autorrenovação simétrica e assimétrica, a diferenciação em células especializadas e a apoptose. Para as células especializadas, considera-se, devido à telomerase, um número finito de mitoses e apoptose. Admite-se que um tumor seja constituído por uma população de células que se tornaram anormais por adquirirem mutações durante o processo de mitose. Este trabalho pretende mostrar que as células que dão origem a um tumor, isto é, as células-tronco cancerígenas podem ser: 1) oriundas de células-tronco que adquiriram, através de mutações, vantagens proliferativas, 2) ou podem ser células especializadas que, por mutações adquiridas, se tornaram capazes de evitar a senescência e passam a exibir a característica fundamental das células-tronco: a capacidade de autorrenovação. No primeiro caso, a mutação mais deletéria, isto é, aquela que leva a um crescimento mais acentuado do tumor, é aquela que altera o padrão de autorrenovação da célula-tronco privilegiando a autorrenovação simétrica em detrimento da diferenciação.

INTRODUÇÃO

Durante muito tempo, acreditou-se que qualquer célula cancerígena que permanecesse em um indivíduo seria potencialmente capaz de reiniciar a doença. Tal pensamento fez com que o foco principal das terapias disponíveis se concentrasse na eliminação do maior número possível dessas células. No entanto, tem sido mostrado [Clarke e Becker (2006)] que apenas uma ínfima fração das células de um tumor tem realmente a capacidade de originar um novo tecido canceroso. Essas células são responsáveis pelo início e desenvolvimento do câncer e são denominadas células-tronco cancerígenas (CTC). Em geral, possuem a habilidade de se diferenciarem em vários tipos de células de acordo com as características do tecido de origem [Mackenzie (2005); Locke et al (2005)]. Dessa forma, um tumor, em maior ou menor grau, reproduz, de forma desorganizada, a estrutura do tecido em que se originou. Sendo assim, a cura dessa doença só pode ser obtida através da eliminação dessas CTC.

Por essa razão, o estudo da natureza e evolução das CTC tem originado um grande número de estudos teóricos [Reya et al (2001); Ashkenazi et al (2008); Johnston et al (2010)] e experimentais nas duas últimas décadas, mas ainda é alvo de algumas controvérsias. Em muitos trabalhos, tem sido admitido que as CSCs constituem, necessariamente, uma fração minoritária das células num tumor [veja, por exemplo, O'Brien et al (2007); Clarke (2004); Huntly e Gilliland (2005)]. No entanto, estudos mais recentes em melanomas [Quintana et al (2008)] e em outros tipos de câncer [Kelly et al (2007); Yeung et al (2010)] mostraram que a população de CTCs pode ser uma fração considerável do tumor.

Do mesmo modo, não está claro que as CTCs são necessariamente derivadas de células-tronco do tecido [Polyack e Hahn (2006)]. O modelo hierárquico proposto por Tomlinson e Bodmer (1995) abriu a possibilidade de que a origem de alguns tipos de câncer esteja, também, em células especializadas e não apenas nas células-tronco do tecido. Alguns anos depois, Wu (2007) concorda com essa possibilidade ao discutir como os processos de autorrenovação e diferenciação contribuem para o desenvolvimento de tumores. De acordo com Wu, as CTCs podem ser causadas por distúrbios nesses processos em células-tronco multipotentes, células-tronco específicas e nas outras células que compõem a estrutura do tecido.

Nesse trabalho, apresentamos um modelo hierárquico, discreto e determinístico, de apenas dois compartimentos: células-tronco (CT) e células diferenciadas ou especializadas. Em nosso modelo, a mutação ocorre durante a divisão celular; nesse caso, o sistema de controle da qualidade falha em não descartar a célula mutante. Dessa forma, em cada compartimento, existem dois subcompartimentos: o de células normais e o de células anormais (mutantes).

Para as células-tronco, consideramos a autorrenovação simétrica, a autorrenovação assimétrica, a diferenciação e a apoptose. A divisão assimétrica mantém constante o número de células-tronco e acredita-se que esse processo seja dominante em situações normais, embora não exista evidência sólida para embasar essa afirmação [Ashkenazi et al (2008)]. Pelo papel que desempenham na manutenção da integridade de um tecido, vários modelos consideram que o número de CTs tende a se manter constante. Por essa razão, consideramos que o “padrão normal” de divisão das CTs privilegie a divisão assimétrica, mas que as taxas de divisão simétrica e de diferenciação – que contribuiriam para aumentar ou diminuir essa população - são iguais. Discutimos o papel da apoptose nesse compartimento e, principalmente, como um rompimento no equilíbrio entre a divisão simétrica e a diferenciação pode levar a um crescimento acentuado – um tumor – da população de células anormais.

Para o outro compartimento, o de células diferenciadas, consideramos que o processo de amadurecimento dessas células exige um número finito de mitoses. Após realizar todas as mitoses permitidas, a célula morre (senescência). Para modelar o controle da qualidade genética de um tecido, consideramos que existe uma probabilidade de que ocorra a apoptose em cada etapa da evolução do tecido. Mostramos que uma mutação que confere à célula a capacidade de se autorrenovar indefinidamente leva também a um crescimento exponencial da população de células anormais.

METODOLOGIA

Compartimento de células-tronco

Consideramos que as células desse compartimento estão sujeitas às seguintes ações: (i) morte (taxa β_T); (ii) divisão celular seguida de diferenciação (γ_T); (iii) autorrenovação assimétrica (α_{AT}) e (iv) autorrenovação simétrica (α_{ST}). Durante o processo de divisão celular, as células-filhas geradas em (ii), (iii) e (iv) podem sofrer uma mutação (taxa δ_T). As células-filhas que não sofrem mutação constituem o subcompartimento de CT normais e o número de células nesse compartimento após n iterações é designado por $T_n^{(0)}$. As células que adquiriram mutação compõem o subcompartimento de CT anormais e, na n -ésima iteração, essa população é designada por $T_n^{(1)}$.

Consideramos que o efeito da mutação sobre o comportamento de determinada população pode alterar o valor dos parâmetros - α (autorrenovação), β (apoptose) e γ (diferenciação) - introduzidos acima. Por

essa razão, esses parâmetros trazem, também, um sobrescrito. Assim, $\alpha_{ST}^{(0)}$ e $\alpha_{ST}^{(1)}$ representam, respectivamente, as taxas de autorrenovação simétrica das populações sem e com mutação acumulada.

A equação que descreve a evolução temporal da população de CT normais é dada por

$$T_{n+1}^{(0)} = \{1 + \lambda_T^{(0)}\} T_n^{(0)} \quad , \quad (1)$$

onde definimos

$$\lambda_T^{(0)} = \alpha_{ST}^{(0)}(1 - 2\delta_T) - \alpha_{AT}^{(0)}\delta_T - \beta_T^{(0)} - \gamma_T^{(0)} \quad . \quad (2)$$

É fácil concluir que, após n iterações, teremos

$$T_n^{(0)} = [1 + \lambda_T^{(0)}]^n T_0^{(0)} \quad . \quad (3)$$

onde $T_0^{(0)}$ corresponde à população inicial de CT. Da equação acima, concluímos que para manter constante essa população, devemos ter $\lambda_T^{(0)} = 0$. Caso contrário, essa população crescerá ($\lambda_T^{(0)} > 0$) ou diminuirá ($\lambda_T^{(0)} < 0$) indefinidamente. Na ausência de mutação ($\delta_T = 0$), a conservação do número de CT normais exige $\alpha_{ST}^{(0)} = \gamma_T^{(0)} + \beta_T^{(0)}$. Portanto, se considerarmos a apoptose para essas células, a taxa de autorrenovação simétrica deve ser maior do que a de diferenciação para que a população de CT normais permaneça constante. No entanto, se consideramos que a taxa de mortalidade para essas células é muito pequena e, como Ashkenazi et al (2008), $\alpha_{ST}^{(0)} = \gamma_T^{(0)}$, teremos $\lambda_T^{(0)} = -\beta_T^{(0)}$ e o decaimento da população será muito lento. Por exemplo, para $\beta_T^{(0)} = 0.00001$, considerando que o tempo médio para completar uma divisão celular é de 8 horas, seriam necessários 210 anos para que a população de CT normais fosse reduzida a 10% do valor inicial. Obviamente, a ocorrência de mutação nesse subcompartimento provocará um decaimento mais acentuado dessa população. Consequentemente, as populações de CTs anormais e de células diferenciadas (CD) anormais tenderão a crescer.

Para a população de CT anormais, temos

$$T_{n+1}^{(1)} = \{1 + \lambda_T^{(1)}\} T_n^{(1)} + \delta_T [2\alpha_{ST}^{(0)} + \alpha_{AT}^{(0)}] T_n^{(0)} \quad , \quad (4)$$

onde

$$\lambda_T^{(1)} = \alpha_{ST}^{(1)} - \gamma_T^{(1)} - \beta_T^{(1)} \quad . \quad (5)$$

Com um pouco de álgebra, obtemos a expressão para $T_n^{(1)}$ em função das populações iniciais de CTs normais, $T_0^{(0)}$, e CTs anormais, $T_0^{(1)}$,

$$T_n^{(1)} = (1 + \lambda_T^{(1)})^n T_0^{(1)} + \delta_T (2\alpha_{ST}^{(0)} + \alpha_{AT}^{(0)}) \frac{[(1 + \lambda_T^{(1)})^n - (1 + \lambda_T^{(0)})^n]}{\lambda_T^{(1)} - \lambda_T^{(0)}} \quad . \quad (6)$$

A equação mostra que $\lambda_T^{(1)} > 0$ implicará num crescimento da população de CTs anormais: quanto maior for $\lambda_T^{(1)}$, mais acentuado será o crescimento dessa população e, conseqüentemente, da população que ela alimenta, ou seja, as CD anormais. De (5), vemos que uma mutação que favorece a autorrenovação simétrica em detrimento da taxa de diferenciação favorece a expansão de células anormais.

Compartimento de células-diferenciadas

As células desse compartimento podem sofrer: (i) divisão - $\alpha_S^{(0)}$ e $\alpha_S^{(1)}$ - e; (ii) morte - $\beta_S^{(0)}$ e $\beta_S^{(1)}$ - onde os sobrescritos nos parâmetros indicam ausência ou presença de mutação, respectivamente. Para as CDs normais, consideramos um número finito - L - de mitoses antes de entrarem em senescência. Para as CDs anormais, analisamos, também, o comportamento da população quando a mutação adquirida confere à célula mutante a capacidade de escapar da senescência e, portanto, se dividir indefinidamente.

Nesse compartimento, precisamos identificar a presença ou não de mutação e, também, o número de divisões sofridas pela célula. Assim, usaremos dois sobrescritos: o primeiro indica se a população tem ou não mutação e o segundo o número de divisões sofridas. Assim, por exemplo, $S_n^{(0,8)}$ informa a população de CDs sem mutação e que passou por 8 divisões. Dessa forma, é necessário escrever equações diferentes para as CD normais e anormais com zero divisão e com um número finito não nulo de divisões.

Para as CD normais com zero divisões, temos

$$S_{n+1}^{(0,0)} = (1 - \alpha_S^{(0)} - \beta_S^{(0)})S_n^{(0,0)} + (\alpha_{AT}^{(0)} + 2\gamma_T^{(0)})(1 - \delta_T)T_n^{(0)}, \quad (7)$$

enquanto para as CDs normais com y divisões a equação que determina sua evolução temporal é

$$S_{n+1}^{(0,y)} = (1 - \alpha_S^{(0)} - \beta_S^{(0)})S_n^{(0,y)} + 2\alpha_S^{(0)}(1 - \delta_S)S_n^{(0,y-1)}. \quad (8)$$

De modo análogo, para as CDs anormais com zero divisão, temos

$$S_{n+1}^{(1,0)} = (1 - \alpha_S^{(1)} - \beta_S^{(1)})S_n^{(1,0)} + (\alpha_{AT}^{(1)} + \gamma_T^{(1)})(1 - \delta_T)T_n^{(1)}, \quad (9)$$

e, para as CDs anormais com $y \leq L$ divisões,

$$S_{n+1}^{(1,y)} = (1 - \alpha_S^{(1)} - \beta_S^{(1)})S_n^{(1,y)} + 2\alpha_S^{(1)}S_n^{(1,y-1)} + 2\alpha_S^{(0)}\delta_S S_n^{(0,y-1)}. \quad (10)$$

Se admitimos que a mutação conferiu à célula mutante a capacidade de ultrapassar o limite L de divisões para esse compartimento, isto é, se a célula adquiriu a habilidade de, como as CT, se dividir infinitas vezes, teremos

$$S_{n+1}^{(1,L+1)} = (1 - \alpha_S^{(1)} - \beta_S^{(1)})S_n^{(1,L+1)} + 2\alpha_S^{(1)}(S_n^{(1,L)} + S_n^{(1,L+1)}) + 2\alpha_S^{(0)}\delta_S S_n^{(0,L)}. \quad (11)$$

O comportamento das populações regidas pelas equações (7)-(11) será feito numericamente.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Para a solução numérica das equações do modelo, implementamos um programa desenvolvido na linguagem JAVA. O código utiliza as próprias equações em diferença finita descritas acima que são usadas como equações de recorrência nos ciclos de evolução temporal do modelo.

O programa requer que sejam definidos os valores dos parâmetros do modelo e as populações iniciais em cada subcompartimento. Em nossas simulações, consideramos a população inicial de CT normais igual a 1, isto é, $T_0^{(0)} = 1$; as demais populações iniciais foram definidas como nulas.

Em primeiro lugar, analisamos o comportamento das diversas populações na situação em que a mutação afeta o valor dos parâmetros que definem as taxas de autorrenovação simétrica e de diferenciação

das CTs anormais, ou seja, $\alpha_{ST}^{(1)}$ e $\gamma_T^{(1)}$ de modo a obter $\lambda_T^{(1)} > 0$. O objetivo é analisar como as populações evoluem quando a proliferação de CTs anormais é favorecida. Pela análise analítica feita na seção anterior, esperamos que as populações de células anormais cresçam continuamente. O resultado obtido numericamente é mostrado na Figura 1. Os valores dos parâmetros usados para esse resultado foram obtidos de Ashkenazi et al (2008) e expostos na tabela 1. Consideramos que as CDs podem passar por 9 divisões antes da senescência.

Observe que a mutação afeta apenas os valores de $\alpha_{ST}^{(1)}$, de $\beta_T^{(1)}$ e de $\gamma_T^{(1)}$; os demais parâmetros assumem os mesmos valores com ou sem mutação. O objetivo, aqui, é verificar se há um crescimento acentuado das populações de células anormais. Para os valores expostos na Tabela 1, $\lambda_T^{(1)} = 0,00005$ e, portanto, esperamos um crescimento suave e pouco acentuado para as populações de células anormais.

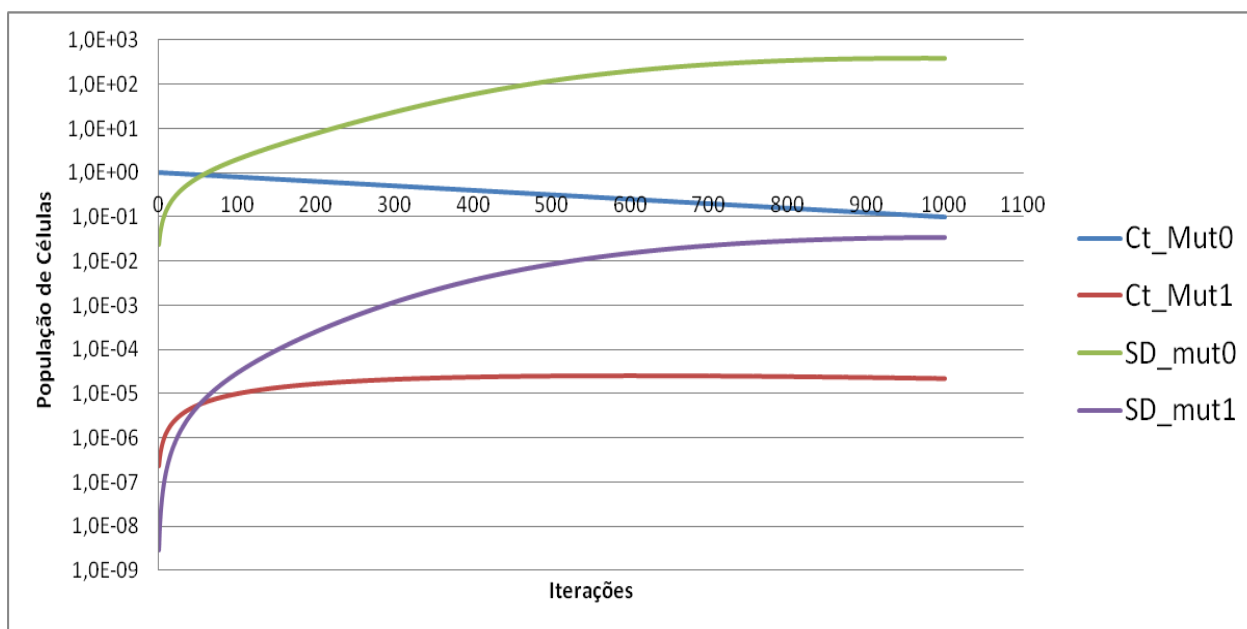
Essa previsão é confirmada pelo comportamento observado na Figura 1.

Tabela 1 - Valores dos parâmetros usados para a simulação numérica

$\alpha_{ST}^{(0)} = 0,00115$	$\gamma_T^{(0)} = 0,00115$	$\alpha_{ST}^{(1)} = 0,00118$	$\gamma_T^{(1)} = 0,00112$	$\alpha_S^{(0)} = 0,0115$
$\alpha_{AT}^{(0)} = 0,0092$	$\delta_T = 0,00001$	$\alpha_{AT}^{(1)} = 0,0092$	$\beta_S^{(0)} = 0,0001$	$\alpha_S^{(1)} = 0,0115$
$\beta_T^{(0)} = 0,0001$	$L = 9$	$\beta_T^{(1)} = 0,00001$	$\beta_S^{(1)} = 0,0001$	$\delta_S = 0,00001$

Fonte: Próprios autores.

Figura 1 - Evolução temporal das populações do modelo



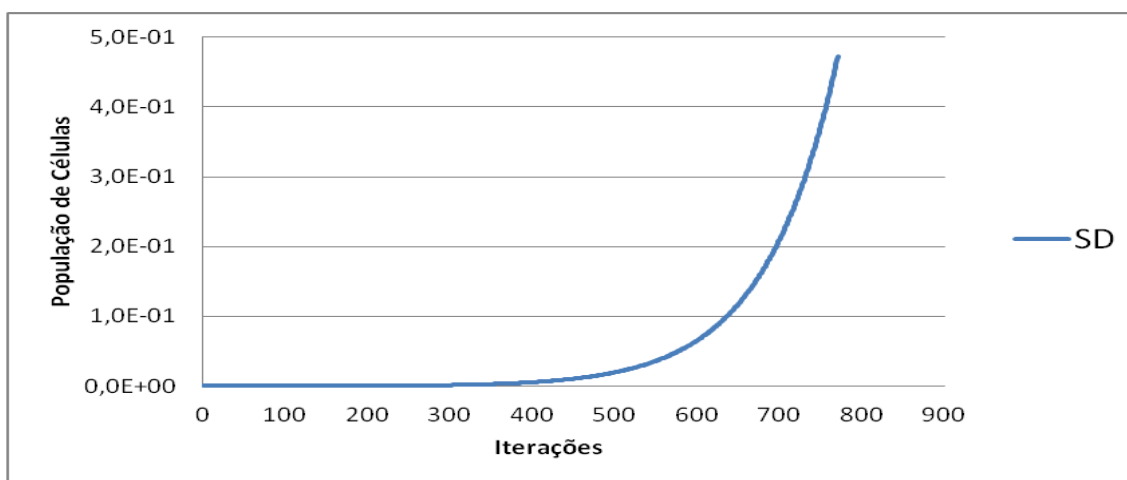
Fonte: Próprios autores.

Observe que, como previsto, a população de CTs normais decresce com o número de iterações: esse comportamento é devido ao fato de termos $\lambda_T^{(0)} = -\beta_T^{(0)} < 0$. No entanto, ao contrário

do que a análise analítica previu, a população de CTs anormais cresce durante as primeiras iterações, mas parece se estabilizar. Será necessário investigar mais profundamente esse comportamento. Vale também observar que a população de CDs anormais tem um crescimento mais acentuado do que a das CTs anormais.

O próximo resultado considera que a mutação confere às CDs anormais com L divisões a capacidade de continuarem a se dividir. Vamos, agora, exigir que a população de CTs normais permaneça constante definindo $\beta_T^{(0)} = \alpha_{ST}^{(0)}(1 - 2\delta_T) - \alpha_{AT}^{(0)}\delta_T - \gamma_T^{(0)}$. Com essa restrição, temos $\lambda_T^{(0)} = 0$. Assim, com exceção do valor usado para a taxa de mortalidade das CTs normais, os demais parâmetros para as populações CT e CD são aqueles apresentados na tabela 1. O resultado obtido para a população de CDs anormais está representado na Figura 2.

Figura 2 - Evolução temporal das CDs anormais quando adquirem a capacidade de se autorenovarem



Fonte: Próprios autores.

Como pode ser observado, nessa situação, a população de células anormais cresce de forma acentuada sugerindo a formação rápida de uma grande população de células cancerígenas. Esse comportamento confirma a suposição de que as células diferenciadas, ao adquirirem, através de mutações, características inerentes às células-tronco, isto é, a capacidade de autorrenovação ilimitada, atuam como células-tronco cancerígenas e dão origem a uma explosão celular.

CONCLUSÕES

Apresentamos um modelo determinístico, temporalmente discreto, de dois compartimentos celulares: o segundo compartimento, o de CDs é alimentado pelo primeiro, de CTs. Por essa razão, dizemos que esse é um modelo hierárquico. Para as CTs, consideramos todos os tipos de divisões que são conhecidas para essas células: divisão simétrica, divisão assimétrica e diferenciação. Discutimos as condições ($\lambda_T^{(0)} = 0$) que permitem a manutenção da população de CTs normais uma vez que essas células são indispensáveis para a manutenção da integridade do tecido.

A análise analítica do modelo levou à conclusão de que uma mutação que altera os valores dos parâmetros relacionados à autorrenovação simétrica e diferenciação das CTs anormais de modo a privilegiar, ainda que levemente, a autorrenovação simétrica levaria a um crescimento acentuado das populações anormais. No entanto, a simulação não confirmou essa previsão uma vez que a Figura 1 sugere que as populações tendem a um valor de equilíbrio. Dessa forma, uma nova análise precisa ser feita – quer seja para verificar se as conclusões analíticas não são verdadeiras ou para verificar se há algum problema com o código numérico.

No entanto, a simulação representada na Figura 2 confirma a suspeita de que as chamadas CTCs podem ser também ter sua origem em células já diferenciadas, como tem sido sugerido por alguns autores [Johnston et al (2010); Wu (2007)].

Muito outros fatores como, por exemplo, a influência do microambiente em torno do tecido precisam ser incorporados a esse modelo. Essa e outras intervenções serão feitas em trabalhos futuros.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA:

Ashkenazi, R.; Gentry, S.N.; Jackson, T.L. *Neoplasia*, v.10, p.1170-1182, 2008.

Clarke, M.F., *Nature*. v.432, p. 281-282, 2004.

Clarke, M.F.; Becker, M.W. *Scientific American Brasil: Câncer – o lado maligno das células-tronco*. v. 51, p. 39-46, 2006.

Huntly, B.J.P.; Gilliland, D.G. *Nature Reviews – Cancer* v.5, p.311-321, 2005

Johnston, M.D.; Maini, P.K.; Chapman, S.J.; Edwards, C.M.; Bodmer, W.F. *Journal of Theoretical Biology* v.266, p. 708-711, 2010.

Kelly, P.N.; Dakic, A.; Adams, J.M.; Nutt, S.L.; Strasser, A., *Science*, p. 317, 337, 2007

Locke, M.; Heywood, M.; Fawell, S.; Mackenzie, I.C. *Cancer Research* v.65, p. 8944-8950, 2005.

Mackenzie, I.C., *Cell Proliferation*, v.38, p. 347-355, 2005.

O'Brien, C.A.; Pollet, A.; Gallinger, S.; Dick, J.E. *Nature* v.435, p.1267-1270, 2007.

Polyack, K.; Hahn, W.C. *Nat. Med.* v.12, p.296-300, 2006.

Quintana, E.; Shackleton, M.; Sabel, M.S.; Fullen, D.R.; Johnston, T.M.; Morrison, S.J., *Nature* v.456, p.593-598, 2008.

Reya, T.; Morrison, S.J.; Clarke, M.F.; Weissman, I.L. *Nature* v.414, p.105-111, 2001.

Tomlinson, I.P.; Bodmer, W.F. *Proceedings of the National Academy of Science USA* v.92, p.11130-1114, 1995.

Yeung, T.M.; Gandhi, S.C.; Wilding, J.L.; Muschel, R.; Bodmer, W.F. *Proceedings of the National Academy of Science USA* v.107, p.3722-3727, 2010

Wu, Xiong-Zhi. *Annals of Surgical Oncology* v.15, p. 407-414, 2007.

Participação em Congressos, publicações e/ou pedidos de proteção intelectual: