



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Modelación de la dinámica de calcio con difusión en tejido celular para la aplicación de Terapia Fotodinámica.

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

LICENCIADO EN FÍSICA

por

Víctor Manuel Fuentes Mirón

Asesorado por

Dr. Jorge Velázquez Castro

Puebla Pue.
8 de junio de 2022

Modelación de la dinámica de calcio con difusión en tejido celular para la aplicación de Terapia Fotodinámica.

Víctor Manuel Fuentes Mirón

8 de junio de 2022

Título: Modelación de la dinámica de calcio con difusión en tejido celular para la aplicación de Terapia Fotodinámica.

Estudiante: VÍCTOR MANUEL FUENTES MIRÓN

COMITÉ

Dr. Ricardo Agustín Serrano
Presidente

Dra. Beatriz Bonilla Capilla
Secretario

Dr. José Jacobo Oliveros Oliveros
Vocal

Dr. Eduardo Moreno Barbosa
Vocal

Dr. Jorge Velázquez Castro
Asesor

Índice general

1. Introducción	1
1.1. Resumen	1
1.2. El Cáncer	2
1.3. Terapia Fotodinámica	3
1.4. Homeostasis de la proteína p53 en el cáncer	5
1.5. Homeostasis de Ca^{2+}	6
2. Modelos matemáticos para simular la dinámica de Ca intracelular	9
2.1. Modelo mínimo para las señales inducidas de oscilaciones de Ca^{2+}	10
2.1.1. Bombas e Intercambiadores de Calcio	13
2.2. Gap Junctions	16
3. Modelo de Reacción-Difusión	17
3.1. Comportamiento de un Sistema Dinámico Lineal continuo en el tiempo	17
3.2. Sistemas de Reacción-Difusión	21
3.2.1. Análisis de los puntos estacionarios para un sistema de Reacción-Difusión	22
4. Sistema de ecuaciones para la dinámica de Calcio y sus Puntos Estacionarios	25
4.1. Encontrar los puntos estacionarios espacial y temporalmente	27
4.2. Procedimiento para hallar la matriz de estabilidad sin difusión	29
4.3. Procedimiento para hallar la matriz de estabilidad con difusión	30
4.4. Condiciones de Estabilidad	33
5. Simulación de la dinámica de Calcio	35
5.1. Simulación del tejido sano sin aplicar terapia	35
5.2. Simulación del Tejido Sano Con PDT	37
5.3. Simulación del Tejido Canceroso con PDT	39
5.4. Simulación de la PDT aplicada solo en la zona del Tejido Canceroso	40
6. Conclusión	43
Bibliografía	45

Capítulo 1

Introducción

1.1. Resumen

Existen diversas terapias que combaten al cáncer. Muchas de ellas como la quimioterapia y radioterapia que son dañinas para el tejido sano. Es por ello que existen muchas investigaciones para tratarlo de una forma menos invasiva.

La terapia fotodinámica (PTD) es una de las muchas opciones usadas para tratar al cáncer. Esta terapia consiste en administrar al paciente un compuesto sensible a cierta radiación, que es acumulado y absorbido por las células a las que se desean tratar. Después de cierto tiempo el tejido se expone a radiación con longitud de onda dentro del espectro de absorción del fotosensibilizador. Al activarse el compuesto sensibilizante en el tejido se obtiene el efecto deseado; las células cancerosas son inducidas a su muerte celular mediante la reactivación de distintos mecanismos.

La PDT se considera un tratamiento no invasivo y selectivo por la mayor capacidad que tienen las células cancerosas para captar y concentrar el agente fotosensibilizante a diferencia de las células sanas, así mismo con menor velocidad de eliminación de éste.

Sin embargo, para la correcta aplicación de la terapia fotodinámica es necesario conocer la dinámica de ciertos componentes. En concreto el calcio, el cuál es parte fundamental del proceso de la PDT.

Por lo tanto, la intención del presente trabajo es proponer un modelo para entender la dinámica de calcio en células cancerosas, ya que juega un papel fundamental para la correcta aplicación de la Terapia Fotodinámica.

Se establece la dinámica de Ca^{2+} por medio de un sistema de ecuaciones que modele las concentraciones de éste dentro de las diferentes partes de la célula para analizar su estabilidad y hallar los estímulos necesarios por medio de la Terapia Fotodinámica que lleven a las células cancerosas a su muerte sin afectar a su región vecina.

1.2. El Cáncer

El cáncer es una enfermedad compuesta por muchos procesos complejos y progresivos que se origina a causa de la acumulación de alteraciones genéticas que conducen a la transformación de una célula normal a una célula cancerosa o maligna. Este proceso lleno de factores múltiples crea una vía dinámica y única para cada tumor, que hace extremadamente difícil determinar las alteraciones que provocan, mantienen y propagan la enfermedad para distintas partes del cuerpo.

Las células cancerosas no regulan adecuadamente ciertos procesos, uno de éstos; la proliferación continua y descontrolada de las células, replicando las mutaciones de éstas. En vez de responder de forma apropiada a todas las señales que controlan el comportamiento normal, crecen y se dividen descontroladamente, invaden otros tejidos y se propagan hacia otras partes del cuerpo interfiriendo con el funcionamiento vital de distintos órganos sanos. La mutación de genes que suprimen el nacimiento de tumores los cuales son indispensables para la reproducción celular, evoluciona hasta producir un daño considerable que altera y destruye procesos fundamentales para el funcionamiento del organismo [1].

La erradicación de las células cancerosas es la estrategia principal de protección del organismo contra el cáncer. En las células normales existen varios mecanismos que declinan en la muerte celular, sin embargo, en estos procesos participan algunas *proteínas clave (supresoras de tumores)* que frecuentemente se inactivan durante el nacimiento del cáncer. Una de estas proteínas clave es la **p53**. Proteína que a su vez regula las concentraciones de iones de calcio Ca^{2+} y alrededor de la mitad de los cánceres que la humanidad sufre, contienen mutaciones en esta proteína supresora [2].

1.3. Terapia Fotodinámica

Las terapias para combatir el cáncer han ido cambiando y evolucionando al paso del tiempo, con el fin de obtener mejores resultados y evitar dañar a las células sanas. La *terapia fotodinámica* es una alternativa para mejorar la forma en que se trata al cáncer.

Las propiedades terapéuticas de la luz se han conocido por miles de años. Aunque hasta hace un siglo la terapia fotodinámica comenzó a desarrollarse. Actualmente es usada en oncología para tratar cáncer en la cabeza, cuello, cerebro, pulmones, páncreas, senos, próstata y la piel.

Hace más de 100 años, se observó que la combinación de luz y ciertos químicos pueden inducir la muerte celular. Herman Von Tappeiner y A. Jesionek trataron tumores en la piel aplicando directamente eosina y luz blanca en 1903. Ellos describieron al fenómeno como *Acción Fotodinámica*. La PDT hace uso de dos componentes individualmente no tóxicos que al combinarse inducen a la muerte celular. El primer componente es un *fotosensibilizador*, es decir, una molécula sensible a la radiación (normalmente dentro del espectro visible o *luz*) que se localiza en el tejido deseado. El segundo componente involucra la administración de la luz a una longitud de onda específica que active el fotosensibilizador. Éste transfiere energía tomada de la luz al oxígeno molecular para generar una especie de oxígeno activo (singletes de oxígeno). Esta reacción ocurre en la zona local de la absorción de luz por el fotosensibilizador. Por lo tanto, la respuesta biológica al compuesto es activar solamente las áreas específicas del tejido que ha sido expuesto a la radiación adecuada. Por lo que esta terapia busca ser una alternativa considerablemente no invasiva.

El desarrollo de la aplicación terapéutica de la PDT a pacientes con cáncer tomó mucho tiempo desde los primeros experimentos hechos por Herman Von Tappeiner y A. Jesionek en 1903.

En 1972, estudios realizados *In Vivo* por I. Diamond revelaron que la PDT retrasaba el crecimiento de gliomas implantados en ratas. Los tumores habían sido suprimidos de 10 a 20 días, pero eventualmente en las áreas afectadas más profundas en el tejido comenzaban a crecer los tumores. No fue hasta 1975 cuando Thomas Dougherty reportaron que la administración de HTP (haematoporphyrin derivative) y luz roja (630 nm) eliminaba por completo el crecimiento de tumores mamarios en ratones. A estos sucesos les siguieron los primeros éxitos en tumores en la vejiga, la piel y los pulmones.

Todas estas respuestas mostraban resultados prometedores al aplicar la PDT en pacientes a etapas tempranas de cánceres inoperables debido a muchas complicaciones (tumores dentro de los ojos, en el cerebro, cabeza y cuello etc.). De cualquier modo, el éxito de la terapia dependía de la potencia de los fotosensibilizadores desarrollados [5]. La terapia también depende estrictamente de la fuente de luz, y ésta depende a su vez de la locación del tumor. Las fuentes de luz usadas son láseres, lámparas y diodos (LED) [4].

Una ventaja de la PDT es que el fotosensibilizador puede ser administrado de diferentes maneras, tal como vía oral, inyecciones intravenosas o aplicación directa en el tejido. De 24 a 72 horas después, éste abandona las células sanas, no obstante, permanece en las células anómalas. Seguido de esto la absorción de la radiación por el compuesto es transformado desde su estado base (de larga duración) a uno excitado (de corta duración). Una vez activo, existen dos reacciones las cuales culminan principalmente en la producción de singletes de oxígeno que producen *citotoxicidad* (vuelven tóxico el ambiente). Solamente el área próxima es afectada por la PDT. El promedio de vida de los singletes de oxígeno en los sistemas biológicos es menor a $0,04\mu s$.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.3. TERAPIA FOTODINÁMICA

La citotoxicidad depende de múltiples factores; el tipo de fotosensibilizador, la localización extracelular e intracelular, la cantidad administrada, la luz a la que se expone el tejido, la disponibilidad de oxígeno y el tiempo entre la administración del compuesto y la exposición a la luz. [5].

La ruta para la inducción a apoptosis es activada en respuesta a dos respuestas internas; daño en el ADN y señales extracelulares. Esta requiere que la *MOMP* (Mithochondrial Outer Membrane Permeabilization) conduzca la liberación de cascadas de señalización de factores proapoptóticos como de ciertas *caspasas* (proteínas proapoptóticas) como la proteína p53 el citocromo c. Una vez liberado en el citosol, el citocromo c señala la muerte celular.

Una vez activado el fotosensibilizador se produce la activación de **p53** en el citosol y permite el acarreo de Ca^{2+} hacia el retículo endoplásmico y después a la mitocondria, que la llevará posteriormente a una saturación y a la liberación de *citocromo C*, elemento para comenzar la vía de muerte celular inducida.

Algunas proteínas como la **p53** tienen tal mutación que están inactivas para suprimir los tumores, la cual forma parte de ciertos factores reguladores importantes de Ca^{2+} . Si la proteína **p53** se encuentra en estado mutado, el flujo de Ca^{2+} desde el citosol al retículo endoplásmico es más bajo de lo normal. Esta es la razón por la cual no se puede inducir la muerte celular, pues la mitocondria no llega a la saturación. Sin embargo, al no tener mutaciones en la proteína, entonces el intercambio de calcio aumenta y la liberación del citocromo c comienza para finalizar en la apoptosis de la célula [6].

1.4. Homeostasis de la proteína p53 en el cáncer

La homeostasis, como se define actualmente, es un proceso de autorregulación en el cual los sistemas biológicos mantienen cierta estabilidad mientras se ajustan a condiciones externas que van cambiando. El concepto más allá explica cómo el organismo puede mantener más o menos las condiciones internas constantes para adaptarse a condiciones hostiles y poder sobrevivir [7].

La proteína **p53** parece ser indispensable para el desarrollo normal y sano de las células. Tiene un papel muy importante regulando en particular la reacción celular ante el estrés y las alteraciones inducidas por diferentes causas. Es un factor de transcripción de diferentes genes involucrados en la inducción a la apoptosis (muerte celular). La función de **p53** es a menudo alterada en los organismos con cáncer. Se ha sugerido que **p53** puede estar envuelta en la prevención del desarrollo de tumores. De hecho, la pérdida de la actividad de esta proteína interrumpe la apoptosis y acelera la aparición de tumores como se ha visto en ratones [8].

La proteína **p53** se encuentra normalmente en una baja concentración, ésta crece si existe cierto daño en el ADN de la célula permite que las células reparen su ADN dañado y una vez reparado se reestablece su ciclo típico en baja concentración. No obstante, si el material genético está excesivamente dañado, entonces p53 activa sus mecanismos que inducen a apoptosis evitando que el error genético se propague con la reproducción celular. Por esta razón la activación de la proteína forma parte de los factores imprescindibles de los mecanismos que suprimen el nacimiento de tumores. Muchas células cancerosas están condicionadas por la mutación del gen productor de la proteína **p53**, aproximadamente el 50 % de cánceres tienen este mismo problema. Son incapaces de realizar de forma eficaz su función en las células y por ello la ausencia de estos mecanismos favorecen al crecimiento tumoral [9].

Sin embargo, la proteína **p53** también participa en la inducción a apoptosis actuando directamente en la mitocondria. Existe cierta acumulación de **p53** en el retículo y la mitocondria después de tratamientos anticancerígenos que producen la muerte celular [10]. Se ha demostrado que la proteína **p53** en el citoplasma se localiza en el retículo endoplásmico y en su contacto con la membrana mitocondrial. Bajo ciertos estímulos de estrés la proteína **p53** se acumula en esos sitios y modula la homeostasis del Ca^{2+} . La **p53** se une directamente a la bomba de calcio (SERCA) en el retículo endoplásmico incrementando la concentración de Ca^{2+} seguido de una transferencia significativa de éste a la mitocondria. Por consiguiente, la saturación de Ca^{2+} en la mitocondria causa alteraciones en la morfología del organelo y finalmente la apoptosis de la célula [11].

Gracias a esto podemos comprender que una saturación en la concentración de calcio en células cancerosas puede inducir a la célula a su muerte suprimiendo al tejido maligno.

1.5. Homeostasis de Ca^{2+}

Hasta hace no mucho tiempo, el concepto del transporte regulado de Ca^{2+} a través de las membranas era rechazado. Sin embargo, experimentos en mitocondrias y retículos endoplasmáticos aislados mostraron que el Ca^{2+} puede ser transportado realmente entre las membranas de estos organelos [13].

La señalización por Ca^{2+} se convirtió en un área ampliamente estudiada, lo cual lo estableció como una clave en el control de la función celular.

Si el calcio regula por medio de señales diferentes procesos esenciales para la célula, su concentración intracelular debe ser regulada de cierta manera. Esta concentración de Ca^{2+} en el citosol se mantiene normalmente entre los 100 y 200 nM gracias a numerosas proteínas que son capaces de unirse al Ca^{2+} y transportarlo fuera del citosol reduciendo su concentración en el ambiente. Las proteínas que regulan la concentración intracelular residen en el citosol, en organelos o son pertenecientes a ciertas membranas. Estas proteínas pueden crear y moldear las señales de Ca^{2+} por medio de canales y bombas o intercambiadores. En la membrana plasmática los canales son modulados por las diferencias de potencial o por medio de distintos mecanismos que aún no son muy bien conocidos.

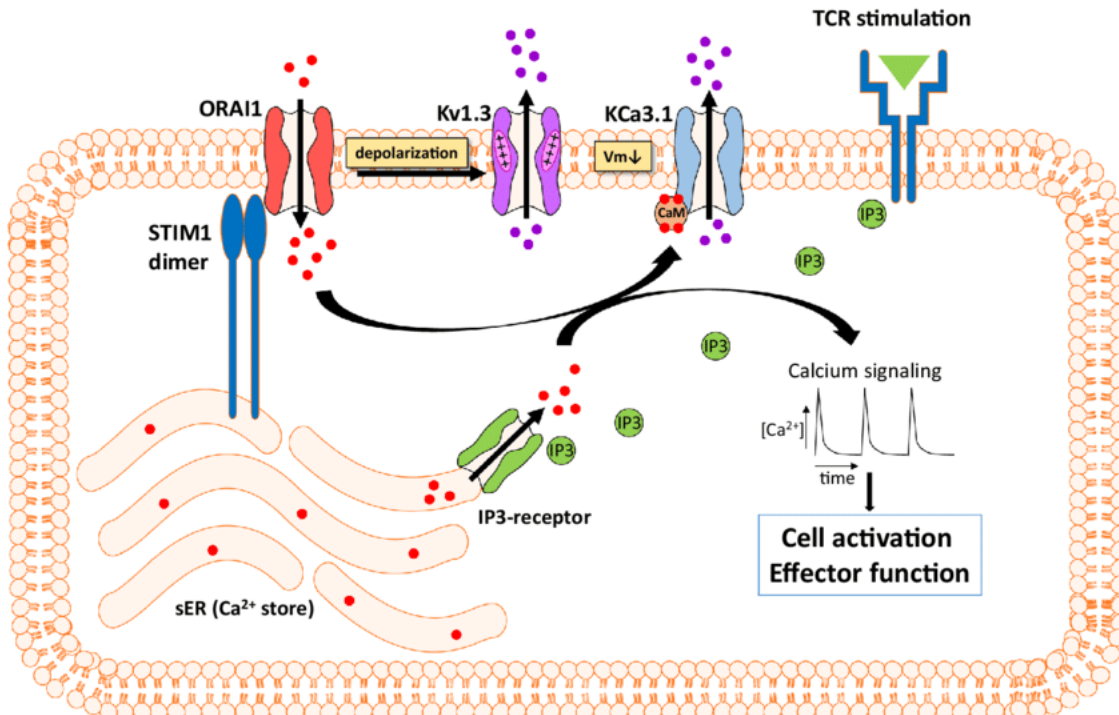


Figura 1.1: Esquema general de algunas bombas y canales en la homeostasis de Ca^{2+} [12].

El calcio entra de maneras distintas a la célula; mediante voltaje, ligandos, otras bombas y puertas. El almacenamiento de Ca^{2+} intracelular es regulado por medio de la unión de sensores de Ca^{2+} y su transporte dentro de ciertos organelos. El Ca^{2+} entra al retículo endoplásmico a través de la ATPasa de Ca^{2+} de éste el cuál es conocido como bomba SERCA, y es liberado a través de canales modulados por el mismo Ca^{2+} mediante un proceso llamado Liberación de

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

1.5. HOMEOSTASIS DE Ca^{2+}

Calcio Inducida por más Calcio (CICR por sus siglas Calcium Induced Calcium Release). Para esto se requieren sustancias como el InsP3 o proteínas como la p53, la cual como se mencionó antes, puede hallarse en un estado mutado como consecuencia del cáncer.

Una descripción de los transportadores y sensores de Ca^{2+} en la membrana no estaría completa sin la discusión de la dinámica espacial y temporal de las señales de Ca^{2+} . Ésta puede viajar de forma ondulatoria con picos repetitivos a diferente frecuencia y amplitud. La propagación de la señal se explica normalmente por medio de la difusión de calcio desde el sitio en el que se tiene la liberación inicial de calcio hacia las zonas vecinas, ya que el calcio induce a su misma liberación.

Por lo tanto, una característica fundamental de la señalización de Ca^{2+} es que ésta controla su propia muerte a través de los incrementos en su concentración de forma sostenida. Este tipo de muerte por apoptosis (autoinducida) forma parte de los procesos para decodificar la remodelación y regeneración de los órganos [13]. Esta señalización forma parte de los distintos mecanismos que son activados mediante diversas caspasas como la p53.

Aquí comprendemos entonces que la aplicación de la Terapia Fotodinámica al crear formas activas de oxígeno (ROS) se desencadenan reacciones en el aumento de sustancias (InsP3, p53 entre otras caspasas) que a su vez incrementan las concentraciones de Ca^{2+} en la célula. Estas señales crean ondas en la concentración que se propagan en el tejido produciendo la muerte solamente en las células cancerosas, ya que el componente fotosensibilizador solo se queda más tiempo en las células dañadas.

Capítulo 2

Modelos matemáticos para simular la dinámica de Ca intracelular

La dinámica de Ca^{2+} es en muchas formas complejo y se han realizado distintos modelos para estudiar su comportamiento. Las oscilaciones en la concentración de calcio se dan gracias a muchos procesos y mecanismos diferentes dentro de la célula [14]. Uno de ellos es el mecanismo CICR del cual se habló en el capítulo anterior. En éste el calcio citosólico activa su propia liberación de algunos organelos una vez iniciado el incremento en su concentración inicial.

Como se vio anteriormente, se ha registrado la propagación de esta señal inicial hacia el demás tejido de forma oscilatoria [15]. Mediante la liberación de calcio desde el retículo endoplásmico hacia los receptores de rianodina en el citosol (que se distinguen por relacionar los canales de calcio sensibles al InsP3 en el retículo endoplásmico) se convierten diferentes estímulos extracelulares en la señalización de la liberación de más calcio en el medio intracelular [16].

Se relaciona entonces el efecto de la Terapia Fotodinámica en la producción de *ROS* (reactive oxygen species) que ocasionan la proliferación de caspasas con el mecanismo CICR para generar que las oscilaciones de calcio se propaguen causando la apoptosis de las células cancerosas. Las señales de Ca^{2+} producidas por la PDT son transmitidas a las zonas vecinas circundantes al tejido tratado por la terapia. Este fenómeno es llamado el efecto observador.

Así como muchas otras terapias la Terapia Fotodinámica también tiene ciertas desventajas, siendo una de ellas la inaccesibilidad de irradiar algunos tumores que se encuentran dentro del cuerpo. Otra de ellas se relaciona con la difusión que existe en la concentración de calcio a las células vecinas por medio de los llamados *gap junctions* que se explicarán más adelante.

CAPÍTULO 2. MODELOS MATEMÁTICOS PARA SIMULAR LA DINÁMICA DE CA INTRACELULAR

2.1. MODELO MÍNIMO PARA LAS SEÑALES INDUCIDAS DE OSCILACIONES DE Ca^{2+}

2.1. Modelo mínimo para las señales inducidas de oscilaciones de Ca^{2+}

En muchas células, las señales hormonales o neurotransmisores producen un tren de picos en las concentraciones de Ca^{2+} intracelular. El análisis en el modelo mínimo basado en CICR donde el Ca^{2+} es liberado desde los compartimentos intracelulares muestra cómo las prolongadas oscilaciones en el Ca^{2+} citosólico pueden estar dadas como el resultado del aumento en el InsP3¹ causado por una estimulación externa (la PDT). Este aumento genera la liberación de una cierta cantidad de Ca^{2+} desde la reserva sensible al InsP3. A su vez el incremento en la concentración en el citosol produce la liberación de cierta cantidad de más Ca^{2+} desde una segunda reserva insensible al InsP3 (retículo endoplásmico).

Este modelo predice los picos de calcio en ausencia de las oscilaciones en la concentración de InsP3. Así se dan entonces las oscilaciones codificadas en la concentración de calcio en la célula para la señalización de apoptosis.

Este fenómeno oscilatorio se caracteriza por tener periodos entre tiempos menores a un segundo hasta 30 minutos dependiendo el tipo de célula.

Se asume que la señal externa producida por la terapia activa la síntesis de InsP3 que tiene un efecto meramente en la descarga de Ca^{2+} desde un compartimento intracelular y por ello aumenta la concentración en el citosol.

Para determinar cómo es que las oscilaciones pueden ocurrir solamente por el ciclo de Ca^{2+} entre el citosol y el comportamiento insensible al InsP3, se hace la suposición de que tan pronto como el estímulo se presenta, su efecto produce un flujo neto constante de Calcio desde el compartimento sensible al InsP3.

El compartimento sensible al InsP3 se considera constante como resultado de una rápida reposición por el flujo extracelular de Ca^{2+} controlado por el mecanismo autorregulado por la cantidad de Ca^{2+} (CICR) contenida en el compartimento sensible al InsP3.

La magnitud del flujo de calcio ($\nu_1\beta$) desde el compartimento sensible al InsP3 es tomado como proporcional a la función de saturación β del receptor de InsP3. El nivel de InsP3 establecido tras el estímulo incrementa con la magnitud de la señal externa (la PDT).

Las dos variables en este modelo es la concentración del Ca^{2+} libre en el citosol y en el compartimento insensible al InsP3 (El Retículo Endoplásmico o Sarcoplásmico).

Estas variables se denotarán con \mathbf{Z} y \mathbf{Y} respectivamente.

Tenemos el sistema de ecuaciones diferenciales;

$$\begin{cases} \frac{dZ}{dt} = \nu_0 + \nu_1\beta - \nu_2 + \nu_3 + k_f Y - kZ \\ \frac{dY}{dt} = \nu_2 - \nu_3 - k_f Y \end{cases} \quad (2.1)$$

El sistema de ecuaciones está basado en el intercambio de Ca^{2+} entre el exterior de la célula y sus compartimentos intracelulares [17].

¹Inositol trisphosphate (InsP3) o bien Inositol Trifosfato, su efecto en el entorno celular es la movilización del Ca^{2+} , almacenado en organelos como el retículo endoplásmico

CAPÍTULO 2. MODELOS MATEMÁTICOS PARA SIMULAR LA DINÁMICA DE CA INTRACELULAR
2.1. MODELO MÍNIMO PARA LAS SEÑALES INDUCIDAS DE OSCILACIONES DE Ca^{2+}

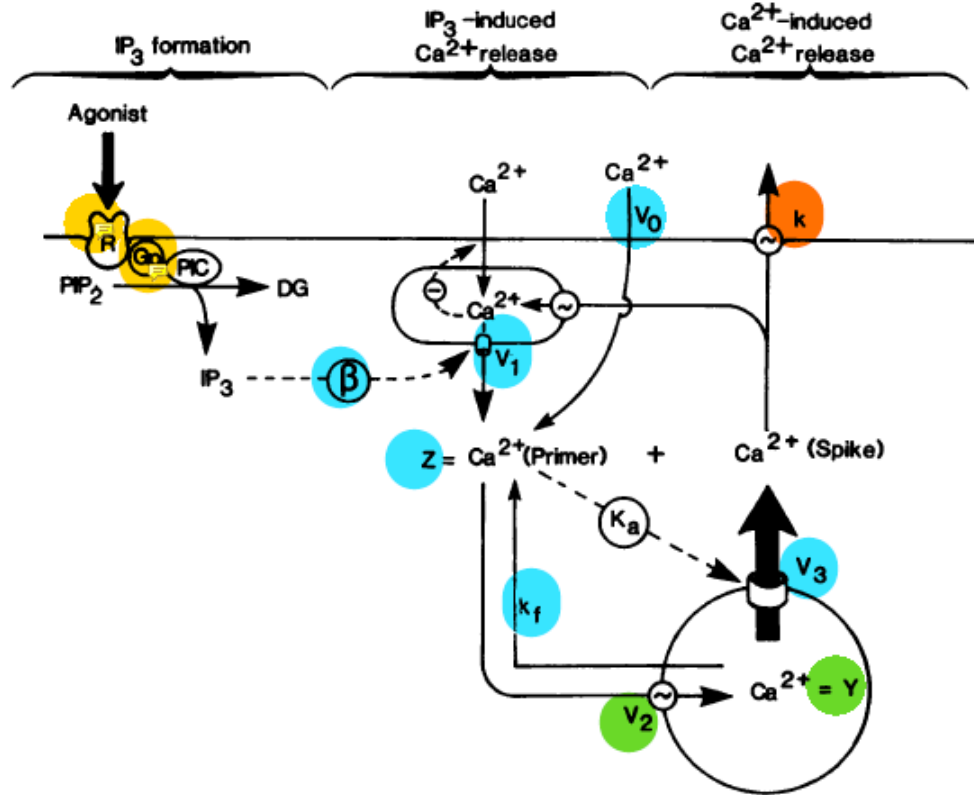


Figura 2.1: Flujo hacia Z, Y y fuera de la célula

Cuando la célula recibe una señal externa (PDT), esto produce un incremento en el InsP₃, el cual lo lleva a un aumento en la función de saturación β y, subsecuentemente, a un incremento del Ca^{2+} citosólico.

La molécula de InsP₃ modula el Ca^{2+} liberado del compartimento sensible hacia el citosol a una tasa $\beta\nu_1$.

El calcio es transferido a una tasa ν_2 hacia el retículo endoplásmico y después el Ca^{2+} almacenado en ese compartimento (Y) es liberado hacia el citosol a una tasa ν_3 en un proceso activado por el calcio citosólico.

Los parámetros ν_0 , k y k_f se relacionan con el flujo de Ca^{2+} extracelular hacia el citosol, la liberación de Ca^{2+} citosólico desde la células hacia afuera, y del compartimento de Y hacia el citosol respectivamente.

En estas ecuaciones, todas las concentraciones y las tasas son definidas con respecto al volumen total de la célula.

Esta condición corresponde a una activación por Ca^{2+} citosólico en el transporte de Ca^{2+} desde el almacenamiento intracelular al citosol.

Este modelo predice que al final en ausencia de retrasos en el tiempo de reacción, tales procesos no satisfacen una respuesta oscilatoria prolongada.

CAPÍTULO 2. MODELOS MATEMÁTICOS PARA SIMULAR LA DINÁMICA DE CA INTRACELULAR

2.1. MODELO MÍNIMO PARA LAS SEÑALES INDUCIDAS DE OSCILACIONES DE Ca^{2+}

Las tasas ν_2 y ν_3 tienen la forma;

$$\nu_2 = V_{M2} \frac{Z^n}{K_2^n + Z^n}, \quad \nu_3 = V_{M3} \frac{Y^m}{K_R^m + Y^m} \cdot \frac{Z^p}{K_A^p + Z^p} \quad (2.2)$$

En estas expresiones, V_{M2} y V_{M3} denotan respectivamente tasas máximas de Ca^{2+} de bombeo hacia dentro y la liberación desde el compartimento intracelular. Estos procesos son descritos por medio de funciones de Hill donde los coeficientes n, m y p denotan el grado de cooperatividad en la activación del proceso; K_2 , K_R y K_A son los límites constantes para el bombeo, la liberación y la activación.

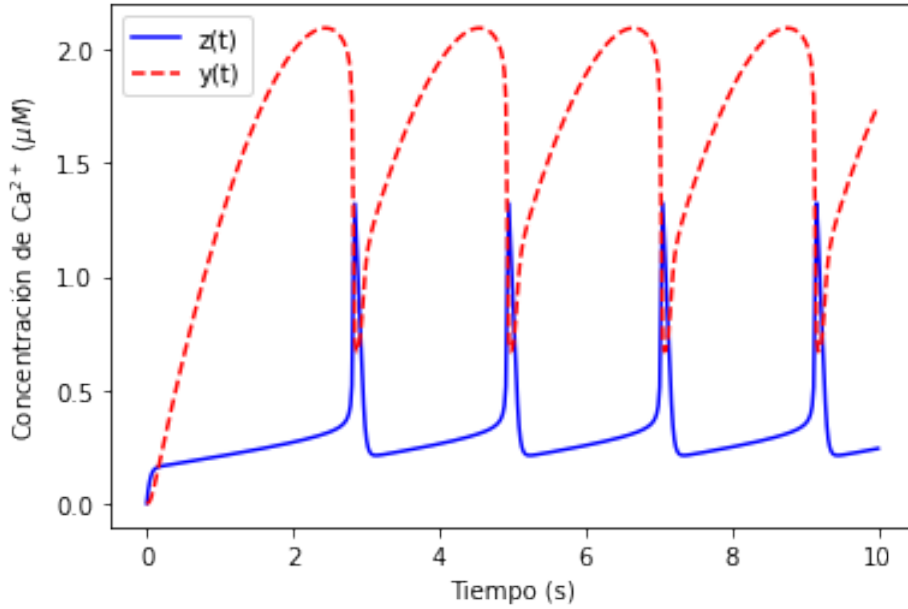


Figura 2.2: Dinámica de Calcio para las concentraciones Z y Y

En la gráfica de la dinámica de Ca^{2+} que se muestra en la figura (2.2) se pueden apreciar las oscilaciones en la concentración en el citosol (Z) con un incremento en la saturación $\beta = 0,3$ desencadenado por estimulación externa. De igual forma podemos ver las oscilaciones en la concentración del compartimento insensible (Y).

Los parámetros[17] usados fueron;

- | | |
|----------------------------|------------------------|
| ■ $\nu_0 = 1\mu Ms^{-1}$ | ■ $k = 10s^{-1}$ |
| ■ $\nu_1 = 7,3\mu Ms^{-1}$ | ■ $k_f = 1s^{-1}$ |
| ■ $\beta = 0,3$ | ■ $m=2$ |
| ■ $K_R = 2\mu M$ | ■ $n=2$ |
| ■ $K_A = 0,9\mu M$ | ■ $p=4$ |
| ■ $K_2 = 1\mu M$ | ■ $VM2=65\mu Ms^{-1}$ |
| | ■ $VM3=500\mu Ms^{-1}$ |

**CAPÍTULO 2. MODELOS MATEMÁTICOS PARA SIMULAR LA DINÁMICA
DE CA INTRACELULAR**
2.1. MODELO MÍNIMO PARA LAS SEÑALES INDUCIDAS DE OSCILACIONES DE Ca^{2+}

2.1.1. Bombas e Intercambiadores de Calcio

ATPasas²

Existen muchos otros modelos para entender la dinámica de las concentraciones de calcio de un compartimento celular a otro.

Se ha mostrado que a través de la ATPasa (SERCA) que bombea el calcio hacia el Retículo Endoplásmico, se aproxima a una función sigmoide de c , con coeficiente de Hill cerca de 2. Un modelo común;

$$J_{serca} = \frac{V_p c^2}{K_p^2 + c^2} \quad (2.3)$$

Este flujo no depende de la concentración de Ca^{2+} en el Retículo Endoplasmático y siempre tiene el mismo sentido. Es sabido también que, con una concentración suficientemente alta es posible que la bomba se invierta en su dirección, generando ATP en el proceso.

Los primeros modelos de la bomba de Ca^{2+} ATPasa (bombas SERCA) siendo enzimas que acoplan la hidrólisis de una molécula de ATP para realizar el transporte activo de dos iones de Ca^{2+} hacia el interior del Retículo Endoplásmico, se hicieron por medio de una ecuación de Hill. Sin embargo, al no tomar en cuenta ciertas características tiene muchas fallas.

No obstante, se tienen otros modelos con mejores aproximaciones como el de MacLennan. La bomba puede encontrarse en alguna de sus dos básicas conformaciones: E_1 , y E_2 .

En la conformación E_1 la bomba toma dos iones de Ca^{2+} desde el citoplasma pues está en una etapa en la cual es altamente afin a causa de la diferencia de concentración (mayor en el exterior del Retículo Endoplasmático), llevándolo del lugar con mayor concentración a menor concentración, es decir, entra y después nuestra proteína es fosforilada³. Por lo tanto, ahora su dirección de permeabilidad cambia de dirección, es decir logra cambiar al estado E_2 . En este ahora su afinidad al Ca^{2+} disminuye, liberando los iones en el interior del lumen del Retículo Endoplasmático. Una vez liberados la bomba es desfosforilada y completa su ciclo cambiando al estado inicial E_1 y para cada ion de Ca^{2+} transportado desde el citoplasma al Retículo Endoplasmático, se trasporta un protón en dirección contraria.

En este modelo se obtiene la ecuación:

$$J_{serca} = \frac{c^2 - K_1 K_2 K_3 K_4 K_5 K_6 c_e^2}{\alpha_1 c^2 + \alpha_2 c_e^2 + \alpha_3 c^2 c_e^2 + \alpha_4}; \quad K_i = \frac{k_{-i}}{k_i}$$

Donde los coeficientes α son funciones de las tasas y los coeficientes k_i son las tasas a las que las bombas pueden entrar o salir de cada uno de sus posibles estados. (E_1 , E_1 'cargado' con los iones de Ca^{+2} , E_1 fosforilado, E_2 , E_2 con los iones liberados, E_2 desfosforilado) como se muestra en la Figura 2.3

²Las ATPasas son una clase de enzimas que catalizan la descomposición de ATP en ADP y un ion de fosfato libre. Libera energía, que se utiliza para llevar a cabo otra reacción química acoplada a la reacción descrita. Las ATPasas transmembranas importan muchos de los metabolitos necesarios para el metabolismo celular y exportan toxinas, desechos y solutos que pueden entorpecer el proceso celular.

³El proceso de fosforilación consiste en la absorción o toma de ATP hidrolizándolo liberando ADP, es decir, la proteína ATPasa es fosforilada

**CAPÍTULO 2. MODELOS MATEMÁTICOS PARA SIMULAR LA DINÁMICA
DE CA INTRACELULAR**

2.1. MODELO MÍNIMO PARA LAS SEÑALES INDUCIDAS DE OSCILACIONES DE Ca^{2+}

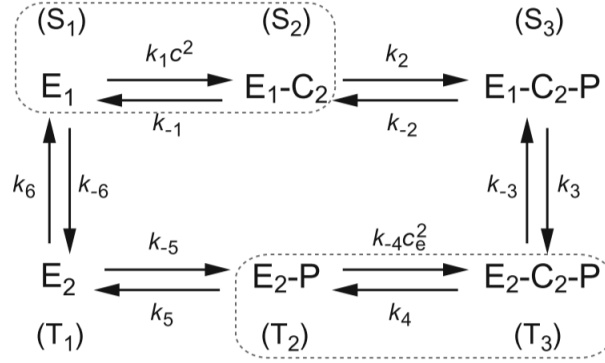


Figura 2.3: Diagrama del modelo SERCA de MacLennan (1997) [14]

MacLennan asumió entonces que la obtención y liberación de Ca^{2+} ocurre en un tiempo muy corto y se obtiene un modelo más simple. Usando esa asunción acerca de un rápido equilibrio se agrupa el estado S_1 y S_2 de forma que tomando sus respectivas ecuaciones diferenciales:

$$\frac{ds_1}{dt} = -k_1 s_1 c^2 + k_{-1} s_2 \longrightarrow 0 = -k_1 s_1 c^2 + k_{-1} s_2 \quad (2.4)$$

$$s_1 = \frac{K_1}{c^2} s_2,$$

Siendo s_1 la fracción de bombas en ese estado (S_1). Y tras un cambio de variable en la relación definiendo $\bar{s}_1 = s_1 + s_2$. Poniendo a s_2 en términos de nuestro nuevo estado \bar{s}_1 y multiplicando por la tasa k_2 ;

$$k_2 s_2 = \frac{c^2 k_2 \bar{s}_1}{c^2 + K_1} = \phi_2(c) \bar{s}_1 \quad (2.5)$$

Es decir, a través de ese nuevo estado \bar{S}_1 , podemos escribir la tasa que va de éste al estado S_3 con una nueva función $\phi_2(c)$, así simplificando el problema obtenemos el diagrama de la Figura 2.4 realizando lo mismo para un nuevo estado \bar{T}_2 .

Ahora tenemos tasas dependientes de las concentraciones en el citoplasma y en el ER.

Y entonces el flujo en el estado estacionario es calculado por medio de nuestro sistema de ecuaciones, llegamos a una expresión muy similar a la de antes.

$$J_{serca} = \frac{c^2 - K_1 K_2 K_3 K_4 K_5 K_6 c_e^2}{\beta_1 c^2 + \beta_2 c_e^2 + \beta_3 c^2 c_e^2 + \beta_4},$$

Pero ahora las constantes β_i son los valores límites de las constantes α_i que aparecían en nuestra ecuación anterior.

Y se agrega que nuestro modelo para la SERCA ATPasa es bastante aplicable al ATPasa en la membrana de la célula.

**CAPÍTULO 2. MODELOS MATEMÁTICOS PARA SIMULAR LA DINÁMICA
DE CA INTRACELULAR**
2.1. MODELO MÍNIMO PARA LAS SEÑALES INDUCIDAS DE OSCILACIONES DE Ca^{2+}

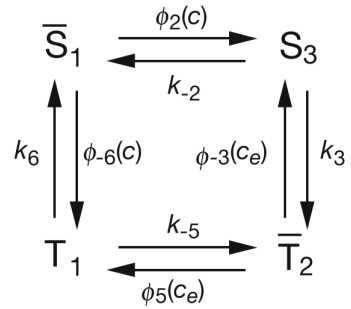


Figura 2.4: Modelo de la transición entre los diferentes estados para la bomba de Calcio mediante la asunción de equilibrio.[14]

Sin embargo, en el modelo mínimo que se usará solamente tomaremos a ν_2 y ν_3 como las ecuaciones de Hill de las Bombas e Intercambiadores de Calcio debido su simplicidad. Aunque es claro que se puede proponer un sistema de ecuaciones usando expresiones mucho más complejas para estas tasas.

2.2. Gap Junctions

Éstas son uniones entre células tales que se comunican por medio de dos *conexones* acoplados, cada uno de ellos perteneciente a una célula vecina. La formación de las GJs permite la transferencia de forma directa de diferentes tipos iones o moléculas entre células adyacentes. Tales como el caso de las células del miocardio las cuales están conectadas por medio de GJs que permiten su polarización de manera simultánea. Es decir, existe una conexión muy estrecha entre ellas.

Aunque las células del sistema inmunitario normalmente están separadas y distribuidas por los tejidos, puede suceder que alcancen a tener contacto directo entre sus membranas durante las respuestas inmunitarias o en situaciones patológicas, como en diferentes tipos de cánceres infiltrados por células que proliferan y que son idénticas. En este caso las células pueden conectarse a través de las GJs [18].

A través de estos "puentes comunicadores" que van de célula a célula sucede la difusión del Ca^{2+} de célula a célula dando origen a la señalización de ondas de calcio es por ello que se plantea el modelo de Reacción-Difusión más adelante.

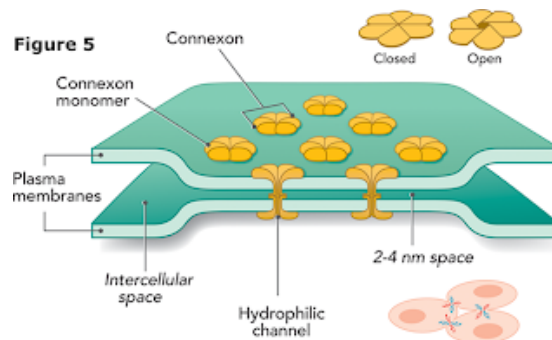


Figura 2.5: Uniones Comunicantes (Gap Junctions)

Capítulo 3

Modelo de Reacción-Difusión

Para poder proponer un modelo tomando en cuenta difusión en el sistema deberemos comprender primero lo que es un sistema dinámico lineal en el tiempo.

3.1. Comportamiento de un Sistema Dinámico Lineal continuo en el tiempo

Imaginando que tenemos un sistema de ecuaciones diferenciales;

$$\begin{aligned}\frac{dx_1(t)}{dt} &= a_{11}x_1(t) + a_{12}x_2(t) + a_{13}x_3(t) + a_{14}x_4(t) + \dots + a_{1n}x_n(t) \\ \frac{dx_2(t)}{dt} &= a_{21}x_1(t) + a_{22}x_2(t) + a_{23}x_3(t) + a_{24}x_4(t) + \dots + a_{2n}x_n(t) \\ &\vdots \\ \frac{dx_n(t)}{dt} &= a_{n1}x_1(t) + a_{n2}x_2(t) + a_{n3}x_3(t) + a_{n4}x_4(t) + \dots + a_{nn}x_n(t)\end{aligned}\tag{3.1}$$

Podríamos escribirlo en una ecuación vectorial del tipo;

$$\frac{d\mathbf{x}(t)}{dt} = \mathbf{A}\mathbf{x}(t)\tag{3.2}$$

dónde; $\mathbf{x}(t) = (x_1(t), x_2(t), \dots, x_n(t))$ y $\mathbf{A} = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & \dots & a_{1n} \\ a_{21} & a_{22} & \dots & a_{2n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \dots & a_{nn} \end{pmatrix}$

CAPÍTULO 3. MODELO DE REACCIÓN-DIFUSIÓN

3.1. COMPORTAMIENTO DE UN SISTEMA DINÁMICO LINEAL CONTINUO EN EL TIEMPO

\mathbf{A} es una matriz que incluye todos los coeficientes del sistema y $\mathbf{x}(t)$ es un vector que guarda todas las funciones que describe al sistema. Se propone la solución del sistema como una función;

$$\mathbf{x}(t) = e^{\lambda t} \mathbf{v} \quad (3.3)$$

Aquí al sustituir (3.3) en (3.2):

$$\frac{d\mathbf{x}(t)}{dt} = \mathbf{A}e^{\lambda t} \mathbf{v} \quad (3.4)$$

Se iguala a la derivada respecto al tiempo de la ecuación. Nos resulta entonces una ecuación la cual relaciona los eigenvalores de la matriz con los eigenvectores del sistema. (3.3)

$$\mathbf{A}e^{\lambda t} \mathbf{v} = \lambda e^{\lambda t} \mathbf{v} \implies \mathbf{A} \mathbf{v} = \lambda \mathbf{v} \quad (3.5)$$

Obtenemos finalmente una ecuación del tipo;

$$(\mathbf{A} - \lambda \mathbf{I}) \mathbf{v} = 0 \quad (3.6)$$

Esto solo se cumple si el determinante de la matriz que multiplica al vector es 0.

$$|\mathbf{A} - \lambda \mathbf{I}| = 0 \quad (3.7)$$

Y podemos usar éstas expresiones para estudiar el comportamiento de la función (3.3) siempre y cuando la matriz \mathbf{A} sea diagonalizable.

Por lo tanto, para un sistema dinámico lineal bidimensional continuo en el tiempo;

$$\frac{d\mathbf{x}}{dt} = \begin{pmatrix} a & b \\ c & d \end{pmatrix} \mathbf{x} = \mathbf{A} \mathbf{x}$$

Los eigenvalores de la matriz pueden ser obtenidos usando la ecuación (3.6);

$$\det \begin{pmatrix} a - \lambda & b \\ c & d - \lambda \end{pmatrix} = 0 \quad (3.8)$$

$$\implies (a - \lambda)(d - \lambda) - bc = \lambda^2 - \lambda \text{Tr}(\mathbf{A}) + \det(\mathbf{A}) = 0 \quad (3.9)$$

Por lo tanto, existen dos valores posibles para el eigenvalor.

CAPÍTULO 3. MODELO DE REACCIÓN-DIFUSIÓN

3.1. COMPORTAMIENTO DE UN SISTEMA DINÁMICO LINEAL CONTINUO EN EL TIEMPO

$$\lambda = \frac{\text{Tr}(\mathbf{A}) \pm \sqrt{\text{Tr}(\mathbf{A})^2 - 4 \det(\mathbf{A})}}{2} \quad (3.10)$$

Una vez hallados se han de encontrar los eigenvectores del sistema ($\lambda_i \in \{\lambda_1, \lambda_2\}$) usando la ecuación (3.6)

$$\begin{pmatrix} a - \lambda_i & b \\ c & d - \lambda_i \end{pmatrix} \begin{pmatrix} v_1 \\ v_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \end{pmatrix} \quad (3.11)$$

Se obtiene un sistema de ecuaciones para hallar las componentes de los eigenvectores para cada eigenvalor distinto.

$$\begin{cases} (a - \lambda_i)v_1 + bv_2 = 0 \\ cv_1 + (d - \lambda_i)v_2 = 0 \end{cases} \quad (3.12)$$

Se encuentran por lo tanto 2 eigenvectores \mathbf{v}_1 y \mathbf{v}_2 para sus eigenvalores correspondientes. La solución general para el sistema entonces es;

$$\mathbf{x}(t) = C_1 e^{\lambda_1 t} \mathbf{v}_1 + C_2 e^{\lambda_2 t} \mathbf{v}_2 \quad (3.13)$$

En la cual el valor de las constantes depende de la condición inicial del sistema y el valor de los eigenvalores son importantes para entender su estabilidad.

Los eigenvalores en principio son números complejos y para un modelo continuo en el tiempo, la estabilidad de los puntos estacionarios se determina a través de los siguientes criterios.

- $\text{Re}(\lambda_i) > 0$: El sistema es inestable, diverge al infinito.
- $\text{Re}(\lambda_i) \leq 0$: El sistema es estable.
- $\text{Re}(\lambda_i) < 0$: El sistema es asintóticamente estable (Para cualquier condición inicial del sistema si $t \rightarrow \infty$, entonces $x(t)$ converge en el origen) [19].

La parte real del eigenvalor debe ser

$$\text{Re}(\lambda) = \begin{cases} \frac{\text{Tr}(\mathbf{A})}{2} & \text{si } \text{Tr}(\mathbf{A})^2 < 4 \det(\mathbf{A}) \\ \frac{\text{Tr}(\mathbf{A}) \pm \sqrt{\text{Tr}(\mathbf{A})^2 - 4 \det(\mathbf{A})}}{2} & \text{si } \text{Tr}(\mathbf{A})^2 \geq 4 \det(\mathbf{A}) \end{cases} \quad (3.14)$$

CAPÍTULO 3. MODELO DE REACCIÓN-DIFUSIÓN

3.1. COMPORTAMIENTO DE UN SISTEMA DINÁMICO LINEAL CONTINUO EN EL TIEMPO

Por ello la *Condición de Estabilidad* (que sea un punto estable) es simplemente;

El punto es *estable*:

- Sí $\text{Tr}(\mathbf{A}) < 4 \det(\mathbf{A})$

Entonces debe suceder qué;

$$\text{Tr}(\mathbf{A}) < 0 \tag{3.15}$$

- O sí $\text{Tr}(\mathbf{A})^2 \geq 4 \det(\mathbf{A})$

Entonces debe suceder qué;

$$\sqrt{\text{Tr}(\mathbf{A})^2 - 4 \det(\mathbf{A})} < -\text{Tr}(\mathbf{A})$$

y como el término de la derecha no puede ser negativo ya que pertenece parte real, entonces $\text{Tr}(\mathbf{A})$ debe ser negativa. Por lo cual elevando al cuadrado ambos lados

$$\text{Tr}(\mathbf{A})^2 - 4 \det(\mathbf{A}) < \text{Tr}(\mathbf{A})^2$$

$$\therefore \det(\mathbf{A}) > 0 \tag{3.16}$$

En ambos casos la traza de la matriz \mathbf{A} debe ser negativa, entonces la *Condición de Estabilidad* es

$$\text{Tr}(\mathbf{A}) < 0 \quad \text{y} \quad \det(\mathbf{A}) > 0 \tag{3.17}$$

3.2. Sistemas de Reacción-Difusión

Hay sistemas en los cuales existen ciertas *reacciones* químicas o algunos procesos tales que dan origen a la composición y descomposición de moléculas. Estos procesos dan origen al cambio en la concentración de las sustancias.

No obstante, sucede que también existe *difusión*, es decir, el fenómeno que describe el movimiento de las partículas o bien, moléculas a través de un medio. Nuestra concentración es por lo tanto dependiente también del punto en el espacio.

Para describir un sistema el cual varíe respecto al tiempo y a la posición es necesario un modelo tal que tome en cuenta tanto las reacciones como la difusión.

Es decir;

$$\begin{aligned}\frac{\partial f_1(x, y, z, t)}{\partial t} &= R_1(f_1, \dots, f_n) + D_1 \nabla^2 f_1 \\ \frac{\partial f_2(x, y, z, t)}{\partial t} &= R_2(f_1, \dots, f_n) + D_2 \nabla^2 f_2 \\ &\vdots \\ \frac{\partial f_n(x, y, z, t)}{\partial t} &= R_n(f_1, \dots, f_n) + D_n \nabla^2 f_n\end{aligned}\tag{3.18}$$

Dónde las funciones $f_i(x, y, z, t)$ son las concentraciones de las distintas moléculas que se encuentren interaccionando. Dependen de la posición y del tiempo. Las constantes D_i son los coeficientes de difusión y las funciones $R_i(f_1, \dots, f_n)$ dependen de las concentraciones.

3.2.1. Análisis de los puntos estacionarios para un sistema de Reacción-Difusión

Considerando el sistema (3.18), sabemos que el sistema evaluado en un estado de equilibrio espacial y temporal (f_{is}) cumple con;

$$\begin{aligned} 0 &= R_1(f_{1s}, \dots, f_{ns}) \\ 0 &= R_2(f_{1s}, \dots, f_{ns}) \\ &\vdots \\ 0 &= R_n(f_{1s}, \dots, f_{ns}) \end{aligned} \tag{3.19}$$

Donde el subíndice "is" nos indica que se trata de la variable i-ésima en el estacionario. Este sistema nos conduce a un análisis de estabilidad lineal. Se realiza entonces la sustitución de las variables siguientes en el sistema 3.18;

$$f_i(x, t) \implies f_{is} + \Delta f_i(x, t) = f_{is} + \sin(\omega x + \phi) \Delta f_i(t); \quad \forall i \tag{3.20}$$

Siendo que se ha propuesto una solución ondulatoria debido a que las funciones *sen* forman una base.

Sustituyendo en el sistema (2.1), hace que el sistema tome la forma;

$$\begin{aligned} S \frac{\partial \Delta f_1}{\partial t} &= R_1(f_{1s} + S \Delta f_1, \dots, f_{ns} + S \Delta f_n) - D_1 \omega^2 S \Delta f_1 \\ S \frac{\partial \Delta f_2}{\partial t} &= R_2(f_{2s} + S \Delta f_2, \dots, f_{ns} + S \Delta f_n) - D_2 \omega^2 S \Delta f_2 \\ &\vdots \\ S \frac{\partial \Delta f_n}{\partial t} &= R_n(f_{ns} + S \Delta f_n, \dots, f_{ns} + S \Delta f_n) - D_n \omega^2 S \Delta f_n \end{aligned} \tag{3.21}$$

Dónde $S = \sin(\omega x + \phi)$. Éstas ecuaciones convenientemente se pueden condensar en la ecuación vectorial siguiente;

$$S \frac{\partial \Delta \mathbf{f}}{\partial t} = \mathbf{R}(f_s + S \Delta f_s) - \mathbf{D} \omega^2 S \Delta \mathbf{f} \tag{3.22}$$

Dónde

$$\Delta \mathbf{f} = (\Delta f_1, \Delta f_2, \dots, \Delta f_n) \quad \mathbf{D} = \begin{pmatrix} D_1 & 0 & \dots & 0 \\ 0 & D_2 & \dots & 0 \\ \vdots & & & \\ 0 & 0 & \dots & D_n \end{pmatrix}$$

$$\mathbf{R}(f_s + S \Delta f_s) = (R_1(f_s + S \Delta f_s), \dots, R_n(f_s + S \Delta f_s))$$

CAPÍTULO 3. MODELO DE REACCIÓN-DIFUSIÓN
3.2. SISTEMAS DE REACCIÓN-DIFUSIÓN

Linealizamos los términos de reacción (R) y procedemos a expandir nuestra función vectorial $\mathbf{R}(f_s + S\Delta f_s)$ en serie de Taylor;

$$\mathbf{R}(f_s + S\Delta f_s) \approx \mathbf{R}(f_s) + \left. \begin{pmatrix} \frac{\partial R_1}{\partial f_1} & \frac{\partial R_1}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_1}{\partial f_n} \\ \frac{\partial R_2}{\partial f_1} & \frac{\partial R_2}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_2}{\partial f_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial R_n}{\partial f_1} & \frac{\partial R_n}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_n}{\partial f_n} \end{pmatrix} \right|_{f=f_s} S\Delta \mathbf{f} + \dots \quad (3.23)$$

Sin embargo, del sistema (3.19) sabemos que nuestra función \mathbf{R} evaluada en los puntos de equilibrio nos da como resultado un vector de ceros. Por lo tanto, dejando a primer orden la expansión;

$$\mathbf{R}(f_s + S\Delta f_s) \approx S \left. \begin{pmatrix} \frac{\partial R_1}{\partial f_1} & \frac{\partial R_1}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_1}{\partial f_n} \\ \frac{\partial R_2}{\partial f_1} & \frac{\partial R_2}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_2}{\partial f_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial R_n}{\partial f_1} & \frac{\partial R_n}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_n}{\partial f_n} \end{pmatrix} \right|_{f=f_s} \begin{pmatrix} \Delta f_1 \\ \Delta f_2 \\ \vdots \\ \Delta f_n \end{pmatrix} \quad (3.24)$$

Finalmente sustituyendo en la ecuación (3.22);

$$S \frac{\partial \Delta \mathbf{f}}{\partial t} = S \mathbf{Jr}|_{f=f_s} \Delta \mathbf{f} - \mathbf{D} \omega^2 S \Delta \mathbf{f} \implies \frac{\partial}{\partial t} \Delta \mathbf{f} = (\mathbf{Jr} - \omega^2 \mathbf{D})|_{f=f_s} \Delta \mathbf{f}$$

$$\text{dónde } \mathbf{Jr} = \begin{pmatrix} \frac{\partial R_1}{\partial f_1} & \frac{\partial R_1}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_1}{\partial f_n} \\ \frac{\partial R_2}{\partial f_1} & \frac{\partial R_2}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_2}{\partial f_n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ \frac{\partial R_n}{\partial f_1} & \frac{\partial R_n}{\partial f_2} & \cdots & \frac{\partial R_n}{\partial f_n} \end{pmatrix} \quad (3.25)$$

La estabilidad del sistema de Reacción-Difusión en su estado de equilibrio homogéneo f_s se puede estudiar calculando los eigenvalores de

CAPÍTULO 3. MODELO DE REACCIÓN-DIFUSIÓN
3.2. SISTEMAS DE REACCIÓN-DIFUSIÓN

$$(\mathbf{Jr} - \omega^2 \mathbf{D})|_{f=f_s} \tag{3.26}$$

Donde además la constante ω representa la frecuencia espectral de las perturbaciones.

Este procedimiento permite linealizar para poder encontrar los eigenvalores y eigenvectores de la ecuación de perturbación $\Delta \mathbf{f}$. Es posible conocer si es que se trata de puntos estables o inestables [24].

Capítulo 4

Sistema de ecuaciones para la dinámica de Calcio y sus Puntos Estacionarios

Recordando el sistema de ecuaciones diferenciales para una célula (2.1) y formulándolo como un sistema de Reacción-Difusión obtenemos las ecuaciones;

$$\begin{cases} \frac{\partial Z}{\partial t} = \nu_0 + \nu_1\beta - \nu_2 + \nu_3 + k_f Y - kZ + D_z \nabla^2 Z \\ \frac{\partial Y}{\partial t} = \nu_2 - \nu_3 - k_f Y \end{cases} \quad (4.1)$$

dónde;

$$\nu_2 = V_{M2} \frac{Z^n}{K_2^n + Z^n}, \quad \nu_3 = V_{M3} \frac{Y^m}{K_R^m + Y^m} \cdot \frac{Z^p}{K_A^p + Z^p} \quad (4.2)$$

Recordemos que la tasa ν_0 indica el ritmo al cual entra Ca^{2+} a través de la membrana desde el espacio fuera de la célula, la tasa $\nu_1\beta$ es la cual aumenta el Ca^{2+} citosólico a causa del incremento en el InsP3 a causa de una señal externa y la tasa k es a la cual sale el Ca^{2+} de la célula hacia el espacio extracelular. Ninguna se retira puesto que se considera en el modelo que las células siguen obteniendo calcio del medio extracelular y no solo de las vecinas por medio de la difusión, así como también pueden seguir expulsándolo en menor medida hacia el entorno.

Por lo cual se hace uso del sistema (4.1).

Es importante notar que $Z = Z(\vec{r}, t)$ y $Y = Y(\vec{r}, t)$. La concentración del calcio citosólico depende de las coordenadas espaciales y el tiempo.

Guiándonos del análisis de los puntos estacionarios para un sistema de Reacción-Difusión vistos en la sección anterior, entendemos que se deben realizar los siguientes pasos;

CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS

1. Encontrar los puntos estacionarios espacial y temporalmente

Es decir cuando $\nabla^2 f_i = 0$ y $\frac{\partial f_i}{\partial t} = 0$

2. Hallar la matriz que describe el sistema linealizado alrededor del estacionario homogéneo.

$$(\mathbf{J}\mathbf{r} - \omega^2\mathbf{D})|_{f=f_s}$$

para nuestro sistema de ecuaciones (4.1).

3. Aplicar las *Condiciones de Estabilidad*, las ecuaciones; (3.17)
4. Encontrar los eigenvalores de la matriz hallada.

**CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO
Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS**
4.1. ENCONTRAR LOS PUNTOS ESTACIONARIOS ESPACIAL Y TEMPORALMENTE

4.1. Encontrar los puntos estacionarios espacial y temporalmente

Primero deberemos encontrar los puntos estacionarios para cuando

$$\nabla^2 f_i = 0 \quad \text{y} \quad \frac{\partial f_i}{\partial t} = 0$$

Es decir, se tiene el sistema de ecuaciones

$$\begin{cases} 0 = \nu_0 + \nu_1\beta - \nu_2(Z) + \nu_3(Z, Y) + k_f Y_s - kZ_s \\ 0 = \nu_2(Z) - \nu_3(Z, Y) - k_f Y_s \end{cases} \quad (4.3)$$

o bien sustituyendo las tasas ν_1 y ν_2

$$\begin{cases} 0 = \nu_0 + \nu_1\beta - V_{M2} \frac{Z_s^n}{K_2^n + Z_s^n} + V_{M3} \frac{Y_s^m}{K_R^m + Y_s^m} \cdot \frac{Z_s^p}{K_A^p + Z_s^p} + k_f Y_s - kZ_s \\ 0 = V_{M2} \frac{Z_s^n}{K_2^n + Z_s^n} - V_{M3} \frac{Y_s^m}{K_R^m + Y_s^m} \cdot \frac{Z_s^p}{K_A^p + Z_s^p} - k_f Y_s \end{cases} \quad (4.4)$$

Como podemos notar, las ecuaciones dependen de muchos parámetros que a su vez definen el grado de las funciones de Hill implicadas.

Se realizó una simulación en el lenguaje de programación Python que permitiera conocer los valores de Z_s y Y_s que cumplen con ambas ecuaciones.

A través de la búsqueda de raíces de ecuaciones no lineales y la graficación de ambas ecuaciones del sistema al encontrar sus dos puntos de intersección entonces hallamos la ubicación de los puntos estacionarios.

Los parámetros[17] usados fueron;

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> ▪ $\nu_0 = 1\mu M s^{-1}$ ▪ $\nu_1 = 7,3\mu M s^{-1}$ ▪ $\beta = 0,3$ ▪ $K_R = 2\mu M$ ▪ $K_A = 0,9\mu M$ ▪ $K_2 = 1\mu M$ | <ul style="list-style-type: none"> ▪ $k = 10s^{-1}$ ▪ $k_f = 1s^{-1}$ ▪ $m=2$ ▪ $n=2$ ▪ $p=4$ ▪ $VM2=65\mu M s^{-1}$ ▪ $VM3=500\mu M s^{-1}$ |
|---|--|

**CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO
Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS**
4.1. ENCONTRAR LOS PUNTOS ESTACIONARIOS ESPACIAL Y TEMPORALMENTE

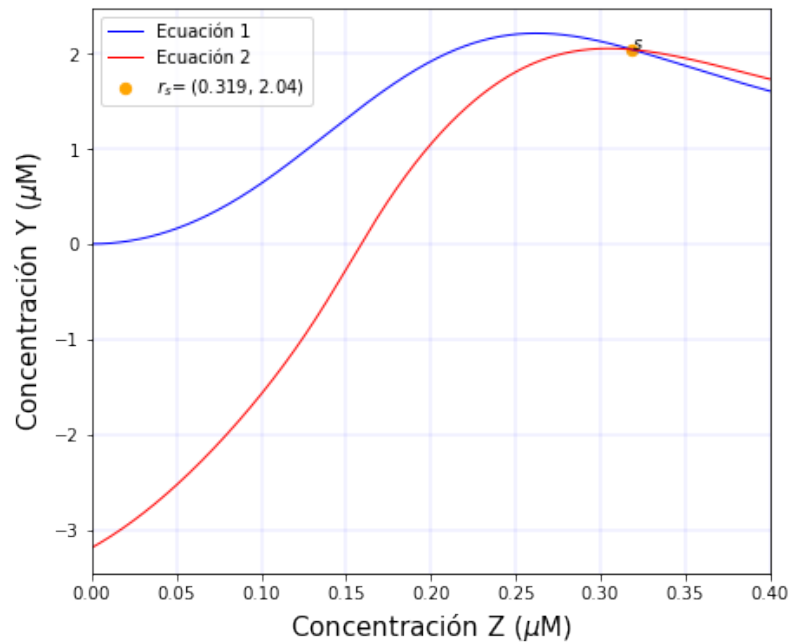


Figura 4.1: Gráfica de las ecuaciones del sistema (4.4) donde se indica la intersección de ambas gráficas Z vs Y . Ésta representa el punto en el que coinciden, es decir, es el punto estacionario del sistema

Por lo tanto, el punto estacionario es;

$$\vec{r}_s = (0,319\mu M, 2,04\mu M) \tag{4.5}$$

**CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO
Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS**
4.2. PROCEDIMIENTO PARA HALLAR LA MATRIZ DE ESTABILIDAD SIN DIFUSIÓN

4.2. Procedimiento para hallar la matriz de estabilidad sin difusión

Para el caso en que no existe difusión en el sistema tendríamos entonces la ecuación;

$$\mathbf{S} \frac{\partial \Delta \vec{f}}{\partial t} = \vec{R} \quad (4.6)$$

Lo cual da origen entonces a que la matriz de estabilidad sea;

$$\mathbf{E} = (\mathbf{J}_{ZY})_{\vec{r}=\vec{r}_s} ; \quad \vec{r}_s = (Z_0, Y_0) \quad (4.7)$$

Dónde el jacobiano \mathbf{J}_{ZY} evaluado en el punto estacionario hallado $\vec{r}_s = (Z_0, Y_0)$.

$$\mathbf{J}_{ZY} = \begin{pmatrix} \frac{1}{Z_0} \left[n\nu_2 \left(\frac{\nu_2}{V_{M2}} - 1 \right) - p\nu_3 \left(\frac{Z_0^p}{Z_0^p + k_a^p} - 1 \right) \right] - k & \frac{m\nu_3}{Y_0} \left(1 - \frac{Y_0^m}{Y_0^m + k_r^m} \right) + k_f \\ \frac{1}{Z_0} \left[p\nu_3 \left(\frac{Z_0^p}{Z_0^p + k_a^p} - 1 \right) - n\nu_2 \left(\frac{\nu_2}{V_{M2}} - 1 \right) \right] & \frac{m\nu_3}{Y_0} \left(1 - \frac{Y_0^m}{Y_0^m + k_r^m} \right) - k_f \end{pmatrix}$$

Haciendo uso de las Condiciones de Estabilidad: Un punto es estable si y sólo si;

$$\text{Tr}(\mathbf{E}) < 0 \quad \text{y} \quad \det(\mathbf{E}) > 0$$

Para el punto estacionario S ;

$$\text{Tr}(\mathbf{E}) = 1,86 \quad \text{y} \quad \det(\mathbf{E}) = 29,03 \quad (4.8)$$

Por lo tanto, ya que no cumple con ambas condiciones, se determina al punto estacionario como *punto inestable*.

**CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO
Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS**

4.3. PROCEDIMIENTO PARA HALLAR LA MATRIZ DE ESTABILIDAD CON DIFUSIÓN

4.3. Procedimiento para hallar la matriz de estabilidad con difusión

Se procede a usar el método visto en la sección (3) Primero hacemos el cambio de variable (3.20) en el sistema (4.1).

$$\begin{aligned} Z(x, t) &\longrightarrow Z_s + \Delta Z(x, t) = Z_s + e^{i(\omega_1 x + \phi_1)} \Delta Z(t) \\ Y(x, t) &\longrightarrow Y_s + \Delta Y(x, t) = Y_s + e^{i(\omega_2 x + \phi_2)} \Delta Y(t) \end{aligned} \quad (4.9)$$

Se obtiene:

$$\begin{cases} \frac{\partial}{\partial t} (Z_s + e^{i(\omega_1 x + \phi_1)} \Delta Z(t)) = R_z(Z_s + \Delta Z(x, t), Y_s + \Delta Y(x, t)) + D_z \nabla^2 (Z_s + e^{i(\omega_1 x + \phi_1)} \Delta Z(t)) \\ \frac{\partial}{\partial t} (Y_s + e^{i(\omega_2 x + \phi_2)} \Delta Y(t)) = R_y(Z_s + \Delta Z(x, t), Y_s + \Delta Y(x, t)) \end{cases}$$

$$\begin{cases} e^{i(\omega_1 x + \phi_1)} \frac{\partial \Delta Z(t)}{\partial t} = R_z(Z_s + \Delta Z(x, t), Y_s + \Delta Y(x, t)) - \omega_1^2 D_z \Delta Z(t) e^{i(\omega_1 x + \phi_1)} \\ e^{i(\omega_2 x + \phi_2)} \frac{\partial \Delta Y(t)}{\partial t} = R_y(Z_s + \Delta Z(x, t), Y_s + \Delta Y(x, t)) \end{cases} \quad (4.10)$$

Dónde las funciones R_z y R_y son;

$$\begin{aligned} R_z(Z, Y) &= \nu_0 + \nu_1 \beta - \nu_2(Z) + \nu_3(Z, Y) + k_f Y - kZ \\ R_y(Z, Y) &= \nu_2(Z) - \nu_3(Z, Y) - k_f Y \end{aligned} \quad (4.11)$$

Sustituyendo las funciones de Hill para ν_2 y ν_3 ;

$$\begin{aligned} R_z(Z, Y) &= \nu_0 + \nu_1 \beta - V_{M2} \frac{Z^n}{K_2^n + Z^n} + V_{M3} \frac{Y^m}{K_R^m + Y^m} \cdot \frac{Z^p}{K_A^p + Z^p} + k_f Y - kZ \\ R_y(Z, Y) &= V_{M2} \frac{Z^n}{K_2^n + Z^n} - V_{M3} \frac{Y^m}{K_R^m + Y^m} \cdot \frac{Z^p}{K_A^p + Z^p} - k_f Y \end{aligned} \quad (4.12)$$

**CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO
Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS**
4.3. PROCEDIMIENTO PARA HALLAR LA MATRIZ DE ESTABILIDAD CON DIFUSIÓN

Condensando el sistema (4.10) se tiene la siguiente ecuación.

$$\mathbf{S} \frac{\partial \Delta \vec{f}}{\partial t} = \vec{R} - \mathbf{S} \mathbf{W}^2 \mathbf{D} \Delta \vec{f} \quad \text{dónde;} \quad (4.13)$$

$$\mathbf{S} = \begin{pmatrix} e^{i(\omega_1 x + \phi_1)} & 0 \\ 0 & e^{i(\omega_2 x + \phi_2)} \end{pmatrix}, \quad \mathbf{D} = \begin{pmatrix} D_z & 0 \\ 0 & 0 \end{pmatrix}, \quad \mathbf{W} = \begin{pmatrix} \omega_1 & 0 \\ 0 & \omega_2 \end{pmatrix} \quad (4.14)$$

$$\Delta \vec{f} = (\Delta Z(t), \Delta Y(t)), \quad \vec{R} = (R_z(Z, Y), R_y(Z, Y)) \quad (4.15)$$

Una vez expandida en función de Taylor al rededor del estacionario la ecuación (4.13) queda como;

$$\mathbf{S} \frac{\partial \Delta \vec{f}}{\partial t} = \mathbf{J}_{ZY}|_{f=f_s} \mathbf{S} \Delta \vec{f} - \mathbf{S} \mathbf{W}^2 \mathbf{D} \Delta \vec{f} \quad \text{dónde} \quad \mathbf{J}_{ZY} = \begin{pmatrix} \frac{\partial R_Z}{\partial Z} & \frac{\partial R_Z}{\partial Y} \\ \frac{\partial R_Y}{\partial Z} & \frac{\partial R_Y}{\partial Y} \end{pmatrix}$$

$$\frac{\partial \Delta \vec{f}}{\partial t} = \mathbf{J}'_{ZY}|_{f=f_s} \Delta \vec{f} - \mathbf{W}^2 \mathbf{D} \Delta \vec{f} \quad (4.16)$$

Dónde

$$\mathbf{J}'_{ZY} = \mathbf{S}^{-1} \mathbf{J}_{ZY} \mathbf{S} = \begin{pmatrix} \frac{\partial R_Z}{\partial Z} & e^{-i(\omega_1 - \omega_2)x} \frac{\partial R_Z}{\partial Y} \\ e^{i(\omega_1 - \omega_2)x} \frac{\partial R_Y}{\partial Z} & \frac{\partial R_Y}{\partial Y} \end{pmatrix} \quad (4.17)$$

Realizando las derivadas usando a las expresiones (4.11);

$$\frac{\partial R_Z}{\partial Z} = -\nu'_2 + \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} - k; \quad \frac{\partial R_Z}{\partial Y} = \frac{\partial \nu_3}{\partial Y} + k_f; \quad \frac{\partial R_Y}{\partial Z} = \nu'_2 - \frac{\partial \nu_3}{\partial Z}; \quad \frac{\partial R_Y}{\partial Y} = -\frac{\partial R_Z}{\partial Y}$$

Por lo tanto, la matriz de estabilidad es;

$$\mathbf{E} = (\mathbf{J}'_{ZY} - \mathbf{W}^2 \mathbf{D})_{\vec{r}=\vec{r}_s}; \quad \vec{r}_s = (Z_s, Y_s) \quad (4.18)$$

Es decir,

$$\mathbf{E} = \begin{pmatrix} -\nu'_2 + \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} - k - \omega_1^2 D_z & e^{-i(\omega_1 - \omega_2)x} \left(\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} + k_f \right) \\ e^{i(\omega_1 - \omega_2)x} \left(\nu'_2 - \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} \right) & -\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} - k_f \end{pmatrix}_{\vec{r}=\vec{r}_s} \quad (4.19)$$

**CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO
Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS**
4.3. PROCEDIMIENTO PARA HALLAR LA MATRIZ DE ESTABILIDAD CON DIFUSIÓN

Y calculando cada derivada se encuentran las siguientes expresiones;

$$\nu_2' = \nu_2 \frac{n}{Z} \left(1 - \frac{\nu_2}{V_{M2}}\right); \quad \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} = \nu_3 \frac{p}{Z} \left(1 - \frac{Z^p}{Z^p + k_a^p}\right); \quad \frac{\partial \nu_3}{\partial Y} = \nu_3 \frac{m}{Y} \left(1 - \frac{Y^m}{Y^m + k_r^m}\right) \quad (4.20)$$

Se sustituye y evalúa en el estacionario.

$$\mathbf{E} = \begin{pmatrix} \frac{1}{Z_0} \left[n\nu_2 \left(\frac{\nu_2}{V_{M2}} - 1 \right) + p\nu_3 \left(1 - \frac{Z_0^p}{Z_0^p + k_a^p} \right) \right] - k - D_z w_1^2 & e^{ix(\omega_2 - \omega_1)} \left(\frac{m\nu_3}{Y_0} \left(1 - \frac{Y_0^m}{Y_0^m + k_r^m} \right) + k_f \right) \\ \frac{e^{ix(\omega_1 - \omega_2)}}{Z_0} \left[p\nu_3 \left(\frac{Z_0^p}{Z_0^p + k_a^p} - 1 \right) + n\nu_2 \left(1 - \frac{\nu_2}{V_{M2}} \right) \right] & -\frac{m\nu_3}{Y_0} \left(1 - \frac{Y_0^m}{Y_0^m + k_r^m} \right) - k_f \end{pmatrix}$$

4.4. Condiciones de Estabilidad

Ahora se evalúan las condiciones para determinar si los puntos estacionarios son estables o inestables.

Para que un punto sea estable tiene que suceder;

$$\text{Tr}(\mathbf{E}) < 0 \quad \text{y} \quad \det(\mathbf{E}) > 0$$

Obtenemos la traza de la matriz (4.19);

$$\begin{aligned} \text{Tr}(\mathbf{E}) &= -\nu'_2 + \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} - k - \omega_1^2 D_z - \frac{\partial \nu_3}{\partial Y} - k_f \\ &= -\nu'_2 + \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} - \frac{\partial \nu_3}{\partial Y} - \omega_1^2 D_z - k - k_f \end{aligned}$$

Y siendo $R_y = \nu_2 - \nu_3 - k_f Y$, entonces la traza de la matriz \mathbf{E} en términos de la función R_y es;

$$\text{Tr}(\mathbf{E}) = \left(\frac{\partial R_y}{\partial Y} - \frac{\partial R_y}{\partial Z} \right)_{\vec{r}_s} - D_z \omega_1^2 - k \quad (4.21)$$

$$\text{Tr}(\mathbf{E}) = -D_z \omega_1^2 + 1,86 \quad (4.22)$$

y para el determinante;

$$\begin{aligned} \det(\mathbf{E}) &= \left(-\nu'_2 + \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} - k - \omega_1^2 D_z \right) \left(-\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} - k_f \right) - \left(\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} + k_f \right) \left(\nu'_2 - \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} \right) \\ &= \left(\nu'_2 - \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} + k + \omega_1^2 D_z \right) \left(\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} + k_f \right) - \left(\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} + k_f \right) \left(\nu'_2 - \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} \right) \\ &= \left(\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} + k_f \right) \left[\left(\nu'_2 - \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} + k + \omega_1^2 D_z \right) - \left(\nu'_2 - \frac{\partial \nu_3}{\partial Z} \right) \right] \\ &= (\omega_1^2 D_z + k) \left(\frac{\partial \nu_3}{\partial Y} + k_f \right)_{\vec{r}_s} \quad (4.23) \end{aligned}$$

$$\det(\mathbf{E}) = 2,9 D_z \omega_1^2 + 29 \quad (4.24)$$

Para el punto \vec{r}_s , éste será estable solo si;

$$\begin{aligned} -D_z \omega_1^2 + 1,86 < 0 \quad \text{y} \quad 2,9 D_z \omega_1^2 + 29 > 0 \\ D_z \omega_1^2 > 1,86 \quad \text{y} \quad D_z \omega_1^2 > -10 \end{aligned} \quad (4.25)$$

**CAPÍTULO 4. SISTEMA DE ECUACIONES PARA LA DINÁMICA DE CALCIO
Y SUS PUNTOS ESTACIONARIOS**
4.4. CONDICIONES DE ESTABILIDAD

La segunda condición se cumple ya que los coeficientes de difusión son positivos. Sin embargo, para la primera expresión como podemos ver, si es estable o no, depende del valor de los coeficientes de Difusión. Por lo cual la difusión puede hacer que el sistema permanezca estable o se salga de la estabilidad.

Proponiendo la función $g(\omega)$, para que \vec{r}_s sea estable la función debe tomar valores negativos.

$$g(\omega) = -D_z\omega^2 + 1,86 < 0$$

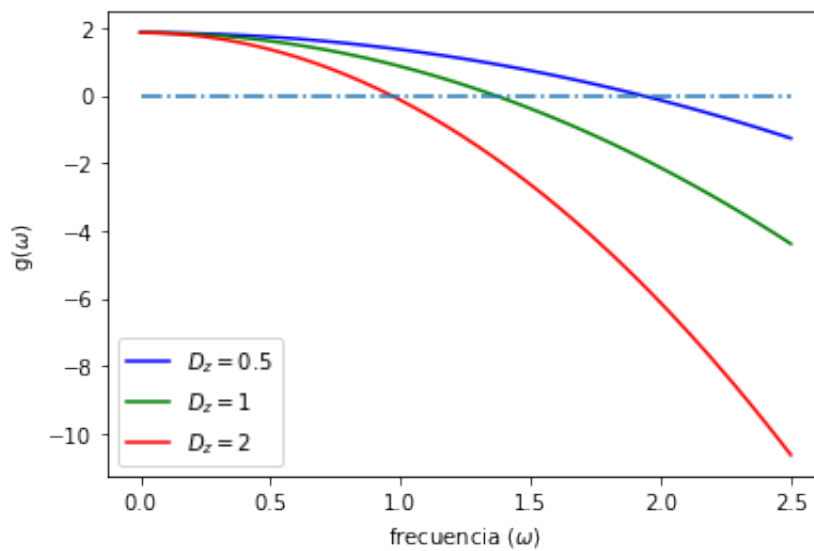


Figura 4.2: Gráfica de la función $g(\omega)$. Es una parábola hacia abajo con dos raíces. Una positiva y otra negativa, sin embargo, el valor positivo es el único de interés pues la frecuencia ω sólo toma valores positivos. El coeficiente de difusión D_z determina que tanto se estrecha o ensancha la parábola.

Podemos notar en la figura (4.2) que el coeficiente de difusión determina el intervalo de frecuencias para las que el sistema es estable.

Es decir, que $\forall \omega \in (\omega_0, \infty)$ tal que ω_0 es la frecuencia para la cuál $g(\omega_0) = 0$;

$$\omega_0 = \sqrt{\frac{1,86}{D_z}} \tag{4.26}$$

entonces el sistema será estable y se esperan patrones con una longitud característica de $1/\omega_0$.

$$L = \sqrt{\frac{D_z}{1,86}} \tag{4.27}$$

Capítulo 5

Simulación de la dinámica de Calcio

5.1. Simulación del tejido sano sin aplicar terapia

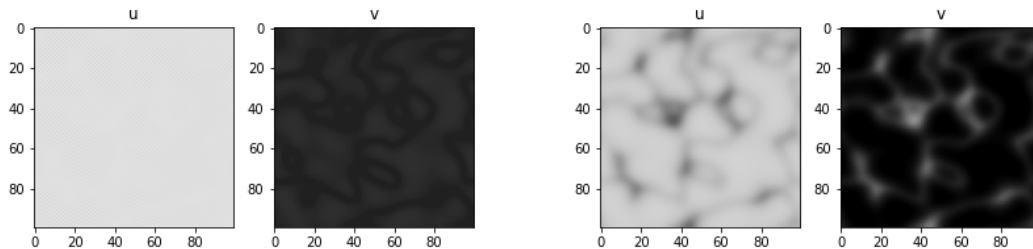
Con el objetivo de visualizar la dinámica de calcio con difusión, se modeló como un campo en el cuál la concentración cambia a través del tiempo. Se usó código en Python para poder reproducir los patrones formados (figura 5.1).

En esta figura se presentan las etapas por las cuales pasa el patrón que se forma. Eventualmente llega a un estacionario.

En el código se colocó la concentración z como \mathbf{u} y la concentración y como \mathbf{v} .

Para obtener los patrones formados en el código se definen los *pasos* espaciales y temporales como; $D_h = 0,01$ cm ($100\mu m$)y $D_t = 0,002$ s respectivamente.

En los siguientes patrones se simula la aplicación de la terapia fotodinámica en tejido sano (células con valores normales para los coeficientes que regulan las bombas de calcio).



CAPÍTULO 5. SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA DE CALCIO
5.1. SIMULACIÓN DEL TEJIDO SANO SIN APLICAR TERAPIA

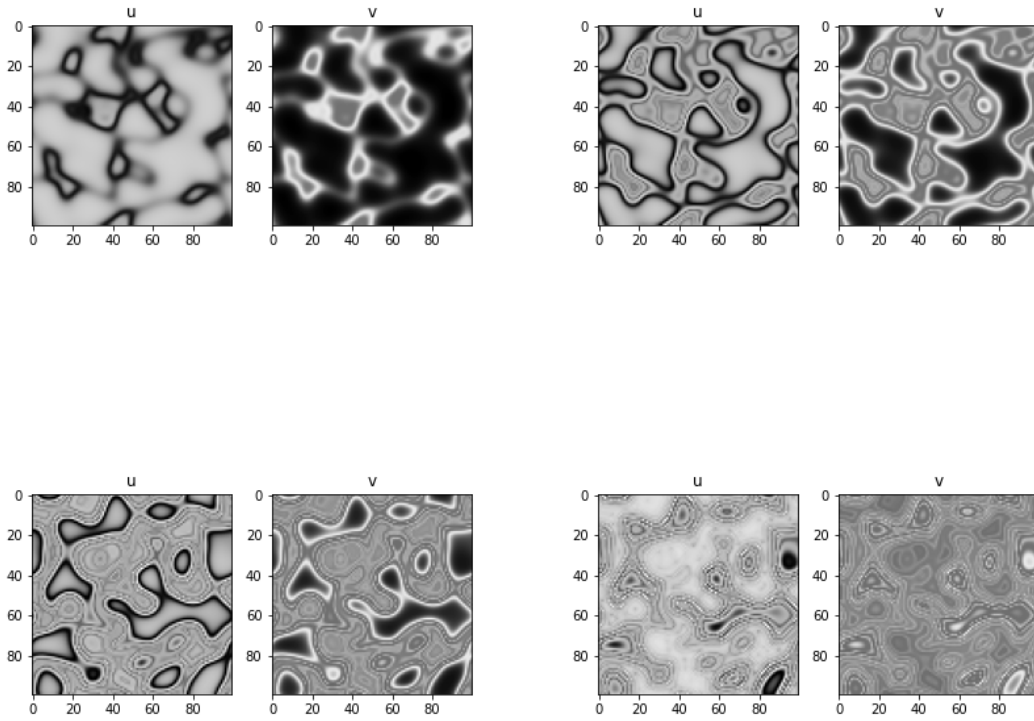
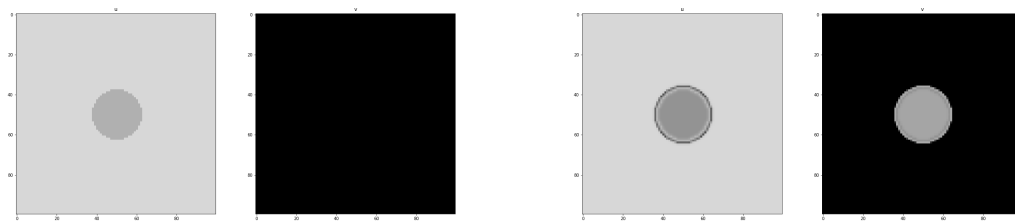


Figura 5.1: Evolución del patrón formado por las ecuaciones de la dinámica de Calcio con coeficiente de Difusión $D_z = 0,0001 \frac{cm^2}{s}$ y condiciones iniciales $z_0 = \epsilon$ y $y_0 = \delta$ donde éstas son pequeñas fluctuaciones.

5.2. Simulación del Tejido Sano Con PDT

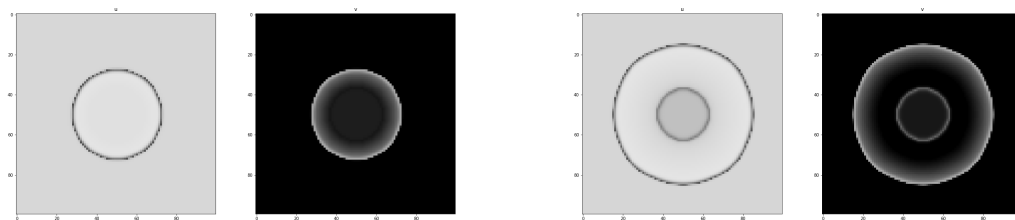
Se eligió como condición inicial una zona central correspondiente a un círculo de radio 0.25 cm con centro en (0.5 cm, 0.5 cm) con mayor concentración de calcio simulando el efecto de la terapia fotodinámica en esa zona.

Podemos ver cómo se propaga la onda de calcio en el tejido sin cáncer.



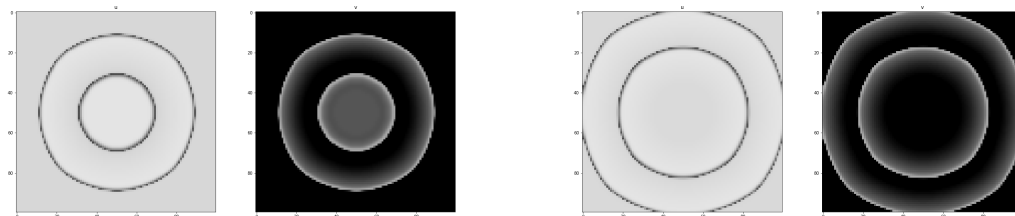
(a) step=0, t=0

(b) step=100, t=0.2 s



(c) step=500, t=1 s

(d) step=1100, t=2.2 s



(e) step=1300, t=2.6 s

(f) step=1900, t=3.8 s

CAPÍTULO 5. SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA DE CALCIO
5.2. SIMULACIÓN DEL TEJIDO SANO CON PDT

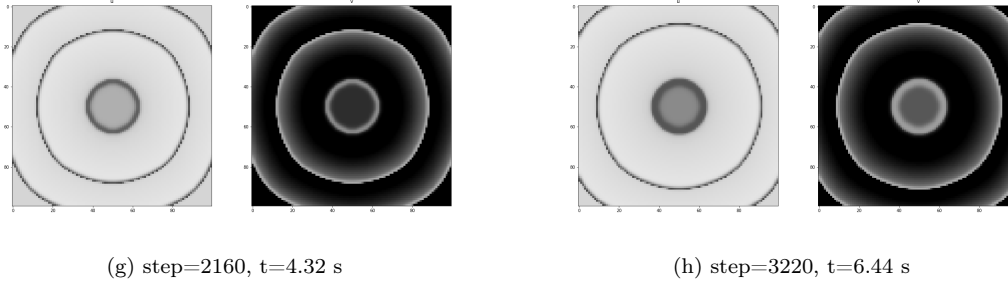


Figura 5.2: **TEJIDO SANO + TERAPIA FOTODINÁMICA:** Evolución del patrón formado por las ecuaciones de la dinámica de Calcio con coeficiente de Difusión $D_z = 0,0001 \frac{cm^2}{s}$ y condiciones iniciales $z_0 = 0,319$, $y_0 = 2,04$ y el doble de éstos para la circunferencia simulando la terapia y así el efecto observador. El tono oscuro corresponde a mayor concentración de calcio.

5.3. Simulación del Tejido Canceroso con PDT

Se simuló también tejido canceroso en toda el área cambiando uno de sus parámetros. La tasa ν_2 se encarga de extraer el calcio desde el citosol hacia el compartimento Y. Ésta tasa contiene a la constante V_{M2} la cual denota la tasa máxima de bombeo del calcio hacia adentro, por lo cual al alterarla (disminuirla) simula la mutación del p53 que generan las células cancerosas .

Al probar diferentes disminuciones de la constante V_{M2} en un 15 %, 30 %, 46 %, 61 % y 77 %, se encontraron patrones como los que se muestran en la figura (5.3).

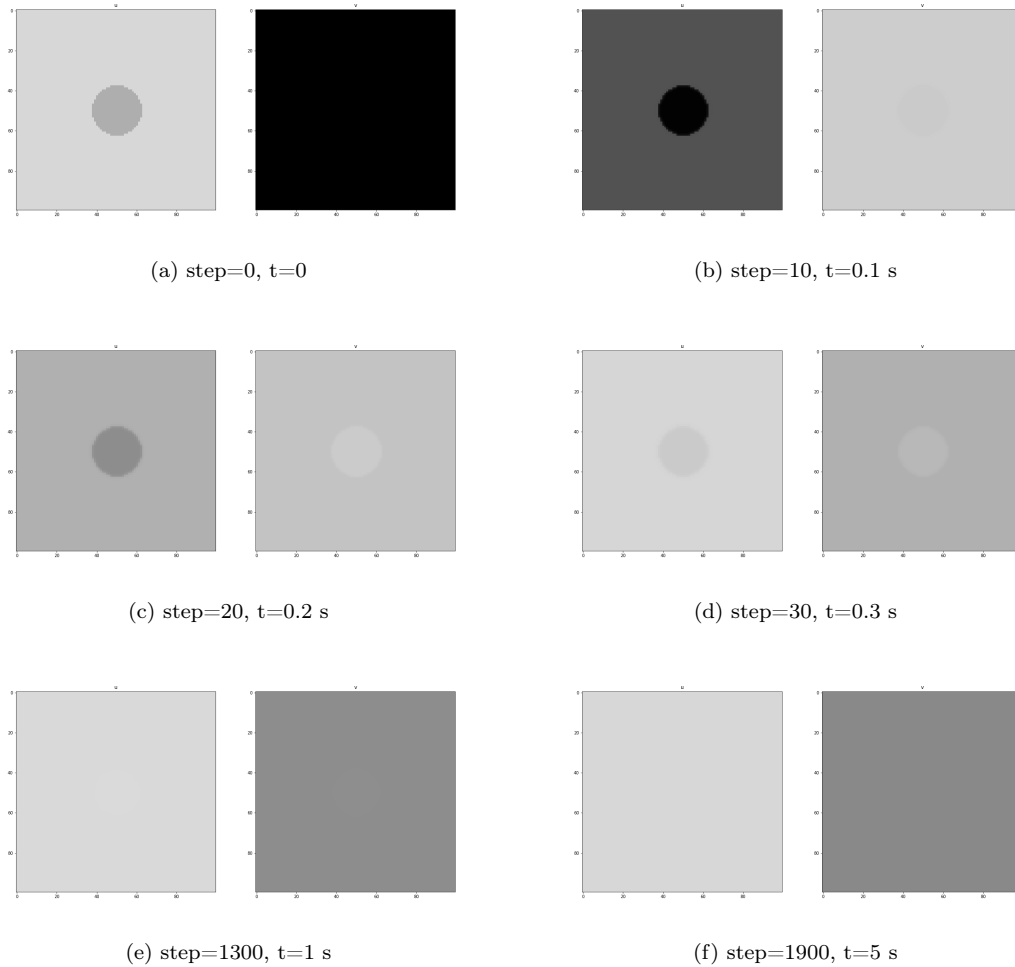


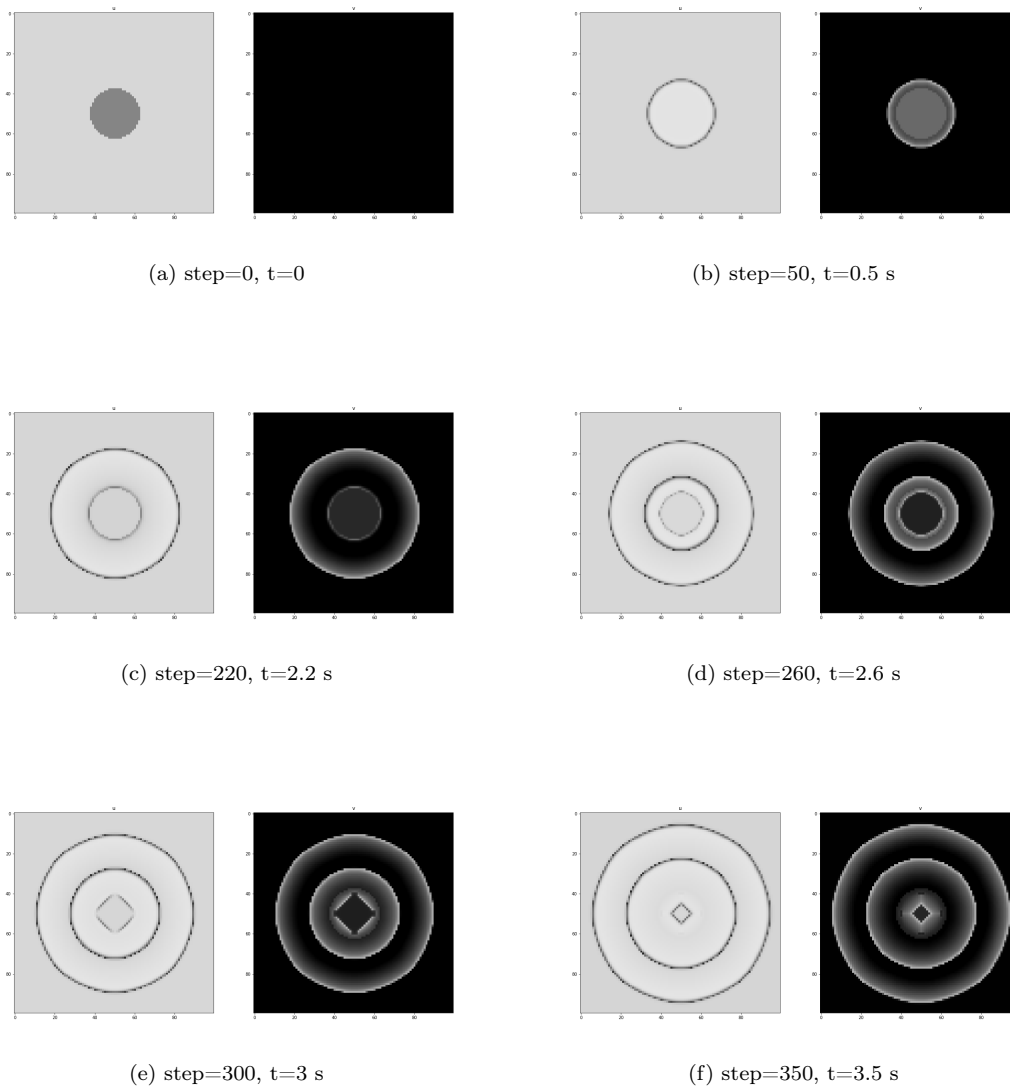
Figura 5.3: **TEJIDO CANCEROSO COMPLETO + TERAPIA:** Evolución del patrón formado por las ecuaciones de la dinámica de Calcio, simulando Cáncer en todo el tejido, $V_{M2} = 35\mu M/s$ (disminuido en un 46 %) con coeficiente de Difusión $D_z = 0,0001 \frac{cm^2}{s}$ y condiciones iniciales $z_0 = 0,319$ y $y_0 = 2,04$, $D_t = 0,01$. Se toma el doble de las condiciones iniciales para la zona central para simular la terapia.

5.4. Simulación de la PDT aplicada solo en la zona del Tejido Canceroso

Finalmente se hizo la simulación de tejido canceroso sólo en el área de aplicación de la terapia, es decir, en la misma circunferencia.

Para simular la aplicación de la terapia se colocaron como condiciones iniciales en la zona central $z_0 = 0,319 \times 3$ y $y_0 = 2,04 \times 3$. Sin embargo, para simular el tejido canceroso la constante V_{M2} se disminuyó en un 46 %.

Esta simulación como resultado la propagación de la onda de calcio hacia afuera en forma circular y hacia el centro en forma de rombo como se muestra en la figura (5.4).



CAPÍTULO 5. SIMULACIÓN DE LA DINÁMICA DE CALCIO
5.4. SIMULACIÓN DE LA PDT APLICADA SOLO EN LA ZONA DEL TEJIDO
CANCEROSO

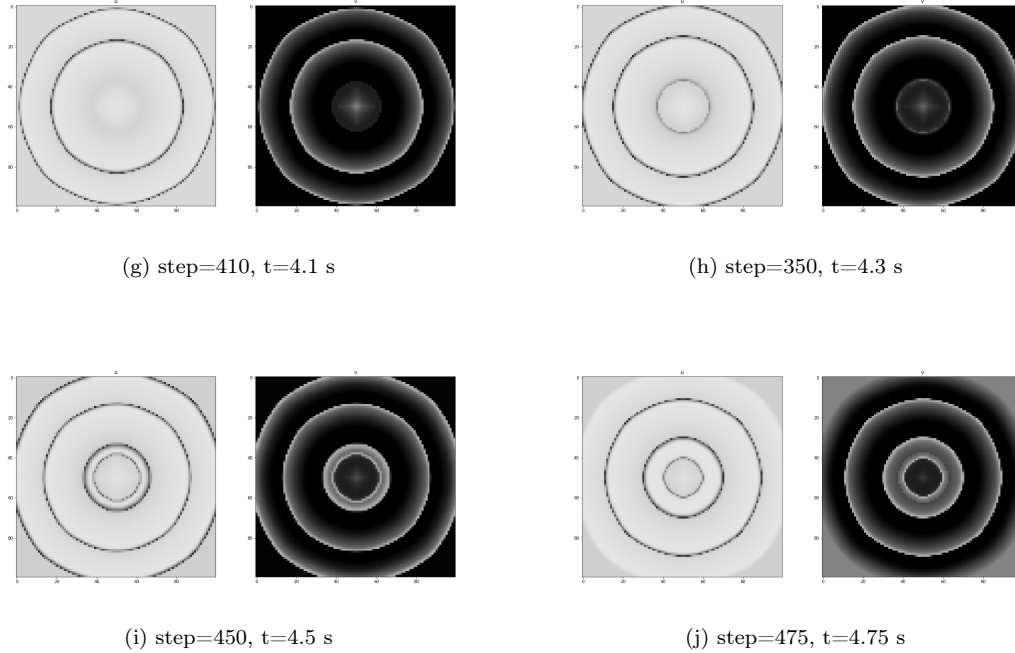


Figura 5.4: **TEJIDO CANCEROSO EN CIRUNFERENCIA + TERAPIA:** Evolución del patrón formado por las ecuaciones de la dinámica de Calcio, simulando Cáncer en la misma circunferencia de la terapia ($V_{M2} = 55\mu M/s$) con coeficiente de Difusión $D_z = 0,0001 \frac{cm^2}{s}$ y condiciones iniciales $z_0 = 0,319 \times 3$ y $y_0 = 2,04 \times 3$, $D_t = 0,01$.

Se notó que al disminuir el valor de la constante V_{M2} (la tasa a la que el Retículo Endoplásmico extrae el calcio del citosol), por debajo de los $50\mu M/s$, el patrón en forma de rombo que se cierra desde la circunferencia al centro, deja de formarse. Dando lugar a la única expansión de la onda hacia afuera.

Capítulo 6

Conclusión

La extensión del modelo CICR de la dinámica de calcio en la célula a un dominio espacial de 2 dimensiones incluyendo la difusión de la concentración de calcio permitió analizar el efecto observador en células con cáncer siendo la respuesta biológica de una célula adyacente a otra en la cual fue generado un estímulo específico, en este caso la aplicación de la terapia. Este efecto depende de la comunicación celular y amplifican las consecuencias del evento original [25] (aplicación de la PDT).

Esta extensión del modelo permitió explicar que el p53 mutado presente en células cancerosas impide un transporte efectivo de calcio entre los compartimentos intracelulares y por lo tanto dificulta la apoptosis.

Cómo se observa en la figura (5.4), el aumento en la concentración de calcio en la zona de aplicación de la terapia fotodinámica se propaga en forma de ondas a la vecindad. Mientras que en el tejido canceroso mostrado en la figura (5.3), el p53 mutado impide la formación de ondas de calcio dónde no se aplica la terapia y por lo tanto el efecto observador se ve disminuido. Esto nos sugiere que la terapia fotodinámica debe ser aplicada en toda la zona cancerosa ya que no es posible confiar en el efecto observador para propagar la apoptosis a regiones más amplias. Es decir, la terapia fotodinámica debe ir acompañada de un diagnóstico muy preciso de la zona afectada. O incluso ser aplicada con cierto margen razonable, aunque se elimine tejido sano.

Bibliografía

- [1] Dr. Javier Puente, Dr. Guillermo de Velasco, ¿Qué es el cáncer y cómo se desarrolla?, (2019) Sociedad Española de Oncología Médica.
- [2] Arnold J. Levine, (2018) Targeting Therapies for the p53 Protein in Cancer Treatment. The Annual Review of Cancer Biology.
- [3] Photodynamic Therapy for Cancer. (2019). Retrieved from <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/surgery/photodynamic-fact-sheet>
- [4] Panzarini, E., Inguscio, Dini, L. (2011). Overview of Cell Death Mechanisms Induced by Rose Bengal Acetate-Photodynamic Therapy. doi: 10.1155/2011/713726
- [5] Dolmans, D. E. J. G. J., Fukumura, D., & Jain, R. K. (2003). Photodynamic therapy for cancer. *Nature Reviews Cancer*, 3(5), 380–387. doi:10.1038/nrc1071
- [6] Noa Rivlin, Ran Brosh, Moshe Oren, and Varda Rotter (2011) Mutations in the p53 Tumor Suppressor Gene: Important Milestones at the Various Steps of Tumorigenesis. doi: 10.1177/1947601911408889
- [7] Silvani, A., Dampney, R., Swoap, S., Macefield, V. G., Joyner, M. Billman, G. E. (2010). Homeostasis: The Underappreciated and Far Too Often Ignored Central Organizing Principle of Physiology. doi: 10.3389/fphys.2020.00200
- [8] Lacroix, M., Toillon, R., & Leclercq, G. (2006). p53 and breast cancer, an update. *Endocrine-Related Cancer*, 13(2), 293-325. doi: 10.1677/erc.1.01172
- [9] Ozaki, T., & Nakagawara, A. (2011). Role of p53 in Cell Death and Human Cancers. *Cancers*, 3(1), 994-1013. doi: 10.3390/cancers3010994
- [10] Haupt, Y., Rowan, S., Shaulian, E., Vousden, K., & Oren, M. (1995). Induction of apoptosis in HeLa cells by trans-activation-deficient p53. *Genes & Development*, 9(17), 2170-2183. doi: 10.1101/gad.9.17.2170 (4,18)
- [11] Giorgi, C., Bonora, M., Sorrentino, G., Missiroli, S., Poletti, F., & Suski, J. et al. (2015). p53 at the endoplasmic reticulum regulates apoptosis in a Ca²⁺- dependent manner. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences*, 112(6), 1779-1784. doi: 10.1073/pnas.1410723112
- [12] Sármyay, G. (2021). *Biologia Futura: Emerging antigen-specific therapies for autoimmune diseases*. *Biologia Futura*, vol. 72(1), 15–24. doi:10.1007/s42977-021-00074-4
- [13] Carafoli, E. (2003). The calcium-signalling saga: tap water and protein crystals. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 4(4), 326-332. doi: 10.1038/nrm1073.
- [14] *Interdisciplinary Applied Mathematics, Vol. 8, Mathematical Physiology I: Cellular Physiology*, James Keener, 2da edición, Springer, (pp 275-300)

- [15] Robb-Gaspers, L. D. and A. P. Thomas (1995) Coordination of Ca^{2+} signaling by intercellular propagation of Ca^{2+} waves in the intact liver, *Journal of Biological Chemistry*.270: 8102–8107.
- [16] Koulen, P. (2003). Using bilayer lipid membranes to investigate the pharmacology of intracellular calcium channels. *Planar Lipid Bilayers (BLMs) and Their Applications*, 723–734. doi:10.1016/s0927-5193(03)80050-5
- [17] Albert Goldbeter, Genevive Dupont, and Michael J. Berridge (1990) Minimal model for signal-induced Ca^{2+} oscillations and for their frequency encoding through protein phosphorylation. *Proc. Natl. Acad. Sci. February 1990 Biophysics, USA Vol. 87*, pp. 1461-1465
- [18] Evans WH. *Biochem Soc Trans, Cell communication across gap junctions: a historical perspective and current developments*, 2015, 43(3), 450-9.
- [19] Oliver Knill, *Linear Algebra and Vector Analysis, Unit 22: Stability*, Math 22b, Harvard College, Spring 2019.
- [20] Prins, D., & Michalak, M. (2011). Organellar Calcium Buffers. *Cold Spring Harbor Perspectives In Biology*, 3(3), a004069-a004069. doi: 10.1101/cshperspect.a004069 (5,3)
- [21] Schanne, F. A., Kane, A. B., Young, E. E., & Farber, J. L. (1979). Calcium dependence of toxic cell death: a final common pathway. *Science*, 206(4419), 700-702. (6,3)
- [22] Brandon J Aubrey, Gemma L Kelly, Ana Janic, Marco J Herold and Andreas Strasser, How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression?, *Cell Death and Differentiation* (2018) 25,104–113.
- [23] Daniel A. Goodenough and David L. Paul, *Cold Spring Harb Perspect Biol*2009;1:a002576 on June 9, 2022 - Published by Cold Spring Harbor Laboratory.
- [24] Hiroki Sayama, *Introduction to the Modeling and Analysis of Complex Systems*, Published by Open SUNY Textbooks (2015), Milne Library State University of New York at Geneseo Geneseo, NY 14454.
- [25] Mitchel, R. E. J. (2004). The Bystander Effect: Recent Developments and Implications for Understanding the Dose Response. *Nonlinearity in Biology, Toxicology, Medicine*, 2(3), 154014204905075. doi:10.1080/15401420490507512