



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Propagación de iones de calcio en redes intercelulares bajo
el efecto de la terapia Fotodinámica

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

LICENCIADO EN FÍSICA

por

Marco Antonio Esperón Pintos

asesorada por

Dr. Jorge Velázquez Castro

Puebla Pue.
Noviembre de 2019



Benemérita Universidad Autónoma de Puebla

Facultad de Ciencias Físico Matemáticas

Propagación de iones de calcio en redes intercelulares bajo
el efecto de la terapia Fotodinámica

Tesis presentada al

Colegio de Física

como requisito parcial para la obtención del grado de

LICENCIADO EN FÍSICA

por

Marco Antonio Esperón Pintos

asesorada por

Dr. Jorge Velázquez Castro

Puebla Pue.
Noviembre de 2019

Título: Propagación de iones de calcio en redes intercelulares bajo el efecto de la terapia Fotodinámica

Alumno: MARCO ANTONIO ESPERÓN PINTOS

COMITÉ

Dra. Beatriz Bonilla Capilla
Presidente

Dr. Andrés Anzo Hernández
Secretario

Dr. José Fernando Rojas Rodríguez
Vocal

Mtro. Jesús Andrés Arzola Flores
Vocal

Dr. Jorge Velázquez Castro
Asesor

Índice general

Resumen	VII
Introducción	IX
1. Ecuaciones Diferenciales	1
1.1. Sistema de ecuaciones algebraicas	1
1.2. Dependencia e independencia lineal	2
1.3. Eigenvalores y Eigenvectores	3
1.4. Sistemas de Ecuaciones Diferenciales Homogéneas con Coeficientes Constantes	3
1.5. Matrices Fundamentales	5
1.6. Sistemas lineales no homogéneos	6
1.7. Métodos Numéricos	8
1.7.1. Método de Euler	8
1.7.2. Método de Runge - Kutta	8
1.8. Linealización	9
2. Dinámica del Calcio celular	11
2.1. El calcio en el cuerpo	11
2.2. Membrana Celular	13
2.3. Difusión a través de una membrana: Ley de Ohm	14
2.4. Proceso Ca^{2+} ATPasa	14
2.5. Uniones comunicantes (Gap Junctions)	15
3. Modelación de la dinámica de Ca^{2+} para una célula aislada	17
4. Modelación de redes	21
4.1. Dinámica en las redes	21
4.2. Dinámica de redes	21
4.3. Redes Adaptativas	22
4.4. Modelos de Reacción-Difusión	22
5. Simulación de la terapia fotodinámica	25
5.1. Efectos de la terapia fotodinámica	25
5.2. Proceso Experimental	25

5.3. Propagación de Ca^{2+} en redes celulares	26
5.4. Simulación numérica	26
5.4.1. Red celular Unidimensional	27
5.4.2. Red celular cuadrada	28
Conclusión	30
A. Script en Python de una red intercelular lineal	31
B. Script en Python de una red intercelular cuadrada	35

Agradecimientos

A mis padres por haberme apoyado incondicionalmente, por haberme forjado como la persona que soy; muchos de mis logros se los debo a ustedes y este no es una excepción. A mi hermana con quien he podido contar toda mi vida, siempre colaborando en mis labores académicas y dándome ánimo y fuerza para seguir adelante, sin importar los kilómetros y fronteras que nos separan. A mi Jurado por su valiosa contribución, Dra. Beatriz Bonilla Capilla, Dr. Andrés Anzo Hernández, Dr. José Fernando Rojas Rodríguez, Mtro. Jesús Andrés Arzola Flores. Finalmente a mi Asesor el Dr. Jorge Velázquez Castro por haberme brindado la oportunidad de recurrir a su capacidad y conocimiento científico, así como, haberme tenido toda la paciencia para guiarme durante el desarrollo de la tesis.

Resumen

La terapia fotodinámica es un tratamiento utilizado en oncología como herramienta para exterminar células cancerígenas. Una sola célula tratada con esta terapia comienza a generar altas concentraciones de iones de calcio. El aumento es ocasionado por moléculas de oxígeno reactivo que perturban la homeostasis de calcio intracelular. Estos iones de calcio se propagan por el vecindario de la célula objetivo.

La oncología se vale de un proceso que se produce naturalmente en la célula, conocido como Liberación de Calcio Inducido por Calcio, este proceso es estimulado y alterado por la terapia fotodinámica, perturbando la homeostasis celular y destruyendo células cancerígenas mediante apoptosis.

Se ha observado experimentalmente que la propagación de calcio no es difusiva. Por lo tanto, es conveniente saber el mecanismo de propagación de calcio para tener un mejor control de la terapia, ya que, la terapia es apropiada cuando se requiere no dañar tejido cercano al tumor y por lo tanto, la precisión de la distancia afectada es importante.

En este trabajo se plantea modelar dos redes, reproduciendo un conjunto de células acopladas que simulan tejido celular por medio de un par de ecuaciones diferenciales no lineales. De esta manera (a través de simulaciones), observamos que las concentraciones de calcio no tienen un comportamiento difusivo, considerando que el proceso de transferencia intercelular de calcio se lleva a cabo únicamente por Uniones Comunicantes (Gap Junctions), es decir, canales proteicos no selectivos que se encuentran sobre la membrana celular y que permiten el flujo de iones y otras moléculas.

Palabras clave: *Sistema Dinámico, Sistemas Complejos, Redes Dinámicas (Dynamical Networks), Uniones Comunicantes (Gap Junctions), Terapia Fotodinámica (Photodynamic therapy), Liberación de Calcio Inducido por Calcio (Calcium - Induced Calcium Release), Difusión.*

Introducción

Para ciertos procesos celulares, las moléculas e iones como el calcio, desempeñan un papel importante para la comunicación intercelular y el correcto funcionamiento de la homeostasis celular. La concentración de iones de calcio es ajustada de manera natural por una red de regulación intracelular, por otro lado, cantidades elevadas de este ion dentro de las células causa muerte celular. ¿Es posible entonces, perturbar la homeostasis de iones de calcio celular como mecanismo de aniquilación de células cancerígenas?

Se ha observado experimentalmente que técnicas oncológicas para el tratamiento del cáncer, como la terapia fotodinámica, aumentan la producción y propagación de calcio entre las células [5].

Para esta terapia se utiliza un químico sensible a la luz (Fotosensibilizador) que es inyectado en el torrente sanguíneo y absorbido por todas las células del cuerpo. El Fotosensibilizador absorbe la luz proveniente de un láser que apunta hacia el tumor. La luz emitida tiene una longitud de onda apropiada para la generación de células citotóxicas. Esta citotoxicidad es ocasionada por la producción de oxígeno singlete y otras moléculas reactivas que perturban la homeostasis de iones de calcio celular. Múltiples organelos celulares son afectados concomitantemente en las células expuestas al estrés fotodinámico. Las fuentes de luz utilizadas en la terapia pueden ser diversas. Para un cáncer pulmonar o de esófago, es posible insertar a través de un endoscopio, un tubo de fibra óptica que dirija luz láser hacia el área afectada.

En tumores superficiales como cáncer de piel, pueden ser usados los Diodos Emisores de Luz (LEDs).

Varios estudios indican que el retículo endoplásmico es el encargado de determinar las concentraciones aptas de iones de calcio celular. Esta característica se ve afectada debido a la mitocondria de células cancerígenas, ya que, reduce la sensibilidad a señales apoptóticas y por lo tanto a la terapia fotodinámica. No obstante, cualquier tipo de célula puede morir debido a altas concentraciones de iones de calcio.

La dinámica de calcio celular es desempeñada por un proceso llamado Liberación de Calcio Inducido por Calcio, también conocida por su acrónimo en inglés como CICR (Calcium - Induced Calcium Release).

En el procedimiento CICR, compartimentos intracelulares se abastecen de concentraciones de iones de calcio que posteriormente amplificarán y devolverán al citosol. La difusión intercelular de iones de calcio es retrasada por amortiguadores dentro de las células, sino fuera por CICR las células estarían confinadas a una lenta difusión de calcio.

El haz de luz emitido en la terapia fotodinámica es incidido, y debido a la permeabilidad de la membrana celular, las concentraciones de calcio generadas por la terapia se propagan, dañando células vecinas.

Este trabajo de investigación se desarrolló con el propósito de modelar y caracterizar el transporte de calcio en un par de redes dinámicas celulares, agregando a las ecuaciones del sistema un factor correspondiente a la terapia fotodinámica. Con los modelos se intenta reproducir gráficas y mediciones obtenidas en el laboratorio.

Empleando estos modelos matemáticos en un par de redes intercelulares programadas en Python, se verifica que la dinámica intercelular de calcio no es difusiva, dando evidencia que el comportamiento no difusivo es generado por las reacciones intracelulares. El modelo propuesto en este trabajo podrá contribuir a predicciones útiles para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer.

Capítulo 1

Ecuaciones Diferenciales

Debido a que el modelo planteado en el trabajo de investigación se basa en ecuaciones diferenciales, es importante mencionar algunos puntos de este tema. A continuación, se describirán las características de un sistema de ecuaciones algebraicas, las cuales, serán la base para el análisis de sistemas de ecuaciones diferenciales, por lo tanto, es importante profundizar un poco en este tema.

1.1. Sistema de ecuaciones algebraicas

Un conjunto de n ecuaciones algebraicas lineales simultaneas con n variables

$$\begin{aligned} a_{11}x_1 + a_{12}x_2 + \dots + a_{1n}x_n &= b_1 \\ a_{21}x_1 + a_{22}x_2 + \dots + a_{2n}x_n &= b_2 \\ &\vdots \\ a_{n1}x_1 + a_{n2}x_2 + \dots + a_{nn}x_n &= b_n \end{aligned}$$

Puede escribirse como

$$\mathbf{A}x = b \tag{1.1}$$

si la matriz de coeficientes \mathbf{A} es "no singular", es decir, si $\text{Det } \mathbf{A}$ es diferente de cero, entonces existe una solución única del sistema 1.1 y por lo tanto \mathbf{A}^{-1} también existe. Esto da como resultado

$$x = \mathbf{A}^{-1}b \tag{1.2}$$

En particular si 1.1 es homogénea

$$\mathbf{A}x = 0 \tag{1.3}$$

la ecuación tiene únicamente la solución trivial $x = 0$. Por otra parte, si \mathbf{A} es singular, es decir, si $\text{Det } \mathbf{A}$ es cero, entonces no existen soluciones de la ecuación o existen pero no son únicas. Para el caso del sistema homogéneo, se tendrá una infinidad de soluciones diferentes de cero además de la solución trivial [4].

1.2. Dependencia e independencia lineal

Debido a que la combinación lineal de soluciones particulares linealmente independientes de un sistema de ecuaciones lineales, forma la solución general de un sistema de ecuaciones lineales algebraicas y diferenciales, es importante enfatizar los puntos que se presentan a continuación.

Un conjunto de " k " vectores $\mathbf{x}^1, \dots, \mathbf{x}^k$ son linealmente dependientes si existe un conjunto de números complejos c_1, \dots, c_k de los cuales, por lo menos uno sea diferente de cero, tal que

$$c_1x^1 + \dots + c_kx^k = 0 \tag{1.4}$$

Por otra parte, si el único conjunto c_1, \dots, c_k para el que se cumple la ecuación 1.4 es: $c_1 = c_2 = \dots = c_k = 0$, se dice que x^1, \dots, x^k son linealmente independientes.

Sea $x_{ij} = x_i^j$ la i -ésima componente del vector x^j y sea $X = x_{ij}$ una matriz, entonces la ecuación 1.4 puede escribirse como

$$\begin{bmatrix} x_1^1c_1 + \dots + x_1^nc_n \\ \vdots \\ x_n^1c_1 + \dots + x_n^nc_n \end{bmatrix} = \mathbf{X}c \tag{1.5}$$

Si $\text{Det } \mathbf{X} \neq 0$, entonces la única solución de la ecuación 1.5 es $c = 0$, pero si $\text{Det } \mathbf{X} = 0$ existen soluciones diferentes de cero.

El conjunto de vectores x^1, \dots, x^n es linealmente independiente si y sólo si $\text{Det } \mathbf{X} \neq 0$.

Si \mathbf{X} fuera la matriz de soluciones particulares de un sistema de ecuaciones diferenciales lineales, entonces al $\text{Det } \mathbf{X}$ se le conoce como Wronskiano.

1.3. Eigenvalores y Eigenvectores

La ecuación $\mathbf{A}x = y$ puede considerarse como una transformación lineal que mapea (o transforma) un vector "x" dado, en un nuevo vector "y". Los vectores que se transforman en múltiplos de si mismos, tienen una función importante en muchas aplicaciones. Para encontrar estos vectores se construye un vector de la forma $y = \lambda x$ en donde λ es un factor escalar de proporcionalidad. Por lo tanto se buscan soluciones de las ecuaciones

$$\mathbf{A}x = \lambda x \tag{1.6}$$

o bien

$$(\mathbf{A} - \lambda \mathbf{I})x = 0 \tag{1.7}$$

La última ecuación tiene soluciones diferentes de cero si y sólo si se elije λ de modo que

$$\text{Det}(\mathbf{A} - \lambda \mathbf{I}) = 0 \tag{1.8}$$

Los valores de λ que satisfacen la ecuación se llaman Eigenvalores (o Valores Propios) de la matriz \mathbf{A} y las soluciones de la ecuación 1.7 que se obtienen al usar ese valor de λ se conocen como Eigenvectores (o Vectores Propios) correspondientes a ese Eigenvalor.

1.4. Sistemas de Ecuaciones Diferenciales Homogéneas con Coeficientes Constantes

Si consideramos

$$x' = \mathbf{A}x \tag{1.9}$$

En donde \mathbf{A} es una matriz constante de $n \times n$ y x' representa la derivada de x respecto a la variable independiente t , se buscan soluciones de la forma

$$x = \xi e^{rt} \tag{1.10}$$

Para el cual, deben determinarse r y el vector constante ξ . Al sustituir el x de la ecuación 1.10 y su derivada, en el sistema 1.9, nos da

$$r\xi e^{rt} = \mathbf{A}\xi e^{rt} \tag{1.11}$$

CAPÍTULO 1. ECUACIONES DIFERENCIALES
1.4. SISTEMAS DE ECUACIONES DIFERENCIALES HOMOGÉNEAS CON
COEFICIENTES CONSTANTES

Una vez que se cancela el factor escalar diferente de cero e^{rt} se obtiene

$$\mathbf{A}\xi = r\xi \quad (1.12)$$

o bien

$$(\mathbf{A} - r\mathbf{I})\xi = 0 \quad (1.13)$$

Por lo tanto, para determinar r y ξ es necesario resolver el problema de eigenvalores y eigenvectores.

Un ejemplo de un sistema de ecuaciones diferenciales con coeficientes constantes es el siguiente

$$x' = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 4 & 1 \end{bmatrix} x \quad (1.14)$$

Suponemos que $x = \xi e^{rt}$, sustituyendo este valor de "x" y su derivada en la ecuación 1.14, tenemos que

$$\begin{bmatrix} 1-r & 1 \\ 4 & 1-r \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \xi_1 \\ \xi_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (1.15)$$

La ecuación 1.15 tendrá una solución diferente de cero sí y sólo si el determinante de los coeficientes es cero, por lo tanto

$$\begin{vmatrix} 1-r & 1 \\ 4 & 1-r \end{vmatrix} = (1-r)^2 - 4 = r^2 - 2r - 3 = 0 \quad (1.16)$$

Las raíces de la ecuación 1.16 y eigenvalores de la ecuación 1.14 son $r_1 = 3$ y $r_2 = -1$. Para $r_1 = 3$ la ecuación 1.14 se reduce a

$$-2\xi_1 + \xi_2 = 0 \quad (1.17)$$

Por lo tanto $\xi_2 = 2\xi_1$ y el eigenvector correspondiente a $r_1 = 3$ lo escribimos como

$$\xi^1 = \begin{bmatrix} 1 \\ 2 \end{bmatrix} \quad (1.18)$$

De manera análoga, para $r_2 = -1$ tenemos que $\xi_2 = -2\xi_1$, por lo tanto

$$\xi^2 = \begin{bmatrix} 1 \\ -2 \end{bmatrix} \quad (1.19)$$

Las soluciones de la ecuación 1.14 son

$$x^1 = \begin{bmatrix} 1 \\ 2 \end{bmatrix} e^{3t} \quad x^2 = \begin{bmatrix} 1 \\ -2 \end{bmatrix} e^{-t} \quad (1.20)$$

El Wronskiano de estas soluciones es

$$W[x^1, x^2](t) = \begin{vmatrix} e^{3t} & e^{-t} \\ 2e^{3t} & -2e^{-t} \end{vmatrix} = -4e^{2t} \quad (1.21)$$

Para diferentes valores de "t" la ecuación 1.21 nunca será cero, por lo tanto x^1 y x^2 son linealmente independientes y forman un conjunto fundamental. La solución general del sistema 1.14 es

$$x = C_1 \begin{bmatrix} 1 \\ 2 \end{bmatrix} e^{3t} + C_2 \begin{bmatrix} 1 \\ -2 \end{bmatrix} e^{-t} \quad (1.22)$$

Donde C_1 y C_2 son constantes arbitrarias.

1.5. Matrices Fundamentales

Supóngase que x^1, \dots, x^n forman un conjunto fundamental de soluciones de la ecuación

$$x' = P(t)x \quad (1.23)$$

sobre algún intervalo $\alpha < t < \beta$, entonces se dice que la matriz

$$\Psi(t) = \begin{bmatrix} x_1^1(t) & \cdot & \cdot & \cdot & x_1^n(t) \\ \cdot & & & & \cdot \\ \cdot & & & & \cdot \\ \cdot & & & & \cdot \\ x_n^1(t) & \cdot & \cdot & \cdot & x_n^n(t) \end{bmatrix} \quad (1.24)$$

cuyas columnas es el conjunto fundamental de soluciones, es una Matriz Fundamental. La solución general se puede escribir como

$$x = \Psi(t)c \quad (1.25)$$

en donde c es un vector constante con componentes arbitrarias c_1, \dots, c_n y la solución con valor inicial es

$$x = \Psi(t)\Psi(t_0)^{-1}x^0 \quad (1.26)$$

Es importante mencionar que para un problema con valor inicial dado, resolvemos generalmente la ecuación

$$\Psi(t_0)c = x^0 \quad (1.27)$$

utilizando el método de reducción de renglones. Una vez encontrada c se sustituye en la ecuación 1.25.

Como ejemplo podemos considerar nuevamente el sistema 1.14 y escribir al conjunto fundamental de soluciones de forma matricial como sigue

$$x = \Psi(t)c = \begin{bmatrix} e^{3t} & e^{-t} \\ 2e^{3t} & -2e^{-t} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \end{bmatrix} \quad (1.28)$$

Suponiendo que las condiciones iniciales son

$$x^0 = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad (1.29)$$

y sustituyendo en la ecuación 1.27 obtenemos que

$$\begin{bmatrix} 1 \\ 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 2 & -2 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \end{bmatrix} \quad (1.30)$$

Reduciendo por renglones la ecuación 1.30, obtenemos los siguientes valores de las constantes

$$\begin{bmatrix} c_1 \\ c_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{1}{2} \\ \frac{1}{2} \end{bmatrix} \quad (1.31)$$

Por lo tanto la solución general del sistema 1.30, dadas las condiciones iniciales es

$$x = \Psi(t)c = \begin{bmatrix} e^{3t} & e^{-t} \\ 2e^{3t} & -2e^{-t} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} \frac{1}{2} \\ \frac{1}{2} \end{bmatrix} \quad (1.32)$$

1.6. Sistemas lineales no homogéneos

Para poder resolver sistemas del tipo

$$x' = \mathbf{A}x + g(t) \quad (1.33)$$

Es necesario encontrar los eigenvectores y eigenvalores de la matriz de coeficientes de la ecuación homogénea 1.33, para ello hacemos que $g(t) = 0$. Posteriormente Se define una matriz \mathbf{T} , cuyas columnas son los Eigenvectores ξ^1, \dots, ξ^n de \mathbf{A} y una nueva variable "y" tal que $x = \mathbf{T}y$. Al sustituir x en la ecuación 1.33 se obtiene:

$$\mathbf{T}y' = \mathbf{A}\mathbf{T}y + g(t) \quad (1.34)$$

Al multiplicar por T^{-1} se concluye que

$$y' = (\mathbf{T}^{-1}\mathbf{A}\mathbf{T})y + \mathbf{T}^{-1}g(t) = \mathbf{D}y + h(t) \quad (1.35)$$

donde \mathbf{D} es la matriz diagonal cuyos elementos en la diagonal son los Eigenvalores

CAPÍTULO 1. ECUACIONES DIFERENCIALES
1.6. SISTEMAS LINEALES NO HOMOGÉNEOS

r_1, \dots, r_n de \mathbf{A} . Por lo tanto la ecuación 1.35 es un sistema de n ecuaciones diferenciales no acopladas para $y_1(t), \dots, y_n(t)$; como consecuencia las ecuaciones pueden resolverse por separado, ya que, ahora tienen una configuración escalar, por lo tanto, la ecuación 1.35 queda de la forma

$$y'_j(t) = r_j y_j(t) + h_j(t) \quad j = 1, \dots, n \quad (1.36)$$

Estas ecuaciones son lineales y de primer orden, pueden resolverse de manera sencilla. Un ejemplo de un sistema lineal no homogéneo es

$$x' = \begin{bmatrix} -2 & 1 \\ 1 & -2 \end{bmatrix} x + \begin{bmatrix} 2e^{-t} \\ 3t \end{bmatrix} \quad (1.37)$$

haciendo los cálculos necesarios, tenemos que los eigenvalores de la matriz de coeficientes de 1.37 son $r_1 = -3$ y $r_2 = -1$ y los eigenvectores que corresponden a estos eigenvalores son

$$\xi^1 = \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \end{bmatrix} \quad \xi^2 = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \end{bmatrix} \quad (1.38)$$

Por lo tanto la matriz \mathbf{T} cuyas columnas contienen a los eigenvalores de la matriz de coeficientes del sistema 1.37 es

$$\mathbf{T} = \begin{bmatrix} 1 & 1 \\ -1 & 1 \end{bmatrix} \quad (1.39)$$

Ahora es necesario encontrar la inversa de la matriz 1.39. Realizando las operaciones necesarias, encontramos que

$$\mathbf{T}^{-1} = \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 1 & -1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix} \quad (1.40)$$

Tomando en cuenta que $x = \mathbf{T}y$ y utilizando la ecuación 1.35 nos queda que

$$y' = \begin{bmatrix} -3 & 0 \\ 0 & -1 \end{bmatrix} y + \frac{1}{2} \begin{bmatrix} 2e^{-t} - 3t \\ 2e^{-t} + 3t \end{bmatrix} \quad (1.41)$$

Por lo tanto, ahora tendremos por separado, dos ecuaciones diferenciales lineales no homogéneas, en su forma escalar y que no están acopladas.

$$y'_1 - 3y = e^{-t} - \frac{3}{2}t \quad (1.42)$$

$$y'_2 + y = e^{-t} + \frac{3}{2}t$$

Estas ecuaciones pueden ser resueltas de manera sencilla, multiplicando ambos lados de las ecuaciones por un factor integrante para posteriormente integrar.

1.7. Métodos Numéricos

1.7.1. Método de Euler

Supóngase una ecuación diferencial de primer orden

$$\frac{dy}{dt} = f(t, y) \tag{1.43}$$

con valor inicial $y(t_0) = y_0$. Suponemos que la ecuación diferencial tiene una solución única en el intervalo de interés.

Este método trata de calcular valores aproximados $y_0, y_1, y_2, \dots, y_n$ de la solución Φ en un conjunto de puntos $t_0 < t_1 < \dots < t_n$.

Con base en la condición inicial se sabe que $\Phi(t_0) = y_0$, aunque en general $\Phi(t_n) \neq y_n$ para $n \geq 1$. Se utiliza un espaciamiento h tal que $t_1 = t_0 + h$ y en general $t_n = t_0 + nh$. Como se conocen t_0 y y_0 también se conoce la pendiente de la recta tangente en esos puntos, es decir, $\Phi'(t_0) = f(t_0, y_0)$ y por lo tanto es posible obtener un valor aproximado y_1 de $\Phi(t_1)$ al desplazarse a lo largo de la recta tangente desde t_0 a t_1 y por lo tanto

$$y_1 = y_0 + \Phi'(t_0)(t_1 - t_0) \tag{1.44}$$

Una vez que se determina y_1 , es posible calcular $y'_1 = f(t_1, y_1)$ y aplicar este valor como la pendiente de una aproximación al moverse de t_1 a t_2 por lo tanto

$$y_2 = y_1 + (y'_1)(t_2 - t_1) \tag{1.45}$$

La fórmula general para la aproximación de Euler es

$$y_{n+1} = y_n + f(t_n, y_n)(t_{n+1} - t_n) \tag{1.46}$$

O bien

$$y_{n+1} = y_n + f(t_n, y_n)h \quad n = 0, 1, 2, \dots \tag{1.47}$$

1.7.2. Método de Runge - Kutta

Otro mecanismo para resolver numéricamente el problema con valor inicial $y' = f(t, y)$ con $y(t_0) = y_0$ es a través de la fórmula de Runge - Kutta, la cual, comprende un promedio ponderado de valores de $f(t, y)$ tomados en diferentes puntos del intervalo $t_n \leq t \leq t_{n+1}$. Esta fórmula es representada por

$$y_{n+1} = y_n + \frac{h}{6}(k_{n1} + 2k_{n2} + 2k_{n3} + k_{n4}) \tag{1.48}$$

tal que

$$\begin{aligned}
 k_{n1} &= f(t_n, y_n) \\
 k_{n2} &= f\left(t_n + \frac{1}{2}h, y_n + \frac{1}{2}hk_{n1}\right) \\
 k_{n3} &= f\left(t_n + \frac{1}{2}h, y_n + \frac{1}{2}hk_{n2}\right) \\
 k_{n4} &= f(t_n + h, y_n + hk_{n3})
 \end{aligned}
 \tag{1.49}$$

1.8. Linealización

Se considera un sistema autónomo no lineal

$$x' = f(x) \tag{1.50}$$

Ahora escribimos el sistema no lineal general en la forma escalar:

$$\begin{aligned}
 x' &= F(x, y) \\
 y' &= G(x, y)
 \end{aligned}
 \tag{1.51}$$

El sistema es casi lineal en la vecindad de un punto crítico (x_0, y_0) siempre que las funciones F y G tengan derivadas parciales continuas hasta el orden dos.

Aplicando un Desarrollo de Taylor sobre los puntos (x_0, y_0) para escribir a $F(x, y)$ y $G(x, y)$ en la forma

$$\begin{aligned}
 F(x, y) &= F(x_0, y_0) + F_x(x_0, y_0)(x - x_0) + F_y(x_0, y_0)(y - y_0) + \eta_1(x, y) \\
 G(x, y) &= G(x_0, y_0) + G_x(x_0, y_0)(x - x_0) + G_y(x_0, y_0)(y - y_0) + \eta_2(x, y)
 \end{aligned}
 \tag{1.52}$$

en donde $\eta_1(x, y)/[(x-x_0)^2+(y-y_0)^2]^{1/2} \rightarrow 0$ cuando $(x, y) \rightarrow (x_0, y_0)$ y de manera semejante para η_2 . Nótese que $F(x_0, y_0) = G(x_0, y_0) = 0$ y que $dx/dt = d(x - x_0)/dt$ y $dy/dt = d(y - y_0)/dt$. Entonces el sistema 1.8 se reduce a

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} x - x_0 \\ y - y_0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} F_x(x_0, y_0) & F_y(x_0, y_0) \\ G_x(x_0, y_0) & G_y(x_0, y_0) \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x - x_0 \\ y - y_0 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} \eta_1(x, y) \\ \eta_2(x, y) \end{bmatrix} \tag{1.53}$$

o, en notación vectorial:

$$\frac{du}{dt} = \frac{df}{dx}(x^0)u + \eta(x) \tag{1.54}$$

En donde $u^T = (x - x_0, y - y_0)$ y $\eta = (\eta_1, \eta_2)^T$.

Como ejemplo, consideramos las ecuaciones del péndulo para hallar un sistema lineal correspondiente, que lo describa cerca del origen y cerca del punto $(\pi, 0)$. Tomando en cuenta que $x = \theta$ y $y = d\theta/dt$, podemos escribir las ecuaciones del péndulo de la siguiente manera:

$$\frac{dx}{dt} = y \quad \frac{dy}{dt} = -\frac{g}{l} \sin x \tag{1.55}$$

Para poder aplicar la ecuación 1.53 consideramos que

$$F(x, y) = y \quad G(x, y) = -\frac{g}{l} \sin x \quad (1.56)$$

Derivando las ecuaciones 1.55 obtenemos

$$F_x = 0 \quad F_y = 1 \quad G_x = -\frac{g}{l} \cos x \quad G_y = 0 \quad (1.57)$$

Por lo tanto, en el origen, el sistema lineal correspondiente es

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 & 1 \\ -g/l & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} x \\ y \end{bmatrix} \quad (1.58)$$

De manera semejante, para el punto $(\pi, 0)$ se obtiene

$$\frac{d}{dt} \begin{bmatrix} u \\ v \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 & 1 \\ -g/l & 0 \end{bmatrix} \begin{bmatrix} u \\ v \end{bmatrix} \quad (1.59)$$

En donde $u = x - \pi$ y $v = y$.

Capítulo 2

Dinámica del Calcio celular

2.1. El calcio en el cuerpo

El calcio es importante para muchas funciones celulares. Tiene un papel crucial en células del cabello, células cardiacas, la mecánica muscular etc.

Hay una serie de mecanismos de control de Ca^{2+} que operan en diferentes niveles, todos diseñados para asegurar que el Ca^{2+} esté presente en cantidades suficientes para realizar funciones necesarias.

Altas y prolongadas concentraciones de Ca^{2+} citoplasmático son tóxicas. Por ejemplo, la sobrecarga de Ca^{2+} celular puede desencadenar la muerte celular apoptótica, un proceso en el cual la célula se mata a si misma.

En las células musculares, el Ca^{2+} intracelular alto es responsable de la tensión muscular prolongada y del rigor mortis.

El calcio se extrae del citoplasma de dos maneras principales: se bombea fuera de la célula a través de la membrana plasmática o se aísla en compartimentos internos confinados a la membrana, como las mitocondrias, el retículo endoplásmico (RE), el retículo sarcoplásmico (RS) y los gránulos secretores. Dado que la concentración de Ca^{2+} en el citoplasma es muy inferior a la concentración extra celular o a la concentración dentro de los compartimentos internos, ambos métodos de eliminación de Ca^{2+} requieren un gasto de energía.

También hay un intercambiador de Na^+ y Ca^{2+} (NCX) en la membrana celular que utiliza la energía del gradiente electroquímico de Na^+ para eliminar el Ca^{2+} de la célula a expensas de la entrada de Na^+ .

Muchos tipos de células responden a la estimulación agonista con oscilaciones en la concentración de Ca^{2+} . Estas oscilaciones se pueden agrupar en dos tipos principales: las que dependen del potencial periódico de la membrana celular y de la entrada periódica asociada de Ca^{2+} a través de canales de Ca^{2+} por tensión (por ejemplo, en las células cardíacas) o las que ocurren en la presencia de una lámpara de rayos X. En este último caso, se pueden hacer distinciones adicionales, ya sea que, las oscilaciones de Ca^{2+} se realicen a través de receptores de rianodina o InsP_3 .

CAPÍTULO 2. DINÁMICA DEL CALCIO CELULAR

2.1. EL CALCIO EN EL CUERPO

En muchos tipos de células, una característica importante de las oscilaciones de Ca^{2+} dependientes del InsP_3 es que persisten durante algún tiempo en ausencia de Ca^{2+} extracelular (aunque a menudo con una forma y un período cambiados) y, por lo tanto, debe implicar necesariamente el transporte de Ca^{2+} hacia y desde los almacenes internos.

Las oscilaciones de calcio han sido implicadas en una amplia gama de procesos de control celular como: la activación de ovocitos en la fertilización, el crecimiento axonal, la migración celular, el desarrollo de músculos etc. En muchos casos, las oscilaciones son una señal codificada en frecuencia que permite a una célula utilizar el Ca^{2+} como segundo mensajero, al tiempo que se evitan los efectos tóxicos de una concentración alta y prolongada de Ca^{2+} .

El período de oscilaciones en función del InsP_3 oscila entre unos pocos segundos y unos pocos minutos. En algunos tipos de células estas oscilaciones parecen ocurrir a una concentración constante de InsP_3 , mientras que en otros tipos de células parecen estar impulsadas por oscilaciones de InsP_3 .

Existen múltiples variedades de mecanismos que controlan las oscilaciones de Ca^{2+} , y no es posible esperar que un solo modelo pueda capturar los comportamientos importantes en todos los tipos de células. Sin embargo, la mayoría de los modelos tienen mucho en común, y pueden complementarse unos con otros.

A menudo, las oscilaciones de Ca^{2+} no ocurren uniformemente en toda la célula, sino que están organizadas en ondas intracelulares repetitivas. Se ha observado que las ondas intracelulares desarrollan un alto grado de organización espacial, formando círculos concéntricos, ondas planas, y espirales múltiples. Además de viajar a través de células individuales, las ondas de Ca^{2+} pueden transmitirse entre células, formando ondas intercelulares que pueden viajar a través de muchas células. Tales ondas intercelulares han sido observadas en hígados intactos, rebanadas de tejido cerebral hipocampal, cultivos epiteliales y gliales y muchas otras preparaciones.

Se cree ampliamente que en muchos tipos de células, las ondas intracelulares de Ca^{2+} son impulsadas por la difusión de Ca^{2+} entre los sitios encargados de liberar este ion. De acuerdo con esta hipótesis, el Ca^{2+} descargado por un grupo de sitios de liberación se difunde a las reservas de liberación vecinas, iniciando aún más dispensación de Ca^{2+} . La repetición de este proceso puede generar un frente de onda en avance de alta concentración de Ca^{2+} .

2.2. Membrana Celular

La membrana celular proporciona un límite que separa los trabajos internos de la célula del ambiente externo. Permite el paso libre de algunos materiales y restringe el de otros. La membrana está compuesta de una bicapa de moléculas de fosfolípidos. El término lípido es utilizado para categorizar moléculas altamente energéticas insolubles en agua. A través de la bicapa de fosfolípidos se encuentran dispersas proteínas globulares que pueden moverse libremente, brindándole a la membrana celular una apariencia líquida.

La membrana actúa como una barrera selectiva para el flujo de agua y los iones disueltos en el líquido. Las moléculas pueden atravesar la membrana mediante un transporte pasivo o activo. El proceso activo requiere del gasto de energía, mientras que el pasivo resulta solamente del movimiento inherente y aleatorio de las moléculas. A este proceso se le llama Ósmosis y consiste en la difusión del agua a través de células debido a la diferencia de concentraciones.

La difusión simple explica el paso de pequeñas moléculas por medio de poros y moléculas liposolubles, ubicadas en la bicapa lipídica. Por ejemplo, el agua, la urea y los iones Cl^- hidratados se difunden por los poros de la membrana. El sodio y los iones K^+ pasan por canales específicos de iones.

Las diferencias de concentración entre células son establecidas y mantenidas por mecanismos activos que utilizan energía para bombear iones en contra de su gradiente de concentración. Uno de los procesos más importantes es el intercambio entre Na^+ y K^+ , que utiliza la energía almacenada en las moléculas de ATP para bombear Na^+ fuera de la célula y K^+ dentro. Otra bomba, la Ca^{2+} ATPasa, bombea Ca^{2+} fuera de la célula o al retículo endoplasmático.

Las diferencias en las concentraciones iónicas crean una diferencia de potencial a través de la membrana celular que genera corrientes iónicas. El agua es absorbida por la célula debido a las diferencias de concentración de estos iones y también por otras grandes moléculas contenidas en la célula, cuya presencia proporciona una presión osmótica para la absorción del agua. Es el equilibrio de estas fuerzas lo que regula tanto el volumen celular como el potencial de la membrana.

2.3. Difusión a través de una membrana: Ley de Ohm

Supongamos que una membrana de espesor L separa dos grandes depósitos de un producto químico diluido, con concentración c_l a la izquierda ($x = 0$), y concentración c_r a la derecha ($x = L$).

Partiendo de la Ley de Fick, suponemos que el flujo de químicos es constante y por lo tanto no depende de x . De esta manera obtenemos la ecuación:

$$J = \frac{D}{L}(c_l - c_r) \quad (2.1)$$

$\frac{D}{L}$ es llamada conductancia o permeabilidad por unidad de área.

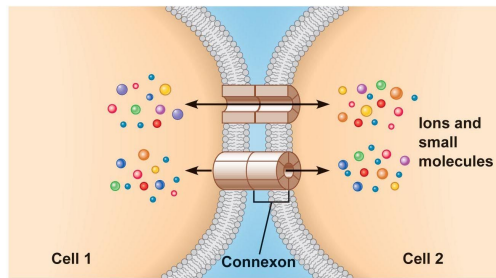
2.4. Proceso Ca^{2+} ATPasa

Los primeros modelos de la bomba de Ca^{2+} ATPasa eran del tipo ecuación de Hill. Datos mostraron que el flujo de calcio a través de la ATPasa era aproximadamente una función sigmoideal de la concentración de calcio " c ", con coeficientes de Hill con valores alrededor de 2. Así, un modelo común es [11]:

$$J = \frac{V_p c^2}{K_p^2 + c^2} \quad (2.2)$$

Esta ecuación se verá con mayor detenimiento en el capítulo siguiente.

2.5. Uniones comunicantes (Gap Junctions)



(a) Direct communication through gap junctions
© 2011 Pearson Education, Inc.

Figura 2.1

[14]

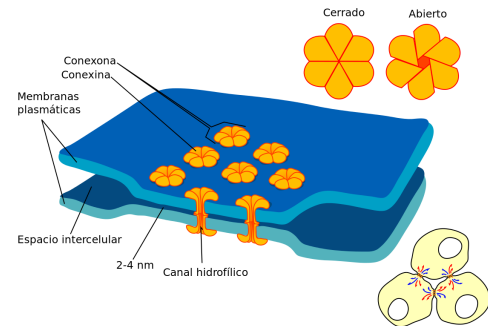


Figura 2.2

[2]

Las uniones comunicantes (uniones en hendidura) son pequeños canales no selectivos que forman conexiones intercelulares directas, permitiendo el flujo de iones y otras moléculas pequeñas. Estos huecos formados por proteínas llamadas Conexonas poseen terminaciones hexagonales [2]. Estas estructuras pueden abrirse y cerrarse. La disminución del pH, el aumento de las concentraciones intracelulares de Ca^{2+} y algunos estímulos fisiológicos, como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF), cierran la unión de comunicación. Las uniones gap son el fundamento de las sinapsis eléctricas, y se encuentran en relación con esta función en el tejido cardíaco, en la musculatura lisa, en la retina y también en el cerebro, en conexiones que afectan a neuronas, células gliales etc [11].

Capítulo 3

Modelación de la dinámica de Ca^{2+} para una célula aislada

Estimulaciones externas a la célula generadas por señales hormonales desencadenan un aumento constante de InsP_3 (Trifosfoinositol) dentro de las células. El InsP_3 suscita la proliferación de Ca^{2+} intracelular en orgánulos como el Retículo Endoplasmático y el aparato de Golgi. Estos orgánulos forman parte de las reservas sensibles a la molécula de InsP_3 . Los efectos de esta molécula sobre las reservas sensibles consiste en un desencadenamiento, incremento y liberación del ion de calcio hacia el citosol. En determinadas concentraciones de Ca^{2+} , la dinámica intracelular del ion se vuelve periódica, formándose señales de comunicación celular con mensajes dependientes de la frecuencia [10]. El Ca^{2+} citosólico liberado por las reservas sensibles al InsP_3 es absorbido por reservas intracelulares insensibles a esta molécula. Estas reservas posteriormente expulsarán al citosol concentraciones de Ca^{2+} más grandes a las absorbidas. El modelo para la dinámica de calcio dentro de una célula, es descrito mediante un par de ecuaciones diferenciales acopladas [10]. Las variables del modelo son:

$Z \rightarrow$ Concentración de calcio libre en el citosol

$Y \rightarrow$ Concentración de calcio en la reserva insensible a InsP_3

**CAPÍTULO 3. MODELACIÓN DE LA DINÁMICA DE Ca^{2+} PARA UNA
CÉLULA AISLADA**

Ya que la periodicidad en la dinámica de calcio dentro de la célula puede ocurrir entre el citosol y la reserva insensible a $InsP_3$ se propone una afluencia neta y constante de calcio en la reserva sensible a $InsP_3$, por lo tanto, la tasa de cambio de esta reserva a través del tiempo será igual a cero.

Las ecuaciones diferenciales que describen al sistema están definidas como:

$$\frac{dZ}{dt} = V_0 + V_1\beta - V_2 + V_3 + K_fY - KZ \quad (3.1)$$

$$\frac{dY}{dt} = V_2 - V_3 - K_fY \quad (3.2)$$

Los parámetros que aparecen en el par de ecuaciones diferenciales corresponden a:

$V_0 \rightarrow$ *Entrada extracelular de Ca^{2+} en el citosol*

$K \rightarrow$ *Flujo de Ca^{2+} citosólico de la célula al exterior*

$K_f \rightarrow$ *Fuga pasiva de Y a Z*

$V_1 \rightarrow$ *Tasa constante de calcio debido al $InsP_3$*

$V_2 \rightarrow$ *Tasa de bombeo de Ca^{2+} desde el citosol hacia el almacén insensible a $InsP_3$*

$V_3 \rightarrow$ *Tasa de transporte desde Y hacia el citosol*

$\beta \rightarrow$ *Función de saturación (dependiente de la cantidad de $InsP_3$)*

Si al proceso de bombeo, hacia y desde la reserva insensible a $InsP_3$, se le asocia una naturaleza cooperativa, una manera útil de definir los parámetros " V_2 " y " V_3 " sería por medio de ecuaciones de Hill.

$$V_2 = V_{M_2} \frac{Z^n}{K_2^n + Z^n} \quad (3.1)$$

$$V_3 = V_{M_3} \frac{Y^m}{K_R^m + Y^m} \frac{Z^p}{K_A^p + Z^p}$$

CAPÍTULO 3. MODELACIÓN DE LA DINÁMICA DE Ca^{2+} PARA UNA CÉLULA AISLADA

En estas ecuaciones tenemos lo siguiente:

V_{M_2} y $V_{M_3} \rightarrow$ Denota respectivamente las tasas máximas de Ca^{2+} hacia y desde el almacén insensible

n y $m \rightarrow$ coeficientes de cooperatividad

$p \rightarrow$ Grado de cooperatividad del proceso de activación

$K_2, K_R, K_A \rightarrow$ Constantes de umbral para el bombeo, liberación y activación de Ca^{2+} respectivamente. Estas constantes provienen de la ley de acción de masas a través de la relación matemática que involucra las concentraciones de los compuestos químicos que se forman en una reacción de disociación

Integrando las ecuaciones y proporcionando valores a los parámetros dentro de un rango fisiológico, obtenemos la gráfica de la Figura 3.1

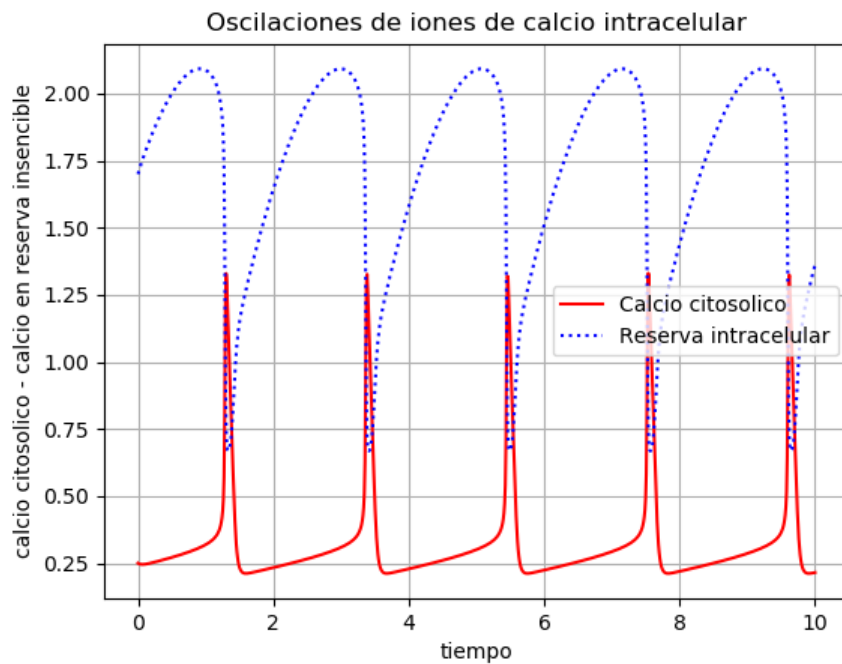


Figura 3.1

La gráfica continua representa el calcio citosólico y la punteada el calcio en la reserva insensible a $InsP_3$. Los valores utilizados son los siguientes [10]:

$V_0 = 1 \mu M \cdot s^{-1}$, $K = 10 s^{-1}$, $K_f = 1 s^{-1}$, $V_1 = 7,3 \mu M \cdot s^{-1}$, $V_{M_2} = 65 \mu M \cdot s^{-1}$, $V_{M_3} = 500 \mu M \cdot s^{-1}$, $K_2 = 1 \mu M$, $K_R = 2 \mu M$, $K_A = 0,9 \mu M$, $m = n = 2$ y $p = 4$.

CAPÍTULO 3. MODELACIÓN DE LA DINÁMICA DE Ca^{2+} PARA UNA CÉLULA AISLADA

Los picos periódicos de Ca^{2+} pueden desarrollarse en ausencia de estimulación externa, es decir, igualando a cero " $V_1\beta$ ", siempre y cuando, se otorguen valores suficientemente grandes a " V_0 " o valores suficientemente pequeños a " K ". El aumento de iones de calcio también puede ser inducido por la cafeína, provocando la disminución en la constante de umbral (" K_R ") para la liberación de Ca^{2+} en el almacén insensible. Esta visión se ampara matemáticamente al observarse picos modificando los valores de " K_R " al modelo.

Capítulo 4

Modelación de redes

La ciencia de las redes ha producido nuevas perspectivas, preguntas de investigación y herramientas analíticas para estudiar sistemas de diversas disciplinas como: la biología, la ecología, la sociología, la economía, ciencia política, la ingeniería, la medicina etc.

Las raíces históricas de las redes científicas se adquieren principalmente de la Teoría de Grafos, la cual estudia estructuras abstractas hechas de nodos (vértices) y aristas llamadas Grafos [1].

El estudio de redes se centra en las conexiones e interacciones de los componentes de un sistema, no sólo de cada componente individual. Los componentes del sistema pueden no estar conectados de manera uniforme y regular [13].

Para facilitar el estudio, se han estructurado diferentes clases para analizar la modelación de redes dinámicas. A continuación se presentan las más relevantes.

4.1. Dinámica en las redes

En estos modelos los estados de las componentes o nodos cambian con el tiempo a través de interacciones con otros nodos.

Las conexiones están representadas por enlaces de una red, donde la topología de la red está fija con el tiempo. Los autómatas celulares, las redes booleanas y las redes neuronales (sin aprendizaje) pertenecen a esta clase.

4.2. Dinámica de redes

Estos modelos presentan cambios dinámicos en la propia topología de la red a lo largo del tiempo.

Hoy en día la dinámica de redes es particularmente importante en la ciencia debido a la creciente disponibilidad de datos en procesos interactivos que se modifican con el tiempo.

4.3. Redes Adaptativas

Estos modelos describen la evolución de la dinámica en y de las redes, donde los estados de los nodos y las topologías de la red cambian dinámicamente, adaptándose entre sí.

Las redes adaptativas tratan de unificar diferentes modelos dinámicos de redes para proporcionar un modelo generalizado en sistemas complejos.

4.4. Modelos de Reacción-Difusión

Los modelos de reacción-difusión son sistemas continuos cuyas ecuaciones están formadas únicamente por términos de reacción y términos de difusión, como se muestra a continuación:

$$\begin{aligned}\frac{\partial f_1}{\partial t} &= R_1(f_1, f_2, \dots, f_n) + d_1 \nabla^2 f_1 \\ \frac{\partial f_2}{\partial t} &= R_2(f_1, f_2, \dots, f_n) + d_2 \nabla^2 f_2 \\ &\cdot \\ &\cdot \\ &\cdot \\ \frac{\partial f_n}{\partial t} &= R_n(f_1, f_2, \dots, f_n) + d_n \nabla^2 f_n\end{aligned}\tag{4.1}$$

Los términos de reacción describen sólo la dinámica local, sin ningún derivado espacial involucrado, mientras que los términos de difusión se limitan al Laplaciano de la variable de estado.

Hay varias razones por las que los sistemas de reacción-difusión han sido una opción popular entre modeladores matemáticos de fenómenos espacio temporales. En primer lugar, la clara separación entre la dinámica no espacial y la espacial hace que la modelación y simulación sea sencilla. En segundo lugar, crear un modelo difusivo es la manera más sencilla de originar movimiento espacial a un modelo dinámico no espacial.

A pesar de la simplicidad matemática, los modelos de reacción-difusión pueden mostrar una dinámica espacio-temporal compleja [13].

Un ejemplo de un sistema de reacción-difusión son los modelos de Turing. Una versión lineal de éstos, tienen la siguiente forma:

$$\begin{aligned}\frac{\partial u}{\partial t} &= a(u - h) + b(v - k) + D_u \nabla^2 u \\ \frac{\partial v}{\partial t} &= c(u - h) + d(v - k) + D_v \nabla^2 v\end{aligned}\tag{4.2}$$

CAPÍTULO 4. MODELACIÓN DE REDES
4.4. MODELOS DE REACCIÓN-DIFUSIÓN

Las variables de estado u y v representan concentraciones de dos especies químicas. a , b , c y d son parámetros que determinan el comportamiento de los términos de reacción, mientras que h y k son constantes. Finalmente D_u y D_v son constantes de difusión.

Ignorando los términos de difusión, es fácil darse cuenta que este sistema sólo tiene un punto de equilibrio $(u_{eq}, v_{eq}) = (h, k)$. Este punto de equilibrio puede ser estable para muchos valores de a , b , c y d . Si ahora agregamos a las ecuaciones dimensiones espaciales y términos de difusión, podemos desestabilizar el equilibrio y por lo tanto el sistema puede auto organizarse espontáneamente en un patrón no homogéneo. Esto se denomina inestabilidad inducida por la difusión o inestabilidad de Turing.

Capítulo 5

Simulación de la terapia fotodinámica

5.1. Efectos de la terapia fotodinámica

Los efectos de radiación ionizante en células tumorales, incluyen la alteración de genes, daños al ADN, mutación, transformación maligna o la muerte celular. La terapia Fotodinámica se basa en la "Fotoquímica", empleada principalmente en Oncología, Oftalmología y Dermatología. Utilizando como herramienta un producto químico sensible a la luz (fotosensibilizador) y luz de longitudes de onda apropiadas para impartir citotoxicidad mediante la generación de Oxígeno Singlete y otras especies moleculares reactivas. Es de suma importancia resaltar que, debido al estrés fotodinámico, se ven afectadas de forma concomitante enzimas y orgánulos como la Mitocondria y el Retículo Endoplasmático. La terapia Fotodinámica está implicada en procesos apoptóticos, mediante el aumento de la concentración celular de Óxido Nítrico (NO) y la alteración de la autorregulación (homeostasis) en los iones de Calcio (Ca^{2+}).

5.2. Proceso Experimental

Bajo condiciones estandar, se cultivaron células de carcinoma de colon de ratón (C26GM) y se cargaron con un fotosensibilizador (AICIPc) durante 60 segundos en un área de $5 \mu\text{m}$ de diámetro de una sola célula a una irradiancia de $60 \mu\text{W}/\mu\text{m}^2$, utilizando un láser de estado sólido bombeado por diodos de 671 nm conectado a un microscopio de fluorescencia. Mediante captura de imágenes se determinó que la fotoactivación de AICIPc causó el aumento en los niveles citosólicos de NO y Ca^{2+} en células aledañas sobre el campo de visión de $300 \mu\text{m}$ de diámetro. dentro del rango de las 24 horas siguientes a la lesión fotodinámica focal, el proceso, bajo el campo de visión, produjo una despoblación celular casi completa. El incremento máximo de Ca^{2+} ocurrió sólo $9.8 \pm 1.0 \text{ s}$ después del inicio de la fotoestimulación. Las señales de Ca^{2+} se retrasaron progresivamente a una distancia cada vez mayor desde la célula irradiada, lo que corresponde a la propagación, célula a célula, de

una onda radial procedente de la célula irradiada [5].

5.3. Propagación de Ca^{2+} en redes celulares

Para este trabajo de tesis se programaron un par de redes celulares utilizando Python como lenguaje de programación. Los Scripts realizados simulan y grafican la propagación intercelular de iones de calcio utilizando como base las ecuaciones 3.1 y 3.2, las cuales, consideran una dinámica intracelular, por lo tanto, es necesario realizarle cambios en su estructura para adaptarlas a una dinámica intercelular (de redes). Los subíndices i y j representan respectivamente las filas y columnas de la red cuadrada. Las ecuaciones diferenciales empleadas son las siguientes:

$$\frac{dZ_{ij}}{dt} = -V_2 + r_{ij}V_3 + K_f Y_{ij} + D[(Z_{i(j-1)}) - Z_{ij}) + (Z_{i(j+1)} - Z_{ij}) + (Z_{(i-1)j} - Z_{ij}) + (Z_{(i+1)j} - Z_{ij})] \quad (5.1)$$

$$\frac{dY_{ij}}{dt} = V_2 - r_{ij}V_3 - K_f Y_{ij} \quad (5.2)$$

Para obtener el sistema 5.1 y 5.2 Se decidió remover de las ecuaciones 3.1 y 3.2 los términos V_0 y βV_1 , ya que, estos caracterizan a una célula aislada. El término KZ fue sustituido por los términos representativos de la difusión, es decir, $D[(Z_{i(j-1)} - Z_{ij}) + (Z_{i(j+1)} - Z_{ij}) + (Z_{(i-1)j} - Z_{ij}) + (Z_{(i+1)j} - Z_{ij})]$. Este cambio contempla a diversas células, se logra simular las uniones comunicantes (Gap Junctions) y sigue conservando la función que mantenían los términos V_0 y KZ en el caso de una sola célula, es decir, que el Ca^{2+} citosólico fluya al interior y exterior de ella.

El subíndice i representa las filas de la malla y el subíndice j las columnas. Para la simulación computacional se eligieron condiciones de Neumann a la frontera con flujo cero hacia el exterior de las mallas.

Por último se agregó el factor r_{ij} a las ecuaciones correspondientes a la célula incidida por el haz de luz del láser, puesto que, este factor es el encargado de simular la terapia fotodinámica. Para este trabajo se eligió una de las células ubicada en la esquina de la malla. Al realizar con el ordenador la solución numérica de las ecuaciones 5.1 y 5.2, el factor r toma un valor de 3 cuando el tiempo t toma valores de 0 a 80 segundos, si el tiempo t no se encuentra dentro de este rango, el factor r será igual a 1.

5.4. Simulación numérica

En el desarrollo del algoritmo de cómputo no hubo modificaciones en la topología de las redes y sólo se caracterizaron los nodos (células) que la conforman.

Python fue el lenguaje de programación empleado en la elaboración y solución de los modelos matemáticos, así como en el diseño de las redes. Para la estructuración del algoritmo de las redes se hizo uso de múltiples iteraciones sobre los índices de entrada de las respectivas ecuaciones diferenciales para cada célula de las redes, sin

utilizar ningún software o librería dedicada al estudio de gráficos y redes. Las redes planteadas en esta tesis buscan complementar los múltiples modelos existentes que describen la propagación de iones de calcio en células.

5.4.1. Red celular Unidimensional

Esta es la estructura de redes más simple, porque su funcionamiento sólo consiste en nodos (células) que interactúan sobre un mismo eje. De la Figura 5.1 a la 5.4 se muestra la concentración de iones de calcio de diez células a los 20, 70, 200 y 600 segundos después de aplicar por 80 segundos la terapia fotodinámica a la primera célula (célula número 1).

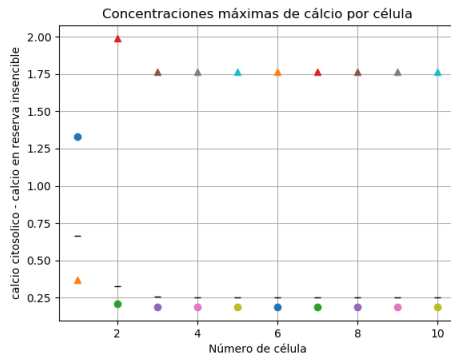


Figura 5.1: 20 segundos

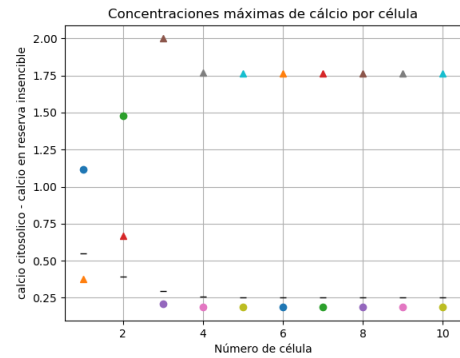


Figura 5.2: 70 segundos

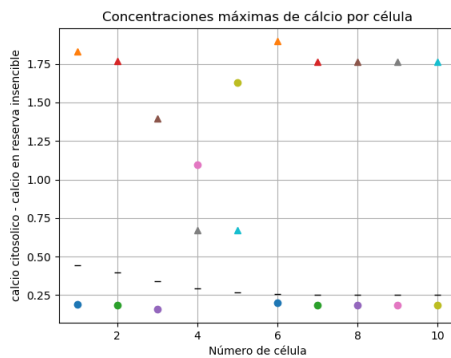


Figura 5.3: 200 segundos

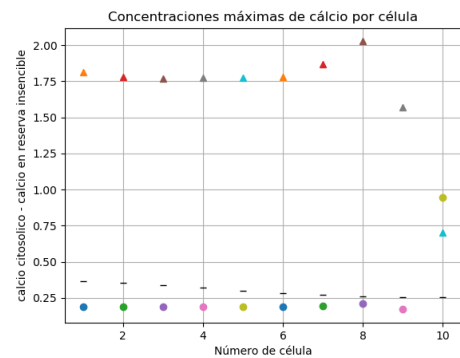


Figura 5.4: 600 segundos

Los círculos "●" representan la concentración de iones de calcio en el citosól y los triángulos "▲" la concentración en la reserva insensible a InsP_3 . Las líneas horizontales "—" representan únicamente una dinámica difusiva.

Es sencillo darse cuenta que la dinámica en las células está muy lejos de tener un comportamiento difusivo, más bien, se aproxima a la propagación de una onda.

A pesar de que el comportamiento se aproxime a un fenómeno tipo onda, no implica que sea como tal una, ya que, puede no cumplir con características inherentes que conforman una dinámica de esta naturaleza.

5.4.2. Red celular cuadrada

Este arreglo consiste en una matriz cuadrada de 300 píxeles, donde cada píxel de la matriz representa una célula. Esta red a diferencia de la red lineal, trata de representar una dinámica sobre tejido bidimensional, donde los colores en cada píxel de la malla son las concentraciones de iones de calcio en cada célula. Es posible hacer la misma representación agregando un eje extra para obtener una gráfica en tres dimensiones. De la Figura 5.5 a la 5.8 se muestra la red bajo un proceso puramente difusivo a los 70, 200, 600 y 2000 segundos.

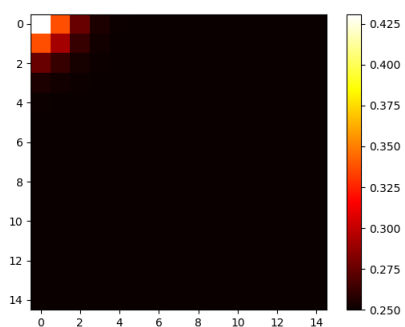


Figura 5.5: 70 segundos

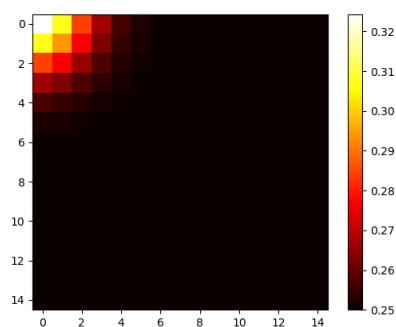


Figura 5.6: 200 segundos

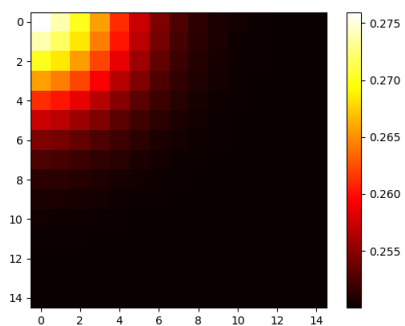


Figura 5.7: 600 segundos

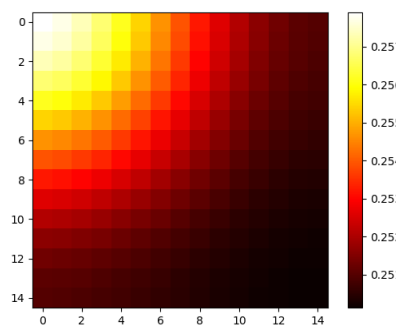


Figura 5.8: 2000 segundos

CAPÍTULO 5. SIMULACIÓN DE LA TERAPIA FOTODINÁMICA
5.4. SIMULACIÓN NUMÉRICA

De la Figura 5.9 a la 5.12 se representa la dinámica celular, tomando en cuenta todas las características celulares mencionadas en los capítulos anteriores. De esta manera, los tiempos evaluados en cada malla son: 4000, 6000, 10000 y 15000 segundos. Nuevamente se puede percibir un fenómeno de tipo ondulatorio.

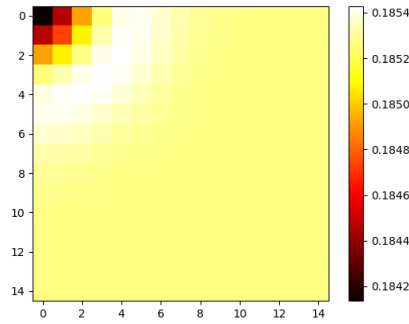


Figura 5.9: 4000 segundos

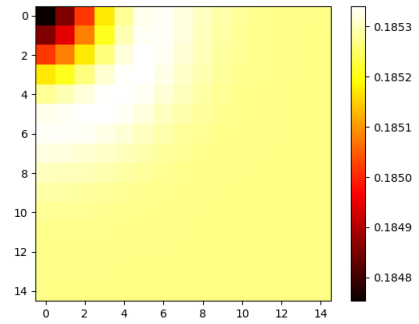


Figura 5.10: 6000 segundos

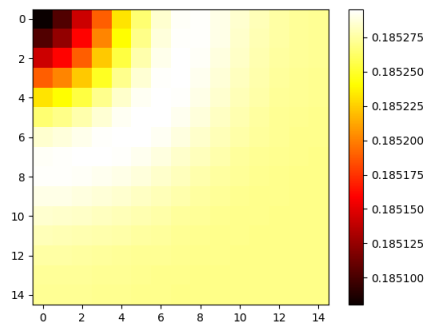


Figura 5.11: 10000 segundos

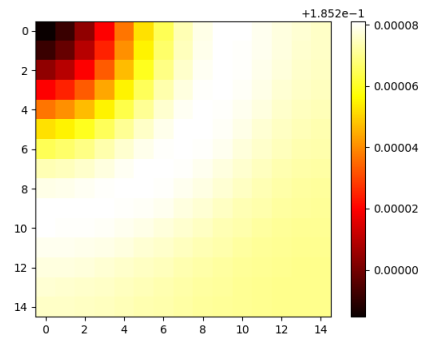


Figura 5.12: 15000 segundos

Conclusión

Una vez aplicado el instrumento de resolución numérica de las ecuaciones, desarrollado el algoritmo de redes y obtenido la información que de ello se generó con los respectivos análisis, se obtuvieron resultados que permiten presentar las siguientes conclusiones:

1. El modelo permite explicar cualitativamente la propagación de calcio intercelular observada en experimentos de terapia fotodinámica. Este modelo es un primer paso para inferir el radio de afectación de esta terapia.
2. Permite una mejor comprensión de la reducción de efectividad de la terapia fotodinámica en células cancerosas, abriendo la posibilidad de diseñar tratamientos mixtos donde se incluyan sustancias que aumenten la respuesta de la mitocondria a la terapia fotodinámica.
3. La dinámica de propagación intercelular de iones de calcio es similar a un fenómeno de tipo onda y no a la difusiva. Se demuestra, haciendo comparaciones, de la Figura 5.1 a la Figura 5.4, que los puntos y los triángulos de colores oscilan, mostrando en conjunto un patrón ondulatorio.
4. De la Figura 5.9 a la Figura 5.12 se percibe un frente de onda generado por cambios periódicos en la tonalidad de los píxeles de la malla, algo que no ocurre de la Figura 5.5 a la Figura 5.8, donde las intensidades en el color de los píxeles se van apaciguando a medida que transcurre el tiempo y se alejan del origen.
5. La terapia fotodinámica, ha demostrado ser efectiva y poco invasiva, permitiendo mejorar la calidad de tratamiento a los pacientes oncológicos. Contar con un modelo cuantitativo de ella es de gran relevancia para mejorar su aplicabilidad.

Apéndice A

Script en Python de una red intercelular lineal

```
v0 = 0
k = 0
B = 0.301
v1 = 0
vm2 = 65
vm3 = 500
k2 = 1
kr = 2
ka = 0.9

def Cal(yv, t):
    # regresa la derivada del sistema de ecuaciones
    # diferenciales

    kf = 1      # Fuga pasiva de Y a Z
    nu = 2
    m = 2      # Parametros de las funciones de Hill: "v2" y
               # "v3"
    p = 4
    n = 10     # Numero de celulas
    d = 0.01   # Factor de difusion

    x = yv.reshape(n,2)
    z = np.zeros(n)
    y = np.zeros(n)
    v2 = np.zeros(n)
    v3 = np.zeros(n)
```

```

if t < 80:
    r = 3
else:
    r = 1

for i in range (0,n):

    z[i] = x[i][0]
    y[i] = x[i][1]
    v2[i] = (vm2 * ((z[i])**nu) / ((k2**nu) + (z[i])**nu
    ))
    v3[i] = (vm3 * (((y[i])**m) / ((kr**m) + (y[i])**m))
    ) * (((z[i])**p) / ((ka**p) + (z[i])**p))

for i in range (0,n):

    if i==0:
        dY = v2[i] - v3[i]*r - kf*y[i]
        b = np.array([f + v0 + v1*B - v2[i] + v3[i]*r +
        kf*y[i] - k*z[i] + d*(z[i + 1]-z[i]), dY])

    elif i<(n - 1):
        dY = v2[i] - v3[i] - kf*y[i]
        a = np.array([v0 + v1*B - v2[i] + v3[i] + kf*y[
        i] - k*z[i] + d*(z[i - 1] - z[i]) + d*(z[i +
        1] - z[i]), dY])
        b = np.concatenate((b,a), axis=0)
    else:
        dZ = v0 + v1*B - v2[i] + v3[i] + kf*y[i] - k*z[i
        ] + d*(z[i - 1] - z[i])
        dY = v2[i] - v3[i] - kf*y[i]
        a = np.array([dZ,dY])
        b = np.concatenate((b,a), axis=0)

return b
l = 1
for T in [20, 70, 200]:
    t = linspace(0, T, 10000)
    X0 = array([0.250, 1.7, 0.250, 1.7, 0.250, 1.7]) #
        condiciones iniciales
    X1 = [0.250, 1.7] * n
    X0 = array(X1)
    X, infodict = integrate.odeint(Cal, X0, t, full_output=
    True)

```

APÉNDICE A. SCRIPT EN PYTHON DE UNA RED INTERCELULAR LINEAL

```
infodict['message']                                     # >>>
    'Integration successful.'

for j in range (0,n):
    i = 2*j
    f1 = p.figure(1)
    cal = X[-1,i]
    cal1 = X[-1,i + 1]
    p.plot(j + 1, cal, 'o')
    p.plot(j + 1, cal1, '^')
    l = l + 1
p.grid()
p.xlabel('Numero_de_celula')
p.ylabel('calcio_citosolico_-_calcio_en_reserva_
insencible')
p.title('Concentraciones_maximas_de_calcio_por_celula')
p.show()
```


Apéndice B

Script en Python de una red intercelular cuadrada

```
def Cal3(yv,t):
# regresa la derivada del sistema de ecuaciones
diferenciales

    kf = 1      # Fuga pasiva de Y a Z
    nu = 2
    m = 2      # Parametros de las funciones de Hill: "v2" y
               "v3"
    p = 4
    n = 15     # Numero de celula por cada eje de la malla
               cuadrada
    d = 0.01   # Factor de difusion

    x = yv.reshape(n,n,2)
    z = np.zeros((n,n))
    y = np.zeros((n,n))
    v2 = np.zeros((n,n))
    v3 = np.zeros((n,n))

    if t < 80:
        r = 3      # Factor de la terapia fotodinamica
    else:
        r = 1

    for j in range (0,n):

        for i in range (0,n):

            z[j][i] = x[j][i][0]
```

**APÉNDICE B. SCRIPT EN PYTHON DE UNA RED INTERCELULAR
CUADRADA**

```

y[j][i] = x[j][i][1]
v2[j][i] = (vm2 * ((z[j][i])**nu) / ((k2**nu) + (z[j][i])**nu))
v3[j][i] = (vm3 * (((y[j][i])**m) / ((kr**m) + (y[j][i])**m))) * (((z[j][i])**p) / ((ka**p) + (z[j][i])**p))

for j in range (0,n):
    if j==0:
        for i in range (0,n):

            if i==0 and j ==0:
                dY = v2[j][i] - v3[j][i]*r - kf*y[j][i]
                b = np.array([f + v0 + v1*B - v2[j][i]
                    + v3[j][i]*r + kf*y[j][i] - k*z[j][i]
                    + d*(z[j][i + 1] - z[j][i])
                    + d*(z[j + 1][i] - z[j][i])
                    ], dY)
                #print(d*(z[j][i + 1] - z[j][i]), d*(z[j + 1][i] - z[j][i]))
            elif i<(n - 1):
                dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
                a = np.array([v0 + v1*B - v2[j][i] + v3[j][i] + kf*y[j][i] - k*z[j][i] + d*(z[j][i - 1] - z[j][i])
                    + d*(z[j][i + 1] - z[j][i])
                    + d*(z[j + 1][i] - z[j][i])
                    ], dY)
                #print(d*(z[j][i - 1] - z[j][i]), d*(z[j][i + 1] - z[j][i]), d*(z[j + 1][i] - z[j][i]))
                b = np.concatenate((b,a),axis=0)

            else:
                dZ = (v0 + v1*B - v2[j][i] + v3[j][i] + kf*y[j][i] - k*z[j][i] + d*(z[j][i - 1] - z[j][i])
                    + d*(z[j + 1][i] - z[j][i]))
                dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
                a = np.array([dZ,dY])
                b = np.concatenate((b,a),axis=0)
        elif j<(n - 1):
            for i in range (0,n):

```

APÉNDICE B. SCRIPT EN PYTHON DE UNA RED INTERCELULAR
CUADRADA

```

if i==0:
    dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
    b = np.concatenate((b,[f + v0 + v1*B -
        v2[j][i] + v3[j][i] + kf*y[j][i] - k*
        z[j][i] + d*(z[j - 1][i]-z[j][i])
            + d*(z[j + 1][i] - z[j][i]
                ) + d*(z[j][i + 1] -
                    z[j][i]), dY]))

elif i<(n - 1):
    dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
    a = np.array([v0 + v1*B - v2[j][i] + v3
        [j][i] + kf*y[j][i] - k*z[j][i] + d*(
        z[j][i - 1] - z[j][i])
            + d*(z[j][i + 1] - z[j][i]
                ) + d*(z[j - 1][i] -
                    z[j][i]) + d*(z[j +
                        1][i] - z[j][i]), dY])
    b = np.concatenate((b,a),axis=0)

else:
    dZ = (v0 + v1*B - v2[j][i] + v3[j][i] +
        kf*y[j][i] - k*z[j][i] + d*(z[j][i -
        1] - z[j][i])
            + d*(z[j - 1][i] - z[j][i]) + d*(z
                [j + 1][i] - z[j][i]))
    dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
    a = np.array([dZ,dY])
    b = np.concatenate((b,a),axis=0)

else:
    for i in range (0,n):

        if i==0:
            dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
            b = np.concatenate((b,[f + v0 + v1*B -
                v2[j][i] + v3[j][i] + kf*y[j][i] - k*
                z[j][i] + d*(z[j - 1][i]-z[j][i])
                    + d*(z[j][i + 1] - z[j][i]
                        )], dY)),axis=0)

        elif i<(n - 1):
            dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
            a = np.array([v0 + v1*B - v2[j][i] + v3
                [j][i] + kf*y[j][i] - k*z[j][i] + d*(

```

**APÉNDICE B. SCRIPT EN PYTHON DE UNA RED INTERCELULAR
CUADRADA**

```

        z[j][i - 1] - z[j][i])
            + d*(z[j][i + 1] - z[j][i
                ]) + d*(z[j - 1][i] -
                    z[j][i]), dY])
    b = np.concatenate((b,a),axis=0)

    else:
        dZ = (v0 + v1*B - v2[j][i] + v3[j][i] +
            kf*y[j][i] - k*z[j][i]
                + d*(z[j][i - 1] - z[j][i]) + d*(z
                    [j - 1][i] - z[j][i]))
        dY = v2[j][i] - v3[j][i] - kf*y[j][i]
        a = np.array([dZ,dY])
        b = np.concatenate((b,a),axis=0)

    return b

t = linspace(0, 1200, 5)
X0 = [0.250, 1.7] * (n**2)

X, infodict = integrate.odeint(Cal3, X0, t, full_output=True
    , mxstep = 5000000)
infodict['message'] # >>> '
    Integration successful.
X = X.reshape(5,n,n,2)

a = np.zeros((n,n))
for j in range(0,n):
    for i in range(0,n):
        a[i][j] = X[-1][i][j][0]
plt.imshow(a, cmap='hot', vmin =0.185, vmax = 0.22,
    interpolation='nearest')
plt.colorbar()
plt.show()

```

Bibliografía

- [1] Teoría de grafos, June 2019. Page Version ID: 116870287.
- [2] Unión gap, June 2019. Page Version ID: 116705958.
- [3] Michael J. Berridge, Martin D. Bootman, and H. Llewelyn Roderick. Calcium signalling: dynamics, homeostasis and remodelling. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 4(7):517–529, July 2003.
- [4] William E Boyce, DiPrima C, Richard, and Hugo Villagómez Velázquez. *Ecuaciones diferenciales y problemas con valores en la frontera*. Limusa, México, 2009. OCLC: 893569562.
- [5] Bianca Calì, Stefano Ceolin, Federico Ceriani, Mario Bortolozzi, Andrielly H.R. Agnellini, Veronica Zorzi, Andrea Predonzani, Vincenzo Bronte, Barbara Molon, and Fabio Mammano. Critical role of gap junction communication, calcium and nitric oxide signaling in bystander responses to focal photodynamic injury. *Oncotarget*, 6(1), April 2015.
- [6] Ernesto Carafoli. The calcium cycle of mitochondria. *FEBS Letters*, 104(1):1–5, August 1979.
- [7] Ernesto Carafoli. Calcium signaling: A tale for all seasons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(3):1115–1122, February 2002.
- [8] Ana P. Castano, Tatiana N. Demidova, and Michael R. Hamblin. Mechanisms in photodynamic therapy: part one-photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 1(4):279–293, December 2004.
- [9] Geneviève Dupont and Albert Goldbeter. Problems and paradigms: Oscillations and waves of cytosolic calcium: Insights from theoretical models. *BioEssays*, 14(7):485–493, 1992.
- [10] A. Goldbeter, G. Dupont, and M. J. Berridge. Minimal model for signal-induced Ca^{2+} oscillations and for their frequency encoding through protein phosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(4):1461–1465, February 1990.

- [11] James P. Keener and James Sneyd. *Mathematical physiology*. Number 8 in Interdisciplinary applied mathematics. Springer, New York, NY, 2nd ed edition, 2009. OCLC: ocn298595247.
- [12] J. D. Murray. *Mathematical biology*. Interdisciplinary applied mathematics. Springer, New York, 3rd ed edition, 2002.
- [13] Hiroki Sayama. *Introduction to the Modeling and Analysis of Complex Systems*.
- [14] Pinterest - España. <https://www.pinterest.es/pin/419749627743963935/>.