



Universidad
Zaragoza

Trabajo Fin de Máster

Modelado híbrido de la evolución del glioblastoma en
condiciones hipóxicas

Hybrid modelling of glioblastoma evolution under
hypoxic conditions

Autor

Lucía Palos Luzón

Directora

Marina Pérez Aliacar

Ponente

Manuel Doblaré Castellano

ESCUELA DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA
2024

AGRADECIMIENTOS

Mis primeros agradecimientos de todo lo que consiga siempre van a ser para mi familia por ser siempre mi punto de apoyo y de referencia.

Agradecer también al profesor Manuel Doblaré y a mi tutora Marina Pérez por el tiempo invertido en guiarme y aconsejarme. Asimismo, dar las gracias a todo el grupo TME lab.

Por último, cabe mencionar que este trabajo ha sido parcialmente financiado por el Programa de Becas y Ayudas del Instituto de Investigación en Ingeniería de Aragón (I3A).

RESUMEN

El cáncer es la principal causa de mortalidad en todo el mundo, y tiene un impacto devastador tanto en salud pública como en la economía global. Esta enfermedad afecta a los pacientes, a sus familias, y a los sistemas de salud, ya que supone una gran carga económica (costes de tratamiento, cuidados paliativos y pérdida de productividad).

En concreto, en este trabajo se aborda el glioblastoma, uno de los tipos de cáncer más agresivos y el tumor cerebral maligno más común en adultos. Uno de sus principales problemas es la resistencia a los tratamientos convencionales y su baja tasa de supervivencia.

Por todo ello, la investigación del cáncer y, en particular, atendiendo al caso de interés de este trabajo, del glioblastoma, es de gran importancia. Existen diversos métodos para investigar dicha enfermedad: experimentos *in vivo*, *in vitro* o, como es el caso de este trabajo, modelos matemáticos.

En particular en este trabajo se desarrolla un modelo matemático híbrido para poder estudiar el glioblastoma en condiciones hipóxicas. La elección de este tipo de modelos se justifica por la intención de combinar las ventajas de un modelo continuo y discreto.

El resultado principal es el planteamiento e implementación de este modelo en Python, así como la verificación del mismo, para después implementar mejoras sobre este que permitan reducir el coste computacional, de forma que en un futuro este tipo de modelos permitan avanzar en la investigación de esta enfermedad.

GLOSARIO

- **Angiogénesis:** formación de vasos sanguíneos [1].
- **Apoptosis:** tipo de muerte celular en la que una serie de procesos moleculares programados en la célula conducen a su muerte. Este es un método que los seres vivos utilizan para deshacerse de células innecesarias o anormales. El proceso de apoptosis puede estar bloqueado en las células cancerosas [2].
- **Colagenasa:** tipo de enzima que descompone el colágeno proteico [3].
- **Esferoide:** tipo de cultivo celular que permite obtener una esfera de células cancerosas, la cual crece de forma tridimensional, de manera muy similar al desarrollo de un tumor [4].
- **Glioblastoma:** tipo de tumor del sistema nervioso central, de crecimiento rápido, que se forma a partir del tejido glial (de sostén) del encéfalo y la médula espinal; tiene células cuyo aspecto es muy diferente al de las células normales. Por lo general, el glioblastoma se presenta en adultos y afecta más al encéfalo que a la médula espinal. Dentro de la clasificación establecida para los cánceres del sistema nervioso, se identifica con un astrocitoma de grado IV [5].
- **Matriz extracelular:** red de proteínas y otras moléculas que rodean, sostienen y dan estructura a las células y tejidos del cuerpo. La matriz extracelular ayuda a que las células se unan y se comuniquen con las células cercanas, y desempeña una función importante en la multiplicación celular, el movimiento celular y otras funciones celulares, siendo la base estructural de los tejidos. Los cambios anormales en la matriz extracelular pueden modular ciertas enfermedades, como el cáncer. La matriz extracelular de las células cancerosas afecta la forma en que estas se multiplican y migran [6].
- **Microentorno tumoral:** sistema dinámico y de gran complejidad formado por las células tumorales y por otras células como las del sistema inmune, sustancias químicas, como oxígeno y nutrientes, y también por la matriz extracelular y enzimas como las metaloproteinasas.
- **Necrosis:** muerte celular resultado del daño celular masivo. Puede estar generado

por falta de nutrientes, agentes físicos, químicos como la hipoxia o biológicos.

- **Pseudoempalizada:** estructura habitual del glioblastoma en las células migran desde centros necróticos con hipoxia.
- **Quimiotaxis:** movimiento de las células en respuesta a un estímulo químico en la dirección del gradiente del mismo.

Índice

1. Introducción y objetivos	1
1.1. El cáncer y el glioblastoma	1
1.2. Modelos <i>in vivo</i> , <i>in vitro</i> e <i>in silico</i>	2
1.2.1. Tipos de modelos <i>in silico</i>	3
1.3. Objetivos y alcance	5
1.4. Estructura	5
2. Estado del arte: modelos híbridos y su aplicación al estudio del cáncer	7
2.1. Definición y evolución de los modelos híbridos	7
2.1.1. Clasificación de modelos híbridos	8
2.1.2. Modelos compuestos y acoplados	12
2.2. Multiescala en los modelos híbridos	13
2.2.1. Técnica híbrida discreto-continuo	15
3. GBM_HYBRID: Modelo híbrido de evolución de glioblastoma	17
3.1. Descripción y ecuaciones	17
3.1.1. Módulo continuo: evolución del oxígeno	18
3.1.2. Módulo discreto: procesos celulares	20
3.1.3. Enlace entre módulo discreto y módulo continuo	22
3.2. Verificación del modelo desarrollado	23
3.2.1. Simulación 1	24
3.2.2. Simulación 2	29
3.3. Ejemplo de aplicación: estudio de la influencia de las interacciones entre células en GBM	33
3.3.1. Ejemplo 1: cultivo de esferoides	34
3.3.2. Ejemplo 2: formación de agregados celulares	35
3.3.3. Parámetros de simulación	39
4. GBM_multiHYBRID: modelo híbrido multiescala de evolución del	

glioblastoma	41
4.1. Descripción del modelo GBM_multiHYBRID	42
4.2. Análisis de convergencia	46
4.3. Limitaciones y posibles mejoras del modelo	49
5. Conclusiones	53
5.1. Conclusiones	53
5.2. Líneas futuras	55
5.3. Principales aportaciones científicas	55
6. Bibliografía	57
Lista de Figuras	63
Lista de Tablas	65

Capítulo 1

Introducción y objetivos

1.1. El cáncer y el glioblastoma

La Organización Mundial de la Salud (OMS) describe el cáncer como un gran grupo de enfermedades que pueden comenzar en casi cualquier órgano o tejido del cuerpo cuando células anormales crecen de forma descontrolada y se desplazan fuera de sus fronteras habituales para invadir otras partes del cuerpo y/o extenderse a otros órganos [7]. Según dicha organización, el cáncer es la segunda causa de muerte a nivel global, con una cifra estimada de 9,6 millones de muertes en 2018. El impacto de esta enfermedad sigue creciendo, suponiendo una presión física, emocional y financiera sobre personas, comunidades y sistemas de salud. Además, un gran número de países no tienen acceso a diagnósticos y tratamientos de calidad. En particular, el cáncer cerebral, que presenta una alta mortalidad y una baja tasa de supervivencia, también está aumentando a nivel mundial [8]. Todo esto hace que la investigación de esta enfermedad sea primordial.

El glioblastoma (o GBM) es el tumor cerebral más maligno [9]. La media de supervivencia en pacientes con gliomas (grupo de tumores formados en las células neurogliales del encéfalo y la médula espinal) varía de 6,5 a 8 años en gliomas de bajo grado, mientras que disminuye a 1,25 años al considerar el glioblastoma [10]. Sus rasgos distintivos más importantes (o *hallmarks*) son su plasticidad fenotípica y su comportamiento invasivo. Este último resulta en una amplia infiltración del tumor, lo que disminuye la efectividad de los tratamientos oncológicos y suele resultar en un pronóstico poco halagüeño [11]. Por todo ello, la investigación de este tumor es de suma importancia.

1.2. Modelos *in vivo*, *in vitro* e *in silico*.

Para llevar a cabo dicha investigación, existen diversas herramientas. En primer lugar, se tienen los experimentos *in vivo*, aquellos realizados en organismos vivos (ensayos clínicos, experimentación animal, etc.). Este tipo de experimentos presenta desventajas como efectos secundarios indeseables para el ser vivo, elevado coste económico y dificultad de aislar diferentes fenómenos. Una alternativa son los modelos o experimentos *in vitro*, realizados fuera del ser vivo, empleando tejidos extraídos de este o cultivos celulares. Son una herramienta valiosa, sobre todo teniendo en cuenta nuevas técnicas que se han desarrollado como los dispositivos microfluídicos, que permiten recrear el entorno tumoral tridimensional y superar así algunos de los problemas principales de técnicas más tradicionales. Sin embargo, en los experimentos *in vitro* se sigue teniendo la dificultad de estudiar los fenómenos de forma aislada.

Los modelos *in silico* o modelos matemáticos permiten superar esta barrera, y han demostrado ser de gran utilidad en el entendimiento de los procesos y mecanismos del cáncer. La combinación de dichos modelos con validación empírica se ha empleado para sugerir diferentes tratamientos, probar hipótesis, proponer nuevos experimentos, etc [12, 13]. La ventaja de estos modelos radica en su habilidad para revelar principios físicos desconocidos o contraintuitivos que pueden haber sido pasados por alto debido al enfoque biológico, el cual tiende a ser más cualitativo. En resumen, aportan poder predictivo y las ventajas de un análisis más cuantitativo.

En los últimos años, el uso de modelos matemáticos para el cáncer ha aumentado [13]. Esto se debe a su capacidad de modelar procesos complejos (que son aquellos en los que el total es mayor que la suma de las partes, es decir, procesos en los que sus componentes producen nuevas propiedades que no poseen de forma individual), ya que la progresión de los tumores es uno de estos procesos complejos, pues están involucrados diversos componentes y se desarrolla en diferentes escalas espaciales y temporales [14]. Esta es una de las problemáticas que presenta el modelado: la selección de escalas a la hora de definir el modelo y cómo unir dichas escalas. En el caso del GBM, se dan procesos a nivel molecular, microscópico y macroscópico. Otro de los problemas del modelado es el compromiso que se ha de adquirir entre nivel de complejidad que se quiere alcanzar con el modelo frente al coste computacional de este [13].

Otra dificultad de este tipo de modelos suele ser su alto número de parámetros y su complejidad, ya que son muchos los procesos a modelar. De hecho, como la habilidad predictiva de estos modelos depende de su correcta parametrización, es de gran importancia ser precisos en este aspecto, para lo cual se necesitan datos

experimentales. Es por ello necesaria la colaboración entre expertos en modelado matemático e investigadores experimentales [13].

1.2.1. Tipos de modelos *in silico*

En las últimas décadas, el uso de los modelos matemáticos ha aumentado en la investigación del cáncer, empleándose para estudiar la dinámica de los tumores y la respuesta a diferentes tratamientos [11]. Dentro de los modelos *in silico* podemos distinguir tres grandes familias: modelos continuos, modelos discretos y modelos híbridos.

Los modelos continuos emplean ecuaciones diferenciales para describir la evolución de las variables de relevancia consideradas para describir el entorno tumoral. Si solo se considera el tiempo como variable independiente, se pueden emplear ecuaciones diferenciales ordinarias (ODEs por sus siglas en inglés *Ordinary Differential Equations*). En el caso de que interese también, por ejemplo, la variación espacial de la variable, se emplean ecuaciones en derivadas parciales (PDEs por sus siglas en inglés *Partial Differential Equations*). Es común emplear ecuaciones de reacción-difusión-convección para describir cómo varían las variables del sistema. Estos métodos permiten cubrir un gran volumen 3D ya que consideran las variables a nivel macroscópico y por tanto tienen un bajo coste computacional en comparación con otros modelos.

El problema de los modelos continuos es la dificultad de modelar fenómenos en la escala de las células, como algunos tipos de interacciones entre ellas. Sin embargo, los modelos discretos, los cuales consideran las células como individuos sí que permiten tener en cuenta interacciones entre células y/o entre ellas y la matriz extracelular (o ECM por sus siglas en inglés *ExtraCellular Matrix*) de forma sencilla. Además, este tipo de modelos permiten incluir dinámicas heterogéneas. El problema de los modelos discretos es que el coste computacional incrementa rápidamente según aumenta el número de células, lo que limita el dominio de simulación.

Como se observa en la Figura 1.1, existen diferentes tipos de modelos discretos, también conocidos como modelos basados en agentes (o ABM por sus siglas en inglés *Agent-Based Models*). Se clasifican en primer lugar en función de si emplean malla (*lattice*) o no (*Off-Lattice*). Los primeros siguen a las células a lo largo de una malla rígida y se vuelven a clasificar en función del tamaño de la célula con respecto al elemento de la malla. Dentro de estos, destacan los autómatas celulares (o CA por sus siglas en inglés), en los que cada célula ocupa un elemento de malla. En este tipo de

modelos, las células evolucionan a través de un número de pasos discretos y siguiendo un conjunto de reglas.

Los modelos que no emplean malla se caracterizan por el libre posicionamiento de los agentes (siendo un agente el individuo base considerado). A su vez, se clasifican en función de si se centran en las masas o volúmenes de los elementos (*Center-based*) o en las fronteras (*Boundary-Based models*). Dentro de los modelos *Center-based*, en función del número de agentes por “célula”, hay otra clasificación. En este trabajo, se utiliza un *Center-based model* (CBM). Este tipo de modelo presenta un agente por célula.

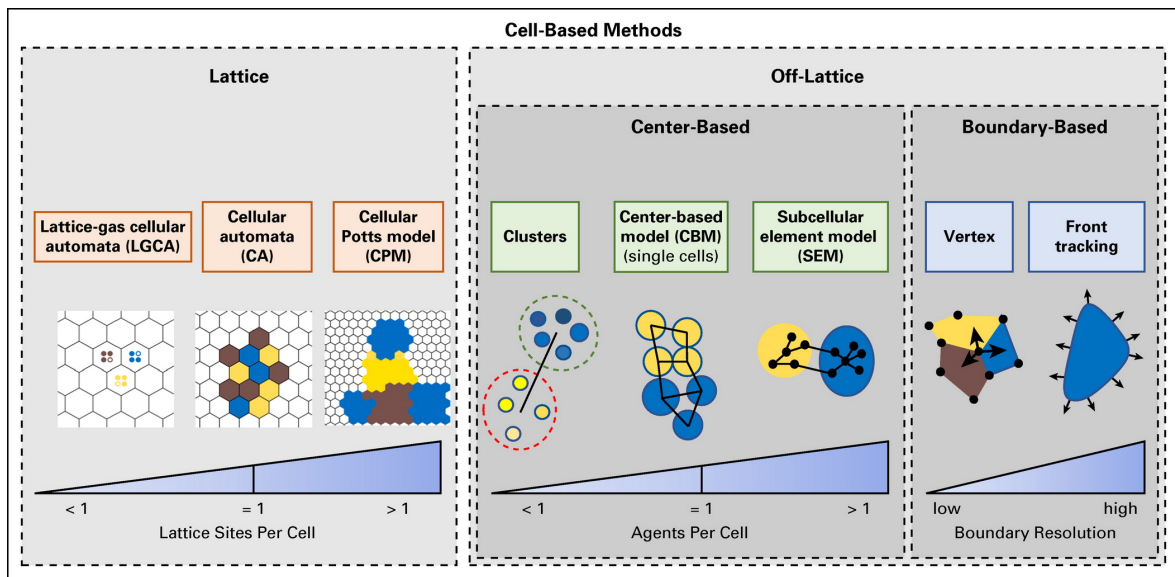


Figura 1.1: Tipos de modelos discretos (Fuente: [15]).

El tercer enfoque son los modelos híbridos, que combinan ventajas de los modelos continuos y discretos, de forma que se pueda simular un gran dominio a la vez que se tienen en cuenta efectos en la escala de las células y sin incurrir en altos costes computacionales. Este tipo de modelos suelen ser multiescala ya que, como se ha mencionado, han de tener en cuenta a nivel espacial fenómenos en la escala de las células y en la escala del entorno tumoral. Combinan ecuaciones de reacción-convección-difusión con dinámicas discretas celulares (que describen la migración y proliferación). Asimismo, también se dan diferentes escalas temporales, pues las dinámicas de las células y las de otros nutrientes como el oxígeno son de diferente duración.

En este trabajo se desarrolla un modelo híbrido, pues como se ha visto, combina ventajas de los otros dos tipos de modelos *in silico*. En el Capítulo 2 se hace una breve revisión de los modelos matemáticos híbridos para simulación del cáncer.

1.3. Objetivos y alcance

El objetivo de este trabajo es el desarrollo y la validación de un modelo matemático híbrido para simular el GBM y su microentorno. En el caso de este trabajo se simula tan solo un nutriente en el microentorno, el oxígeno, por su importancia en la evolución del GBM [16], y se estudia la evolución del tumor en condiciones hipóxicas (falta de oxígeno). Una vez desarrollado el modelo, se propondrán ejemplos de aplicación que ilustren la utilidad de los modelos híbridos. Por último, para reducir el coste computacional, se propone una variación del modelo convirtiéndolo en un modelo con multiescala espacial.

1.4. Estructura

El presente TFM se divide en los siguientes capítulos:

- **Capítulo 1: Introducción.** Se introduce de forma breve el cáncer y en particular el glioblastoma. A continuación se describen algunas de las diferentes herramientas con las que se estudian estos tumores (modelos *in vivo*, *in vitro* e *in silico*) para después centrar el enfoque los modelos matemáticos. Dentro de éstos, se describen los principales tipos: modelos continuos, discretos e híbridos. Por último, se exponen los objetivos del trabajo y la estructura del mismo.
- **Capítulo 2: Estado del arte: modelos híbridos y su aplicación al estudio del cáncer.** Se lleva a cabo una breve revisión de la literatura existente sobre la utilización de modelos matemáticos híbridos en la simulación del cáncer.
- **Capítulo 3: GBM_HYBRID: Modelo híbrido de evolución de glioblastoma.** Se presenta el modelo híbrido desarrollado, describiendo su formulación y ecuaciones. A continuación, se expone la verificación de dicho modelo. Finalmente, se muestra un ejemplo práctico en el que dicho modelo resulta de utilidad.
- **Capítulo 4: GBM_multiHYBRID: modelo híbrido multiescala de evolución del glioblastoma** Se discute la forma de mejorar los resultados del modelo desarrollado a partir de la inclusión de métodos multiescala, de forma que se reduzca el coste computacional.
- **Capítulo 5: Conclusiones.** Se finaliza con una discusión de los resultados, exponiendo las principales conclusiones.

Capítulo 2

Estado del arte: modelos híbridos y su aplicación al estudio del cáncer

En este capítulo se pretende ahondar en el concepto de modelos matemáticos híbridos y su uso para simulación de entornos tumorales. Tras una breve introducción, se definen propiamente los modelos híbridos, incluyendo diversas clasificaciones de estos. Después, se profundiza en la importancia de la multiescala en estos modelos, explicando tras esto una técnica habitual de los modelos híbridos. En el caso de que los artículos además traten del GBM, el tumor de estudio del presente trabajo, esto se señalará. En [17] se hace una revisión de los modelos matemáticos empleados para el GBM, tanto continuos como discretos o híbridos (no hace distinción entre híbridos y discretos porque considera modelos discretos para las células acopladas a modelos continuos del entorno).

2.1. Definición y evolución de los modelos híbridos

En los últimos años, el interés en los modelos híbridos ha aumentado. Una posible explicación es la creciente mezcla de disciplinas como las matemáticas, la biología, la medicina, etc. Como prueba de ello, el número de artículos relacionados con los conceptos *hybrid model* AND *computational or mathematical* empezó a ser relevante a partir del año 2004 [18] y ha aumentado de forma continua desde entonces.

El término híbrido hace referencia a una mezcla tanto de orígenes como de composiciones. La definición clásica de modelos híbridos es el acoplamiento de descripciones discretas de células junto con descripciones continuas de factores del microentorno (a través de PDEs), de forma que se puedan modelar fenómenos complejos que no pueden ser descritos con otros métodos debido a su naturaleza multiescala. Se

puede ver un resumen de este tipo de modelos en la Figura 2.1.

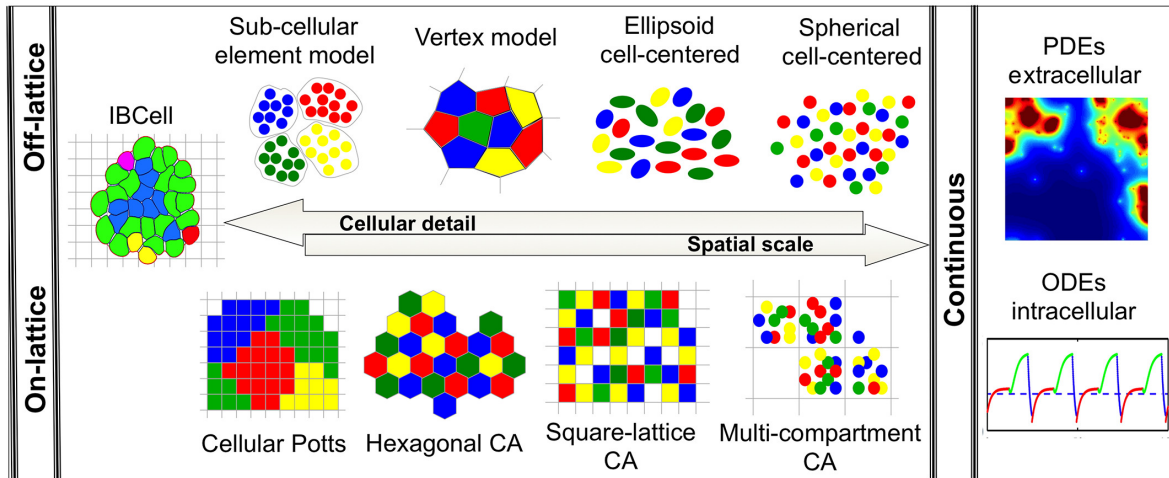


Figura 2.1: Tipos de modelos híbridos clásicos: a la izquierda la parte discreta de los modelos, con la que se modelan las células; a la derecha la parte continua, con la que se modelan el entorno y los nutrientes (Fuente: [19]).

Sin embargo, el campo del modelado está evolucionando y algunos investigadores [18, 19] sugieren ampliar la definición de modelos híbridos de forma que se consideren como tales aquellos modelos que acoplen dos o más enfoques matemáticos. Bajo este enfoque, existen diversas clasificaciones posibles, que se describen a continuación.

2.1.1. Clasificación de modelos híbridos

Modelos basados en física, modelos guiados por datos y modelos de optimización

Una posible nueva clasificación de modelos híbridos [19] puede verse en la Figura 2.2.

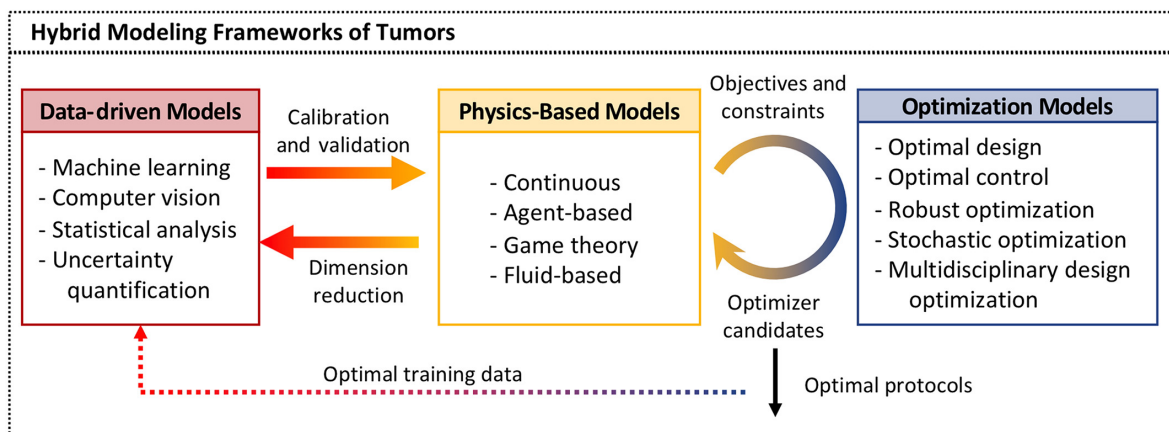


Figura 2.2: Panorama actual de los modelos híbridos (Fuente: [19]).

Los modelos clásicos pertenecen a la categoría de **modelos basados en física**. Otras categorías son los **modelos guiados por datos**, que emplean algoritmos y relaciones estadísticas para identificar y clasificar patrones en los datos. Estos modelos se pueden combinar con modelos basados en física para proporcionar datos para calibración y validación. Los **modelos de optimización** son útiles para combinar con los basados en física ya que estos suelen ser costosos a nivel computacional [19]. El presente trabajo se centra en el desarrollo de los modelos híbridos clásicos.

Modelos desacoplados, modelos desacoplados, modelos intrincados

Otros autores proponen una clasificación diferente para el amplio panorama de modelos híbridos actual [18]: modelos independientes o desacoplados, modelos acoplados y modelos intrincados. Esta clasificación puede verse en la Figura 2.3.

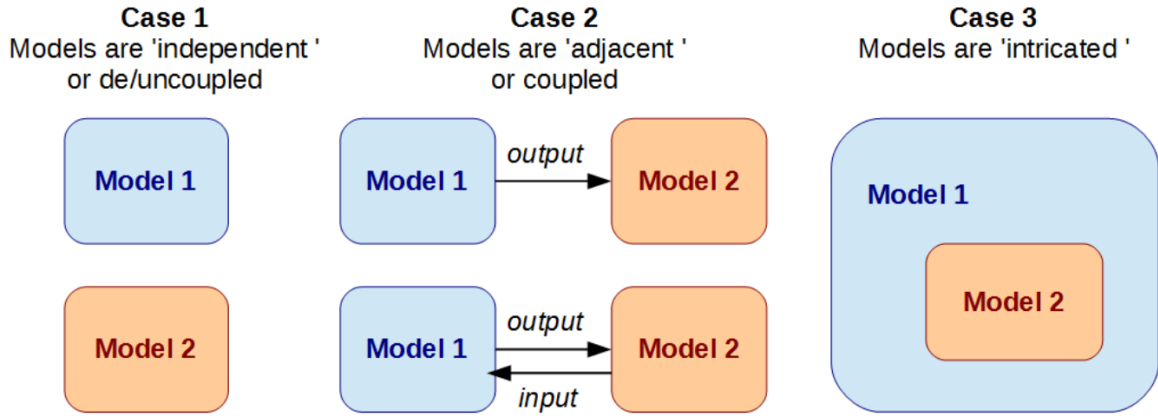


Figura 2.3: Clasificación de modelos híbridos (Fuente: [18]).

Los **modelos desacoplados** son dos o más modelos que emplean diferentes formalismos (por ejemplo uno discreto y otro continuo). Las variables de entrada y salida de estos modelos son independientes, pero la sinergia de ellos es lo que le da un valor añadido. En realidad, este tipo es más un enfoque híbrido que un tipo de modelo.

Los **modelos acoplados** son los modelos híbridos más frecuentes. Comprenden dos o más modelos, en los que al menos dos de ellos son de diferente naturaleza y se acoplan a partir de diversas variables. El modelo desarrollado en este trabajo es de este tipo. Es de especial utilidad en los procesos multiescala, debido a que con este enfoque se pueden emplear diferentes modelos para describir procesos ocurriendo en diversas escalas, de forma que, al pasar variables de un modelo a otro, también se pasa de una escala a otra. En muchos fenómenos biológicos, la célula es la referencia (mesoescala), donde se insertan modelos de eventos ocurriendo a escalas mayores o menores. Las escalas macroscópicas suelen describir el entorno, mientras que las

microscópicas describen dinámicas moleculares intracelulares (como interacciones entre proteínas). Se puede ver un esquema de su funcionamiento en la Figura 2.4.

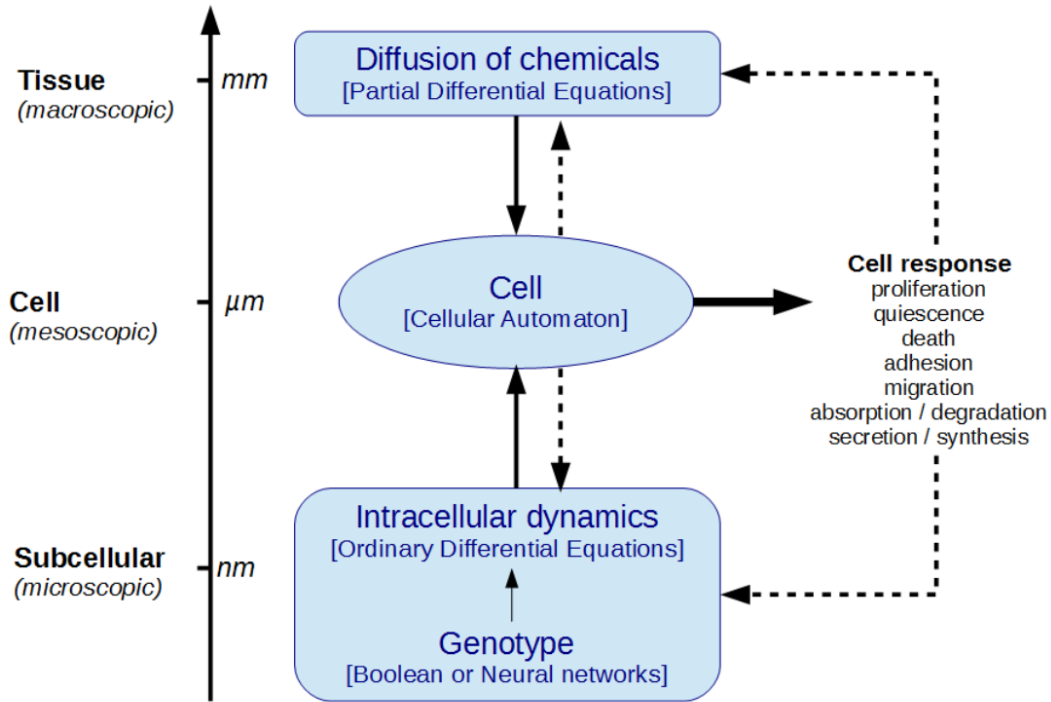


Figura 2.4: Esquema de funcionamiento de los modelos híbridos acoplados (Fuente: [18]).

Por último, los **modelos intrincados** están formados por modelos que no pueden diferenciarse. Se refieren principalmente a modelos matemáticos de sistemas dinámicos no lineales o sistemas dinámicos híbridos con discontinuidades. Otro tipo de modelos en este grupo son los enfoques semi-discretos, en los que se describen sistemas con una dinámica continua que en ocasiones experimentan eventos discretos. Los modelos intrincados suelen tener un carácter no espacial, es decir, los modelos discretos no necesitan ser representados espacialmente y suelen relacionarse exclusivamente con variables temporales.

Se definen en formalismos matemáticos con algunas características particulares como fenómenos de transición o activación que crean discontinuidades (con por ejemplo funciones escalón que cambien entre dos o más estados ante una señal de activación). Son de utilidad en sistemas biológicos y médicos [20], por ejemplo para modelar la aplicación de terapia ya que esta corresponde a una acción puntual o repetida a lo largo de la evolución del tumor. Para el caso del cáncer, que es el tema de interés de este trabajo, se deberían hacer dos modelos del tumor, uno con la evolución de dicho tumor sin tratamiento y otro con tratamiento. Sin embargo, con un modelo intrincado

se puede evitar esta separación de modelos, modelando el tratamiento como eventos discretos en la evolución del tumor. Este enfoque se ha empleado en diversos estudios [21, 22].

Enfoque compuesto y enfoque híbrido

Otros autores [23, 24] ofrecen otra clasificación de interés de los modelos híbridos clásicos, es decir, aquellos que combinan un enfoque discreto y continuo: enfoque compuesto y enfoque híbrido (o adaptativo). El **enfoque compuesto**, que es el del modelo desarrollado en el Capítulo 3, las sustancias como el oxígeno, los nutrientes, los factores de crecimiento, etc., se tratan como campos continuos en el microentorno tumoral; mientras que los elementos discretos son células o partes de células que se desarrollan de forma dinámica como respuesta a condiciones locales como concentraciones de sustancias. Este enfoque tiene las mismas limitaciones que los modelos discretos en cuanto a coste computacional.

Por el contrario, en el **enfoque híbrido** (que será el seguido en el Capítulo 4) el propio tumor se modela de forma discreta (a escala celular) y continua (a escala tumoral). Este es el enfoque óptimo (y menos desarrollado con respecto al anterior) y el que mejor combina las ventajas del método discreto y continuo. Simular el tumor únicamente de forma discreta eleva el coste computacional, por lo que para limitarlo, se emplean técnicas como el método de multiescala heterogénea [25] y el método de la ecuación libre. En este último método [26], alterna simulaciones cortas y localizadas en la escala microscópica (adecuadamente inicializadas) con el procesamiento acelerado de los resultados en la escala macroscópica continua.

Otro ejemplo dentro del enfoque híbrido es incluir una estrategia adaptativa en la que se emplee un modelo continuo en la zonas de gran densidad celular y un modelo discreto en el resto de zonas [13]. Por ejemplo, en [27] y [28] se emplea un algoritmo en el que se modelan las células tumorales de forma continua en partes de poco interés como la región de reposo, y de forma discreta en la región proliferativa del tumor.

En [29] también se sigue un enfoque similar para estudiar la progresión del GBM. Se emplea un modelo híbrido por compartimentos continuo-discreto. Es decir, se modela el tumor de forma continua en tres compartimentos: uno representando las células del cuerpo tumoral principal (que es la parte proliferativa), otro con la parte necrótica y otro con la parte migratoria. El número de compartimentos (es decir, si solo hay zona proliferativa, si también hay zona migratoria, o si están los tres compartimentos) depende del tamaño del tumor. Por tanto, el paso de un número

de compartimentos a otro se da cuando el tumor alcanza un tamaño determinado. El nutriente también se modela de forma continua.

Sin embargo, parte del tumor también se modela de forma discreta, en concreto las células migratorias, ya que la migración de los gliomas se caracteriza por ráfagas cortas de movimiento y tiene un carácter inherentemente discontinuo. La migración y la proliferación de estas células se modela a través de probabilidades según ciertos parámetros.

2.1.2. Modelos compuestos y acoplados

Tras haber visto las diferentes clasificaciones, cabe destacar que unos de los modelos híbridos más empleados son los compuestos y acoplados, que se comentan más en profundidad en esta sección.

En [30] se tiene un modelo híbrido compuesto y acoplado de la angiogénesis tumoral. Se consideran modelos discretos para las células tumorales y endoteliales y modelos continuos para el nutriente y el factor de crecimiento. Los bloques quedan acoplados por variables: las células tumorales consumen nutriente y liberan el factor de crecimiento; mientras que las células endoteliales consumen dicho factor y libran nutrientes, como se aprecia en la Figura 2.5.

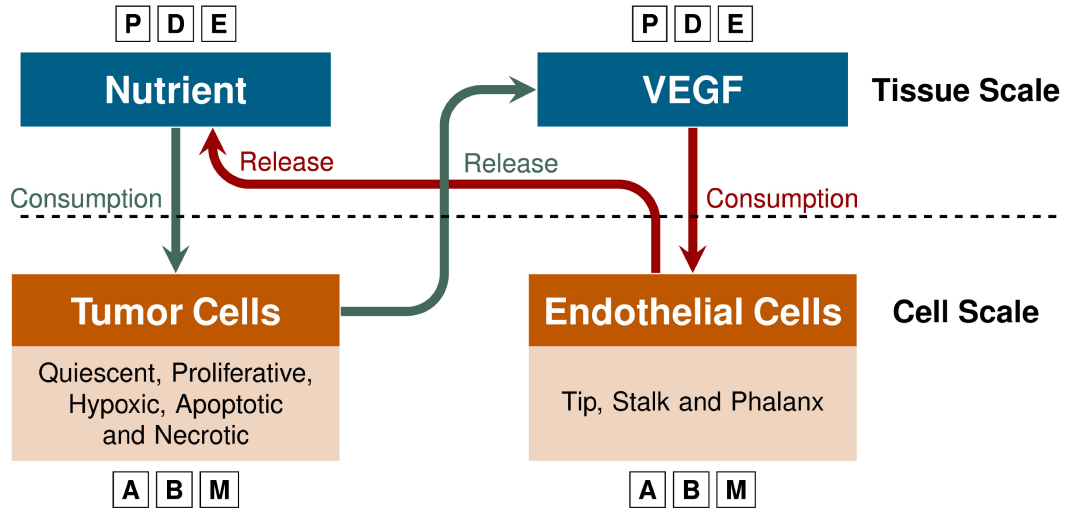


Figura 2.5: Esquema del modelo en [30].

Un concepto similar se emplea en [31] y en [32]. En este último artículo, se considera un modelo continuo para el microentorno tumoral acoplado con un modelo en agentes para la dinámica celular; con el objetivo de estudiar el cáncer de mama.

Otro ejemplo de este tipo de modelos, en este caso describiendo el GBM (el

tumor que interesa en el presente trabajo) se encuentra en [33], donde la concentración de nutriente es una variable continua y el tumor una variable discreta.

2.2. Multiescala en los modelos híbridos

Actualmente se están desarrollando modelos híbridos (que combinen técnicas discretas y continuas) multiescala, puesto que los modelos continuos son más apropiados para grandes escalas, los discretos para escalas de menor tamaño, y los híbridos pueden combinar ambas escalas. El problema aquí, como se ha comentado, aparece a la hora de enlazar dichas escalas[34].

Cuando se habla de multiescala, se hace referencia tanto a diferencias de escalas espaciales y temporales. Cabe destacar que los procesos biológicos que se dan a pequeña escala, de normal son mucho más rápidos que los que ocurren en una escala espacial mayor. Es decir, las escalas temporales y espaciales varían de forma conjunta.

En la Figura 2.6 se observan las diferentes escalas que abarcan los modelos híbridos. Se nombran a continuación algunos de los elementos habituales de este contexto y sus escalas [24] (que pueden observarse también en la Figura 2.7):

- **Escala atómica:** en esta escala se define la dinámica de proteínas, lípidos y otros así como su dependencia con el entorno. Se desarrollan en escalas del orden de nm y ns.
- **Escala molecular:** en esta escala se definen los mecanismos de señalización celular, reguladores naturales de los sistemas biológicos. La mayoría de esfuerzos de modelado se centran en esta escala. Se suelen emplear ODEs para describir reacciones bioquímicas. En este tipo de escalas las magnitudes son del orden de nm a μm y de ns a μs .
- **Escala microscópica:** en esta escala se modelan procesos a nivel multicelular y tejidos, además de la escala celular (como las interacciones celulares y la progresión del ciclo celular). Estos modelos suelen emplear PDEs o ABMs. Las magnitudes de esta escala son de μm a mm y de minutos a horas.
- **Escala macroscópica:** en esta escala se modelan comportamientos tumorales macroscópicos como la invasión. Las magnitudes espaciales van del orden de mm a cm y son del orden de los días a nivel temporal.

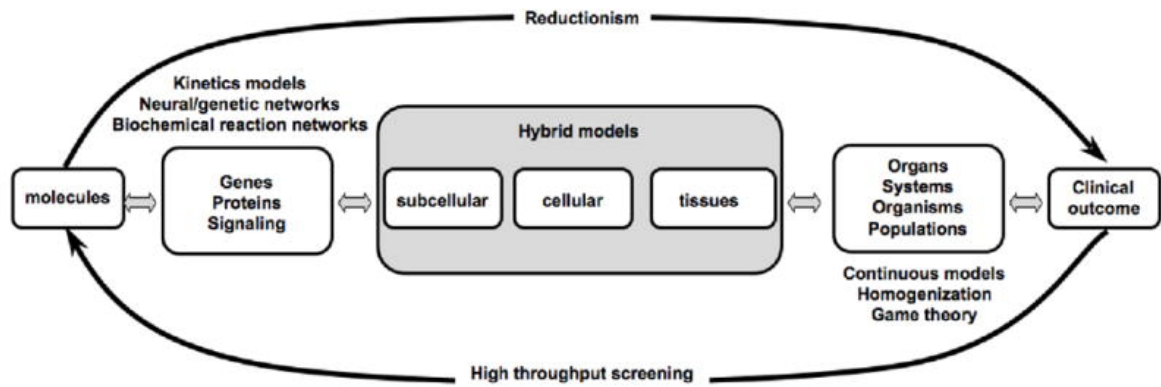


Figura 2.6: Escalas que abarcan los modelos híbridos: subcelulares, celulares y tejidos (Fuente: [35]).

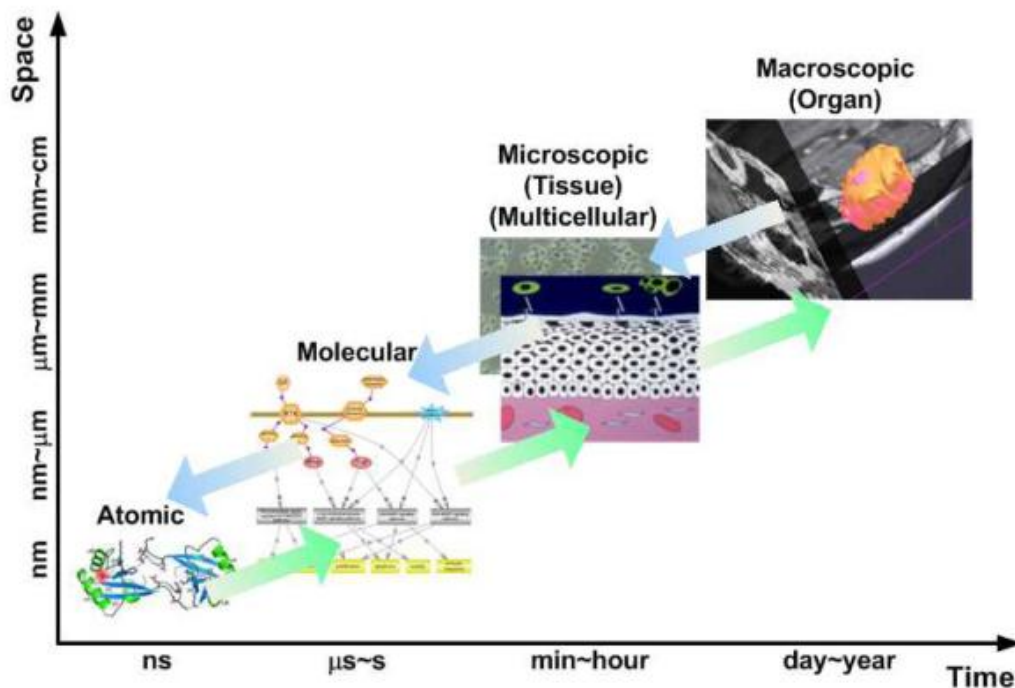


Figura 2.7: Escalas temporales y espaciales de importancia en los procesos biológicos y sus respectivas magnitudes (Fuente: [24]).

Es de especial importancia el enlace entre las escalas macroscópicas y microscópicas debido a que el cáncer es una enfermedad que depende del contexto, es decir, los cambios en el entorno afectan a las células cancerígenas [35]. En esta multiescala se desarrollan la mayoría de modelos híbridos de interés para el cáncer, muchos de ellos compuestos, combinando un modelo discreto a escala celular con un modelo continuo a escala de tejido.

Un ejemplo se presenta en [36], donde se estudia la progresión del cáncer desde una etapa avascular hasta un crecimiento vascular (neo-vascularización) y las última

etapas de crecimiento e invasión de tejido normal. Se emplean ecuaciones continuas para la parte del modelo que describe el crecimiento, y una combinación continuo-discreta para la parte de angiogenesis. Para enlazar las diferentes escalas del problema, se hace uso de una malla de elementos finitos no estructurada y adaptativa. Esto permite alcanzar la precisión necesaria en regiones de importancia como el anillo necrótico, la interfaz del tumor y alrededor de los brotes capilares.

También hay ejemplos de modelos híbridos adaptativos [27] en los que se acopla un modelo viscoelástico de las regiones quiescentes y necróticas del tumor con un modelo ABM para la parte externa proliferativa del tumor. De esta forma, se hace uso de eficiencia del modelo continuo, a la vez que se tiene más detalle en las regiones de interés, pudiendo modelar fenómenos de diferentes escalas. La interfaz entre la parte proliferativa con la matriz extracelular y con la parte quiescente se modela a partir de desplazamientos y fuerzas.

2.2.1. Técnica híbrida discreto-continuo

En diversos artículos se emplea una técnica conocida como Técnica híbrida discreto-continuo (HDC), descrita en [37]. A continuación, se explica dicha técnica a grandes rasgos. En primer lugar, se define un sistema de PDEs que describen la evolución del organismo (en el caso del trabajo de células tumorales) y de otros componentes como nutrientes.

Seguidamente, se discretizan dichas ecuaciones (mediante métodos estándar de diferencias finitas), quedando 5 coeficientes que se emplean para generar probabilidades de movimiento de un organismo individual según su entorno local. Es decir, si n es la densidad de células tumorales, se tiene que:

$$n_{i,j}^{q+1} = n_{i,j}^q P_0 + n_{i+1,j}^q P_1 + n_{i-1,j}^q P_2 + n_{i,j+1}^q P_3 + n_{i,j-1}^q P_4, \quad (2.1)$$

donde i y j son índices espaciales (de la malla 2D en la que se discretiza el dominio) y q el índice temporal. Es decir, la concentración en la posición (i,j) en el instante $q+1$ se calcula mediante una ponderación de las densidades vecinas en q . La suposición principal de la técnica HDC es que los coeficientes pueden asumirse proporcionales a las probabilidades P_0 , P_1 , P_2 , P_3 y P_4 de que el tumor esté estacionario, se mueva a la izquierda, a la derecha, hacia arriba o hacia abajo respectivamente. La definición de estas probabilidades depende de la forma de las PDEs. De esta forma, se pasa a ecuaciones discretas a partir de los parámetros del modelo continuo. A partir de las células individuales, se simulan el resto de procesos celulares.

En resumen, se emplean campos continuos para construir el modelo discreto, de forma que el enfoque sea en la micro y la macro escala. La parte continua proporciona información como densidades y velocidades, que se introducen en la parte discreta para actualizar las interacciones celulares.

Esa técnica se emplea en [38], un artículo en el que se estudia la progresión del GBM, para predecir cómo afecta la concentración de colagenasa en la invasión del tumor; y en [39] para analizar cómo afectan las interacciones de células entre ellas y con el entorno a la forma del tumor. También se emplea en [14], de la forma en la que se muestra en la Figura 2.8.

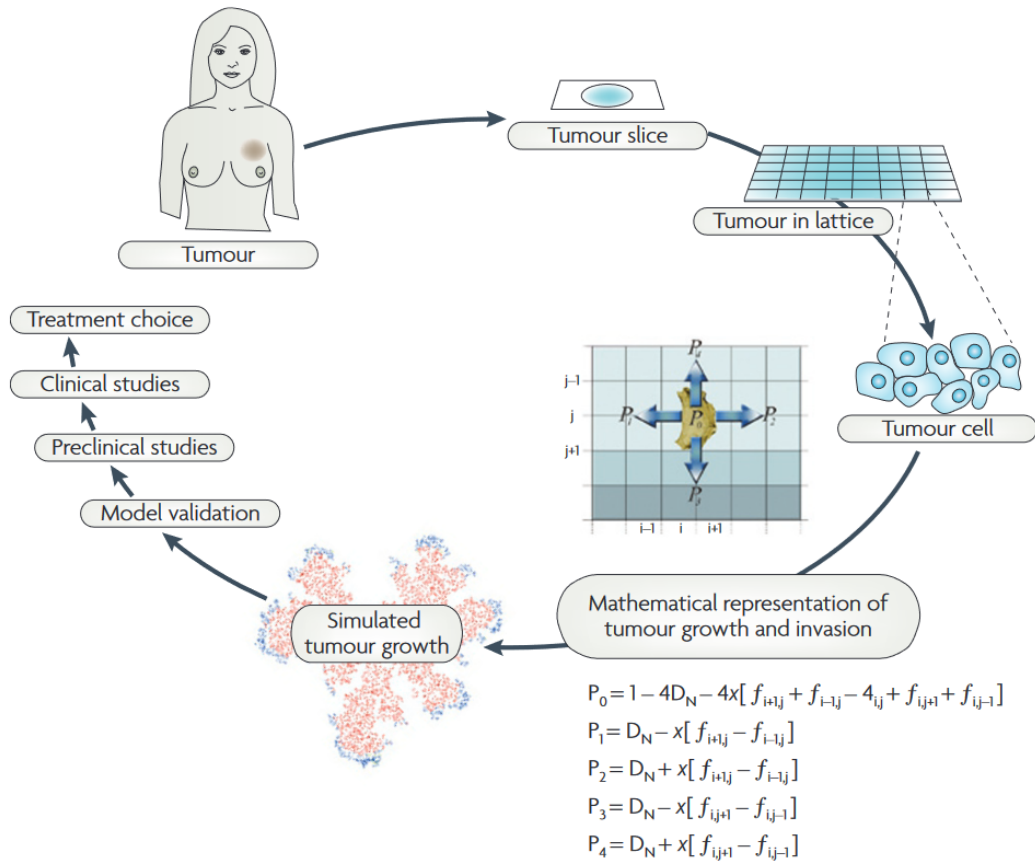


Figura 2.8: Esquema del modelo presentado en [14].

En [40] se emplea para predecir el crecimiento volumétrico y la distancia de invasión del tumor (siendo en este caso el GBM) además de tener el potencial de poder emplearse para investigar el efecto de drogas inhibidoras. En este artículo se explica el proceso de simulación (que se lleva a cabo en Matlab).

Capítulo 3

GBM_HYBRID: Modelo híbrido de evolución de glioblastoma

En el Capítulo 2 se ha realizado una breve revisión bibliográfica de algunos de los modelos híbridos matemáticos empleados en cáncer. Tras esto, en este capítulo se describe el modelo matemático híbrido desarrollado y verificado en este trabajo, explicando sus partes y sus ecuaciones, además de las simulaciones y pruebas estadísticas necesarias para verificarlo. Por ultimo, se exponen algunos ejemplos de aplicación.

3.1. Descripción y ecuaciones

El modelo híbrido desarrollado, que denominamos GBM_HYBRID (cuyo código está disponible [aquí](#) [41]), como ya se ha mencionado, consta de dos partes: un módulo discreto, en el que se calculan los procesos relacionados con el desarrollo celular; y un módulo continuo, en el que se calcula la evolución del oxígeno. Estos dos módulos están vinculados, como se explicará en esta sección.

Cabe destacar que las escalas temporales de todos los procesos no son iguales, es decir, estamos ante un problema de multiescala temporal. Por ello, no todos los procesos tienen el mismo paso temporal de simulación. Por ejemplo, el oxígeno tiene una dinámica considerablemente más rápida que los procesos celulares, por lo que su paso temporal ha de ser menor.

Se consideran tres pasos temporales diferentes. En primer lugar, el asociado a la dinámica del oxígeno, es decir cada cuánto se resuelve la ecuación de este nutriente, $\Delta t_{\text{environment}}$ (pues está asociado con la dinámica del microentorno). Se abrevia como Δt_{env} . El consumo, aunque es un proceso celular, se actualiza con el oxígeno pues es

necesario para resolver este. Por otro lado, se tiene el paso temporal de los procesos celulares, $\Delta t_{\text{phenotype}}$ (abreviado como Δt_{ph}), que define cada cuánto se actualizan los procesos de proliferación y muerte. Por ultimo, la migración de las células y su posición se actualiza cada $\Delta t_{\text{mechanics}}$ (abreviado como Δt_{mech}).

El entorno tiene la dinámica más rápida, seguida de la actualización de la migración y la posición de las células. Por último, la dinámica más lenta corresponde a los procesos de muerte y proliferación de las células. Es decir:

$$\Delta t_{\text{env}} \leq \Delta t_{\text{mech}} \leq \Delta t_{\text{ph}}. \quad (3.1)$$

3.1.1. Módulo continuo: evolución del oxígeno

La evolución de la concentración de oxígeno (denominada aquí como S) se calcula con FEniCS [42], un *software* de código abierto para resolver PDEs mediante el método de elementos finitos (o FEM, por sus siglas en inglés *Finite Element Method*).

La ecuación que se resuelve es la siguiente:

$$\frac{\partial S}{\partial t} = D_S \nabla^2 S - U, \quad (3.2)$$

donde D_S es el coeficiente de difusión de oxígeno, y U es el término de consumo, que se definirá más adelante. Es decir, el cambio del oxígeno en un volumen diferencial se debe a su difusión espacial y al consumo celular. Para que la Ecuación (3.2) quede completa, se deben definir las condiciones iniciales y las condiciones de contorno necesarias.

Como se ha comentado, FEniCS emplea el método de elementos finitos, por lo que la Ecuación (3.2) ha de expresarse en su formulación débil. Para ello, primero se discretiza temporalmente dicha ecuación. El superíndice n es un entero que indica el número de paso temporal. Es decir, S^n indica la concentración de oxígeno en el instante temporal t_n . Con todo ello, la Ecuación (3.2) en el instante t_{n+1} queda de la siguiente forma:

$$\left(\frac{\partial S}{\partial t} \right)^{n+1} = D_S (\nabla^2 S)^{n+1} - U^{n+1}. \quad (3.3)$$

Si ahora aproximamos la derivada temporal mediante diferencias finitas descentradas hacia atrás (es decir, $\left(\frac{\partial S}{\partial t} \right) \approx \frac{S^{n+1} - S^n}{\Delta t}$), la Ecuación (3.3) queda como:

$$\frac{S^{n+1} - S^n}{\Delta t} = D_S (\nabla^2 S)^{n+1} - U^{n+1}. \quad (3.4)$$

La Ecuación (3.4) es la versión discretizada temporalmente de la Ecuación (3.3) (discretización implícita de Euler). Reordenando:

$$S^{n+1} - \Delta t D_S (\nabla^2 S)^{n+1} - S^n + \Delta t U^{n+1} = 0. \quad (3.5)$$

A continuación, se multiplica la Ecuación (3.5) por una función v llamada función de ponderación y se integran por partes las derivadas segundas. La incógnita a resolver es S^{n+1} (de aquí en adelante S), pues en cada paso que se resuelva la Ecuación (3.5), S^n será conocido (puesto que se habrá calculado en el paso anterior). Se denomina Ω al dominio de integración. De esta forma, se llega a la Ecuación (3.6):

$$\begin{aligned} F_{n+1}(S; v) &= \int_{\Omega} ((S - S^n)v + \Delta t D_S \nabla S \nabla v + \Delta t U^{n+1}v) \, d\mathbf{x} = \\ &= \Delta t v D_S \nabla S \Big|_{\Gamma^u} + \Delta t v D_S \nabla S \Big|_{\Gamma^t}, \end{aligned} \quad (3.6)$$

donde Γ^u es la parte del contorno en la que el valor de la variable principal S es conocida (es decir, donde se han establecido condiciones de contorno de tipo Dirichlet); mientras que Γ^t es la parte del contorno en la que la derivada de la variable principal es conocida (es decir, donde se establecen condiciones de contorno de tipo Neumann). Las funciones de ponderación se definen de tal forma que se anulen en Γ^u . Por ello, el término $\Delta t v D_S \nabla S \Big|_{\Gamma^u}$ es nulo. Por otra parte, las condiciones Neumann habituales en este problema son de flujo nulo en la frontera, por lo que el término $\Delta t v D_S \nabla S \Big|_{\Gamma^t}$ es también nulo.

Con todo eso, se llega a la formulación débil de la Ecuación (3.2). Dicha formulación se puede ver en la Ecuación (3.7). Esta es la forma en la que debe introducirse la ecuación en FEniCS. Además de resolver en cada paso temporal esta ecuación, es necesario aproximar la condición inicial, que puede formularse también según la formulación débil. Esto en FEniCS se lleva a cabo mediante una proyección o una interpolación del valor inicial.

$$F_{n+1}(S; v) = \int_{\Omega} ((S - S^n)v + \Delta t D_S \nabla S \nabla v + \Delta t U^{n+1}v) \, d\mathbf{x} = 0. \quad (3.7)$$

Por tanto, el problema en la formulación débil es el siguiente: encontrar $S \in W = \{W \in H^k(\Omega), S = \bar{W} \text{ en } \Gamma^u\}$ que cumple la Ecuación (3.7) para toda $v \in V = \{v \in H^l(\Omega), v = 0 \text{ en } \Gamma^t\}$, con H^k el espacio de Sobolev de orden k , es decir, el espacio de funciones con derivada k de cuadrado integrable en Ω . W es el espacio de búsqueda de la solución, es decir, el espacio de funciones que respetan las condiciones de derivabilidad y de contorno del problema. Por otro lado, V es el espacio de variaciones admisibles. Por las reglas de integración por partes, $k + l = m$, siendo m el orden del operador diferencial que aparece en la Ecuación (3.2). En el caso de estudio, $m = 2$, por lo que $k = l = 1$.

Se emplea el método de Newton para la resolución del problema no lineal resultante, por lo que no está garantizada su convergencia global. La única forma de garantizar la convergencia es seleccionar un valor inicial adecuado (como es el caso).

Otro aspecto que influye en la convergencia del método es el valor relativo entre el término de consumo y el de difusión.

3.1.2. Módulo discreto: procesos celulares

Como se ha mencionado en la introducción, en este modelo las células se consideran de forma individual, siendo cada una de ellas un agente. Por tanto, los procesos celulares asociados se han modelado de forma discreta. Se han considerado la proliferación, la muerte, la migración tanto aleatoria como dirigida y el consumo celular. Para la implementación de dichos procesos, este trabajo se ha basado en otro trabajo previamente desarrollado [43] y en el *software* PhysiCell [44], un simulador de código abierto de sistemas 3D multicelulares. A continuación, se describe la implementación de los procesos celulares.

Proliferación

La proliferación se modela a través de una probabilidad. Se calcula la probabilidad de que en un instante $[t, t + \Delta t_{\text{ph}}]$, la célula considerada prolifere. Es decir:

$$P(\text{proliferación durante } [t, t + \Delta t_{\text{ph}}]) = r_p \frac{S}{S^H} \Delta t_{\text{ph}}, \quad (3.8)$$

siendo r_p la ratio de proliferación y S^H el umbral de hipoxia. La ratio de proliferación se define como $r_p = \frac{1}{\tau_n}$, donde τ_n es el tiempo característico de proliferación. El umbral de hipoxia es la concentración de oxígeno a partir de la cual las células tan solo proliferan. Por debajo de este umbral, entre 0 y S^H las células migran y proliferan, siendo mayor la tendencia migratoria que la proliferativa cuanto menor es el oxígeno. Este planteamiento se basa en el enfoque *go or grow* [45] empleado en un trabajo anterior para modelar la evolución del GBM [46].

Si la probabilidad calculada es mayor o igual que un número a ($0 \leq a < 1$) generado de forma aleatoria, la célula considerada prolifera. La nueva célula es exactamente igual que la célula madre y se genera a una distancia máxima de esta definida como distancia de equilibrio r_{eq} . La distancia y orientación a la cual aparece la célula hija se generan de forma aleatoria.

Muerte

La forma de modelar el proceso de muerte es similar a cómo se modela la proliferación. Se calcula una probabilidad de que, teniendo en cuenta que en el instante

t la célula considerada estaba viva, dicha célula haya muerto en el instante $t + \Delta t_{\text{ph}}$:

$$P(\text{muerte durante } [t, t + \Delta t_{\text{ph}}]) = r_m \frac{1}{2} \left(1 - \tanh \left(\frac{S - S^A}{\Delta S^A} \right) \right) \Delta t_{\text{ph}}, \quad (3.9)$$

siendo r_m la ratio de muerte, S^A el umbral de anoxia y ΔS^A la sensibilidad de anoxia. La ratio se define como $r_m = \frac{1}{\tau_d}$, donde τ_d es el tiempo característico de muerte. El umbral de anoxia es la concentración de oxígeno por debajo de la cual las células no tienen oxígeno suficiente para vivir. La sensibilidad de anoxia regula cómo de abrupto es el cambio de comportamiento alrededor del umbral de anoxia. Se emplea una tangente hiperbólica para tener en cuenta los procesos de apoptosis y necrosis.

Si la probabilidad calculada es menor que un número a ($0 \leq a < 1$) generado de forma aleatoria, la célula considerada muere y desaparece del dominio en ese instante.

Migración

Las células en este modelo modifican su velocidad tanto de forma aleatoria, fenómeno denominado como difusión; como dirigida por un gradiente de oxígeno, fenómeno conocido como quimiotaxis, por el cual las células migran hacia gradientes de oxígenos positivos.

La velocidad de cada célula se calcula como $\mathbf{v} = s_{\text{loc}} \mathbf{u}_{\text{loc}}$, donde s_{loc} es el módulo de la velocidad y $\mathbf{u}_{\text{loc}}$ es la dirección del vector velocidad, que se define de la siguiente forma:

$$\mathbf{u}_{\text{loc}} = \frac{b\mathbf{d} + \xi(1 - b)}{|b\mathbf{d} + \xi(1 - b)|}, \quad (3.10)$$

donde $\mathbf{d}$ es la dirección que coincide con la dirección unitaria del gradiente de oxígeno, ξ es una dirección de migración aleatoria y b un parámetro que modula las contribuciones de las direcciones aleatorias y dirigidas. Es decir, si $b = 0, 5$, la difusión y la quimiotaxis influyen de la misma forma en el cambio de dirección de la velocidad. El proceso para calcular $\mathbf{u}_{\text{loc}}$ se explica a continuación.

En primer lugar, se genera de forma aleatoria un número a (con $0 \leq a < 1$). Entonces, dicho número se compara con el cociente $\Delta t_{\text{mech}}/T_{\text{pers}}$, siendo T_{pers} el tiempo de persistencia, que se define como el tiempo medio en el que una célula mantiene su velocidad y dirección antes de elegir un nuevo vector de dirección. Solo en el caso de que $a < \Delta t_{\text{mech}}/T_{\text{pers}}$ se modifica la dirección. Para ello, se genera de forma aleatoria la dirección ξ , mientras que la dirección $\mathbf{d}$ queda definida según el gradiente de oxígeno. Con estos datos, y habiendo fijado previamente la variable b , se actualiza el valor de la velocidad, y con este la nueva posición de la célula.

Consumo celular

En este modelo se considera que el oxígeno es el único componente químico que afecta al comportamiento de las células. El modelado del consumo de oxígeno por parte de las células se explica a continuación. Se calcula el consumo asociado en cada nodo de la malla. Para ello, se hace un recuento del número de células que se encuentran en las proximidades del nodo considerado (en un espacio del tamaño de un elemento de la malla). De esta forma, se puede calcular una concentración celular que se emplea para conocer el valor del consumo U :

$$U = \alpha_n \frac{S}{S^M + S} \cdot \frac{N_i}{V_i}. \quad (3.11)$$

En la Ecuación (3.11), α_n es el parámetro que representa el tiempo característico de consumo de oxígeno de las células normóxicas, S^M es la constante de Michaelis-Menten, que indica la concentración de sustrato a la cual se alcanza la mitad de la velocidad máxima de reacción. N_i es el número de células que se encuentran alrededor del nodo i , en un espacio limitado por el volumen de V_i , que definimos como $V_i = w_e h_e dz$, siendo w_e y h_e la anchura y la altura del elemento de la malla, y dz la dimensión “ficticia” en la dirección z , necesaria a efectos de unidades y para asegurar que la concentración celular utilizada es la correcta en el modelo continuo.

3.1.3. Enlace entre módulo discreto y módulo continuo

El carácter híbrido del modelo reside en el acoplamiento del módulo discreto y del módulo continuo. Para resolver la ecuación continua del oxígeno, es necesario saber el consumo celular. Las células consumen oxígeno de forma individual, pero el cálculo del consumo, como se ha explicado en el apartado anterior, se hace a partir de la concentración celular. De esta forma, los resultados del módulo discreto pasan al módulo continuo.

Una vez resuelta la ecuación de la evolución del oxígeno, estos resultados son necesarios en el módulo discreto para poder calcular los procesos celulares; puesto que la concentración de oxígeno en las proximidades de la célula que se considera afectan a la proliferación, a la muerte y a la migración. De esta forma, los resultados del módulo continuo se emplean en el discreto. Este enlace entre ambos módulos se puede ver en la Figura 3.1.

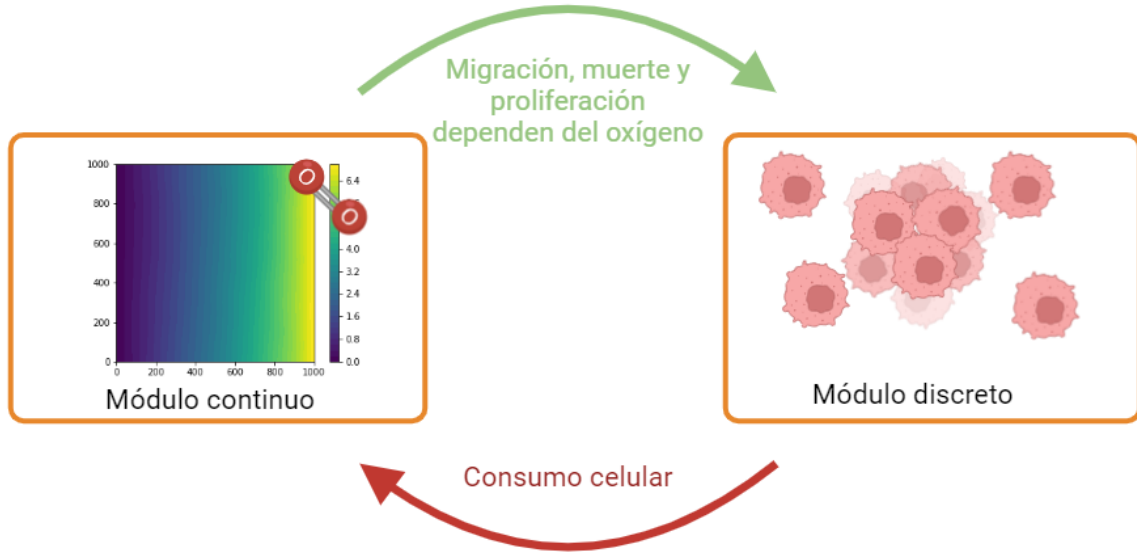


Figura 3.1: Esquema del enlace entre los módulos continuo y discreto.

3.2. Verificación del modelo desarrollado

Una vez desarrollado el modelo, para poder considerar válidos sus resultados ha de ser verificado. Esto puede hacerse comparando con experimentos realizados o con otros modelos ya validados, como es el caso del presente trabajo. Se eligen ciertas métricas, y se comparan las obtenidas por el modelo desarrollado **GBM_HYBRID** con PhysiCell, el *software* mencionado anteriormente. Las métricas que se comparan son las siguientes:

- **La posición de las células:** con esta métrica se pretende validar el proceso de migración.
- **El número total de células:** con esta métrica se pretende validar el proceso de proliferación y muerte.
- **El número de células muertas:** con esta métrica se pretende validar el proceso de muerte.
- **El mapa de oxígeno:** con esta métrica se pretende validar la implementación de la ecuación de evolución del oxígeno.

Para comparar estas métricas, se diseñan dos simulaciones diferentes (que van a denominarse Simulación 1 y Simulación 2). La nomenclatura, descripción y unidades de los parámetros numéricos y del modelo empleados para cada simulación y cada

software se muestran en la Tabla 3.1. El valor de los mismos se muestra en la Tabla 3.2

A continuación, se describen la Simulación 1 y la Simulación 2, mostrando sus resultados.

3.2.1. Simulación 1

En la Simulación 1 simula una pseudoempalizada en un dominio bidimensional de $1200 \mu\text{m} \times 400 \mu\text{m}$. Las condiciones iniciales son las siguientes: 500 células iniciales cuya posición inicial es aleatoria pero está restringida a un tercio del dominio en x , es decir, $0 \leq x \leq 400 \mu\text{m}$. Esta disposición inicial puede observarse en la Figura 3.2. Con respecto al oxígeno, la condición inicial es una rampa en x con valor de 0 mmHg en $x = 0$ y de u_0 en $x = w$.

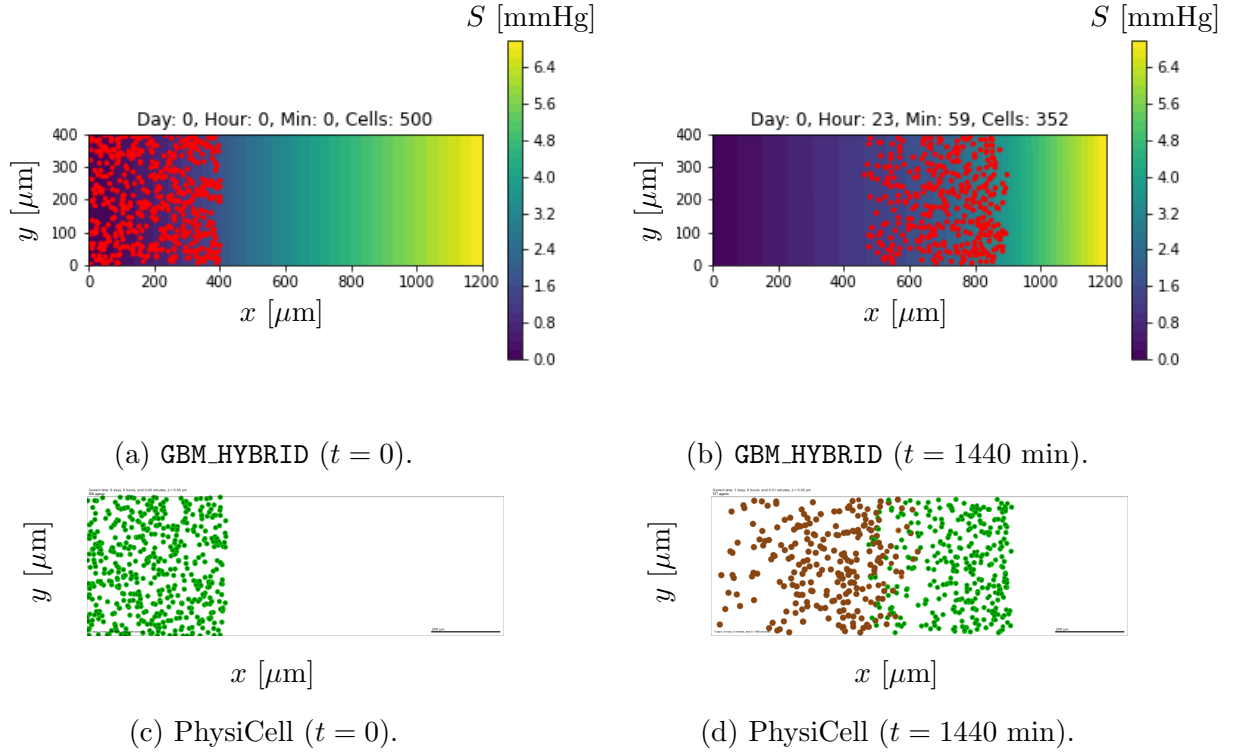


Figura 3.2: Situación inicial ($t = 0$ min) y final ($t = 1440$ min) de la Simulación 1 para ambos *softwares*.

Las condiciones de contorno son las siguientes:

- **Células:** condiciones de contorno Neumann de flujo nulo en todas las fronteras. Cuando una célula llega a alguna de las fronteras, no escapa, sino que rebota.
- **Oxígeno:** condiciones de contorno Dirichlet en $x = 0$ y en $x = w$ y condiciones de contorno Neumann de flujo nulo en $y = 0$ y en $y = h$.

Parámetro	Descripción	Unidades
$n_{\text{réplicas}}$	Número de réplicas de la simulación.	-
n_x	Número de elementos de la malla de elementos finitos en la dirección x .	-
n_y	Número de elementos de la malla de elementos finitos en la dirección y .	-
w	Ancho del dominio.	μm
h	Altura del dominio.	μm
dz	Altura en z de los elementos considerados de la malla de elementos finitos.	μm
T	Tiempo total de simulación.	min
T_{pers}	Tiempo de persistencia	min
n_{pasos}	Número de pasos temporales en los que se resuelve la ecuación en elementos finitos en cada iteración.	-
$\Delta t_{\text{environment}}$	Paso temporal para la resolución del oxígeno.	min
Δt_{ph}	Paso temporal para la resolución de los procesos celulares.	min
$\Delta t_{\text{mechanics}}$	Paso temporal con el que se actualiza la velocidad y la posición de las células.	min
u_0	Valor máximo de concentración de oxígeno cuando este se inicializa como una rampa en x .	mmHg
u_l	Valor del oxígeno en $x = 0$.	mmHg
u_r	Valor del oxígeno en $x = w$.	mmHg
n_{cells}	Número inicial de células.	Nº de células
α_n	Coefficiente de consumo de oxígeno.	$\frac{\text{mmHg} \cdot \mu\text{m}^3}{\text{cél} \cdot \text{min}}$
S^M	Constante de Michaelis-Menten	mmHg
D_S	Coefficiente de difusión de oxígeno.	$\mu\text{m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$
s_{loc}	Módulo de la velocidad de las células.	$\frac{\mu\text{m}}{\text{min}}$
r_{eq}	Espacio de equilibrio: distancia máxima en la que puede aparecer la nueva célula con respecto a la célula madre.	μm
r_m	Ratio de muerte celular.	min^{-1}
r_p	Ratio de proliferación celular.	min^{-1}
S^H	Umbral de hipoxia.	mmHg
S^A	Umbral de anoxia.	mmHg
ΔS^A	Parámetro de sensibilidad de anoxia.	mmHg
b	Parámetro que modula la quimiotaxis y la difusión.	-

Tabla 3.1: Nomenclatura, descripción y unidades de los parámetros numéricos y del modelo.

	Simulación 1		Simulación 2	
Parámetros	PhysiCell	GBM_HYBRID	PhysiCell	GBM_HYBRID
$n_{\text{réplicas}}$	1		50	
n_x	48	150	48	150
n_y	8	50	8	50
w	1200			
h	400			
dz	50			
T	1440			
T_{pers}	1			
n_{pasos}	10			
$\Delta t_{\text{environment}}$	0,01	1	0,01	1
Δt_{ph}	6	1	6	6
$\Delta t_{\text{mehcatics}}$	1	1	1	1
u_0	7			
u_l	0			
u_r	7			
n_{cells}	500		250	
α_{n}	60000			
S^M	2,5			
D_S	60000			
s_{loc}	0,5			
r_{eq}	25			
r_{m}	1/1440			
r_{p}	1/1440			
S^H	7			
S^A	1,6			
ΔS^A	0,1			
b	0,5			

Tabla 3.2: Valor de los parámetros numéricos y del modelo.

La métrica que se pretende comprobar a partir de esta simulación es la de la posición de las células. Se realiza la misma simulación en **GBM_HYBRID** y en **PhysiCell** y se guardan las posiciones finales de las células de ambos casos. A continuación, se realiza una prueba χ^2 con la distribución de posiciones. En la Figura 3.3 se observan las posiciones finales de las células que resultan de realizar la simulación en ambos modelos.

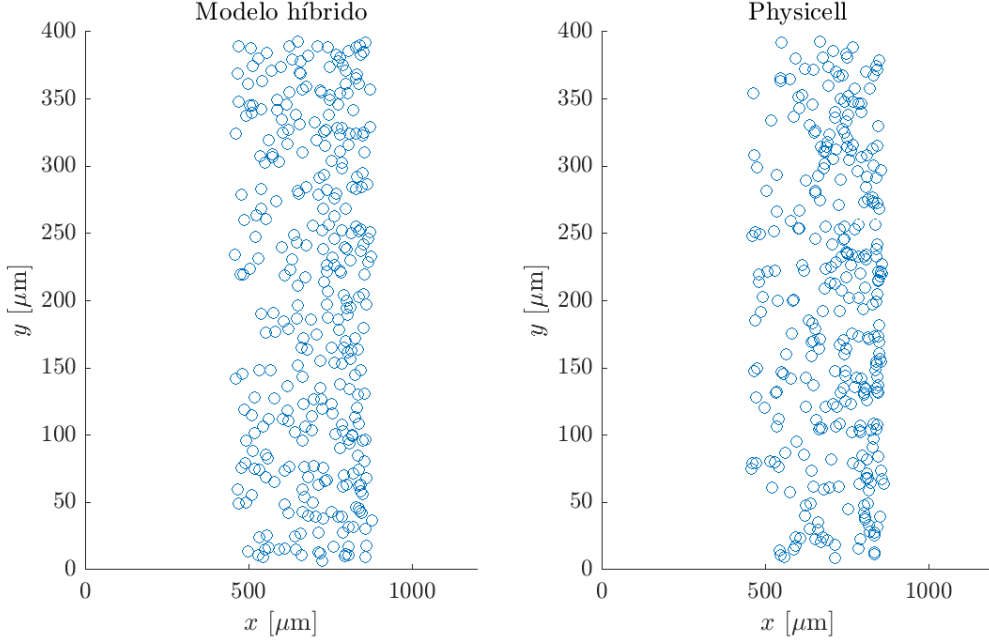


Figura 3.3: Posiciones finales de las células en el modelo híbrido (**GBM_HYBRID**) y en **PhysiCell**.

En la Figura 3.4 se observa el histograma 2D a partir del cual se ha realizado la prueba χ^2 [47, 48]. Se ha dividido el dominio en celdas y en cada una de ellas se ha realizado un recuento del número de células que se encuentran en dicha celda (N). Con esto, se ha realizado el test estadístico mencionado.

El test de hipótesis realizado es el siguiente:

$$\begin{cases} H_0 : & \text{La distribución de posiciones de } \mathbf{GBM_HYBRID} \text{ sigue la de } \mathbf{PhysiCell}. \\ H_1 : & \text{La distribución de posiciones de } \mathbf{GBM_HYBRID} \text{ no sigue la de } \mathbf{PhysiCell}. \end{cases}$$

Para aceptar o rechazar H_0 se define el estadístico D :

$$D = \sum_i^k \sum_j^m \frac{(O_{ij} - E_{ij} - 0,5)^2}{E_{ij}}, \quad (3.12)$$

donde O_{ij} y E_{ij} son los valores observados y esperados respectivamente en cada celda $i - j$ (teniendo en cuenta que hay k celdas en la dirección x y m celdas en la dirección y). Es decir, E_{ij} corresponde con el número de células en una celda determinada y se

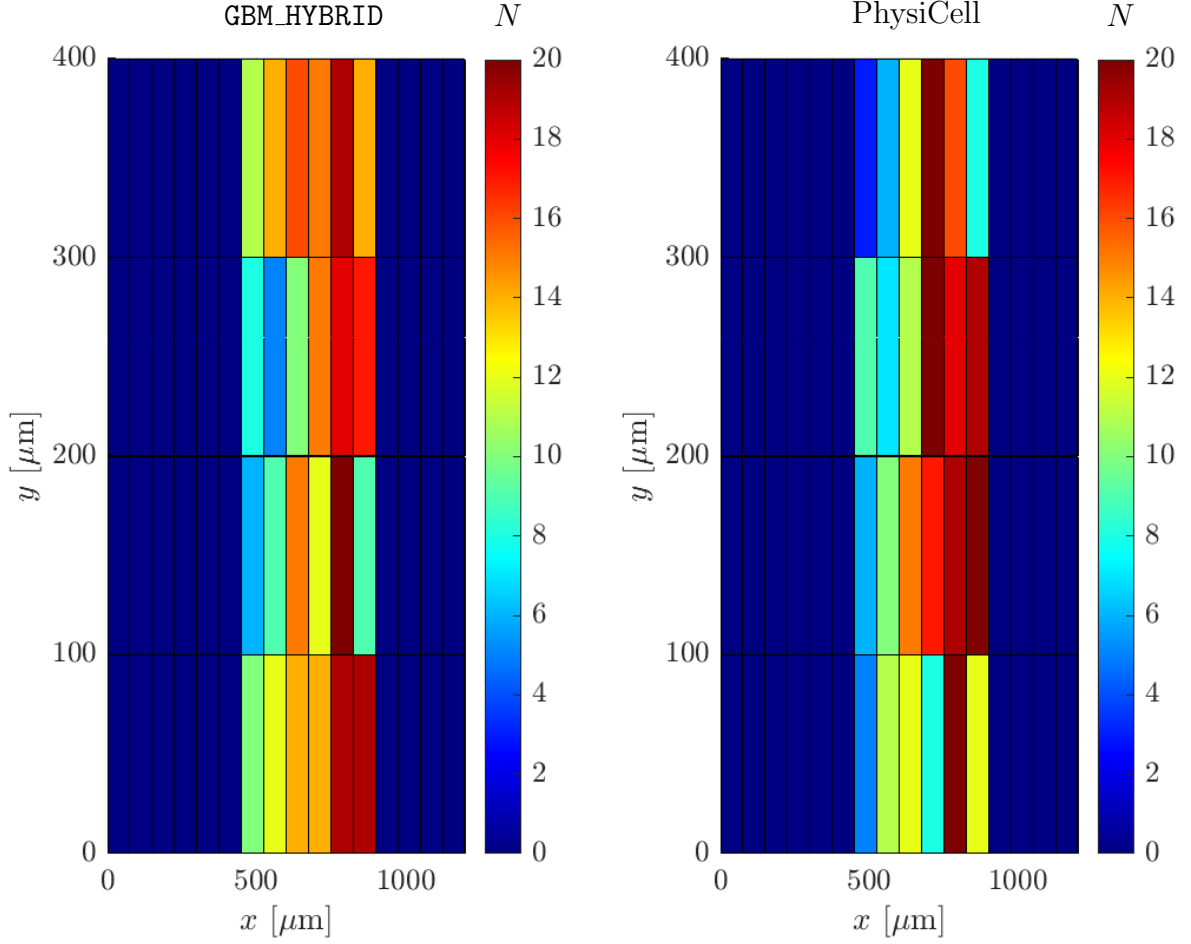


Figura 3.4: Histograma bidimensional de las células en GBM_HYBRID y en PhysiCell.

obtiene a partir de los resultados de PhysiCell, pues son los de referencia. O_{ij} responde a la misma definición pero se obtiene a partir de los resultados de GBM_HYBRID. El término de -0,5 es la corrección de Yates.

La hipótesis nula se rechaza si $D \geq \chi^2_{\nu, 1-\alpha}$, donde $\chi^2_{\nu, 1-\alpha}$ es el valor teórico obtenido de la distribución χ^2 con un nivel de significancia α (y por tanto un nivel de confianza de $1 - \alpha$) y ν grados de libertad. En este caso, el nivel de significancia se toma como $\alpha = 0,05$ y los grados de libertad son el número de celdas en las que hay células según los resultados de PhysiCell (ya que, de lo contrario, no podría calcularse el estadístico D).

En el caso de la simulación estudiada, se obtiene que $D = 11,6748$ y que $\chi^2_{\nu, 1-\alpha} = 12,5916$, es decir, $D < \chi^2_{\nu, 1-\alpha}$; por tanto, no se rechaza la hipótesis nula y se puede considerar que la distribución de posiciones de GBM_HYBRID sigue la de PhysiCell. Con esto, la posición de las células y por ende la migración, quedan verificadas.

Para verificar la implementación del oxígeno, se ha obtenido la distribución final

para ambos modelos. A continuación, se ha realizado el promediado de esta variable a lo largo de x (pues el problema simulado es principalmente unidireccional), obteniendo así el perfil de oxígeno a lo largo de esta dirección. Los resultados se observan en la Figura 3.5.

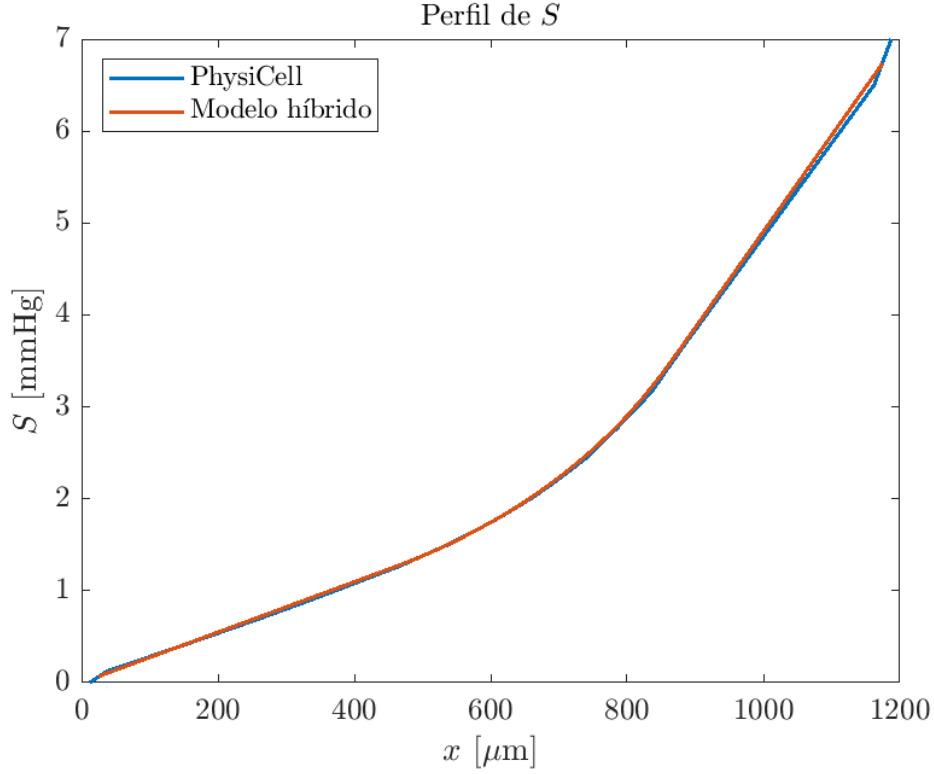


Figura 3.5: Perfil final de S a lo largo de x (según PhysiCell y según el modelo híbrido GBM_HYBRID).

3.2.2. Simulación 2

En la Simulación 2 se simula también una pseudoempalizada con las mismas condiciones de contorno, la misma condición inicial para el oxígeno y el mismo dominio descritos en la Simulación 1. Respecto a las condiciones iniciales de las células, en este caso se consideran 250 células iniciales. La situación inicial tanto en GBM_HYBRID como en PhysiCell puede verse en la Figura 3.6. Sin embargo, en esta simulación se realizan 50 réplicas para poder obtener estadísticas del número de células al final de la simulación. De nuevo, se lleva a cabo esta simulación tanto en ambos modelos y se guardan ambos resultados. Se pretenden comparar las siguientes métricas: el número total de células, el número de células muertas y el mapa de oxígeno.

Como el número de réplicas realizadas es mayor de 30, pueden considerarse las distribuciones normales. Por tanto, puede llevarse a cabo la prueba t de dos muestras.

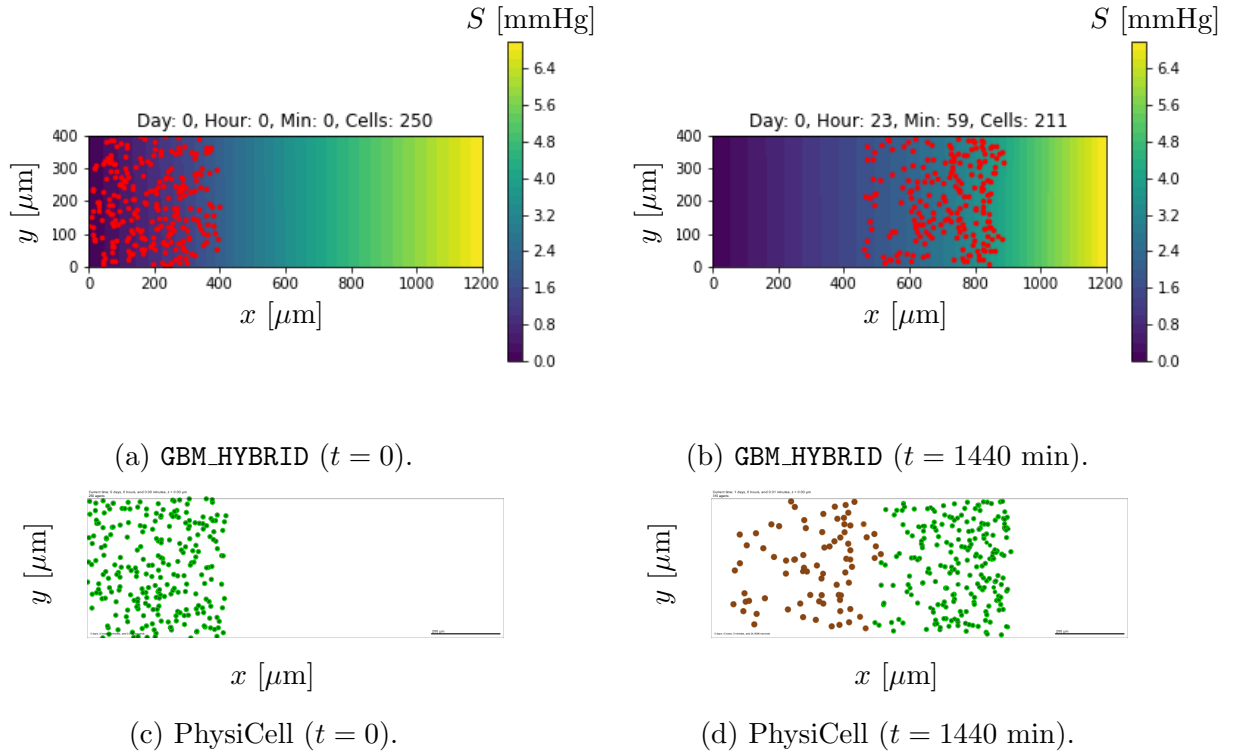


Figura 3.6: Situación inicial ($t = 0$ min) y final ($t = 1440$ min) de la Simulación 2 para ambos *softwares*.

El test de hipótesis realizado es el siguiente:

$$\left\{ \begin{array}{l} H_0 : \text{Los datos de ambas distribuciones proceden de muestras aleatorias} \\ \quad \text{independientes procedentes de unas distribuciones normales con medias iguales} \\ \quad \text{iguales y varianzas pero desconocidas.} \\ H_1 : \text{Los datos de ambas distribuciones proceden de poblaciones con medias} \\ \quad \text{diferentes.} \end{array} \right.$$

Este test se realiza tanto para el número total de células (vivas y muertas) y al número de células muertas. En ambos casos se está considerando el instante final de la simulación. Se emplea la función `ttest2` de Matlab [49]. Si el p -valor es menor que el nivel de significancia α elegido, que en este caso es de nuevo 0,05; se rechaza la hipótesis nula. En el caso de las células totales se tiene un p -valor de 0,0710; mientras que en el caso de las células muertas este valor es de 0,0701. En ambos casos se cumple que $p\text{-valor} \geq \alpha$; por tanto, no existe suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula. Esto quiere decir se puede asumir que la distribución de células totales y de células muertas calculadas en GBM_HYBRID se asemejan a las de PhysiCell. Es decir, el número de células muertas y de células totales queda verificado y con ello los procesos de proliferación y muerte.

En la Figura 3.7 pueden verse los diagramas de caja o *boxplots* de las distribuciones de células totales y muertas calculadas para GBM_HYBRID y para PhysiCell.

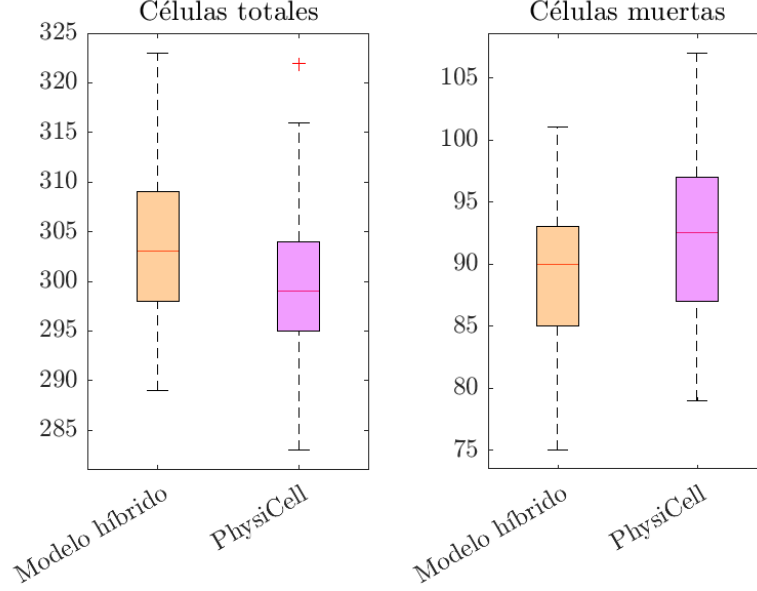


Figura 3.7: *Boxplots* de células totales finales (izquierda) y células muertas finales (derecha) calculados por el modelo híbrido GBM_HYBRID y por PhysiCell.

Para verificar si la implementación de la ecuación de evolución de oxígeno es correcta, se obtienen las distribuciones finales de esta variable para ambos modelos. A continuación, se restan dichas distribuciones, obteniendo así el error absoluto, que podemos ver en la Figura 3.8a y viene definido por:

$$E_{\text{abs}} = |S_{\text{Physicell}}(t = T) - S_{\text{GBM_HYBRID}}(t = T)|. \quad (3.13)$$

El error relativo en tanto por ciento (con respecto a la distribución de referencia, que se considera PhysiCell), se define como:

$$E_{\text{rel}} = \frac{S_{\text{Physicell}}(t = T) - S_{\text{GBM_HYBRID}}(t = T)}{S_{\text{Physicell}}(t = T)} \times 100, \quad (3.14)$$

y puede verse en la Figura 3.8b. Se observa que a la izquierda del dominio el error relativo es mayor. Esto se debe simplemente a que el valor de referencia está próximo a 0. Teniendo en cuenta que la distribución de oxígeno comprende valores entre 0 y 7 mmHg, los errores son asumibles.

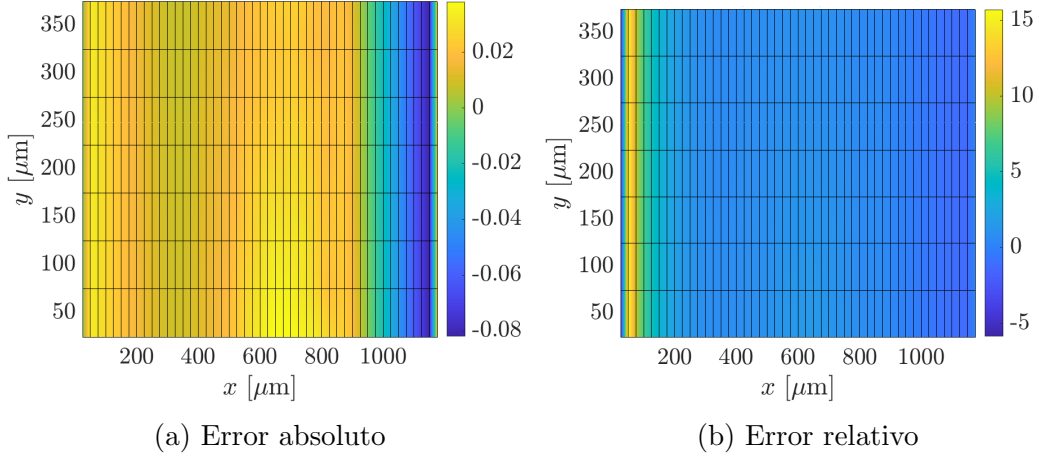


Figura 3.8: Error absoluto (izquierda) y relativo en tanto por ciento (derecha) entre las distribuciones finales de oxígeno obtenidas al simular con GBM_HYBRID y con PhysiCell.

De forma análoga a la Simulación 1, se ha obtenido el perfil de S final a lo largo de x . En este caso, se han promediado también los resultados obtenidos para las 50 réplicas. Por ello, en la Figura 3.9 se observan dichos perfiles con las barras de error asociadas.

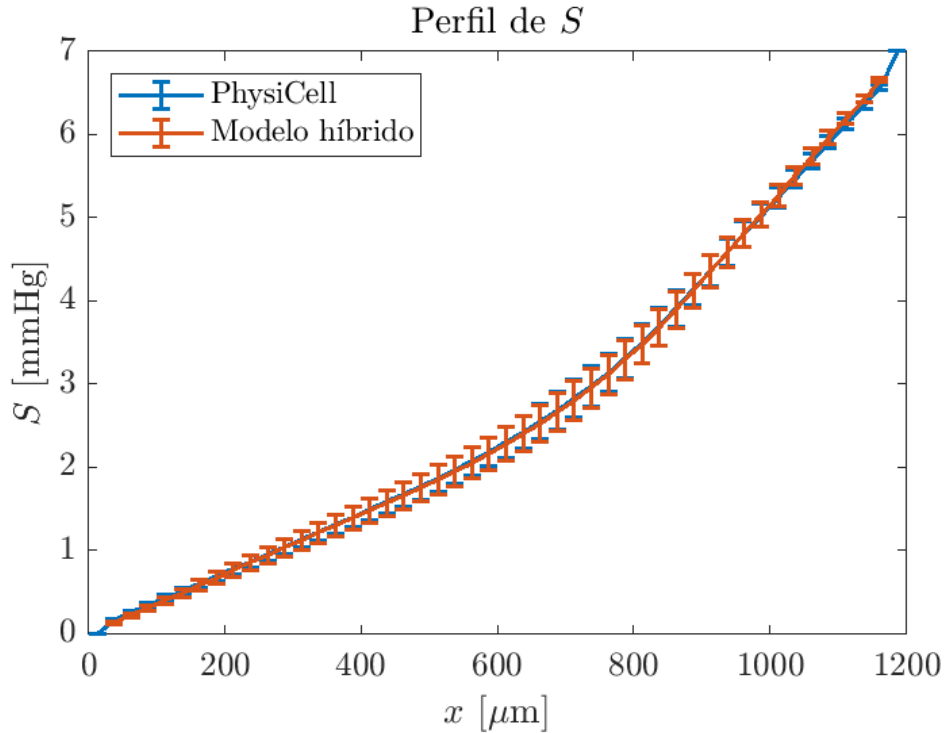


Figura 3.9: Perfil final de S a lo largo de x (y promediado para las 50 simulaciones) y sus barras de error asociadas para ambas simulaciones (modelo híbrido GBM_HYBRID y PhysiCell).

Tras esto GBM_HYBRID queda verificado, es decir, los resultados del mismo pueden considerarse válidos.

3.3. Ejemplo de aplicación: estudio de la influencia de las interacciones entre células en GBM

La importancia de los modelos híbridos radica en poder simular algunos fenómenos de forma más adecuada como son la adhesión y repulsión, es decir, fenómenos de interacción entre células. Un ejemplo de esto es la existencia de estudios [50, 51] que señalan cómo controlando la adhesión se puede disminuir la dispersión del tumor.

Para ilustrar cómo el modelo desarrollado puede ser de utilidad en la reproducción de los fenómenos mencionados, se han buscado en la bibliografía científica experimentos de GBM en los que los parámetros mecánicos como la adhesión son importantes. Posteriormente, se han simulado dichos ejemplos con el código desarrollado.

Cabe destacar que no se pretende una copia exacta de los experimentos de bibliografía; de hecho, no se ha llevado a cabo una optimización de parámetros. Esto se debe a que el objetivo es demostrar que con el modelo propuesto se pueden reproducir situaciones que con un modelo continuo no se podrían llevar a cabo de forma sencilla. Se han desarrollado dos ejemplos, basados en los artículos [52] y [53] respectivamente, que estudian la interacción entre células.

Para poder simular estos ejemplos, se deben añadir al código las fuerzas de adhesión y repulsión. Esta parte ha quedado fuera de la verificación del código puesto que no se incluía en el código de referencia.

La definición de la fuerza de adhesión F_{cca}^{ij} se observa en la Ecuación (3.15) y la de la fuerza de repulsión F_{ccr}^{ij} en la Ecuación (3.16) (para unas células i y j de radios R_i y R_j respectivamente) [54].

$$F_{cca}^{ij} = -C_{cca} A_i A_j \nabla \phi_{n_{cca}, R_{i,A} + R_{j,A}}(x_j - x_i), \quad (3.15)$$

$$F_{ccr}^{ij} = -C_{ccr} \nabla \psi_{n_{ccr}, R_{i,A} + R_{j,A}}(x_j - x_i), \quad (3.16)$$

donde C_{cca} es el coeficiente de adhesión celular, C_{ccr} es el coeficiente de repulsión celular, A_i y A_j son los parámetros de adhesión relativa de las células ($0 \leq A_i \leq 1$) y n_{cca} es el parámetro exponente de la adhesión célula-célula. Por defecto, $A_i = 1$ para todas las células. Las funciones potenciales son ϕ_{n, R_A} para modelar la fuerza de adhesión y ψ_{n, R_A} para las fuerzas de repulsión. Dichos potenciales se emplean para transitar de forma suave de un valor de fuerza nulo a su máximo valor. En el código, se emplean

sus gradientes:

$$\nabla\phi_{n,R_A} = \begin{cases} \frac{r}{|r|} \left(1 - \frac{|r|}{R_A}\right)^{n+1}, & \text{si } |r| \leq R_A \\ 0, & \text{en cualquier otro caso,} \end{cases} \quad (3.17)$$

$$\nabla\psi_{n,R} = \begin{cases} -\frac{r}{|r|} \left(1 - \frac{|r|}{R}\right)^{n+1}, & \text{si } |r| \leq R \\ 0, & \text{en cualquier otro caso,} \end{cases} \quad (3.18)$$

siendo r un vector posición radial al centro de la célula, R la suma de los radios de las células i y j , R_A la máxima distancia de adhesión (que suele ser un múltiplo de R) y n un parámetro que regula la suavidad del comportamiento de las células.

Estas fuerzas de adhesión y repulsión modifican el valor de la velocidad. Previamente, solo se tenía en cuenta la migración dirigida y aleatoria. Con la inclusión de las interacciones entre células, el cálculo de la velocidad $\mathbf{v}$ de cada célula queda de la siguiente forma:

$$\mathbf{v} = s_{\text{loc}} \mathbf{u}_{\text{loc}} + \frac{1}{\nu} \left(\sum_{\substack{j \\ j \neq i}} F_{\text{cca}}^{ij} + \sum_{\substack{j \\ j \neq i}} F_{\text{ccr}}^{ij} \right), \quad (3.19)$$

siendo ν un coeficiente de arrastre que se toma en este caso como $\nu = 1$.

3.3.1. Ejemplo 1: cultivo de esferoides

En el primer artículo de referencia [52] se estudia el glioblastoma desde una perspectiva *in vitro* e *in silico*. En particular, se investiga el efecto de la adhesión entre células. El experimento que se lleva a cabo es el cultivo de esferoides de células de glioblastoma. la evolución de los experimentos puede verse en la Figura 3.10 (donde t_i indica el instante temporal, siendo i un número entero en horas). Se toman los

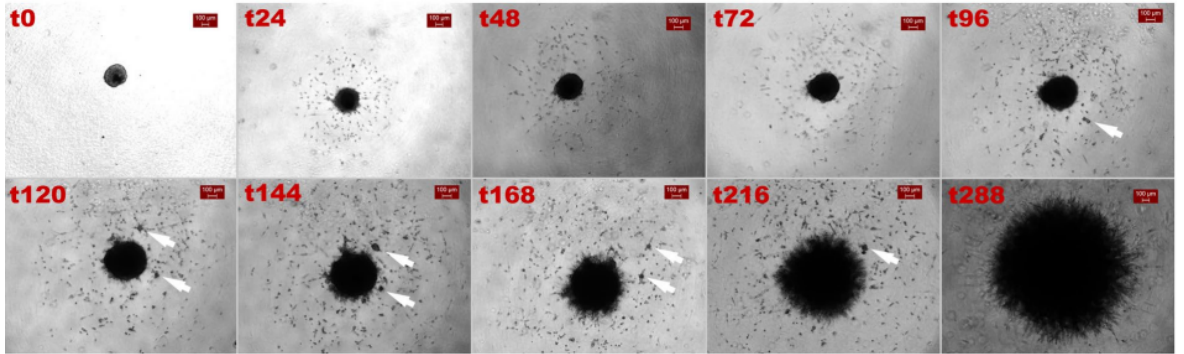


Figura 3.10: Resultados del crecimiento de un esferoide de glioblastoma en la literatura científica (Fuente: [52]).

siguientes datos de referencia del artículo: un radio de esferoide inicial de $140 \mu\text{m}$, una

velocidad de las células de $0,15 \mu\text{m} \cdot \text{min}$, un radio de célula de $10 \mu\text{m}$ y un ratio de proliferación de $1/7444 \text{ min}^{-1}$. El resto de parámetros se escogen de forma que el resultado sea razonable, y pueden verse en la Tabla 3.3. Se considera un valor de oxígeno de 10 mmHg en todas las fronteras del dominio.

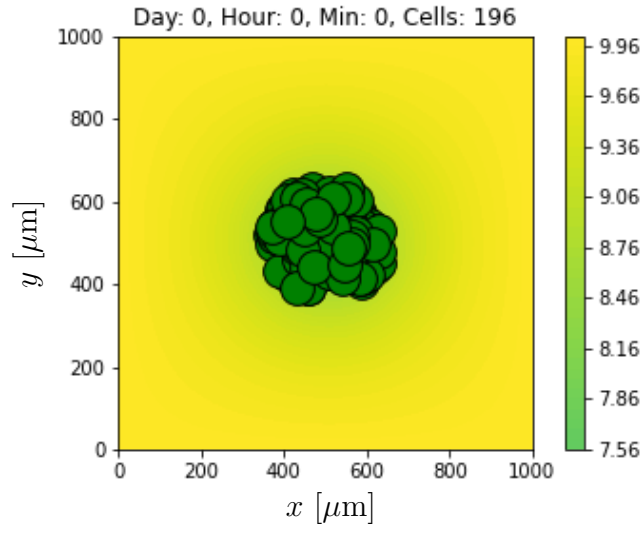
En las Figuras 3.11a, 3.11b y 3.11c se observa el resultado de la simulación en el instante inicial, en un instante a mitad de simulación y en el instante final respectivamente. Se aprecia cómo las células se van alejando, debido tanto a las fuerzas mecánicas como a la quimiotaxis, que hace que las células migren hacia zonas donde haya mayor oxígeno, es decir, zonas donde el oxígeno no haya sido consumido.

Estos resultados se parecen cualitativamente a los de la Figura 3.10, concretamente a las subfiguras de t_0 , t_{48} y t_{96} , que son las que se muestran en la las Figuras 3.11a, 3.11b y 3.11c respectivamente. Se observa que en ambos casos el esferoide va aumentando de tamaño. La diferencia radica en que en los resultados de la literatura científica, algunas células individuales son capaces de escapar el núcleo del esferoide.

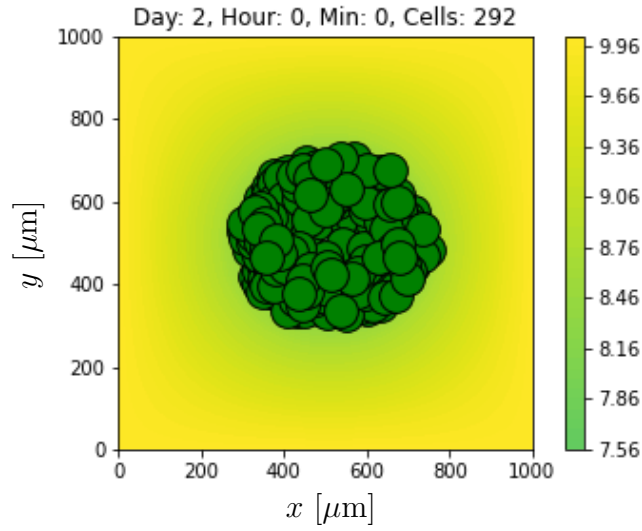
3.3.2. Ejemplo 2: formación de agregados celulares

En el segundo ejemplo elegido [53] se estudia, de nuevo tanto *in vitro* como *in silico*, la formación de agregados celulares, como se observa en la Figura 3.12. En este caso se toman los siguientes datos de referencia del artículo: 400 células iniciales y un dominio de $842,24 \mu\text{m} \times 710,64 \mu\text{m}$. Además, en el artículo se especifica que las células empleadas tienen un radio de entre 8 y $20 \mu\text{m}$. Se toma un radio de $10 \mu\text{m}$. Se considera un valor de oxígeno de 7 mmHg en todas las fronteras del dominio.

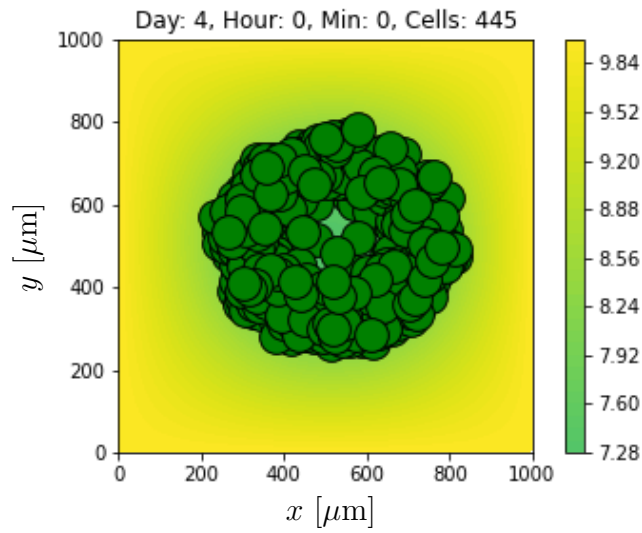
Los resultados se pueden ver en las Figuras 3.13a, 3.13b y 3.13c, donde se observa cómo a lo largo de la simulación, las células van formando agregados debido a las fuerzas de adhesión. Al igual que en la Figura 3.12, en el instante inicial las células ocupan todo el dominio. A mitad de simulación, los agregados se empiezan a distinguir y, a las 12 horas, los agregados se distinguen más claramente.



(a) Ejemplo 1 en el instante inicial.



(b) Ejemplo 1 en un instante a mitad de simulación ($t = 2$ días).



(c) Ejemplo 1 en el instante final.

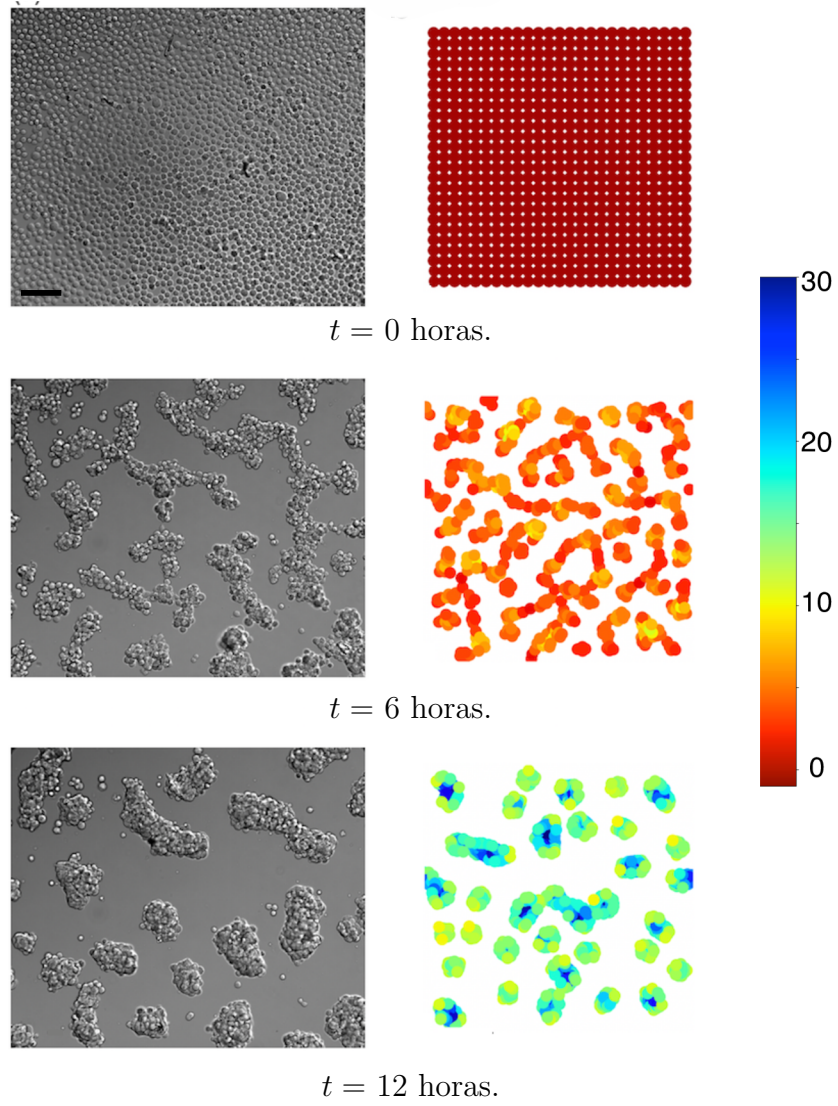
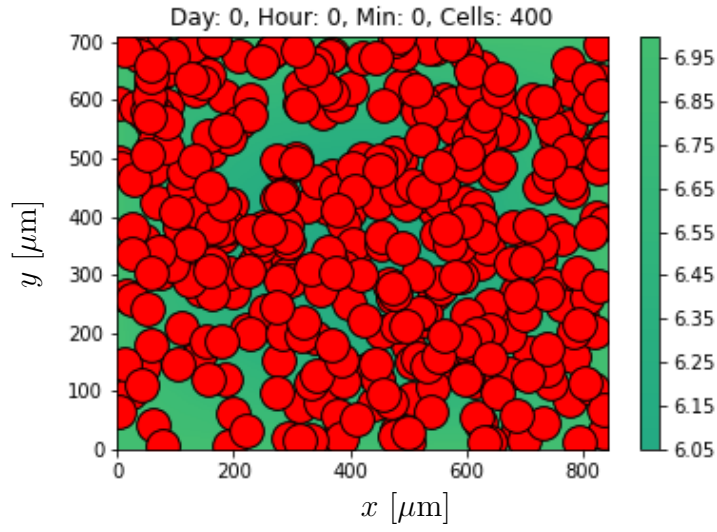
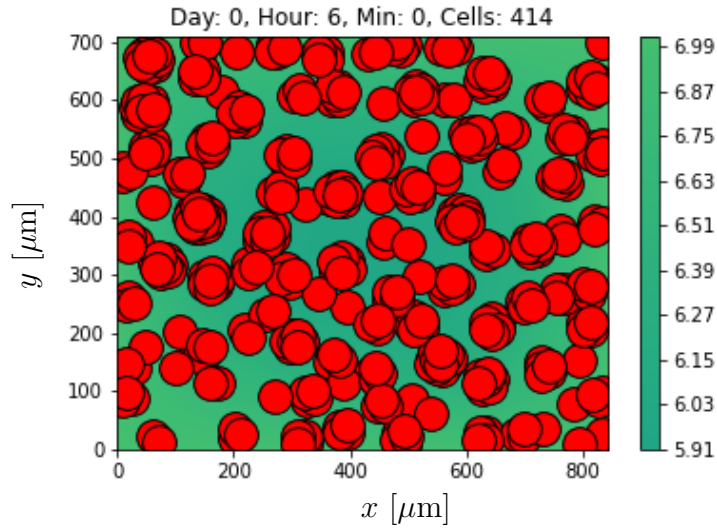


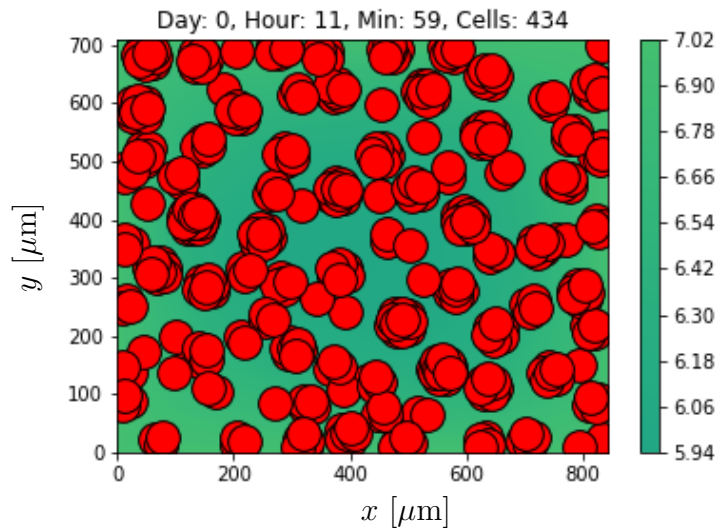
Figura 3.12: Resultados experimentales y simulados de agregados de células de la literatura científica (Fuente: [53]).



(a) Ejemplo 2 en el instante inicial.



(b) Ejemplo 2 en un instante a mitad de simulación ($t = 6$ horas).



(c) Ejemplo 2 en el instante final.

3.3.3. Parámetros de simulación

En la Tabla 3.3 se observan los parámetros empleados para ambos ejemplos. El significado de los parámetros son los ya explicados en la Tabla 3.1 (se han eliminado los referentes a las condiciones de contorno del oxígeno porque ya se han especificado).

En la Tabla 3.4 se observan la definición, unidades y valor de los nuevos parámetros mecánicos para ambas simulaciones. La máxima distancia de adhesión se establece en función del radio celular r .

Parámetros	Unidades	Ejemplo 1	Ejemplo 2
n_x	-	100	25
n_y	-	100	25
w	μm	1000	842,24
h	μm	1000	710,64
dz	μm	20	20
T	min	5760	720
T_{pers}	min	1	
n_{pasos}	-	10	
$\Delta t_{\text{environment}}$	min	1	
Δt_{ph}	min	6	
Δt_{mech}	min	1	
n_{cells}	Nº de células	196	400
α_n	$\frac{\text{mmHg} \cdot \mu\text{m}^3}{\text{cél} \cdot \text{min}}$	60000	
S^M	mmHg	2,5	
D_S	$\mu\text{m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$	60000	
s_{loc}	$\frac{\mu\text{m}}{\text{min}}$	0,15	
r_{eq}	μm	25	
r_m	min^{-1}	1/7444	
r_p	min^{-1}	1/7444	
S^H	mmHg	7	
S^A	mmHg	2	
ΔS^A	mmHg	0,1	
b	-	0,2	

Tabla 3.3: Valor de los parámetros numéricos y del modelo en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 2.

Parámetros	Definición	Unidades	Ejemplo 1	Ejemplo 2
R_A	Máxima distancia de adhesión	μm	$2,5r$	$4r$
C_{cca}	Coeficiente de adhesión celular	$\mu\text{m}/\text{min}$	0,5	2
C_{ccr}	Coeficiente de repulsión celular	$\mu\text{m}/\text{min}$	10	10

Tabla 3.4: Valor de los parámetros mecánicos en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 2.

Capítulo 4

GBM_multiHYBRID: modelo híbrido multiescala de evolución del glioblastoma

En el Capítulo 3 se ha explicado el desarrollo y la verificación de un modelo híbrido con el que poder reproducir el glioblastoma en condiciones hipóxicas. Hemos llamado a este modelo GBM_HYBRID. Sin embargo, el coste computacional de dicho modelo es alto y los tiempos de simulación (cuyo valor es del orden de las 3 horas para las simulaciones realizadas para verificar el modelo en el Capítulo 3) que se requieren hacen que este modelo sea poco práctico a la hora de realizar simulaciones. Esto es debido a que, tal y como se ha visto en la clasificación del Capítulo 2, es un modelo compuesto. Es decir, el nutriente, que en este caso es el oxígeno, se simula de forma continua; sin embargo, el tumor se simula de forma discreta. Por tanto, no se produce el ahorro computacional que se produce en otros modelos híbridos porque se simulan todos los agentes.

En este capítulo se pretende abordar el problema del coste computacional y proponer mejoras o variaciones sobre GBM_HYBRID de forma que, manteniendo unos resultados similares a los del modelo ya desarrollado, se consiga disminuir el tiempo de simulación. En particular, se ha construido un modelo híbrido multiescala, al que llamamos GBM_multiHYBRID, inspirado en trabajos previos de la literatura científica [10].

Cabe destacar que los resultados de este capítulo son preliminares ya que las mejoras propuestas son una primera aproximación al problema y el margen de mejora es amplio, lo cual se discutirá al hablar de las líneas futuras.

4.1. Descripción del modelo GBM_multiHYBRID

El modelo desarrollado sigue siendo un modelo híbrido, pero en este caso, según las clasificaciones del Capítulo 2, seguiría un enfoque híbrido en vez de un enfoque compuesto; ya que el tumor se simula de forma discreta y continua. El oxígeno sigue simulándose de forma continua.

La idea principal es que el código discreto solo se simula en pequeñas regiones alrededor los nodos de la malla de elementos finitos que se emplea para calcular el oxígeno, en lugar de en todo el dominio¹. Es decir, en cada nodo se considera un subdominio en el que se simula el modelo basado en agentes, como se ve en la Figura 4.1. Estos subdominios no tienen por qué cubrir todo el dominio total. De esta forma, se reduce el número de agentes que se evalúan y se reduce el coste computacional. A partir del cómputo de la proliferación, muerte y velocidad de migración de las células, se pueden calcular las variables continuas (concentración y flujo) que describen el comportamiento de las células en cada nodo.

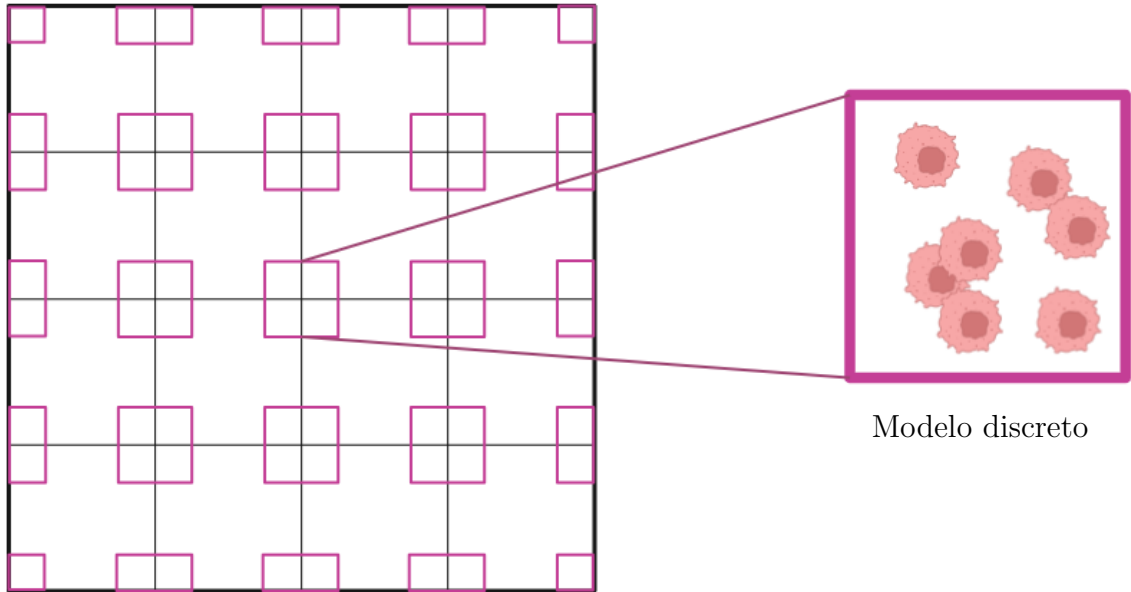


Figura 4.1: Esquema de disposición del modelo. En los nodos de la malla que se emplean para discretizar el dominio y simular el oxígeno empleando elementos finitos, se consideran subdominios (representados en la figura con cuadrados rosas) donde se simula el código de agentes.

¹Idealmente, para hacer más eficiente el modelo, el código en agentes debería simularse en los puntos de integración de Gauss, pero como primera aproximación se optó por los nodos por simplificar el código

Es evidente que con este enfoque se pierde información de lo que ocurre en las zonas del dominio en las que no se simula el modelo basado en agentes, donde solo se podría interpolar la información obtenida en los subdominios cercanos para obtener una aproximación continua del comportamiento de las células. A lo largo del capítulo se evaluará tanto la validez de la aproximación comparando los resultados con los obtenidos con `GBM_HYBRID` como la aceleración obtenida.

El flujo de trabajo del modelo multiescala es el siguiente (el cual puede verse también explicado en la Figura 4.2):

- Inicialización de las variables necesarias. A partir de una concentración inicial de células (dato del problema) se distribuyen las células correspondientes a cada subdominio de forma aleatoria en él.
- Comienzo del bucle temporal desde $t = 0$ hasta $t = T$, siendo T el tiempo final de la simulación. Dentro de dicho bucle, en cada instante temporal se llevan a cabo los siguientes pasos:
 1. Actualización de la concentración de oxígeno en el dominio (módulo continuo).
 2. Bucle en el que se recorren los nodos de la malla de elementos finitos. Se actualiza cada uno de los nodos empleando el código de agentes (módulo discreto del tumor): se calcula la proliferación y la muerte de las células del nodo. Después, se actualiza la velocidad de dichas células con el objetivo de calcular el flujo total q del nodo. Se actualiza la concentración de células de cada nodo teniendo en cuenta las células que han muerto y han aparecido.
 3. Se actualiza la concentración de células en cada nodo empleando una ecuación en diferencias parciales (módulo continuo del tumor) para tener en cuenta las diferencias en concentración causadas por la migración.
 4. Bucle en el que se recorren de nuevo todos los nodos, actualizando el número de células a partir de la concentración celular calculada con la ecuación continua. Se distribuyen las células de forma aleatoria dentro del subdominio del nodo. Se calcula el consumo de oxígeno de cada nodo.
- Fin del bucle temporal. Almacenamiento de las variables necesarias para el postprocesamiento.

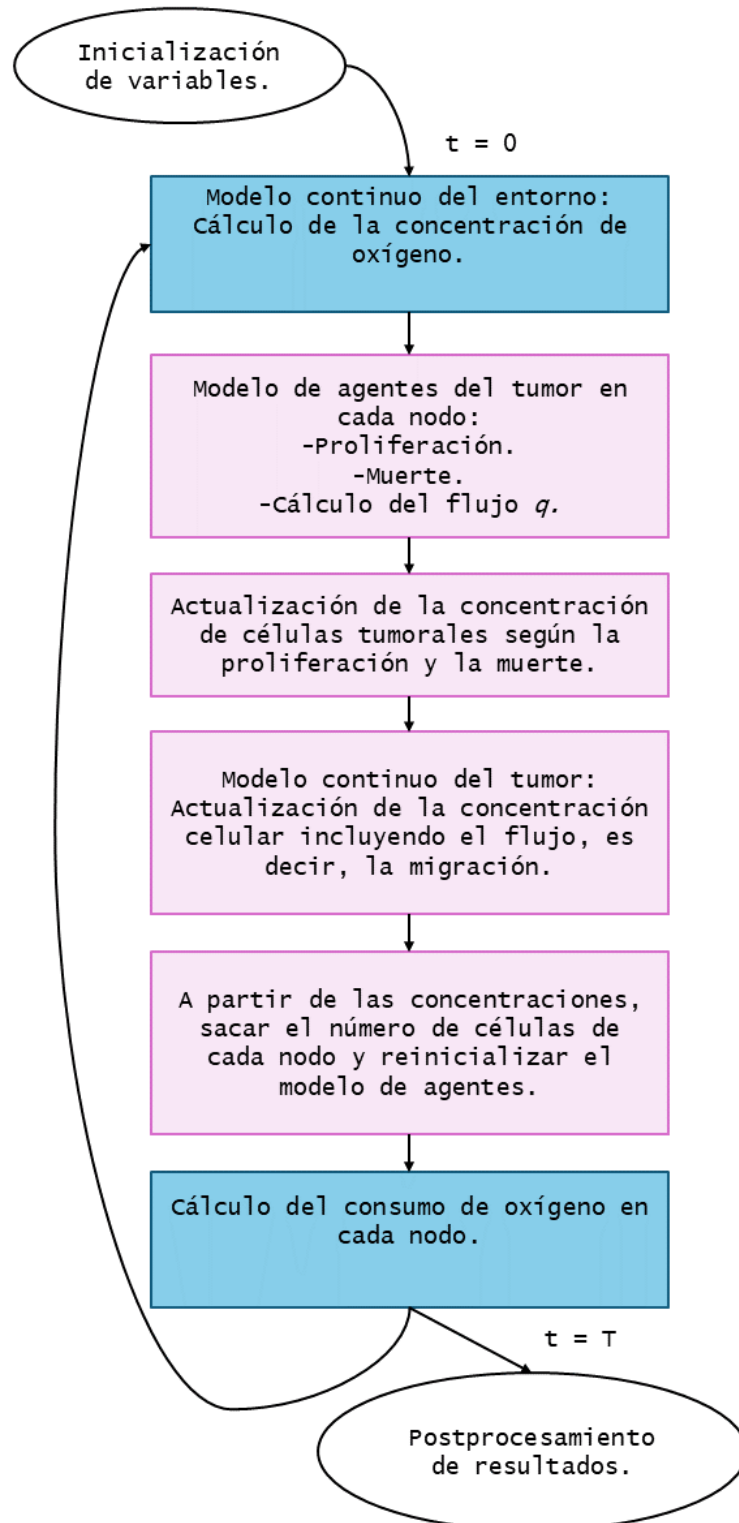


Figura 4.2: Esquema de la implementación del código desarrollado.

Es decir, el oxígeno se resuelve de la misma forma que en `GBM_HYBRID`. Sin embargo, el proceso para actualizar el estado de las células tumorales es diferente, ya que `GBM_multiHYBRID` utiliza modelos tanto discretos como continuos para la simulación del tumor. Por un lado, se emplea el modelo en agentes para calcular la proliferación, la muerte y la velocidad de las células; mientras que se hace uso de una PDE para actualizar la concentración celular de acuerdo a la migración (esto no se puede hacer en el modelo discreto ya que hay “espacio” entre los subdominios utilizados para el modelo discreto). El enlace entre estos dos modelos es a partir del flujo de células de cada nodo. Con la velocidad de las células de cada nodo se calcula el flujo, y este es el que se pasa a la ecuación continua para actualizar la migración.

Es decir, la principal diferencia a nivel de modelo radica en la actualización de la migración de las células. Esto se realiza a partir de la Ecuación (4.1).

$$\frac{\partial c}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{q} = 0, \quad (4.1)$$

siendo c la concentración de células tumorales y $\mathbf{q}$ el flujo de células en cada subdominio. Dicho flujo se calcula según la Ecuación (4.2).

$$\mathbf{q} = \frac{\sum_i^N \mathbf{v}_i}{V}, \quad (4.2)$$

donde N es el número de células en ese nodo, v_i la velocidad de cada célula i y V el volumen del subdominio generado alrededor de ese nodo.

Para resolver la Ecuación (4.1) en FEniCS, se ha de obtener la formulación débil de dicha ecuación. Para ello, esta ha de ser muestreada, con lo que se llega a la Ecuación (4.3) (con n un entero que indica el número de paso temporal).

$$\frac{\partial c^{n+1}}{\partial t} + \nabla \cdot \mathbf{q}^{n+1} = 0, \quad (4.3)$$

Si ahora aproximamos la derivada temporal mediante diferencias finitas descentradas hacia atrás, se llega a la versión discretizada temporalmente de la Ecuación (4.1). Cabe destacar que dicha ecuación se actualiza cada Δt_{mech} .

$$\frac{c_{n+1} - c_n}{\Delta t} + \nabla \cdot \mathbf{q}^{n+1} = 0, \quad (4.4)$$

A continuación, se multiplica la Ecuación (4.4) por una función de ponderación v y, tras integrar para el dominio de integración Ω , se integra por partes la derivada del flujo. La incógnita a resolver es c^{n+1} . De esta forma, se llega a la Ecuación (4.5).

$$\begin{aligned} F_{n+1}(c^{n+1}; v) &= \int_{\Omega} ((c^{n+1} - c^n)v - \Delta t q^{n+1} \nabla v) \, d\mathbf{x} \\ &= - \Delta t v q^{n+1} \Big|_{\Gamma^u} - \Delta t v q^{n+1} \Big|_{\Gamma^t}, \end{aligned} \quad (4.5)$$

donde Γ^u es la parte del contorno en la que el valor de la variable principal c es conocida; mientras que Γ^t es la parte del contorno en la que la derivada de la variable principal es conocida (es decir, donde se establecen condiciones de contorno de tipo Neumann). Las funciones de ponderación se definen de tal forma que se anulen en Γ^u . Por ello, el término $\Delta tq^{n+1}]^{\Gamma^u}$ es nulo. Por otra parte, el flujo se ha establecido nulo en el contorno, por lo que el término $\Delta tq^{n+1}]^{\Gamma^t}$ es también nulo.

Con todo eso, se llega a la formulación débil de la Ecuación (4.1). Dicha formulación se puede ver en la Ecuación (4.6). Esta es la forma en la que debe introducirse en FEniCS. Además de resolver en cada paso temporal esta ecuación, es necesario aproximar la condición inicial, que puede formularse también según la formulación débil. Esto en FEniCS se lleva a cabo mediante una proyección o una interpolación del valor inicial.

$$F_{n+1}(c^{n+1}; v) = \int_{\Omega} ((c^{n+1} - c^n)v - \Delta tq^{n+1} \nabla v) d\mathbf{x} = 0, \quad (4.6)$$

Por tanto, el problema en la formulación débil es el siguiente: encontrar $c^{n+1} \in W = \{W \in H^k(\Omega), S = \bar{W} \text{ en } \Gamma^u\}$ que cumple la Ecuación (4.6) para toda $v \in V = \{v \in H^l(\Omega), v = 0 \text{ en } \Gamma^t\}$, con H^k el espacio de funciones con derivada k de cuadrado integrable en Ω . W es el espacio de búsqueda de la solución, es decir, el espacio de funciones que respetan las condiciones de derivabilidad y de contorno del problema. Por otro lado, V es el espacio de variaciones admisibles. Por las reglas de integración por partes, $k + l = m$. En el caso de estudio, $m = 1$, $k = 0$ y $l = 1$.

Con esto quedaría definido el modelo `GBM_multiHYBRID`.

4.2. Análisis de convergencia

Un parámetro de importancia en este modelo es el tamaño del subdominio donde se simula el código de agentes, ya que, cuanto menor sea este tamaño, menor será el coste computacional. Sin embargo, se debe evaluar cómo influye el tamaño del subdominio en el error con respecto al modelo de referencia `GBM_HYBRID`. Para analizar estas tendencias se ha llevado a cabo un análisis de convergencia en el que se evalúa el error con respecto al modelo de referencia, al cambiar el tamaño del subdominio.

Se han considerado 4 tamaños diferentes de subdominio (el tamaño se va a caracterizar por el lado L del subdominio ya que éste es cuadrado). Los parámetros empleados para las simulaciones se observan en la Tabla 4.1.

Parámetros	Unidades	Valor
n_x	-	10
n_y	-	10
w	μm	1000
h	μm	1000
dz	μm	14.293
T	min	1440
T_{pers}	min	1
n_{pasos}	-	10
$\Delta t_{\text{environment}}$	min	1
Δt_{ph}	min	6
Δt_{mech}	min	1
n_{cells}	Nº de células	1000
u_0	mmHg	7
u_l	mmHg	0
u_r	mmHg	7
α_n	$\frac{\text{mmHg} \cdot \mu\text{m}^3}{\text{cél} \cdot \text{min}}$	60000
S^M	mmHg	2,5
D_S	$\mu\text{m}^2 \cdot \text{min}^{-1}$	60000
s_{loc}	$\frac{\mu\text{m}}{\text{min}}$	0,15
r_{eq}	μm	25
r_m	min^{-1}	1/1440
r_p	min^{-1}	1/1440
S^H	mmHg	7
S^A	mmHg	1,6
ΔS^A	mmHg	0,1
b	-	0,8

Tabla 4.1: Valor de los parámetros numéricos y del modelo en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 2.

Estos parámetros son los mismos tanto para la simulación hecha con el modelo **GBM_HYBRID** (que se toma como referencia y se denomina también como *Ground Truth* o *GT*) como para los 4 tamaños de subdominios. Lo único que cambia entre las simulaciones con el modelo **GBM_multiHYBRID** es el tamaño del subdominio y el número de células por subdominio, ya que se mantiene la concentración celular constante en todas las simulaciones. Los tamaños y el número de células por subdominio de las simulaciones con el modelo **GBM_multiHYBRID** se pueden ver en la Tabla 4.2.

Células en cada subdominio	Tamaño del subdominio [μm]
2	44,72
4	63,25
7	83,67
10	100

Tabla 4.2: Tamaños y número de células de cada subdominio.

En la Figura 4.3 se observa el perfil de la concentración celular a lo largo de la dimensión x . Dicho perfil es el promedio de los perfiles resultantes de todas las réplicas realizadas (se realizan 11 réplicas para cada condición). Se muestran los resultados para los 4 tamaños de subdominios y para la simulación GT . Se observa que aunque las concentraciones son algo menores para las simulaciones del modelo $GBM_multiHYBRID$, los resultados son cualitativamente aceptables y no se observan grandes diferencias entre los tamaños de subdominios. Sin embargo, para cuantificar las diferencias, se ha llevado a cabo el mencionado análisis de convergencia.

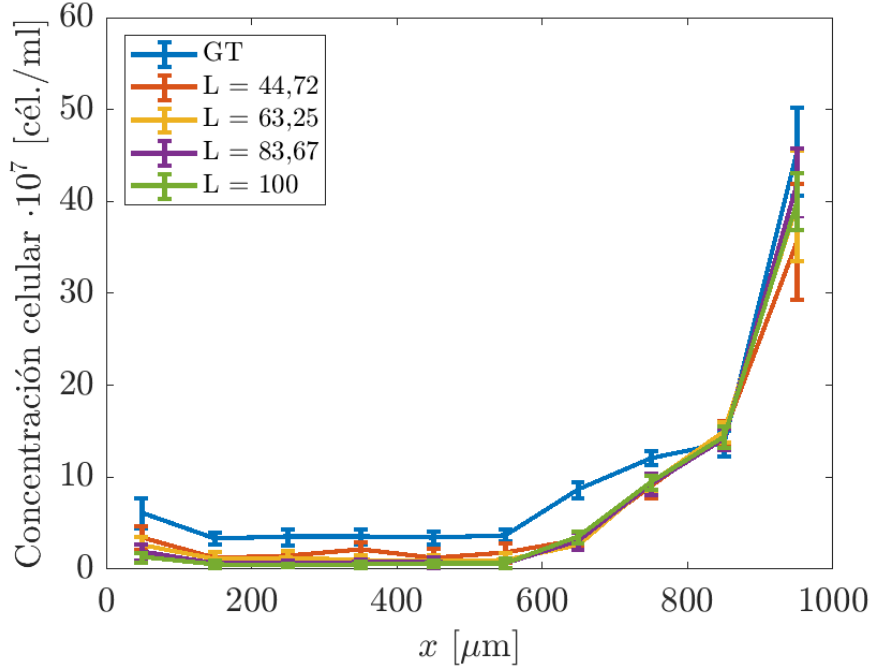


Figura 4.3: Concentración celular a lo largo de la dimensión x para los diferentes tamaños de subdominio y para la simulación de referencia GT .

Para cada tamaño se ha analizado el tiempo de simulación y la Distancia de Mahalanobis, para tener en cuenta la variabilidad en las distintas muestras (como resultado de realizar distintas réplicas y del componente aleatorio del modelo de agentes). En concreto, para analizar el error con respecto al modelo GBM_HYBRID , se ha tomado la suma de la Distancia de Mahalanobis de cada réplica. Es decir, la métrica tomada es la siguiente:

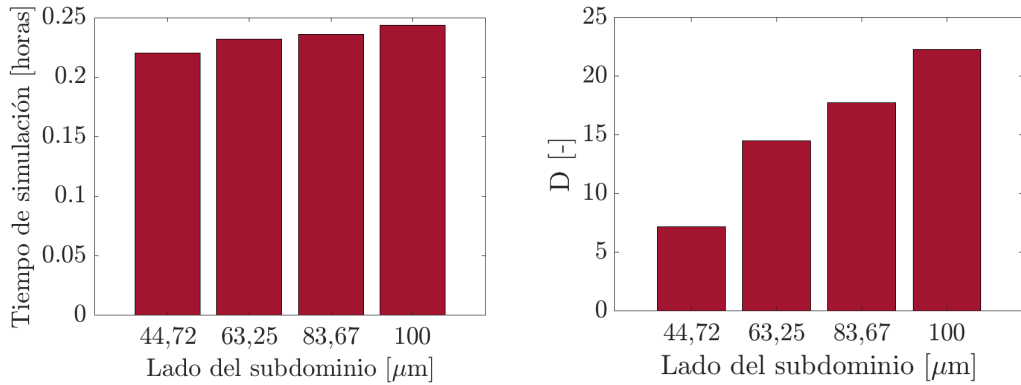
$$D = \frac{\sum_{i=1}^N \left(\sqrt{(x_{MU_i} - \mu_{GT}^T) S^{-1} (x_{MU_i} - \mu_{GT}^T)} \right)}{N}, \quad (4.7)$$

donde i es un índice que itera desde 1 hasta el número total de réplicas N (que en este caso es 11), x_{ME_i} es la concentración media a lo largo de la dimensión x para la réplica i del modelo GT , μ_{GT} es la media de concentraciones celulares de todas las réplicas a

lo largo de la dimensión x del modelo de referencia GBM_HYBRID o y , por último, S es la matriz de covarianza combinada.

En las Figuras 4.4a y 4.4b se observan los resultados. El tiempo de simulación es considerablemente menor al modelo GBM_HYBRID, ya que este tiene un valor medio de 12,28 horas. Además, como es lógico, es mayor cuanto mayor sea el tamaño del subdominio. Con respecto al error, se observa que al reducir el tamaño del subdominio, el error disminuye. Se cree que el error es mayor para tamaños más grandes por promediar variables como el flujo en un mayor tamaño.

También se ha de destacar que, el error para el menor tamaño de subdominio es el menor pero esto puede deberse a que la desviación típica es elevada para este tamaño. Como se observa en la Ecuación (4.7), la desviación típica es de importancia en el cálculo de la métrica de error (y esta métrica será menor cuanto mayor sea la desviación típica). Es lógico que haya más variabilidad en tamaños de subdominio menores porque esto implica un menor número de células. Aunque el error sea menor para este tamaño, posiblemente el análisis no sea lo suficientemente robusto para este caso. Por tanto, lo óptimo sería emplear un tamaño de $L = 63,25\mu\text{m}$ o de $L = 86,67\mu\text{m}$.



(a) Tiempo de simulación para los diferentes tamaños de subdominio. (b) Error con respecto al modelo GBM_HYBRID para los diferentes tamaños de subdominio.

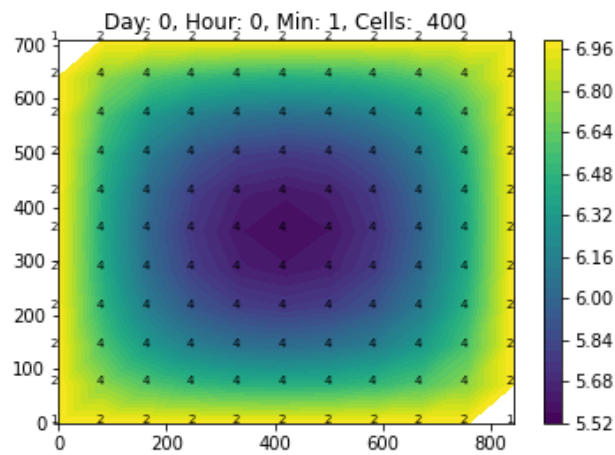
4.3. Limitaciones y posibles mejoras del modelo

Se ha planteado la posibilidad de reproducir el Ejemplo 2 del Capítulo 3, es decir, el de los agregados celulares. Se han empleado un tamaño de subdominio de $77,36\mu\text{m}$ y se han posicionado 4 células por subdominio inicialmente. El resto de parámetros se observan en la Tabla 3.3, ya que son los empleados para el Ejemplo 2.

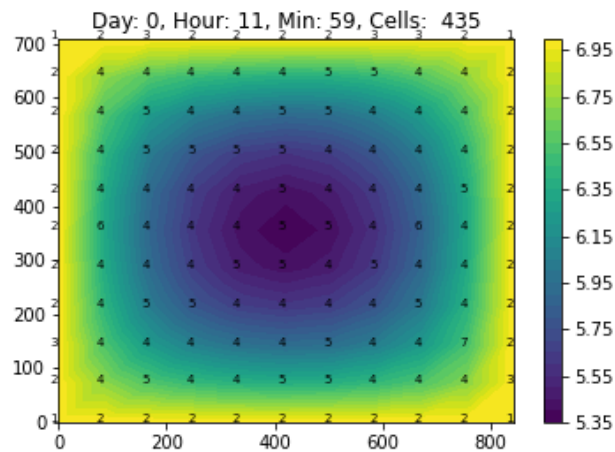
En las Figuras 4.5a y 4.5b se observan el instante inicial y final de esta simulación. Aquí se aprecian las limitaciones del modelo ya que, aunque en el instante

final se observa cómo en algunos subdominios hay un mayor número de células (los números distribuidos en el dominio representan el número de células en cada subdominio), es difícil evaluar la formación de agregados.

Una de las razones es que en el modelo, las fuerzas mecánicas solo se transmiten dentro del subdominio, no entre subdominios. Sería necesaria una variable continua con la que poder transmitir la presión o las fuerzas. Otro problema es que cada vez que se actualiza la concentración de los subdominios, las células se distribuyen de forma aleatoria dentro de estos, por lo que la modificación de la posición debido a las fuerzas se pierde.



(a) Instante inicial de la simulación con el modelo GBM_multiHYBRID para reproducir el Ejemplo 2 del Capítulo 3.



(b) Instante final de la simulación con el modelo GBM_multiHYBRID para reproducir el Ejemplo 2 del Capítulo 3.

Es decir, aunque se ha observado que con el modelo `GBM_multiHYBRID` los tiempos de simulación se reducen considerablemente, quedan aun posibles mejoras a incorporar como la influencia de las fuerzas mecánicas entre subdominios, que permitan hacer simulaciones en las que los fenómenos locales sean relevantes sin incurrir en grandes errores respecto al modelo híbrido de referencia.

Capítulo 5

Conclusiones

En este trabajo se ha comenzado con una introducción del cáncer y del glioblastoma, así como las diferentes formas de estudiarlo. Se ha especificado que el trabajo se centraba en los modelos matemáticos, y concretamente en los híbridos, como herramienta para estudiar el glioblastoma en condiciones hipóxicas. A continuación se ha explicado el desarrollo y la verificación de un modelo híbrido propio. Posteriormente, para superar la principal desventaja que presenta este modelo, que es el elevado tiempo de simulación, se ha presentado otro modelo que incorpora el concepto de multiescala espacial. En este capítulo se resumirán las principales conclusiones obtenidas a lo largo de este proceso y se plantearán las líneas futuras del estudio.

5.1. Conclusiones

El cáncer es una enfermedad ampliamente estudiada debido al impacto que produce en nuestra sociedad. En particular el glioblastoma, como ya se ha mencionado, es un cáncer muy agresivo y letal. La investigación juega un gran papel en la lucha contra el cáncer, y se emplean diversas técnicas para estudiar esta enfermedad. Desde hace años, el uso de los modelos matemáticos ha aumentado ya que ofrecen diversas ventajas, como puede ser su valor predictivo y la capacidad de comprobación de hipótesis.

En este trabajo se han discutido diferentes tipos de modelos matemáticos en el estudio del cáncer, centrando el foco a continuación en los modelos matemáticos híbridos, de los que posteriormente se ha realizado una breve revisión bibliográfica. El motivo por el cual se ha querido explorar este tipo de modelos es por su capacidad de combinar las ventajas de los modelos continuos y discretos. De hecho, en el Capítulo 2 se ha visto que la comunidad científica está dedicando un gran esfuerzo a los

modelos híbridos, de forma que estos están evolucionando y están surgiendo nuevas técnicas más allá de los modelos híbridos clásicos.

En el Capítulo 3 se ha demostrado la utilidad de este tipo de modelos, ya que en el modelo desarrollado, llamado `GBM_HYBRID`, se ha simulado de forma continua el oxígeno (reduciendo así el esfuerzo computacional) y de forma discreta el tumor. Se ha concluido el capítulo reproduciendo de forma cualitativa dos experimentos de la literatura científica, demostrando así la utilidad de que el tumor se simule de forma discreta, ya que esto ha permitido incluir el efecto de las fuerzas entre las células. Esto, a partir de experimentos *in vitro*, podría emplearse para deducir por ejemplo la magnitud de dichas fuerzas. En este capítulo sin embargo también se ha comprobado la desventaja de los modelos híbridos clásicos (según la clasificación presentada, corresponde a un modelo acoplado y de enfoque compuesto), que es el alto coste computacional, ya que el hecho de simular todo el tumor como agentes incrementa el tiempo de simulación. Además, en ocasiones este incremento es innecesario ya que el grado de detalle que proporcionan los modelos de agentes no siempre es necesario en todo el dominio de simulación.

Debido a las razones comentadas en el párrafo anterior, en el Capítulo 4 se ha propuesto otro modelo cuyo objetivo es la reducción del tiempo de simulación consiguiendo resultados similares. El cáncer es una enfermedad con procesos en diferentes escalas tanto temporales como espaciales. Ambos modelos, tanto `GBM_HYBRID` como `GBM_multiHYBRID` incorporan diversas escalas temporales, puesto que no todos fenómenos tienen la misma dinámica y por tanto no todos necesitan la misma frecuencia de actualización. La principal diferencia entre estos dos modelos es que `GBM_multiHYBRID` incorpora la multiescala espacial. Para ello, el tumor deja de simularse únicamente de forma discreta, incluyéndose la migración de las células de forma continua. Esto hace que, según la clasificación del Capítulo 2, este modelo se considere acoplado (como en el caso anterior) pero con un enfoque híbrido en lugar de compuesto. Este cambio ha demostrado que se pueden conseguir reducciones importantes al considerar modelos multiescala sin incurrir en errores elevados, si bien hay que destacar que se pierde información, ya que solo se obtienen resultados del modelo discreto en algunos subdominios mientras que en el resto solo se obtiene una descripción a nivel macroscópico de las variables. El objetivo final sería que de esta forma sí que se consiguiese combinar las ventajas de los modelos continuos y discretos, incorporando fenómenos como interacciones célula-célula y simulando dominios relativamente grandes sin un gran esfuerzo computacional. Sin embargo, como se ha visto se debe trabajar aun en las interacciones célula-célula. Además de este

aspecto, quedan otras líneas de mejora, que se discuten en la siguiente sección.

5.2. Líneas futuras

En este trabajo se han abordado diferentes temas, presentando dos modelos híbridos para estudiar el glioblastoma. Sin embargo, han quedado diversas líneas de mejora que podrían explorarse en un futuro. En primer lugar, los dos modelos presentados podrían hacerse más complejos. Por ejemplo, se podrían definir diferentes clases de células, o añadirse otros nutrientes además del oxígeno. Se ha comenzado también a añadir el comportamiento de un material elástico (simulándose también de forma continua), y en un futuro se podría añadir el comportamiento viscoelástico y la interacción bidireccional material-células. Es decir, cómo el material afecta a diversos procesos celulares, añadiendo también el fenómeno de la mecanotaxis (movimiento dirigido de la motilidad celular a través de señales mecánicas); y cómo las células remodelan y degradan el material.

Otras líneas de mejoras surgen a partir del último modelo presentado, `GBM_multiHYBRID`. En primer lugar, el análisis de convergencia realizado puede hacerse variando el número de nodos y dejando fijo el tamaño del subdominio. También podría cambiarse la posición de dichos subdominios y que estos se situaran en los puntos de integración de Gauss, haciendo así el código más eficiente. Una mejora de importancia sería incorporar el mallado adaptativo, de forma que en las zonas donde el tumor es más agresivo y sea necesario un mayor nivel de detalle, el mallado puede refinarse; mientras que en las zonas sin tumor, el mallado pueda ser más grueso. Esto podría reducir aun más el tiempo de cálculo a la vez que se hace un uso mas óptimo de los recursos, ya que se realiza una simulación con más nivel de detalle en aquellas zonas más interesantes o donde se admite menos error.

5.3. Principales aportaciones científicas

Parte de este trabajo se presentó en la XIII Jornada de Jóvenes Investigadores del I3A, en formato póster [55]. Además, se ha desarrollado un código que, como ya se ha comentado en el Capítulo 3, se ha hecho público en GitHub (el modelo `GBM_HYBRID`) [41].

Capítulo 6

Bibliografía

- [1] Diccionario de cáncer del NCI: angiogénesis. <https://www.cancer.gov/espanol/buscar/resultados?swKeyword=angiogenesis>.
- [2] Diccionario de cáncer del NCI: apoptosis. <https://www.cancer.gov/espanol/buscar/resultados?swKeyword=apoptosis>.
- [3] Diccionario de cáncer del NCI: colagenasa. <https://www.cancer.gov/espanol/buscar/resultados?swKeyword=colagenasa>.
- [4] Genaro A. Rodríguez and otros. El portafolio como estrategia de aprendizaje. *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Veracruzana*, 23(2):27–32, 2022.
- [5] Diccionario de cáncer del NCI: glioblastoma. <https://www.cancer.gov/espanol/buscar/resultados?swKeyword=glioblastoma>.
- [6] Diccionario de cáncer del NCI: matriz extracelular. <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionarios/diccionario-cancer/def/matriz-extracelular>.
- [7] OMS. Cáncer, 2024. Accessed on June 17, 2024.
- [8] Irena Ilic and Milena Ilic. International patterns and trends in the brain cancer incidence and mortality: An observational study based on the global burden of disease. 9(7):e18222.
- [9] Fassil B. Mesfin and Mohammed A. Al-Dhahir. Gliomas. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- [10] Jean de Montigny, Alexandros Iosif, Lukas Breitwieser, Marco Manca, Roman Bauer, and Vasileios Vavourakis. An in silico hybrid continuum-/agent-based

- procedure to modelling cancer development: Interrogating the interplay amongst glioma invasion, vascularity and necrosis. 185:94–104.
- [11] J. C. L. Alfonso, K. Talkenberger, M. Seifert, B. Klink, A. Hawkins-Daarud, K. R. Swanson, H. Hatzikirou, and A. Deutsch. The biology and mathematical modelling of glioma invasion: A review. 14(136):20170490.
 - [12] Joseph Malinzi, Kevin Bosire Basita, Sara Padidar, and Henry Ademola Adeola. Prospect for application of mathematical models in combination cancer treatments. *Informatics in Medicine Unlocked*, 23:100534, 2021.
 - [13] Philipp M. Altrock, Lin L. Liu, and Franziska Michor. The mathematics of cancer: Integrating quantitative models. 15(12):730–745.
 - [14] Alexander R. A. Anderson and Vito Quaranta. Integrative mathematical oncology. 8(3):227–234.
 - [15] John Metzcar, Yafei Wang, Randy Heiland, and Paul Macklin. A Review of Cell-Based Computational Modeling in Cancer Biology. (3):1–13.
 - [16] Ana Rita Monteiro, Richard Hill, Geoffrey J. Pilkington, and Patrícia A. Madureira. The role of hypoxia in glioblastoma invasion. *Cells*, 6(4), 2017.
 - [17] Jacopo Falco, Abramo Agosti, Ignazio G. Vetrano, Alberto Bizzi, Francesco Restelli, Morgan Broggi, Marco Schiariti, Francesco DiMeco, Paolo Ferroli, Pasquale Ciarletta, and Francesco Acerbi. In Silico Mathematical Modelling for Glioblastoma: A Critical Review and a Patient-Specific Case. 10(10):2169.
 - [18] A. Stéphanou and V. Volpert. Hybrid Modelling in Biology: A Classification Review. 11(1):37–48.
 - [19] Ibrahim M. Chamseddine and Katarzyna A. Rejniak. Hybrid modeling frameworks of tumor development and treatment. 12(1):e1461.
 - [20] Kazuyuki Aihara and Hideyuki Suzuki. Theory of hybrid dynamical systems and its applications to biological and medical systems, 2010.
 - [21] Gouhei Tanaka, Yoshito Hirata, S Larry Goldenberg, Nicholas Bruchovsky, and Kazuyuki Aihara. Mathematical modelling of prostate cancer growth and its application to hormone therapy. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 368(1930):5029–5044, 2010.

- [22] Xiangfang Li, Lijun Qian, Michale L Bittner, and Edward R Dougherty. A systems biology approach in therapeutic response study for different dosing regimens—a modeling study of drug effects on tumor growth using hybrid systems. *Cancer informatics*, 11:CIN–S8185, 2012.
- [23] J S Lowengrub, H B Frieboes, F Jin, Y-L Chuang, X Li, P Macklin, S M Wise, and V Cristini. Nonlinear modelling of cancer: Bridging the gap between cells and tumours. 23(1):R1–R91.
- [24] Thomas S. Deisboeck, Zhihui Wang, Paul Macklin, and Vittorio Cristini. Multiscale Cancer Modeling. 13:10.1146/annurev-bioeng-071910-124729.
- [25] E Weinan, Bjorn Engquist, Xiantao Li, Weiqing Ren, and Eric Vanden-Eijnden. Heterogeneous multiscale methods: a review. *Communications in computational physics*, 2(3):367–450, 2007.
- [26] C William Gear, James M Hyman, Panagiotis G Kevrekidid, Ioannis G Kevrekidis, Olof Runborg, and Constantinos Theodoropoulos. Equation-free, coarse-grained multiscale computation: Enabling mocrosopic simulators to perform system-level analysis. 2003.
- [27] Magdalena A Stolarska, Yangjin Kim, and Hans G Othmer. Multi-scale models of cell and tissue dynamics. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1902):3525–3553, 2009.
- [28] Yangjin Kim, Magdalena A Stolarska, and Hans G Othmer. A hybrid model for tumor spheroid growth in vitro i: theoretical development and early results. *Mathematical Models and Methods in Applied Sciences*, 17(supp01):1773–1798, 2007.
- [29] Martin L Tanaka, W Debinski, and IK Puri. Hybrid mathematical model of glioma progression. *Cell proliferation*, 42(5):637–646, 2009.
- [30] Caleb M. Phillips, Ernesto A. B. F. Lima, Ryan T. Woodall, Amy Brock, and Thomas E. Yankeelov. A hybrid model of tumor growth and angiogenesis: In silico experiments. 15(4):e0231137.
- [31] Giulia Cesaro, Mikele Milia, Giacomo Baruzzo, Giovanni Finco, Francesco Morandini, Alessio Lazzarini, Piergiorgio Alotto, Noel Filipe Da Cunha Carvalho De Miranda, Zlatko Trajanoski, Francesca Finotello, and Barbara Di Camillo. MAST: A hybrid Multi-Agent Spatio-Temporal model of tumor microenvironment informed using a data-driven approach. 2(1):vbac092.

- [32] Ernesto A. B. F. Lima, Danial Faghihi, Russel Philley, Jianchen Yang, John Virostko, Caleb M. Phillips, and Thomas Yankeelov. Bayesian calibration of a stochastic, multiscale agent-based model for predicting in vitro tumor growth.
- [33] Leonard M. Sander and Thomas S. Deisboeck. Growth patterns of microscopic brain tumors. 66(5):051901.
- [34] Zhihui Wang and Thomas S. Deisboeck. Computational modeling of brain tumors: Discrete, continuum or hybrid? 15(1-3):381.
- [35] Katarzyna A. Rejniak and Alexander R. A. Anderson. Hybrid models of tumor growth. 3(1):115–125.
- [36] X Zheng, SM Wise, and V Cristini. Nonlinear simulation of tumor necrosis, neo-vascularization and tissue invasion via an adaptive finite-element/level-set method. *Bulletin of mathematical biology*, 67:211–259, 2005.
- [37] Alexander RA Anderson. A hybrid discrete-continuum technique for individual-based migration models. In *Polymer and Cell Dynamics: Multiscale Modeling and Numerical Simulations*, pages 251–259. Springer, 2003.
- [38] Meitham Amereh, Amir Seyfoori, Briana Dallinger, Mostafa Azimzadeh, Evan Stefanek, and Mohsen Akbari. 3D-Printed Tumor-on-a-Chip Model for Investigating the Effect of Matrix Stiffness on Glioblastoma Tumor Invasion. 8(5):421.
- [39] Alexander R. A. Anderson. A hybrid mathematical model of solid tumour invasion: The importance of cell adhesion. 22(2):163–186.
- [40] Mohsen Akbari, Meitham Amereh, Shahla Shojaei, Tavia Walsh, Prashant Dogra, Vittorio Cristini, and Ben Nadler. Unveiling the role of metabolic rates variation in driving tumor heterogeneity and controlling growth and invasion: Insights from an integrated multiscale in-vitro in-silico framework.
- [41] Lucía Palos. Hybrid modelling with fenics. <https://github.com/luciapalos/Hybrid-modelling-fenics>, 2024. Consultado el: 2024-09-03.
- [42] Fenics, 2024. Accessed on June 17, 2024.
- [43] Raquel B. Arroyo-Vázquez, Marina Pérez-Aliacar, Jacobo Ayensa-Jiménez, and Manuel Doblaré. On the equivalence between agent-based and continuum models for cell population modeling. Application to glioblastoma evolution in microfluidic devices. In preparation, 2024.

- [44] Ahmadreza Ghaffarizadeh, Randy Heiland, Samuel H Friedman, Shannon M Mumenthaler, and Paul Macklin. PhysiCell: an open source physics-based cell simulator for 3-D multicellular systems. *PLoS Comput. Biol.*, 14(2):e1005991, 2018.
- [45] H. Hatzikirou, D. Basanta, M. Simon, K. Schaller, and A. Deutsch. ‘Go or Grow’: the key to the emergence of invasion in tumour progression? *Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA*, 29(1):49–65, 07 2010.
- [46] Jacobo Ayensa-Jiménez, Marina Pérez-Aliacar, Teodora Randelovic, Sara Oliván, Luis Fernández, José Antonio Sanz-Herrera, Ignacio Ochoa, Mohamed H Doweidar, and Manuel Doblaré. Mathematical formulation and parametric analysis of in vitro cell models in microfluidic devices: application to different stages of glioblastoma evolution. *Scientific Reports*, 10(1):21193, 2020.
- [47] Marina Pérez-Aliacar, Jacobo Ayensa-Jiménez, Mohamed H Doweidar, and Manuel Doblaré. Massive data probabilistic framework for parameter estimation in biological problems. In *Digital Human Modeling and Medicine*, pages 19–62. Elsevier, 2023.
- [48] N.T. Kottegoda and Renzo Rosso. *Statistics, Probability, and Reliability for Civil and Environmental Engineers*. McGraw-Hill Education, 2008.
- [49] ttest. https://es.mathworks.com/help/stats/students-t-distribution-1.html?category=students-t-distribution-1&s_tid=CRUX_topnav, 2024. [Online; accessed June 17, 2024].
- [50] Joshua Sabari, Daniel Lax, Daniel Connors, Ian Brotman, Eric Mindrebo, Christine Butler, Ildiko Entersz, Dongxuan Jia, and Ramsey A. Foty. Fibronectin Matrix Assembly Suppresses Dispersal of Glioblastoma Cells. 6(9):e24810.
- [51] Ramsey A Foty. Tumor cohesion and glioblastoma cell dispersal. 9(8):10.2217/fon.13.66.
- [52] M.-E. Oraiopoulou, E. Tzamali, G. Tzedakis, E. Liapis, G. Zacharakis, A. Vakis, J. Papamatheakis, and V. Sakkalis. Integrating in vitro experiments with in silico approaches for Glioblastoma invasion: The role of cell-to-cell adhesion heterogeneity. 8(1):16200.
- [53] Léo Adenis, Emilie Gontran, Christophe Deroulers, Basile Grammaticos, Marjorie Juchaux, Olivier Seksek, and Mathilde Badoual. Experimental and modeling

study of the formation of cell aggregates with differential substrate adhesion. 15(2):e0222371.

- [54] Ahmadreza Ghaffarizadeh, Randy Heiland, Samuel H Friedman, Shannon M Mumenthaler, and Paul Macklin. Physicell: An open source physics-based cell simulator for 3-d multicellular systems. *PLoS computational biology*, 14(2):e1005991, 2018.
- [55] Lucía Palos-Luzón, Marina Pérez-Aliacar, and Manuel Doblaré Castellano. Modelado híbrido del entorno tumoral del glioblastoma en condiciones hipóxicas. *Jornada de Jóvenes Investigadores del I3A*, 12, jul. 2024.

Lista de Figuras

1.1. Tipos de modelos discretos (Fuente: [15]).	4
2.1. Tipos de modelos híbridos clásicos: a la izquierda la parte discreta de los modelos, con la que se modelan las células; a la derecha la parte continua, con la que se modelan el entorno y los nutrientes (Fuente: [19]).	8
2.2. Panorama actual de los modelos híbridos (Fuente: [19]).	8
2.3. Clasificación de modelos híbridos (Fuente: [18]).	9
2.4. Esquema de funcionamiento de los modelos híbridos acoplados (Fuente: [18]).	10
2.5. Esquema del modelo en [30].	12
2.6. Escalas que abarcan los modelos híbridos: subcelulares, celulares y tejidos (Fuente: [35]).	14
2.7. Escalas temporales y espaciales de importancia en los procesos biológicos y sus respectivas magnitudes (Fuente: [24]).	14
2.8. Esquema del modelo presentado en [14].	16
3.1. Esquema del enlace entre los módulos continuo y discreto.	23
3.2. Situación inicial ($t = 0$ min) y final ($t = 1440$ min) de la Simulación 1 para ambos <i>softwares</i>	24
3.3. Posiciones finales de las células en el modelo híbrido (GBM_HYBRID) y en PhysiCell.	27
3.4. Histograma bidimensional de las células en GBM_HYBRID y en PhysiCell.	28
3.5. Perfil final de S a lo largo de x (según PhysiCell y según el modelo híbrido GBM_HYBRID).	29
3.6. Situación inicial ($t = 0$ min) y final ($t = 1440$ min) de la Simulación 2 para ambos <i>softwares</i>	30
3.7. <i>Boxplots</i> de células totales finales (izquierda) y células muertas finales (derecha) calculados por el modelo híbrido GBM_HYBRID y por PhysiCell.	31

3.8. Error absoluto (izquierda) y relativo en tanto por ciento (derecha) entre las distribuciones finales de oxígeno obtenidas al simular con GBM_HYBRID y con PhysiCell.	32
3.9. Perfil final de S a lo largo de x (y promediado para las 50 simulaciones) y sus barras de error asociadas para ambas simulaciones (modelo híbrido GBM_HYBRID y PhysiCell).	32
3.10. Resultados del crecimiento de un esferoide de glioblastoma en la literatura científica (Fuente: [52]).	34
3.12. Resultados experimentales y simulados de agregados de células de la literatura científica (Fuente: [53]).	37
4.1. Esquema de disposición del modelo. En los nodos de la malla que se emplean para discretizar el dominio y simular el oxígeno empleando elementos finitos, se consideran subdominios (representados en la figura con cuadrados rosas) donde se simula el código de agentes.	42
4.2. Esquema de la implementación del código desarrollado.	44
4.3. Concentración celular a lo largo de la dimensión x para los diferentes tamaños de subdominio y para la simulación de referencia GT	48

Lista de Tablas

3.1. Nomenclatura, descripción y unidades de los parámetros numéricos y del modelo.	25
3.2. Valor de los parámetros numéricos y del modelo.	26
3.3. Valor de los parámetros numéricos y del modelo en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 2.	39
3.4. Valor de los parámetros mecánicos en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 2. .	39
4.1. Valor de los parámetros numéricos y del modelo en el Ejemplo 1 y en el Ejemplo 2.	47
4.2. Tamaños y número de células de cada subdominio.	47