

VARIACION CIRCADIANA DE LOS TIEMPOS DE TRANSITO T_3 Y T_4
SOBRE EL AJUSTE DE LAS FASES S, G_2 Y M EN SISTEMAS CELU-
LARES PARCIALMENTE SINCRONIZADOS

R. Alvarez(*), M. Nieto (**), M.A. Hacar(*), E. Alarcón (*)

(*) Universidad Politécnica de Madrid.

(**) Junta de Energía Nuclear

Resumen.- En el artículo se presenta un modelo continuo y determinista de la actividad proliferativa celular. Sobre dicho modelo básico se aplican sucesivos refinamientos que tienen por objeto mejorar el ajuste a datos experimentales existentes. La base experimental del método son los ensayos realizados sobre el pez *Cauratus* aclimatado a 25° con un fotoperiodo de 12 h durante un mes. Se analizó la actividad proliferativa en las células intestinales observando que aquélla es parcialmente sincronizada.

1. INTRODUCCION

En todos los organismos existe un tipo de tejidos que se caracteriza porque sus células se renuevan de forma constante. Dichos tejidos se caracterizan por su estado estacionario, esto es, el número total de células que componen el tejido se mantiene - prácticamente constante.

Hay que señalar, no obstante, que más que una situación estática, se trata de un equilibrio dinámico entre el número de células generadas por mitosis y el de células desaparecidas por diferenciación o migración.

En adelante supondremos que en todo momento las células se encuentran en alguna de las fases del ciclo proliferativo G_1 , S, G_2 o M.

El número total de células que se encuentra en cada fase - varía en forma circadiana, esto es, en un ciclo de 24 horas regulado por la alternancia de luz y oscuridad.

El modelo básico adoptado ha sido el siguiente:



Cada caja representa una fase. Los subíndices 1, 2, 3 y 4 se refieren respectivamente a las fases G_1 , S, G_2 , M.

Admitiendo que el flujo instantáneo de células entre cada fase, " Q_i ", sea proporcional en forma directa al número de éstas e inversa al tiempo medio de estancia en cada fase (tiempo de tránsito), se tiene:

$$Q_i = \frac{N_i}{T_i} \quad (1)$$

Con sólo establecer la conservación del número de células - ("balance de masa") en cada fase, se obtienen las ecuaciones diferenciales del sistema:

$$\left. \begin{aligned} \dot{N}_1 &= \frac{N_4}{T_4} - \frac{N_1}{T_1} \\ \dot{N}_i &= \frac{N_{i-1}}{T_{i-1}} - \frac{N_i}{T_i} \quad (i=2,3 \text{ ó } 4) \end{aligned} \right\} \quad (2)$$

En este punto se plantean dos posibilidades, ya que se puede integrar el sistema a partir de unas condiciones iniciales dadas o bien obtener la curva de variación del número de células en cada fase tomando como dato de partida la variación en otra fase cualquiera.

En lo que sigue se muestran algunos de los resultados obtenidos en la segunda dirección, que parece más lógica en cuanto a validación del modelo.

2. TIEMPOS DE TRANSITO CONSTANTES

Si en el sistema anterior (2) se supone una variación periódica de los N_i (s) y se integra a lo largo de dicho periodo, resulta:

$$\int_0^T \frac{N_4}{T_4} dr = \int_0^T \frac{N_1}{T_1} dr$$

$$\int_0^T \frac{N_{i-1}}{T_{i-1}} dt = \int_0^T \frac{N_i}{T_i} dt \quad (i = 2, 3 \text{ ó } 4)$$

Si se supone que los tiempos de tránsito T_i permanecen cons tantes, y se divide por el periodo T :

$$\frac{1}{T_4} \int_0^T \frac{N_4}{T} dt = \frac{1}{T_1} \int_0^T \frac{N_1}{T} dt$$

(3)

$$\frac{1}{T_{i-1}} \int_0^T \frac{N_{i-1}}{T} dt = \frac{1}{T_i} \int_0^T \frac{N_i}{T} dt$$

Esto es, el promedio integral del número de células en cada fase dividido por el tiempo de tránsito correspondiente, permanece constante.

El tratamiento numérico del sistema es fácil, como corresponde a la simplicidad del modelo.

Con el fin de obtener la necesaria experiencia en el tema, se aplicaron los dos procedimientos clásicos: integración directa y desarrollo en serie de Fourier, realizando el estudio en el dominio de la frecuencia.

2.1. INTEGRACION DIRECTA

Previendo una variación suave del número de células en cada estado, se utilizó un algoritmo sencillo, del tipo Euler-Gauss, tomando incrementos de tiempo relativamente reducidos.

Efectivamente, planteando:

$$N_i(t+\Delta t) = N_i(t) + \dot{N}_i(t)\Delta t \quad (i = 1, \dots, 4)$$

y sustituyendo las derivadas por los valores anteriormente obtenidos resulta un sistema en la forma:

$$\underset{\sim}{N}(t+\Delta t) = \underset{\sim}{A} \underset{\sim}{N}(t)$$

Donde la matriz $\underset{\sim}{A}$ es de 4×4 y tiene por valor:

$$\underset{\sim}{A} = \begin{bmatrix} 1 - \frac{\Delta t}{T_1} & 0 & 0 & \frac{\Delta t}{T_4} \\ \frac{\Delta t}{T_1} & 1 - \frac{\Delta t}{T_2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{\Delta t}{T_2} & 1 - \frac{\Delta t}{T_3} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{t}{T_3} & 1 - \frac{t}{T_4} \end{bmatrix} \quad (4)$$

En el instante inicial, son desconocidos los valores de N_1 y N_3 , pero como N_2 y N_4 son conocidos en dicho instante y en el siguiente, se obtiene:

$$N_1(t) = \frac{T_1}{\Delta t} \left[N_2(t+1) + \left(\frac{\Delta t}{T_2} - 1 \right) N_2(t) \right]$$

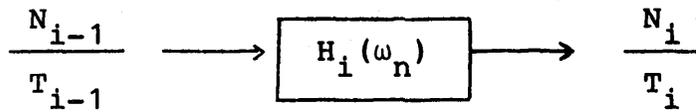
$$N_3(t) = \frac{T_3}{\Delta t} \left[N_4(t+1) + \left(\frac{\Delta t}{T_4} - 1 \right) N_4(t) \right]$$

2.2. ESTUDIO EN EL DOMINIO DE LA FRECUENCIA

Supóngase que a la caja número "i" le llega un flujo de valor:

$$\frac{N_{i-1}}{T_i} = \Delta e^{i\omega t}$$

El problema es determinar la función de transferencia $H_i(\omega)$ que relaciona la entrada y la salida.



Para ello se supone que la salida es de la forma:

$$\frac{N_i}{T_i} = B e^{i\omega t}$$

E integrando la ecuación correspondiente a la caja "i":

$$\dot{N}_i = \frac{N_{i-1}}{T_{i-1}} - \frac{N_i}{T_i}$$

Se obtiene:

$$B = \frac{A}{1 - i\omega T_i}$$

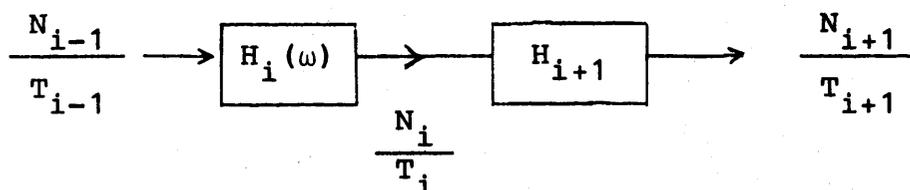
y por tanto:

$$H_i(\omega) = \frac{B e^{i\omega r}}{\Delta e^{i\omega r}} = \frac{1}{1 + i\omega T_i}$$

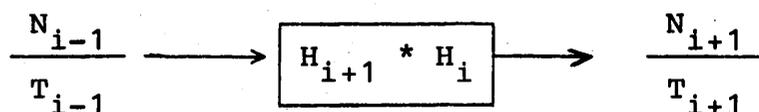
o, lo que es igual:

$$H_i(\omega) = \frac{1}{(1 + \omega^2 T_i^2)^{-1/2}} e^{\text{arc tg } \omega T_i} \quad (5)$$

Evidentemente, una vez obtenida la función de transferencia, son posibles todas las combinaciones que se deseen. Así por ejemplo, para obtener los flujos entre dos cajas no consecutivas, se tiene la situación:



equivalente a:



3. TIEMPOS DE TRANSITO VARIABLES

Tal y como se verá en el siguiente apartado, el ajuste a las curvas experimentales obtenido con los anteriores métodos, resulta relativamente pobre.

Según sugieren algunos autores, y en este sentido es clásica la referencia al artículo de Clausen, los tiempos de tránsito experimentan cambios notables a lo largo del ciclo y en especial es razonable suponer para la fase 4 un tiempo de tránsito variable senoidalmente con el tiempo.

Por lo demás, el tratamiento matemático es idéntico al empleado en el apartado 2.1, con la única diferencia que los términos de la matriz A en (4) varían de una forma predeterminada. Únicamente hay que señalar la precaución de tomar unos valores más pequeños para el incremento de tiempo.

4. RESULTADOS Y CONCLUSIONES

A título de ejemplo, se dan algunos de los resultados obtenidos con cada una de las aproximaciones.

Las figuras 1 y 2 representan los números de células medidas en las fases S y M en recientes ensayos llevados a cabo en la -

J.E.N. (ver ref. 1), así como el primer armónico de su desarrollo en serie de Fourier.

Con el fin de comprobar el modelo, se descompuso la curva experimental correspondiente al estado 2 (síntesis) en su desarrollo de Fourier, y se trató según se indica en el apartado 2.2, con el fin de obtener la curva correspondiente al estado M (mitosis).

Los resultados obtenidos según este método son relativamente pobres (figuras 3 y 3 bis) cuando no se somete a los datos experimentales a ningún tratamiento previo.

Cada estado se comporta como un filtro que atenúa la amplitud de cada armónico en forma directamente proporcional a su frecuencia.

Al realizar el camino inverso, esto es, al intentar reproducir la curva de síntesis (estado 2) a partir de la mitosis (estado 4), cada "caja" se comporta como un amplificador, aumentando la amplitud en forma proporcional a la frecuencia.

Se comprende entonces que la presencia de un sólo punto erróneo en la curva experimental dé un armónico importante que, al ser amplificado, deforme totalmente el resultado.

Conforme se estudiaban nuevos ejemplos, la coincidencia de resultados parecía señalar la hipótesis de tiempos de tránsito variables como la única capaz de mejorar el ajuste.

En efecto, la figura 4 representa el resultado obtenido al considerar un T_4 variable en forma senoidal. Se observa una evidente mejora.

Por fin, la figura 5 muestra los resultados obtenidos con los mismos datos, al variar el tiempo T_4 (figura 5b) y el T_3 y T_4 simultáneamente.

En el primer caso (figura 4) la variación utilizada es:

$$T_4 = 0.77(1 + 0.9 \text{ sen } \frac{\pi}{12} t)$$

mientras que para la figura 5 se han variado simultáneamente T_3 y T_4 de acuerdo con:

$$T_3 = 2 \left[1 + 0.5 \text{ sen } \frac{\pi}{12} (t-10) \right]$$

$$T_4 = 0.77(1 + 0.8 \text{ sen } \frac{\pi}{12} t)$$

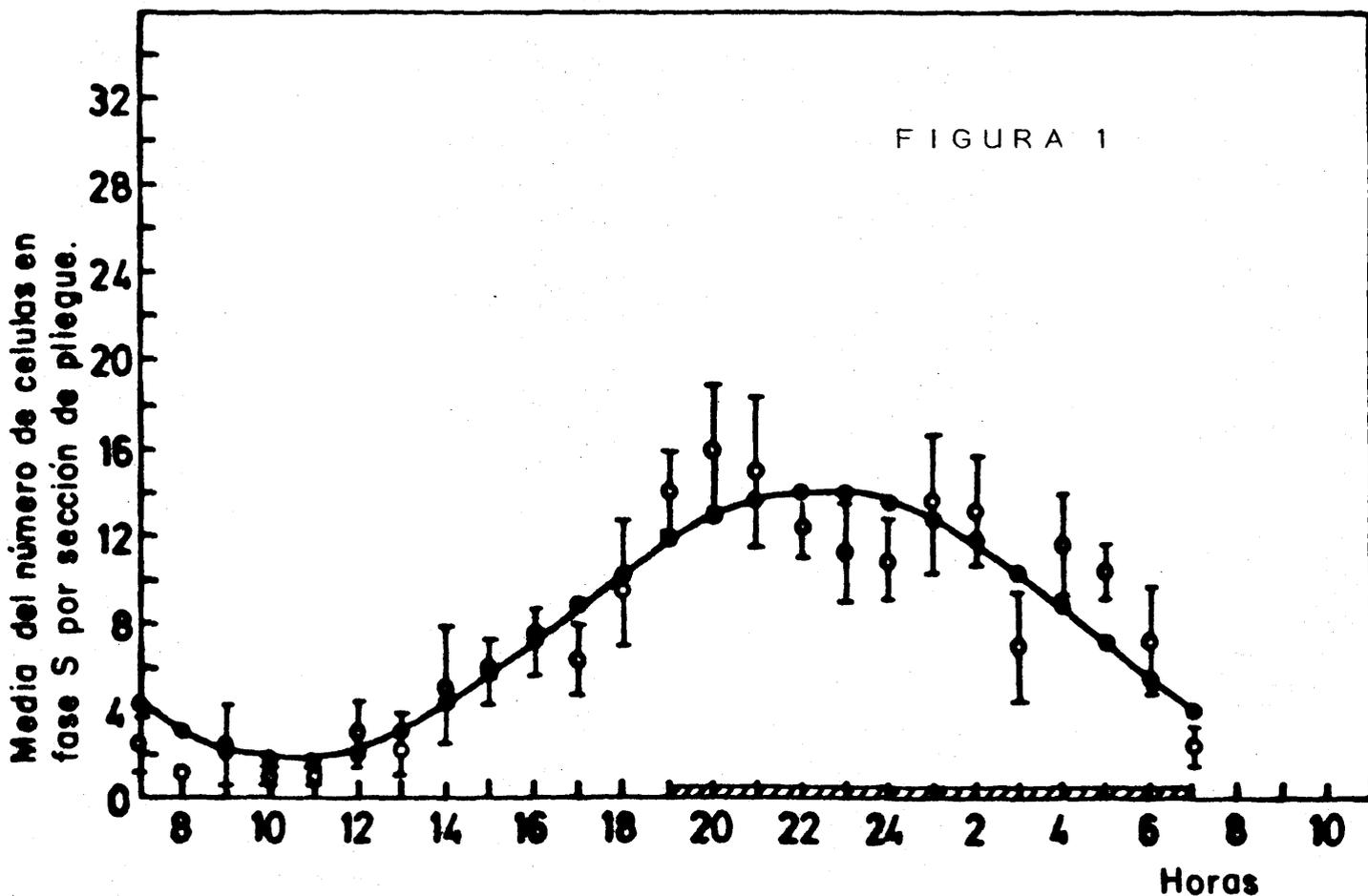
Como puede verse la mejora es importante pese a que existen todavía algunos picos de difícil justificación.

En la actualidad se trabaja sobre la idea de aplicar las técnicas ARMA y ARIMA al tratamiento de los datos.

CONCLUSIONES

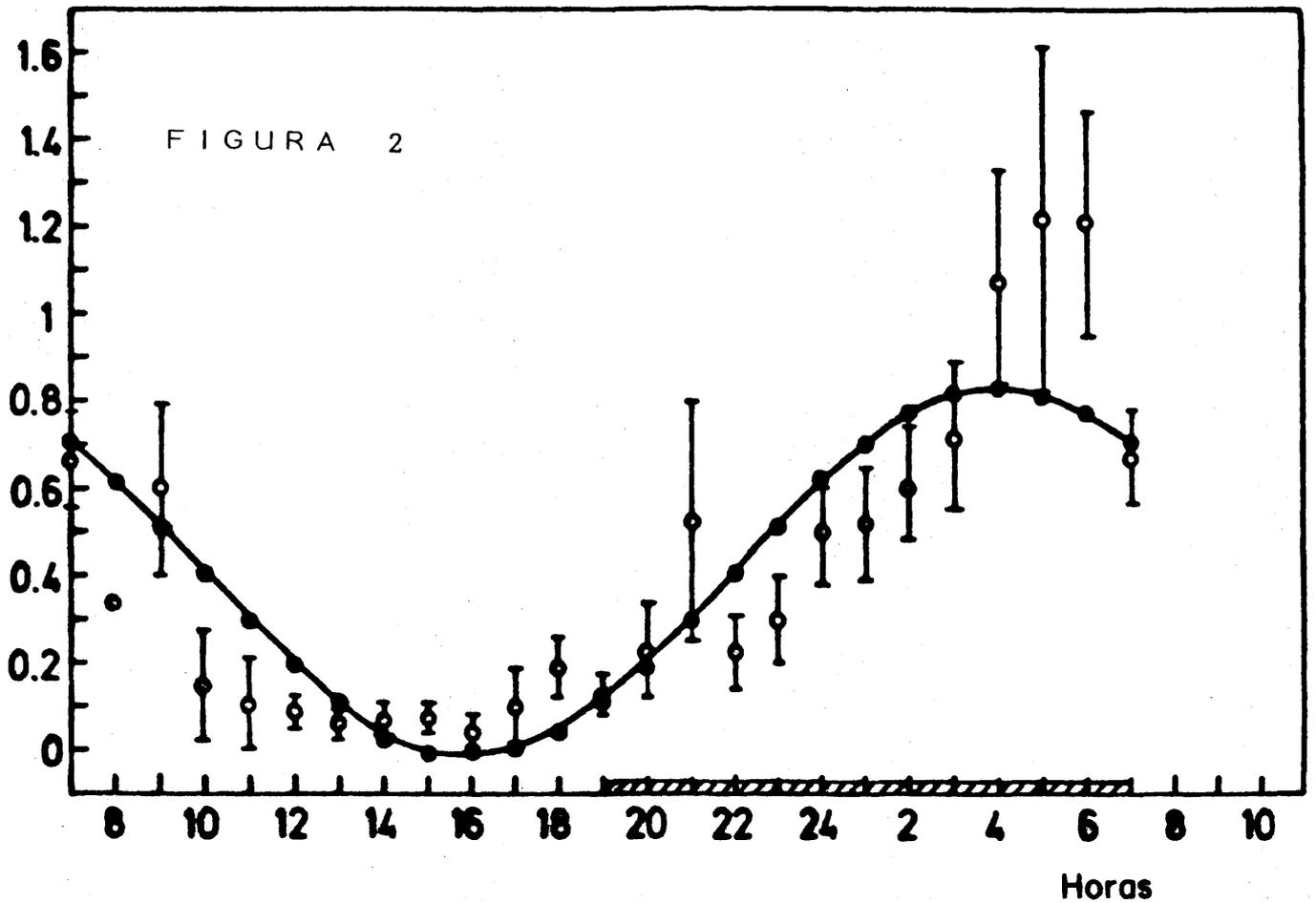
Las medidas efectuadas y su contraste con el método propuesto sugieren que el modelo determinista y continuo es una aproximación adecuada a la interpretación del ciclo evolutivo.

Los resultados numéricos sugieren un comportamiento circadiano también para los tiempos de tránsito en las fases. Las amplitudes se ajustan observando los mínimos de las curvas y la fase se induce mediante análisis armónico de la tendencia general.



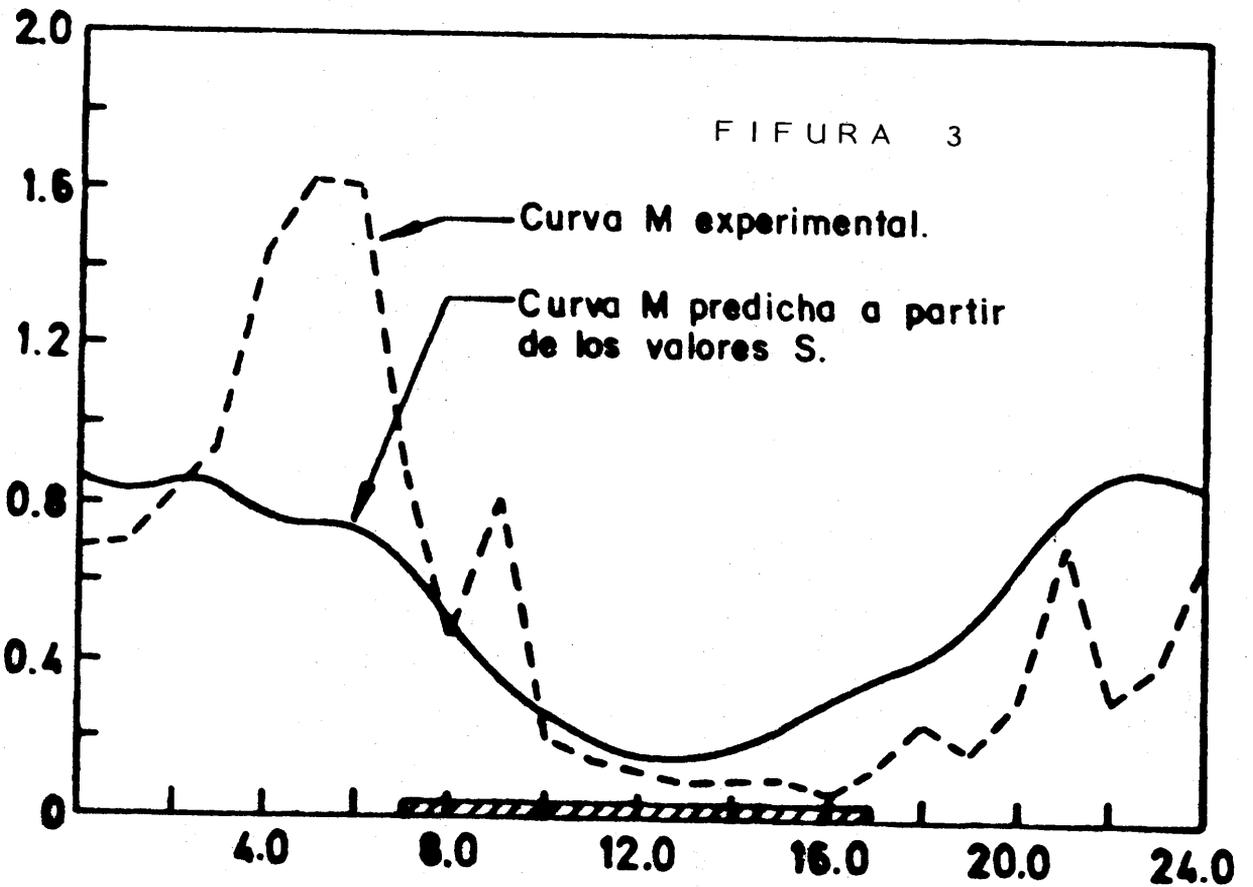
Numero de células en fase M por sección de pliegue

FIGURA 2



Número de células en fase M por sección de pliegue.

FIFURA 3



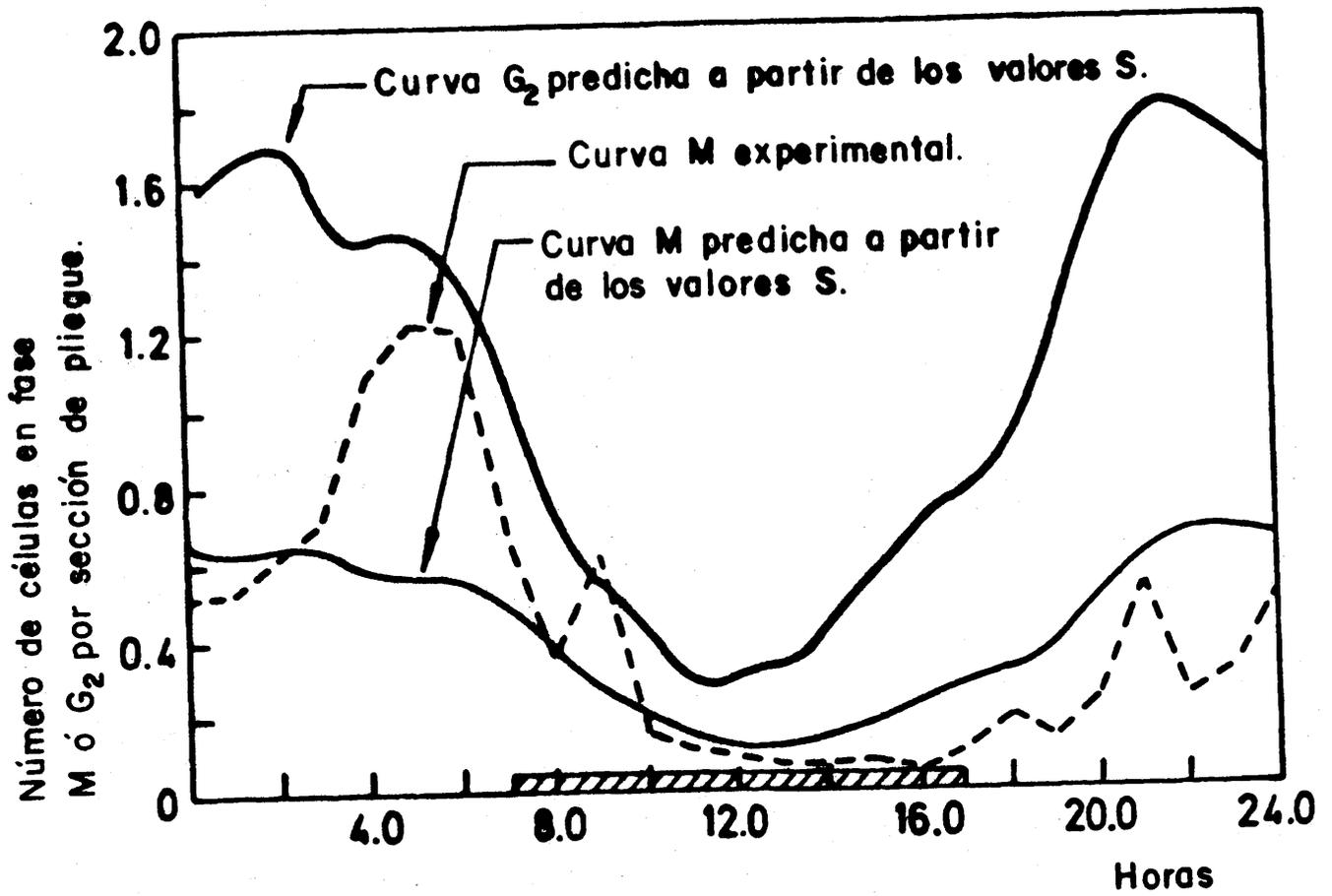


FIGURA 3 bis.

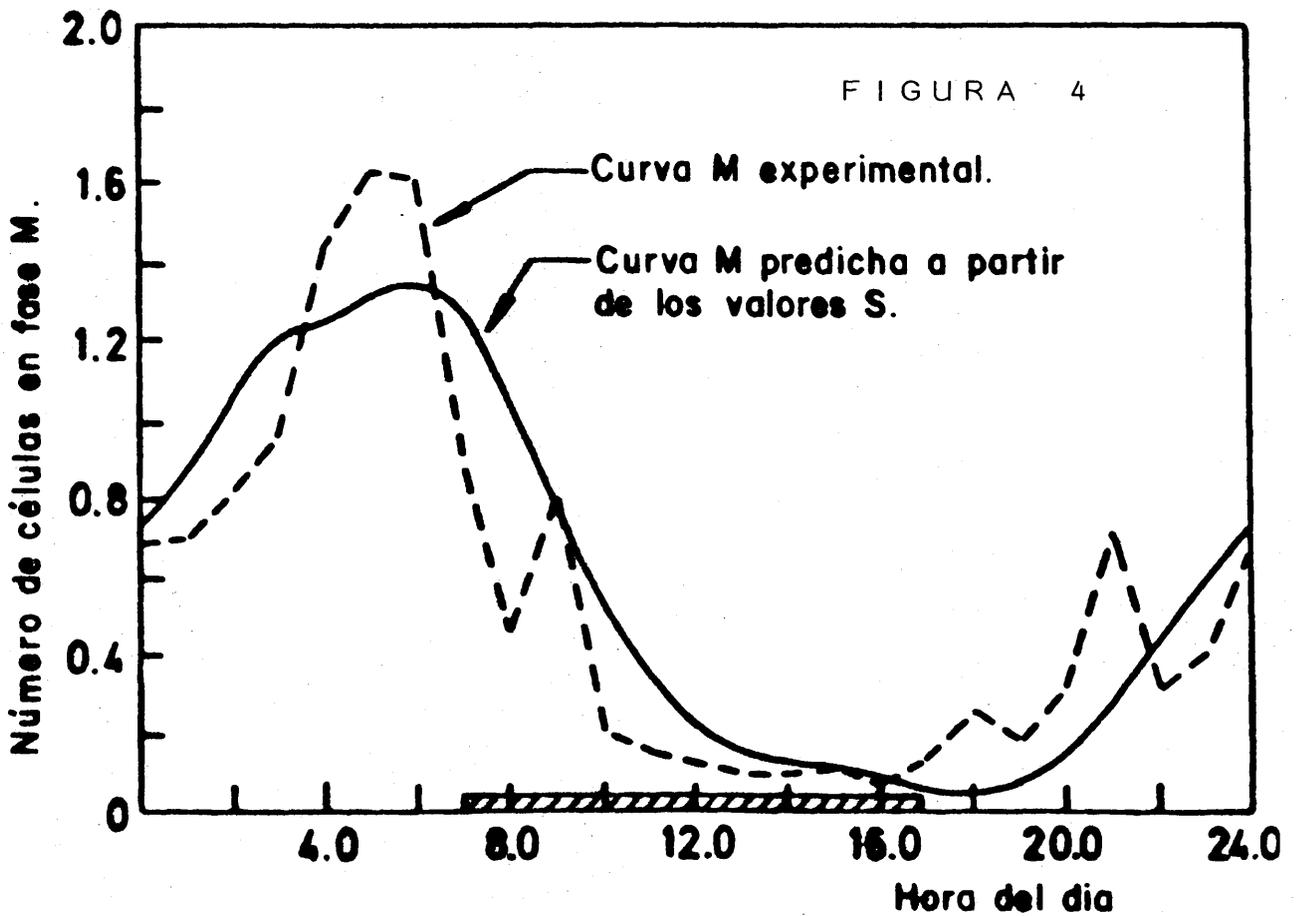


FIGURA 4

