

Universidade do Vale do Rio dos Sinos – UNISINOS

**SIMULAÇÃO DE CRESCIMENTO TUMORAL: INVESTIGAÇÃO
DA HIPÓTESE DE ADESÃO CELULAR DIMINUÍDA E SUA
IMPLICAÇÃO NA INVASIVIDADE MALIGNA**

Adriana Neves dos Reis – celula@exatas.unisinos.br

José Carlos Merino Mombach – mombach@exatas.unisinos.br

Marcelo Walter – marcelow@exatas.unisinos.br

Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas
Universidade do Vale do Rio dos Sinos
93022-000 São Leopoldo RS

Resumo

Neste trabalho, simulamos o crescimento de tumores em duas dimensões para investigar a hipótese de que uma diminuição aleatória nas forças de adesão das células tumorais pode contribuir para a sua característica de invasividade maligna. A simulação de células tumorais com forças de adesão diminuídas em relação às células normais explica seu desprendimento dos tumores. Os padrões gerados pela simulação sugerem que os tumores têm propriedades fractais.

Abstract

In this work we simulate the growth of two dimensional tumors to investigate the hypothesis that a random decrease in the adhesion forces of tumor cells contribute to their malignant invasive feature. The simulation of tumor cells with decreased adhesion forces in relation to normal ones explain their detachment from tumors. Simulated patterns suggest that tumors have fractal properties.

Palavras-chave: câncer, simulação, tecidos biológicos

1. Introdução

Qualquer processo de crescimento celular desordenado que resulte na invasão e destruição do tecido envolvente saudável por células anormais é considerado como cancerígeno. Células cancerígenas surgem a partir de células normais cujas características foram alteradas de maneira permanente. Elas multiplicam-se mais rápido do que células normais (formando aglomerados chamados de tumores) e não parecem responder corretamente ao controle nervoso ou hormonal. Elas podem espalhar-se via corrente sanguínea ou sistema linfático e invadir outras partes do corpo onde podem produzir novos tumores (metástases) [1].

Uma característica de interesse central no estudo do câncer é a sua malignidade. Quando as células de um tumor permanecem presas ao mesmo (via forças de adesão) sem invadir os tecidos normais circundantes, este tumor é considerado benigno, caso contrário é considerado maligno. A invasão de tecidos saudáveis por células malignas, que podem gerar novos tumores, é uma complicação do processo cancerígeno que pode levar à morte do paciente.

Visto que na dinâmica da organização celular estão envolvidas forças de contato, principalmente as forças de adesão, Steinberg [8] propôs a seguinte pergunta:

Podem as forças de adesão celular determinar o caráter de invasividade maligna das células de um tumor?

Neste trabalho investigamos esta questão através de uma simulação de crescimentos celulares desordenados, onde estudamos se as forças de adesão das células cancerígenas podem determinar a invasividade, ou não, das células pertencentes a um tumor.

As células se multiplicam através de um processo de mitose e ao passarem por este processo as novas células e sua vizinhança se reorganizam espacialmente através de forças de contato, principalmente forças de adesão, que dependem diretamente dos tipos celulares em contato. As células aderem através de moléculas especializadas nesta função, as chamadas *CAMs* ("Cell Adhesion Molecules") que estão presentes na membrana celular e criam sítios moleculares de ligação [3]. Cada tipo celular possui uma característica diferenciada de adesão em relação a outros tipos celulares. Esta propriedade, entre outras, é codificada pelo DNA. Num processo cancerígeno o DNA sofre mutações durante a mitose celular, assim estas características não são preservadas pelas células mutantes [1, 3]. A correta organização espacial das células é essencial para a função de um dado tecido num organismo e esta depende também das propriedades de adesão entre as mesmas [2, 3, 4, 5, 7, 8]. Assim, uma célula mutante de um câncer é considerada anormal, porque suas propriedades, entre elas, a força de adesão com outras células, são diferentes do padrão do seu tipo celular. A Figura 1 apresenta, pictoricamente, células normais e anormais de acordo com a sua intensidade de adesão. Esta intensidade é responsável pela formação de sítios de ligação para adesão na superfície celular. Em células reais o número de sítios de ligação é da ordem de $10^3 - 10^5$ [3]. Células normais (do mesmo tipo celular) apresentam a mesma quantidade de sítios de ligação. Células anormais não preservam a quantidade correta, que em geral, é menor. Como a força de adesão celular é proporcional à quantidade de moléculas na superfície celular, um decréscimo nesta reduz esta força.

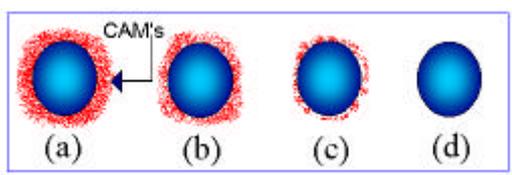


Fig. 1. Esquema da possível redução das moléculas de adesão celular (CAMs) em células anormais (b, c, d), a partir de uma célula normal (a).

A simulação que desenvolvemos é baseada no modelo proposto por Walter e Fournier [9, 10] para a formação de padrões da pelagem de mamíferos em duas dimensões. O modelo de Walter e Fournier é descrito a seguir:

- 1- Cada célula é vista como uma partícula inserida num espaço bidimensional com coordenadas (x,y).
- 2- A multiplicação celular é obtida através da introdução da mitose.
- 3- As interações entre as células são as seguintes:

- *Parâmetro de adesão*: modula a força de repulsão celular (ver abaixo). Depende diretamente dos tipos celulares em contato, e é definida por:

$$F_{adesão} = 1 - \alpha^{AB}$$

Em que:

α^{AB} é o parâmetro que controla a intensidade da adesão celular entre o tipo celular A e o tipo B, maior α^{AB} , menor a repulsão entre as células e vice-versa.

- *Força de repulsão*: simula o espaço ocupado por uma célula. É definida por:

$$f_i = 1 - d/r^*$$

Em que:

d ; representa a distância entre as células em contato.

r^* ; representa o raio celular ideal.

- 4- A representação visual das células é feita associando-se um polígono de Voronoi [6] a cada partícula na simulação, como ilustrado na Fig. 2.

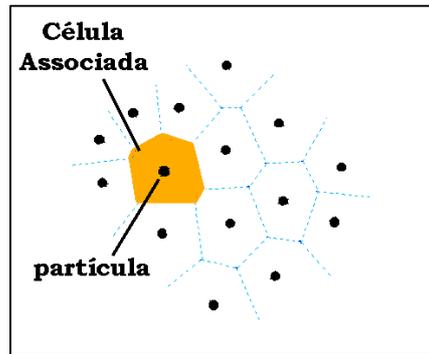


Fig. 2. Associação dos polígonos de Voronoi às partículas para a representação das células.

- 5- Parâmetros como: quantidade de cada tipo celular, intensidade das forças de adesão e tempo de simulação são pré-estabelecidos e fornecidos ao sistema como um arquivo de parâmetros iniciais.
- 6- O movimento celular é obtido pelo cálculo do efeito das forças acima sobre cada célula dentro de sua vizinhança. Se uma célula do tipo A tem como coordenadas iniciais (x_0, y_0) , suas coordenadas finais (x_1, y_1) após cada passo de tempo são obtidas de [9, 10]:

$$x_1 = x_0 + \sum_i dx_i d_i^{-1} f_i (1 - \alpha^{AB_i}) r^* ,$$

$$y_1 = y_0 + \sum_i dy_i d_i^{-1} f_i (1 - \alpha^{AB_i}) r^* ,$$

onde $dx_i = x_0 - x_i$ e $dy_i = y_0 - y_i$ são as distâncias entre a célula e sua i -ésima vizinha e $d_i = (dx_i^2 + dy_i^2)^{1/2}$.

2. Modelo para crescimento celular desordenado

O objetivo do modelo que desenvolvemos é simular um crescimento celular desordenado [7, 8]. Ele é uma extensão do modelo de Walter e Fournier descrito anteriormente. Para isso, no interior de um conjunto de células normais, cujo valor da força de adesão é exatamente o mesmo, é inserida uma célula anormal (“cancerígena”) com taxa de mitose muito maior do que a das normais e que ao se multiplicar gerará células com forças de adesão de caráter aleatório, menores ou iguais à força entre as células normais, que é constante, obedecendo a uma distribuição de Gauss-Heaviside (Fig. 3).

Cada célula tem seu tipo identificado, podendo ser normal (tipo A) ou anormal (tipo B). O passo inicial da simulação é a geração de um tecido de células normais. Neste conjunto de células é escolhida apenas uma, localizada na região central, para ser a célula-mãe inicial das anormais.

Quando ocorre a mitose de uma célula mutante, às suas células-filhas são atribuídas forças de adesão aleatórias (“mutadas”). Esses valores são extraídos da distribuição de Gauss-Heaviside. Visto que células de um câncer possuem forças de adesão menor ou no máximo igual ao das células normais [7, 8], utilizamos apenas a região de valores inferiores à média de uma Gaussiana, pois a média corresponde exatamente ao valor da força das células normais; isto define a função de Gauss-Heaviside. Assim, a “largura” da distribuição (desvio padrão ou σ) é um dos parâmetros do modelo. Embora a forma exata da distribuição de forças não seja conhecida, supomos que ela seja similar a esta distribuição por simplicidade (Fig. 3).

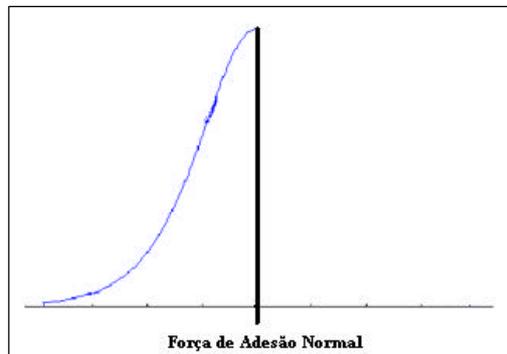
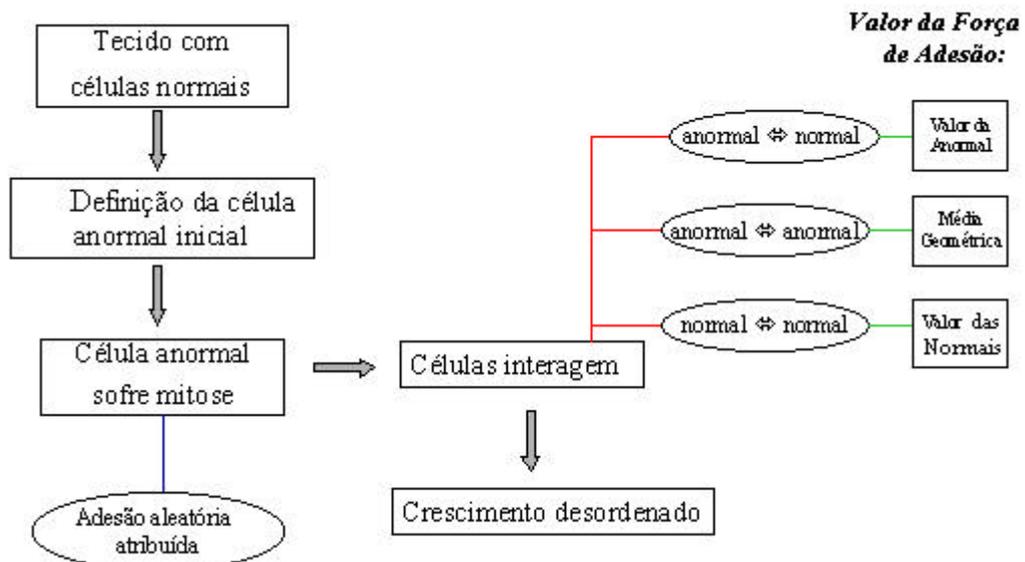


Fig. 3. Gráfico da Distribuição Gauss-Heaviside

Na simulação ocorrem 3 situações diferentes de interação entre as células:

- 1) Interação entre células normais: nessa situação a força de adesão resultante é constante e tem seu valor pré-determinado.
- 2) Interação entre uma célula anormal e uma normal: a força de adesão é definida como o valor da anormal, obtida da distribuição de Gauss-Heaviside (ver acima). A força entre as células normais tem um papel de normalização, ou seja, define uma escala.
- 3) Interação entre células anormais: a força de adesão resultante é obtida através da média geométrica das forças de adesão de cada célula anormal.

Esquemáticamente:



3. Resultados

Foram realizadas várias simulações. Apresentamos três crescimentos tumorais que exemplificam os resultados obtidos, todos partindo do mesmo estado inicial. No primeiro, as forças de adesão das células tumorais não são alteradas ($\sigma = 0$) e a anormalidade é apenas a alta taxa de mitose. Isso gera um tumor que definimos como benigno. No segundo e terceiro caso, além da alta taxa de mitose, as forças de adesão das células tumorais são

geradas pela distribuição citada acima com $\sigma = 0,15$ e $\sigma = 0,3$, respectivamente. Esses geram tumores que definimos como malignos. As simulações partiram de um tecido composto de 3000 células. A célula escolhida para ser a célula-mãe é a de cor mais clara. A Figura 4 apresenta a região central do estado inicial do tecido, com as partículas e os seus respectivos Voronois representando as células:

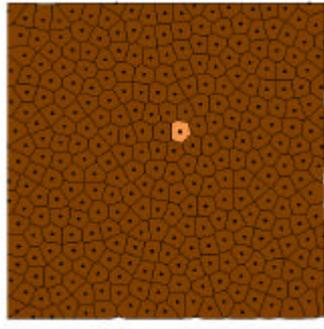


Fig. 4. Estágio inicial das células com tempo igual a 0.

A seguir, mostramos os padrões do crescimento dos tumores, em que cada um mostra o desenvolvimento das células com a passagem do tempo. Os Voronois foram omitidos para melhorar a visualização dos resultados.

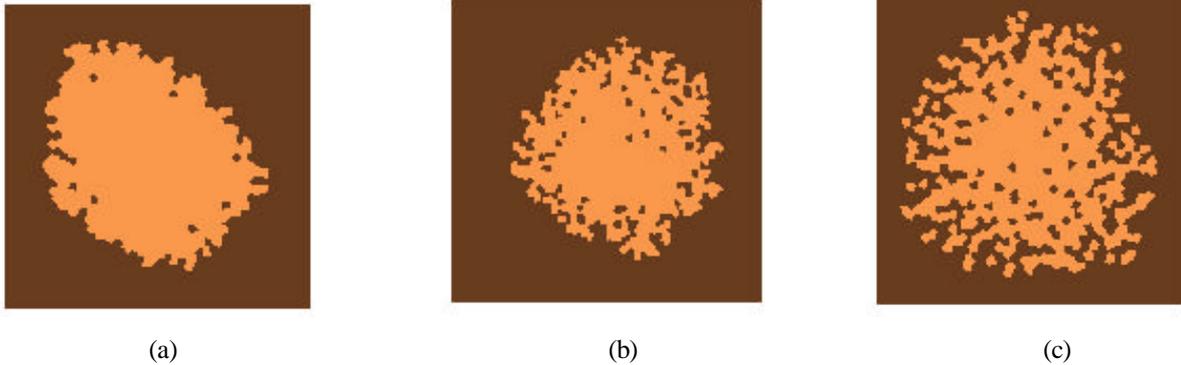


Fig. 5. Os padrões resultantes com tempo igual a 500. A simulação sem adesão aleatória gera um tumor benigno ((a), $\sigma = 0$), enquanto as demais geram tumores malignos ((b) $\sigma = 0,15$; (c) $\sigma = 0,3$). Note que o aumento da irregularidade da interface de contato das células anormais com as normais se deve ao aumento de σ .

Nota-se que o fato das células terem força de adesão aleatória (Fig. 5(b)-(c)) cria uma organização celular bastante diferenciada da simulação de um tumor benigno (Fig. 5(a)). Neste caso, a interface de contato entre os tipos normal e anormal (Figura 5(b)) também se mostra bastante irregular, sendo ainda mais contrastante no terceiro padrão (Fig. 5(c)). Isso fica ainda mais evidente no último estágio (Fig. 6):

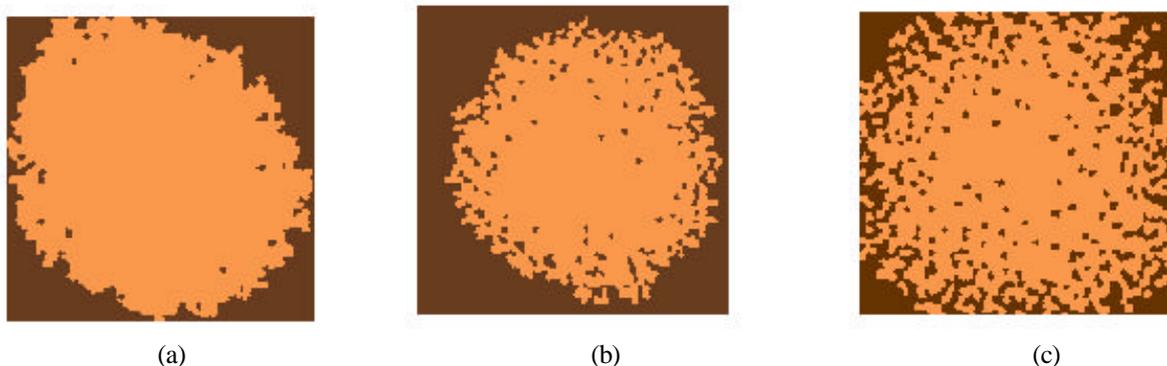


Fig. 6. Os padrões resultantes com tempo igual a 1500. Note que o tumor benigno ((a) $\sigma = 0$) cresceu de forma compacta, enquanto os tumores malignos ((b) $\sigma = 0,15$; (c) $\sigma = 0,3$) tiveram um aumento da irregularidade de sua interface de contato com as células normais.

Enquanto as células no tumor benigno formaram um tecido mais compacto (Fig. 6(a)), as células dos tumores malignos geraram tecidos menos compactos, com grande interface de contato com as células normais (Fig. 6(b)-(c)). O desprendimento das células nos casos malignos ocorre porque surge na estrutura um gradiente de adesão que cresce radialmente a partir do centro para fora do tumor.

Nossos resultados sugerem que os agregados apresentam características fractais dependentes do parâmetro σ . Atualmente estamos medindo a dimensão fractal (d_f) dos agregados para determinar quantitativamente a relação entre d_f e σ . σ faz o papel de um parâmetro de ordem do sistema, assim pretendemos obter um diagrama de fases relacionando estas duas grandezas para concluirmos esta fase do estudo.

4. Conclusões

A simulação mostra que o desprendimento de células de um tumor pode ser explicado pelo decréscimo nas forças de adesão das células mutantes. As células que se soltam podem ser capturadas por uma artéria ou pelo sistema linfático e serem carregadas para outras partes do organismo, vindo a gerar novos tumores. No entanto, a invasividade não é determinada apenas pela liberação das células do tumor, pois as elas devem ter outras propriedades, não contempladas nesta simulação, como a secreção de enzimas que digerem a matriz extra-celular e o movimento ativo. Nesta simulação, o movimento celular decorre apenas do gradiente de adesão experimentado por cada célula que diminui quando o gradiente decresce, como quando uma célula se afasta muito do tumor. A formação de metástases e invasividade requerem esses mecanismos adicionais, e, portanto a adesão por si só não pode explicar a invasividade maligna. Entretanto, ela explica a liberação das células de um tumor. Pretendemos introduzir estes mecanismos adicionais como extensão deste estudo.

O envolvimento da adesão celular no processo pode sugerir um novo método para o tratamento do câncer através de alguma técnica que interfira nas propriedades adesivas das células mutantes.

5. Agradecimentos

Este trabalho teve apoio parcial da FAPERGS e CNPq.

Referências

- [1] What you need to know about cancer, *Scientific American*, **275**, 3, 28-130, 1996.
- [2] Bodmann, B. E. J. and Mombach, J. C. M., On the role of probability amplitudes in cell aggregation: An approach study towards morphogenesis, *Physica A*, **278** 243-259, 2000.

- [3] Gilbert, S. F., *Developmental Biology*, Sunderland, Massachusetts: Sinauer, 1991.
- [4] Mombach, J. C. M., Simulation of embryonic cell self-organization: A study of aggregates with different concentrations of cell types, *Phys. Rev. E* **59**; R3827-R3830, 1999.
- [5] Mombach, J. C. M., Universality of the threshold in the dynamics of biological cell sorting, *Physica A*, **276**; 391-400, 2000.
- [6] Preparata, F. and Shamos, M., *Computational Geometry*, Springer-Verlag, New York, 1985.
- [7] Scott, E. L., Britton, N. F., Glazier, J. A., Zajac, M., Stochastic simulation of benign avascular tumor growth using the Potts model, *Mat. Comput. Model.*, **30** 183-198, 1999.
- [8] Steinberg, M. S., and Foty, R. A., Intercellular adhesions as determinants of tissue assembly and malignant invasion, *Journal of Cellular Physiology*, **173** 135-139, 1997.
- [9] Walter, M., Integration of complex shapes and natural patterns, Tese de Doutorado, University of British Columbia, Vancouver, 1998.
- [10] Walter, M., Fournier, A., Reimers, M., Clonal mosaic model for the synthesis of mammalian coat patterns, *Proceedings of Graphics Interface*, 82-91, Vancouver, 1998.
-