

Trabajo de Fin de Grado  
Grado en Ingeniería de Tecnologías Industriales

Simulación del mieloma múltiple mediante  
modelos de remodelación ósea basados en  
poblaciones celulares

Autor: Iratxe Sánchez García

Tutor: Francisco Javier Martínez Reina

Dep. de Ingeniería Mecánica y Fabricación

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2019





Trabajo de Fin de Grado  
Grado en Ingeniería de Tecnologías Industriales

Simulación del mieloma múltiple mediante modelos de remodelación ósea basados en poblaciones celulares

Autor:

Iratxe Sánchez García

Tutor:

Francisco Javier Martínez Reina

Dep. de Ingeniería Mecánica y Fabricación

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2019



Trabajo de Fin de Grado: Simulación del mieloma múltiple mediante modelos de remodelación ósea basados en poblaciones celulares

Autor: Iratxe Sánchez García

Tutor: Francisco Javier Martínez Reina

El tribunal nombrado para juzgar el Proyecto arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2019

El Secretario del Tribunal



A mi familia  
A mis  
maestros



# 0. Agradecimientos

---

Con este Trabajo de Fin de Grado se culmina una etapa que da paso a todas las nuevas experiencias que están por llegar. A lo largo de este proceso he aprendido no solo los conocimientos teóricos que da la carrera sino también valores que permiten tener una perspectiva más amplia del ámbito en el que desarrollaremos nuestra vida profesional. Este trabajo me ha permitido aportar mi granito de arena a una lucha en la que la investigación es un pilar muy importante y cada contribución individual nos acerca a mejorar la vida de quienes padecen la enfermedad.

Quiero comenzar agradeciendo a mis padres todo aquello que me han enseñado durante mi vida. Sin su sacrificio y constante deseo de que tuviese la mejor formación posible no hubiese estudiado en esta universidad en la que tanto he aprendido. Han celebrado junto a mí los buenos momentos que estos años me han dado y me han apoyado en cada bache, ayudándome a encontrar el camino de la felicidad.

En este punto quisiera dar las gracias a Pepe por ser mi eterna sonrisa. Por comprender el esfuerzo diario que supone esta carrera y por alegrarse de mis logros como si fueran propios.

Sin lugar a dudas no podía faltar mi agradecimiento a Javier Martínez Reina por darme la oportunidad de desarrollar este trabajo. No hubiera sido posible sin todos los comentarios y sin guiarme a lo largo de este tiempo para estudiar todo un paso más lejos de la zona de confort.

Agradecer también a los profesores que nos han enseñado todo de la mejor forma posible. A mis amigos por estar siempre presentes tanto en los buenos momentos como en los menos buenos en los que hace falta alguien con quien hablar.

Finalmente, quiero dedicárselo a quienes no están porque espero que desde el cielo me vean y puedan estar orgullosos de mí.



# 0. Índice

---

0. Agradecimientos.....	9
0. Índice.....	11
1. Índice de tablas.....	14
2. Introducción .....	15
1.1. Desarrollo del cáncer en España y en el mundo .....	15
1.1.1. Asistencia sanitaria.....	17
1.2. Objetivos.....	17
1.3. Organización de la memoria .....	18
2. Biología ósea.....	19
2.1. Mieloma múltiple.....	19
2.1.1. Descripción técnica.....	19
2.1.2. Sintomatología.....	20
2.2. Hueso .....	21
2.2.1. Definición.....	21
2.2.2. Composición.....	22
2.2.3. Tipología.....	23
2.3. Células óseas.....	24
2.3.1. Osteoclastos .....	24
2.3.2. Osteoblastos.....	25
2.3.3. Osteocitos .....	26
2.3.4. Células de borde .....	26
2.4. Unidad multicelular básica (BMU).....	27
2.5. Remodelación ósea .....	27
2.5.1. Definición.....	27
2.5.2. Regulación del remodelado óseo.....	27
3. Modelos de Remodelación Ósea.....	31
3.1. Modelo de Komarova (2003).....	31
3.1.1. Descripción.....	31
3.1.2. Ecuaciones.....	32
3.1.3. Resultados.....	32
3.2. Modelo de Pivonka (2008).....	33
3.2.1. Descripción.....	33
3.3. Modelo de Pivonka (2013).....	34
3.3.1. Caracterización del hueso .....	35

3.3.2.	Ecuaciones diferenciales.....	36
3.3.3.	Funciones de activación y de represión.....	36
3.3.4.	Cambios de porosidad debidos a la actividad celular.....	38
3.3.5.	Resultados.....	39
3.3.6.	Inclusión de la mineralización Martínez Reina (2017) .....	40
3.4.	Modelo de Koenders y Saso (2016).....	42
3.4.1.	Descripción.....	42
3.4.2.	Ecuaciones .....	42
3.4.3.	Resultados.....	43
3.5.	Modelo de Coelho (2016).....	45
3.5.1.	Descripción.....	45
3.5.2.	Ecuaciones .....	46
3.5.3.	Resultados.....	47
4.	Modelo de Remodelación ósea con presencia de Mieloma Múltiple.....	53
4.1.	Modelo previo propuesto .....	53
4.1.1.	Introducción al modelo.....	53
4.1.2.	Resultados.....	56
4.2.	Modelo de remodelación ósea estable .....	58
4.2.1.	Introducción al modelo.....	58
4.2.2.	Parámetros introducidos .....	59
4.2.3.	Planteamiento del modelo .....	61
4.2.4.	Función de diferenciación de osteoblastos .....	63
4.2.5.	Función de Interleuquina-8.....	64
4.2.6.	Sistema de ecuaciones .....	65
5.	Resultados .....	67
5.1.	Hueso cortical .....	67
5.1.1.	Comportamiento de las variables .....	68
5.1.2.	Análisis de sensibilidad .....	71
5.2.	Hueso trabecular .....	88
5.2.1.	Comportamiento de las variables .....	89
5.2.2.	Análisis de sensibilidad .....	92
5.3.	Análisis de sensibilidad II.....	109
6.	Conclusiones y estudios futuros .....	113
7.	Bibliografía.....	115
8.	Anexos.....	119
8.1.	Anexo A. Nomenclatura .....	119
8.2.	Anexo B. Definiciones.....	120

8.3.	Anexo C. Diagrama del modelo.....	122
8.4.	Anexo D. Códigos.....	129

## 0. Índice de tablas

---

Tabla 3.1 Parámetros del modelo de Coelho .....	48
Tabla 4.1 Parámetros para los osteoblastos .....	59
Tabla 4.2 Parámetros para los osteoclastos .....	59
Tabla 4.3 Coeficientes de funciones activadoras y represoras .....	59
Tabla 4.4 Otros factores.....	61
Tabla 4.5 Parámetros asociados al mieloma.....	61
Tabla 4.6 Valores iniciales .....	61
Tabla 5.1 Valores del análisis de sensibilidad cortical .....	72
Tabla 5.2 Valores del análisis de sensibilidad trabecular .....	93

# 1. Introducción

---

En este Trabajo de Fin de Grado vamos a plantear varias simulaciones de la remodelación ósea afectada por el Mieloma Múltiple para las poblaciones celulares. Primero necesitamos conocer cómo afecta el cáncer a la sociedad y su incidencia. Después trataremos los objetivos de este trabajo y la estructura que se va a seguir.

## 1.1. Desarrollo del cáncer en España y en el mundo

Tal y como define la Organización Mundial de la Salud (OMS): “El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolado de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo. El tumor suele invadir el tejido circundante y puede provocar metástasis en puntos distantes del organismo. [4]” Gran parte de los cánceres pueden ser tratados por lo que resulta importante la investigación de su desarrollo y la detección temprana.

Según el informe de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM, 2018) “el cáncer es una de las principales causas de mortalidad del mundo, diagnosticándose en el año 2012 14 millones de casos nuevos y previéndose que aumenten a 24 millones para 2035. [5]” No obstante, estos datos están directamente relacionados con el aumento de la esperanza de vida y con la detección precoz de las células tumorales.

Centrándonos en la situación de España, la tasa era aproximadamente de 230000 casos en el 2017 y una estimación de 315000 casos para 2035. De los diagnósticos obtenidos, los tipos de cáncer más frecuentes se presentan en las figuras 1.1 y 1.2, en las que se diferencia entre la incidencia en hombres y en mujeres.

El indicador más importante que permite medir la detección precoz del cáncer es la supervivencia, ya que proporciona información sobre la efectividad de los tratamientos y está directamente relacionada con lo avanzada que esté la enfermedad.

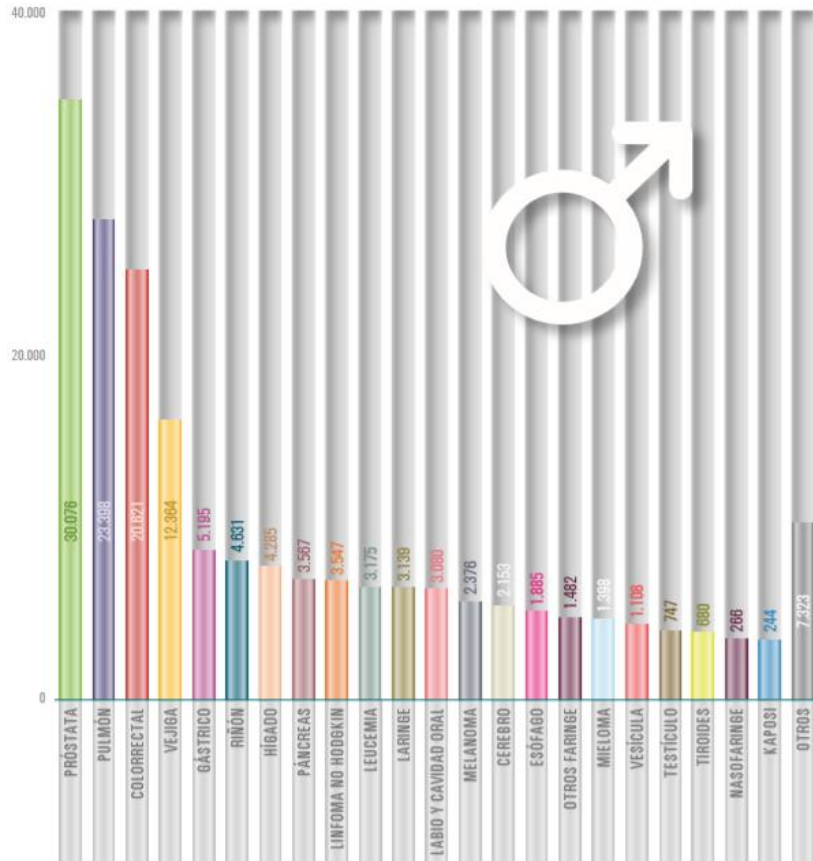


Figura 1.1 Incidencia de los tumores más frecuentes en hombres (INE 2012)

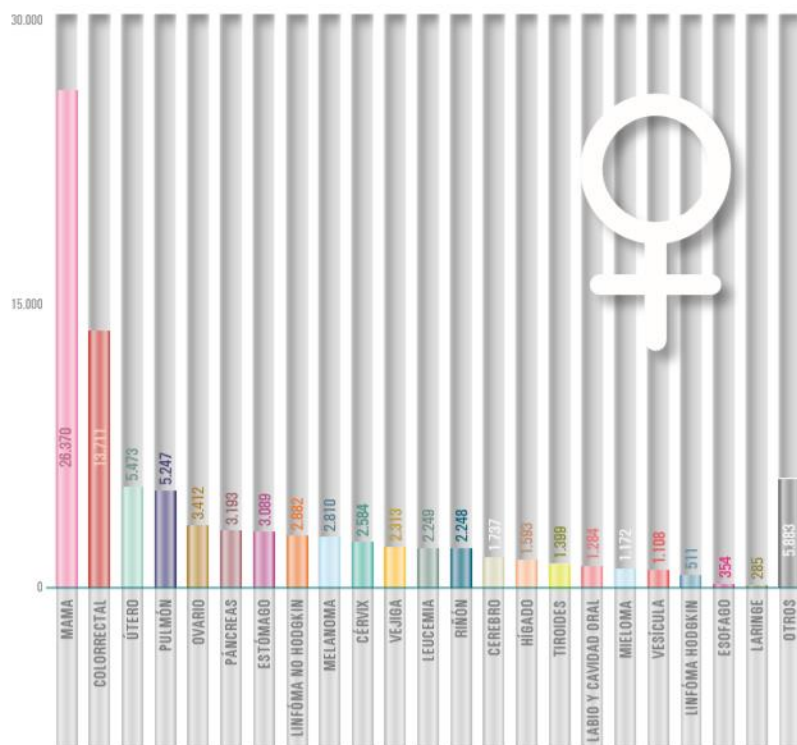


Figura 1.2 Incidencia de los tumores más frecuentes en mujeres (INE 2012)



### **1.1.1. Asistencia sanitaria**

El cáncer supone un esfuerzo constante por parte de la sanidad para su detección y tratamiento. Además, implica un gasto para los países por garantizar una asistencia sanitaria adecuada.

El aumento de la esperanza de vida poblacional supone mayor probabilidad de desarrollar enfermedades que antes no tenían tanta incidencia por lo que, sumado al crecimiento de la población, se traduce en mayores costes para la sanidad. Asimismo, los países desarrollados destinan parte de sus recursos a la formación de los profesionales de forma que cada vez se elaboren diagnósticos y tratamientos más eficaces para los pacientes.

## **1.2. Objetivos**

El objetivo principal de este trabajo es comprender cómo se produce la remodelación ósea ante la presencia del Mieloma Múltiple (también conocido como cáncer de hueso). Para ello estudiaremos varios modelos matemáticos de remodelación ósea para después ser capaces de plantear un modelo propio que se adecúe a la realidad.

La remodelación ósea es el proceso según el cual el esqueleto se renueva y repara los posibles daños. En este mecanismo están implicadas las poblaciones celulares que trabajan conjuntamente. Estas células son los osteoblastos, los osteoclastos, los osteocitos y las células de borde. Así, los osteoclastos se encargan de la resorción que viene seguida por la formación de tejido óseo.

En el mecanismo de remodelación intervienen también otros elementos tales como proteínas y receptores cuya función es la interacción entre las células.

Mediante la interacción de todos los elementos mencionados se produce la remodelación ósea y nuestro objetivo será comprender la relación existente entre ellos así como la influencia que tiene la variación de un parámetro sobre los otros. También analizaremos la influencia de las células tumorales en la diferenciación y la apoptosis de osteoblastos y osteoclastos.

Una vez planteado el modelo evaluaremos los resultados obtenidos tanto para el hueso trabecular como para el hueso cortical. De cara a comprobar en detalle la influencia que tiene la modificación de determinadas variables sobre el modelo realizaremos un análisis de sensibilidad. Este análisis de sensibilidad se planteará por un lado analizando la influencia en los parámetros que consideramos más sensibles a las variaciones y por otro lado comprobando el tiempo que tardará el hueso en alcanzar un valor previamente fijado de fracción volumétrica de matriz ósea.

### 1.3. Organización de la memoria

Este trabajo se estructurará de la siguiente forma:

- Capítulo 2: Se describirá la biología ósea de la que se vaya a hablar a lo largo del trabajo. Se comenzará describiendo qué es el Miéloma Múltiple y cuáles son los síntomas por los que se caracteriza. Después se definirá el hueso, detallando de qué está compuesto y diferenciando entre huesos corticales y trabeculares; las células óseas y la Unidad Multicelular Básica. Finalmente introduciremos la remodelación ósea, en qué se fundamenta y como se produce.
- Capítulo 3: En este capítulo se explican los distintos modelos de remodelación ósea desde los más recientes hasta los que han servido de base para la mayor parte de los planteados hasta la fecha.
- Capítulo 4: A lo largo del capítulo se detalla el planteamiento del modelo matemático desarrollado para este trabajo. Se comienza explicando el primer modelo con el que se intentó resolver el sistema para posteriormente analizar en detalle un modelo definitivo que permite aproximarnos a una situación real de remodelación ósea bajo el efecto de las células tumorales.
- Capítulo 5: En este capítulo se estudian los resultados obtenidos. Se explica el análisis de sensibilidad realizado y se argumenta la fiabilidad y adecuación de los resultados.

# 2. Biología ósea

Para facilitar la comprensión del trabajo y las conclusiones extraídas de él, así como el proceso según el cual se produce la remodelación ósea, es necesario conocer varios conceptos que serán fundamentales. Dichos conceptos se explicarán en este capítulo.

Vamos a comenzar explicando qué es el mieloma múltiple para después desarrollar los conceptos de hueso, células óseas, Unidad Multicelular básica (BMU) y remodelación ósea.

## 2.1. Mieloma múltiple

Primeramente, describiremos el mieloma múltiple para, una vez comprendido, explicar cómo afecta a los huesos.

### 2.1.1. Descripción técnica

Oriol define el mieloma múltiple (en inglés, Multiple Myeloma Bone Disease, MMBD) como “un cáncer de un tipo de células de la médula ósea llamadas células plasmáticas [1]”. En una persona sana las células plasmáticas no se reproducen y fabrican un único tipo de inmunoglobulina. Sin embargo, en algunos casos se produce una alteración genética que es la causante de que las células plasmáticas sean capaces de reproducirse e ir ocupando la médula ósea.

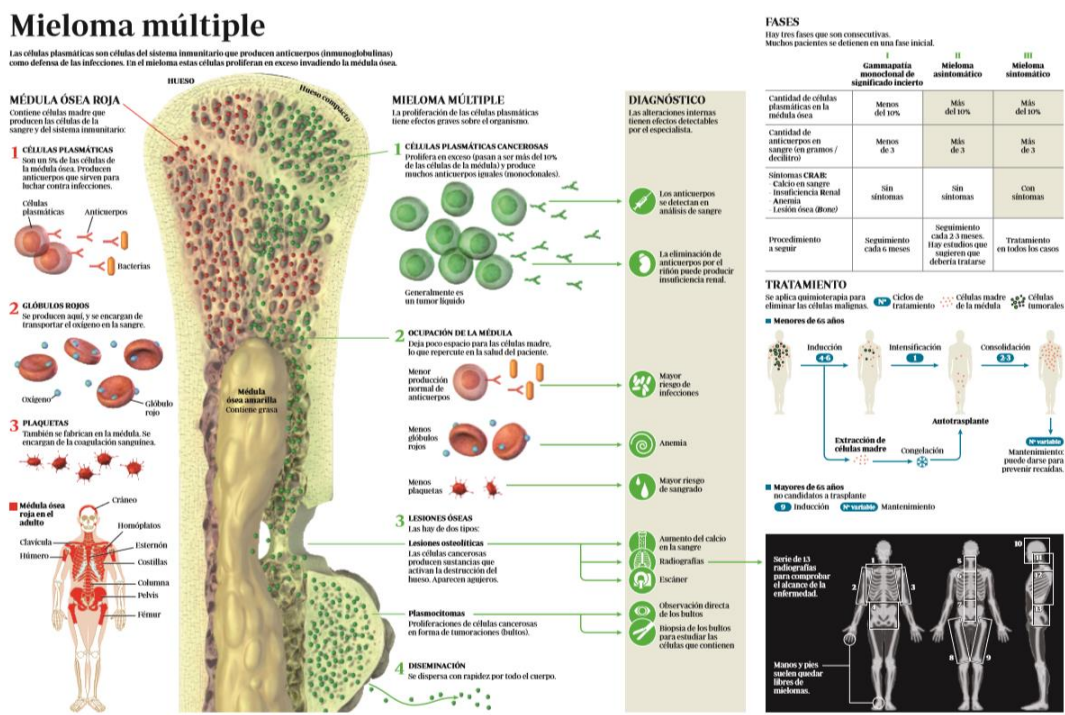


Figura 2.1 Hueso afectado por Mieloma Múltiple. Tomada de [13]

Según Wang y Pivonka, “el mieloma múltiple es una enfermedad de células B [24]”. En concreto se refiere la definición de Koenders y Saso de “una neoplasia maligna hematológica monoclonal [25]”.

Tal y como establece Ana Carrasco en el trabajo que precede a este estudio, la descripción es la siguiente:

- Neoplasia es la multiplicación o crecimiento anormal de células en un tejido.
- Hematológica hace referencia a su relación con la sangre y los órganos que la producen.
- Monoclonal porque las células descienden de un único tipo de célula progenitora.

En un hueso sano el proceso de remodelación ósea se produce de forma que hay una resorción por los osteoclastos y una posterior formación ósea por los osteoblastos, existiendo un equilibrio entre ambos. Por el contrario, en pacientes con Mieloma Múltiple existe una descompensación entre la resorción y la formación. La enfermedad activa los osteoclastos e inhibe los osteoblastos, provocando que la masa ósea se vaya reduciendo a lo largo de dicho proceso (ver figura 2.2).



Figura 2.2 Crecimiento celular normal vs con cáncer de hueso. Tomada de [29]

### 2.1.2. Sintomatología

Los principales síntomas del mieloma múltiple son el dolor óseo intenso y la anemia. El dolor óseo se debe a las lesiones líticas, lesiones provocadas por la pérdida de calcio y posterior debilitamiento de los huesos. Una pérdida excesiva de masa ósea podría llegar a desencadenar en una fractura.

Por otro lado, en lo que respecta a la anemia, las células del mieloma múltiple inhiben el desarrollo normal de glóbulos rojos provocando una sensación de cansancio.

El mieloma puede mantenerse asintomático durante varios años y ser únicamente detectable mediante análisis de sangre o de médula ósea. Este estado latente es el

causante de que, para cuando aparecen los primeros síntomas, el mieloma se encuentre en una etapa bastante avanzada.

## 2.2. Hueso

### 2.2.1. Definición

Los huesos son tejidos vivos que están en constante regeneración a lo largo de su vida. El proceso por el que se va renovando es conocido como remodelación ósea. Más adelante describiremos cómo se produce dicha remodelación.

Pivonka define que “los huesos son los encargados de proteger a los órganos internos, de almacenar minerales en ellos, de soportar las cargas y de la homeostasis del calcio [23]”.

El hueso está compuesto por distintas partes que se diferencian por su forma. Así, la epífisis representa el tejido óseo esponjoso que se encuentra en el extremo de los huesos largos y la diáfisis la parte alargada y compacta de hueso. A la unión de epífisis y diáfisis se la conoce como metáfisis. En la figura 2.3 se puede observar en detalle cada una de las partes:

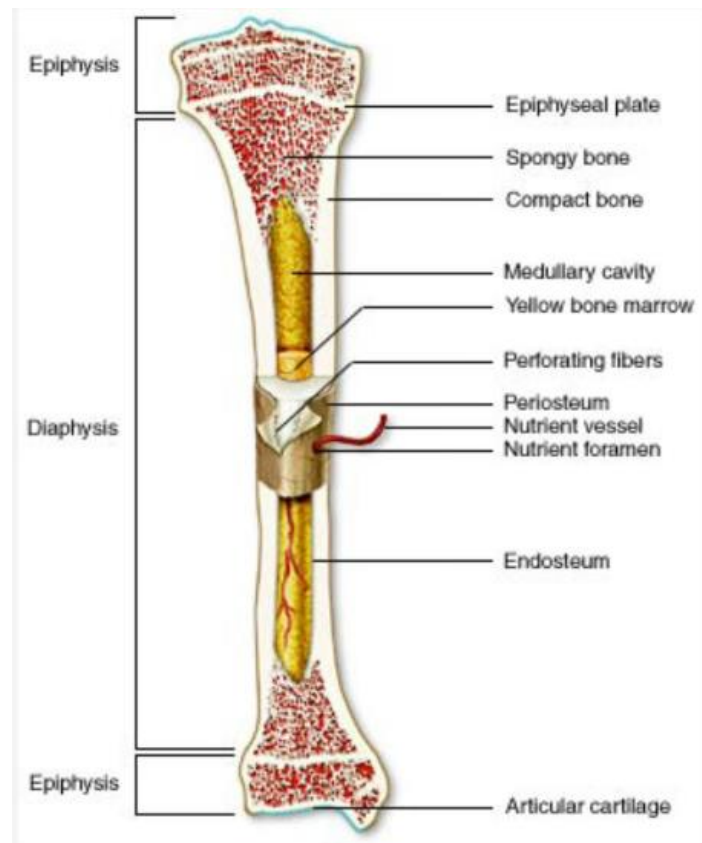


Figura 2.3 Composición del hueso. Tomada de Apuntes de Bioingeniería

Además, para comprender los siguientes apartados es necesario conocer otros conceptos, estos son osteona, laminillas de osteona y canal de Havers (ver figura 2.4).

La osteona es una unidad estructural básica dentro del tejido óseo. En su interior se encuentra el canal de Havers y está rodeada por las laminillas de osteona.

Las laminillas de osteona son capas de matriz ósea que se agrupan alrededor de los conductos de Havers concéntricamente formando la osteona.

Por último, los conductos de Havers constituyen la parte central de la osteona y se desarrollan con su eje longitudinal paralelo al eje longitudinal del hueso.

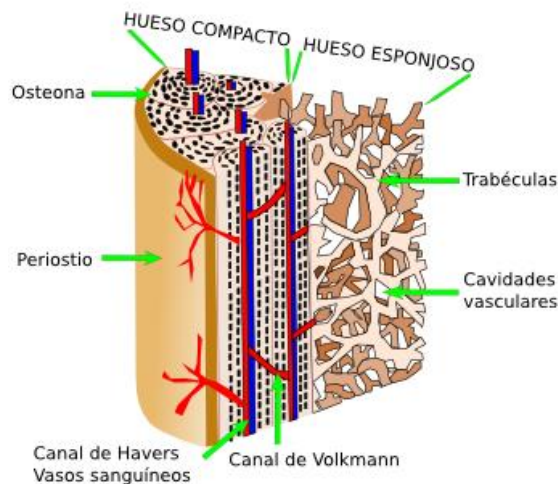


Figura 2.4 Sistema de Havers. Tomada de [15]

## 2.2.2. Composición

Martínez Reina establece que “el hueso es un compuesto de matriz ósea y poros lleno de médula ósea, vasos sanguíneos y nervios [10]”.

Tomando un volumen de referencia  $V_t$ , este se puede dividir en el volumen de matriz ósea ( $V_b$ ) y en el volumen de poros ( $V_v$ ). El volumen de matriz ósea, a su vez, está compuesto por una fase inorgánica de mineral ( $V_m$ ), una fase orgánica de colágeno ( $V_o$ ) y agua ( $V_w$ ).

Así:

$$V_t = V_b + V_v \quad (2.1)$$

Siendo:

$$V_b = V_m + V_o + V_w \quad (2.2)$$

Finalmente:

$$V_t = V_m + V_o + V_w + V_v \quad (2.3)$$

A partir de los anteriores volúmenes podemos caracterizar los siguientes parámetros.

La fracción volumétrica de hueso ( $v_b$ ), que se calcula como la fracción entre el volumen de matriz ósea y el volumen de referencia.

$$v_b = \frac{V_b}{V_t} \quad (2.4)$$

Se calcula la porosidad ( $p$ ) como el cociente entre el volumen de poros y el volumen de referencia. La porosidad está directamente ligada a la fracción volumétrica ósea, al ser la primera el espacio libre de hueso existente en la segunda.

$$p = \frac{V_v}{V_t} = 1 - v_b \quad (2.5)$$

Otra variable a tener en cuenta es la fracción de ceniza ( $\alpha$ ), que indica el grado de mineralización ósea.

$$\alpha = \frac{m_m}{m_m + m_o} = \frac{\rho_m V_m}{\rho_m V_m + \rho_o V_o} \quad (2.6)$$

Donde  $m_m$  indica la masa de ceniza y  $m_o$  la masa orgánica.

### 2.2.3. Tipología

Existen diferentes clasificaciones posibles para los huesos pero para el estudio que se va realizar los clasificaremos de acuerdo a su fracción volumétrica de hueso. Según este criterio se puede diferenciar entre hueso cortical y trabecular (ver figura 2.5).

- Hueso cortical: Representa el 80% de la masa ósea del esqueleto. Se trata de un tipo de hueso compacto y denso que se encuentra en la diáfisis de huesos largos; también puede encontrarse tanto en el interior como en el exterior de huesos planos. Está constituido por láminas concéntricas de osteonas alrededor de los canales de Havers.
- Hueso trabecular: Representa el 20 % de la masa ósea esquelética. Es un hueso esponjoso cuyas láminas intersticiales se disponen irregularmente para formar placas conocidas como trabéculas. Se encuentra en los extremos de los huesos largos y en el interior de otros huesos.

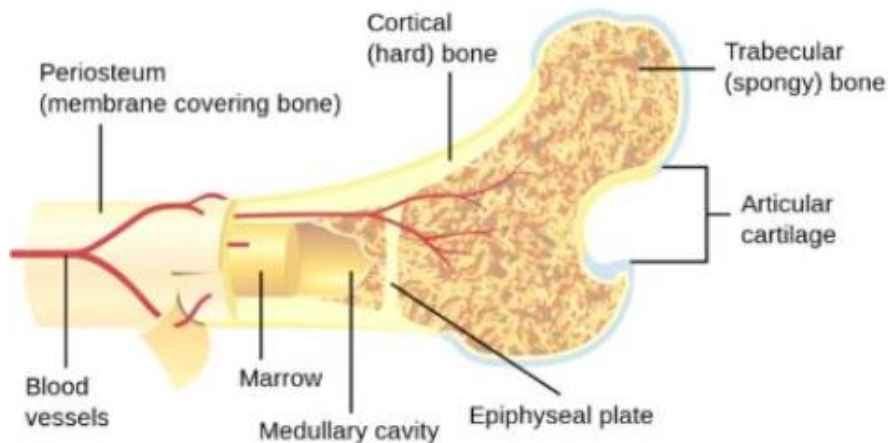


Figura 2.5 Hueso cortical y trabecular. Tomada de [30]

## 2.3. Células óseas

Las células óseas son poblaciones celulares que intervienen en el proceso de remodelación ósea y cada una de las cuales tiene un papel bien definido durante el proceso. Estas células se pueden simplificar en: osteoclastos (OC), osteoblastos (OB), osteocitos y células de borde.

### 2.3.1. Osteoclastos

Coelho define que “se tratan de células óseas multinucleadas que surgen de la fusión de células mononucleadas hematopoyéticas y de células progenitoras [26]”. Por su parte, Pivonka establece que “se denotan las células que derivan de la fusión como células progenitoras ( $OC_u$ ), que se desarrollan y se convierten en osteoclastos precursores ( $OC_p$ ). Una vez obtenidos los  $OC_p$  se producen una serie de reacciones químicas que facilitan la diferenciación de osteoclastos precursores en osteoclastos activos ( $OC_a$ ). Los  $OC_a$  se encargan de realizar la resorción ósea (proceso proporcional al número de osteoclastos activos) y, una vez completado el ciclo, los osteoclastos sufren la apoptosis (concepto empleado para la muerte celular programada) [11]”.

Para realizar la resorción ósea, los osteoclastos segregan ácidos en la superficie que está pegada al hueso de forma tal que se disuelva el mineral. Además, mediante enzimas disuelven la fase orgánica del hueso (ver figura 2.6).



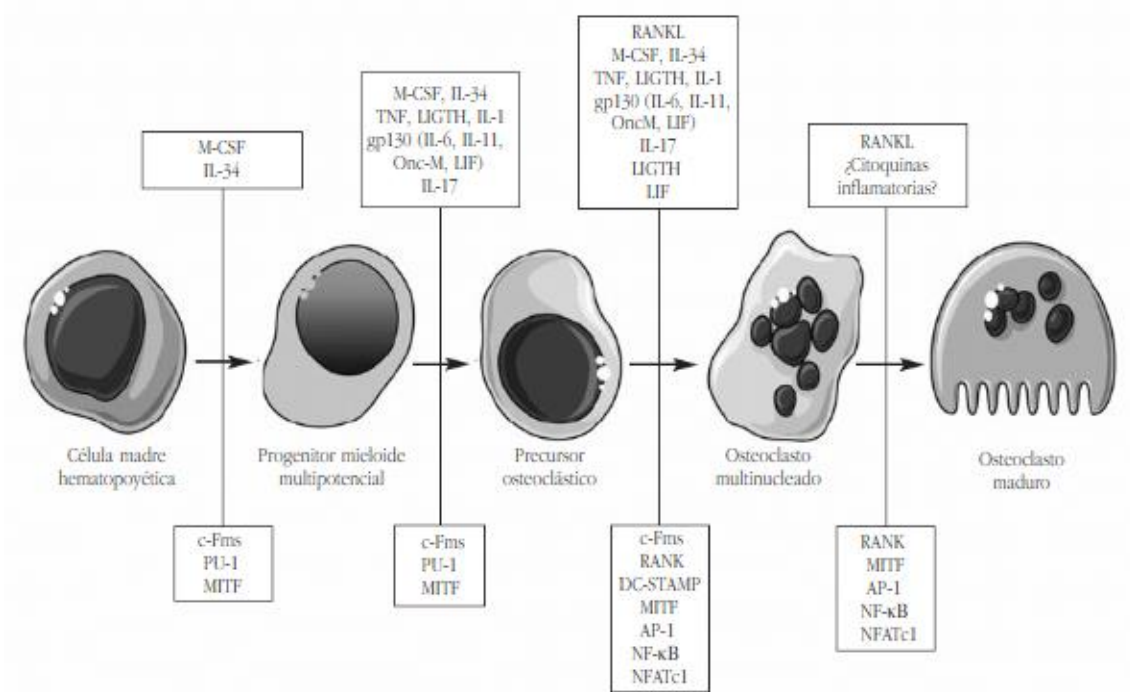


Figura 2.6 Etapas de un osteoclasto. Tomada de [16]

### 2.3.2. Osteoblastos

Son células óseas mononucleadas y cuboidales responsables del proceso de formación. Pivonka define que “el linaje osteoblástico deriva de células madre mesenquimales capaces de diferenciarse en varias células. Este conjunto de células se denotan como osteoblastos progenitores no comprometidos ( $OB_u$ ). Después aparecen los osteoblastos precursores ( $OB_p$ ), los cuales son una composición de varios fenotipos con características similares. Tanto  $OB_u$  como  $OB_p$  tienden a la diferenciación directa o indirectamente. Por último, se generan los osteoblastos activos ( $OB_a$ ), responsables de la formación ósea que se desarrolla proporcionalmente al número de  $OB_a$  [11]” (ver figura 2.7). Una vez completada la formación, los osteoblastos pueden diferenciarse a osteocitos o bien convertirse en células de borde.

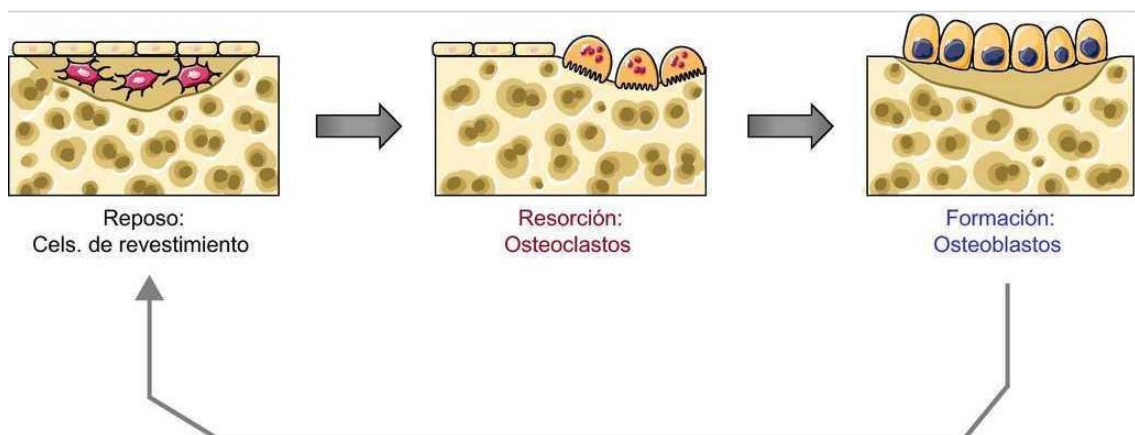


Figura 2.7 Proceso de Remodelación Ósea. Tomada de [17]

Los osteoblastos crean el osteoide (fase orgánica). Además, en el proceso de remodelación ósea es necesario aplicar un estímulo mecánico para la diferenciación de las células. También son responsables de la segregación de RANK-L y son receptores del PTH, del estrógeno y de la vitamina D.

### 2.3.3. Osteocitos

“Noble describe los osteocitos como células no proliferativas derivadas del linaje osteoblástico [18]”. Se encuentran tanto en los osteoides recién formados como en la matriz ósea mineralizada y permanecen encerrados en espacios lagunares de la zona dura del hueso. Estudios más recientes mencionan la posibilidad de que los osteocitos sí tengan la capacidad de moverse e intervengan en algunos procesos.

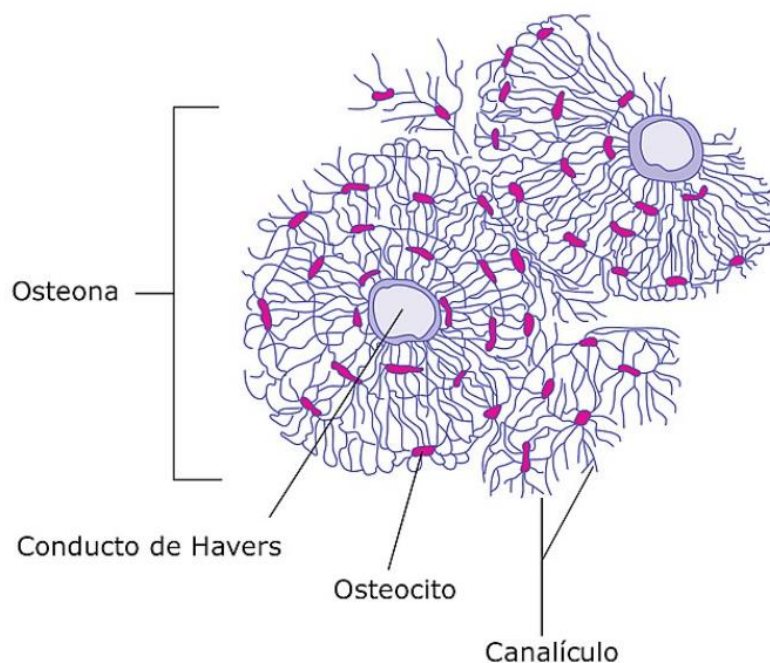


Figura 2.8 Disposición de los osteocitos. Tomada de [31]

Los osteocitos representan más del 90% de las células óseas. Derivan del linaje osteoblástico, componiéndose de los osteoblastos que quedan atrapados en la matriz ósea. En la diferenciación se estiran de forma que las ramificaciones ocupen túneles en la matriz conocidos como canalículos (ver figura 2.8).

Este tipo de células tienen la función de mantener el hueso. Para ello, si algo falla envían una señal a las células de borde que a su vez activan la remodelación.

### 2.3.4. Células de borde

Las células de borde, al igual que ocurre con los osteocitos, provienen de osteoblastos que tras segregar osteoides cubren la superficie del hueso cambiando su forma a otra más plana y alargada. Su función es la de proteger la matriz ósea de agentes químicos presentes en la sangre, capaces de disolver el mineral, así como mantener la

comunicación con los osteocitos. Estas células las constituyen receptores de hormonas y otros indicadores que permiten conocer la necesidad de iniciar la remodelación ósea.

Antes de dar comienzo el proceso de remodelación ósea las células de borde deben retirarse de la superficie para que los osteoclastos puedan actuar y disolver la matriz ósea. Esta tarea la realizan formando un conducto con los vasos cercanos.

## **2.4. Unidad multicelular básica (BMU)**

Pivonka describe que “la Unidad Multicelular Básica (BMU) es un grupo celular encargado de la renovación del tejido óseo. Para realizar su función existe un balance entre la resorción ósea y la formación, conocido como homeostasis [23]”.

La BMU engloba a las células responsables del proceso de remodelación ósea. El conjunto de los osteoblastos, los osteoclastos, los osteocitos y las células de borde son los que conforman esta unidad. Una Unidad Multicelular Básica se encarga de activar las células implicadas en la remodelación, de la resorción del tejido óseo y de la posterior formación de hueso nuevo.

## **2.5. Remodelación ósea**

### **2.5.1. Definición**

La remodelación ósea es el proceso a partir del cual se renueva el esqueleto de los seres vivos. Se suele producir como respuesta a un estímulo del tejido óseo que puede ser provocado por una lesión. No obstante, el esqueleto también se remodela periódicamente. Komarova define que “la remodelación ósea es el proceso coordinado que involucra grupos de células trabajando conjuntamente en la estructura de BMU [12]”.

Resumidamente, se puede caracterizar el proceso completo de remodelación como una diferenciación de osteoclastos de sus precursores para la posterior resorción del hueso. Después, ocurre la diferenciación de osteoblastos respecto a sus precursores y la formación de nuevo tejido óseo. En un hueso sano la cantidad de hueso resorbido por los osteoclastos y creado por los osteoblastos debería permanecer en equilibrio para completar la remodelación ósea adecuadamente. Enfermedades como el mieloma múltiple objeto de estudio provocan alteraciones en la renovación ósea, siendo mayor la proporción de hueso resorbido que la de hueso formado.

### **2.5.2. Regulación del remodelado óseo**

El remodelado óseo se ha simplificado hasta el momento como diferenciación de osteoclastos y osteoblastos para la resorción y formación de hueso. De esta forma se ha reducido lo máximo posible el concepto de remodelación ósea. En este proceso intervienen una serie de hormonas que regulan el proceso. Estas son la señalización

RANK/RANKL/OPG, la TGF- $\beta$  y la PTH. Este modelo es inicialmente propuesto por Lemaire en el que se explica que “la interacción entre las células óseas se representa por las reacciones cinéticas de las moléculas anteriormente citadas, capaces de adaptar el sistema para la activación o diferenciación de osteoclastos y osteoblastos [27]”. Posteriormente, Pivonka estudia el efecto que tiene la producción de RANK/RANKL/OPG en el linaje osteoblástico y el comportamiento que tendría el hueso ante un posible tratamiento para equilibrar la remodelación ósea.

A partir del análisis de Pivonka [11] vamos a analizar las cinco moléculas que se han mencionado como involucradas en la remodelación ósea. La señalización RANK/RANKL/OPG fue descubierta al final de los años 90 como un factor directamente implicado en la necrosis tumoral.

- RANKL: Es el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa beta (NF- $\kappa\beta$ ). Se trata de una proteína que se encuentra en la superficie de las células pertenecientes al linaje osteoblástico.
- RANK: Es el receptor activador del factor nuclear kappa beta (NF- $\kappa\beta$ ), lo que implica que interactúa con el ligando RANKL. Aparece en la superficie de las células precursoras y promueve el desarrollo de osteoclastos.
- OPG: La osteoprotegerina es la encargada de regular la interacción entre RANKL y RANK. Esta proteína es producida por las células estromales y por los osteoblastos. Se comporta enlazándose a RANKL y así evitando que RANKL se una a RANK. Mediante esta interacción se promueve la apoptosis de osteoclastos y su consiguiente disminución.

Además de la señalización RANK/RANKL/OPG también intervienen en el proceso de remodelación ósea la hormona PTH y el factor TGF- $\beta$ .

- PTH: La hormona paratiroidea estimula de forma indirecta la formación de osteoclastos a través de los osteoblastos, lo que implica el desarrollo de la resorción ósea. Su funcionamiento consiste en enviar señales a las células del linaje osteoblástico que promueven la formación de RANKL. A su vez, el PTH provoca que existan valores decrecientes de OPG.
- TGF- $\beta$ : El factor de crecimiento se encuentra almacenado en la matriz ósea. Durante la resorción de la matriz ósea por los osteoclastos activos el TGF- $\beta$  se libera al microambiente de los BMU, actuando como un agente autorregulador de las células óseas. Su efecto en los osteoblastos varía según el punto de maduración en el que se encuentren. Por norma general, el TGF- $\beta$  estimula la diferenciación de  $OB_u$  e inhibe la de  $OB_p$ . Además, promueve la apoptosis de osteoclastos.

Conocidos los conceptos anteriores se podrían simplificar en la figura 2.9.

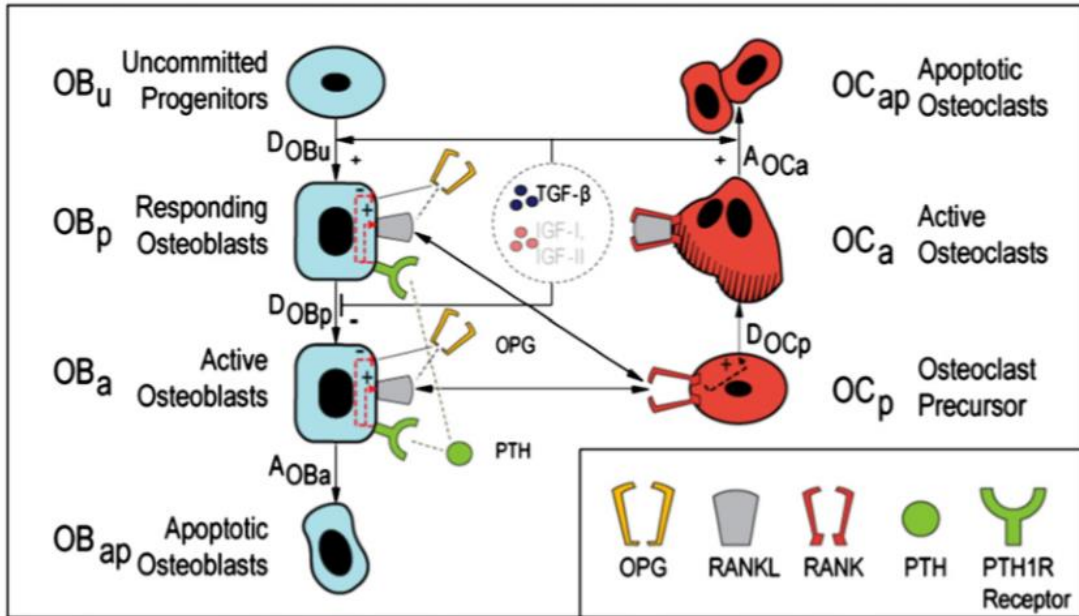


Figura 2.9 Desarrollo de la Remodelación Ósea. Tomada de [11]



## 3. Modelos de Remodelación Ósea

---

Vamos a detallar algunos de los modelos matemáticos más relevantes que permiten comprender el desarrollo utilizado para plantear nuestro modelo de remodelación ósea. Para ello, se estudiará el modelo de remodelación ósea en un hueso sano (modelo de Komarova 2003) [12], a partir del cual se han ido desarrollando nuevos modelos. Posteriormente se explicará el modelo de Pivonka (2008) [11] junto con la ampliación del modelo de 2013 en el que se introduce el concepto de la señalización RANK/RANKL/OPG y la influencia de PTH y TGF- $\beta$  [23]. A continuación, se analizará la influencia del mieloma múltiple a través del modelo de Koenders y Saso (2016) [25]. Finalmente, se desarrollará el modelo de Coelho (2016) [26] en el que se estudia la remodelación ósea afectada por el mieloma múltiple y tratado con medicamentos anti-resortivos.

De cara al planteamiento posterior de nuestro modelo cobrarán vital importancia los modelos de Pivonka y de Coelho. En base a ellos realizaremos los cálculos del proceso y efectuaremos las modificaciones pertinentes.

Con el fin de facilitar la comprensión utilizaremos para todos los modelos la misma nomenclatura, que se detalla en el Anexo A.

### 3.1. Modelo de Komarova (2003)

#### 3.1.1. Descripción

Se formula un modelo matemático que describe la dinámica de las células óseas considerando el número de osteoclastos y osteoblastos como una BMU.

En el planteamiento del modelo se asume que las células tienen la capacidad de interactuar entre ellas promoviendo la activación de forma autocrina (la sustancia actúa sobre la misma célula que la produce para regular su secreción) o paracrina (la transmisión ocurre entre dos células adyacentes donde una de las células secreta la sustancia y modifica la función de su célula vecina). Se añade que tanto los osteoclastos como los osteoblastos pueden producir factores bioquímicos con capacidad de activar o inhibir tanto la producción propia como la de otras células. No obstante, se acepta la simplificación de que los factores autocrino y paracrino son los únicos que regulan la producción de osteoclastos y osteoblastos.

Otro factor a tener en cuenta es que la concentración de factores locales depende del número de células donantes en cualquier momento.

Por último, a partir de un sistema de ecuaciones diferenciales se puede establecer que tanto la resorción como la formación óseas son proporcionales al número de osteoclastos y osteoblastos por encima de un cierto estado nominal.

### 3.1.2. Ecuaciones

El comportamiento dinámico de las poblaciones celulares se puede construir con las siguientes ecuaciones diferenciales utilizando la nomenclatura explicada:

$$\frac{dOC}{dt} = P_{OC}OC^{g_{CC}}OB^{g_{CB}} - A_{OC}OC \quad (3.1)$$

$$\frac{dOB}{dt} = P_{OB}OC^{g_{BC}}OB^{g_{BB}} - A_{OB}OB \quad (3.2)$$

$$\frac{dz}{dt} = -k_{res}OC_a + k_{form}OB_a \quad (3.3)$$

Siendo:

$$OC_a = \begin{cases} OC_a - \overline{OC_a} & \text{si } OC_a > \overline{OC_a} \\ 0 & \text{si } OC_a \leq \overline{OC_a} \end{cases} \quad (3.4)$$

$$OB_a = \begin{cases} OB_a - \overline{OB_a} & \text{si } OB_a > \overline{OB_a} \\ 0 & \text{si } OB_a \leq \overline{OB_a} \end{cases} \quad (3.5)$$

En la ecuación (3.1), evolución temporal de los osteoclastos, el primer término determina la proliferación de los osteoclastos y el segundo término la apoptosis. Para la ecuación (3.2) se calcula la evolución temporal de los osteoblastos siendo el primer término la proliferación de los osteoblastos y el segundo la apoptosis. Por último, en la evolución de z, el primer término determina la tasa de resorción por parte de los osteoclastos mientras que el segundo es la formación por los osteoblastos.

### 3.1.3. Resultados

Los parámetros iniciales del modelo se han estimado utilizando datos experimentales obtenidos mediante análisis histométrico. En dicho análisis se estima que en la iniciación de la resorción ósea de hueso trabecular se diferencian entre 10 y 20 osteoclastos. Después intervienen aproximadamente 2000 osteoblastos encargados de regenerar el hueso.

Como valores iniciales se han tomado  $A_{OC} = 0,2 \text{ días}^{-1}$ ;  $A_{OB} = 0,02 \text{ días}^{-1}$ ;  $g_{CC} = 0,5$ ;  $g_{CB} = -0,5$ ;  $g_{BC} = 1$ ;  $g_{BB} = 0$ ;  $P_{OC} = 3 \text{ células/día}$ ;  $P_{OB} = 4 \text{ células/día}$ ;  $k_{res} = 0,24 \text{ \%/(célulasdía)}$  y  $k_{form} = 0,0017 \text{ \%/(célulasdía)}$ . Tomando estos valores iniciales se plantea un sistema que itere mediante el método de Runge-Kutta hasta alcanzar la estabilidad.

Las gráficas de la figura 3.1 muestran cómo el sistema es más sensible a la resorción ósea mediante los osteoclastos que actúan rápidamente. Mientras tanto, los osteoblastos son menos activos y su evolución ocurre más lentamente.

En resumen, para mantener el modelo de remodelación ósea en equilibrio entre el hueso resorbido y el formado será necesaria una mayor cantidad de osteoblastos que de osteoclastos.



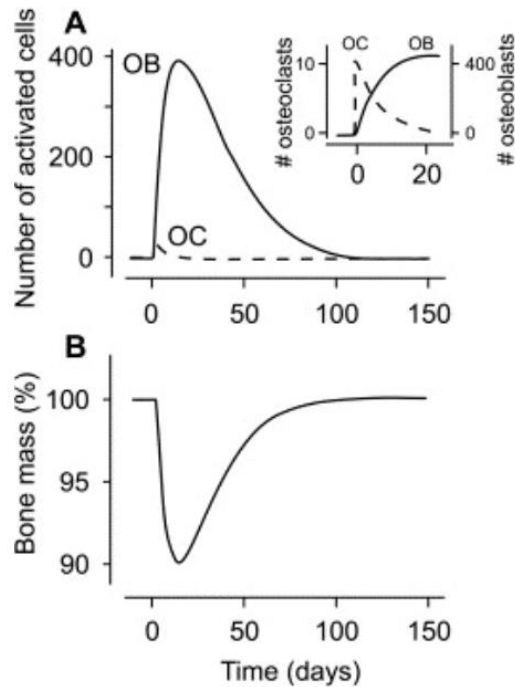


Figura 3.1 Evolución de los osteoclastos y los osteoblastos. Tomada de [12]

## 3.2. Modelo de Pivonka (2008)

Es el modelo inicial en el que se basa nuestro planteamiento matemático. A partir de este modelo Pivonka ha ido introduciendo nuevos estudios y ecuaciones que permiten obtener un sistema de ecuaciones que se aproxime más a un estado real.

### 3.2.1. Descripción

El modelo de Pivonka explica la remodelación ósea como el proceso continuo de resorción y formación que se desarrolla en el esqueleto de los vertebrados. Según el modelo, los encargados de la remodelación son los osteoblastos (células responsables de la formación) y los osteoclastos (células centradas en la resorción). Estos trabajan conjuntamente en BMUs.

Se desarrolla el modelo partiendo de las ecuaciones planteadas por Komarova y de la señalización RANK/RANKL/OPG de Lemaire (ver figura 3.2).

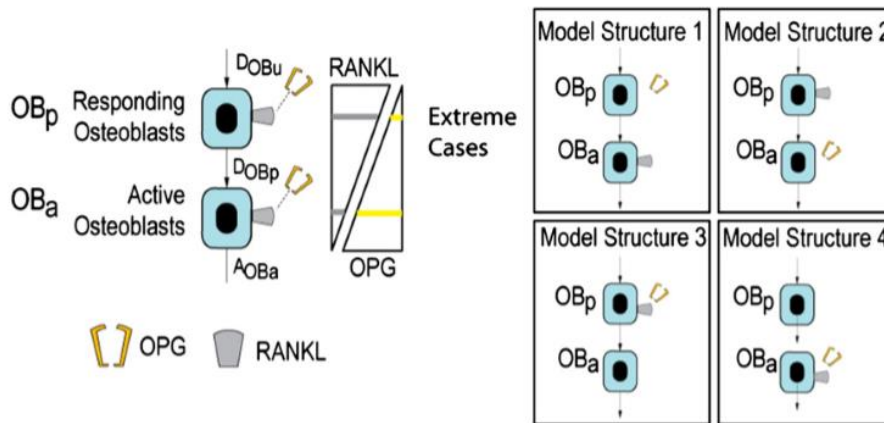


Figura 3.2 Influencia de RANKL y OPG sobre los osteoblastos. Tomada de [11]

Los conceptos incorporados al modelo son los siguientes:

- Una ecuación de velocidad que describa los cambios en el volumen óseo.
- Una ecuación de velocidad que describa la concentración de TGF- $\beta$  como función del volumen óseo resorbido.
- Las expresiones de RANKL y de OPG en células osteoblásticas en distintas etapas de la maduración.
- Funciones de activación y represión basadas en la cinética de enzimas.

### 3.3. Modelo de Pivonka (2013)

En el modelo de Pivonka de 2013 se amplía el desarrollo matemático introducido en 2008. Se hace referencia a múltiples BMUs que forman parte de un volumen finito de hueso. Se diseña inicialmente un sistema entorno a un estado de equilibrio para posteriormente perturbar ciertos parámetros y comprobar cómo se comporta el modelo ante dichas perturbaciones. Además, se introduce el concepto de balance óseo, definido como la diferencia entre la resorción y la formación óseas.

Este modelo trata de realizar una simulación aproximada del funcionamiento celular empleando así 4 tipos de células del linaje osteoblástico y tres tipos de células del linaje osteoclástico. También se incluye el efecto de TGF- $\beta$  en los huesos, así como los factores de la señalización RANKL/RANK/OPG. Tanto RANKL como OPG pueden aparecer en los osteoblastos activos y en los precursores.

### 3.3.1. Caracterización del hueso

Pivonka describe cómo el esqueleto tiene distintas estructuras según el hueso del que se trate y hace una clara diferencia entre el hueso cortical (con porosidades entre 0,05 y 0,15) y el hueso trabecular (con porosidades entre 0,65 y 0,85).

La dureza del hueso viene definida principalmente por la porosidad vascular ( $f_{vas}$ ) y la superficie específica ( $S_V$ ). La relación existente entre la superficie ósea y la remodelación basa su teoría en los estudios de Martin que en la investigación de la osteoporosis dijo que: “En el hueso cortical, el incremento de la porosidad proporciona mayor superficie en la que las células puedan trabajar, aumentando la capacidad de más cambios de porosidad. En el hueso trabecular, el incremento de porosidad disminuye la cantidad de superficie disponible para las células, disminuyendo la capacidad de continuar la remodelación [28]”.

#### 3.3.1.1. Porosidad vascular

La porosidad vascular ( $f_{vas}$ ), en el hueso cortical, corresponde al sistema formado por el canal de Havers; mientras que en el hueso trabecular hace referencia al espacio medular alrededor de las estructuras trabeculares. Se define como la fracción volumétrica de poros vasculares ( $V_{vas}$ ) por volumen de tejido ( $V_T$ ). Matemáticamente:

$$f_{vas} = \frac{V_{vas}}{V_T} \quad (3.6)$$

Otro concepto similar a la porosidad vascular y de utilidad de cara a analizar el comportamiento del hueso ante el estímulo es el de fracción volumétrica de matriz ósea ( $f_{bm}$ ). Se mide como el cociente entre el volumen de matriz ósea ( $V_{bm}$ ) y el volumen de tejido.

$$f_{bm} = \frac{V_{bm}}{V_T} \quad (3.7)$$

#### 3.3.1.2. Superficie específica

Se define la superficie específica de un material poroso ( $S_V$ ) como el área de los poros de la superficie intersticial ( $S_p$ ) por volumen de tejido, en  $\text{mm}^2/\text{mm}^3$ .

$$S_V = \frac{S_p}{V_T} \quad (3.8)$$

A partir de datos experimentales Martin establece una relación entre la superficie específica y la porosidad vascular. Dicha relación se representa por la siguiente ecuación:

$$S_V(f_{vas}) = af_{vas} + bf_{vas}^2 + cf_{vas}^3 + df_{vas}^4 + ef_{vas}^5 \quad (3.9)$$

Donde los coeficientes adquieren los valores:  $a = 32,3$ ;  $b = -93,9$ ;  $c = 134$ ;  $d = -101$  y  $e = 28,8$  medidos todos en  $\text{mm}^{-1}$ .

### 3.3.2. Ecuaciones diferenciales

El modelo de Pivonka se desarrolla con el siguiente sistema de ecuaciones que representan el comportamiento con el tiempo de  $OB_p$ ,  $OB_a$ ,  $OC_p$  y  $OC_a$ , respectivamente. En el planteamiento de nuestro modelo explicaremos en detalle los términos implicados en estas ecuaciones.

$$\frac{d}{dt} OB_p = \left\{ g_{OB_u}(S_V) D_{OB_u} \pi_{act,OB_u}^{TGF\beta} \right\} OB_u + \left\{ P_{OB_p} \pi_{act,OB_p}^{\psi_{bm}} \right\} OB_p - \left\{ g_{OB_p}(S_V) D_{OB_p} \pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} \right\} OB_p \quad (3.10)$$

$$\frac{d}{dt} OB_a = \left\{ g_{OB_p}(S_V) D_{OB_p} \pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} \right\} OB_p - A_{OB_a} OB_a \quad (3.11)$$

$$\frac{d}{dt} OC_p = \left\{ g_{OC_u}(S_V) D_{OC_u} \pi_{act,OC_u}^{MCSF} \right\} OC_u - \left\{ g_{OC_p}(S_V) D_{OC_p} \pi_{act,OC_p}^{RANKL} \right\} OC_p \quad (3.12)$$

$$\frac{d}{dt} OC_a = \left\{ g_{OC_p}(S_V) D_{OC_p} \pi_{act,OC_p}^{RANKL} \right\} OC_p + \left\{ A_{OC_a} \pi_{act,OC_a}^{TGF\beta} \right\} OC_a \quad (3.13)$$

Partiendo de esas ecuaciones es importante conocer el significado de algunos de los términos incluidos en ellas.

$D_{OB_u}$ ,  $D_{OB_p}$ ,  $D_{OC_u}$  y  $D_{OC_p}$  denotan la tasa de diferenciación para los osteoblastos progenitores, para los osteoblastos precursores, para los osteoclastos progenitores y para los osteoclastos precursores, respectivamente.  $P_{OB_p}$  es la tasa de proliferación de los osteoblastos precursores, mientras que  $A_{OB_a}$  y  $A_{OC_a}$  son las tasas de apoptosis de los osteoblastos activos y de los osteoclastos activos.

A través de las funciones activadoras y represoras se controla la diferenciación o la apoptosis. Dichas funciones se conocen como funciones de Hill y se analizarán en detalle más adelante. Pivonka introduce por primera vez este concepto en 2008 y lo desarrolla en profundidad a lo largo de sus trabajos posteriores. En el modelo de Pivonka que se estudia en este apartado se realiza una introducción sobre la formulación básica para así comprender desarrollos más complejos.

### 3.3.3. Funciones de activación y de represión

Las funciones de Hill empleadas en el modelo representan la relación con la respuesta del ligando. Como introducción se diferencia entre funciones de activación y funciones de represión.

La función de activación es:

$$\pi_{act,A}^L = \frac{L}{L+k_A^L} \quad (3.14)$$

La función de represión es:

$$\pi_{rep,A}^L = 1 - \pi_{act,A}^L = \frac{1}{L+k_A^L} \quad (3.15)$$

Siendo  $\pi_{act,A}^L$  la fracción de los receptores de la célula A que permanecen unidos al ligando L y  $k_A^L$  la constante de disociación entre el ligando y el receptor en la célula.

### 3.3.3.1. Funciones basadas en TGF- $\beta$

En las ecuaciones diferenciales mostradas para este modelo aparecían las funciones  $\pi_{act,OB_a}^{TGF\beta}$ ,  $\pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta}$  y  $\pi_{act,OC_a}^{TGF\beta}$  que se encargan de regular la diferenciación y la apoptosis influidos por la proteína TGF- $\beta$ .

Para la formulación de cada una de las funciones se emplea la misma estructura indicada para las funciones de Hill de activación y de represión.

Así, se tiene:

$$\pi_{act,OB_a}^{TGF\beta} = \frac{TGF\beta}{TGF\beta + k_{OB_a}^{TGF\beta}} \quad (3.16)$$

Esta función representa la fracción de receptor de  $OB_a$  que se une a la proteína TGF- $\beta$  favoreciendo la apoptosis de  $OB_a$ .

La función que representa la fracción de receptor de  $OB_p$  que se une a TGF- $\beta$  favoreciendo la diferenciación de osteoblastos precursores en osteoblastos activos es:

$$\pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} = \frac{1}{TGF\beta + k_{OB_p}^{TGF\beta}} \quad (3.17)$$

Finalmente, la función que representa la fracción de receptor de  $OC_a$  que se une a TGF- $\beta$  favoreciendo la apoptosis de  $OC_a$  es:

$$\pi_{act,OC_a}^{TGF\beta} = \frac{TGF\beta}{TGF\beta + k_{OC_a}^{TGF\beta}} \quad (3.18)$$

### 3.3.3.2. Funciones basadas en MCSF

La función  $\pi_{act,OC_u}^{MCSF}$  regula la diferenciación de  $OC_u$  en  $OC_p$  basándose en la concentración del factor estimulador de colonias de macrófagos.

Matemáticamente:

$$\pi_{act,OC_u}^{MCSF} = \frac{MCSF}{MCSF + k_{OC_u}^{MCSF}} \quad (3.19)$$

### 3.3.3.3. Funciones basadas en RANKL

De forma similar a lo ocurrido en los apartados anteriores, las funciones  $\pi_{act,OC_u}^{RANKL}$  y  $\pi_{act,OC_p}^{RANKL}$  son funciones reguladoras de la diferenciación de osteoclastos basadas en la concentración de RANKL. Además, Pivonka acepta la simplificación de que estas ecuaciones son equivalentes.

Matemáticamente, la primera función se expresa:

$$\pi_{act,OC_u}^{RANKL} = \frac{RANKL}{RANKL + k_{OC_u}^{RANKL}} \quad (3.20)$$

La segunda función se escribe:

$$\pi_{act,OC_p}^{RANKL} = \frac{RANKL}{RANKL + k_{OC_p}^{RANKL}} \quad (3.21)$$

### 3.3.3.4. Funciones basadas en PTH

Por último, las funciones  $\pi_{act,OB}^{RANKL}$  y  $\pi_{rep,OB}^{RANKL}$  son funciones reguladoras de la diferenciación de osteoblastos basadas en la concentración de PTH. La primera expresión representa la fracción de receptor de OB unida a PTH para incrementar RANKL. La segunda es la fracción de receptor de OB asociada a PTH para reducir la diferenciación de osteoblastos precursores a activos.

Matemáticamente se expresan, respectivamente:

$$\pi_{act,OB}^{PTH} = \frac{PTH}{PTH + k_{OB}^{PTH}} \quad (3.22)$$

$$\pi_{rep,OB}^{PTH} = \frac{1}{PTH + k_{OB}^{PTH}} \quad (3.23)$$

### 3.3.4. Cambios de porosidad debidos a la actividad celular

La actividad de los osteoclastos y osteoblastos modifica el volumen de fracción ósea existente en el tejido. En el proceso de remodelación, el osteoblasto deposita osteoide en el hueso para que se mineralice y forme nuevo tejido óseo. Este proceso se desarrolla siguiendo la siguiente ecuación:

$$\frac{d}{dt} f_{vas} = -\frac{d}{dt} f_{bm} = -k_{form} OB_a + k_{res} OC_a \quad (3.24)$$

### 3.3.5. Resultados

En la obtención de los resultados del modelo se han considerado unos valores iniciales de porosidad cortical y trabecular, siendo  $f_{vas}^{cort} = 0,05$  y  $f_{vas}^{trab} = 0,75$ . Además, la tensión uniaxial de compresión aplicada ha sido de  $-30$  MPa. Se observa en la figura 3.3 que un incremento de  $f_{vas}$  está asociado en todo momento a una reducción de las propiedades de rigidez ósea.

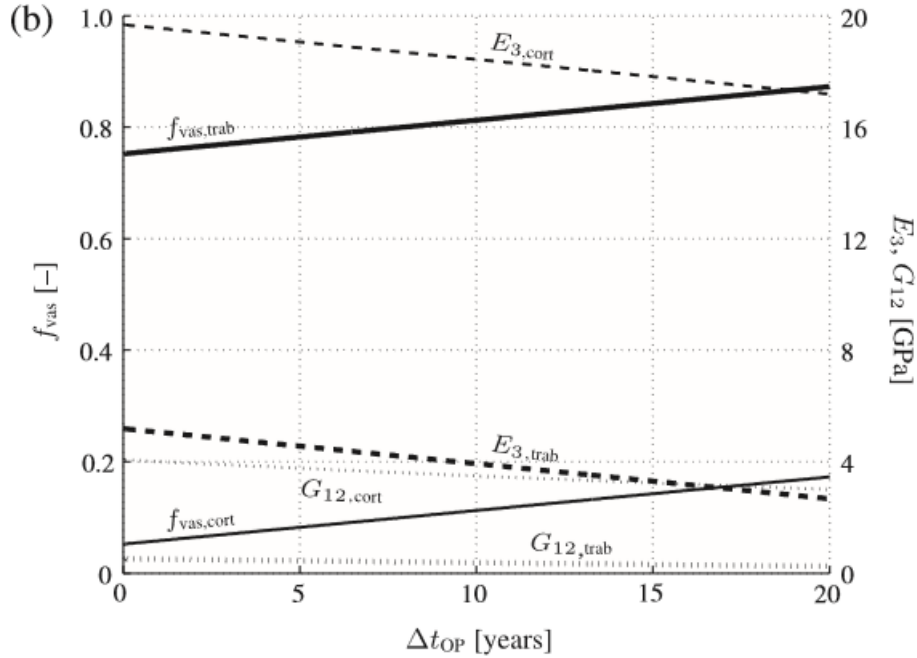


Figura 3.3 Relación entre la porosidad vascular y la rigidez ósea. Tomada de [23]

De cara a presentar como afecta cada parámetro exponencial al modelo matemático se va modificando cada uno de ellos manteniendo el resto invariables para después analizarlos en conjunto. Los factores que se estudian son  $g_{OB_u}$ ,  $g_{OB_p}$ ,  $g_{OC_u}$  y  $g_{OC_p}$ . En la figura 3.4 se representa la influencia en cada uno de los parámetros.

En el caso (a) se refleja la influencia de  $g_{OB_u}$  en el incremento de la porosidad vascular. En un hueso cortical su presencia reduce la pérdida de masa ósea mientras que en el trabecular la acelera. El efecto en la regulación está controlado por  $k_{OB_u}$ , siendo la influencia que tiene elevada si permanece en el rango  $0,3 \leq k_{OB_u} \leq 1$  y más moderada si se encuentra en  $0 \leq k_{OB_u} \leq 0,2$ .

En el caso (b) se refleja la influencia de  $g_{OB_p}$  en el incremento de la porosidad vascular. La superficie específica no afecta apenas a la diferenciación de los osteoblastos precursores en osteoblastos activos. En resumen, la variación de  $g_{OB_p}$  no afecta significativamente ni a la cantidad de osteoclastos activos ni a la de osteoblastos activos.

En el caso (c) se refleja la influencia de  $g_{OC_u}$  en el incremento de la porosidad vascular. En un hueso cortical el aumento del factor de regulación implica un incremento de la

pérdida de masa ósea y un incremento de la presencia de osteoblastos. Para un hueso trabecular el factor de regulación disminuye la resorción.

En el caso (d) se refleja la influencia de  $g_{OC_p}$  en el incremento de la porosidad vascular. Al igual que ocurría en la situación (a) en un hueso cortical su presencia reduce la pérdida de masa ósea mientras que en el trabecular la acelera.

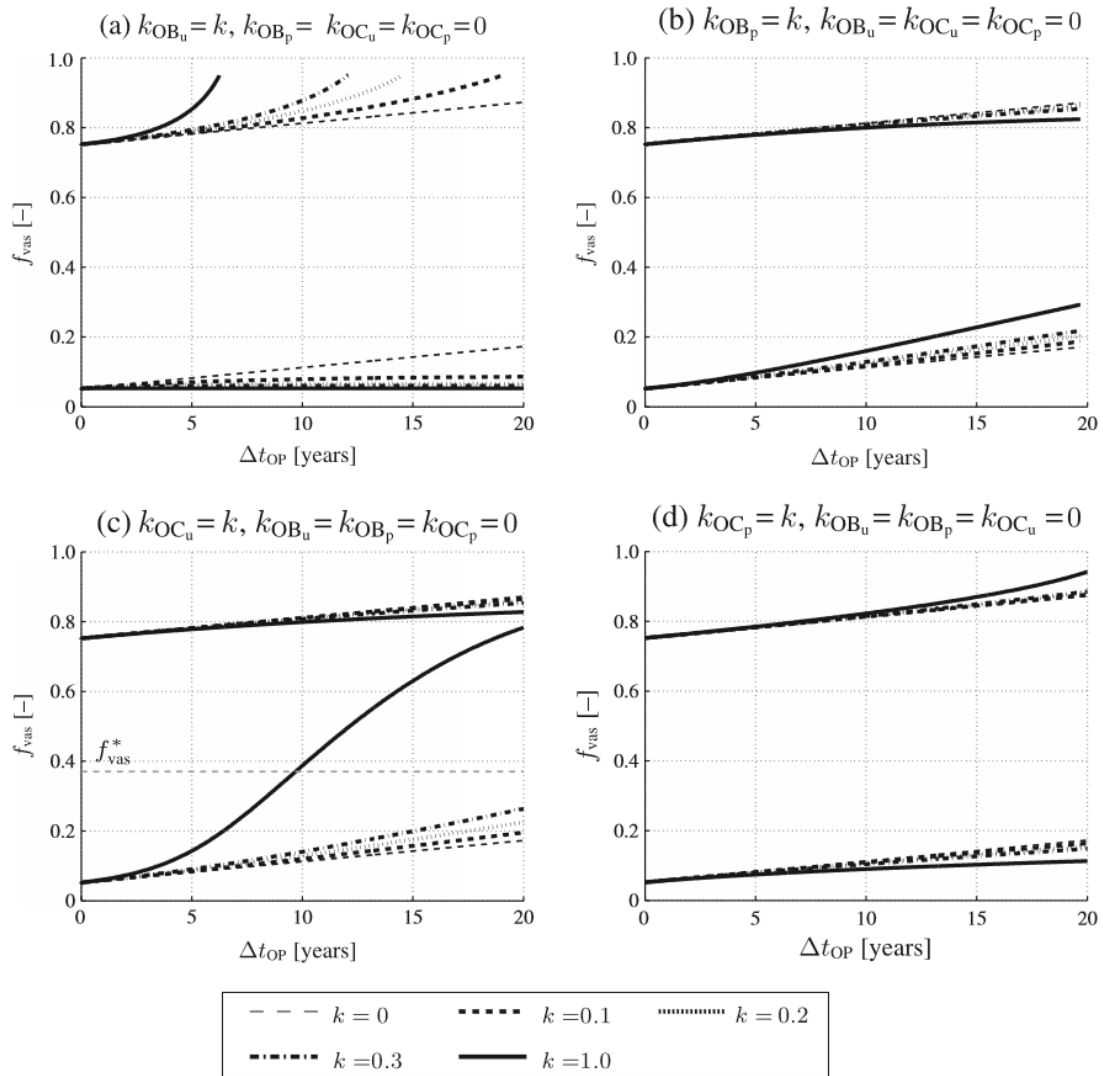


Figura 3.4 Influencia de la regulación geométrica en el incremento de la porosidad vascular. Tomada de [23]

### 3.3.6. Inclusión de la mineralización Martínez Reina (2017)

A partir de este modelo Martínez Reina propone la inclusión de la mineralización como una consideración adicional en el proceso de remodelación ósea [10].

Durante la mineralización el osteoide formado es depositado por los osteoblastos. Este, a su vez, está compuesto por agua y colágeno, solidificándose parte de esa agua como cristales de hidroxiapatita.



A lo largo del proceso se establecen tres etapas:

- En la primera etapa, conocida como tiempo de retraso de la mineralización, no hay aún deposición de mineral y puede durar entre 6 y 22 días.
- En la segunda etapa se completa el 70% del contenido mineral de forma rápida.
- Por último, en la tercera etapa el mineral se incorpora cada vez más lentamente hasta alcanzar el 95% del contenido mineral del hueso.

Se puede resumir que el volumen de fase orgánica permanece constante después de la formación del hueso pero que el volumen de agua se transforma parcialmente en volumen de mineral.

De cara al planteamiento del modelo se introduce la mineralización con el concepto de fracción volumétrica de mineral (VM).

A partir de esta se obtienen la fracción de ceniza ( $\alpha$ ) desarrollada en el apartado 2.2.2. y la densidad de tejido ( $tis_{dens}$ ). Matemáticamente:

$$\alpha = \frac{3,2*VM}{3,2*VM+1,1*\frac{3}{7}} \quad (3.25)$$

$$tis_{dens} = 2,2 * VM + \frac{0,1*3}{7} + 1 \quad (3.26)$$

Donde los valores que aparecen en las ecuaciones se han obtenido experimentalmente.

Por otro lado, se tiene que los volúmenes de tejido resorbido ( $V_{res}$ ) y formado ( $V_{form}$ ) se obtienen de las siguientes ecuaciones dependientes de las cantidades de osteoclastos activos y de los osteoblastos activos respectivamente.

$$V_{res} = \frac{OC_a * k_{res} * \Delta T}{100} \quad (3.27)$$

$$V_{form} = \frac{OB_a * k_{form} * \Delta T}{100} \quad (3.28)$$

Finalmente, para calcular el valor de la fracción volumétrica de mineral presente en el hueso se plantea un proceso iterativo que va actualizando su valor.

$$VM_i = \frac{VM_{i-1}}{1 - \frac{fvas}{100}} \quad (3.29)$$

Con la inclusión de la mineralización se pretende contemplar la posible variación de la composición ósea y de su volumen más allá de la resorción por parte de los osteoclastos y la formación por los osteoblastos. La proporción de mineral presente en el hueso condiciona la cantidad de tejido óseo que puede ser resorbido por lo que está intrínsecamente relacionado con la remodelación objeto de estudio.

### 3.4. Modelo de Koenders y Saso (2016)

#### 3.4.1. Descripción

El modelo de Koenders y Saso [25] se basa en el estudio de Komarova [12]. Es importante destacar que en el modelo se incluye el efecto que tiene el mieloma múltiple sobre la remodelación ósea. Se plantea el balance entre los osteoclastos, los osteoblastos y las células tumorales. A diferencia del modelo de Komarova en el que se trabaja en todo momento sobre el estado de equilibrio, en este caso se acepta la situación inestable a pesar de que se comienza analizando el hueso sano entorno a unos valores nominales. Se mide la evolución de los osteoblastos, osteoclastos y células tumorales (T) con el tiempo (t).

#### 3.4.2. Ecuaciones

Las interacciones de las células se representan por el siguiente sistema de ecuaciones en el que se ha adoptado una notación similar a la elegida para el modelo de Komarova:

$$\frac{dOC}{dt} = P_{OC}OC^{g_{CC}}OB^{g_{CB}}(1 + h_{OCT}T) - A_{OC}OC \quad (3.30)$$

$$\frac{dOB}{dt} = P_{OB}OC^{g_{BC}}OB^{g_{BB}}(1 + h_{OBT}T) - A_{OB}OB \quad (3.31)$$

$$\frac{dT}{dt} = P_TOC^{g_{TC}}T^{g_{TT}} - A_TT \quad (3.32)$$

El signo de los exponentes del tipo g representa la agudeza de la proliferación (definidos en el Anexo A), indicando un exponente negativo la inhibición y uno positivo la promoción. Los parámetros  $h_{OCT}$  y  $h_{OBT}$  son positivos e indican la creciente sensibilidad a la proliferación en los osteoclastos y la disminución de los osteoblastos debido a la influencia de las células del mieloma. Se pueden analizar los efectos de cada uno de los factores implicados variando los coeficientes y encontrando un estado de equilibrio.

En la ecuación (3.30), evolución temporal de los osteoclastos, el primer término determina la proliferación de los osteoclastos y el segundo término la apoptosis. Lo mismo ocurre para la ecuación (3.31) donde se calcula la evolución temporal de los osteoblastos siendo el primer término la proliferación de los osteoblastos y el segundo la apoptosis. Por último, en la evolución de las células de mieloma, ecuación (3.32) el primer término determina la proliferación de las células tumorales y el segundo su apoptosis.

A continuación se van a indicar los valores que toman los parámetros para el caso de remodelación ósea de un hueso sano. Los exponentes presentarían los siguientes valores:  $g_{CC} = 0,5$ ;  $g_{CB} = -0,5$  y  $g_{BC} = 1$ . Se asume que estos factores permanecen invariables al no afectar el mieloma a la interacción entre los osteoclastos y los osteoblastos. La misma hipótesis de invariabilidad puede aplicarse para las tasas de apoptosis y proliferación, quedando los valores (en células/día):  $P_{OC} = 3$ ;  $P_{OB} = 4$ ;  $A_{OC} = 0,2$  y  $A_{OB} = 0,02$ . Considerando el efecto de las células tumorales se establecen como valores iniciales de los exponentes que faltan los siguientes:  $g_{TC} = g_{TB} = 0$ ;  $g_{TT} = 0,5$ .

Cuando el mieloma permanece en estado latente el número de células tumorales es del orden de 10, mientras que en la etapa sintomática dicho valor asciende a 100.

### 3.4.3. Resultados

Para obtener una primera estimación de los valores de equilibrio se parte de aceptar  $g_{TC} = 0$ . Posteriormente se itera para encontrar los valores exactos del sistema. Durante el tiempo que dura la iteración se debe observar si los resultados presentan un comportamiento exponencial y se establece un rango de valores para el cual el sistema es estable.

El incremento combinado de los parámetros paracrinos asociados al crecimiento de las células tumorales implica un deterioro de la situación de equilibrio. Para que el sistema sea estable el valor del exponente  $g_{TC}$  debe ser más pequeño que los límites de estabilidad representados en los resultados de Koenders y Saso por líneas continuas (ver figura 3.5).

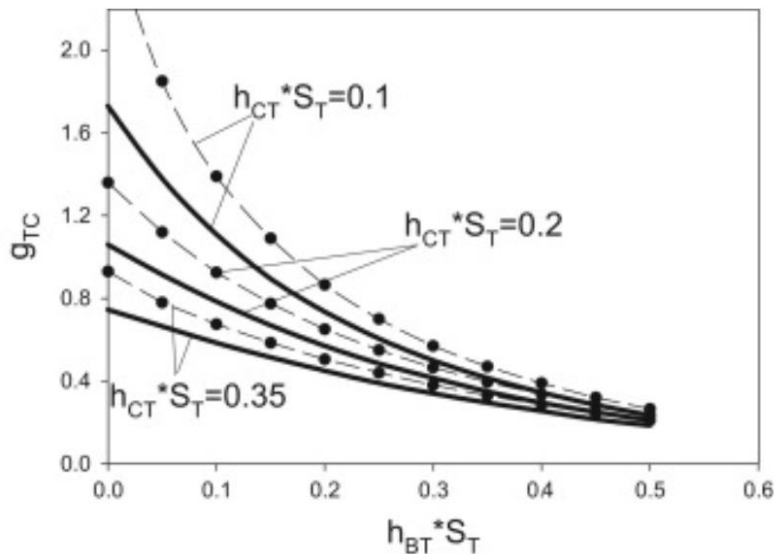


Figura 3.5 Límites de estabilidad. Tomada de [25]

Se observa que a medida que el exponente  $g_{TC}$  se aproxima a los valores de inestabilidad se va reduciendo la población de osteoblastos mientras que aumentan las proporciones de osteoclastos y células cancerígenas respecto al estado de hueso sano (ver figura 3.6).

Si se modificase algún parámetro y el modelo no estuviese afectado por la presencia del tumor se presentaría el resultado de la figura 3.7 donde se tardaría aproximadamente 60 días en volver al estado de equilibrio.

Si por el contrario existieran células tumorales en el sistema y se plantease la misma situación de modificar ligeramente algún parámetro se tardaría algo más de 100 días en retomar el estado de equilibrio (ver figura 3.8).

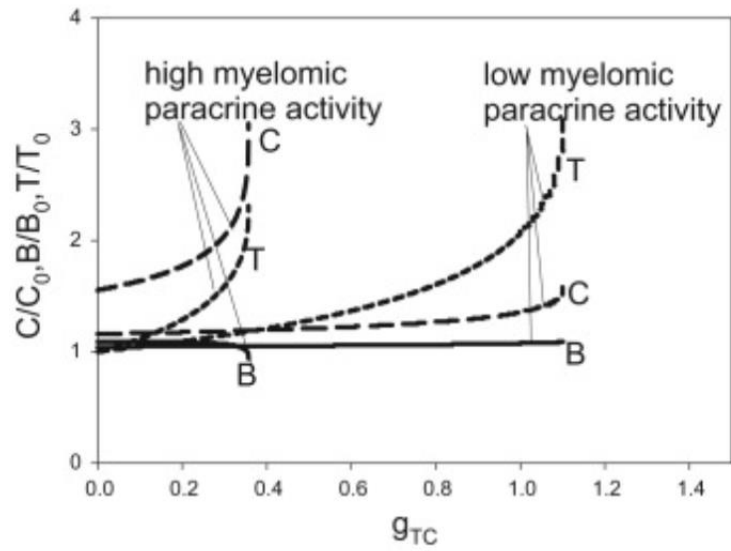


Figura 3.6 Influencia en los osteoclastos, osteoblastos y células tumorales. Tomada de [25]

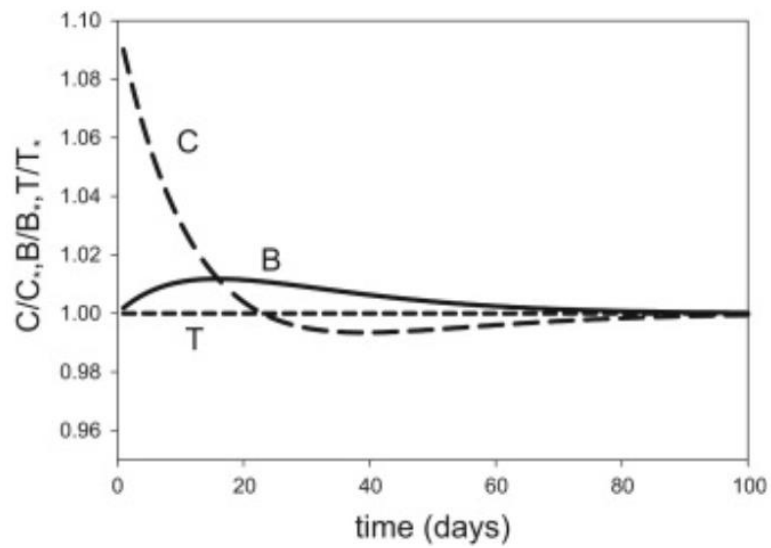


Figura 3.7 Evolución de OC, OB y T sin tumor. Tomada de [25]

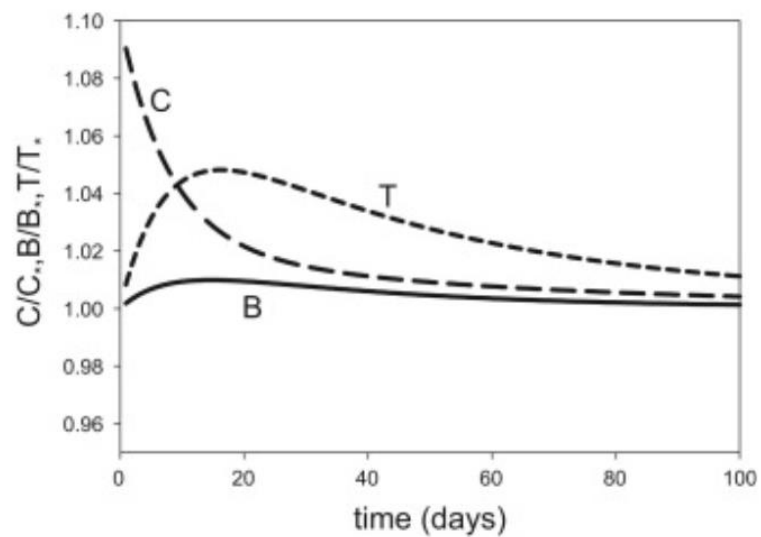


Figura 3.8 Evolución de OC, OB y T con tumor. Tomada de [25]

### 3.5. Modelo de Coelho (2016)

El modelo de Coelho plantea un sistema semejante al de Pivonka con la principal diferencia del tratamiento de la ecuación para las células tumorales. Para ello se basa en los estudios de Komarova, de Lemaire y de Pivonka. La formulación asociada al tumor y las consideraciones realizadas en su tratamiento hacen que este modelo sea de gran importancia para el que planteamos en nuestro trabajo.

#### 3.5.1. Descripción

En este modelo se define el hueso como un tejido dinámico que permanece en constante remodelación. Se establece que el proceso seguido en la remodelación ósea comienza con la diferenciación de los osteoblastos de las MCSF. Posteriormente interviene la hormona PTH, la cual regula la expresión del RANKL que se une a RANK. El conjunto de RANKL y RANK produce la osteoprotegerina (OPG), que se ve reducida por el efecto de PTH.

El proceso de remodelación ósea puede activarse bien por un estímulo mecánico o bien por cambios en el equilibrio entre los parámetros involucrados en el modelo. La acción del PTH sobre las células del linaje osteoblástico provoca la diferenciación y activación de los osteoclastos que se encargan de la resorción. Esta fase es seguida de la formación de hueso que repara los huecos creados en la resorción. Con la influencia de las células cancerígenas se produce una desregulación de la resorción y de la formación, viéndose afectada la remodelación ósea (ver figura 3.9).

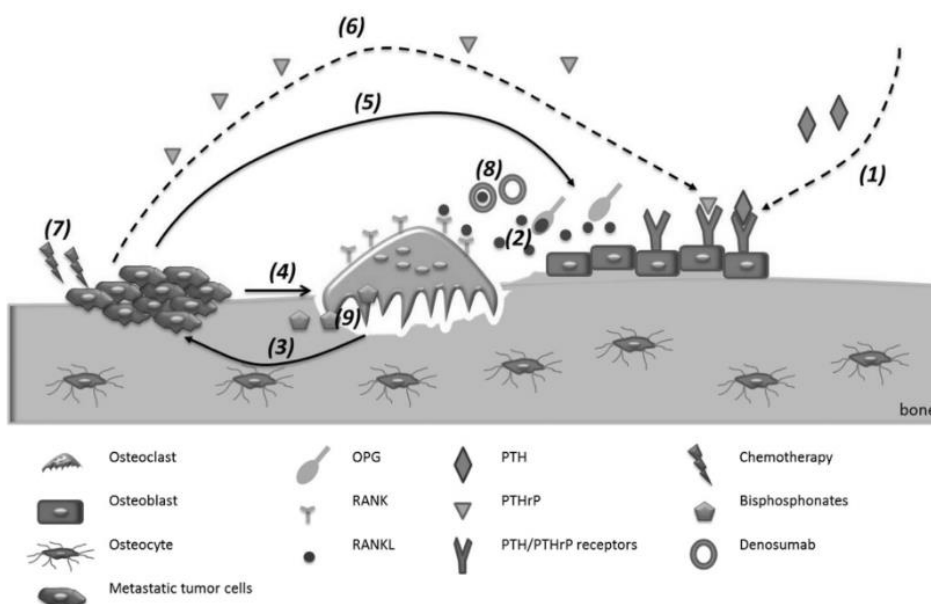


Figura 3.9 Proceso de remodelación ósea. Tomada de [26]

Para el tratamiento de la metástasis ósea se incluyen tratamientos que frenen el deterioro provocado en los huesos por el cáncer. Con este propósito se utiliza el bisfosfonato, que promueve la apoptosis de los osteoclastos reduciendo así la resorción. También se emplea el Denosumab que se une a RANKL.

En resumen, el modelo de Coelho se fundamenta en los tres puntos siguientes:

- La remodelación ósea se inicia con la regulación del PTH.
- La metástasis ósea induce un ciclo entre la resorción y la formación que, afectada por la acción del PTH puede presentar un desequilibrio.
- Se incluyen terapias anticancerígenas y antiresortivas para el tratamiento de la metástasis ósea.

### 3.5.2. Ecuaciones

El modelo de Coelho se representa mediante el siguiente sistema de ecuaciones.

$$\frac{dOC}{dt} = P_{OC}OC^{g_{CC}r_{CC}\frac{T}{L_T}}OB^{g_{BC}K_{PTH_{pool}}BC^{PTH_{pool}}K_{d_1}d_1} - (A_{OC} + K_{d_2}d_2)OC \quad (3.33)$$

$$\frac{dOB}{dt} = P_{OB}OC^{g_{CB}}OB^{g_{BB}+r_{BB}\frac{T}{L_T}} - A_{OB}OB \quad (3.34)$$

$$\frac{dPTH_{pool}}{dt} = -A_{PTH}PTH_{pool} + K_{PTH}\delta + r_{PTHrP}max\{0, OC - OC_{th}\}\frac{T}{L_T} \quad (3.35)$$

$$P = 1 - \exp\left(-\left(\frac{t}{\lambda_W}\right)^{k_W}\right) \quad (3.36)$$

$$\frac{dT}{dt} = k_Tmax\{0, OC - OC_{th}\}\frac{T}{\lambda_T+T} - K_{d_3}d_3T \quad (3.37)$$

$$\frac{dz}{dt} = -k_1max\{0, OC - OC_{th}\} + k_2max\{0, OB - OB_{th}\} \quad (3.38)$$

$$\frac{dOC_{th}}{dt} = P_{OC}OC_{th}^{g_{CC}r_{CC}\frac{T}{L_T}}OB^{g_{BC}-K_{d_1}d_1} - (A_{OC} + K_{d_2}d_2)OC_{th} \quad (3.39)$$

$$\frac{dOB_{th}}{dt} = P_{OB}OC_{th}^{g_{CB}}OB_{th}^{g_{BB}+r_{BB}\frac{T}{L_T}} - A_{OB}OB_{th} \quad (3.40)$$

Mediante estas ecuaciones se observa que la masa ósea,  $z$ , está controlada por el número de osteoclastos y el de osteoblastos. Las tasas de resorción y de formación son proporcionales al número de osteoblastos y osteoclastos activos, representados por los valores máximos de  $max\{0, OC - OC_{th}\}$  y de  $max\{0, OB - OB_{th}\}$ . En el modelo tanto los osteoblastos como los osteoclastos están regulados por los factores exponenciales que controlan su producción y la de las células con las que están en contacto.

Las células tumorales generan un desequilibrio en la remodelación, lo que afecta a los parámetros autocrinos de los osteoclastos y los osteoblastos. Así, con el desequilibrio se promueve el desarrollo de osteoclastos y se inhibe la activación de osteoblastos. Además, el aumento de las células cancerígenas está condicionado por el factor de crecimiento TGF- $\beta$ .

En el modelo también se plantean las ecuaciones farmacocinéticas según las que se rige la administración de los medicamentos para controlar la remodelación ósea. No obstante, no se tendrá en cuenta en este caso la aplicación de tratamientos.

### 3.5.3. Resultados

En el modelo de Coelho, de cara a la obtención de resultados se diferencia entre 3 situaciones posibles: remodelación para hueso sano, remodelación existiendo células tumorales y remodelación con células de mieloma bajo tratamiento.

Los valores iniciales que utiliza Coelho para presentar sus resultados se desarrollan en la tabla 3.1. En esta tabla identificamos cada parámetro, el valor que toma, sus unidades y una pequeña descripción. Aquellos parámetros en los que no se especifica un valor tienen un comportamiento variable en cada simulación que realiza. Al igual que hace Komarova en su modelo, se emplean para medir las concentraciones las células por día en vez de el picomolar (pM) utilizado por Pivonka.

Parámetros empleados		
$P_{OC}$	3 (células*día) <sup>-1</sup>	Tasa de activación de los osteoclastos
$P_{OB}$	4 (células*día) <sup>-1</sup>	Tasa de activación de los osteoblastos
$A_{OC}$	0,2 día <sup>-1</sup>	Tasa de apoptosis de los osteoclastos
$A_{OB}$	0,02 día <sup>-1</sup>	Tasa de apoptosis de los osteoblastos
$g_{CC}$	0,1	Regulador autocrino de los osteoclastos
$g_{BC}$	-1	Regulador paracrino de la influencia de los osteoclastos en los osteoblastos
$g_{CB}$	0,8	Regulador paracrino de la influencia de los osteoblastos en los osteoclastos
$g_{BB}$	0,2	Regulador autocrino de los osteoblastos
$k_1$	0,5 %/(células*día)	Tasa de resorción ósea
$k_2$	0,002 %/(células*día)	Tasa de formación ósea
$K_{PTH}$	1 ng/(L*día)	Tasa de crecimiento de PTH
$\beta_{PTH}$	0,1 día <sup>-1</sup>	Tasa de degradación de PTH/PTHrP
$K_{PTH_{poolBC}}$	1,261 ng/L	Tasa de influencia de PTH/PTHrP en RANKL/OPG
$k_W$	15	Parámetro de Weibull asociado a la forma
$\lambda_W$	300	Parámetro de Weibull asociado al tamaño
$k_T$	1 %/(células*día)	Tasa de crecimiento de la metástasis ósea
$\lambda_T$	10 %	Constante de saturación de la metástasis ósea
$L_T$	100 %	Proporción máxima de la metástasis ósea
$r_{CC}$	0,022	Efecto del tumor en el regulador autocrino de los osteoclastos
$r_{BB}$	-0,198	Efecto del tumor en el regulador autocrino de los osteoblastos
$r_{PTHrP}$	0,0043 ng/(L*célula*día)	Tasa de producción de PTHrP por las células de mieloma
$d_1$	-	Efecto de denosumab
$d_2$	-	Efecto del bifosfonato

$d_3$	-	Efecto de la terapia anticancerígena
$z_0$	100 %	Porcentaje inicial de masa ósea
$PTH_{pool}$	0 ng/L	Concentración inicial de PTH/PTHrP
$T_0$	1 %	Tamaño inicial de la metástasis ósea
$K_{d_1}$	-	Efecto máximo de denosumab
$K_{d_2}$	- día <sup>-1</sup>	Efecto máximo del bifosfonato
$K_{d_3}$	- %/día <sup>-1</sup>	Efecto máximo de la terapia anticancerígena
$OC_{th}$	- células	Valor umbral de los osteoclastos activos
$OB_{th}$	- células	Valor umbral de los osteoblastos activos

Tabla 3.1 Parámetros del modelo de Coelho

En el modelo se explica cómo en presencia de un hueso sano la concentración de PTH aumenta en algunos momentos, modificando el valor de RANKL. Esto provoca un aumento del número de osteoclastos y la iniciación del proceso de remodelación ósea. Después, a medida que PTH vuelve a su valor inicial se retoma el estado de equilibrio, momento en el que se puede asumir que se ha completado la remodelación.

En la figura 3.10 se representa la respuesta del sistema en ausencia de células tumorales y de tratamiento antiresortivo. Al aumentar la producción de RANKL se inicia el ciclo de remodelación y se incrementan el número de osteoclastos y de PTH, provocando la disminución de la masa ósea. A medida que evoluciona la remodelación los valores convergen al estado de equilibrio y se considera que se ha completado el ciclo de remodelación (estos ciclos se observan claramente en la figura en el periodo entre picos).

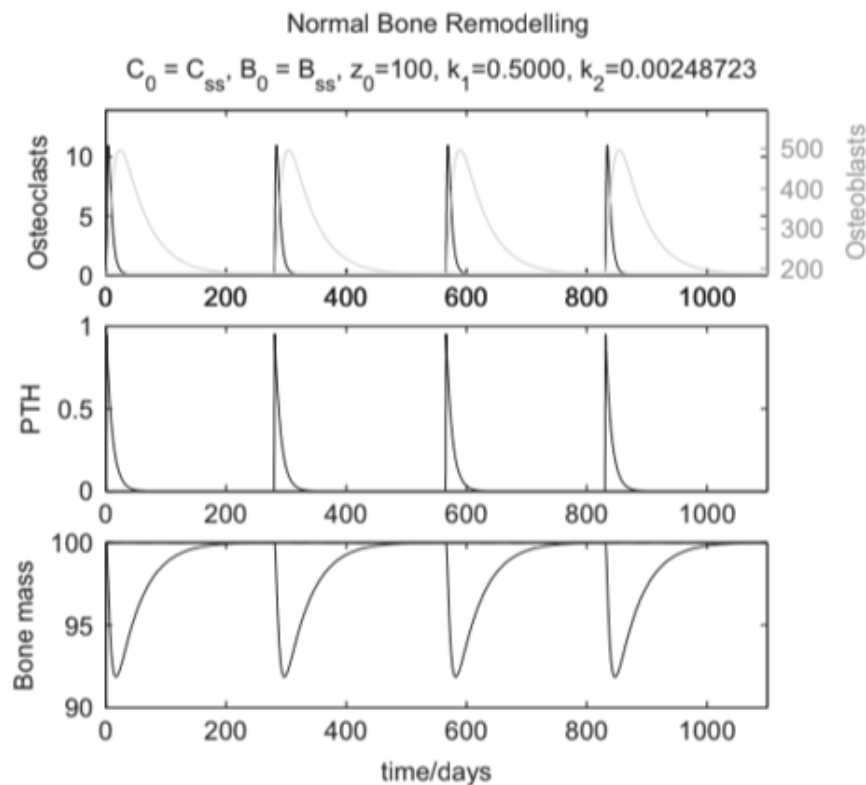
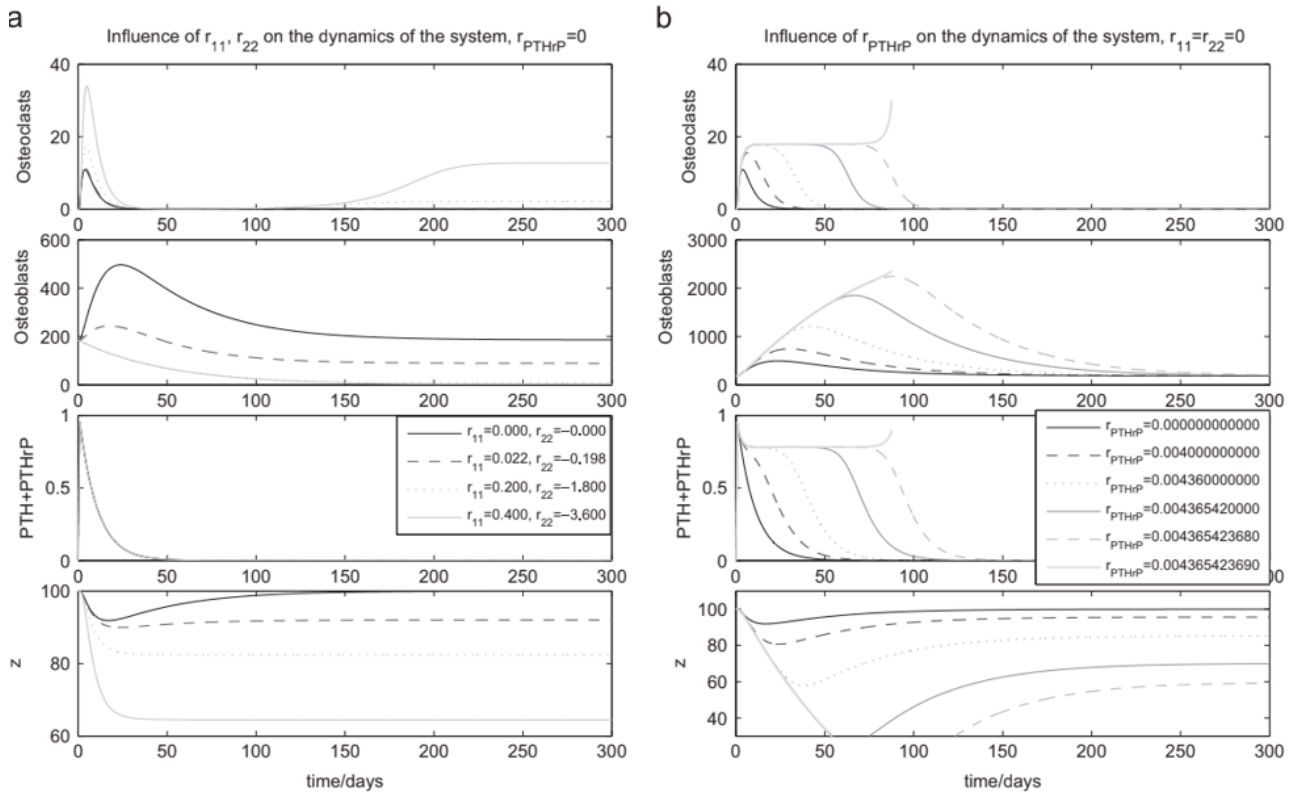


Figura 3.10 Remodelación ósea activada por PTH. Tomada de [26]



Cuando se incluye el efecto de las células tumorales se ve afectada la actividad de las células óseas. El tumor afecta directamente a los parámetros autocrinos y los valores que estos adquieren determinan la estabilidad del sistema. Se comprueba de los resultados que la variable  $r_{PTHrP}$  modifica la duración del ciclo de remodelación. Lo mismo ocurre si se varían los valores de  $r_{CC}$  y  $r_{BB}$ . En las gráficas de la figura 3.11 se puede observar en detalle cómo afectan al modelo la variación de cada parámetro. El caso (a) corresponde a mantener  $r_{PTHrP}$  igual a 0 y modificar los valores de  $r_{CC}$  y  $r_{BB}$ . Se observa que incrementando los valores de  $r_{CC}$  y disminuyendo los de  $r_{BB}$  se produce un incremento del número de osteoclastos y una disminución de la activación de osteoblastos, que desencadena en la reducción de la masa ósea. En el caso (b) se varía  $r_{PTHrP}$  y se toman  $r_{CC}$  y  $r_{BB}$  iguales a 0. A medida que aumenta  $r_{PTHrP}$  también lo hacen los valores de los osteoclastos y de los osteoblastos. Se comprueba que según el valor de  $r_{PTHrP}$  elegido se puede prolongar el ciclo de remodelación.

Tras realizar unas simulaciones iniciales para obtener los valores de equilibrio en el modelo de Coelho se determina que existe un aumento en la actividad ósea, siendo la proporción de resorción mayor que la de formación. En la figura 3.12 se concluye que el crecimiento de las células tumorales ocurre durante la resorción ósea de los osteoclastos y que a medida que estas aumentan se incrementa el PTHrP que secretan para estimular la producción de RANKL por los osteoblastos. En la figura se observan los ciclos de remodelación y como la masa ósea disminuye con el aumento de las células tumorales.



Influence of  $r_{11}$  and  $r_{22}$  on the dynamics of the system in presence of metastasis,  $r_{PTHrP} = 0$ .

Influence of  $r_{PTHrP}$  on the dynamics of the system in presence of metastasis,  $r_{11} = r_{22} = 0$ .

Figura 3.11 Influencia de las células de mieloma en la remodelación ósea. Tomada de [26]

En resumen, con la consideración de la influencia de las células de mieloma se incrementa la actividad resortiva y por consiguiente también el crecimiento del tumor desencadenando una reducción de la masa ósea.

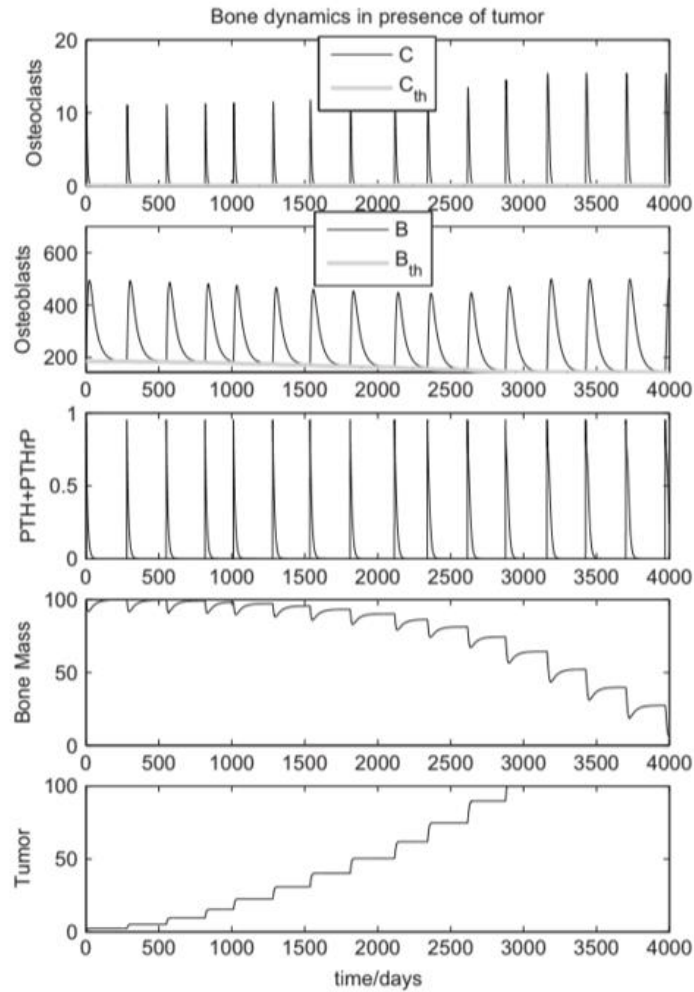


Figura 3.12 Dinámica ósea. Tomada de [26]

Por último, en la figura 3.13 se representa la evolución de la masa ósea con distintas proporciones de tratamiento antiresortivo. Los resultados que se obtienen en el modelo se refieren a distintas administraciones de Denosumab. Observando las 4 gráficas se extrae que la concentración de medicación alcanza su valor máximo cuando no existe tumor o cuando este ha alcanzado su tamaño máximo (casos mostrados en las 2 gráficas superiores) y que la masa ósea permanece en un rango de valores estable con el tiempo. A medida que aumenta el efecto del tratamiento implica una reducción de la resorción y del crecimiento tumoral. Los dos casos inferiores representan una concentración máxima de células de mieloma y se observa cómo se reduce el efecto del tratamiento y aumenta la velocidad con la que se reduce la masa ósea con el tiempo.

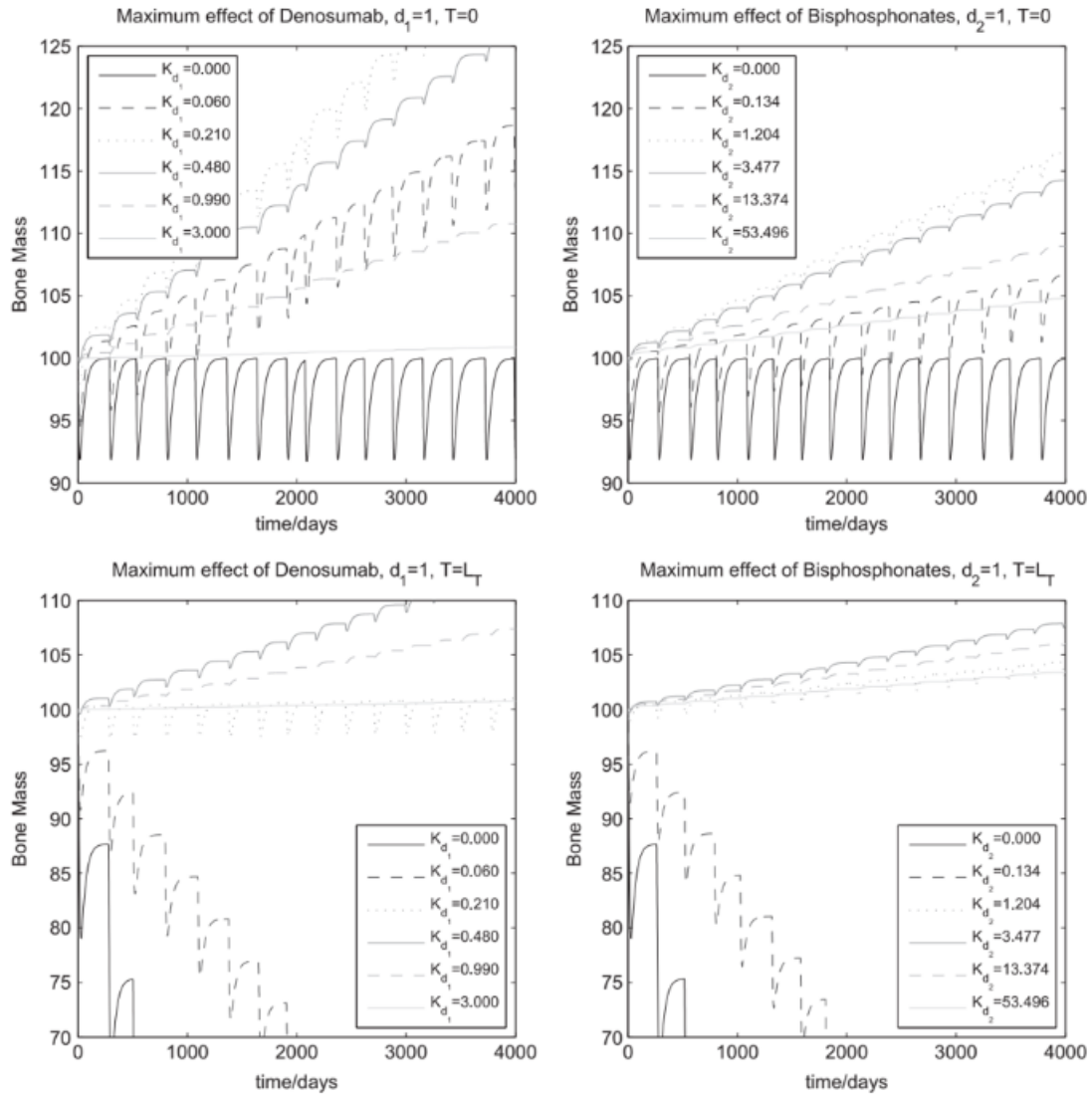


Figura 3.13 Efecto de los tratamientos anti-resortivos. Tomada de [26]



## 4. Modelo de Remodelación ósea con presencia de Mieloma Múltiple

---

En este trabajo buscamos el planteamiento de un modelo matemático que permita representar del modo más aproximado posible el proceso de remodelación ósea bajo la influencia del mieloma múltiple. Los modelos obtenidos se han formulado a partir de las ecuaciones del modelo de Pivonka de 2013. Para ello hemos tenido que plantear varios sistemas hasta encontrar el modelo adecuado. A continuación comentaremos los modelos planteados antes de obtener uno que se adecue a las condiciones requeridas y describiremos las conclusiones extraídas.

### 4.1. Modelo previo propuesto

#### 4.1.1. Introducción al modelo

En el primer modelo de remodelación ósea, partiendo de la remodelación ósea de un hueso sano, hemos añadido el efecto de las células tumorales y los parámetros que se ven afectados por su influencia basándonos en los estudios de Heider [32]. Para ello introducimos las siguientes constantes:

$T_{sat1}$  = Valor de saturación de células tumorales para  $D_{OBp}$

$T_{sat2}$  = Valor de saturación de células tumorales para  $A_{OBa}$

$T_{sat3}$  = Valor de saturación de células tumorales para RANKL

$T_{sat4}$  = Valor de saturación de células tumorales para OPG

$T_{sat5}$  = Valor de saturación de células tumorales para  $k_{res}$

$k_1$  = Constante de estabilidad de  $D_{OBp}$

$k_2$  = Constante de estabilidad de  $A_{OBa}$

$k_3$  = Constante de estabilidad de RANKL

$k_4$  = Constante de estabilidad de OPG

$k_5$  = Constante de estabilidad de  $k_{res}$

Los valores de saturación serán el máximo que podrán alcanzar las células de mieloma. A partir de dicho valor se establecerán como constantes.

Del artículo de Heider mencionado se sabe que las células de mieloma:

- Secretan factores inhibidores de osteoblastos e inhiben la diferenciación de OBp.
- Fomentan la apoptosis de osteoblastos.
- Aumentan la cantidad de RANKL.
- Disminuyen la expresión de OPG.
- Aumentan la constante de resorción  $k_{res}$ .

Las ecuaciones que modelan matemáticamente las consideraciones anteriores son, respectivamente:

$$D_{OB_p}^- = \begin{cases} D_{OB_p} \left(1 - k_1 \frac{T}{T_{sat1}}\right) & \text{si } 0 \leq T \leq T_{sat1} \\ D_{OB_p} (1 - k_1) & \text{si } T \geq T_{sat1} \end{cases} \quad (4.1)$$

$$A_{OB_a}^+ = \begin{cases} A_{OB_a} \left(1 + k_2 \frac{T}{T_{sat2}}\right) & \text{si } 0 \leq T \leq T_{sat2} \\ A_{OB_a} (1 + k_2) & \text{si } T \geq T_{sat2} \end{cases} \quad (4.2)$$

$$RANKL^+ = \begin{cases} RANKL \left(1 + k_3 \frac{T}{T_{sat3}}\right) & \text{si } 0 \leq T \leq T_{sat3} \\ RANKL (1 + k_3) & \text{si } T \geq T_{sat3} \end{cases} \quad (4.3)$$

$$OPG^- = \begin{cases} OPG \left(1 - k_4 \frac{T}{T_{sat4}}\right) & \text{si } 0 \leq T \leq T_{sat4} \\ OPG (1 - k_4) & \text{si } T \geq T_{sat4} \end{cases} \quad (4.4)$$

$$k_{res}^+ = \begin{cases} k_{res} \left(1 + k_5 \frac{T}{T_{sat5}}\right) & \text{si } 0 \leq T \leq T_{sat5} \\ k_{res} (1 + k_5) & \text{si } T \geq T_{sat5} \end{cases} \quad (4.5)$$

Las ecuaciones anteriores modifican los parámetros a los que hacen referencia en cada una de las iteraciones del modelo, representando la variación que se produce en ellos ante la presencia de las células de mieloma. Estos parámetros afectan directa o indirectamente a los términos del sistema de ecuaciones en el que se modela la variación de los osteoblastos precursores, de los osteoblastos activos, de los osteocitos, de los osteoclastos precursores, de los osteoclastos activos y de las células tumorales con el tiempo. A continuación se presenta el sistema de ecuaciones utilizado.

$$\frac{dOB_p}{dt} = D_{OB_u} + p d_{OB_p,t_0} - g_{OB_p} * D_{OB_p,t_0} * \pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} * OB_p \quad (4.6)$$

La ecuación (4.6) muestra la evolución de los osteoblastos precursores con el tiempo. El primer término representa la diferenciación de los osteoblastos progenitores. El segundo término es un factor que indica la inclusión o eliminación de osteoblastos precursores en el sistema (se añadirán cuando tengan signo positivo y se eliminarán cuando el signo sea negativo). El tercer término expresa la diferenciación de los osteoblastos precursores. La ecuación se podría resumir como parámetros de diferenciación de

osteoblastos progenitores menos parámetros de diferenciación de osteoblastos precursores.

$$\frac{dOB_a}{dt} = g_{OB_p} * D_{OB_{pt_0}} * \pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} * OB_p + pd_{OB_{at_0}} - (D_{OB_{at_0}} + A_{OB_{at_0}}) * OB_a \quad (4.7)$$

La ecuación (4.7) expresa la evolución temporal de los osteoblastos activos. El primer término es igual al tercer término de la ecuación (4.6), parámetros asociados a la diferenciación de los osteoblastos precursores. El segundo término es un factor que representa la inclusión o eliminación de los osteoblastos activos. Por último, el tercer término presenta la suma de la diferenciación de osteoblastos activos y de la apoptosis de osteoblastos activos multiplicados ambos por la concentración de osteoblastos activos. En la ecuación, los parámetros asociados a los osteoblastos activos aparecen como resta del término dependiente de los osteoblastos precursores.

$$\frac{dOC_Y}{dt} = D_{OB_{at_0}} * OB_a + pd_{OC_{Yt_0}} - A_{OC_{Yt_0}} * OC_a \quad (4.8)$$

La ecuación (4.8) presenta la evolución de los osteocitos con el tiempo. El primer término es la diferenciación de los osteoblastos activos multiplicada por la concentración de osteoblastos activos. El segundo término es el factor que representa la inclusión o eliminación de concentraciones de osteocitos en la remodelación. El tercer término es la apoptosis de osteocitos multiplicada por el número de osteoclastos activos.

$$\frac{dOC_p}{dt} = g_{OC_u} * D_{OC_{ut_0}} * OC_{ut_0} * \pi_{act}^{MCSF} * \pi_{act}^{RANK} + pd_{OC_{pt_0}} - g_{OC_p} * D_{OC_{pt_0}} * \pi_{act}^{RANK} * OC_p \quad (4.9)$$

La ecuación (4.9) muestra la evolución temporal de los osteoclastos precursores. El primer término está vinculado a la diferenciación de los osteoclastos progenitores. El segundo es la cantidad de osteoclastos precursores que mediante estimulación se incluyen o eliminan del sistema. El tercer término está asociado a la diferenciación de los osteoclastos precursores. Al igual que ocurría con la ecuación diferencial de los osteoblastos precursores, la ecuación se puede resumir como diferenciación de osteoclastos progenitores menos parámetros de diferenciación de osteoclastos precursores.

$$\frac{dOC_a}{dt} = g_{OC_p} * D_{OC_{pt_0}} * \pi_{act}^{RANK} * OC_p + pd_{OC_{at_0}} - (1 - k_{AOC_a}) * A_{OC_{at_0}} * \pi_{act,OC_a}^{TGF\beta} * OC_a \quad (4.10)$$

En la ecuación (4.10) se calcula la evolución de los osteoclastos activos con el tiempo. El primer término es la diferenciación de los osteoclastos precursores como producto de varios parámetros implicados en el proceso. El segundo término es el factor que representa la inclusión o eliminación de concentraciones de osteoclastos activos. Por último, el tercer término es la apoptosis de osteoclastos activos donde se ha considerado que de los osteoclastos activos presentes en la remodelación ósea una parte sufren apoptosis y otra se diferencia a células de mieloma. Esto viene expresado por la constante de diferenciación de osteoclastos activos a células tumorales, siendo  $(1 - k_{AOC_a})$  la proporción celular que sí sufre apoptosis.

La ecuación (4.11) es la evolución temporal de las células de mieloma.

$$\frac{dT}{dt} = k_{AOC_a} * A_{OC_{at_0}} * \pi_{act,OC_a}^{TGF\beta} * OC_a + P_T * T - A_T * T \quad (4.11)$$

Donde:

- $k_{AOC_a}$  es la constante de diferenciación de osteoclastos activos a células tumorales (que representa la fracción celular de los  $OC_a$  que se diferencian en células tumorales en lugar de sufrir apoptosis).
- $P_T$  es la constante de proliferación de células tumorales.
- $A_T$  es la constante de apoptosis de células tumorales.
- $T$  es la variable que indica el número de células tumorales existentes para cada instante de tiempo.

En las ecuaciones se observa que el término de apoptosis de  $OC_a$  se modifica en la ecuación diferencial de los osteoclastos activos, lo que influye en la ecuación diferencial de las células tumorales al iterar.

#### 4.1.2. Resultados

Se simula el modelo partiendo de una concentración inicial de células tumorales nula. El valor de la constante de diferenciación de osteoclastos activos a células tumorales ( $k_{OC_a}$ ) es 0,5; el de la constante de proliferación de células tumorales ( $P_T$ ) es 1,13 y el de la constante de apoptosis de las células tumorales ( $A_T$ ) es 1,70. Por otro lado, los valores de saturación de las células de mieloma se toman todos iguales y de valor 0,001 ( $T_{sat1}=T_{sat2}=T_{sat3}=T_{sat4}=T_{sat5}$ ) y los de las constantes de estabilidad se consideran iguales a 0,99 ( $k_1=k_2=k_3=k_4=k_5$ ).

Para realizar la simulación se plantea la evolución temporal para 10 años (aceptando que por encima de ese tiempo, si no se ha producido un deterioro elevado, se puede considerar vida infinita) y se observa cómo se comporta cada una de las variables a lo largo del tiempo. Tal y como hemos comentado empezamos simulando la situación en la que no existen células de mieloma pero al no obtener los resultados esperados no seguimos analizando el comportamiento para otros valores de células tumorales. En el análisis esperábamos que al no existir células de mieloma el comportamiento de la remodelación fuese estable y no hubiera variaciones en ninguno de los parámetros. Después se estudiaría el desarrollo del mieloma con una cierta concentración de células cancerígenas y se establecería el estado de equilibrio. Así se pretendía encontrar una evolución estable de las células de mieloma y que en caso de producirse inestabilidades estas aparecieran a partir de un instante de tiempo elevado. Sin embargo, esto no ocurre así y la inestabilidad aparece desde el segundo día.

Para la concentración inicial  $T_0$  nula la gráfica de las células de mieloma presenta un crecimiento muy rápido durante los 100 primeros días para después reducirse de forma más moderada aun cuando se parte de un hueso sano. Es decir, este modelo indicaría que una persona que no tenga la enfermedad la desarrollaría en muy poco tiempo. Este comportamiento se debe a que el primer término de la ecuación diferencial permanece invariable y mayor que cero con el tiempo y no se ve afectado por el número de células



tumorales. A medida que se suceden las iteraciones el valor de las células tumorales se incrementa al tener un resultado mayor que 0 a partir del segundo día. Llegados a un cierto valor de células de mieloma el término que aparece restando en la ecuación se ve afectado por un crecimiento mayor que los que aparecen como positivos. Así, este término provoca que la cantidad de células cancerígenas se vaya reduciendo (ver figura 4.1).

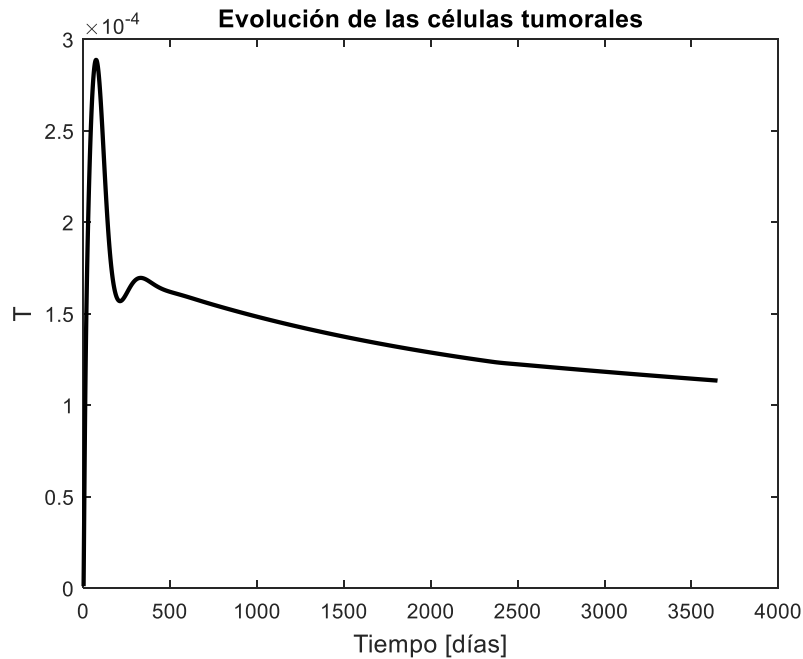


Figura 4.1 Evolución de las células tumorales con el tiempo

Además, como respuesta al aumento de células de mieloma el resto de parámetros cambian drásticamente. Resulta relevante que la fracción volumétrica de matriz ósea se reduce a valores próximos a la mitad del hueso en un caso sano (ver figura 4.2). A pesar de que se conservaría el hueso, un porcentaje tan bajo de matriz ósea conllevaría una mayor probabilidad de fractura y un debilitamiento progresivo.

Con los resultados obtenidos se comprueba que este sistema no es válido para representar un modelo real de remodelación ósea. En las gráficas se puede observar que la estabilidad que adopta el sistema a partir de cierto valor ocurre una vez superado el límite en el que el modelo ofrece resultados para un estado de equilibrio, por lo que nos encontraríamos ya en la zona de comportamiento inestable. Así, en el planteamiento de las células tumorales, a partir del valor máximo de células se podría considerar que el modelo no presenta resultados fiables.

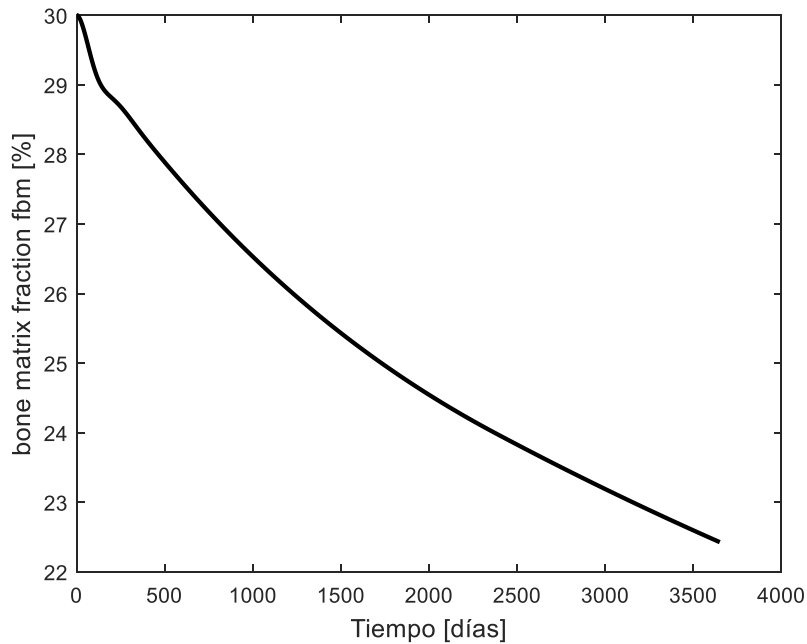


Figura 4.2 Evolución del fbm con el tiempo

## 4.2. Modelo de remodelación ósea estable

Al comprobar que el modelo propuesto inicialmente no ofrece un comportamiento estable y que sugiere que cualquier hueso sano desarrollaría la enfermedad planteamos un nuevo modelo de remodelación ósea. Para ello tomamos como base la ecuación diferencial para la variación de las células de mieloma con el tiempo del modelo de Coelho.

### 4.2.1. Introducción al modelo

Para el nuevo modelo de remodelación ósea planteado empleamos la ecuación diferencial para la variación de las células de mieloma con el tiempo del modelo de Coelho y la introducimos en el sistema de ecuaciones de Pivonka. Mediante la combinación de esos dos modelos plantearíamos varios cambios en la definición de las variables y formularíamos nuestro modelo matemático.

Para la definición de las poblaciones celulares se empleará la misma unidad utilizada por Pivonka, esta es el picomolar (pM). El factor de picomolar se puede comprender a partir de los conceptos de número de Avogadro y de molaridad.

El número de Avogadro es equivalente a  $6,02214 \cdot 10^{23}$  partículas.

La molaridad (definida como cantidad de soluto por litro de disolución):  $M = \frac{n}{V}$

Finalmente, combinando ambos conceptos se tiene:

$$1pM = 1 * 10^{-12} \frac{mol}{l} = \frac{6,02214 * 10^{23} * 10^{-12} part\acute{u}culas}{l} * \frac{1l}{1dm^3} * \frac{1dm^3}{10^6mm^3}$$

$$= 6,02214 * 10^5 \frac{part\acute{u}culas}{mm^3}$$

Explicaremos primero los parámetros que influyen en el modelo para después ir describiendo las ecuaciones implicadas y su disposición.

#### 4.2.2. Parámetros introducidos

En nuestro modelo se usan una serie de parámetros que han de ser descritos. En las siguientes tablas los mostraremos clasificados según su función o tipología. Algunos de los valores de los parámetros han sido extraídos del modelo de Pivonka y otros se han tomado del modelo de Coelho. Existe también un tercer tipo de valores que hemos obtenido experimentalmente analizando la sensibilidad del sistema ante las perturbaciones en los parámetros manteniendo el resto constantes, marcaremos estos últimos con un asterisco.

##### Parámetros específicos de los osteoblastos

$D_{OB_u}$	$7,000 * 10^{-2}$ pM/día	Tasa de diferenciación de los osteoblastos progenitores
$D_{OB_p}$	$1,657 * 10^{-1}$ pM/día	Tasa de diferenciación de los osteoblastos precursores
$A_{OB_a}$	$1,111 * 10^{-1}$ pM/día	Tasa de apoptosis de los osteoblastos activos
$D_{OB_a}$	$1,000 * 10^{-1}$ pM/día	Tasa de diferenciación de los osteoblastos activos

Tabla 4.1 Parámetros para los osteoblastos

##### Parámetros específicos de los osteoclastos

$D_{OC_u}$	$4,200 * 10^{-1}$ pM/día	Tasa de diferenciación de los osteoclastos progenitores
$D_{OC_p}$	2,100 pM/día	Tasa de diferenciación de los osteoclastos precursores
$A_{OC_a}$	5,649 pM/día	Tasa de apoptosis de los osteoclastos activos promovida por TGF- $\beta$

Tabla 4.2 Parámetros para los osteoclastos

##### Coefficientes de las funciones activadoras y represoras

$k_{d,act}^{TGF\beta}$	$5,633 * 10^{-4}$ pM	Coefficiente de activación asociado a TGF- $\beta$
$k_{d,rep}^{TGF\beta}$	$1,754 * 10^{-4}$ pM	Coefficiente de represión asociado a TGF- $\beta$
$k_{d,act}^{PTH}$	150 pM	Coefficiente de activación asociado a PTH
$k_{d,rep}^{PTH}$	0,2226 pM	Coefficiente de represión asociado a PTH
$k_{d,act}^{RANKL}$	5,680 pM	Coefficiente de activación asociado a RANKL
$RANK_{OC_p}$	$1 * 10^4$ pM RANK/pM células	Concentración en MCSF
$k_{d,act}^{MCSF}$	$1 * 10^{-3}$ pM	Coefficiente de activación asociado a MCSF

Tabla 4.3 Coeficientes de funciones activadoras y represoras

Otros factores y tasas relevantes		
$P_{RANKLd}$	0 pM/día	Inyección externa de RANKL
$P_{OPGd}$	0 pM/día	Inyección externa de OPG
$P_{PTHd}$	0 pM/día	Inyección externa de PTH
$Deg_{PTH}$	86 pM PTH/día	Tasa de eliminación de PTH
$\beta_{PTH}$	250 pM PTH/día	Tasa de síntesis del PTH
$\beta_{OPG}$	$1,625 \cdot 10^8$ pM OPG/pM célula	Tasa mínima de producción de OPG por célula
$Deg_{OPG}$	0,35 pM OPG/día	Tasa de eliminación de OPG
$OPG_{max}$	$2 \cdot 10^8$ pM OPG	Concentración máxima posible de OPG
$\beta_{RANKL}$	1684,196 pM RANKL/pM célula	Tasa de producción de RANKL por célula
$R_{RANKL}$	$2,703 \cdot 10^6$	Máximo número de RANKL en cada superficie celular
$Deg_{RANKL}$	10,132 pM RANKL/día	Tasa de degradación de RANKL
$KA1_{RANKL}$	$1 \cdot 10^{-3}$ (pM OPG) <sup>-1</sup>	Constante de asociación vinculante RANKL-OPG
$KA2_{RANKL}$	$3,412 \cdot 10^{-2}$ (pM OPG) <sup>-1</sup>	Constante de asociación vinculante RANKL-RANK
$k_{res}$	200	Tasa relativa de resorción ósea
$\alpha$	1	TGF- $\beta$ contenido en la matriz ósea
$R1_{OB_pRANKL}$	1	Factor de expresión de RANKL en $OB_p$
$R2_{OB_aRANKL}$	0	Factor de expresión de RANKL en $OB_a$
$\beta1_{OB_pOPG}$	0	Factor de expresión de OPG en $OB_p$
$\beta2_{OB_aOPG}$	1	Factor de expresión de OPG en $OB_a$
$\sigma$	-30 MPa	Tensión de compresión aplicada
$t_{resid}$	1000 días	Tiempo de residencia
$dt$	12 días	Tiempo de mineralización
$minp$	10 días	Longitud de la fase primaria
$xkappa$	0,007 %	Constante de la tasa de mineralización
$vmprim$	0,121	Fracción volumétrica de mineral
$vmmax$	0,442	Fracción volumétrica de mineral del tejido saturado
$\Delta t$	0,25	Paso de integración
$k_{OB_u}$	0,1	Exponente de retroalimentación geométrica. Diferenciación de $OB_u$
$k_{OB_p}$	0	Exponente de retroalimentación geométrica. Diferenciación de $OB_p$
$k_{OC_u}$	1	Exponente de retroalimentación geométrica. Diferenciación de $OC_u$
$k_{OC_p}$	0	Exponente de retroalimentación geométrica. Diferenciación de $OC_p$
$\Phi_{RANKLmech}$	1	Mecanorespuesta de osteocitos

$\varphi_{RANKLpmo}$	1	Factor de atenuación de RANKL con PMO
----------------------	---	---------------------------------------

Tabla 4.4 Otros factores

Parámetros asociados a las células tumorales		
$k_{PTHrP}^*$	30000	Tasa de producción de PTHrP por las células cancerígenas
$T_{th}$	$1 \cdot 10^{-6}$ pM	Valor umbral de células tumorales
$T_{sat}$	$1 \cdot 10^{-4}$ pM	Valor de saturación de células tumorales
$IL8_{th}$	$1 \cdot 10^{-6}$ pM	Valor umbral de Interleuquina-8
$IL8_{sat}$	$1 \cdot 10^{-4}$ pM	Valor de saturación de Interleuquina-8
$k_T^*$	200 pM	Tasa de crecimiento de la metástasis ósea
$\lambda_T$	10	Constante de saturación de la metástasis ósea (tomada de Coelho)
$A_T_{tratanticancer}^*$	$1 \cdot 10^{-4}$ pM	Efecto del tratamiento anticancer
$D_{TGF\beta}$	2 pM/día	Tasa de degradación de TGF- $\beta$
$k_{IL8}^*$	$1 \cdot 10^7$	Tasa de crecimiento de Interleuquina-8
$f_{IL8max1}^*$	0,5	Valor máximo de la función de Interleuquina para la diferenciación de $OC_p$
$f_{IL8max2}^*$	0,4	Valor máximo de la función de Interleuquina para $k_{res}$
$f_{OB_pT_{max}}^*$	0,5	Valor máximo de la función de diferenciación de $OB_p$

Tabla 4.5 Parámetros asociados al mieloma

Valores iniciales de parámetros		
$OB_{u,t0}$	0,01 pM	Valor inicial de los osteoblastos progenitores
$OC_{u,t0}$	0,01 pM	Valor inicial de los osteoclastos progenitores
$OCY_{t0}$	0,01 pM	Valor inicial de los osteocitos
$fbm_{t0}$	30%	Valor inicial de la fracción volumétrica de matriz ósea en hueso trabecular
$fbm_{t0}$	95%	Valor inicial de la fracción volumétrica de matriz ósea en hueso cortical
$OC_a,t0$	$1 \cdot 10^{-4}$ pM	Valor inicial de los osteoclastos activos
$OC_p,t0$	$1 \cdot 10^{-3}$ pM	Valor inicial de los osteoclastos precursores
$OB_p,t0$	$1 \cdot 10^{-3}$ pM	Valor inicial de los osteoblastos precursores
$OB_a,t0$	$5 \cdot 10^{-4}$ pM	Valor inicial de los osteoblastos activos

Tabla 4.6 Valores iniciales

### 4.2.3. Planteamiento del modelo

Como hemos comentado previamente el modelo lo formulamos a partir del sistema matemático de Pivonka (2013). Para ello hemos empleado sus ecuaciones y modificado aquellas que no se adecuasen a los requisitos de nuestro modelo.

El primer paso es incluir los parámetros asociados a las células tumorales del apartado anterior.

Se establece que la tasa de formación a partir de la tasa resorción de los valores iniciales de los osteoblastos activos y de los osteoclastos activos es:

$$k_{form} = \frac{k_{res} * OC_{a,t0}}{OB_{a,t0}} \quad (4.12)$$

La tasa de apoptosis de los osteocitos se obtiene de la diferenciación de los osteoblastos y de las concentraciones iniciales de los osteoclastos y osteoblastos activos:

$$A_{OCY} = \frac{DOB_a * OB_{a,t0}}{OC_{a,t0}} \quad (4.13)$$

Se define la porosidad como:

$$p = 1 - \frac{fbm}{100} \quad (4.14)$$

Asimismo, se integran también las consideraciones de Martínez Reina acerca de la mineralización junto con las ecuaciones planteadas.

Continuando con el modelado de la influencia de las células tumorales se incluye el término  $\beta_{PTHrP}$  que depende de la constante  $k_{PTHrP}$ , de la cantidad de TGF- $\beta$  y del número de células tumorales presentes en el sistema.

$$\beta_{PTHrP} = k_{PTHrP} * TGF\beta * T \quad (4.15)$$

Por otro lado, también interviene en el proceso la interleuquina-8, que se explicará más adelante junto con el planteamiento de la función que regula la diferenciación de los osteoclastos precursores y la constante de resorción.

El valor obtenido de  $\beta_{PTHrP}$  modifica el valor existente en el hueso de PTH. Eso provoca un incremento de PTH y por consiguiente también aumenta la resorción.  $PTH_{tot}$  es el valor de PTH existente y depende de la tasa de eliminación de PTH, de las tasas de síntesis de PTH y PTHrP y de la proporción de PTH previamente estimulada.

Matemáticamente:

$$PTH_{tot} = \frac{\beta_{PTH} + P_{PTH,d} + \beta_{PTHrP}}{Deg_{PTH}} \quad (4.16)$$

Por su parte, las funciones de activación y de represión dependen del valor de PTH y de los coeficientes de activación y represión de PTH respectivamente.

$$\pi_{act}^{PTH} = \frac{PTH_{tot}}{PTH_{tot} + KD_{PTH,act}} \quad (4.17)$$

$$\pi_{rep}^{PTH} = \frac{1}{1 + \frac{PTH_{tot}}{KD_{PTH,rep}}} \quad (4.18)$$

Por último, se incluye en el modelo la función de diferenciación de osteoblastos que controla la proporción en la que se diferencian los osteoblastos. Su desarrollo se explicará a continuación.

#### 4.2.4. Función de diferenciación de osteoblastos

La función de diferenciación de osteoblastos analiza el efecto que tiene el tumor sobre la diferenciación. Los osteoblastos se diferenciarán en menor medida cuanto más avanzado esté el desarrollo de las células tumorales.

Con esta finalidad establecemos que la diferenciación de osteoblastos se puede ver minorada por el resultado obtenido de la función  $f_{OBp,T}$ . La ecuación según la que se diseña es:

$$D_{OBp} = D_{OBp,nominal}(1 - f_{OBp,T}) \quad (4.19)$$

Mediante esta ecuación se modifica el valor de la diferenciación de osteoblastos, reduciéndose en cada iteración si  $f_{OBp,T}$  es mayor que 0.

La función de diferenciación de osteoblastos establece que hay un valor umbral  $T_{th}$  por debajo del que las células tumorales no afectarán al modelo. Una vez superado este valor consideramos que empieza a afectar la enfermedad. Se añade también el valor de saturación  $T_{sat}$  que implica que una vez alcanzado, la función presentará un valor constante en el tiempo (ver figura 4.3).

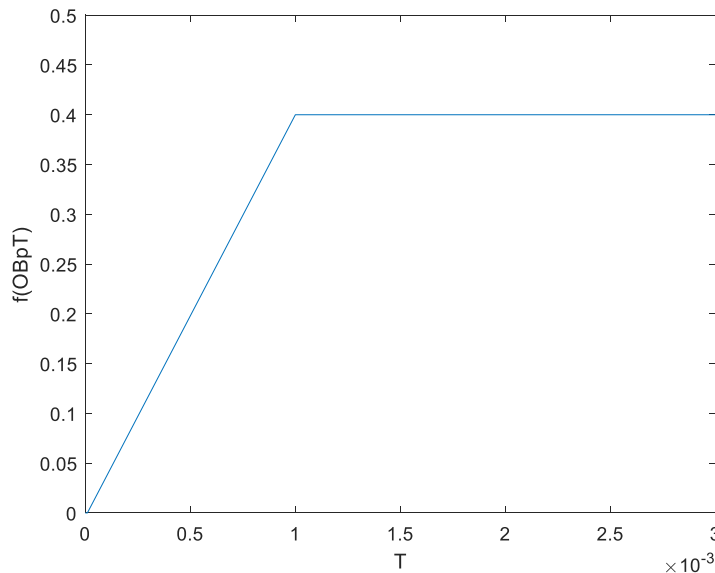


Figura 4.3 Función de diferenciación de osteoblastos

Así, la ecuación que modela la función es:

$$f_{OBp,T} = f_{OBp,T}^{max} * \min \left\{ 1, \frac{\max\{0, T - T_{th}\}}{T_{sat} - T_{th}} \right\} \quad (4.20)$$

Donde  $f_{OB_p,T}^{max}$  es el máximo valor que puede alcanzar la función asociada a la diferenciación de osteoblastos. De la ecuación se comprueba que cuanto mayor es la concentración de células de mieloma, mayor será el valor de  $f_{OB_p,T}$ . Por lo tanto, de esta función se puede extraer la conclusión de que a medida que aumenta el número de células tumorales disminuye la diferenciación de los osteoblastos precursores.

#### 4.2.5. Función de Interleuquina-8

Además de la función de diferenciación de osteoclastos, en el modelo tenemos que añadir la función que regula la producción de Interleuquina-8. La presencia de la Interleuquina aumenta la capacidad de diferenciación de los osteoclastos precursores así como la constante  $k_{res}$  que denota el volumen de matriz ósea reabsorbido por los osteoclastos.

Por otro lado, el valor que adquiere la Interleuquina-8 depende de una constante, de la cantidad de TGF- $\beta$  y del número de células de mieloma presentes como se observa en la siguiente ecuación:

$$IL8 = k_{IL8} * TGF\beta * T \quad (4.21)$$

Tanto el valor de diferenciación de osteoclastos precursores como el de la tasa de resorción se ven modificados por la función de interleuquina-8 si esta tiene valor mayor que 0. Según estas ecuaciones, siempre y cuando sea mayor que 0 aumentará la diferenciación de los osteoclastos precursores y la tasa de resorción ósea. En los resultados que presentaremos más adelante vamos a detallar cómo afectan los 2 tipos de función al proceso de remodelación ósea y en qué proporción.

$$D_{OC_p} = D_{OC_p,nominal}(1 + f_{IL8,1}) \quad (4.22)$$

$$k_{res} = k_{res,nominal}(1 + f_{IL8,2}) \quad (4.23)$$

La función de Interleuquina-8 establece que hay un valor umbral  $IL8_{th}$  por debajo del que la interleuquina no afectará al modelo. Se añade también el valor de saturación  $IL8_{sat}$  que implica que una vez alcanzado, la función presentará un valor constante en el tiempo.

La dependencia de la función de los valores umbral y de saturación respecto a la interleuquina-8 se representa en la figura 4.4.

Así, la ecuación que modela la función es:

$$f_{IL8,i} = f_{IL8,i}^{max} * \min \left\{ 1, \frac{\max\{0, IL8 - IL8_{th}\}}{IL8 - IL8_{th}} \right\} \quad (4.24)$$

El subíndice  $i$  denota que se empleará el valor con subíndice 1 para la ecuación de diferenciación de osteoclastos y el valor con subíndice 2 para la ecuación de  $k_{res}$ .



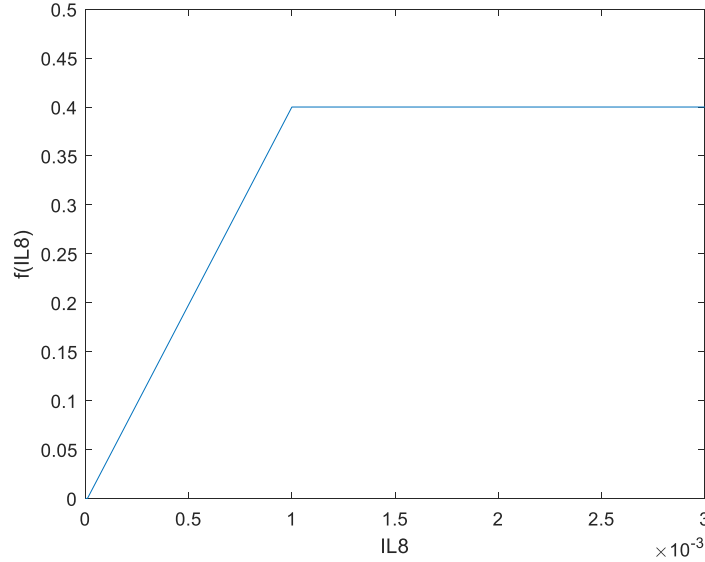


Figura 4.4 Función de Interleuquina-8

#### 4.2.6. Sistema de ecuaciones

Una vez desarrollado el modelo debemos conocer las ecuaciones que nos permiten resolver el sistema de ecuaciones. A continuación planteamos cada una de ellas y explicamos los términos que las componen así como el comportamiento que tienen las ecuaciones.

Las ecuaciones (4.25), (4.26), (4.27) y (4.28) utilizadas en este modelo son iguales y siguen el mismo criterio que las ecuaciones (4.6), (4.7), (4.8) y (4.9), respectivamente.

$$\frac{dOB_p}{dt} = D_{OB_u} + pd_{OB_{p_{t0}}} - g_{OB_p} * D_{OB_{p_{t0}}} * \pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} * OB_p \quad (4.25)$$

$$\frac{dOB_a}{dt} = g_{OB_p} * D_{OB_{p_{t0}}} * \pi_{rep,OB_p}^{TGF\beta} * OB_p + pd_{OB_{a_{t0}}} - (D_{OB_{a_{t0}}} + A_{OB_{a_{t0}}}) * OB_a \quad (4.26)$$

$$\frac{dOC_p}{dt} = D_{OB_{a_{t0}}} * OB_a + pd_{OC_{p_{t0}}} - A_{OC_{p_{t0}}} * OC_p \quad (4.27)$$

$$\frac{dOC_a}{dt} = g_{OC_u} * D_{OC_{u_{t0}}} * OC_{u_{t0}} * D_{OB_p} * \pi_{act}^{MCSF} * \pi_{act}^{RANK} + pd_{OC_{a_{t0}}} - g_{OC_p} * D_{OC_{p_{t0}}} * \pi_{act}^{RANK} * OC_p \quad (4.28)$$

La ecuación (4.29) muestra la evolución de los osteoclastos activos con el tiempo. El primer término es la diferenciación de los osteoclastos precursores como producto de varios parámetros asociados a estos. El segundo término es la inclusión o eliminación de osteoclastos activos en el sistema. Por último, el tercer término es la apoptosis de osteoclastos activos.

$$\frac{dOC_a}{dt} = g_{OC_p} * D_{OC_{p_{t0}}} * \pi_{act}^{RANK} * OC_p + pd_{OC_{a_{t0}}} - A_{OC_{a_{t0}}} * \pi_{act,OC_a}^{TGF\beta} * OC_a \quad (4.29)$$

La ecuación (4.30) representa la evolución temporal de las células de mieloma. El primer término es el crecimiento de las células tumorales como producto de la tasa de crecimiento de la metástasis ósea, la concentración de TGF- $\beta$  y la concentración de células cancerígenas. El segundo término indica la disminución en el número de células tumorales debido a un tratamiento antiresortivo.

$$\frac{dT}{dt} = k_T * TGF\beta * \frac{T}{\lambda_T + T} - A_{Ttratanticancer} * T \quad (4.30)$$

## 5. Resultados

---

Habiendo planteado nuestro modelo y las ecuaciones diferenciales según las que se rige podemos analizar los resultados obtenidos. Analizaremos primero los resultados extraídos para un estado de equilibrio y después plantearemos el análisis de sensibilidad modificando una de las variables y dejando todas las demás constantes.

En el estudio diferenciaremos entre los resultados obtenidos para el hueso cortical y los obtenidos para el hueso trabecular.

Por otro lado, realizaremos un análisis de sensibilidad en el que comprobaremos cuanto tardaría el hueso en llegar al límite para el cual aceptamos que el hueso sufriría la rotura, establecido en una fracción volumétrica de matriz ósea del 5%.

Hasta llegar a este punto hemos tenido que ir variando los parámetros hasta encontrar un estado de equilibrio. Los resultados presentados parten de dicho estado y presentan algunas modificaciones dependiendo de si se trata del hueso cortical o del trabecular.

En nuestro estudio hemos observado que no todos los parámetros son igual de sensibles a las variaciones y que algunos no provocan cambios reseñables en el resto de parámetros al plantear el análisis de sensibilidad. En el análisis de sensibilidad vamos a mostrar los resultados de los parámetros incluidos en el modelo y desarrollaremos en profundidad aquellos que presenten modificaciones destacables.

### 5.1. Hueso cortical

Analizamos primero el comportamiento del hueso cortical en un estado equilibrio, para el que la enfermedad se desarrolla de forma moderada, y su variación con el tiempo. Para el estudio se considera una fracción volumétrica de matriz ósea (fbm) inicial del 95% y una carga de 30 MPa en compresión. Los parámetros iniciales empleados son los descritos en el apartado 4.2.2. con la salvedad de  $k_T$  que se toma igual a 160 (células\*día)<sup>-1</sup> y de  $f_{IL8max2}$  que se considera 0,1.

Se ha comprobado experimentalmente que si en las ecuaciones diferenciales del modelo la concentración de células tumorales es igual a 0, no aparece nunca el tumor. De cara al planteamiento de las simulaciones suponemos que en un momento dado, por razones que no resultan relevantes para este estudio, aparece una célula tumoral y entonces la ecuación diferencial de las células de mieloma (dT/dt) predice un crecimiento del tumor que afecta al comportamiento del resto de células óseas.

La simulación parte de una situación de equilibrio de remodelación, que proporciona los valores iniciales de las poblaciones celulares y de la concentración de los factores bioquímicos. El análisis muestra la evolución de las poblaciones celulares a lo largo de 5 años. En el instante  $t=0$  aparece una concentración de células de mieloma de  $1 \cdot 10^{-5}$  pM, que completa las condiciones iniciales del problema.

A continuación vamos a analizar la respuesta del sistema frente a la perturbación provocada por la presencia de las células tumorales.

### 5.1.1. Comportamiento de las variables

En primer lugar estudiamos la variable objeto de estudio en este trabajo. La presencia de las células tumorales modifica el estado del resto de variables respecto al estado de hueso sano (ver figura 5.1). A partir del valor inicial de células de mieloma, estas sufren un incremento con el tiempo hasta prácticamente triplicarse al cabo de 5 años.

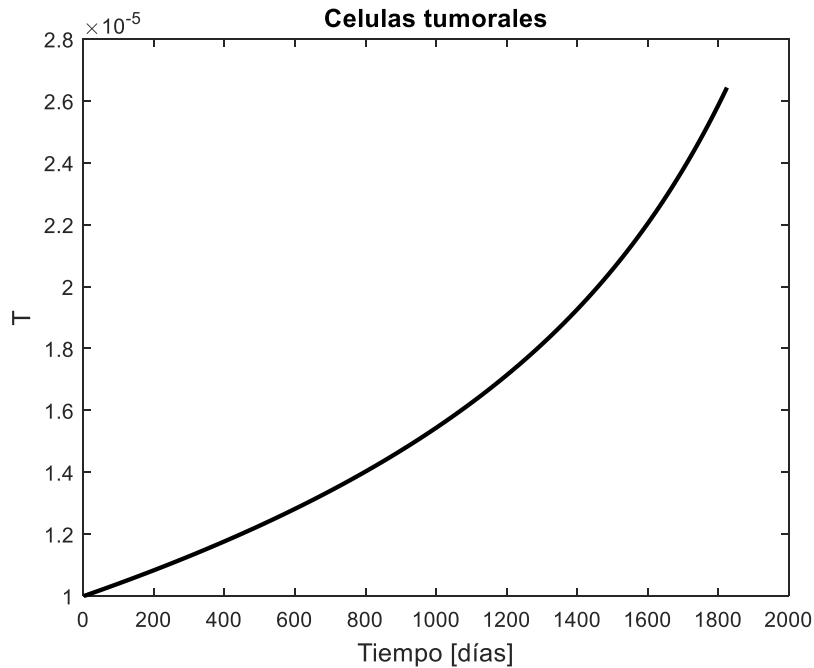
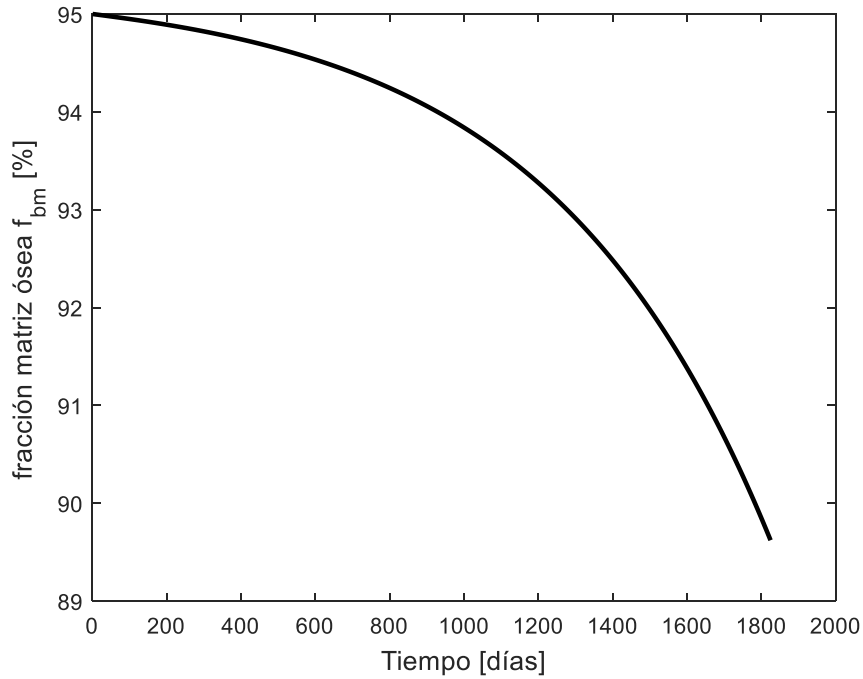


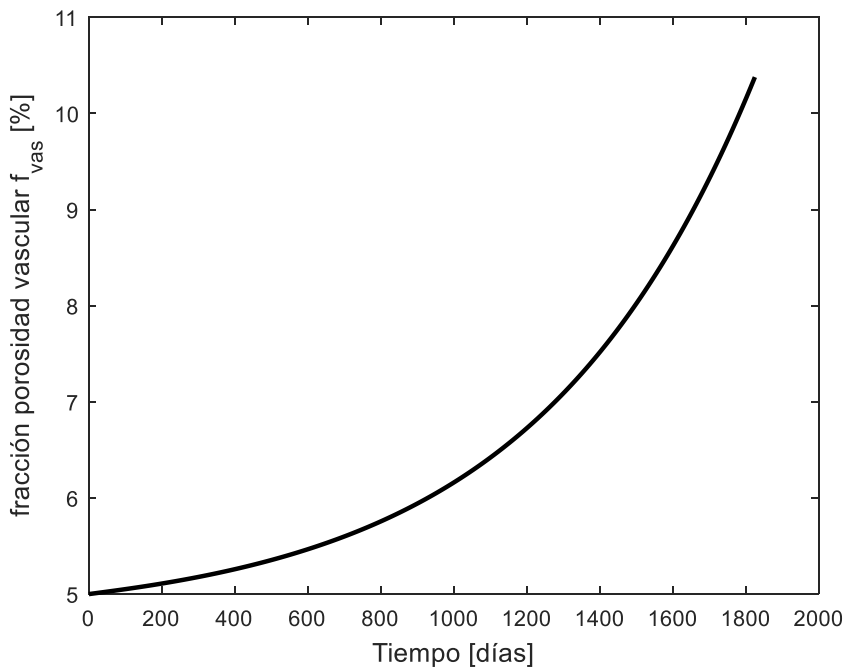
Figura 5.1 Evolución temporal de las células tumorales

El siguiente a desarrollar será cómo afecta la presencia de células tumorales a la fracción volumétrica de matriz ósea. Al tratarse de un hueso cortical la fracción inicial de fbm tomada ha sido del 95%. Tal y como se observa en la figura 5.2 la fbm se reduce a medida que pasa el tiempo y aumenta la presencia del tumor. Con los resultados extraídos de esta simulación, al cabo de 5 años la fracción volumétrica de matriz ósea se habría reducido al 90%.

Del mismo modo se obtiene la fracción de porosidad vascular. Se parte de un valor del 5% y al final de la simulación se alcanza el 10%. En la figura 5.3 se puede ver cómo la fracción de matriz ósea y la de porosidad vascular están directamente ligadas al ser la segunda la fracción de poros existentes en la primera.



**Figura 5.2** Evolución temporal de la fracción volumétrica de matriz ósea



**Figura 5.3** Evolución temporal de la fracción de porosidad vascular

Por otro lado, obtenemos la fracción de ceniza. Tal y como comentamos en el desarrollo del modelo, es un parámetro ligado a la mineralización. A medida que aumenta la fracción de ceniza implica que la presencia de mineral en el hueso es mayor que la de colágeno (ver figura 5.4). Por lo tanto, podemos extraer la conclusión de que el aumento en las células tumorales provoca también un aumento en la mineralización del tejido óseo.

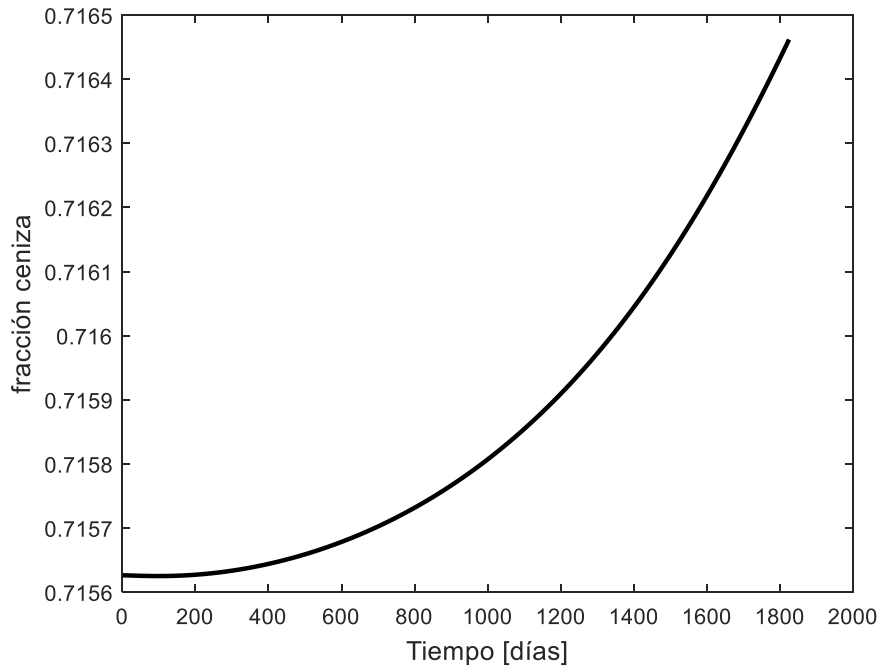


Figura 5.4 Evolución temporal de la fracción de ceniza

A lo largo de este trabajo hemos mencionado que la osteoprotegerina se une a RANKL para promover la apoptosis de los osteoclastos. En la figura 5.5 podemos observar cómo el aumento de las células tumorales y su consiguiente aumento de la resorción por parte de los osteoclastos provoca que estos incrementen su actividad y por consiguiente el valor de OPG presente en el hueso disminuya.

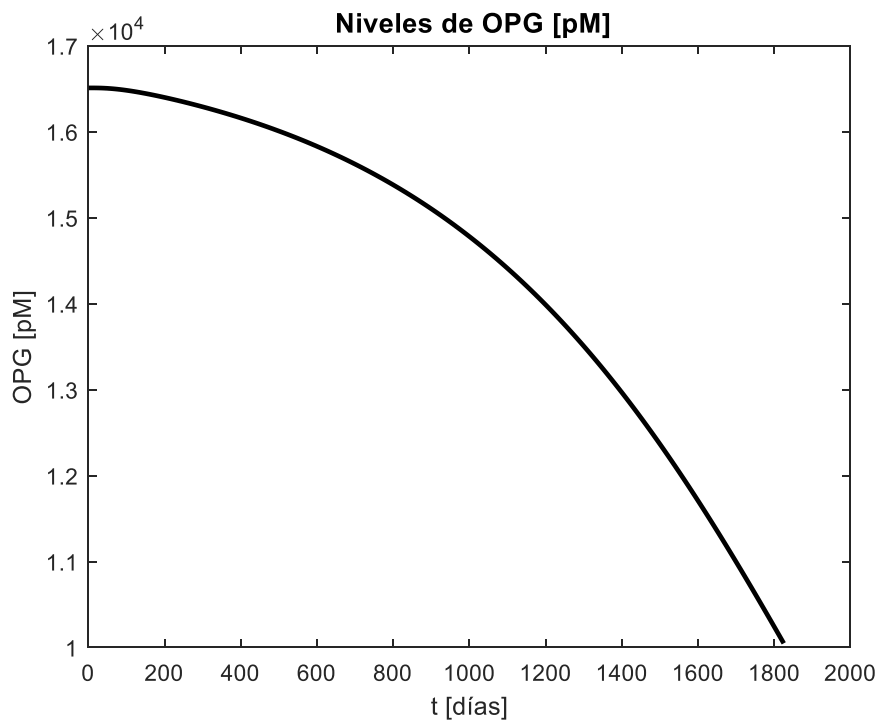


Figura 5.5 Evolución temporal de OPG

Al contrario de lo que ocurre con OPG, el aumento en las poblaciones de células tumorales induce un aumento en los niveles de RANKL como se observa en la figura 5.6. Este aumento provoca que RANKL interaccione con RANK y que progresivamente sigan incrementándose las concentraciones de osteoclastos.

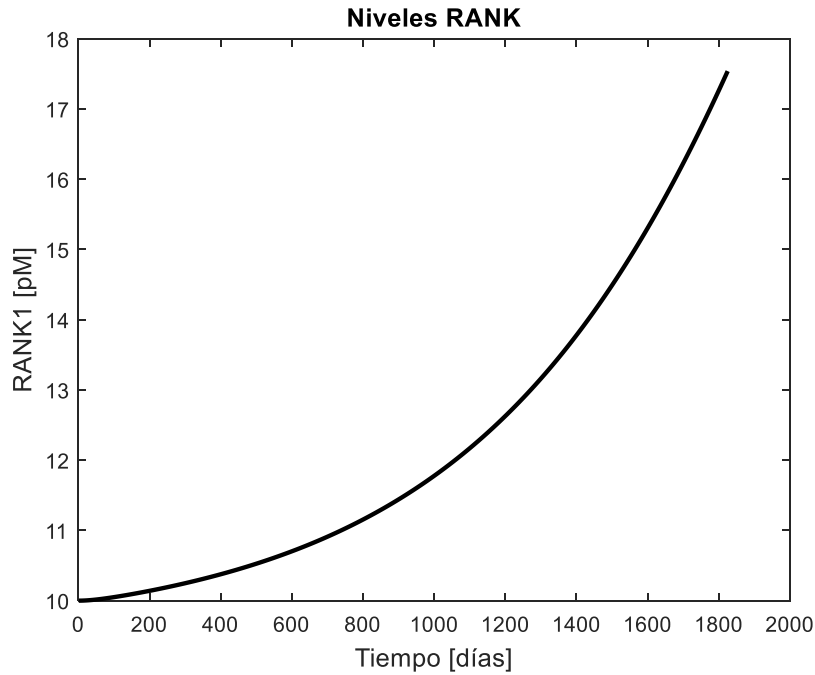


Figura 5.6 Evolución temporal de RANKL

### 5.1.2. Análisis de sensibilidad

Hemos observado que en los resultados obtenidos existe mayor dependencia en la variación de algunas variables que de otras. La conclusión extraída es que nuestro modelo de remodelación ósea presenta mayores variaciones ante  $k_T$ ,  $f_{IL8max2}$  y  $A_{Tratanticancer}$ . No obstante, mostraremos también brevemente la dependencia respecto de los otros parámetros del modelo.

Para realizar el análisis de sensibilidad se aceptará una concentración inicial de células de mieloma de  $10^{-5}$  y se proporcionarán los resultados de la evolución al cabo de 5 años. Para medir la sensibilidad se irá multiplicando la constante por valores inferiores y superiores a su estado nominal para ver cómo estos modifican el resultado obtenido. Con este fin vamos a multiplicar las constantes por  $k=10^p$ , donde  $p$  es un valor que varía según el parámetro que queramos representar. Al aplicar esta variación consideramos que  $p=0$  es el estado nominal.

En la tabla 5.1 presentamos los parámetros tratados en el análisis de sensibilidad. Incluimos los valores máximos y mínimos estudiados así como los valores máximos y mínimos de las células de mieloma y de la fracción volumétrica de matriz ósea alcanzados por el modelo. Para ello, tal y como hemos mencionado previamente hemos variado el parámetro objeto de estudio manteniendo el resto constantes. Para facilitar la comprensión hemos resaltado en negrita los valores de los parámetros que provocan variaciones significativas en el modelo.

Constante	Valor máx cte	Valor mín cte	Valor máx T	Valor mín T	fbm máx	fbm mín
$k_T$	1600	5,059	$5.503 \cdot 10^2$	$1,031 \cdot 10^{-5}$	89,622	69,687
$f_{IL8max2}$	1	0,003	$6,321 \cdot 10^{-5}$	$2,087 \cdot 10^{-5}$	94,851	5,556
$A_{Ttratanticancer}$	0,1	0,0001	$2,525 \cdot 10^{-5}$	$2,009 \cdot 10^{-25}$	93,519	89,622
$f_{IL8max1}$	5	0,016	$2,525 \cdot 10^{-5}$	$2,525 \cdot 10^{-5}$	89,622	89,622
$k_{IL8}$	$10^{11}$	1000	$2,525 \cdot 10^{-5}$	$1,982 \cdot 10^{-5}$	94,989	89,622
$f_{OB_pTmax}$	5	0,016	$2,525 \cdot 10^{-5}$	$2,525 \cdot 10^{-5}$	89,622	89,622
$k_{PTHrP}$	300000	948,69	$2,643 \cdot 10^{-5}$	$2,643 \cdot 10^{-5}$	89,622	89,621

Tabla 5.1 Valores del análisis de sensibilidad cortical

### 5.1.2.1. $k_T$ variable

Comenzamos analizando la dependencia de las células tumorales del valor de  $k_T$ . Hemos multiplicado la constante  $k_T$  por  $k=10^p$ , siendo  $p$  un valor que varía entre -1,5 y 1. Para consideraciones de la constante inferiores al estado nominal la concentración de células de mieloma permanece prácticamente constante. Para valores superiores esta comienza a presentar un comportamiento exponencial, aumentando más a medida que se incrementa el factor multiplicador (ver figura 5.7). En el eje x se representa la evolución de  $k$  en formato logarítmico mientras que en el y se expresa el logaritmo de la concentración de células tumorales al final de 5 años de simulación.

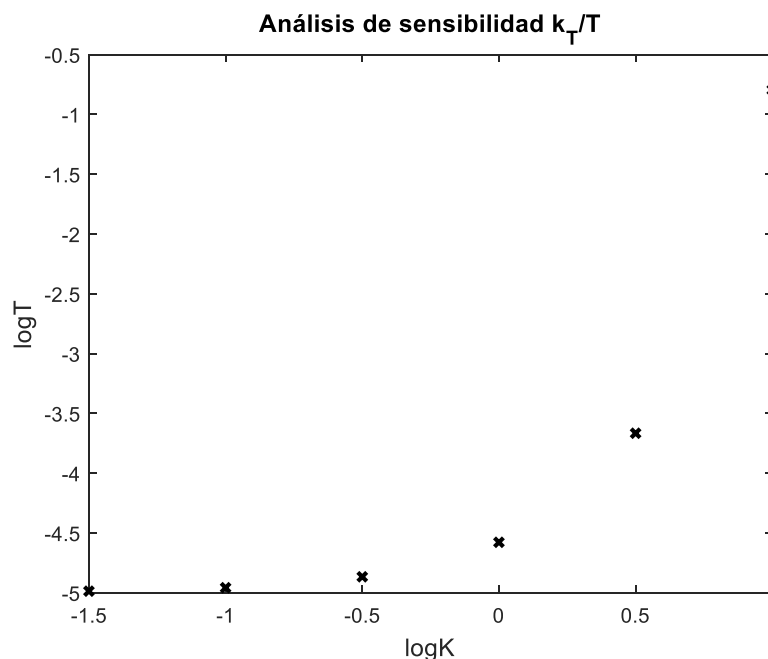


Figura 5.7 Análisis de sensibilidad  $k_T/T$

A continuación estudiamos conjuntamente los resultados de  $OB_p$ ,  $OB_a$ ,  $OC_p$  y  $OC_a$  (ver figuras 5.8, 5.9, 5.10 y 5.11, respectivamente). Al igual que ocurría en el caso anterior los valores de  $k$  negativos proporcionan resultados casi constantes mientras que a partir de estados nominal aparecen perturbaciones elevadas. Sabemos que el incremento de las células tumorales disminuye de diferenciación de osteoblastos y aumenta la de osteoclastos. En las figuras se puede observar cómo cuanto mayor es  $k_T$  y con ello la



concentración de células tumorales se reduce el número de osteoblastos y aumenta el de osteoclastos.

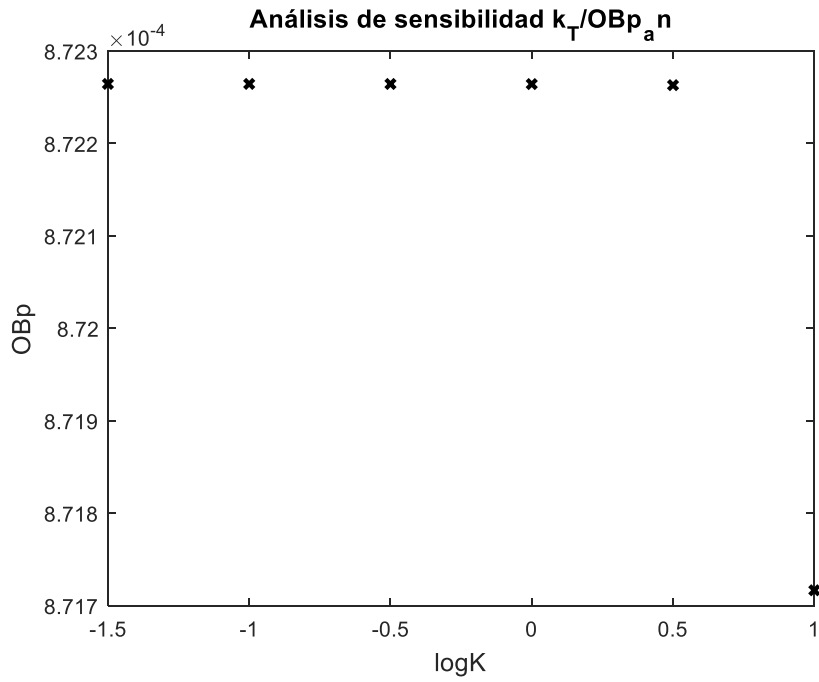


Figura 5.8 Análisis de sensibilidad  $OB_p$

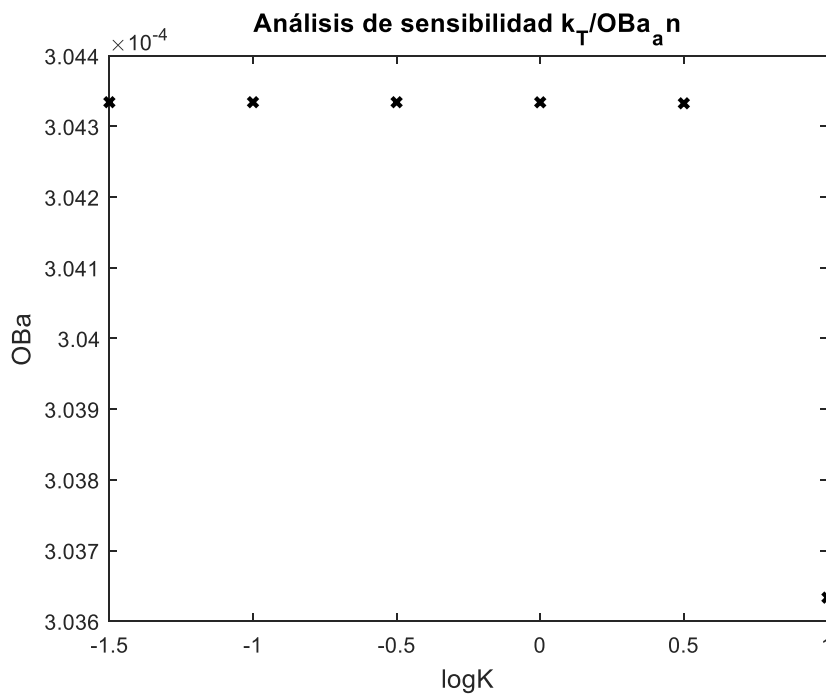


Figura 5.9 Análisis de sensibilidad  $OB_a$

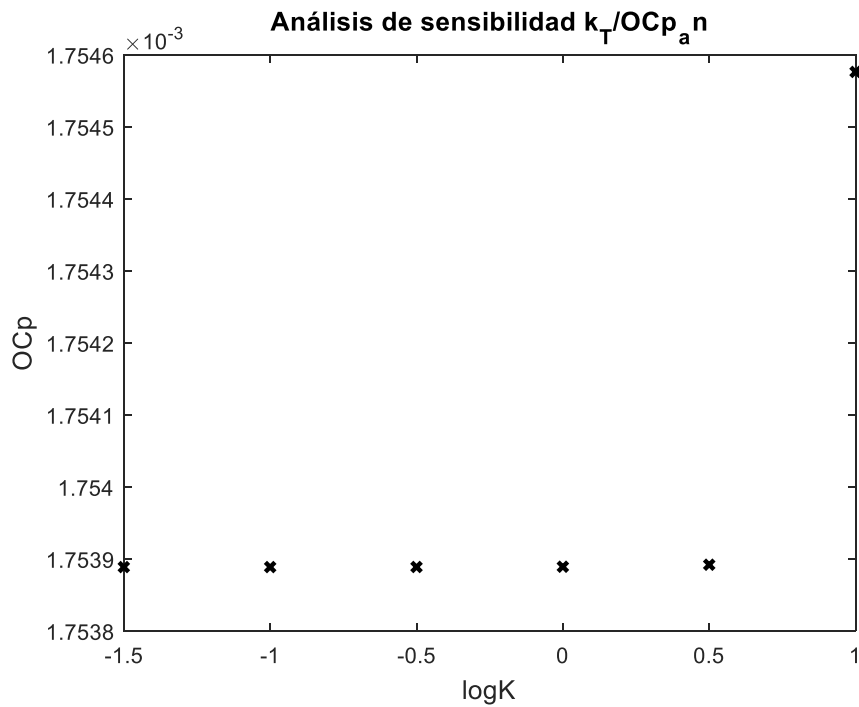


Figura 5.10 Análisis de sensibilidade OCp

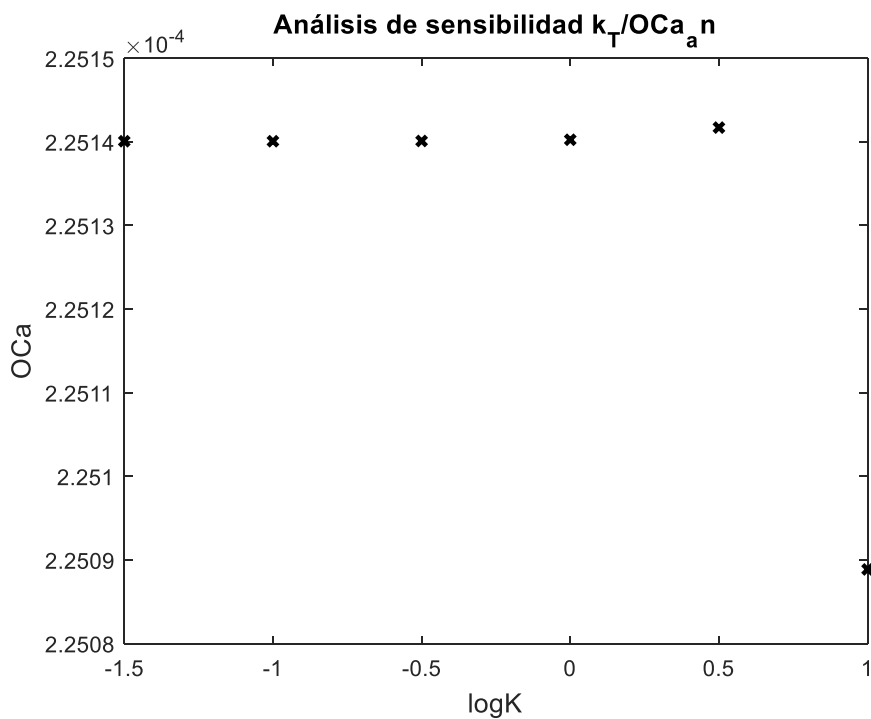


Figura 5.11 Análisis de sensibilidade OCa

Tal y como hemos mencionado previamente el aumento de T reduce la concentración de OPG. En la figura 5.12 se puede comprobar esa dependencia mediante la variación de  $k_T$ .

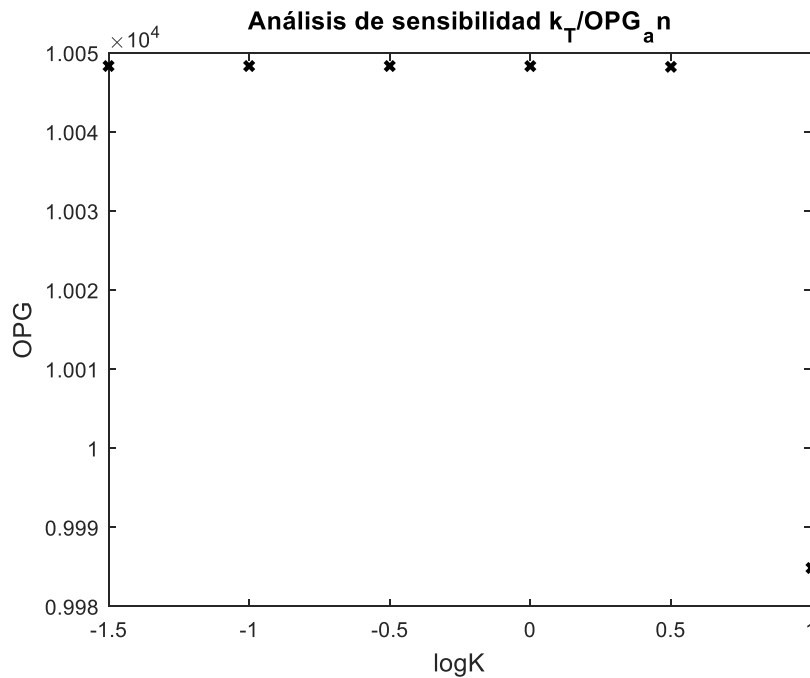


Figura 5.12 Análisis de sensibilidad OPG

Lo mismo ocurre con la dependencia de TGF- $\beta$  que se muestra en la figura 5.13. Expresamos en el eje x la constante en formato logarítmico y en el eje y el logaritmo del valor de TGF- $\beta$  al final de la simulación, 5 años.

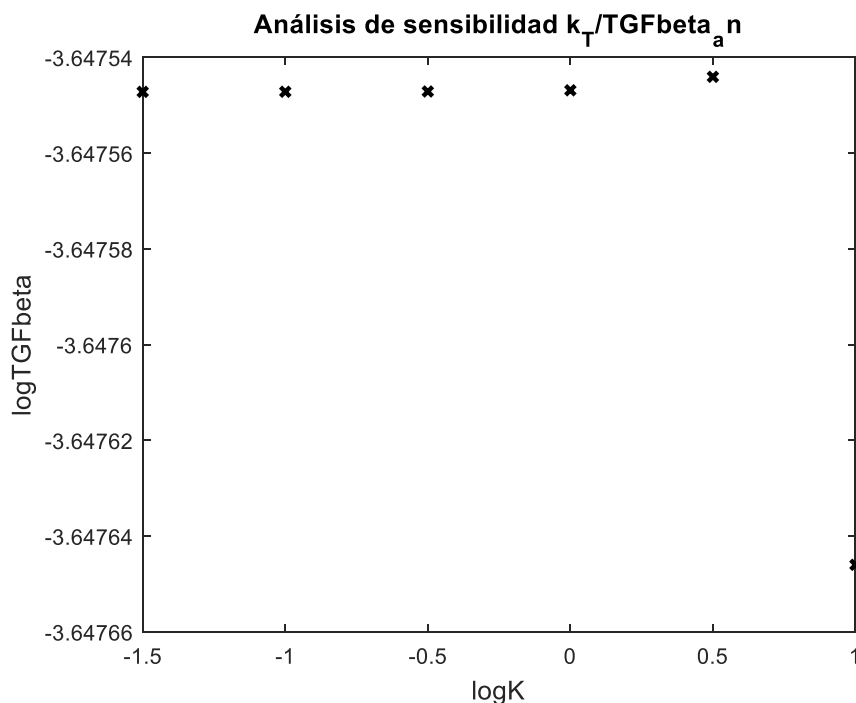


Figura 5.13 Análisis de sensibilidad TGFbeta

El efecto en PTH es justamente el contrario, a medida que aumenta la constante aumenta también el valor de PTH (ver figura 5.14). El incremento en PTH ocasionará la mayor diferenciación de osteoclastos y su aumento progresivo. Al igual que en el caso anterior, expresamos PTH como logaritmo del valor de la simulación al finalizar 5 años.

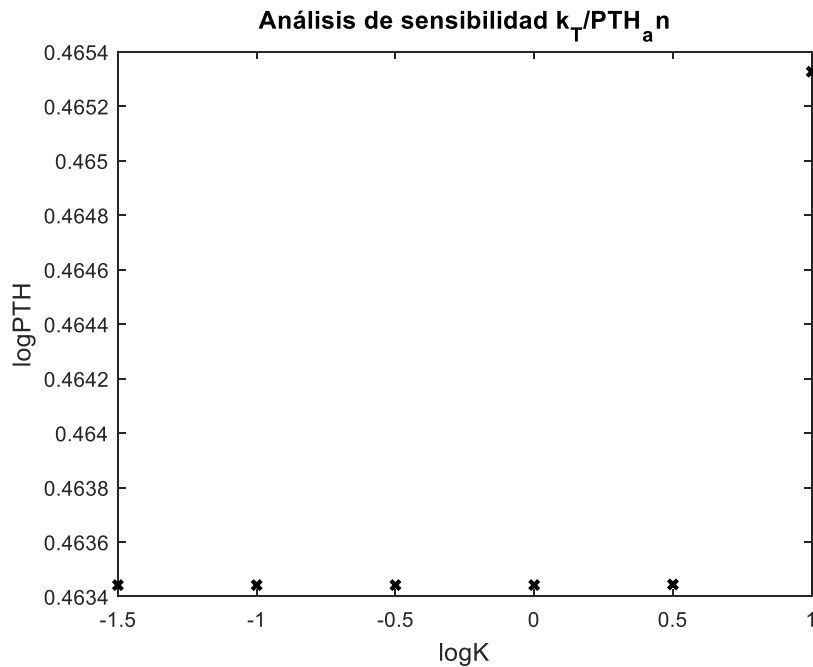


Figura 5.14 Análisis de sensibilidad PTH

### 5.1.2.2. $f_{IL8max2}$ variable

Para identificar la influencia de la función de interleuquina-8 en el modelo desglosamos el análisis de sensibilidad identificando las variables que se ven más afectadas por su influencia y las conclusiones extraídas de esos resultados. Al igual que hemos hecho en el análisis anterior, se multiplica la constante por  $k=10^p$  donde  $p$  es un valor que se encuentra entre -1,5 y 1. Comenzamos estudiando el análisis de sensibilidad para la concentración de las células de mieloma. En el eje x se representa la evolución de  $k$  en formato logarítmico mientras que en el eje y se expresa el logaritmo de la concentración de células tumorales al cabo de 5 años.

El factor dependiente de la interleuquina-8 provoca un aumento de las células tumorales. Este aumento provocará variación en el resto de parámetros involucrados en la remodelación ósea (ver figura 5.15).

Analizaremos la influencia del factor dependiente de la interleuquina-8 en los osteoblastos precursores, en los osteoblastos activos, en los osteoclastos precursores y en los osteoclastos activos (ver figuras 5.16, 5.17, 5.18 y 5.19, respectivamente).

La influencia que tiene el factor en los osteoblastos provoca una disminución en estos para valores por encima del estado nominal. Además, a partir del estado nominal mencionado aparece un desequilibrio que provoca que tras la disminución de los osteoblastos surja un repunte en su concentración. Esto se debe a que por encima del valor nominal no se puede garantizar el estado de equilibrio y por consiguiente ese aumento en la concentración carece de sentido en el modelo matemático.

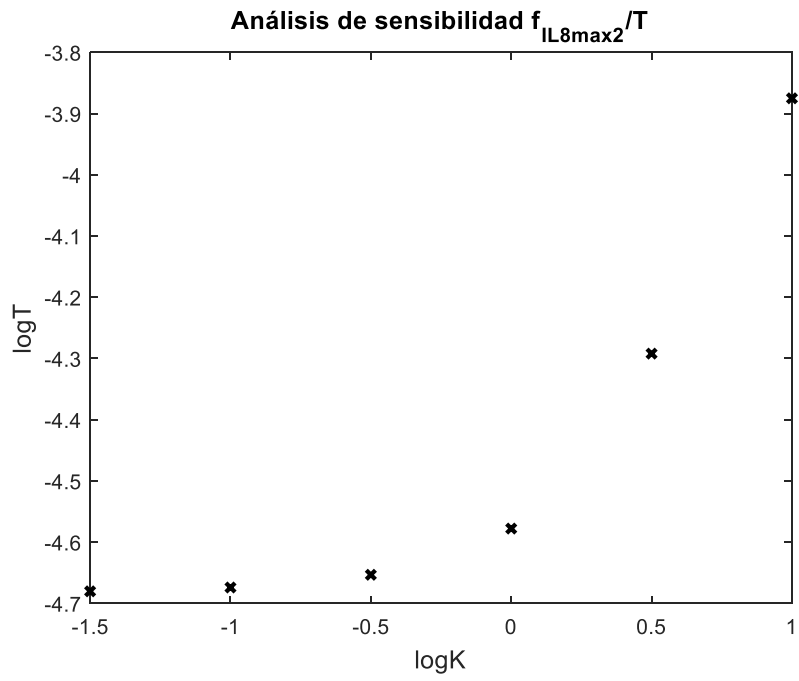


Figura 5.15 Análisis de sensibilidad T

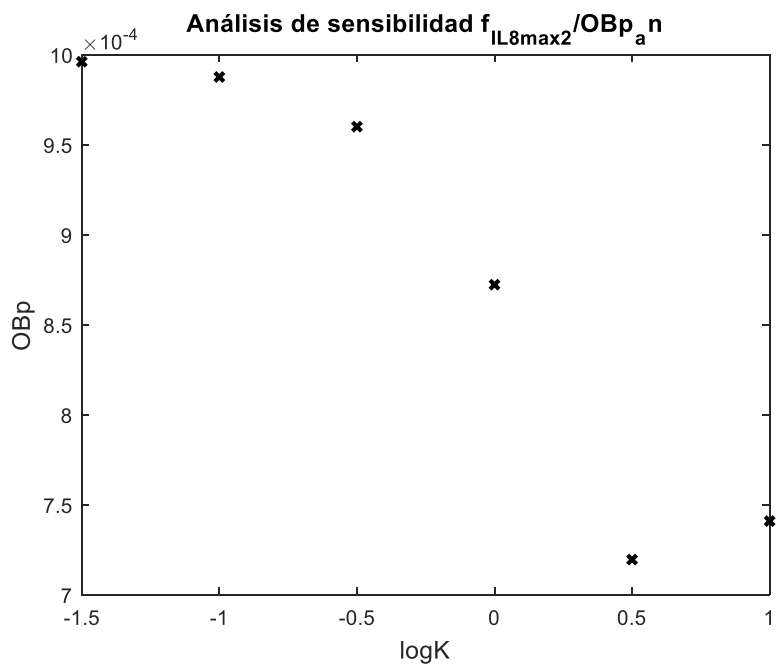


Figura 5.16 Análisis de sensibilidad OBp

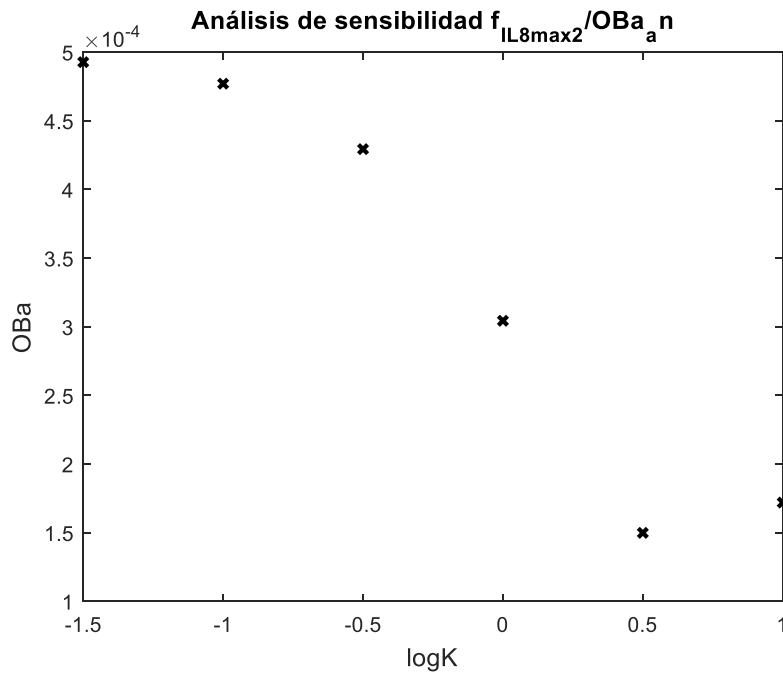


Figura 5.17 Análisis de sensibilidad OBa

En lo que respecta a los osteoclastos, un aumento en el factor dependiente de la interleuquina-8 provoca un incremento en la concentración de los osteoclastos. Al igual que hemos comentado para los osteoblastos, aparece un desequilibrio a partir del estado nominal que provoca una disminución de los osteoclastos. No obstante, los resultados aceptados como coherentes y acordes a las consideraciones teóricas de los estudios realizados son aquellos en los que las concentraciones de osteoclastos aumentan.

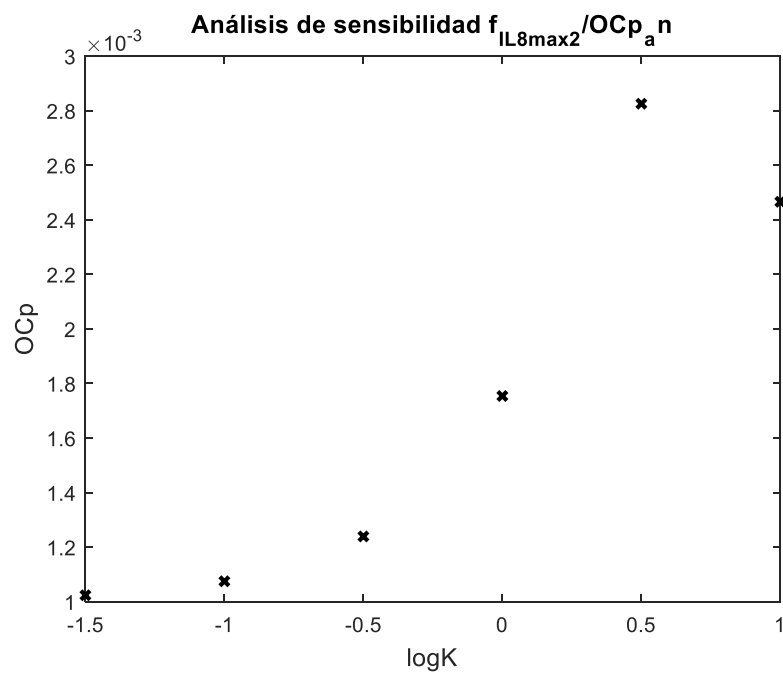


Figura 5.18 Análisis de sensibilidad OCp

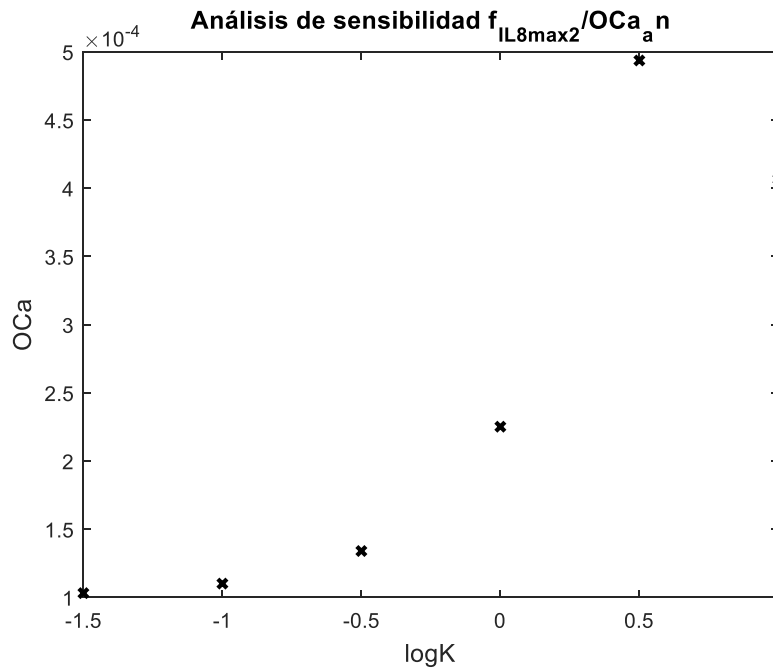


Figura 5.19 Análisis de sensibilidad OCa

Es destacable la influencia que tiene la interleuquina-8 en la fracción volumétrica de matriz ósea. Partiendo de una fbm del 95%, el análisis de sensibilidad indica que aumentando el factor dependiente de la interleuquina se alcanzaría una fbm del 30% (ver figura 5.20). Esta consideración implicaría, para un hueso inicialmente tan denso, perder la mayor parte de su masa ósea, lo que desencadenaría en fracturas. Por lo tanto, no sería viable para una correcta remodelación que el hueso superase en este caso el estado nominal.

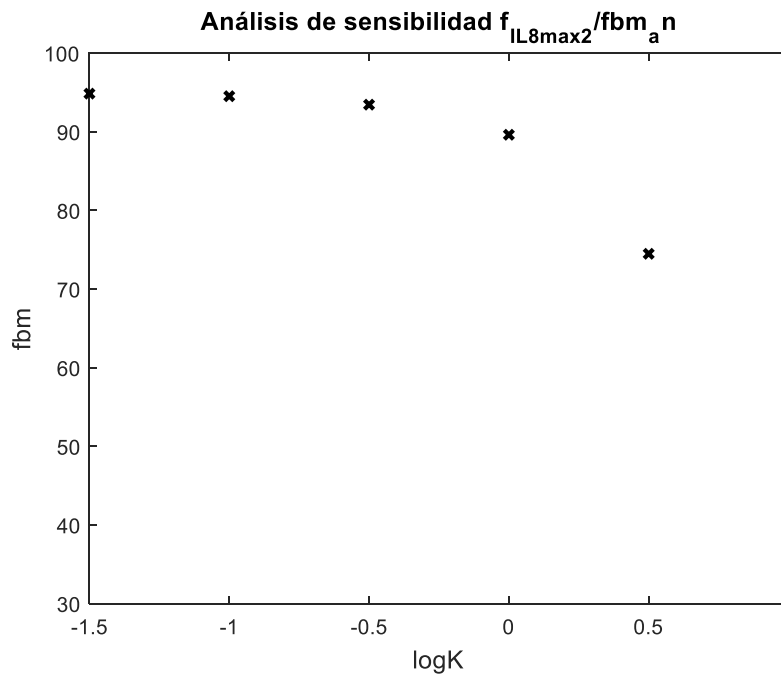


Figura 5.20 Análisis de sensibilidad fbm

Con el valor de OPG ocurre lo comentado previamente para la constante dependiente de las células tumorales. A medida que aumenta el valor del factor asociado a la

interleuquina-8 aumenta la resorción y con ello disminuye la cantidad de OPG (ver figura 5.21).

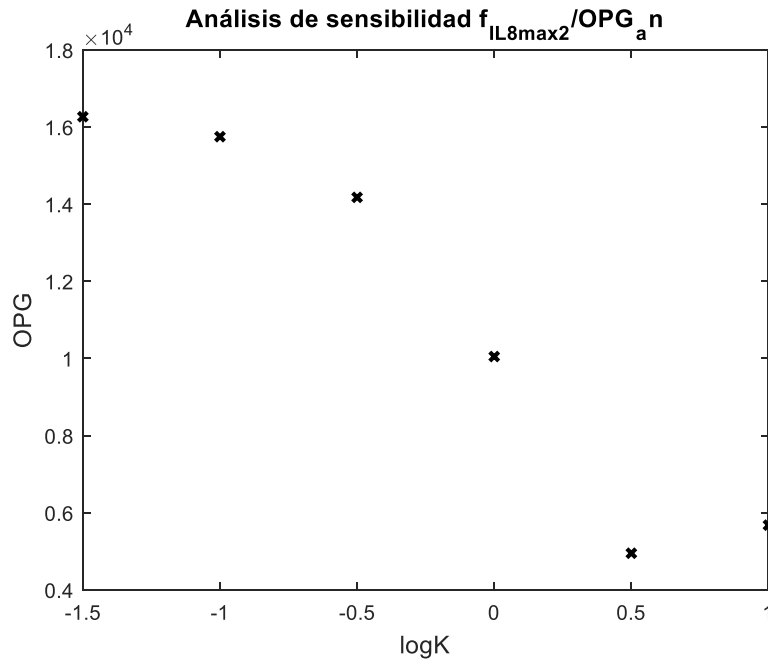


Figura 5.21 Análisis sensibilidad OPG

En lo que respecta a TGF- $\beta$  y a PTH, el incremento del factor y por consiguiente de las células tumorales supone un aumento de la resorción. La mayor actividad resortiva hace que sea más necesaria la presencia de TGF- $\beta$  y de PTH y su cantidad se ve incrementada (ver figuras 5.22 y 5.23, respectivamente). Expresamos en el eje x la constante en formato logarítmico y en el eje y el logaritmo del valor de TGF- $\beta$  y de PTH, respectivamente. Dicho valor se extrae de simular el modelo y tomar el resultado obtenido al final de 5 años.

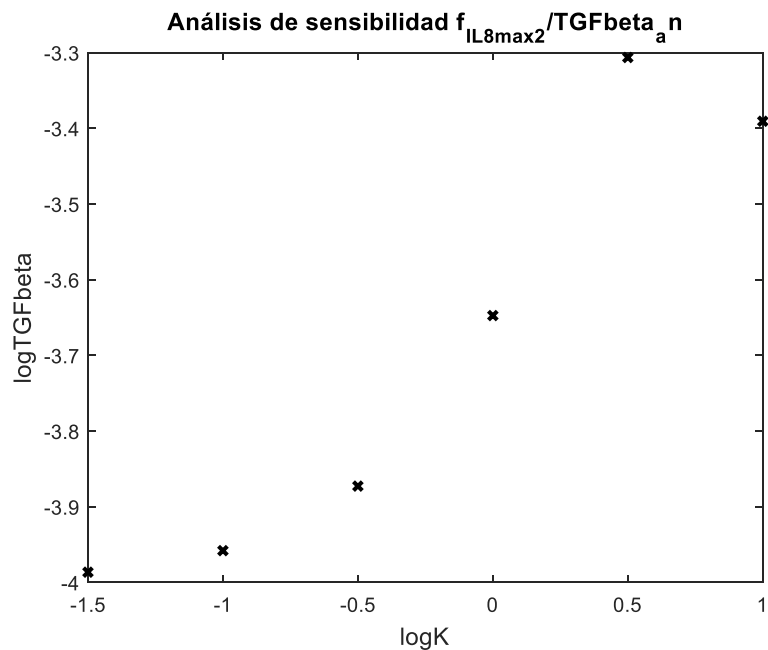


Figura 5.22 Análisis de sensibilidad TGFbeta



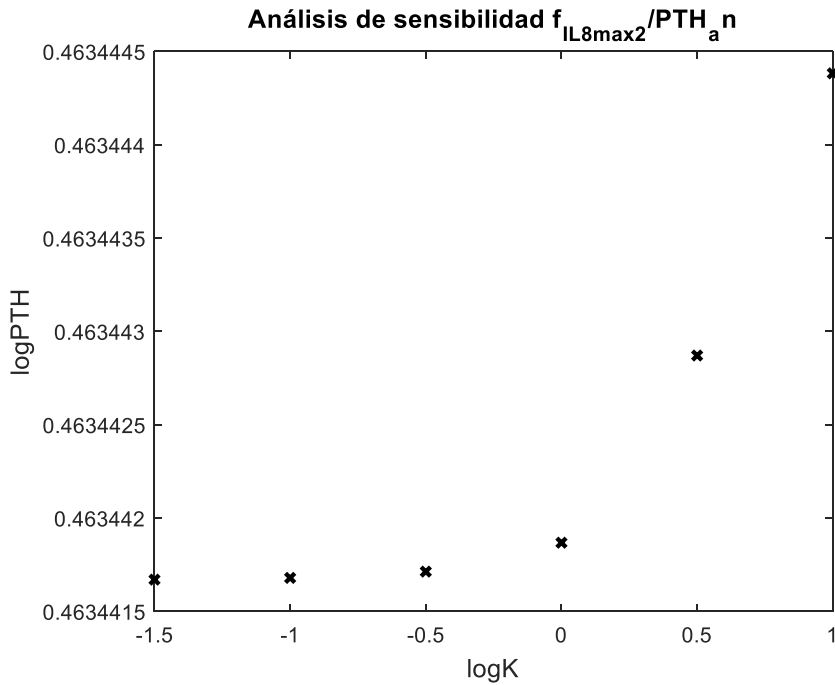


Figura 5.23 Análisis de sensibilidad PTH

### 5.1.2.3. $A_{T\_tratanticancer}$ variable

Vamos a analizar ahora la dependencia del número de células tumorales del tratamiento antiresortivo. Hemos multiplicado la constante  $A_{T\_tratanticancer}$  por  $k=10^p$ , siendo p un valor que varía entre 0 y 3, donde 0 es nuestro estado de equilibrio. A medida que aumenta la constante k se va reduciendo la concentración de células de mieloma presentes en el hueso (ver figura 5.24). En el eje x se representa la evolución de k en formato logarítmico mientras que en el eje y se expresa el logaritmo del número de células cancerígenas al cabo de 5 años.

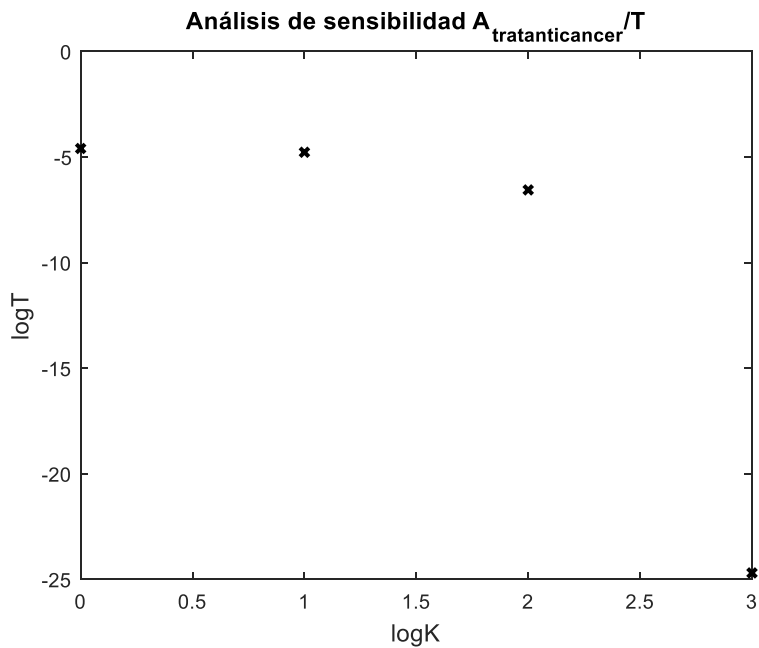


Figura 5.24 Análisis de sensibilidad de  $A_{T\_tratanticancer}/T$

A continuación estudiamos conjuntamente los resultados de  $OB_p$ ,  $OB_a$ ,  $OC_p$  y  $OC_a$  (ver figuras 5.25, 5.26, 5.27 y 5.28, respectivamente). Para valores de  $k$  inferiores a 2 los resultados no presentan variaciones significativas. Sin embargo, a partir de 2 el número de osteoblastos precursores y activos presentes en la remodelación ósea se incrementa de forma exponencial. En lo que respecta a los osteoclastos precursores y activos, no presentan variaciones en valores inferiores a 2 pero disminuyen a partir de este valor. De estas figuras se comprueba que a partir de  $k=2$  el tratamiento antiresortivo tiene efecto en el sistema y reduce la resorción del hueso por parte de los osteoclastos. De este modo disminuye también la concentración de células tumorales y aumenta la formación ósea por parte de los osteoblastos.

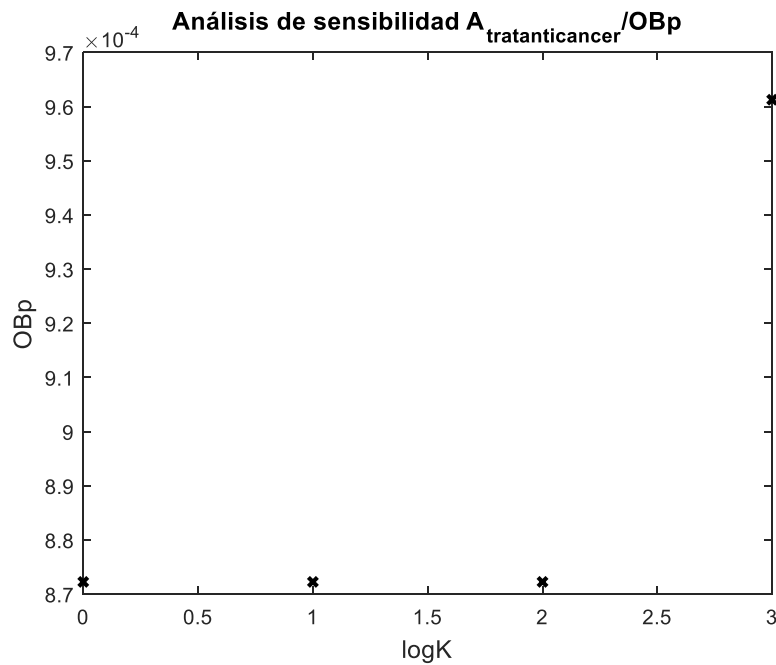


Figura 5.25 Análisis de sensibilidad  $A_{\text{Ttratanticancer}}/OB_p$

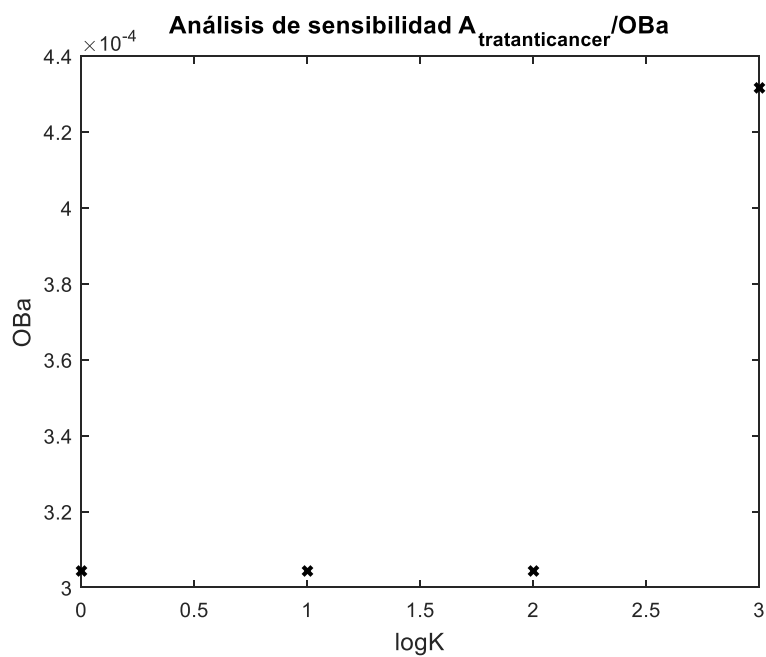


Figura 5.26 Análisis de sensibilidad  $A_{\text{Ttratanticancer}}/OB_a$

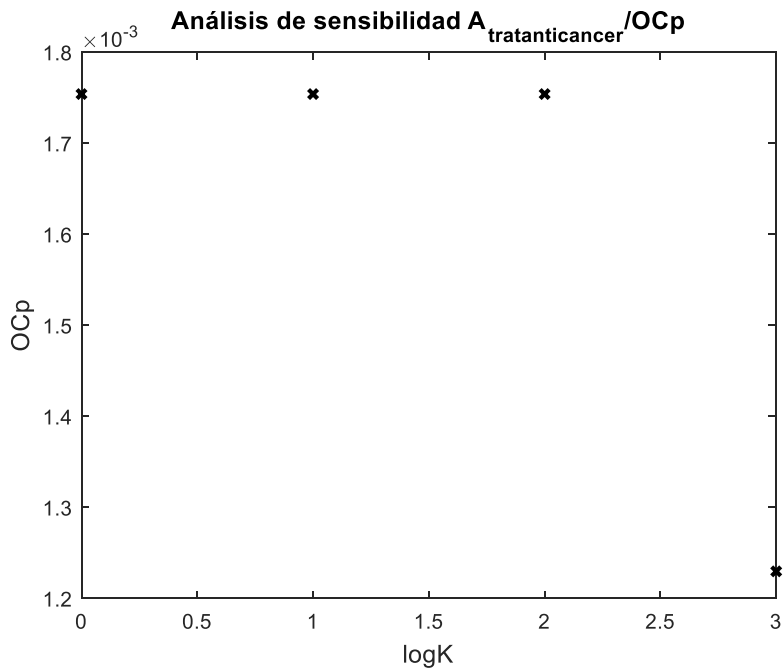


Figura 5.27 Análisis de sensibilidad  $A_{T_{tratanticancer}}/OC_p$

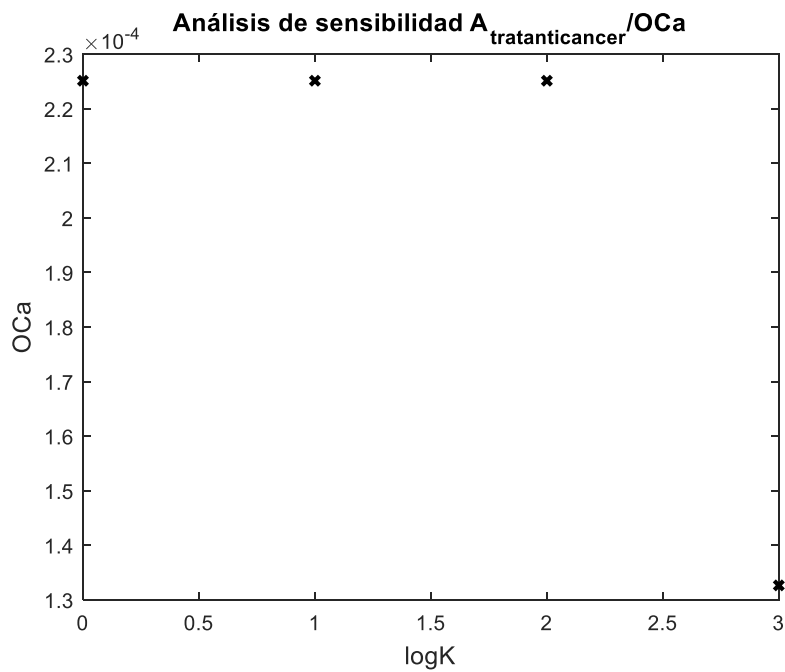


Figura 5.28 Análisis de sensibilidad  $A_{T_{tratanticancer}}/OC_a$

El tratamiento contra el cáncer aplicado disminuye la resorción y la concentración de células de mieloma tal y como hemos comentado previamente. A partir de  $k=2$  el efecto del tratamiento provoca un aumento de la fracción volumétrica de matriz ósea, lo que conlleva que se aproxime al valor inicial del que partíamos (ver figura 5.29). De estas figuras podemos concluir que cuanto mayor es el valor de la constante  $A_{T_{tratanticancer}}$  mayor es el efecto que tiene esta en el tratamiento del cáncer y proporciona mejores resultados.

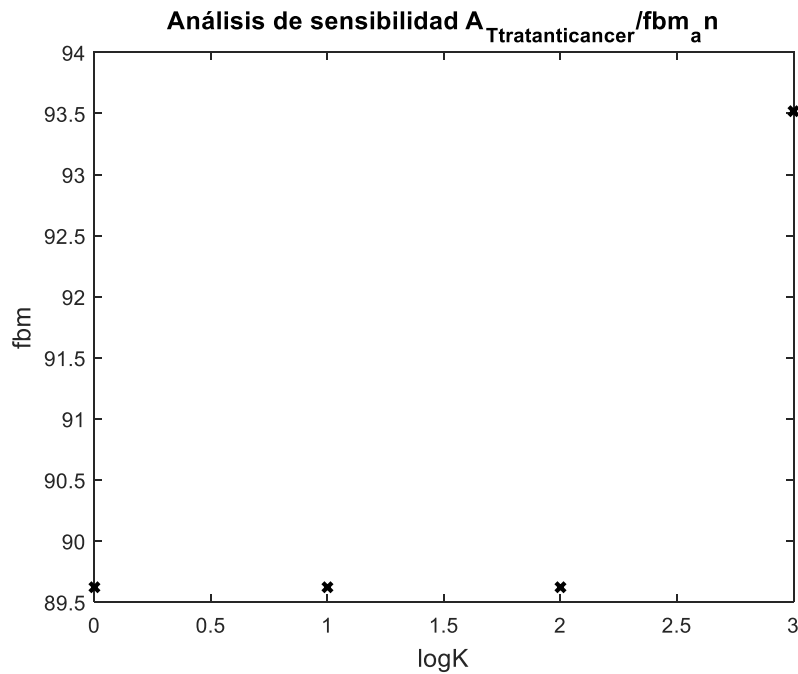


Figura 5.29 Análisis de sensibilidad  $A_{Ttratanticancer}/fbm_a$

#### 5.1.2.4. Otros parámetros involucrados

En el modelo, además de los parámetros para los que hemos analizado el comportamiento están involucrados otros cuyo valor tiene menor influencia en el resto del sistema. A continuación, vamos a mostrar el análisis de sensibilidad realizado con cada uno y explicar brevemente las conclusiones alcanzadas.

Empezamos explicando el análisis de  $f_{IL8max1}$ . Para ello multiplicamos la constante por  $k=10^p$ , estando  $p$  comprendido entre -1,5 y 1. En las figuras 5.30 y 5.31 se observa como ante variaciones en el valor de  $k$  tanto las células de mieloma como la  $fbm$  mantienen los mismos valores que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de  $k$  en formato logarítmico en el eje  $x$  y la concentración de células tumorales al final de la simulación de 5 años en el eje  $y$ . De estas figuras podemos concluir que la constante  $f_{IL8max1}$  no tiene influencia en el resto de parámetros del modelo y que, por tanto, la diferenciación de osteoclastos precursores no se ve afectada por el valor que tome esta constante.

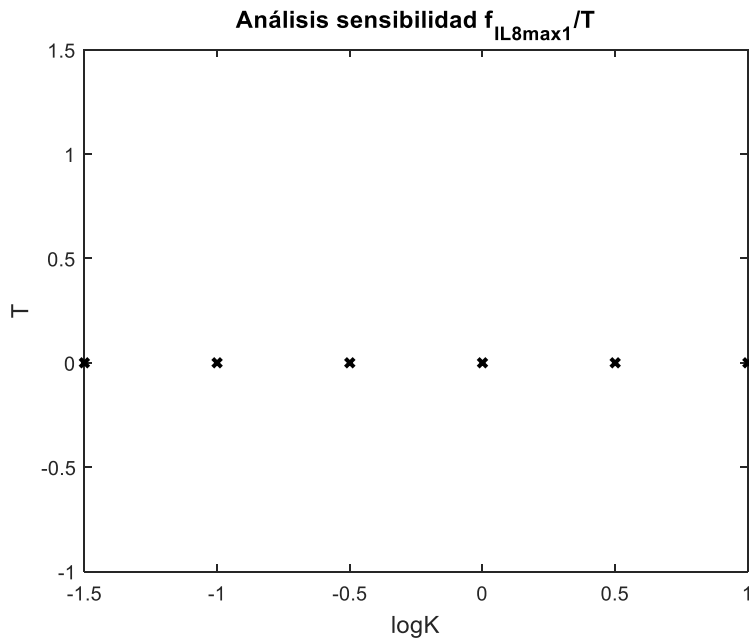


Figura 5.30 Análisis de sensibilidad T

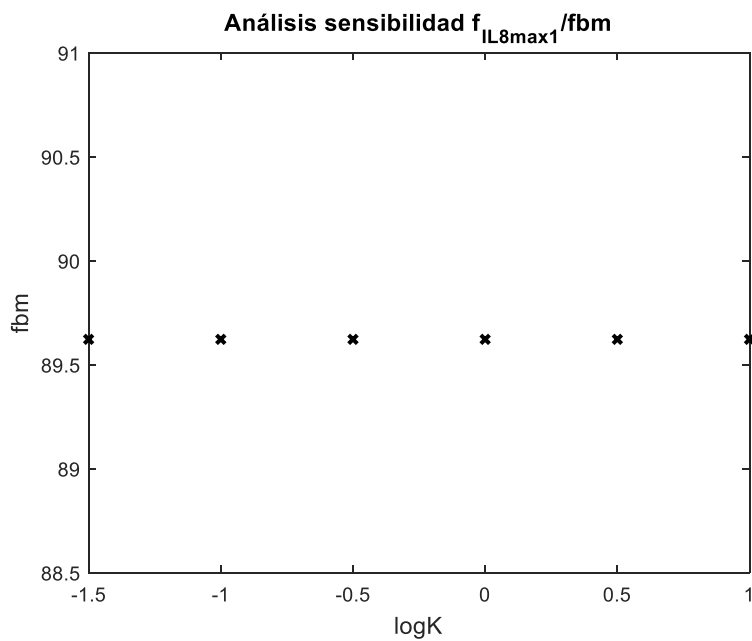


Figura 5.31 Análisis de sensibilidad de fbm

A continuación estudiamos la influencia de la  $k_{IL8}$  en el modelo. Hemos multiplicado la constante por  $k=10^p$ , estando  $p$  comprendido entre -4 y 4. En las figuras 5.32 y 5.33 se observa como variando el valor de  $k$  tanto las células de mieloma como la fbm mantienen los mismos valores que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de  $k$  en formato logarítmico en el eje x y la concentración de células tumorales al cabo de 5 años en el eje y. Para  $k=-4$  se tiene que la concentración de células de mieloma es muy baja y la fbm no varía apenas respecto a su estado inicial. De estas figuras podemos concluir que la constante  $k_{IL8}$  no tiene casi influencia en el resto de parámetros del modelo. Con valores más bajos de  $k$  probablemente se conseguiría disminuir la concentración de células tumorales y por consiguiente que se produjera una fracción volumétrica de matriz ósea más próxima a su condición inicial.

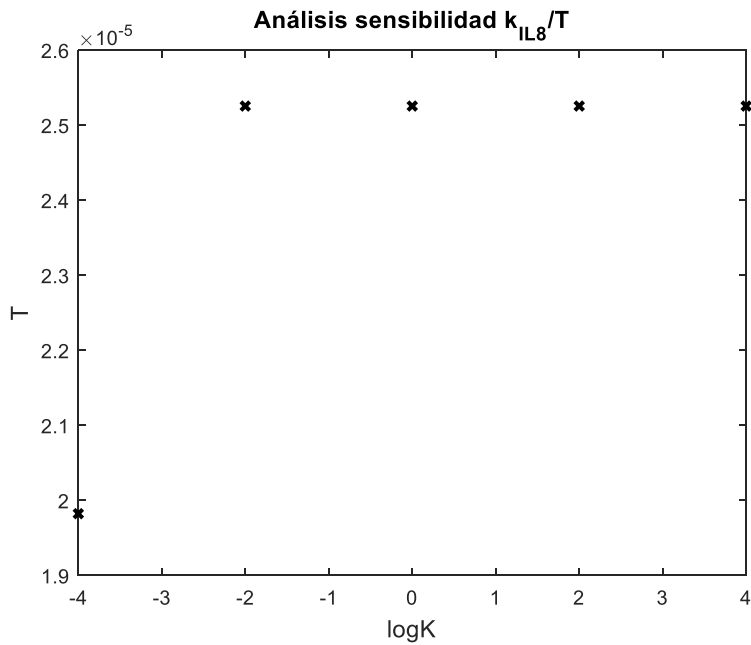


Figura 5.32 Análisis de sensibilidad de T

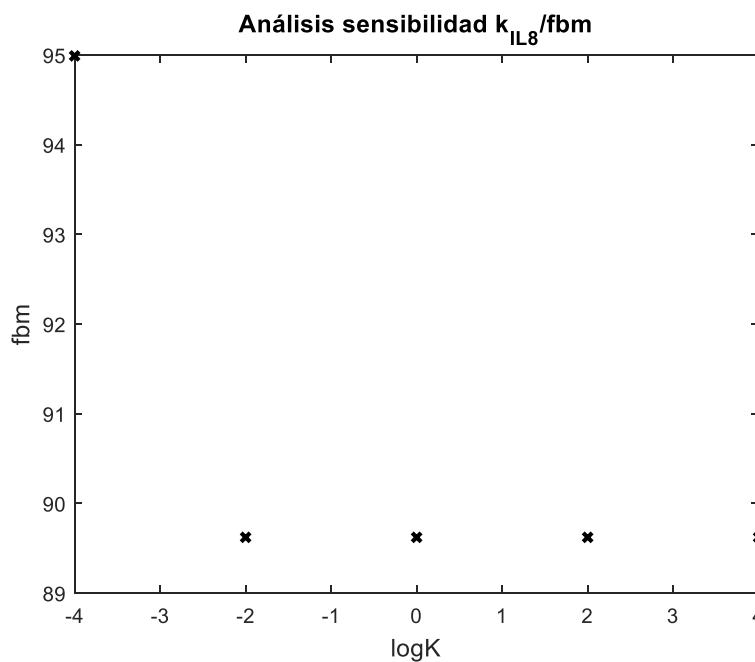


Figura 5.33 Análisis de sensibilidad de fbm

Ahora vamos a analizar la influencia de  $f_{OBpTmax}$ . En las simulaciones multiplicamos la constante por  $k=10^p$ , estando p comprendido entre -1,5 y 1. En las figuras 5.34 y 5.35 se observa como ante variaciones en el valor de k tanto las células de mieloma como la fbm mantienen los mismos valores que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de k en formato logarítmico en el eje x y la concentración de células tumorales al finalizar la simulación de 5 años en el eje y. De estas figuras podemos aceptar que la constante  $f_{OBpTmax}$  no tiene influencia en el resto de parámetros del modelo.

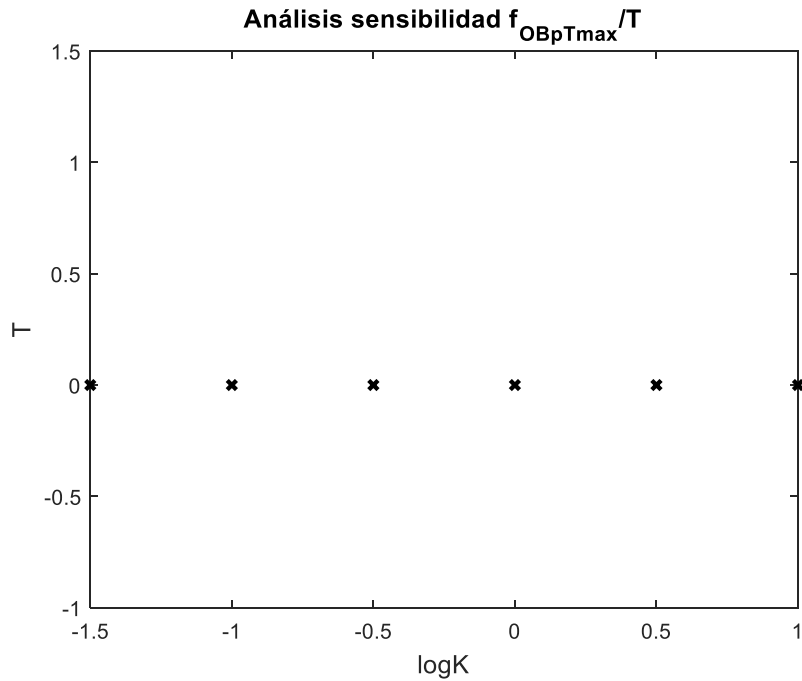


Figura 5.34 Análisis de sensibilidad de T

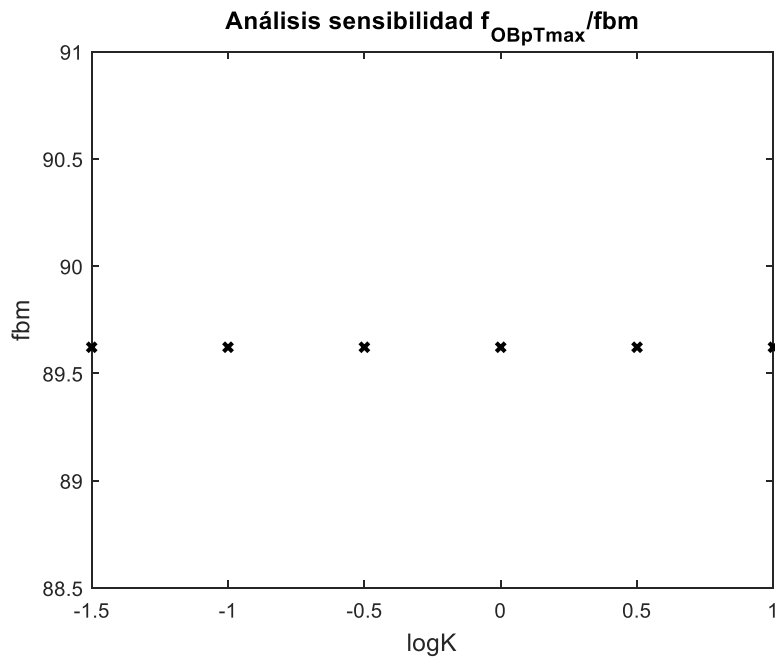


Figura 5.35 Análisis de sensibilidad de fbm

La última constante a analizar es  $k_{PTHp}$ . Hemos multiplicado la constante por  $k=10^p$ , siendo p valores comprendido entre -1,5 y 1. En las figuras 5.36 y 5.37 se observa como ante variaciones en el valor de k tanto las células de mieloma como la fbm se mantienen en valores de aproximadamente el mismo orden que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de k en formato logarítmico en el eje x y la concentración de células tumorales al final de 5 años en el eje y. De estas figuras podemos concluir que la constante  $k_{PTHp}$  tiene una influencia muy pequeña en el resto de parámetros del sistema. A medida que aumenta el valor de la constante también lo hace ligeramente la concentración de células tumorales, a la vez que disminuye la fracción volumétrica de matriz ósea.

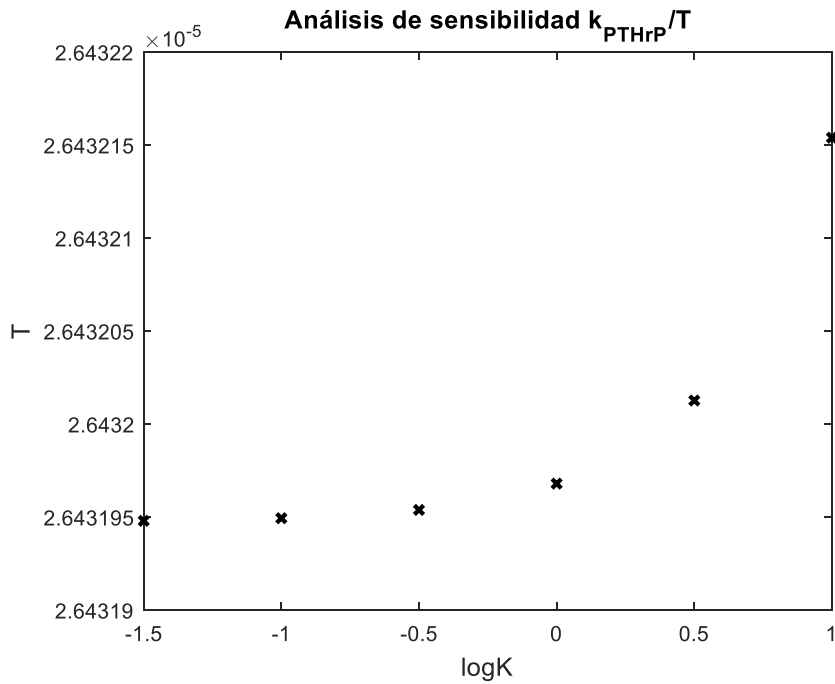


Figura 5.36 Análisis de sensibilidad de T

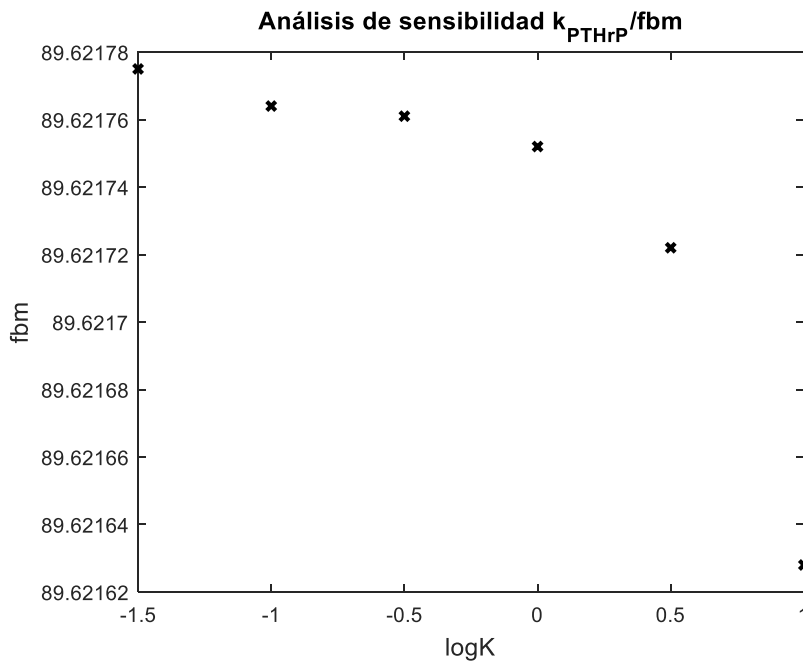


Figura 5.37 Análisis de sensibilidad de fbm

## 5.2. Hueso trabecular

Para analizar la remodelación ósea en un hueso trabecular debemos hacer las mismas consideraciones que con el hueso cortical. Sin embargo, en este caso la fracción volumétrica de matriz ósea inicial es del 30% y la carga de compresión aplicada es de 8 MPa. Los parámetros iniciales vienen dados en la tabla del apartado 4.2.2. y el valor inicial de las células de mieloma es de  $1 \cdot 10^{-5}$ .



De cara a simplificar el desarrollo y conociendo que el comportamiento que presentarán los resultados serán similares a los del hueso cortical, mostraremos los resultados obtenidos y comentaremos si hubiese alguna diferencia en las conclusiones respecto a este tipo de hueso.

### 5.2.1. Comportamiento de las variables

Para las células tumorales se obtiene que, partiendo del estado nominal, la cantidad de células se vería incrementado por 2,5 al cabo de 5 años (ver figura 5.38).

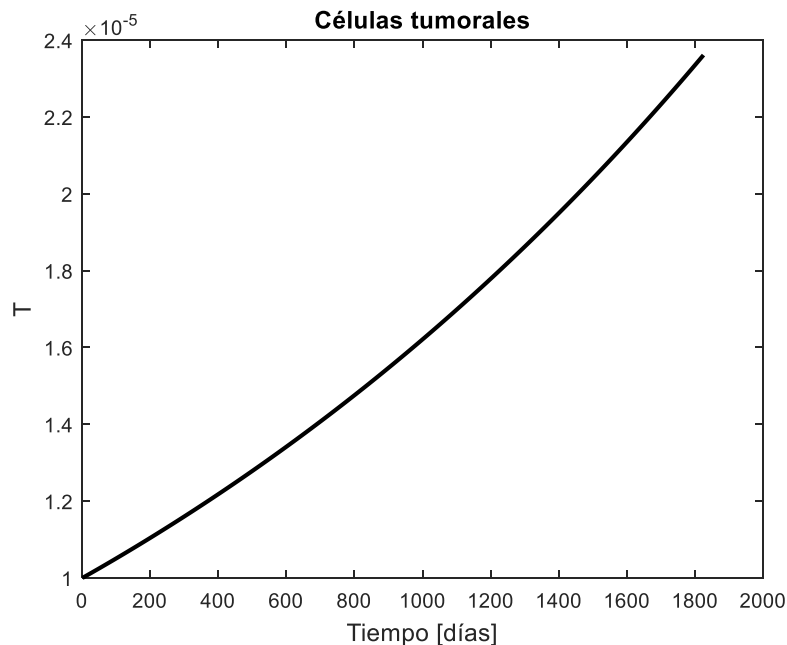
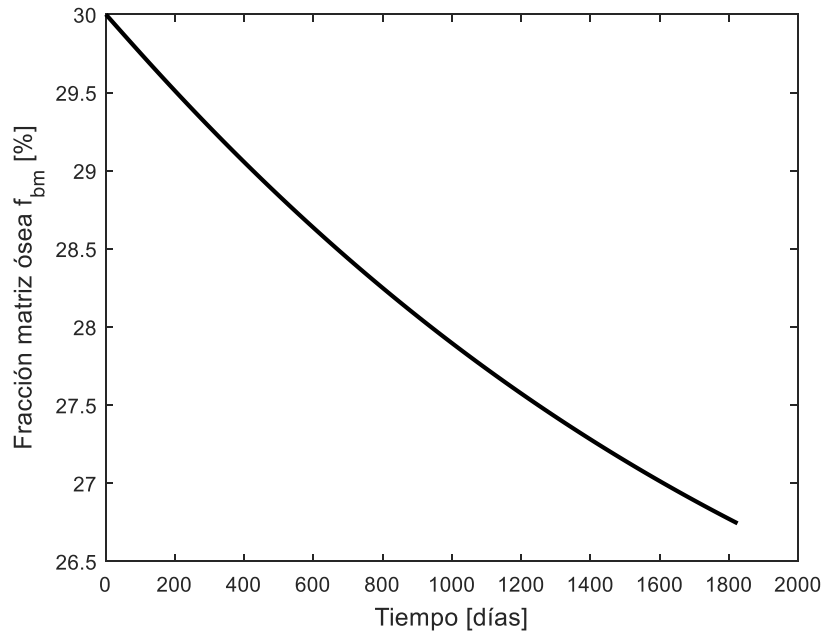


Figura 5.38 Evolución temporal de las células tumorales

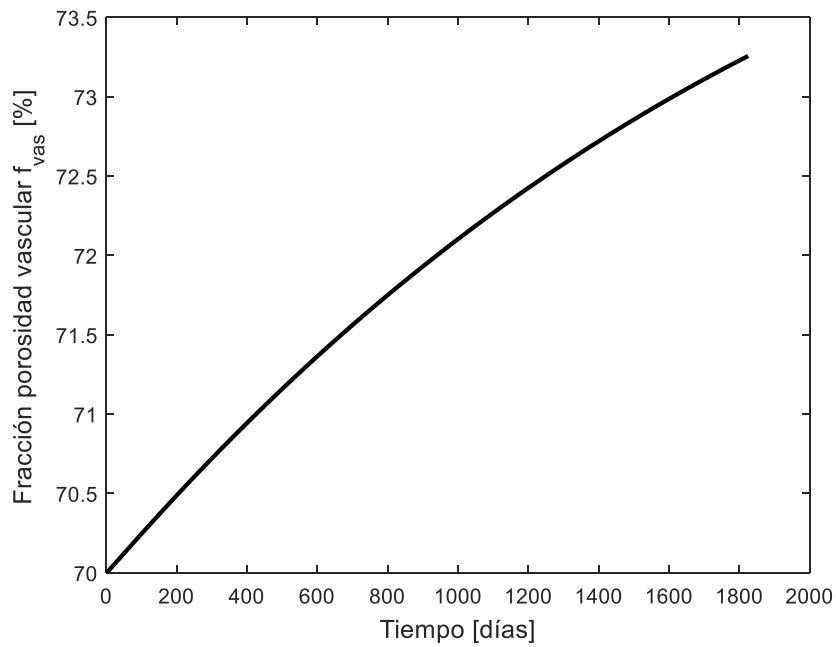
La fracción volumétrica de matriz ósea se iniciaba en un valor del 30% y al completar la simulación resulta inferior al 27% (ver figura 5.39). Este resultado se puede considerar como lógico y una reducción moderada de la masa ósea.

La fracción de porosidad vascular aumenta de forma proporcional a lo que disminuye la fracción de matriz ósea (ver figura 5.40).

Aumenta el nivel de OPG al contrario de lo que sucedía en el hueso cortical. Al ser un tejido óseo muy poroso la presencia de OPG no inhibe la resorción y aumenta con el tiempo (ver figura 5.41).



**Figura 5.39** Evolución temporal de fbm



**Figura 5.40** Evolución temporal de fvas

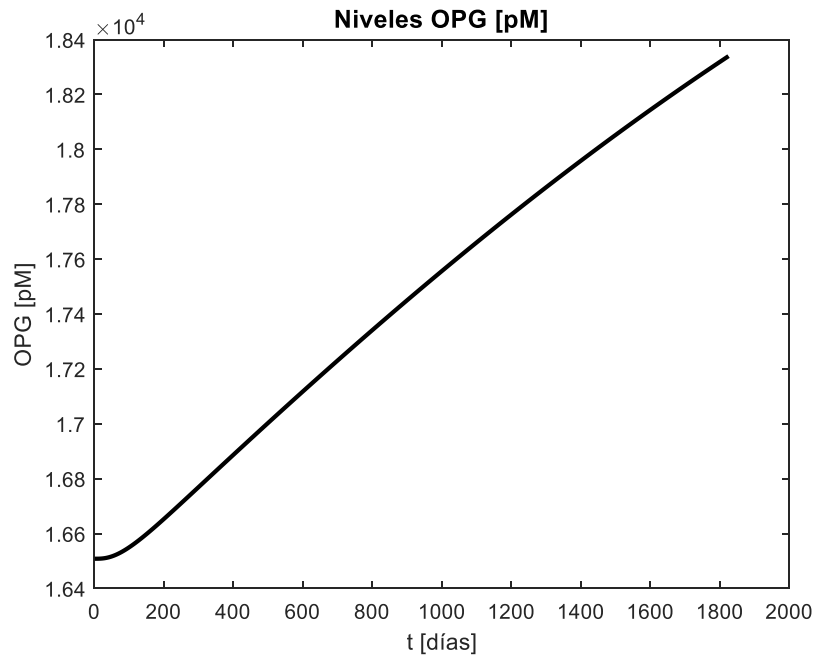


Figura 5.41 Evolución temporal de OPG

En lo que respecta a la fracción de ceniza, disminuye con el tiempo (ver figura 5.42). Este decrecimiento implica que se reduce la cantidad de mineral presente en el hueso y que, por el contrario, aumenta la presencia de colágeno.

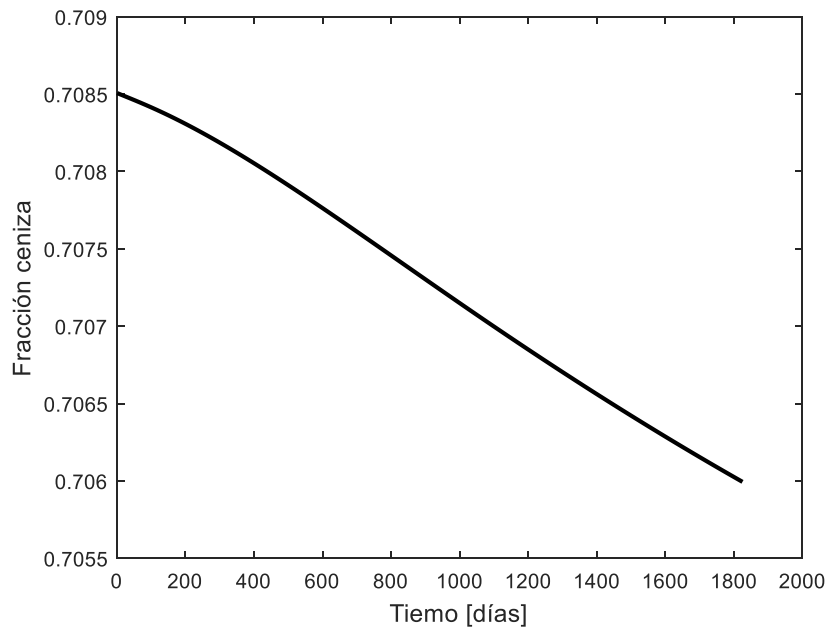


Figura 5.42 Evolución temporal de la fracción de ceniza

Por último, decrece el valor de RANKL (ver figura 5.43). El argumento es el mismo que ocurría para OPG, el tipo de hueso condiciona el comportamiento y la influencia en la resorción ósea.

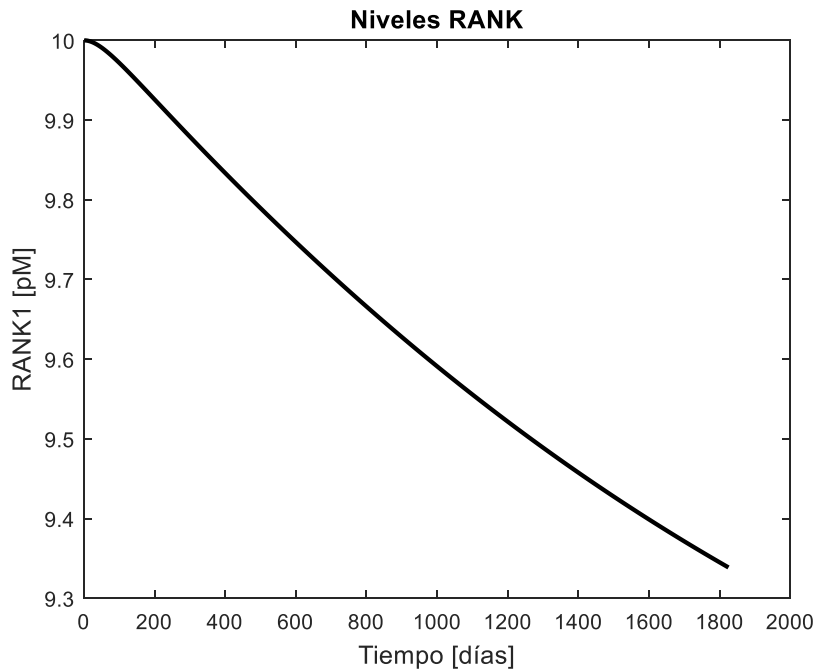


Figura 5.43 Evolución temporal de RANKL

### 5.2.2. Análisis de sensibilidad

Para el análisis de sensibilidad del hueso trabecular aparecen resultados similares que para el hueso cortical. Las variables que proporcionan cambios en el sistema son  $k_T$ ,  $f_{IL8max2}$  y  $A_{Ttratanticancer}$ .

Para realizar el análisis de sensibilidad utilizaremos el mismo planteamiento que en el hueso cortical. Se aceptará una concentración inicial de células de mieloma de  $10^{-5}$  y se proporcionarán los resultados de la evolución al cabo de 5 años. Para medir la sensibilidad se irá multiplicando la constante por valores inferiores y superiores a su estado nominal para ver cómo estos modifican el resultado obtenido. Con este fin vamos a multiplicar las constantes por  $k=10^p$ , donde  $p$  es un valor que varía según el parámetro que queramos representar. Al aplicar esta variación consideramos que  $p=0$  es el estado nominal.

En la tabla 5.2 presentamos los parámetros tratados en el análisis de sensibilidad. Incluimos los valores máximos y mínimos estudiados así como los valores máximos y mínimos de las células de mieloma y de la fracción volumétrica de matriz ósea alcanzados por el modelo. Para ello, variamos el parámetro que estamos estudiando manteniendo el resto constantes.

Vamos a analizar por separado la influencia de cada variable modificando su valor y manteniendo constantes el resto de parámetros.

Constante	Valor máx cte	Valor mín cte	Valor máx T	Valor mín T	fbm máx	fbm mín
$k_T$	2000	6,324	$9,540 \cdot 10^{-3}$	$1,022 \cdot 10^{-5}$	26,743	26,543
$f_{IL8max2}$	5	0,016	$2,484 \cdot 10^{-5}$	$1,729 \cdot 10^{-5}$	29,888	9,825
$A_{Ttratanticancer}$	0,1	0,0001	$2,525 \cdot 10^{-5}$	$2,214 \cdot 10^{-25}$	29,668	26,743
$f_{IL8max1}$	5	0,016	$2,256 \cdot 10^{-5}$	$2,256 \cdot 10^{-5}$	26,743	26,743
$k_{IL8}$	$10^{11}$	1000	$2,377 \cdot 10^{-5}$	$2,256 \cdot 10^{-5}$	29,976	26,743
$f_{OBpTmax}$	5	0,016	$2,256 \cdot 10^{-5}$	$2,256 \cdot 10^{-5}$	26,743	26,743
$k_{PTHrP}$	300000	948,69	$2,256 \cdot 10^{-5}$	$2,256 \cdot 10^{-5}$	26,743	26,543

Tabla 5.2 Valores del análisis de sensibilidad trabecular

### 5.2.2.1. $k_T$ variable

Al igual que para el hueso cortical, la concentración de células tumorales aumenta a medida que lo hace su constante (ver figura 5.44). En el eje x se representa la evolución de k en formato logarítmico mientras que en el eje y se expresa el logaritmo de la concentración de células tumorales al finalizar la simulación de 5 años.

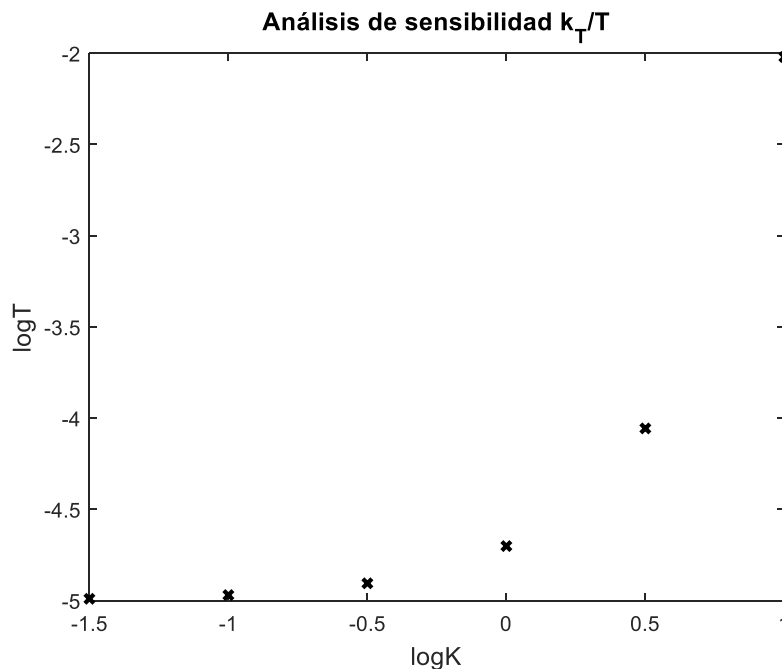


Figura 5.44 Análisis de sensibilidad células tumorales

Con el incremento de esta constante también se observa que aumenta el número de osteoblastos precursores y se reduce el de osteoblastos activos. En lo que respecta a los osteoclastos, disminuyen los osteoclastos precursores y aumentan los activos (ver figuras 5.45, 5.46, 5.47 y 5.48, respectivamente).

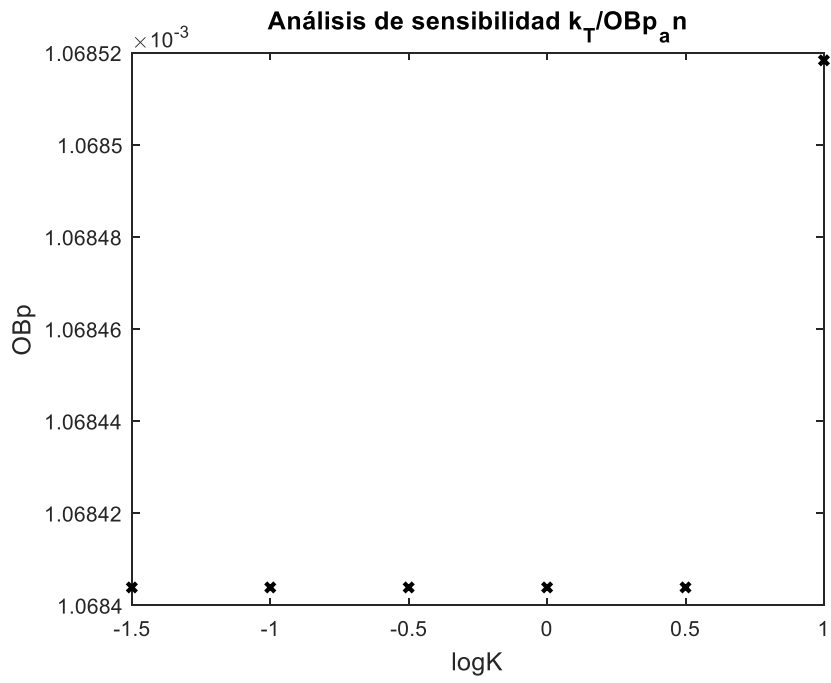


Figura 5.45 Análisis sensibilidad OBp

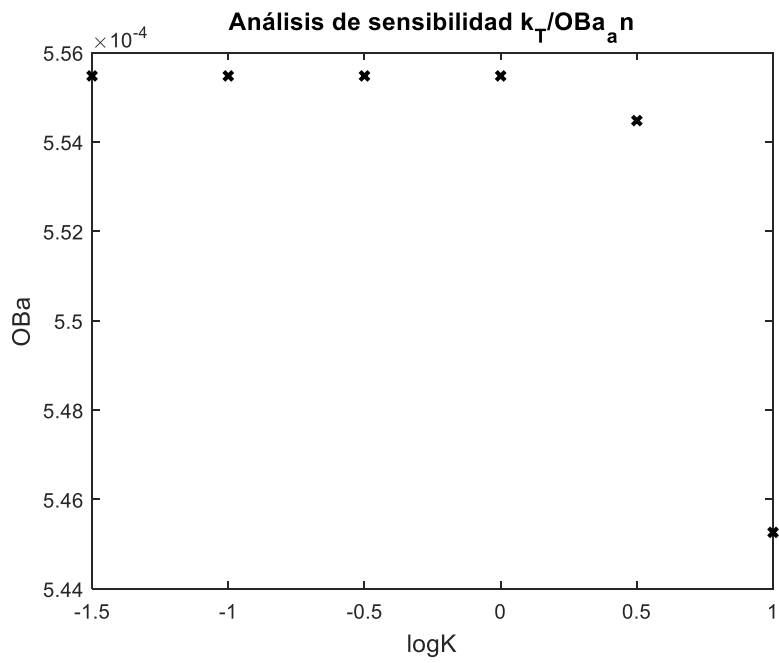


Figura 5.46 Análisis sensibilidad OBa

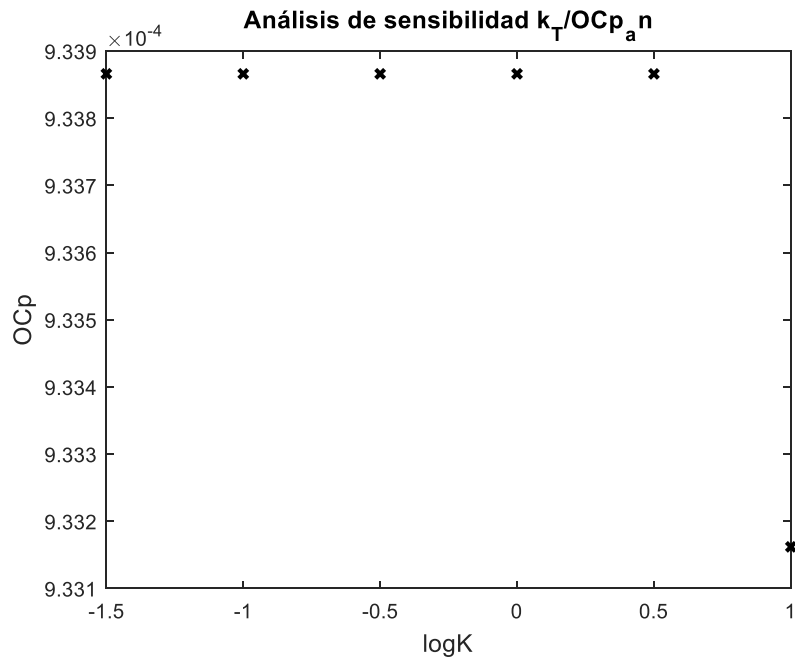


Figura 5.47 Análisis sensibilidad OCp

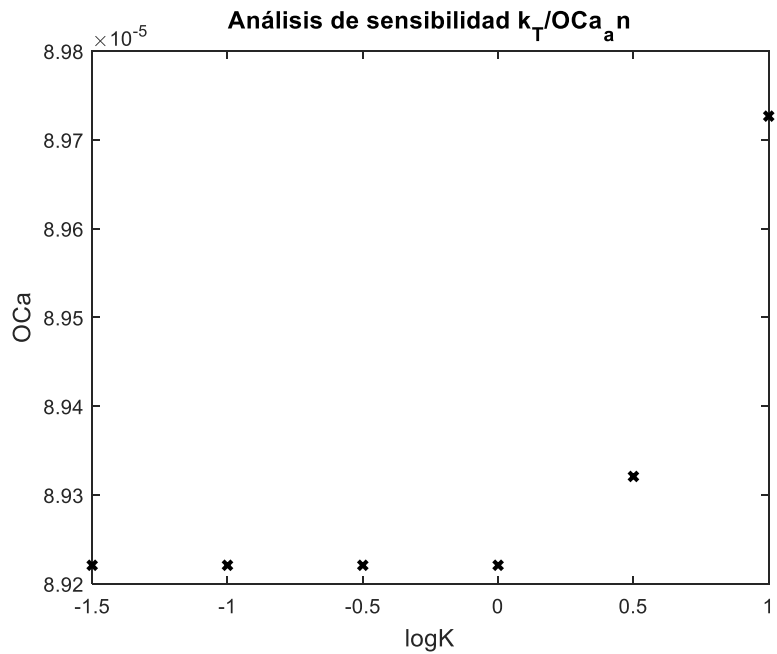


Figura 5.48 Análisis sensibilidad OCa

Por otro lado, la fracción de ceniza se ve incrementada con el aumento de la constante dependiente de las células tumorales. El aumento aparece a partir del estado nominal considerado en el modelo (ver figura 5.49).

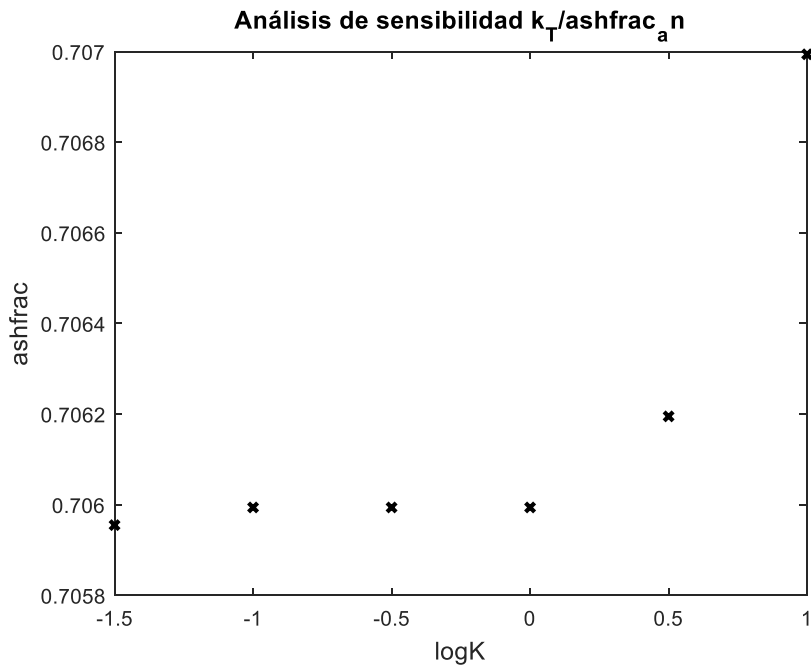


Figura 5.49 Análisis de sensibilidad fracción de ceniza

Por último, a medida que aumenta la constante disminuye el valor de OPG. Este factor se encuentra asociado a que el incremento de las células tumorales está vinculado a el incremento de la resorción ósea y por consiguiente la reducción de OPG. Por el contrario, aumenta la concentración de TGF- $\beta$  con las células de mieloma (ver figuras 5.50 y 5.51, respectivamente).

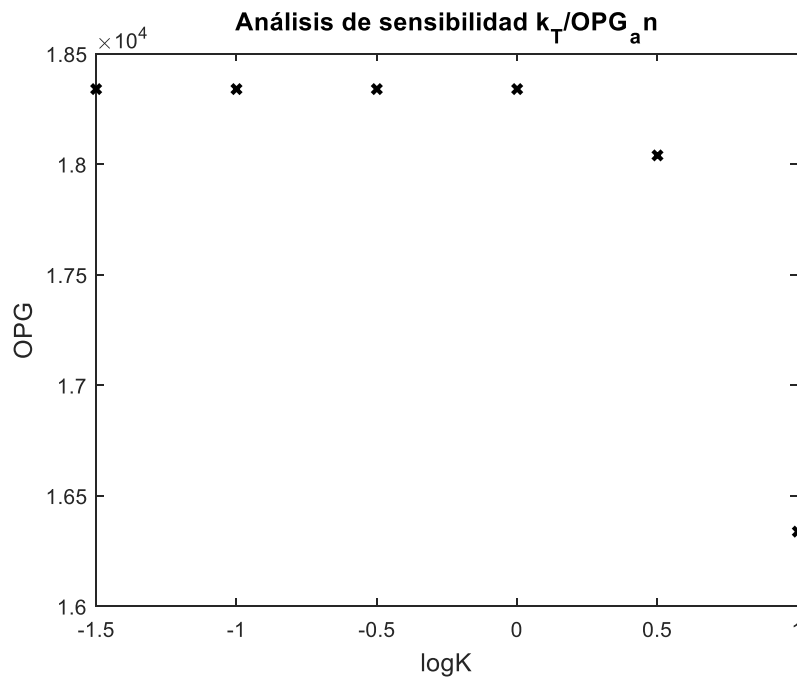


Figura 5.50 Análisis de sensibilidad OPG



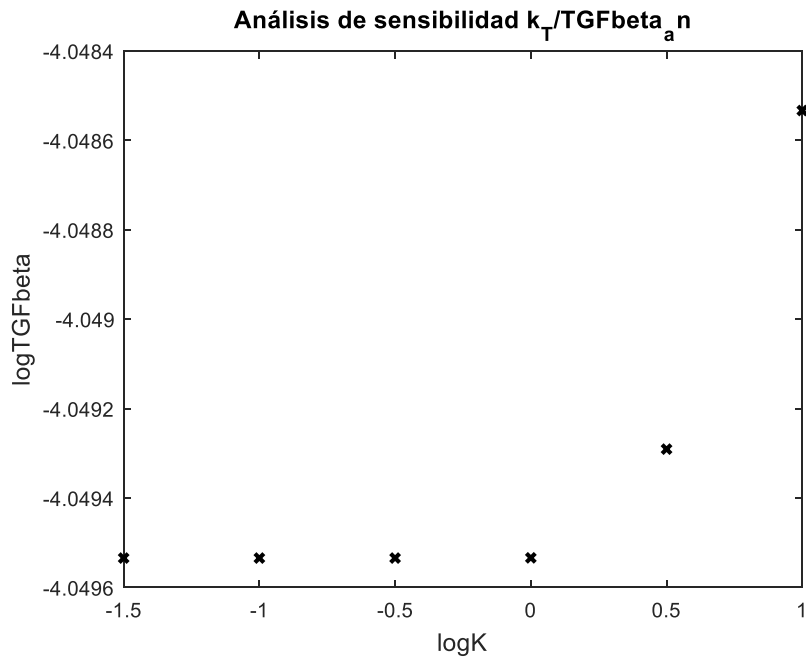


Figura 5.51 Análisis de sensibilidad TGFbeta

### 5.2.2.2. $f_{IL8max2}$ variable

Al modificar el factor dependiente de la interleuquina-8 se observa que se reduce la concentración de células tumorales. Esto implica que, para un hueso, trabecular el incremento de la interleuquina supone una reducción progresiva de la diferenciación de células de mieloma (ver figura 5.52). En el eje x se representa la evolución de k en formato logarítmico mientras que en el eje y se expresa la concentración de células tumorales al cabo de 5 años.

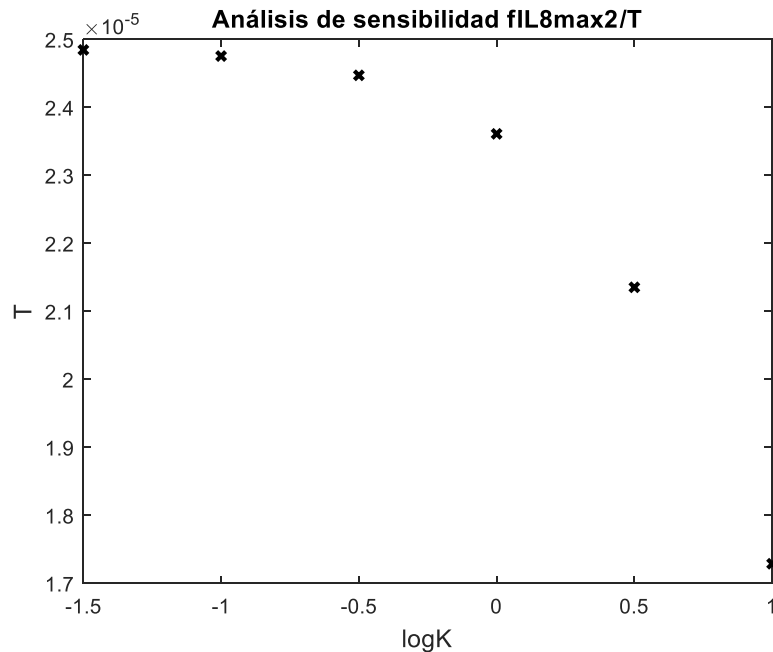


Figura 5.52 Análisis de sensibilidad T

Ahora, considerando la influencia que tiene el factor en la remodelación ósea y en el comportamiento de las poblaciones celulares comprobamos que a medida que se

incrementa el factor, lo hace también el número de osteoblastos precursores. Los osteoblastos activos también se ven afectados por la disminución de las células tumorales. En lo que respecta a los osteoclastos tanto los precursores como los activos disminuyen a medida que aumenta el factor dependiente de la interleuquina-8. El decrecimiento de las células tumorales induce el aumento de la formación y la reducción de la resorción (ver figuras 5.53, 5.54, 5.55 y 5.56, respectivamente).

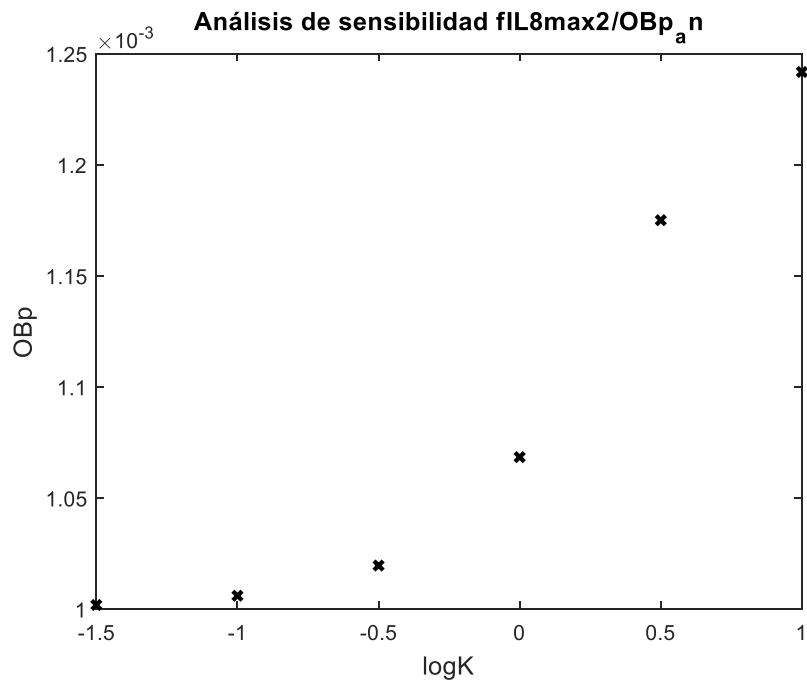


Figura 5.53 Análisis sensibilidad OBp

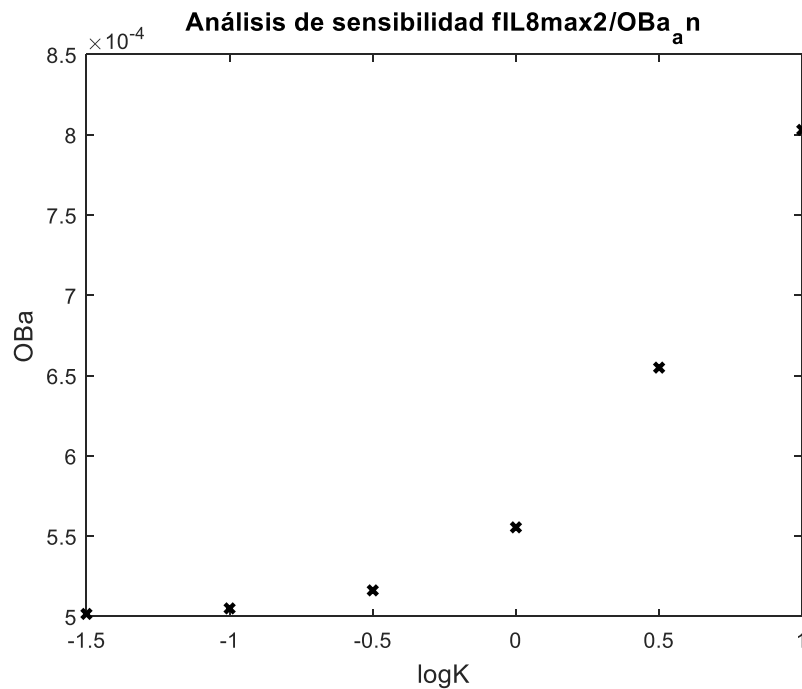


Figura 5.54 Análisis sensibilidad OBa

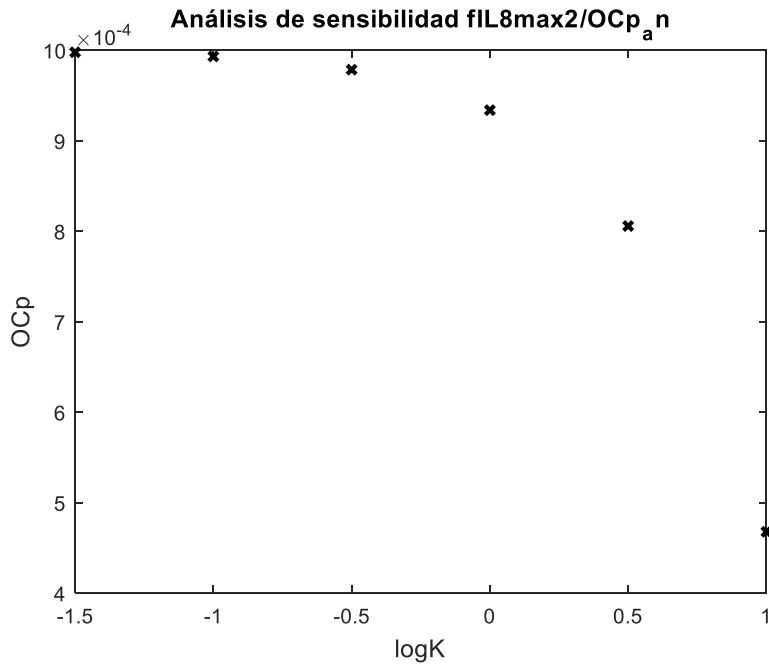


Figura 5.55 Análisis sensibilidad OCp

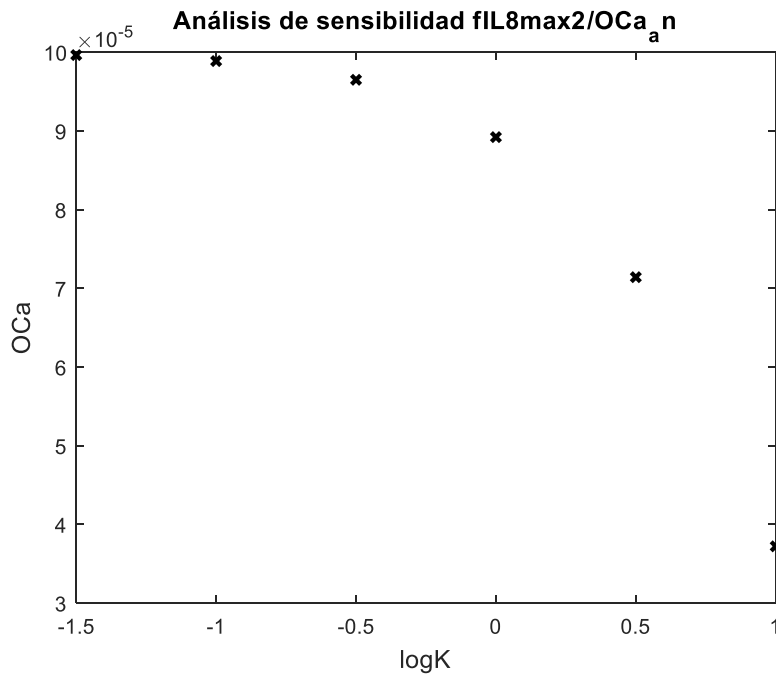


Figura 5.56 Análisis sensibilidad OCa

La disminución de la resorción y de las células tumorales provoca el aumento de OPG y la disminución de TGF- $\beta$  según el criterio que se ha explicado previamente (ver figuras 5.57 y 5.58, respectivamente). Al igual que en casos anteriores, el eje y de TGF- $\beta$  se expresa como logaritmo del valor obtenido al finalizar la simulación de 5 años.

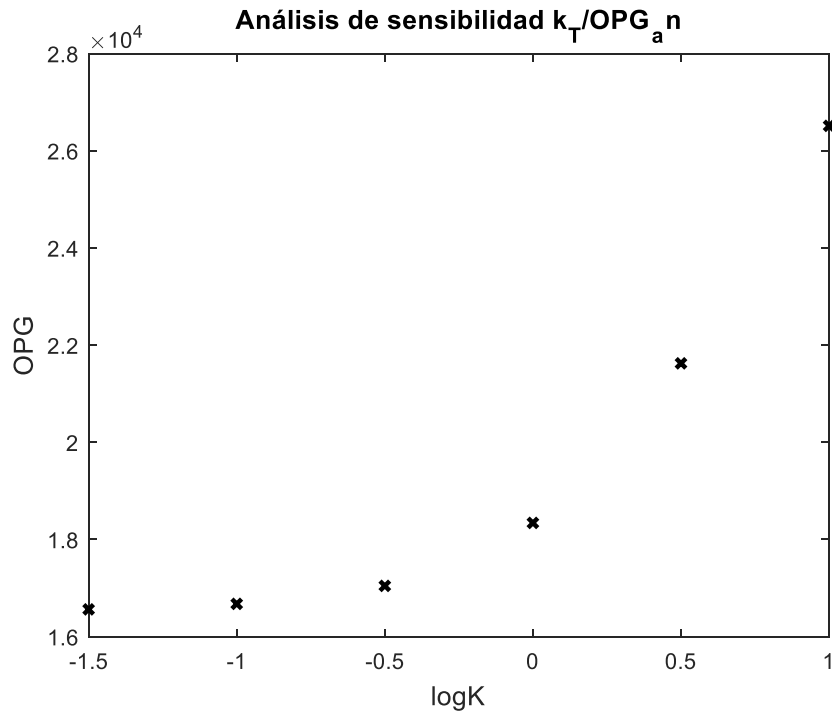


Figura 5.57 Análisis sensibilidad OPG

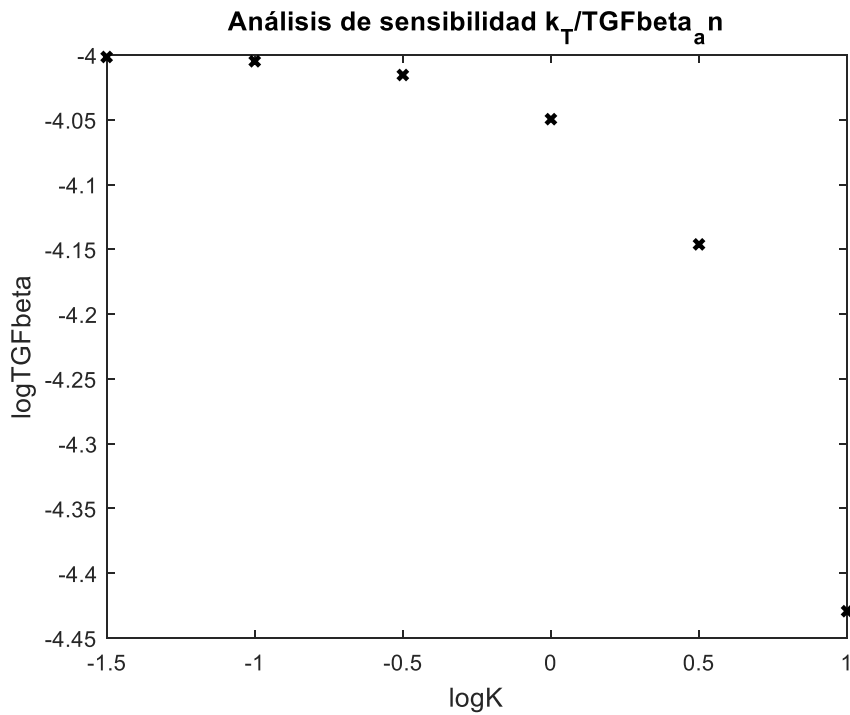


Figura 5.58 Análisis sensibilidad TGFbeta

### 5.2.2.3. $A_{T_{tratanticancer}}$ variable

El análisis a realizar es el mismo que hemos planteado para el hueso cortical. Analizamos primero la dependencia del número de células tumorales del tratamiento antiresortivo. Hemos multiplicado la constante  $A_{T_{tratanticancer}}$  por  $k=10^p$ , siendo p un valor que varía entre 0 y 3, siendo  $k=0$  el estado de equilibrio. A medida que aumenta la constante k se va reduciendo la concentración de células de mieloma presentes en el

hueso (ver figura 5.59). Representamos en el eje x se la evolución de k en formato logarítmico mientras que en el eje y se expresa el logaritmo del número de células tumorales al cabo de 5 años.

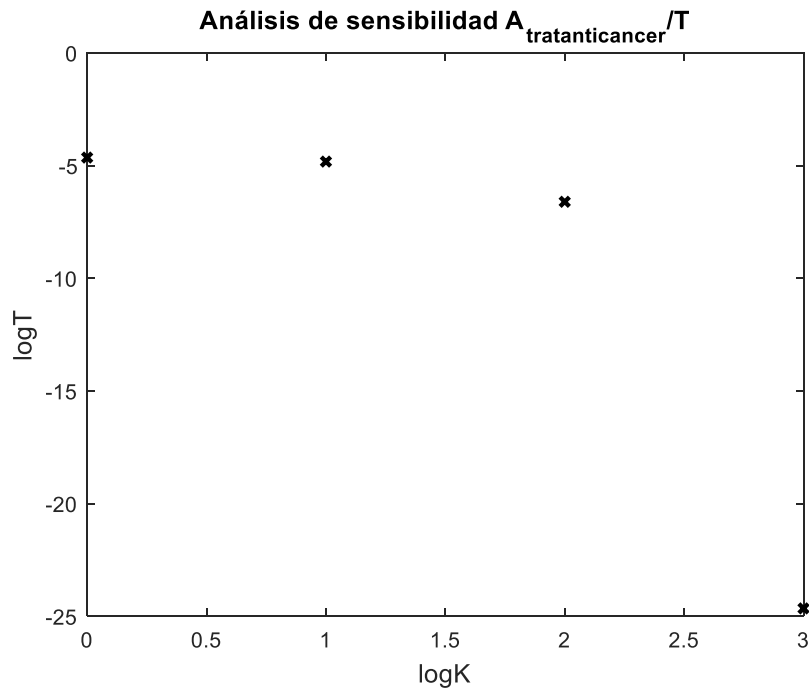


Figura 5.59 Análisis de sensibilidad  $A_{\text{Ttratanticancer}}/T$

A continuación estudiamos conjuntamente los resultados de  $OB_p$ ,  $OB_a$ ,  $OC_p$  y  $OC_a$  (ver figuras 5.60, 5.61, 5.62 y 5.63, respectivamente). Para valores de  $k$  inferiores a 2 los resultados no presentan variaciones significativas. A partir de 2 el número de osteoblastos precursores y activos presentes en la remodelación ósea se incrementa de forma exponencial. En lo que respecta a los osteoclastos precursores y activos, disminuyen a partir de  $k=2$ . De estas figuras se comprueba que a partir de  $k=2$  el tratamiento antiresortivo tiene efecto en el sistema y reduce la resorción del hueso por parte de los osteoclastos. De este modo disminuye también la concentración de células tumorales y aumenta la formación ósea por parte de los osteoblastos.

El tratamiento contra el cáncer aplicado disminuye la resorción y la concentración de células de mieloma presentando el mismo comportamiento que en el hueso cortical. A partir de  $k=2$  el efecto del tratamiento provoca un aumento de la fracción volumétrica de matriz ósea, lo que conlleva que se aproxime al valor inicial del que partíamos (ver figura 5.64). De estas figuras podemos concluir que cuanto mayor es el valor de la constante  $A_{\text{Ttratanticancer}}$  mayor es el efecto que tiene esta en el tratamiento del cáncer y proporciona mejores resultados.

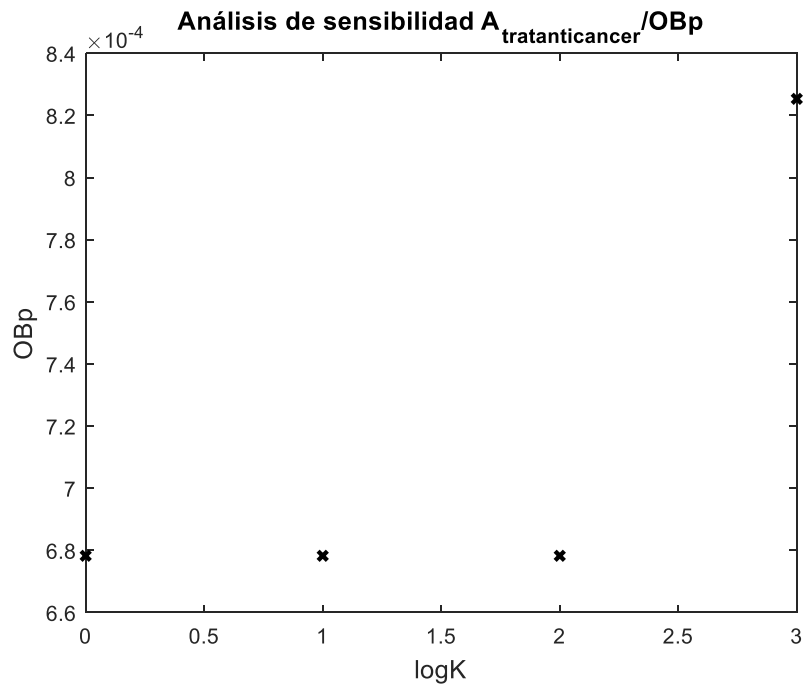


Figura 5.60 Análisis de sensibilidad  $A_{\text{Ttratanticancer}}/OBp$

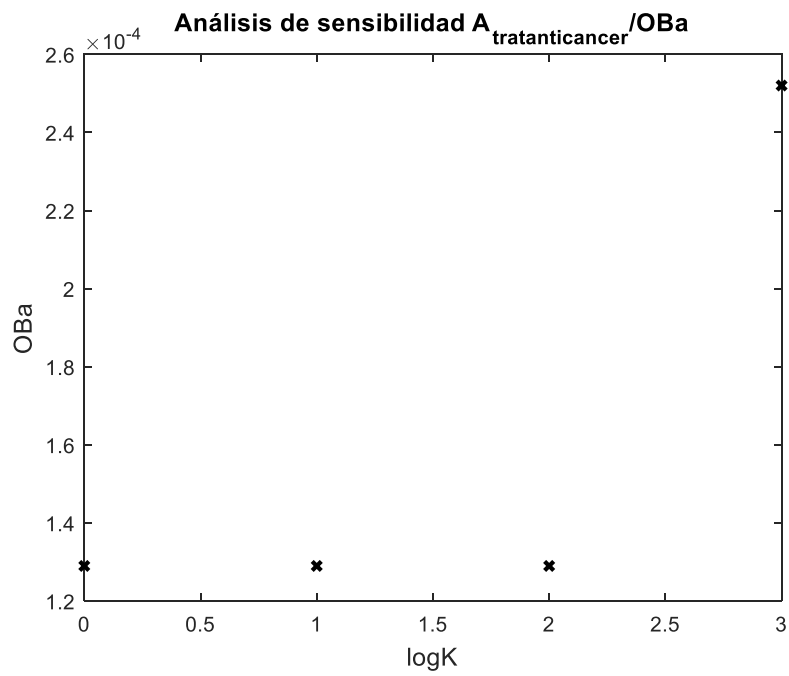


Figura 5.61 Análisis de senbilidad  $A_{\text{Ttratanticancer}}/OBa$

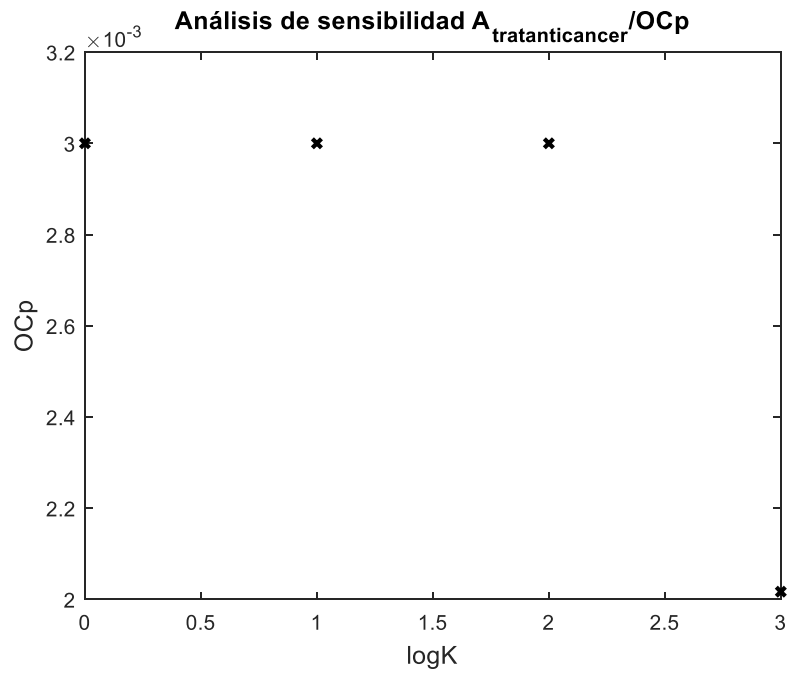


Figura 5.62 Análisis de sensibilidad  $A_{\text{Ttratanticancer}}/OCp$

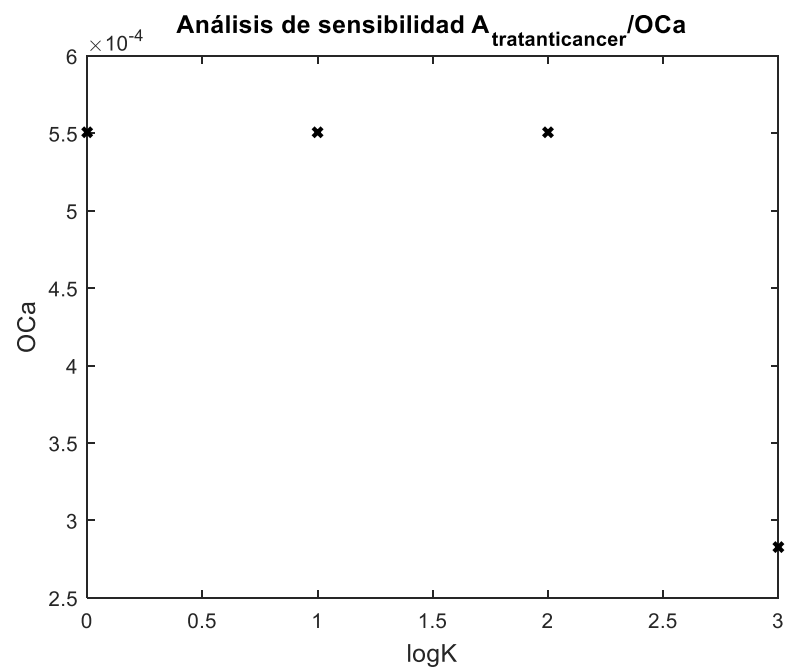


Figura 5.63 Análisis de senbilidad  $A_{\text{Ttratanticancer}}/OCa$

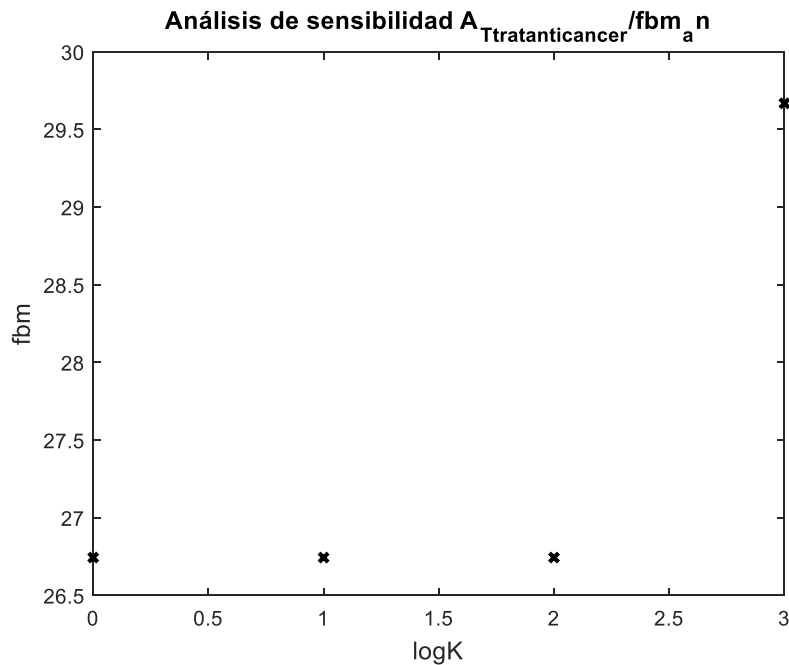


Figura 5.64 Análisis de sensibilidad  $A_{Ttratanticancer}/fbm_a$

#### 5.2.2.4. Otros parámetros involucrados

Al igual que ocurre con el hueso trabecular, en el modelo hay parámetros cuyo valor tiene una influencia muy pequeña o prácticamente nula en el sistema. A continuación vamos a mostrar el análisis de sensibilidad de cada uno de ellos.

Empezamos explicando el análisis de  $f_{IL8max1}$ . Hemos multiplicado la constante por  $k=10^p$ , estando  $p$  comprendido entre -1,5 y 1. En las figuras 5.65 y 5.66 se observa como ante variaciones en el valor de  $k$  tanto las células de mieloma como la fbm mantienen los mismos valores que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de  $k$  en formato logarítmico en el eje x y la concentración de células tumorales al finalizar los 5 años de simulación en el eje y. Podemos aceptar que para los valores adoptados la constante  $f_{IL8max1}$  no tiene influencia en el resto de parámetros del modelo y que, por tanto, la diferenciación de osteoclastos precursores no se ve afectada por el valor que tome esta constante.



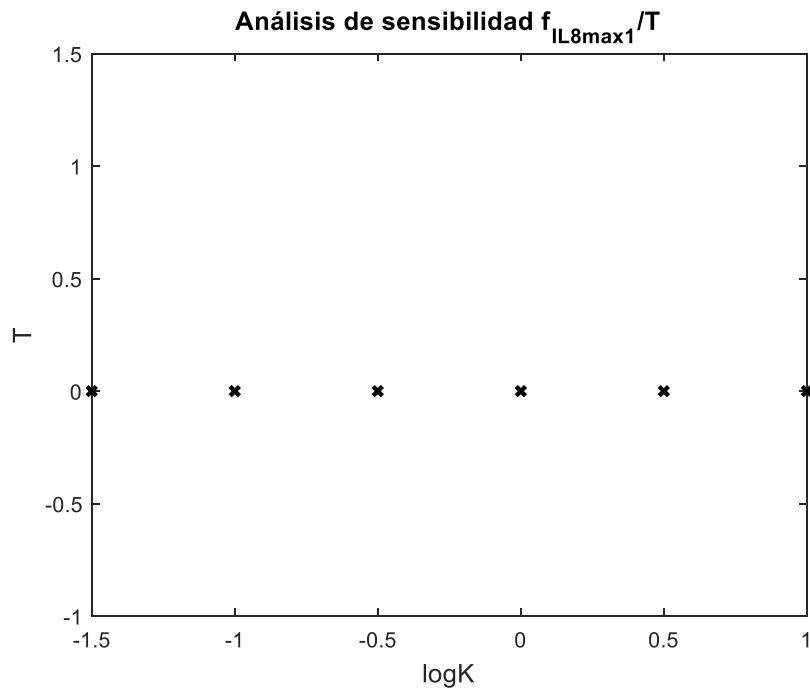


Figura 5.65 Análisis de sensibilidad de T

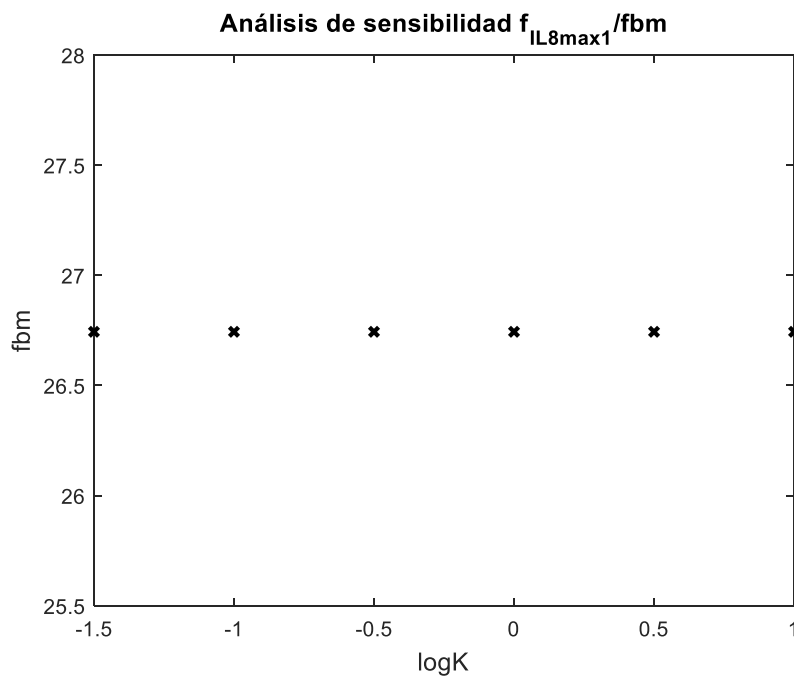


Figura 5.66 Análisis de sensibilidad de fbm

A continuación estudiamos la influencia de la  $k_{IL8}$ . Para ello multiplicamos la constante por  $k=10^p$ , estando  $p$  comprendido entre -4 y 4. En las figuras 5.67 y 5.68 se observa como variando el valor de  $k$  tanto las células de mieloma como la fbm mantienen los mismos valores que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de  $k$  en formato logarítmico en el eje x y la concentración de células tumorales al cabo de 5 años en el eje y. Para  $k=-4$  se tiene que la concentración de células de mieloma es más alta que en el estado nominal y la fbm no varía apenas respecto a su estado inicial. De estas figuras podemos concluir que la constante  $k_{IL8}$  no tiene apenas influencia en el resto de parámetros del modelo. Con

valores más bajos de k probablemente se conseguiría aumentar la fracción volumétrica de matriz ósea obtenida al final de la simulación.

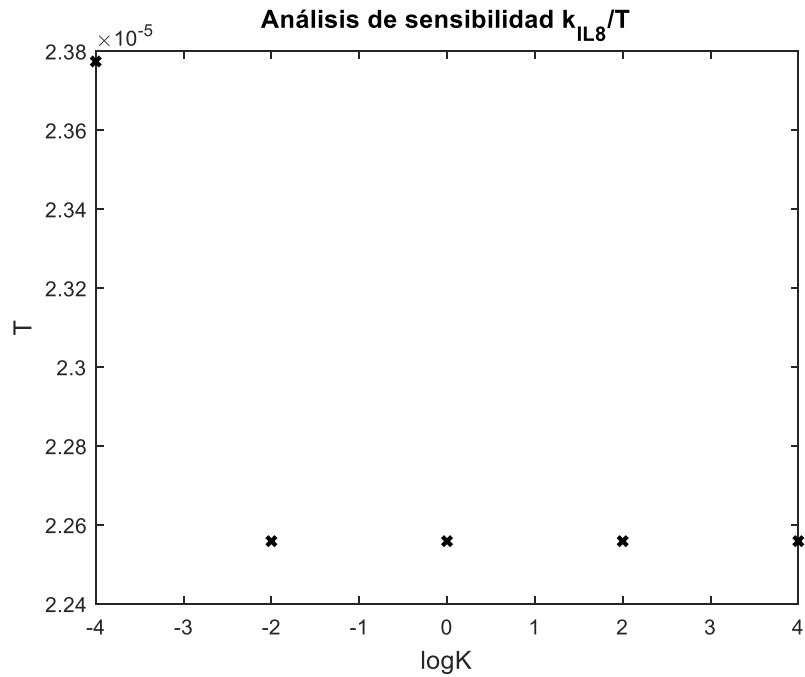


Figura 5.67 Análisis de sensibilidad de T

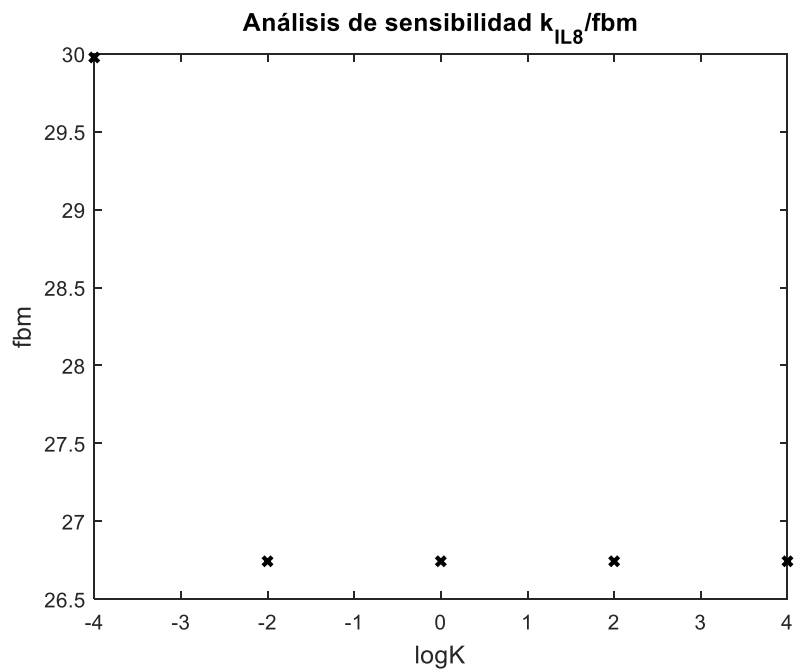


Figura 5.68 Análisis de sensibilidad de fbm

Ahora vamos a analizar la influencia de  $f_{OBpTmax}$  en el modelo. En las simulaciones multiplicamos la constante por  $k=10^p$ , estando p comprendido entre -1,5 y 1. En las figuras 5.69 y 5.70 se observa como ante variaciones en el valor de k tanto las células de mieloma como la fbm mantienen los mismos valores que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de k en formato logarítmico en el eje x y la concentración de células tumorales al final de 5 años

en el eje y. De estas figuras podemos concluir que la constante  $f_{OBpTmax}$  no tiene influencia en el resto de parámetros.

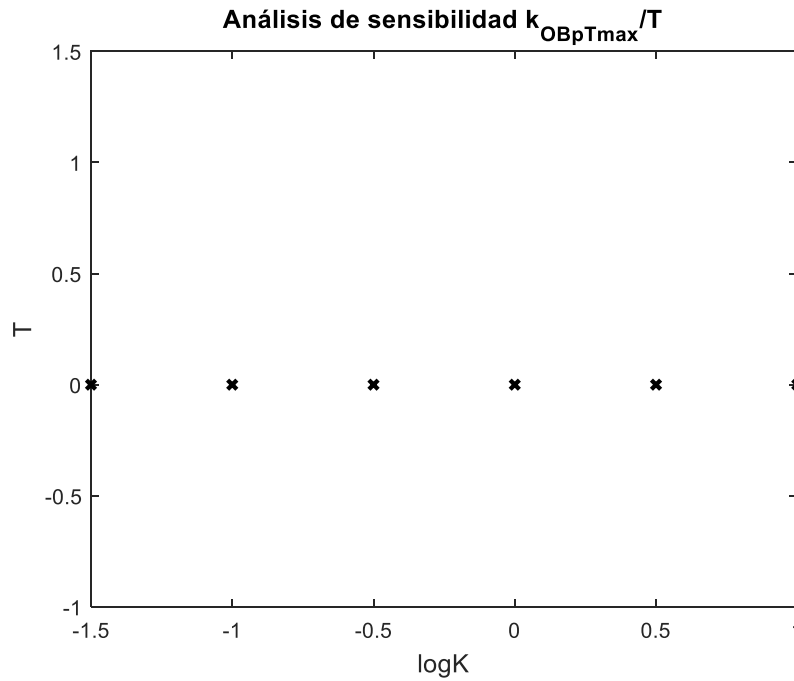


Figura 5.69 Análisis de sensibilidad de T

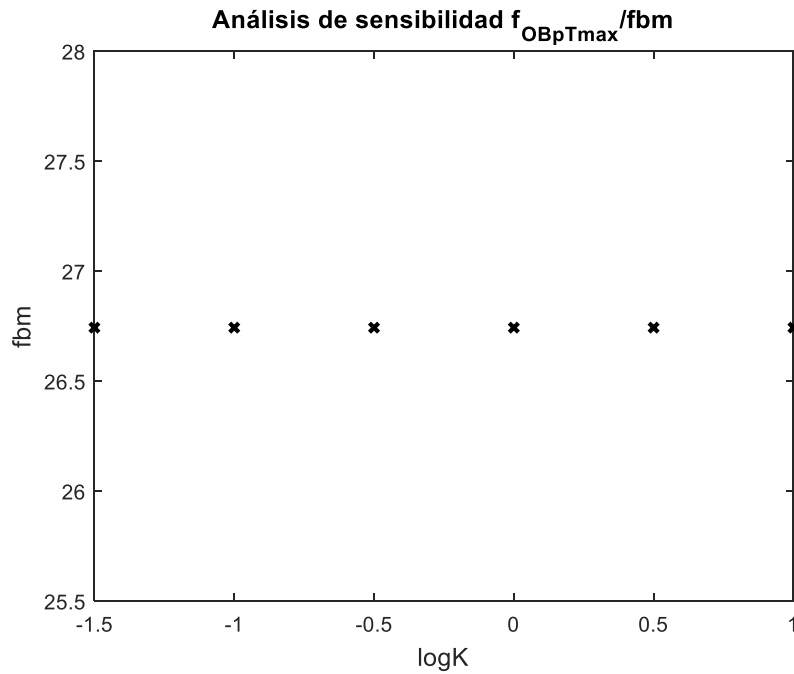


Figura 5.70 Análisis de sensibilidad de fbm

La última constante que vamos a analizar es  $k_{PTHrP}$ . Se multiplica la constante por  $k=10^p$ , siendo p valores comprendido entre -1,5 y 1. En las figuras 5.71 y 5.72 se comprueba como ante variaciones en el valor de k tanto las células de mieloma como la fbm se mantienen en valores de aproximadamente el mismo orden que en el estado de equilibrio, considerando este como  $p=0$ . En la primera figura se representa la evolución de k en formato logarítmico en el eje x y la concentración de células tumorales al cabo de 5 años en el eje y. De estas figuras podemos concluir que la constante  $k_{PTHrP}$  tiene

una influencia muy pequeña en el resto de parámetros del sistema. A medida que aumenta el valor de la constante también lo hace ligeramente la concentración de células tumorales, a la vez que disminuye la fracción volumétrica de matriz ósea.

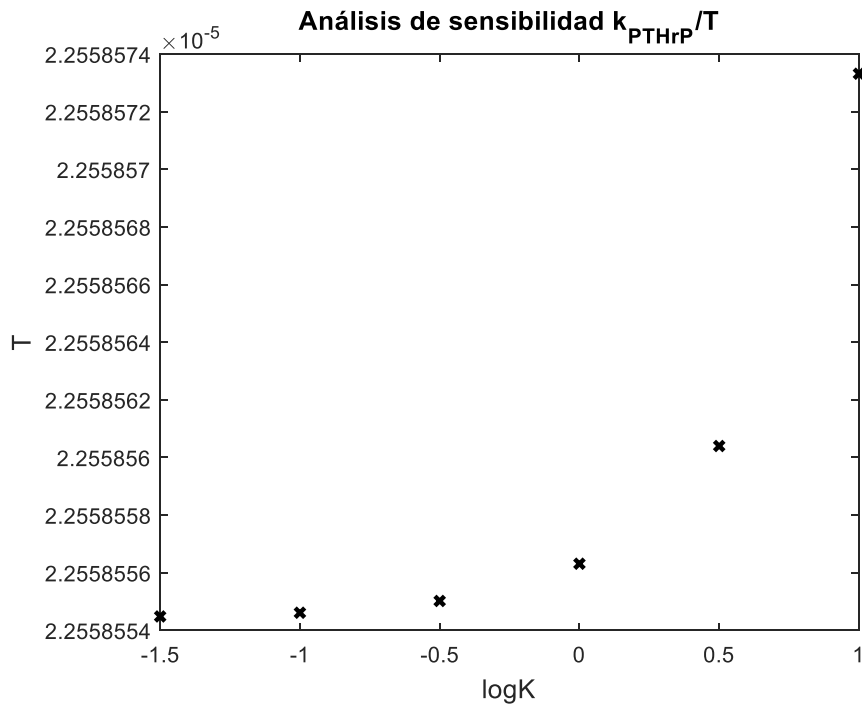


Figura 5.71 Análisis de sensibilidad de T

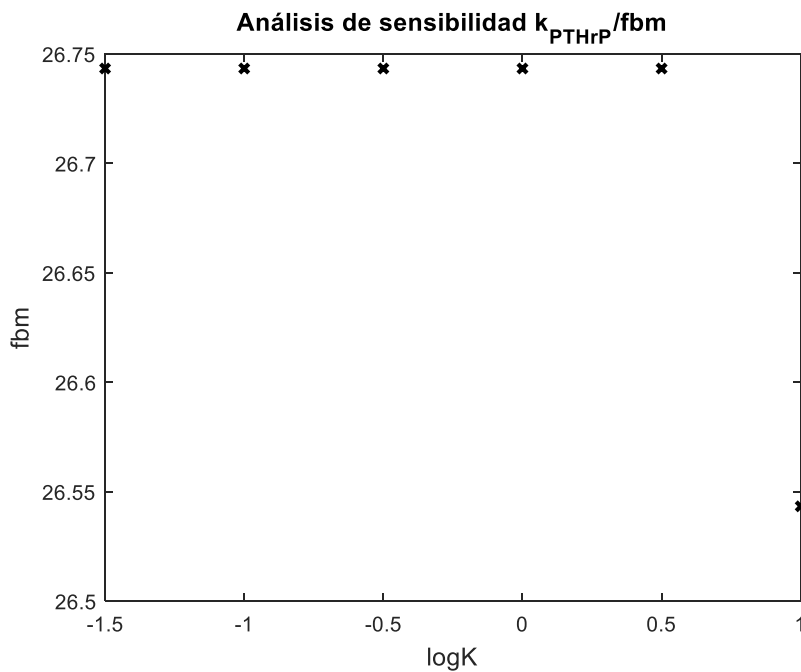


Figura 5.72 Análisis de sensibilidad de fbm

### 5.3. Análisis de sensibilidad II

En este apartado plantearemos el tiempo que tardaría la simulación en alcanzar un valor de fracción volumétrica de matriz ósea del 5%. Ese límite indicaría de forma aproximada cuanto tiempo necesitaría el cuerpo afectado por el mieloma múltiple en quedarse sin hueso. Partimos del estado de equilibrio que nos proporciona los valores iniciales de las poblaciones celulares y de la concentración de los factores bioquímicos. Al igual que hemos hecho en el análisis de sensibilidad del apartado anterior, tomamos como condición inicial de las células tumorales  $T_0=10^{-5}$  pM.

Para realizar el análisis se va incrementando el valor de las constantes  $k_T$  y  $f_{IL8max2}$  y se comprueba cuanto tiempo tardarían en alcanzar el fbm indicado. Este análisis lo vamos a plantear únicamente para el hueso trabecular.

Comenzamos estudiando el comportamiento de  $k_T$ . En la figura 5.73 mostramos la evolución de la constante (expresada en formato logarítmico) con el tiempo. Se representa el tiempo que tardaría el hueso en alcanzar una fracción volumétrica de matriz ósea del 5% para el correspondiente valor de  $k_T$ , manteniendo el resto de parámetros constantes. La simulación se desarrolla para un máximo de 10 años por lo que si en ese tiempo no se ha alcanzado el 5% hemos indicado el valor de fbm presente en ese momento. Se puede observar un ejemplo de fbm mayor que el 5% al final de 10 años en la figura 5.74 donde para  $t=3650$  días se tiene que la fbm es del 26%.

En la figura 5.74 se representa la fracción volumétrica de matriz ósea presente en determinados instantes de tiempo. Está directamente ligada a la figura 5.73 ya que los instantes que se representan son aquellos para los que hemos indicado que la variación de  $k_T$  provocaba una fbm de 5%. Así, analizando de forma combinada ambas figuras podemos observar el valor de  $k_T$  para el que se produce, el nivel de fbm y el instante en el que ocurre.

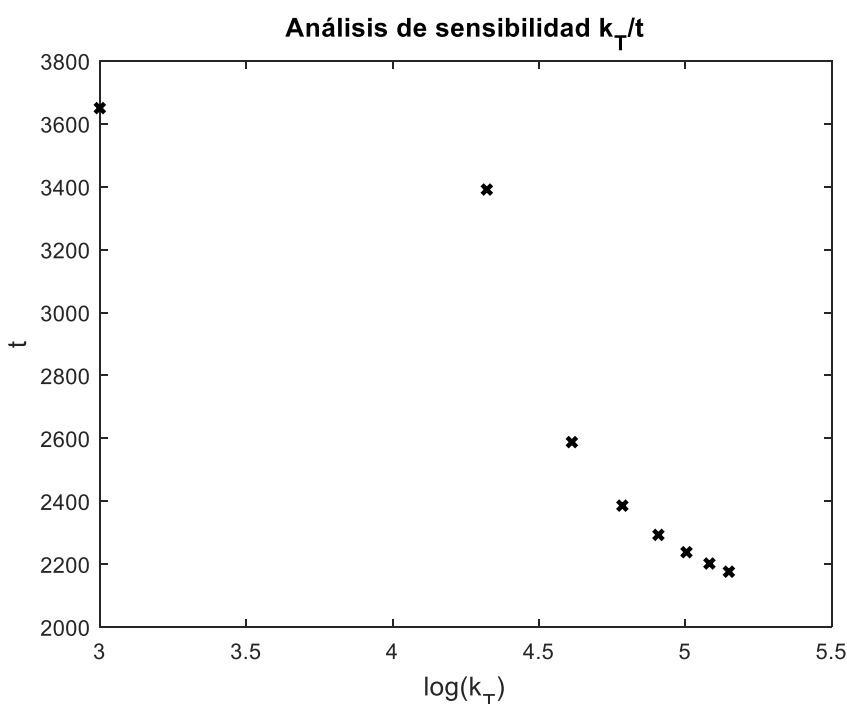


Figura 5.73 Evolución de  $k_T$

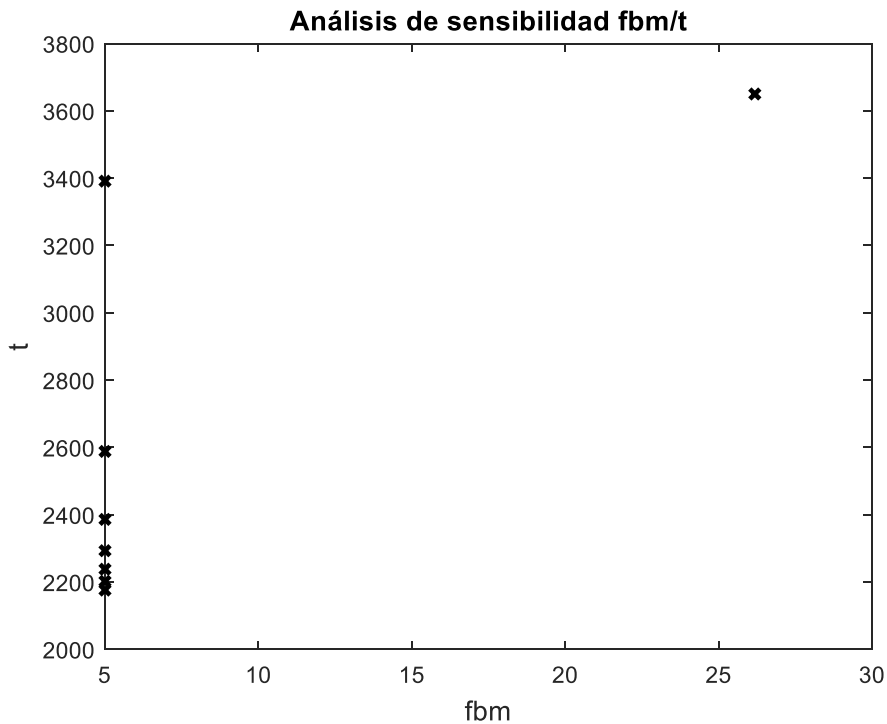


Figura 5.74 Evolución de fbm

Se observa del análisis de ambas figuras que a partir de un valor de la constante de 21000 (en la figura representado aproximadamente por 4,3) el fbm llega al 5% en menos de 3400 días. Con este resultado comprobamos cómo a medida que aumenta la constante dependiente de las células tumorales también lo hace el decremento de la fracción volumétrica de matriz ósea.

Realizamos el mismo análisis para la variación temporal de fbm al verse afectada por la variable  $f_{IL8max2}$ . En la figura 5.75 mostramos la evolución de la constante con el tiempo. Se representa así el tiempo que tardaría el hueso en alcanzar una fracción volumétrica de matriz ósea del 5% para el correspondiente valor de  $f_{IL8max2}$ , manteniendo el resto de parámetros constantes. La simulación se desarrolla para un máximo de 10 años por lo que si en ese tiempo no se ha alcanzado el 5% hemos indicado el valor de fbm presente en ese momento. Así, en la figura 5.76 se comprueba que para una fbm mayor a 5% hay 7 puntos que muestran un tiempo de simulación (eje y) igual a 3650 días, en estos casos se comprueba en el eje x la fracción volumétrica de matriz ósea existente en el momento en el que se ha parado la simulación.

La figura 5.76 refleja la fracción volumétrica de matriz ósea presente en determinados instantes de tiempo. Está asociada a la figura 5.75 ya que los instantes que se representan son aquellos para los que la variación  $f_{IL8max2}$  lleva vinculada una fbm de 5%. Así, al igual que ocurriría con  $k_T$ , analizando de forma combinada ambas figuras podemos observar el valor de  $f_{IL8max2}$  para el que se produce, el nivel de fbm y el instante en el que ocurre.

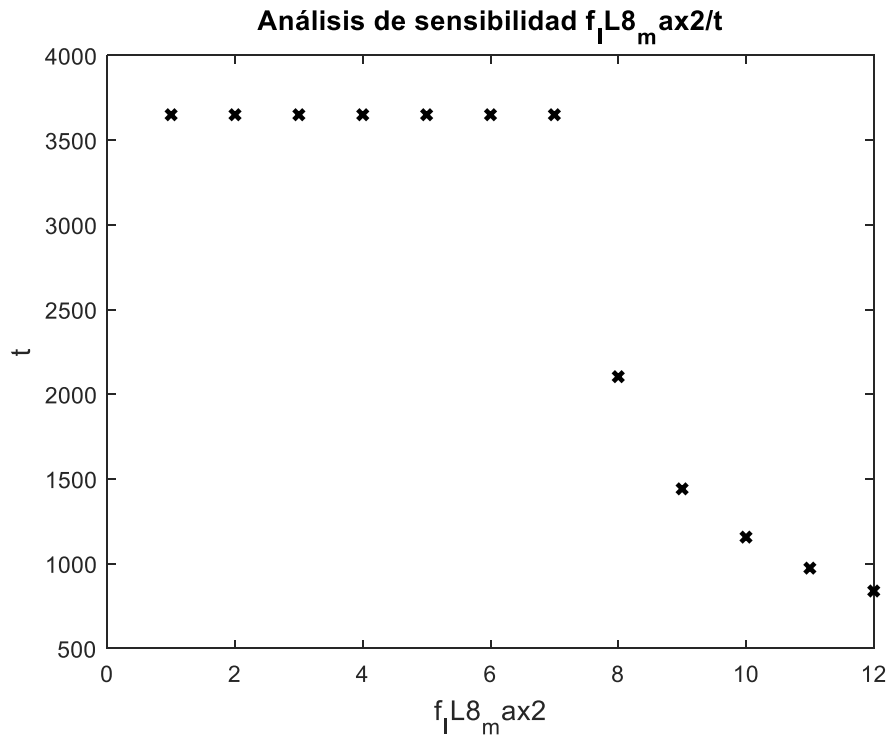


Figura 5.75 Evolución  $f_{IL8max2}$

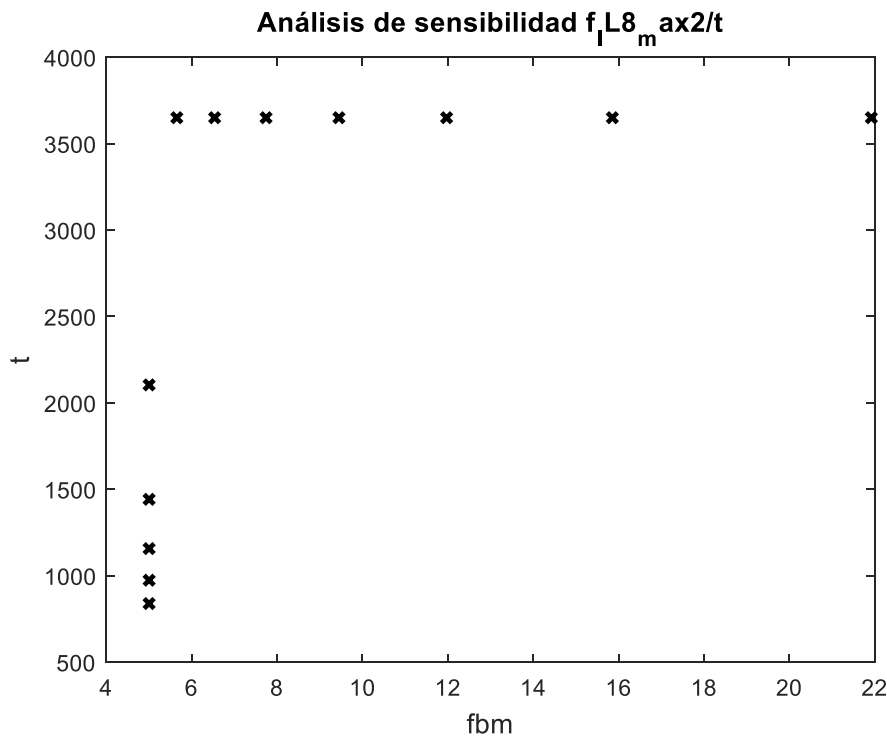


Figura 5.76 Evolución fbm

Analizando las figuras 5.75 y 5.76 se observa que la fracción volumétrica de matriz ósea permanece mayor que el 5% mientras que  $f_{IL8max2}$  es inferior o igual a 7. A partir de  $f_{IL8max2}=8$  el fbm se hace igual a 5% y el tiempo necesario para alcanzar dicho valor disminuye, siendo en este caso de 2104 días (aproximadamente 6 años). En la simulación se continúa analizando el comportamiento hasta un valor de  $f_{IL8max2}$  igual a 12, instante para el que se consideraría que se pierde el hueso en prácticamente 2 años.

Se puede concluir que  $f_{IL8max2}$  es la variable más sensible a las modificaciones producidas, necesitando aplicarse en  $k_T$  variaciones mayores para alcanzar el mismo resultado. De este modo podemos concluir que en el modelo es importante controlar el valor alcanzado por  $f_{IL8max2}$  para evitar que la enfermedad se desarrolle de forma rápida e incontrolada.



## 6. Conclusiones y estudios futuros

---

Vamos a desarrollar las conclusiones alcanzadas mediante la realización de este trabajo. En su análisis hemos estudiado diferentes modelos de remodelación ósea de los que hemos extraído los conceptos más relevantes para después integrarlos en un modelo propio.

Para poder extraer unas conclusiones hemos realizado varias simulaciones para comprobar los resultados que proporcionaba el modelo y hemos planteado el análisis de sensibilidad para conocer en qué medida se ve afectada cada variable con la modificación de los valores de otra de ellas.

Las conclusiones alcanzadas son las siguientes:

- La presencia de las células tumorales aumenta la resorción ósea y reduce la formación. Por consiguiente, los parámetros asociados también se ven afectados. Así, se incrementa la cantidad de osteoclastos y se reduce la de osteoblastos.
- Las proteínas de la señalización RANKL/RANK/OPG están directamente relacionadas con la capacidad resortiva tal y como se comprueba en los resultados. Pequeñas modificaciones en los parámetros iniciales que modifiquen la resorción ósea condicionan su desarrollo.
- El modelo planteado proporciona resultados estables y coherentes de la remodelación ósea. Con la presencia del mieloma múltiple va disminuyendo progresivamente la fracción volumétrica de matriz ósea sin que ese proceso sea brusco.
- Variaciones de  $k_T$ ,  $f_{IL8max2}$  y  $A_{Tratanticancer}$  respecto a las condiciones de equilibrio provocan modificaciones severas del comportamiento del modelo.
- El sistema es muy sensible a la variación de  $f_{IL8max2}$ , el aumento de este parámetro por encima de la condición de equilibrio manteniendo el resto constantes provoca un aumento de las células tumorales. Por consiguiente, el aumento de este parámetro induce un aumento de la resorción y una disminución de la fracción volumétrica de matriz ósea.
- El hueso cortical es más sensible al aumento de la concentración de células de mieloma que el hueso trabecular. Así, partiendo de la misma condición inicial de número de células cancerígenas en el hueso cortical disminuye más rápidamente la fbm y aparecen mayores concentraciones de osteoclastos.
- Las constantes  $f_{IL8max1}$ ,  $f_{OBpTmax}$ ,  $k_{PTHrP}$  y  $k_{IL8}$  no sufren apenas modificaciones en el análisis de sensibilidad por lo que podríamos considerar que el modelo no se verá afectado por posibles variaciones en su valor.
- El tratamiento antiresortivo ha mostrado en el análisis de sensibilidad reducir la presencia de células tumorales a partir de cierto valor. Por lo tanto, podemos concluir que ante las concentraciones celulares que mostramos en nuestro modelo la dosis de tratamiento a aplicar es aquella para la que hemos obtenido fracciones volumétricas de matriz ósea próximas al valor inicial.
- El tratamiento del mieloma múltiple podría presentar resultados satisfactorios si se aplican las proporciones adecuadas entre el número de células tumorales y la dosis de tratamiento antiresortivo.

- En un futuro sería interesante analizar las constantes  $f_{IL8max1}$ ,  $f_{OBpTmax}$ ,  $k_{PTHrP}$  y  $k_{IL8}$  en otros rangos de valores para comprobar si tienen efecto en el modelo.

## 7. Bibliografía

---

- [1] Mieloma múltiple. Fundación Josep Carreras. Actualizado marzo 2018. Extraído de <https://www.fcarreras.org/es/mieloma>
- [2] La situación del cáncer en España. Ministerio de sanidad y consumo. Extraído de [https://www.mscbs.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/excelencia/cancer-cardiopatía/CANCER/opsc\\_est2.pdf.pdf](https://www.mscbs.gob.es/organizacion/sns/planCalidadSNS/pdf/excelencia/cancer-cardiopatía/CANCER/opsc_est2.pdf.pdf)
- [3] Denosumab. Actualizado septiembre 2018. <https://es.wikipedia.org/wiki/Denosumab>
- [4] Datos y cifras sobre el cáncer. Organización Mundial de la Salud. Extraído de <https://www.who.int/cancer/about/facts/es/>
- [5] Las Cifras del Cáncer en España (2018). Extraído de [https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Las Cifras del cancer en Espana2018.pdf](https://seom.org/seomcms/images/stories/recursos/Las_Cifras_del_cancer_en_Espana2018.pdf)
- [6] Enfermedad ósea del mieloma múltiple. Asociación Española de Afectados por Linfoma, Mieloma y Leucemia. Actualizado febrero 2017. Extraído de <http://www.aeal.es/mieloma-multiple-espana/11-enfermedad-osea-del-mieloma-multiple/#>
- [7] Gartner, Leslie P. y James L. Hiatt. *Texto Atlas de Histología*. 3 ed. Editorial Mc Graw Hill. USA, 2007
- [8] Hueso. Actualizado febrero 2019. [https://es.wikipedia.org/wiki/Hueso#Hueso\\_compacto\\_\(cortical\)](https://es.wikipedia.org/wiki/Hueso#Hueso_compacto_(cortical))
- [9] Jaime Gutiérrez Gómez. El proceso de remodelación ósea. Septiembre 2008. Extraído de <http://www.medigraphic.com/pdfs/orthotips/ot-2008/ot083d.pdf>
- [10] Martínez-Reina, García-Aznar, Domínguez, Doblaré (2008). On the role of bone damage in calcium homeostasis. *Journal of Theoretical Biology*, 254 (3), 704-712
- [11] Peter Pivonka, Jan Zimak, David W. Smith, Bruce S. Gardiner, Colin R. Dunstan, Natalie A. Sims, T. John Martin, Gregory R. Mundy (2008). Model structure and control of bone remodeling: A theoretical study. *Bone*, 43 (2), 249-263
- [12] Svetlana V. Komarova, Robert J. Smith, S. Jeffrey Dixon, Stephen M. Sims, Lindi M. Wahl (2003). Mathematical model predicts a critical role for osteoclast autocrine regulation in the control of bone remodeling. *Bone*, 33 (2), 206-215
- [13] Diccionario médico. Clínica Universidad de Navarra (2019). Extraído de <https://www.cun.es/material-audiovisual/infografia/mieloma-multiple>
- [14] Sistema de Havers. Actualizado febrero 2019. [https://es.wikipedia.org/wiki/Sistema\\_de\\_Havers](https://es.wikipedia.org/wiki/Sistema_de_Havers)

- [15] Atlas de histología vegetal y animal. Actualizado febrero 2019. Extraído de <https://mmegias.webs.uvigo.es/diccionario/diccionario-c.php>
- [16] L. Arboleya, S. Castañeda. Osteoclastos: mucho más que células remodeladoras del hueso (2014). Extraído de [https://www.researchgate.net/publication/272754162\\_Osteoclastos\\_mucho\\_mas\\_que\\_celulas\\_remodeladoras\\_del\\_hueso](https://www.researchgate.net/publication/272754162_Osteoclastos_mucho_mas_que_celulas_remodeladoras_del_hueso)
- [17] José A. Riancho, Jesús Delgado-Calle. Mecanismos de interacción osteoblasto-osteoclasto (2011). Extraído de <http://www.reumatologiaclinica.org/es-mecanismos-interaccion-osteoblasto-osteoclasto-articulo-S1699258X11001331>
- [18] Brendon S. Noble. The osteocyte lineage (2008). Archives of Biochemistry and Biophysics, 473 (2), 106-111
- [19] Anticuerpos monoclonales. CCM Salud. Extraído de <https://salud.ccm.net/faq/12594-anticuerpos-monoclonales-definicion>
- [20] Matriz ósea. Atlas del cuerpo humano. Extraído de <http://www.centralx.es/p/imagen/tejidos/tejido-conectivo/huesos/matriz-osea/>
- [21] C. Lerebours, P. R. Buenzli, S. Scheiner, P. Pivonka. A multiscale mechanobiological model of bone remodelling predicts site-specific bone loss in the femur during osteoporosis and mechanical disuse (2015)
- [22] S. Scheiner, P. Pivonka, D. W. Smith, C. R. Dunstan, C. Hellmich. Mathematical modeling of postmenopausal osteoporosis and its treatment by the anti-catabolic drug denosumab (2014).
- [23] Peter Pivonka, Pascal R. Buenzli, Stefan Scheiner, Christian Hellmich, Colin R. Dunstan. The influence of bone Surface availability in bone remodelling- A mathematical model including coupled geometrical and biomechanical regulations of bone cells (2013). Engineering structures, 47, 134-147
- [24] P. R. Buenzli, P. Pivonka, D. W. Smith. Spatio-temporal structure of cell distribution in cortical Bone Multicellular Units: A mathematical model (2011). Bone, 48, 918-926
- [25] M.A. Koenders, R. Saso. A mathematical model of cell equilibrium and joint cell formation in multiple mieloma (2016). Journal of Theoretical Biology, 390, 73-79
- [26] Rui Moura Coelho, Joao Miranda Lemos, Irina Alho, Duarte Valerio, Arlindo R. Ferreira, Luis Costa, Susana Vinga. Dynamic modeling of bone metástasis, microenvironment and therapy- Integrating parathyroid hormone (PTH) effect, anti-resorptive and anti-cancer therapy. Journal of Theoretical Biology, 391, 1-12
- [27] Lemaire C, Guibet-Grandmougin F, Angles D, Dujardin G, Bonnefoy N. A yeast mitochondrial membrane methyltransferase-like protein can compensate for oxal mutations (2004). J Biol Chem 279(46):47464-72

[28] Martin R. B. Porosity and specific Surface of bone (1984). CRC Critical Reviews Biomed. Engng., 10, 179-222.

[29] ¿Qué es el mieloma múltiple? Actualizado febrero 2018. Extraído de <https://portal.hospitalclinic.org/enfermedades/mieloma-multiple/definicion>

[30] Hueso Esponjoso: Características, Funciones e Histología. Extraído de <https://www.lifeder.com/hueso-esponjoso/>

[31] Gray's anatomy of the human body (1918). Extraído de [https://www.researchgate.net/figure/Osteocytes-within-compact-bone\\_fig2\\_267921699](https://www.researchgate.net/figure/Osteocytes-within-compact-bone_fig2_267921699)

[32] Heider, U., Hofbauer, L.C., Zavrski, I., Kaiser, M., Jakob, C., & Sezer, O. (2005). Novel aspects of osteoclast activation and osteoblast inhibition in mieloma bone disease. Biochemical and biophysical research communications, 338 (2), 687-693.



### 8.1. Anexo A. Nomenclatura

En los modelos que hemos ido estudiando aplican distintas nomenclaturas. Sin embargo, de cara a facilitar la comprensión del trabajo y permitir asociar los conceptos desarrollados por cada autor hemos aceptado una terminología común para todos ellos.

Para las poblaciones celulares aceptamos:

- OC = Osteoclasto
- OB = Osteoblasto
- T = Células de mieloma

Se emplean los parámetros relacionados con la comunicación paracrina y autocrina que denotamos " $g_{ij}$ ". Estos parámetros muestran la influencia que tiene el elemento  $j$  sobre la proliferación de  $i$ . Se diferencia entre la comunicación autocrina y la paracrina utilizando el siguiente criterio:

- Si  $i = j$  la comunicación es autocrina.
  - $g_{BB}$ , influencia de OB en el crecimiento de OB.
  - $g_{CC}$ , influencia de OC en el crecimiento de OC.
  - $g_{TT}$ , influencia de T en el crecimiento de T.
- Si  $i \neq j$  la comunicación es paracrina.
  - $g_{BC}$ , influencia de OC en el crecimiento de OB.
  - $g_{CB}$ , influencia de OB en el crecimiento de OC.
  - $g_{TC}$ , influencia de OC en el crecimiento de T.

En los modelos tratados también se emplean otros parámetros que se describirán a continuación.

$z$  = Masa ósea

$k_{res}$  = Volumen de matriz ósea resorbido por los osteoclastos

$k_{form}$  = Volumen de matriz ósea formado por los osteoblastos

$P_i$  = Proliferación de  $i$

$A_i$  = Apoptosis de  $i$

$D_i$  = Diferenciación de  $i$

## 8.2. Anexo B. Definiciones

**PMO:** Programa Médico Obligatorio. Conjunto de prestaciones básicas que todas las obras sociales y prepagos deben cubrir, de manera obligatoria, sin importar cuál sea el tipo de plan que posea el beneficiario.

**Denosumab:** Medicamento que pertenece al grupo de los anticuerpos monoclonales: Se emplea para la prevención de fracturas, compresión de la médula espinal y dolor óseo grave en pacientes con tumores malignos que presentan metástasis en huesos. Actúa uniéndose al ligando RANKL e impidiendo su unión al RANK (receptor), lo que ocasiona una inhibición en la formación de osteoclastos y en su funcionalidad.

**Apoptosis:** Proceso de muerte celular que envuelve cambios morfológicos característicos, como la desintegración de la célula en pequeños fragmentos denominados cuerpos apoptóticos.

**Osteocito:** Célula ósea, incluida en las lagunas óseas, con abundantes ramificaciones. Constituyen la parte viva del hueso.

**Osteoblasto:** Célula formadora de hueso.

**Osteoclasto:** Célula que destruye el hueso, destrucción necesaria para que el hueso pueda crecer.

**TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento transformante de  $\beta$ . Tipo de proteínas, denominadas citoquinas, involucradas en procesos celulares fundamentales durante la embriogénesis y el desarrollo.

**MCSF:** Macrophage colony stimulating factor. Citoquina secretada que induce a las células madre hemopoyéticas a diferenciarse a macrófago u otros tipos celulares relacionados.

**OPG:** Osteoprotegerina.

**PTH:** Hormona paratiroidea. Tiene acciones sobre el riñón, en el hueso y en el intestino.

**Anticuerpo monoclonal:** Anticuerpo que se produce de forma industrial por una sola línea de células. Debido a su pureza suelen utilizarse para el tratamiento de enfermedades autoinmunes y para ciertos tipos de cáncer.

**Citoquina:** Sustancias producidas por múltiples tipos celulares que actúan como modificadores de las respuestas biológicas.

**Diferenciación:** Proceso por el cual las células van madurando y adquiriendo una especialización cada vez más restringida.



**Homeostasis:** Propiedad de los organismos que consiste en su capacidad de mantener una condición interna estable compensando los cambios en su entorno mediante el intercambio dinámico que se hace posible por una red de sistemas de control realimentados que constituyen los mecanismos de autorregulación de los seres vivos.

**Célula monoclonal:** Célula que desciende de un único tipo de célula progenitora.

**Matriz ósea:** Es el componente intercelular del tejido óseo. Constituye la mayor parte del hueso y en su composición se distingue una matriz orgánica y otra inorgánica.

**Comunicación autocrina:** Comunicación de una célula consigo misma.

**Comunicación paracrina:** Comunicación producida entre células que permanecen cercanas sin que exista una estructura para tal fin.

**Interleuquina-8:** IL-8. Citoquina producida por macrófagos y células endoteliales. Su acción principal es proinflamatoria.

**Inmunoglobulina:** Proteína plasmática sintetizada por los linfocitos B maduros y las células plasmáticas. Actúa como anticuerpo para la defensa específica del organismo.

**Médula ósea:** Tipo de tejido biológico flexible que se encuentra en el interior de los huesos largos.

**Neoplasia:** Tumor producido por la multiplicación incontrolada de células. Se dividen en benignas y malignas en función del grado de diferenciación de sus células.

**Lesión lítica:** Destrucción de un área de un hueso debida a una enfermedad como el cáncer.

**Epífisis:** Porción de los huesos largos desarrollada a partir de un centro secundario de osificación durante el periodo de crecimiento.

**Diáfisis:** Porción cilíndrica intermedia de los huesos largos comprendida entre los dos extremos. Suele tener forma triangular y está formada por una capa de tejido óseo compacto.

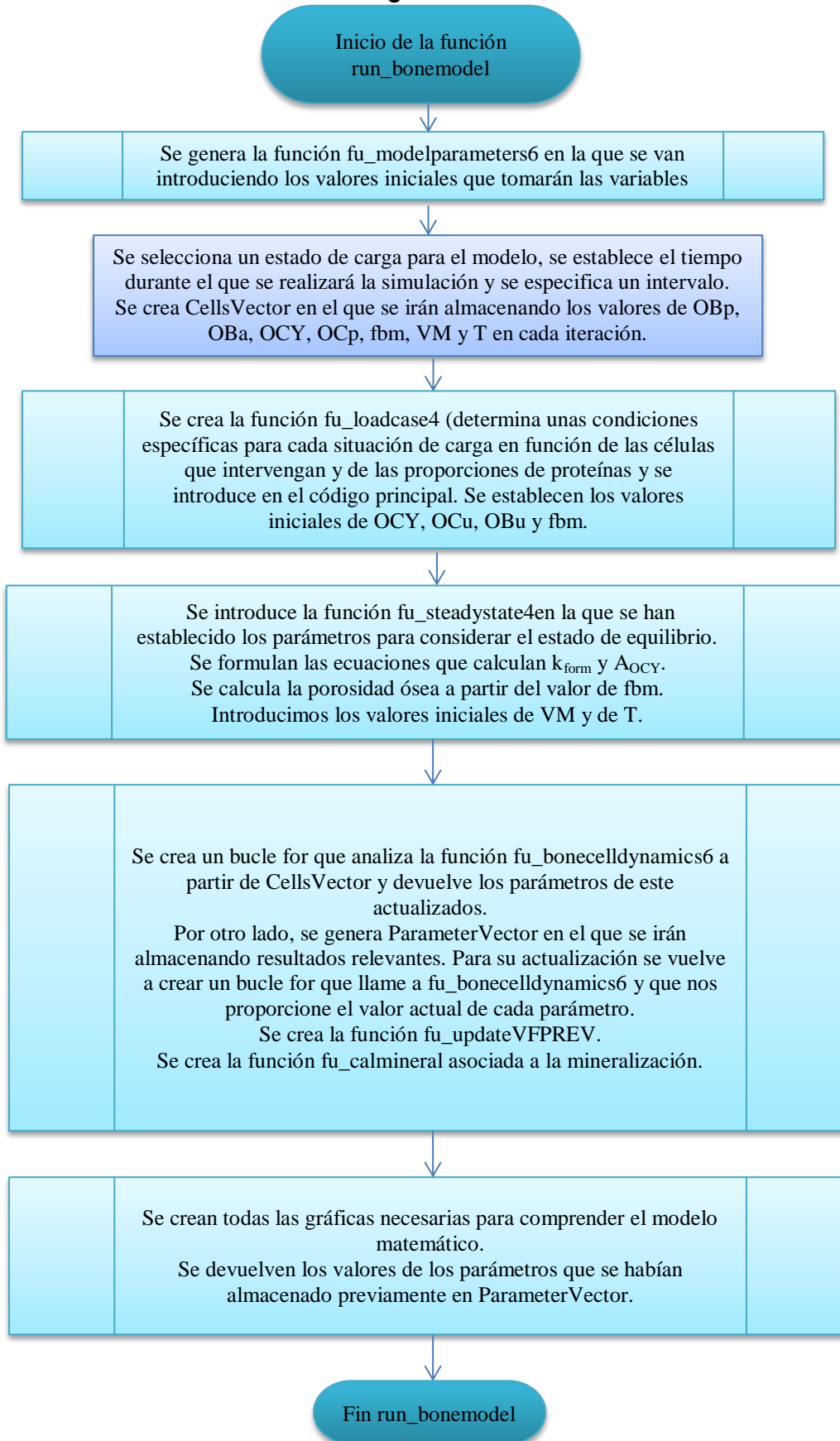
**Enzima:** Sustancia macromolecular, natural o sintética, compuesta principalmente de proteína, que cataliza una o más reacciones bioquímicas de forma más o menos específica, a temperaturas relativamente bajas.

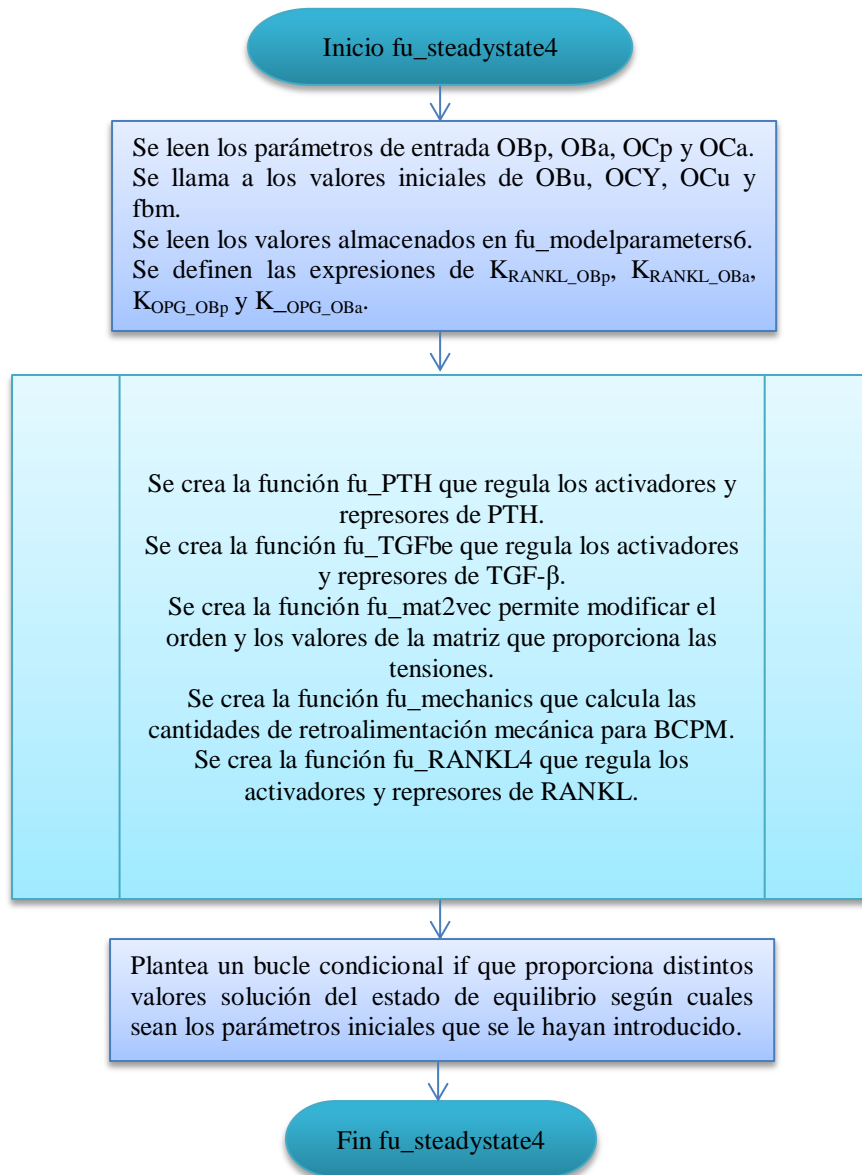
**Célula madre mesenquimal:** Célula primitiva con capacidad de diferenciarse en diversos tipos de células.

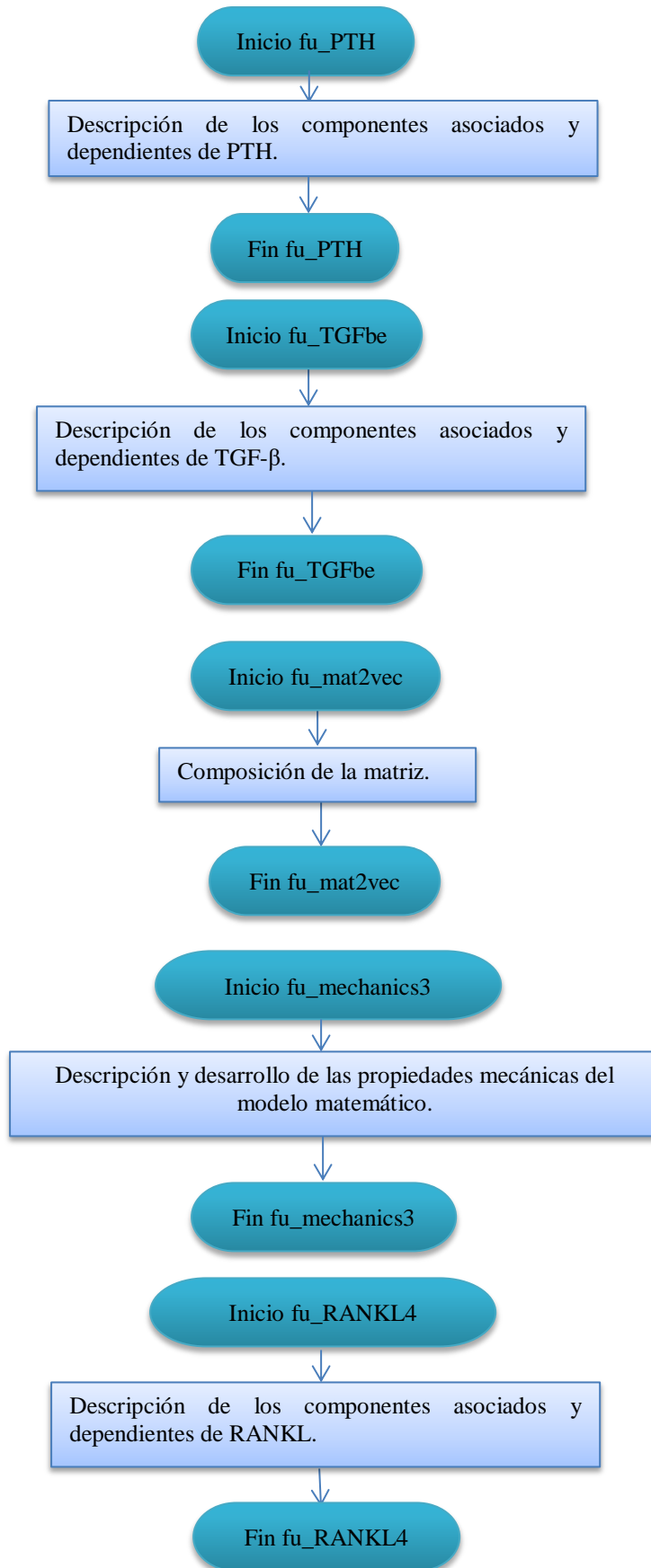
**Macrófago:** Célula fagocitaria del sistema retículo endotelial, que se encuentra presente en diferentes órganos. Procede de precursores de la médula ósea que pasan a la sangre y emigran a sitios de inflamación o reacciones inmunes.

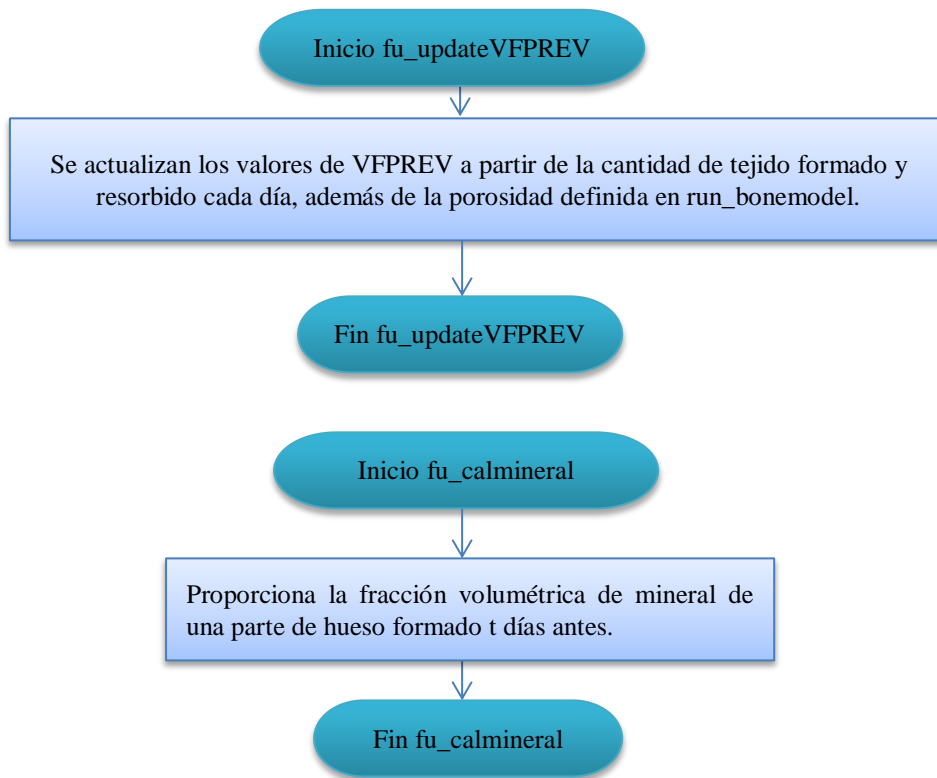
**Bifosfonato:** Medicamento con efecto antirreabsortivo que se emplea en el tratamiento de la osteoporosis y de otras dolencias asociadas al hueso.

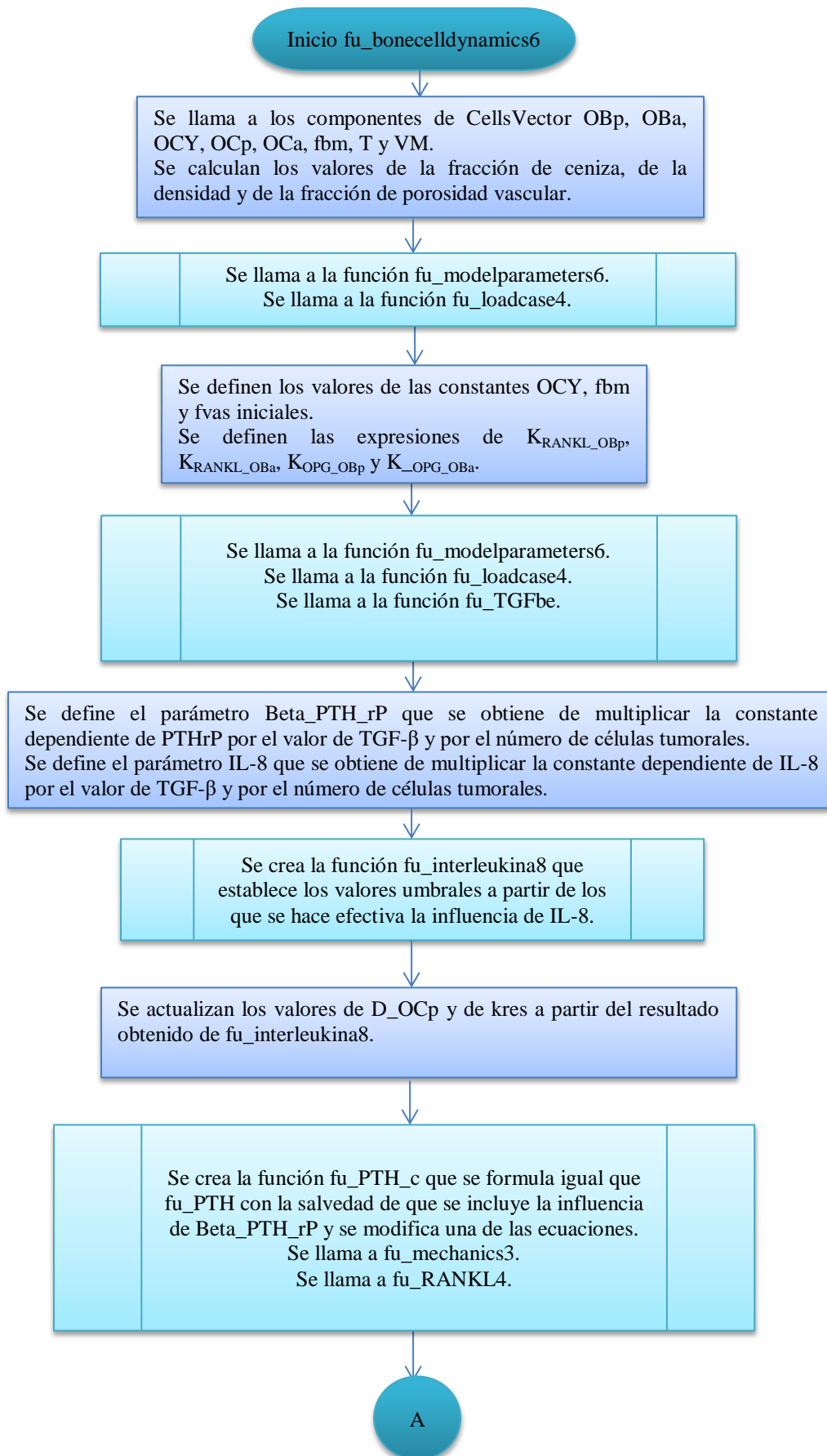
### 8.3. Anexo C. Diagrama del modelo

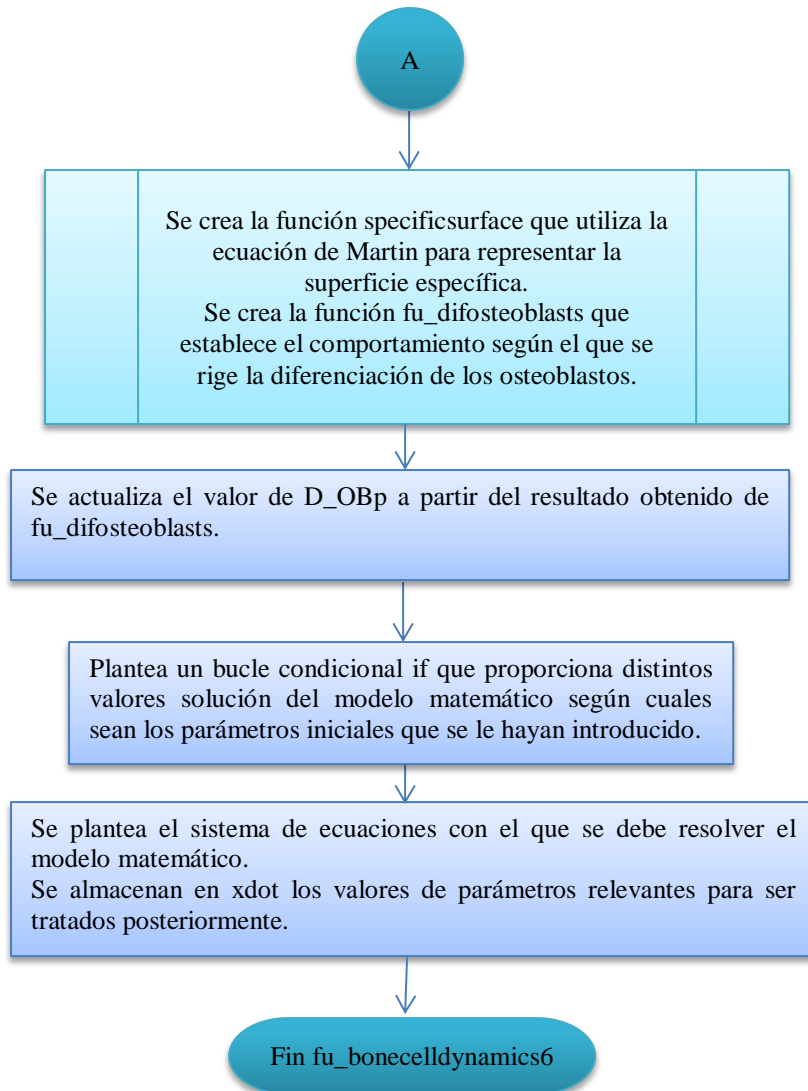


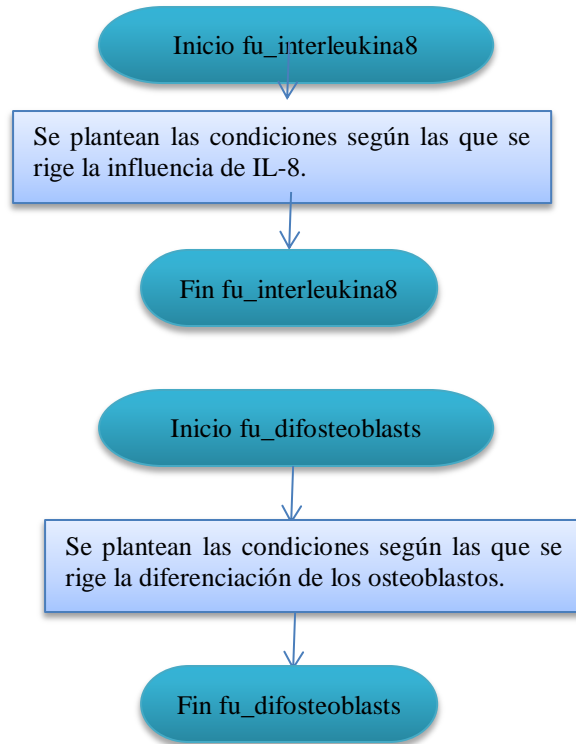














## 8.4. Anexo D. Códigos

Se presenta primero el código principal y después se van desglosando los que están incluidos en este.

### Run\_bonemodel\_v6

```
% run_BONEREMODELING
% El modelo de remodelación ósea planteado se basa en el de Pivonka et
% al. (2008) con las consideraciones de PMO y el tratamiento con
% Denosumab.
% Se toma también la inclusión de la mineralización de Javier Martínez
% Reina (2017).
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% TFG Iratxe Sánchez García
% Se añade la afección del mieloma múltiple y su influencia en las
% poblaciones celulares.
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Diferencia con run_bonemodel_v4:
% Se añade la ecuación diferencial para las células tumorales y se
% modifican los parámetros afectados.
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Se debe tomar un estado de carga apropiado. En nuestro caso
% aceptaremos que sig = -30 MPa.

clear all
close all
% Se borran los datos que puedan quedar almacenados en Matlab de
% simulaciones anteriores.
%
delete *.dat

% Se describen los parámetros introducidos en el modelo. Estos están
% almacenados en fu_modelparameters6.
% Se llama a la función fu_modelparameters6 y se leen los parámetros.
%
ModelParameter=fu_modelparameters6();

% Tasas de diferenciación y de apoptosis de las poblaciones celulares
D_OBu      = ModelParameter(1);
D_OBp      = ModelParameter(2);
A_OBa      = ModelParameter(3);
D_OBa      = ModelParameter(4);
D_OCp      = ModelParameter(5);
D_OCp      = ModelParameter(6);
A_OCa      = ModelParameter(7);

% Constantes asociadas a la activación y represión
KD_TGF_beta_activate = ModelParameter(8);
KD_TGF_beta_repress  = ModelParameter(9);
KD_PTH_activate      = ModelParameter(10);
KD_PTH_repress       = ModelParameter(11);
KD_RANKL_activate    = ModelParameter(12);
RANK                  = ModelParameter(13);
KD_MCSF_activate     = ModelParameter(14);
```

```

P_RANKL_d = ModelParameter(15);
P_OPG_d   = ModelParameter(16);
P_PTH_d   = ModelParameter(17);

Deg_PTH   = ModelParameter(18);
Beta_PTH  = ModelParameter(19);

Beta_OPG  = ModelParameter(20);
Deg_OPG   = ModelParameter(21);
OPG_max   = ModelParameter(22);

Beta_RANKL = ModelParameter(23);
R_RANKL    = ModelParameter(24);
Deg_RANKL  = ModelParameter(25);
KA1_RANKL  = ModelParameter(26);
KA2_RANKL  = ModelParameter(27);

K_res     = ModelParameter(28);
Alpha     = ModelParameter(29);

R1_OBp_RANKL = ModelParameter(30);
R2_OBa_RANKL = ModelParameter(31);
Beta1_OBp_OPG = ModelParameter(32);
Beta2_OBa_OPG = ModelParameter(33);

sig_macro_t0 = ModelParameter(34);
de_sig_macro = ModelParameter(35);

tresid      = ModelParameter(36);
DT          = ModelParameter(37);
MINP       = ModelParameter(38);
XKAPPA     = ModelParameter(39);
VM PRIM    = ModelParameter(40);
VMMAX      = ModelParameter(41);
ΔT         = ModelParameter(42);

k_OBu      = ModelParameter(43);
k_OBp      = ModelParameter(44);
k_OC u     = ModelParameter(45);
k_OC p     = ModelParameter(46);

% Se considera el estado de carga homeostático.
LoadCase=10;

ParameterWrite = 0;
setappdata(0, 'ParameterWrite', ParameterWrite);

Multiplying_Factor = 0.00;

% Se acepta en los resultados un error del siguiente orden.
error = 1e-6;
%
% Se define el tiempo durante el que se hará la simulación de
% remodelación ósea. Se establece el intervalo de administración, el
% paso ΔT del ODE y los instantes de inicio y de fin de la simulación.
TimeInitial = 0; % Inicio del ensayo
TimeEnd = 1825; % Fin del ensayo
TimeInterval_1 = 0;
TimeInterval_2 = 1*365/ΔT;

```

```

TimeInterval_3 = 1825;

%Se inicializa CellsVector en el que se van a almacenar posteriormente
% OBp, OBa, OCY, OCp, OCa, fbm, T y VM.
% CellsVector es una matriz con tantas columnas como días que dura la
% simulación y con 8 columnas para almacenar cada una de las variables
% mencionadas.
CellsVector = zeros(TimeInterval_3 , 8);
% Se inicializa VFPREV que interviene en la mineralización
VFPREV = zeros(tresid,1);
% Se importa el archivo en el que están almacenados los datos del
% tratamiento con Denosumab.
load('mult_180days_60mg.mat')

setappdata(0, 'LoadCase', LoadCase);
setappdata(0, 'TimeInterval_1', TimeInterval_1);
setappdata(0, 'TimeInterval_2', TimeInterval_2);
setappdata(0, 'TimeInterval_3', TimeInterval_3);

% Se llama a la función fu_loadcase4 con cada uno de los estados de
% carga y se leen los valores.
LoadCaseParameter=fu_loadcase4(LoadCase,Denosumab,TimeInterval_1,...
    TimeInterval_2,TimeInterval_3,TimeInitial);

% Posibilidades de comportamiento de los parámetros correspondientes a
% los estados de carga.
D_OBu          = LoadCaseParameter(1);
D_OBp          = LoadCaseParameter(2);
D_OBa          = LoadCaseParameter(3);
A_OBa          = LoadCaseParameter(4);
D_OCp          = LoadCaseParameter(5);
D_OCu          = LoadCaseParameter(6);
D_OCp          = LoadCaseParameter(6);
A_OCa          = LoadCaseParameter(7);

pd_OBp         = LoadCaseParameter(8);
pd_OBa         = LoadCaseParameter(9);
pd_OCY         = LoadCaseParameter(10);
pd_OCp         = LoadCaseParameter(11);
pd_OCa         = LoadCaseParameter(12);

P_RANKL_d      = LoadCaseParameter(13);
P_OPG_d        = LoadCaseParameter(14);
P_PTH_d        = LoadCaseParameter(15);

Beta_OPG       = LoadCaseParameter(16);
RANK           = LoadCaseParameter(17);
R_RANKL        = LoadCaseParameter(18);
KD_RANKL_activate = LoadCaseParameter(19);

de_sig_macro   = LoadCaseParameter(21);

Denos          = LoadCaseParameter(24);

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Se plantea la iniciación de la función que modela el estado de
% equilibrio.
%
```

```

% Se establecen los valores iniciales de los osteoblastos
% progenitores, los osteoclastos progenitores, los osteocitos y
% fracción volumétrica de matriz ósea, respectivamente.

    OBU_t0 = 1.0e-2; % pM
    OCu_t0 = 1.0e-2; % pM
    OCY_t0 = 1.0e-2; % pM
    fbm_t0 = 95;    % [%]

setappdata(0, 'OBU_t0', OBU_t0);
setappdata(0, 'OCY_t0', OCY_t0);
setappdata(0, 'OCu_t0', OCu_t0);
setappdata(0, 'fbm_t0', fbm_t0);
setappdata(0, 'sig_macro_t0', sig_macro_t0);

% Se proporcionan también los valores iniciales de los osteoblastos
% precursores, de los osteoblastos activos, de los osteoclastos
% precursores y de los osteoclastos activos.
%
cells_0 = [1.00e-003, ...
           5.00e-004, ...
           1.00e-003, ...
           1.00e-004];

% Se establecen las opciones de tolerancia para la idoneidad de los
% resultados.
    options=optimset('TolFun',1e-14,'TolX',1e-14);

% Se llama a la función fu_steadystate4 que proporciona los valores de
% equilibrio y se almacena en cells_t0.
    [cells_t0] = fsolve(@fu_steadystate4,cells_0,options);
%
% Se llama a las variables actualizadas mediante fu_steadystate4.
    OBp_t0 = cells_t0(1);
    OBa_t0 = cells_t0(2);
    OCp_t0 = cells_t0(3);
    OCa_t0 = cells_t0(4);

% La tasa de formación a partir de la de resorción y de los valores
% iniciales de los osteoclastos y los osteoblastos activos.
    K_form = K_res*OCa_t0/OBa_t0; %
%
% Apoptosis de OCY
    A_OCY = D_OBa*OBa_t0/OCa_t0; %

% Obtención de los valores
setappdata(0, 'OBa_t0', OBa_t0);
setappdata(0, 'OCa_t0', OCa_t0);
setappdata(0, 'K_fórm', K_fórm);
setappdata(0, 'K_res', K_res);
setappdata(0, 'D_OBa', D_OBa);
setappdata(0, 'A_OCY', A_OCY);

% Se calcula la fracción de ceniza. Para ello se calcula primero el
% volumen de tejido resorbido (DVR) y formado (DVF) en el equilibrio.

DVR = OCa_t0*K_res*ΔT/100;
DVF = DVR;
% La porosidad inicial se obtiene de fbm y debe ser un valor entre 0 y
1.

```

```

p = 1-fbm_t0/100;

i=0;
while i<length(VFPREV)
    VFPREV = fu_updateVFPREV(p,DVR,DVF,VFPREV);
    i=i+1;
end

% Se calcula la fracción de ceniza mediante un bucle en el que
% interviene la función que regula la mineralización.

VM_t0 = 0;

for i=1:length(VFPREV)
    VM_t0=
    VM_t0+VFPREV(i)*fu_calmineral(i*ΔT,DT,MINP,XKAPPA,VM PRIM,VMMAX);
end

VM_t0=VM_t0/(1-p);

ash_t0 = 3.2*VM_t0/(3.2*VM_t0+1.1*3.0/7.0);
setappdata(0, 'ash_t0',ash_t0);

T_t0 = 1e-5;
% Se definen las condiciones iniciales de CellsVector y se inicializa
% con los valores iniciales de los parámetros.
%
CellsVector(1,:)=[OBp_t0,OBa_t0,OCY_t0,OCp_t0,OCa_t0,fbm_t0,T_t0,VM_t0
];

ParameterWrite = 0;

for i=2:length(CellsVector(:,1))

% Se integran los 8 ODES con la función fu_bonecelldynamics6 que
% controla la mayor parte del proceso de remodelación ósea.
    xdot = fu_bonecelldynamics6(i,CellsVector(i-1,:),Denosumab);
    for j=1:7
        CellsVector(i,j) = CellsVector(i-1,j) + xdot(j) * ΔT;
        if CellsVector(i,j) < 0
            CellsVector(i,j) = 0;
        end
    end
end

% Se comprueba que el valor de fbm se mantenga entre [0,100]
if CellsVector(i,6) > 100
    CellsVector(i,6) = 100;
end

OBa = CellsVector(i,2);
OCa = CellsVector(i,5);
fvas = 100 - CellsVector(i,6);

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Previamente se ha obtenido el valor inicial para la fracción de
% ceniza,el valor actualizado se obtiene a partir de las siguientes
% ecuaciones.
aux1 = OCa*K_res*ΔT/100;
aux2 = OBa*K_form*ΔT/100;
VFPREV = fu_updateVFPREV(fvas/100,aux1,aux2,VFPREV);

```

```

VM = 0;

for j=1:length(VFPREV)
VM = VM+VFPREV(j)*fu_calmineral(j*ΔT,DT,MINP,XKAPPA,VMPRIM,VMMAX);
end

VM=VM/(1-fvas/100);

% Se calcula la fracción de ceniza a partir del resultado de la
% mineralización.
ash = 3.2*VM/(3.2*VM+1.1*3.0/7.0);

% Se completa la mineralización y se almacena el resultado en el
% apartado correspondiente de CellsVector.
%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
CellsVector(i,8) = VM;

end
TimeVector = 1:length(CellsVector(:,1));

% Se vuelve a plantear un bucle con fu_bonecelldynamics6. En este caso
% se van a obtener todos los datos exceptuando VM. Adicionalmente se
% guardarán en ParameterVector aquellos que consideremos que puedan
% ser útiles para extraer conclusiones y para representar las
% gráficas.

ParameterWrite = 1;
setappdata(0,'ParameterWrite',ParameterWrite);

for i=1:length(CellsVector(:,1))
    ParameterVector(i,:) =
fu_bonecelldynamics6(i,CellsVector(i,:),Denosumab)';
end

ParameterWrite = 0;
setappdata(0,'ParameterWrite',ParameterWrite);

%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%%
% Se representan gráficamente los resultados de la simulación

% Se devuelven los valores de los parámetros que se habían almacenado
% en ParameterVector.
write_steady_state = 1;

if write_steady_state == 1

    OBP_t0 = CellsVector(length(CellsVector(:,1)),1)
    OBA_t0 = CellsVector(length(CellsVector(:,1)),2)
    OCY_t0 = CellsVector(length(CellsVector(:,1)),3)
    OCP_t0 = CellsVector(length(CellsVector(:,1)),4)
    OCA_t0 = CellsVector(length(CellsVector(:,1)),5)
    BV_t0 = CellsVector(length(CellsVector(:,1)),6)
    ash_t0 = CellsVector(length(CellsVector(:,1)),8)

    PTH_tot = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),1)
    OPG_eff_t0 = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),2)

```

```

    OPG_t0           = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),3)
    RANK_t0          = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),4)
    RANKL_eff_t0    = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),5)
    RANKL_tot_t0    = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),6)
    RANKL_t0        = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),7)
    RANKL_RANK_t0   = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),8)
    Pi_PTH_act      = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),9)
    Pi_PTH_rep      = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),10)
    Pi_TGFbeta_OBu_act = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),11)
    Pi_TGFbeta_OCa_act = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),12)
    Pi_TGFbeta_OBp_rep = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),13)
    Pi_RANK_act     = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),14)
    Pi_MCSF_act     = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),15)
    sig_macro       = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),16)
    SED_bm0        = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),17)
    SED_bm         = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),18)
    Pi_eps         = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),19)
    T              = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),26)
    Beta_PTH_rP    = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),27)
    TGFbeta       = ParameterVector(length(CellsVector(:,1)),28)

end

% Se concluye la simulación y se guardan los resultados
out1           = TimeVector(1:length2);
out2           = ParameterVector(1:length2,26);
out3           = CellsVector(1:length2,7);
ash            = 3.2*out3 ./ (3.2*out3 + 1.1*3.0/7.0);
save('app_dens_dosage60mg_MM_factor=0.00007_K=1_por=0.30_kappa=0.00
7.mat','out1','out2','ash')

```

## fu\_calmineral

```

% La función calcula la fracción volumétrica de hueso

function miner=fu_calmineral(t,DT,MINP,XKAPPA,VMPRIM,VMMAX)
% Se modela en función de los días que hayan transcurrido en la
% mineralización
if t < DT
    miner=0.0;
elseif t <= MINP+DT
    miner=VMPRIM*(t-DT)/MINP;
else
    miner=VMMAX+(VMPRIM-VMMAX)*exp(-XKAPPA*(t-MINP-DT));
end

end

```

## Fu\_difosteoblasts

```
% La función calcula la diferenciación de osteoblastos al verse
% afectados por la presencia de las células tumorales
function f_OBp_T = fu_difosteoblasts(T,f_OBp_T_max)

% Se definen los valores nominales
ModelParameter = fu_modelparameters6();
T_th = ModelParameter(54);
Tsat = ModelParameter(55);

% Función de diferenciación
f_OBp_T = f_OBp_T_max * min(1, (max(0, T-T_th)/(Tsat-T_th)));
end
```

## fu\_interleukina8

```
% Calcula la influencia de la interleukina8 en otros parámetros del
modelo
function f_IL8 = fu_interleukina8(IL8,f_IL8_max)

% Se definen los valores nominales
ModelParameter = fu_modelparameters6();
IL8_th = ModelParameter(56);
IL8sat = ModelParameter(57);

% Función de Interleukina8
f_IL8 = f_IL8_max * min(1, (max(0, IL8-IL8_th)/(IL8sat-IL8_th)));
end
```

## fu\_PTH\_c

```
function
Pi_PTH=fu_PTH(Beta_PTH, Deg_PTH, P_PTH_d, KD_PTH_act, KD_PTH_rep, Beta_PTH_
rP)

% Calcula los valores de los activadores y represores de PTH
%
% Beta_PTH      [pM/día] ... PTH tasa de producción
% Deg_PTH      [1/day] ... PTH Tasa de degradación
% P_PTH_d      [pM/day] ... PTH Dosis externa
% KD_PTH_act   [pM] ... PTH Constante de disociación
% KD_PTH_rep   [pM] ... PTH Constante de disociación

tau_PTH = 100;

PTH_tot_t0 = (Beta_PTH)/Deg_PTH;
PTH_tot     = (Beta_PTH+P_PTH_d+Beta_PTH_rP)/Deg_PTH;

Pi_PTH_act  = (PTH_tot)/(PTH_tot + KD_PTH_act);
Pi_PTH_rep  = 1/(1+(PTH_tot/(KD_PTH_rep)));

Pi_PTH = [Pi_PTH_act, Pi_PTH_rep, PTH_tot];
```



## Fu\_RANKL4

```
function
Pi_RANKL=fu_RANKL4(K_OPG_OBp,K_OPG_OBa,OPG_max,Deg_OPG,P_OPG_d, ...
    RANK_rec,K_RANKL_OBp,K_RANKL_OBa,KA1_RANKL,KA2_RANKL,...
    KA3_Denosumab,Denos,Beta_RANKL,Deg_RANKL,P_RANKL_d,...
    KD_RANKL_activate,OBp,OBa,OCp,Pi_PTH_act,Pi_PTH_rep)
% Calcula los valores de los activadores y represores de RANKL
% Cálculo de OPG

    OPG_eff = (K_OPG_OBp.*OBp + K_OPG_OBa.*OBa)*(Pi_PTH_rep);

    OPG      = (P_OPG_d+OPG_eff)./(OPG_eff./OPG_max)+Deg_OPG);

    Prod_OPG = OPG_eff.*(1-OPG./OPG_max) + P_OPG_d;
    Degr_OPG = Deg_OPG*OPG;

% Cálculo de RANK
    RANK = RANK_rec * OCp;
%
% Cálculo de RANKL
    RANKL_eff = (K_RANKL_OBp.*OBp + K_RANKL_OBa.*OBa).*(Pi_PTH_act);

    RANKL_tot = 1 + KA2_RANKL*RANK + KA1_RANKL*OPG + KA3_Denosumab *
Denos;

    RANKL = (Beta_RANKL + P_RANKL_d)./(RANKL_tot *
(Beta_RANKL./RANKL_eff + Deg_RANKL));

    pd_RANKL = Beta_RANKL*(1-RANKL*RANKL_tot/RANKL_eff) -
Deg_RANKL*RANKL*RANKL_tot + P_RANKL_d;

    OPG_RANKL = KA1_RANKL * OPG * RANKL;
    RANKL_RANK = KA2_RANKL * RANKL * RANK;

Pi_RANK_act = RANKL_RANK./((KD_RANKL_activate)+RANKL_RANK);

Pi_RANKL = [Pi_RANK_act,...
    OPG_eff,...
    OPG,...
    RANK,...
    RANKL_eff,...
    RANKL_tot,...
    RANKL,...
    RANKL_RANK];
```

## Fu\_TGFbe

```
function
Pi_TGFbe=fu_TGFbe(Alpha,KD_TGF_beta_activate,KD_TGF_beta_repress,OCa)

% Calcula los valores de los activadores y represores de TGFbe

OCa_t0 = 1.0e-04;
Pi_TGFbeta_OBu_act_t0 =
(Alpha*OCa_t0)./(KD_TGF_beta_activate+Alpha.*OCa_t0);
```

```

% TGF-be actuando sobre OBU, OBp, y OCa
% Activador de OBU
Pi_TGFbeta_OBU_act = (Alpha*OCa)./(KD_TGF_beta_activate+Alpha.*OCa);
% Activador de OCa
Pi_TGFbeta_OCa_act = (Alpha*OCa)./(KD_TGF_beta_activate+Alpha.*OCa);
% Represor de OBp
Pi_TGFbeta_OBp_rep = 1/(1+(Alpha*OCa./(KD_TGF_beta_repress)));
%
Pi_TGFbe = [Pi_TGFbeta_OBU_act_t0, ...
            Pi_TGFbeta_OBU_act, ...
            Pi_TGFbeta_OCa_act, ...
            Pi_TGFbeta_OBp_rep];

```

## Fu\_bonecelldynamics6

```

function xdot = fu_bonecelldynamics6(Time,CellsVector,Denosumab)
%
% Incluimos en esta función el efecto de las células tumorales y la
% ecuación diferencial que las controla.
% La función resuelve 8 ODEs
%
% Se inicializa xdot
%
format long e;

xdot = zeros(7,1);

OBp      = CellsVector(1,1); % OB precursor [pM]
OBa      = CellsVector(1,2); % OB activo [pM]
OCY      = CellsVector(1,3); % osteocito [pM]
OCp      = CellsVector(1,4); % OC precursor [pM]
OCa      = CellsVector(1,5); % OC activo [pM]
fbm      = CellsVector(1,6); % fracción volumétrica de matriz ósea
[%]
T        = CellsVector(1,7); % Células tumorales [pM]
VM       = CellsVector(1,8); % Fracción volumétrica de mineral [%]

% Se calculan la fracción de ceniza y las densidades
ash      = 3.2*VM/(3.2*VM+1.1*3.0/7.0);
tis_dens = 2.2*VM + 0.1*3/7 + 1;
dens     = tis_dens * fbm/100;

% Se calcula la porosidad vascular
fvas = 100 - fbm;

% Se llama a los parámetros necesarios de fu_modelparameters6 y se
leen.
ModelParameter=fu_modelparameters6();

D_OBU_t0 = ModelParameter(1);
D_OBp_t0 = ModelParameter(2);
A_OBa_t0 = ModelParameter(3);
D_OBa_t0 = ModelParameter(4);
D_OCp_t0 = ModelParameter(5);
D_OCp_t0 = ModelParameter(6);
A_OCa_t0 = ModelParameter(7);

KD_TGF_beta_activate = ModelParameter(8);

```

```

KD_TGF_beta_repress = ModelParameter(9);
KD_PTH_activate     = ModelParameter(10);
KD_PTH_repress      = ModelParameter(11);
KD_RANKL_activate   = ModelParameter(12);
RANK_rec            = ModelParameter(13);
KD_MCSF_activate    = ModelParameter(14);

P_RANKL_d          = ModelParameter(15);
P_OPG_d            = ModelParameter(16);
P_PTH_d            = ModelParameter(17);

Deg_PTH            = ModelParameter(18);
Beta_PTH           = ModelParameter(19);

Beta_OPG           = ModelParameter(20);
Deg_OPG            = ModelParameter(21);
OPG_max            = ModelParameter(22);

Beta_RANKL         = ModelParameter(23);
R_RANKL            = ModelParameter(24);
Deg_RANKL          = ModelParameter(25);
KA1_RANKL          = ModelParameter(26);
KA2_RANKL          = ModelParameter(27);

K_res              = ModelParameter(28);
Alpha              = ModelParameter(29);

R1_OBp_RANKL      = ModelParameter(30);
R2_OBa_RANKL      = ModelParameter(31);
Beta1_OBp_OPG     = ModelParameter(32);
Beta2_OBa_OPG     = ModelParameter(33);

sig_macro_t0      = ModelParameter(34);
de_sig_macro      = ModelParameter(35);

tresid            = ModelParameter(36);
DT                = ModelParameter(37);
MINP              = ModelParameter(38);
XKAPPA           = ModelParameter(39);
VMPRIM           = ModelParameter(40);
VMMAX            = ModelParameter(41);

ΔT                = ModelParameter(42);

k_OBu            = ModelParameter(43);
k_OBp            = ModelParameter(44);
k_OCu            = ModelParameter(45);
k_OCP            = ModelParameter(46);

KA3_Denosumab    = ModelParameter(51);

% Se introducen las constantes asociadas a la influencia de las
% células de mieloma en el modelo
k_PTH_rP         = ModelParameter(53);

k_T              = ModelParameter(58);
landa_T          = ModelParameter(59);
A_T_tratanticancer = ModelParameter(60);
k_IL8            = ModelParameter(62);

```

```

f_IL8_max1      = ModelParameter(63);
f_IL8_max2      = ModelParameter(64);
f_OBp_T_max     = ModelParameter(65);

LoadCase = getappdata(0, 'LoadCase');
TimeInterval_1 = getappdata(0, 'TimeInterval_1');
TimeInterval_2 = getappdata(0, 'TimeInterval_2');
TimeInterval_3 = getappdata(0, 'TimeInterval_3');
TimeEnd = getappdata(0, 'TimeEnd');
ParameterWrite = getappdata(0, 'ParameterWrite');

% Se llama a la función fu_loadcase4 para que muestre los estados de
carga
% posibles para el sistema.
LoadCaseParameter=fu_loadcase4(LoadCase, Denosumab, TimeInterval_1, TimeI
nterval_2, TimeInterval_3, Time);

D_OBu_t0 = LoadCaseParameter(1);
D_OBp_t0 = LoadCaseParameter(2);
D_OBa_t0 = LoadCaseParameter(3);
A_OBa_t0 = LoadCaseParameter(4);
D_OCu_t0 = LoadCaseParameter(5);
D_OCp_t0 = LoadCaseParameter(6);
A_OCa_t0 = LoadCaseParameter(7);

pd_OBp_t0 = LoadCaseParameter(8);
pd_OBa_t0 = LoadCaseParameter(9);
pd_OCY_t0 = LoadCaseParameter(10);
pd_OCp_t0 = LoadCaseParameter(11);
pd_OCa_t0 = LoadCaseParameter(12);

P_RANKL_d0 = LoadCaseParameter(13);
P_OPG_d    = LoadCaseParameter(14);
P_PTH_d    = LoadCaseParameter(15);

Beta_OPG   = LoadCaseParameter(16);
RANK       = LoadCaseParameter(17);
R_RANKL    = LoadCaseParameter(18);
KD_RANKL_activate = LoadCaseParameter(19);

de_sig_macro = LoadCaseParameter(21);
Alpha        = LoadCaseParameter(22);
fi_RANKL_mech = LoadCaseParameter(23);
Denos        = LoadCaseParameter(24);

% Se llama a los valores iniciales de los parámetros que necesitaremos
para
% resolver las ecuaciones
OBu_t0 = getappdata(0, 'OBu_t0');
OCu_t0 = getappdata(0, 'OCu_t0');
OBa_t0 = getappdata(0, 'OBa_t0');
OCa_t0 = getappdata(0, 'OCa_t0');
K_form = getappdata(0, 'K_form');
K_res  = getappdata(0, 'K_res');
D_OBa_t0 = getappdata(0, 'D_OBa');
A_OCY_t0 = getappdata(0, 'A_OCY');
ash_t0 = getappdata(0, 'ash_t0');
%
OCY_t0 = getappdata(0, 'OCY_t0');

```

```

fbm_t0      = getappdata(0, 'fbm_t0');
fvas_t0     = 100 - fbm_t0;

% Se definen las expresiones de RANKL y de OPG en función de OBp y OBa
K_RANKL_OBp = R1_OBp_RANKL*R_RANKL;
K_RANKL_OBa = R2_OBa_RANKL*R_RANKL;
K_OPG_OBp   = Beta1_OBp_OPG*Beta_OPG;
K_OPG_OBa   = Beta2_OBa_OPG*Beta_OPG;

% Se calculan las variables asociadas a la acción de TGFbe a partir
de la
% ecuación fu_TGFbe_c
Pi_TGFbe=fu_TGFbe_c(Alpha,KD_TGF_beta_activate,KD_TGF_beta_repress,Oca
,K_res);

Pi_TGFbeta_OBu_act_t0 = Pi_TGFbe(1);
Pi_TGFbeta_OBu_act    = Pi_TGFbe(2);
Pi_TGFbeta_OCa_act    = Pi_TGFbe(3);
Pi_TGFbeta_OBp_rep    = Pi_TGFbe(4);
Pi_TGFbeta_OBp_rep_t0 = Pi_TGFbe(5);
TGFbeta               = Pi_TGFbe(6);

% Se introduce la variable Beta_PTH_rP relacionada con las células
% tumorales y que provoca el aumento de PTH
Beta_PTH_rP = k_PTH_rP * TGFbeta * T;

% Se calcula el valor de la IL8 y se plantea la función
fu_interleukina8
% que proporciona el factor multiplicador que modifica la
diferenciación de
% osteoclastos precursores y la tasa de resorción.
IL8 = k_IL8 * TGFbeta * T;
f_IL8_1 = fu_interleukina8(IL8,f_IL8_max1);
f_IL8_2 = fu_interleukina8(IL8,f_IL8_max2);

% Se actualizan los valores nominales
D_OCp = D_OCp_t0*(1+f_IL8_1);
K_res = K_res*(1+f_IL8_2);

% Se calculan las variables asociadas a la acción de PTH a partir de
la
% ecuación fu_PTH_c
Pi_PTH=fu_PTH_c(Beta_PTH,Deg_PTH,P_PTH_d,KD_PTH_activate,KD_PTH_repres
s,Beta_PTH_rP);

Pi_PTH_act = Pi_PTH(1);
Pi_PTH_rep = Pi_PTH(2);
PTH_tot    = Pi_PTH(3);

% Se calcula la variable asociada a la acción de MSCF.
MCSF      = 0.001;
Pi_MCSF_act = (MCSF)/(MCSF + KD_MCSF_activate);

% Se añade el efecto de la tensión.
Pi_eps_t0 = 0.5;

% Se calcula la posible variación de la tensión sufrida por el modelo
% matemático
sig_macro = sig_macro_t0 + de_sig_macro;

```

```

sig_macro_ten0 = [0 0 0;0 0 0;0 0 sig_macro_t0]*10^-3; % GPa
sig_macro_vec0 = FU_mat2vec(sig_macro_ten0); % GPa

sig_macro_ten = [0 0 0;0 0 0;0 0 sig_macro]*10^-3; % GPa
sig_macro_vec = FU_mat2vec(sig_macro_ten); % GPa

micromech=fu_mechanics3(sig_macro_vec0,sig_macro_vec,fbm,fbm_t0,Pi_eps
_t0,ash,ash_t0,fi_RANKL_mech);

SED_bm0 = micromech(1);
SED_bm = micromech(2);
Pi_eps = micromech(3);
P_eps_RANKL = micromech(4);

% Se calculan las variables asociadas a la acción de RANKL a partir
de la
% ecuación fu_RANKL4
P_RANKL_d = P_RANKL_d0 + P_eps_RANKL;
Pi_RANKL=fu_RANKL4(K_OPG_OBp,K_OPG_OBa,OPG_max,Deg_OPG,P_OPG_d, ...
RANK_rec,K_RANKL_OBp,K_RANKL_OBa,KA1_RANKL,KA2_RANKL, ...
KA3_Denosumab,Denos,Beta_RANKL,Deg_RANKL,P_RANKL_d, ...
KD_RANKL_activate,OBp,OBa,OCp,Pi_PTH_act,Pi_PTH_rep);

Pi_RANK_act = Pi_RANKL(1);
OPG_eff = Pi_RANKL(2);
OPG = Pi_RANKL(3);
RANK = Pi_RANKL(4);
RANKL_eff = Pi_RANKL(5);
RANKL_tot = Pi_RANKL(6);
RANKL = Pi_RANKL(7);
RANKL_RANK = Pi_RANKL(8);

% Se tiene en cuenta la geometría de la superficie específica para
modelar
% la diferenciación celular
Sv0 = specific_surface(fvas_t0/100);
Sv = specific_surface(fvas/100);
g_OBu = (Sv/Sv0)^k_OBu;
g_OBp = (Sv/Sv0)^k_OBp;
g_OCu = (Sv/Sv0)^k_OCu;
g_OCp = (Sv/Sv0)^k_OCp;

% Se incluye la influencia que tienen la células tumorales en la
% diferenciación de los osteoblastos mediante la función
fu_difosteoblasts
f_OBp_T = fu_difosteoblasts(T,f_OBp_T_max);
D_OBp = D_OBp_t0 * (1-f_OBp_T);
%
OBp_t0 = 1.0e-03;

diff_version = 1;

if diff_version == 0
    D_OBu = D_OBu_t0*OBu_t0* Pi_TGFbeta_OBu_act; % original version
elseif diff_version == 1

```

```

a = 9/10;          % a = 1-nu
D_OBu_1 = a * g_OBp * D_OBp_t0 * Pi_TGFbeta_OBp_rep_t0 * OBp_t0;
D_OBu_2 = D_OBu_1 / Pi_TGFbeta_OBu_act_t0;
P_OBp_1 = (1-a) * g_OBp * D_OBp_t0 * Pi_TGFbeta_OBp_rep_t0;
P_OBp_2 = P_OBp_1 / Pi_eps_t0;

D_OBu = D_OBu_2 * Pi_TGFbeta_OBu_act + P_OBp_2 * OBp * Pi_eps;
end

% Se plantea el sistema de ecuaciones que resuelve el modelo.

OBp_in = D_OBu + pd_OBp_t0;
OBp_out = g_OBp*D_OBp_t0 * Pi_TGFbeta_OBp_rep * OBp;
OBa_in = OBp_out + pd_OBa_t0;
OBa_out = (D_OBa_t0 + A_OBa_t0)* OBa;
OCY_in = D_OBa_t0 * OBa + pd_OCY_t0;
OCY_out = A_OCY_t0 * OCa;
OCp_in = g_OCu*D_OCu_t0 * OCu_t0 * Pi_MCSF_act * Pi_RANK_act +
pd_OCp_t0;
OCp_out = g_OCp*D_OCp_t0 * Pi_RANK_act * OCp;
OCa_in = OCp_out + pd_OCa_t0;
OCa_out = A_OCa_t0 * Pi_TGFbeta_OCa_act * OCa;
T_in = k_T * TGFbeta*(T/(landa_T + T));
T_out = A_T_tratanticancer * T;

dOBpdt = OBp_in - OBp_out;
dOBadt = OBa_in - OBa_out;
dOCYdt = OCY_in - OCY_out;
dOCpdt = OCp_in - OCp_out;
dOCadt = OCa_in - OCa_out;
dfbmdt = K_form*OBa - K_res*OCa;
dTdt = T_in - T_out;

% En xdot se devuelven los valores obtenidos en las ecuaciones
% diferenciales para cada iteración
xdot = [dOBpdt;... % 1
        dOBadt;... % 2
        dOCYdt;... % 3
        dOCpdt;... % 4
        dOCadt;... % 5
        dfbmdt;... % 6
        dTdt]; % 7

%
% control parameters values for
% debugging
%
% set ParameterWrite == 0 for normal simulations
%
if ParameterWrite == 1

    sv_OBa = 1;

% Se devuelven valores relevantes del modelo para poder ser tratados
% posteriormente
xdot = [PTH_tot; ... % 1
        OPG_eff; ... % 2
        OPG; ... % 3
        RANK; ... % 4
        RANKL_eff; ... % 5

```

```
RANKL_tot; ... % 6
  RANKL; ... % 7
RANKL_RANK; ... % 8
Pi_PTH_act; ... % 9
Pi_PTH_rep; ... % 10
Pi_TGFbeta_OBu_act; ... % 11
Pi_TGFbeta_OCa_act; ... % 12
Pi_TGFbeta_OBp_rep; ... % 13
  Pi_RANK_act; ... % 14
  Pi_MCSF_act; ... % 15
  sig_macro; ... % 16
  SED_bm0; ... % 17
  SED_bm; ... % 18
  Pi_eps; ... % 19
P_eps_RANKL; ... % 20
  sv_OBa; ... % 21
  fvas; ... % 22
  Time; ... % 23
  ash; ... % 24
  dens; ... % 25
  T;]; ... % 26
```

end