

Ivan Vitor Dal Rovere

**Modelagem matemática de tumores e
estequiometria biológica**

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernando de Arruda
Mancera**

**Botucatu - SP
2008**

Ivan Vitor Dal Rovere

**Modelagem matemática de tumores e
estequiometria biológica**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Departamento de Bioestatística do Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, para obtenção do título de Bacharel em Física Médica.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernando de Arruda Mancera

Botucatu - SP

2008

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉCNICA DE AQUISIÇÃO E TRATAMENTO
DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: SELMA MARIA DE JESUS

Rovere, Ivan Vitor Dal.

Modelagem matemática de tumores e estequiometria biológica / Ivan Vitor Dal Rovere. - Botucatu [s.n], 2008.

Trabalho de conclusão (bacharelado – Física médica) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências de Botucatu, 2008

Orientador: Paulo Fernando de Arruda Mancera

1. Estequiometria 2. Câncer - Aspectos biológicos

Palavras-chave: Câncer; Estequiometria biológica; Modelagem matemática

Resumo

A biologia do câncer é um campo muito complexo e que vem se expandindo rapidamente. A taxa de mortalidade por esta doença tem diminuído, por conta de políticas de saúde pública, por exemplo; contudo, em outros casos, como o câncer de pulmão, a taxa de mortalidade não tem diminuído nas últimas décadas. Assim, há uma forte motivação para integrar vários campos do conhecimento para o estudo da biologia do câncer e a estequiometria biológica é um deles.

Estequiometria biológica é o estudo do balanço de energia e dos múltiplos elementos químicos em sistemas biológicos. Uma idéia central na estequiometria biológica é a hipótese da taxa de crescimento, a qual estabelece que a variação na relação estequiométrica carbono:nitrogênio:fósforo dos organismos vivos está associada com a taxa de crescimento por conta da elevada demanda de *RNA* ribossômico rico em fósforo e outros elementos necessários à síntese de proteínas. Como as células tumorais possuem alta taxa de proliferação, a hipótese da taxa de crescimento pode ser aplicada em estudos do câncer.

Neste trabalho a dinâmica de dois tumores (primário e secundário) e dos elementos químicos carbono e nitrogênio são simuladas e analisadas através de um modelo matemático que utiliza como idéia principal a estequiometria biológica. As equações diferenciais do modelo são resolvidas numericamente pelo método de Runge-Kutta de quarta ordem.

Palavras Chaves:

Câncer; estequiometria biológica; modelagem matemática

Abstract

Cancer biology is a complex and expanding field of science study. Due its complexity, there is a strong motivation to integrate many fields of knowledge to study cancer biology, and biological stoichiometry can make this.

Biological stoichiometry is the study of the balance of multiple chemical elements in biological systems. A key idea in biological stoichiometry is the growth rate hypothesis, which states that variation in the carbon:nitrogen:phosphorus stoichiometry of living things is associated with growth rate because of the elevated demands for phosphorus-rich ribosomal RNA and other elements necessary to protein synthesis. As tumor cells has high rate proliferation, the growth rate hypothesis can be used in cancer study.

In this work the dynamic of two tumors (primary and secondary) and the chemical elements carbon and nitrogen are simulate and analyzed through mathematical models that utilize as central idea biological stoichiometry. Differential equations from mathematical model are solved by numerical method Runge-Kutta fourth order.

Keywords:

Cancer; biological stoichiometry; mathematical modeling.

Sumário

1	Introdução	1
1.1	O câncer	1
1.1.1	Controle do crescimento de células normais	1
1.1.2	Genética básica do câncer	2
1.1.3	Instabilidade genética	3
1.1.4	Crescimento tumoral	4
1.1.5	Angiogênese	5
1.1.6	Metástase	8
1.2	Estequiometria biológica	9
1.2.1	Estequiometria biológica aplicada ao câncer	11
1.2.2	Proliferação celular e demanda por RNA em tumores	11
2	Modelos matemáticos	14
2.1	Modelo de Winkler	14
2.2	Modificações do modelo	18
2.2.1	Modificação da equação (2.3)	18
2.2.2	Modificação da equação (2.4)	18
2.2.3	Modificação do modelo de Michaelis-Menten por um presa-predador	19
3	Resultados	20
3.1	Resultados referentes às equações (2.1)-(2.5)	20
3.1.1	Variação da habilidade de sequestro de nutrientes pelos tumores .	20
3.1.2	Variação da sensibilidade dos tumores a variações da razão C:N (β_i)	24
3.1.3	Variação da taxa de crescimento α_i e da sensibilidade dos tumores a variações da razão C:N (β_i)	24
3.2	Resultados referentes à modificação da equação (2.3)	26
3.3	Resultados referentes à modificação da equação (2.4)	28
3.4	Resultados referentes à modificação das equações (2.1) e (2.2) de um mo- delo de Michaelis-Menten por um presa-predador	30

4 Conclusão	31
Referências	34

Lista de Figuras

- 3.1 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 21
- 3.2 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,6$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 21
- 3.3 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,6$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 22
- 3.4 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,2$ e $\gamma_2=0,2$ 23
- 3.5 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=1,8$ e $\gamma_2=0,6$ 23
- 3.6 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=1,8$ 23
- 3.7 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,0693$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 25

- 3.8 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 25
- 3.9 a) Dinâmica do tumor primário, b) Dinâmica do tumor secundário, c) Dinâmica do carbono e d) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$; $\alpha_1=0,05$ e $\alpha_2=0,04$ 26
- 3.10 a) Dinâmica do tumor primário, b) Dinâmica do tumor secundário, c) Dinâmica do carbono e d) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,0693$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$, $\gamma_2=0,6$; $\alpha_1=0,04$ e $\alpha_2=0,05$ 27
- 3.11 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 27
- 3.12 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 28
- 3.13 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 29
- 3.14 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 29
- 3.15 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,0693$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 29
- 3.16 a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$ 30

Capítulo 1

Introdução

Neste capítulo serão apresentados os conceitos básicos envolvidos na biologia do câncer e da estequiometria biológica, que darão embasamento para os capítulos seguintes.

1.1 O câncer

O desenvolvimento da vida requer a cooperação de mais de 10 milhões de células para o bom funcionamento do organismo (Wodarz & Komarova [39]). Esta cooperação é mantida por mecanismos que determinam quais células devem se dividir, quais devem morrer e quais devem se diferenciar.

O fenômeno do câncer pode ser definido sobre vários níveis. Em um nível mais básico, o câncer representa o colapso dessa rede de cooperação intercelular. Isto resulta em um crescimento descontrolado do número de células e, eventualmente, pode levar o organismo à morte.

1.1.1 Controle do crescimento de células normais

O mecanismo de controle do crescimento é uma das áreas mais importantes da biologia. Durante o crescimento e o desenvolvimento normal, um mecanismo preciso faz com que os diferentes órgãos atinjam um tamanho específico, o qual nunca deveria ser superado (normalmente não é superado). Se um tecido é danificado, as células que sobreviveram começam a crescer e a substituir as células lesadas, na maioria dos órgãos. Assim que o dano é reparado este processo pára, isto é, o mecanismo de controle do crescimento normal persiste por toda a vida. Embora a maioria das células no embrião tenha a capacidade de proliferar (aumentar em número), nem todas as células adultas mantêm

estas características. Na maioria dos órgãos há células especiais de reserva ou células primitivas que são capazes de crescer em resposta a uma série de estímulos, por exemplo, uma ferida, e diferenciar-se em células específicas daquele órgão. Quanto mais diferenciada uma célula, como as células musculares ou nervosas, mais provável é que tenha perdido a sua capacidade de crescer. Em alguns órgãos, principalmente no cérebro, as células mais diferenciadas - as células nervosas - podem proliferar unicamente no embrião, embora as células de sustentação mantenham a sua capacidade de crescimento. Em consequência, os tumores de células nervosas são encontrados somente em crianças, enquanto que nos adultos os tumores cerebrais são derivados quase que exclusivamente das células de sustentação (Franks [10]).

É de opinião comum que o câncer é uma doença do *DNA*, isto é, o crescimento descontrolado de células é o resultado de alterações ou mutações¹ no material genético. Mais precisamente, o surgimento do câncer pode requerer a acumulação de múltiplas mutações. Uma vez uma célula cancerígena criada, pode ocorrer um processo conhecido como expansão clonal. Ela dá origem a descendentes por divisão celular e a população celular cresce. Durante este processo, células podem adquirir uma variedade de mutações que permitem uma progressão mais rápida e avançada de duplicação.

O câncer consiste, tipicamente, de uma variedade de genótipos diferentes e representa um mosaico de linhagens de células. O crescimento de um câncer simples, ou primário, usualmente não leva o organismo à morte. Alguns cânceres podem, contudo, adquirir a habilidade de entrar na corrente sanguínea, viajar para diferentes sítios e iniciar o crescimento em outros órgãos. Esse processo é conhecido como metástase e é muito mais letal.

1.1.2 Genética básica do câncer

Genes específicos asseguram que a integridade das células seja mantida e o crescimento descontrolado prevenido. Quando estes genes sofrem mutação, as células ficam sujeitas ao desenvolvimento de um fenótipo cancerígeno. Estes genes podem ser divididos em três categorias: oncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparo.

Em células normais, os oncogenes promovem a proliferação regulada das células, na presença de apropriados sinais de crescimento. Quando oncogenes se mutam induzem a célula a se dividir continuamente, independente da presença ou ausência de sinais de crescimento. Isto pode resultar em crescimento indesejado e câncer. Apenas uma mutação

¹Mutações são modificações na estrutura ou no número de cromossomos, bem como na estrutura do gene(*DNA*).

é necessária para ativar um oncogene, porque ele causa um “ganho de função”. Células normais têm duas cópias de cada gene e cromossomo; uma do pai e outra da mãe. Se qualquer delas for ativada, no caso de um oncogene, a célula terá novo comportamento.

Os genes supressores de tumor são os responsáveis pela interrupção do crescimento das células. O crescimento de uma célula tem que ser interrompido se a célula estiver danificada, mutada ou se a morte da célula é requerida por homeostase. Quando os genes supressores de tumor ficam inativos, o crescimento de células alteradas não é prevenido e isto promove o desenvolvimento do câncer. Por conta deste gene necessitar ser inativado ao invés de ativado, as cópias do pai e da mãe devem sofrer mutação. Dessa forma, dois eventos de mutação devem ocorrer para a inativação dos genes supressores de tumor. Pelo fato de que muitos cânceres são iniciados via inativação de um gene supressor de tumor, acredita-se que a iniciação requer duas mutações (*two hits*). Esta idéia foi formulada pela primeira vez por Alfred Knudson (Wodarz & Komarova [39]) e é chamada de *two hits hypothesis*. Exemplo de gene supressor de tumor é o gene p53² que é inativado em mais de 50% de todos os cânceres humanos.

Os genes de reparo são responsáveis por manter a integridade do genoma. Quando DNA é danificado, por exemplo, por conta de exposição à radiação ultravioleta, radiação ionizante ou carcinógenos, esses genes fazem com que o dano seja removido e a célula permaneça saudável. Se os genes de reparo são mutados, células podem adquirir novas alterações genéticas em uma taxa mais rápida e isto promove o processo da carcinogênese³. Células que têm os genes de reparo mutados são referidos como *mutator phenotypes* ou células geneticamente instáveis. A perda da função de reparo também requer duas mutações (*two hits*), contudo, uma única mutação pode resultar numa redução da função no contexto de certos genes de reparo.

1.1.3 Instabilidade genética

Diferentes tipos de instabilidade genética podem ser verificados. Elas podem ser classificadas em duas categorias: pequenas seqüências de instabilidade e grandes seqüências de instabilidade.

Pequenas seqüências de instabilidade envolvem sútis variações genéticas que podem rapidamente levar a um processo de progressão de câncer. Defeitos em mecanismos de reparo de material genético conhecidos como *mismatch repair* dão início a instabilidade

²O gene p53 possui uma proteína que se liga ao DNA e induz a produção de um gene regulador que impede a célula de se duplicar (mitose). Mutações nesse gene, então, incapacitam esse freio de emergência de duplicação celular e conduz a uma instabilidade gênica (Rocha [32]).

³A carcinogênese é a cascata de eventos que ocorrem na conversão de uma célula normal em um câncer.

microsatélite ou *MSI*. Isto envolve cópia errônea na repetição da sequência do *DNA*. *MSI* é mais comum em câncer de cólon. Outro tipo de instabilidade de pequena escala vem através de defeitos nos genes de reparo conhecidos como *excision nucleotide*. Estes são responsáveis pelo reparo dos danos do *DNA* causados por mutágenos⁴ exógenos, como radiação ultravioleta. Ele é mais importante no desenvolvimento do câncer de pele. Um defeito em tal mecanismo de reparo foi verificado em uma doença chamada *xenoderma pigmentosum*, a qual é caracterizada pelo desenvolvimento de muitos tumores na pele em áreas expostas ao sol (Wodarz & Komarova [39]).

Instabilidades que envolvem grandes alterações cromossômicas são chamadas instabilidades cromossômicas ou *CIN*. Células que são caracterizadas pelo *CIN* mostram uma variedade de anormalidades cromossômicas. Estas podem ser alterações no número de cromossomos, que podem envolver perda ou ganho de cromossomos totais. Isto resulta em aneuploidia⁵. Alternativamente, partes dos cromossomos podem ser perdidas ou pode ocorrer translocações, ampliações de genes e recombinações mitóticas.

1.1.4 Crescimento tumoral

As células normais e as cancerígenas se dividem mais rapidamente quando os volumes teciduais ou tumorais são menores, e mais lentamente quando os volumes são maiores. Isto leva a um crescimento exponencial com curtos períodos de duplicação em tumores de volumes menores. A fase proliferativa de um tumor decresce à medida que o tumor cresce, aumentando seu tempo de duplicação. O crescimento de células sadias ou cancerosas podem ocorrer por três mecanismos

(Rocha [32]):

1. Encurtamento da duração do ciclo celular, o que resulta em mais células sendo produzidas por unidade de tempo.
2. Diminuição da taxa de morte celular, o que também resulta em mais células sendo produzidas.
3. Mudança de células em G_0 ⁶ para o ciclo celular, resultando em mais células sendo produzidas por unidade de tempo.

Nos cânceres, os tempos de duplicação das células podem ser altamente variáveis e relativamente autonômicos. Os tempos de duplicação das células e do volume dos cânceres

⁴Mutágenos são agentes físicos ou químicos capazes de alterar a informação genética de um organismo.

⁵Trata-se da alteração numérica de um ou alguns cromossomos do genoma.

⁶ G_0 é uma das fases da mitose, a de menor atividade metabólica.

são medidas reais da agressividade de um câncer, pois são medidas dinâmicas (Rocha [32]). Como já mencionado, inicialmente, células cancerígenas crescem exponencialmente. Isto ocorre porque na fase inicial há uma quantidade ilimitada de nutrientes (incluindo oxigênio) oriundos da dieta. Os nutrientes são carregados ao longo dos vasos sanguíneos, atravessando as paredes dos vasos, e então se difundem ao longo dos tecidos e de células individuais. No entanto, com o crescimento muito rápido (exponencial), os vasos sanguíneos são incapazes de crescer com a mesma taxa e se desenvolve uma deficiência na provisão sanguínea. Então, quando é atingido esse nível, a velocidade de proliferação tumoral diminui. De forma geral, o comportamento do crescimento tumoral obedece a uma curva gompertziana (Araujo & McElwain [1]).

Em situações em que os suprimentos fornecidos pelos vasos sanguíneos já não são suficientes para atender as necessidades tumorais, os tumores são capazes de produzir substâncias que aumentam o fluxo sanguíneo ou induzem a proliferação de vasos, embora usualmente esta resposta não seja suficiente para cobrir a necessidade do tumor (Pescarmona et al. [29]), esse fenômeno é conhecido como angiogênese. Outros fatores, como localização em tecidos rígidos como ossos, competição por nutrientes com outras populações de células tais como linfócitos ou macrófagos também limitam o crescimento de tumores (Pescarmona et al. [29]).

1.1.5 Angiogênese

Inicialmente, os tumores sólidos são avasculares, eles não possuem sua própria provisão de sangue. Nesta situação eles dependem de vasos sanguíneos próximos para a obtenção de nutrientes, de oxigênio e também para a eliminação de metabólitos, sendo todas essas trocas realizadas por difusão (Mantzaris et al. [24], Plank [30], Rocha [32], Wodarz & Komarova [39]). Com o aumento rápido da massa tumoral, as demandas por nutrientes e oxigênio também aumentam, até o momento em que as provisões oferecidas às células via difusão são insuficientes para as necessidades do tumor. Nesta situação, as células superficiais do tumor recebem nutrientes normalmente e as células do interior, não. Isso provoca a formação de um núcleo necrótico, formado por células tumorais mortas devido à insuficiência de nutrientes que chega até elas, e, eventualmente, o tumor pára de crescer (a menos que seja vascularizado), não ultrapassando um tamanho de aproximadamente 1 à 3mm (Kerbel [16], Mantzaris et al. [24], Plank [30], Preziosi [31], Wodarz & Komarova [39]).

Angiogênese é a formação de vasos sanguíneos a partir de uma vascularização pré-existente, é um componente crucial no processo de crescimento de muitos mamíferos (Chaplain [2]) e ocorre tanto em adultos como em embriões (Preziosi [31]). Ela ocorre,

por exemplo, na embriogênese durante a formação da placenta, depois da implantação do blastocisto na parede uterina (Graham & Lala [11]). Em adultos ela ocorre na vascularização dos ovários e útero durante o ciclo menstrual, nas glândulas mamárias durante a lactação, etc (Folkman [9]). A angiogênese também é importante em processos patológicos, tais como, doenças inflamatórias crônicas (artrite reumatóide, por exemplo), vasculopatias, desordens degenerativas, neo-vascularização dos olhos, úlceras duodenais, processos de cicatrização, tumorigênese, etc (Chaplain et al. [3], Preziosi [31]). Através dela o crescimento de um tumor pode ser retomado e a massa de células necróticas no interior do tumor desaparece. Uma bem ordenada sequência de eventos caracteriza a angiogênese (Chaplain [2], McDougall et al. [25]), começando com o rearranjo e migração de células endoteliais de um vaso pré-existente e culminando numa nova extensiva rede, ou leito, de vasos sanguíneos. Cinco diferentes fases biológicas da angiogênese foram caracterizadas e estabelecidas, segundo Preziosi [31], são: iniciação, progressão, diferenciação, maturação e remodelamento e guia (*guidance*). A iniciação é caracterizada pela variação da forma das células endoteliais e pelo aumento da permeabilidade. A fase de progressão inclui a degradação da matriz extracelular, migração e proliferação das células endoteliais. Durante a diferenciação, as células endoteliais páram de crescer, sobrevivem em condições sub-ótimas e se diferenciam em primitivos vasos sanguíneos. A fase de maturação inclui a formação de nova matriz extracelular, recrutamento de pericitos e células musculares lisas e remodelamento da rede vascular primitiva. Na fase guia (*guidance*), a arquitetura da árvore vascular é finalizada e delineada. Todos esses passos são em parte regulados por fatores de crescimento endotélio-específicos, que incluem membros de *VEGF* (Fator de crescimento vascular endotelial), angiopoietinas, efrinas e famílias de semaforinas.

Fator de crescimento vascular endotelial (*VEGF*)

O *VEGF* é o maior mediador que intervêm na vasculogênese e na angiogênese. A família *VEGF* consiste de seis genes que codificam proteínas específicas: *VEGF-A*, *VEGF-B*, *VEGF-C*, *VEGF-D*, *VEGF-E* e derivados do fator de crescimento placentar (*PlGF*). Eles são glicoproteínas diméricas produzidas por células mesenquimais e são também conhecidos como fatores de permeabilidade vascular (*VPF*), uma vez que permitem que os fluidos e as proteínas extravasem. O aumento da permeabilidade dos vasos (devido à estimulação de organelas vesiculares e vacuolares e a perda de junções de aderência entre as células) e a crescente deposição de fibrina são fatores importantes que permitem a migração das células endoteliais. O *VEGF* tem três receptores tirosina cinase: *VEGF* receptor-1 (*VEGFR-1*), *VEGFR-2* e *VEGFR-3* (Preziosi [31], Rocha [32]). O *VEGF-A* in-

duz, entre outros, a sobrevivência e a proliferação de células epiteliais. Também controla a diferenciação hematopoiética durante o desenvolvimento, bem como o comportamento de monócitos, osteoblastos e osteoclastos (Preziosi [31]). O comportamento de outras moléculas de *VEGF*, que não o *VEGF-A*, são pouco conhecidos. *VEGF-C* e, provavelmente, *VEGF-D* parecem ser os mais importantes efetores da linfagiogênese pela ativação do receptor *VEGFR-3*. *PlGF*, o qual não tem maior papel na fisiologia da angiogênese, é um importante indutor da vascularização de tumores e tecidos isquêmicos (Preziosi [31]).

Um dos mais importantes reguladores da expressão de *VEGF-A* é a abundância de oxigênio. Em resposta a níveis reduzidos desse gás⁷, as células expressam o fator de transcrição de hipóxia-induzido-1(*HIF-1*), o qual, dentro do núcleo, liga-se a elementos hipóxia-responsáveis do *DNA*, ativando a expressão de genes hipóxia-responsáveis, incluindo o *VEGF-A*. A indução da produção de *VEGF-A* pela baixa concentração de oxigênio justifica o fato desta molécula ser altamente expressa em muitas situações onde um aumento na vascularização é necessário para compensar a baixa oxigenação, como em áreas necróticas de tumores e tecidos isquêmicos.

Angiopoietina

Proteína que se liga a receptores específicos do endotélio vascular, do tipo *Tie1* e *Tie2*. O receptor *Tie2* desempenha um papel na integridade e sobrevivência das células endoteliais na angiogênese. Na sua ausência, o número de células endoteliais nos vasos é muito baixo, o coração não se desenvolve e a rede vascular não se organiza em vasos de pequeno e grande calibre. No embrião, a angiopoietina é expressa na aorta dorsal e em adultos na placenta, ovário e útero.

Fator de crescimento fibroblástico (*FGF*)

O *FGF* é responsável pela proliferação e migração das células endoteliais, produção de ativadores de plasminogênios e collagenases e pela produção de pericitos, fibroblastos e miofiblastos. Baixas concentrações desse fator implicam dificuldades de cicatrização de feridas.

Fator de crescimento derivado das plaquetas (*PDGF*)

⁷Hipóxia ocorre quando há baixa concentração de oxigênio.

Esse fator é produzido por uma enorme diversidade de células. Alguns estímulos, como gravidez, grandes concentrações de trombina etc, possibilitam uma produção maior de *PDGF*. O efeito destas moléculas depende da célula alvo, inclusive atua na angiogênese, mas não de forma tão evidente quanto o do *FGF*.

Existem outros fatores de crescimento que estão envolvidos com a angiogênese, mas serão omitidos. No entanto, os principais foram citados.

1.1.6 Metástase

Segundo Perumpanani & Norbury [28], a morbidade e mortalidade associada ao câncer é consequência da habilidade das células cancerígenas de invadir tecidos vizinhos, vasos sanguíneos, linfáticos e vários órgãos distantes do sítio primário do tumor. Este processo é conhecido como metástase. Além disso, segundo Winkler [38], a metástase é a maior razão para a falha do tratamento de cânceres. Primeiramente, pelo próprio tratamento que, freqüentemente envolve cirurgias invasivas seguidas por radioterapia e quimioterapia, fica muito menos efetivo depois que células do tumor se espalham para outros sítios. Também pela dificuldade de determinar exatamente para onde uma célula de um tumor primário migrará no corpo.

A metástase é uma cascata seqüencial de passos envolvendo múltiplas interações tumor-hospedeiro mediadas por moléculas de adesão celular. Seis passos podem ser definidos (Preziosi [31], Winkler [38]):

1. Destacamento

Células tumorais podem se destacar do tumor primário, provavelmente devido à diminuição de sua interação adesiva com células vizinhas. É largamente admitido que a perda de função de E-caderinas está relacionada com este passo.

2. Invasão

Usando apropriadas moléculas de adesão (principalmente da família das integrinas) e enzimas degradativas, as células cancerígenas podem ser capazes de se ligar ou destacar da matriz extracelular e dar início às modificações e ajustes necessários para migrar do local de origem até um vaso sanguíneo ou linfático.

3. Intravasão

Intravasão ocorre na circulação sanguínea ou linfática. É mais provável que ocorra metástase em tumores vascularizados por conta das aberturas naturais produzidas pela angiogênese que facilita a penetração de células tumorais na circulação.

4. Transporte e imobilização

Como as células cancerígenas viajam através da corrente sanguínea, elas podem encontrar células imunocompetentes que podem por fim em suas jornadas através do corpo. Contudo, algumas células cancerígenas são capazes de se “dissimular” (elas expressariam moléculas nativas das membranas de leucócitos), e dessa forma escapam dos possíveis ataques do sistema imunológico. Células cancerígenas circulantes podem também interagir com componentes do sangue, como plaquetas, leucócitos e outras células tumorais e formam agregados cujo tamanho ajuda a célula parar na circulação (imobilização). Este tipo de imobilização e reações bioquímicas são desencadeadas por citocinas liberadas pelas plaquetas e acredita-se que elas induzem a expressão de moléculas de adesão pelas células endoteliais (*E-selectins*), que ajudam a extravasação de células cancerígenas.

5. Extravasação

Neste processo, células cancerígenas individuais primeiramente param na circulação pelo desenvolvimento de interações adesivas com as células da parede endotelial dos vasos. Então, se espalham em direção a junções das células endoteliais, através das quais elas migram (extravasam).

6. Invasão do órgão alvo

Este passo requer os mesmos tipos de eventos descritos no passo 2, ação de MMPs (enzimas) e aquisição de motilidade.

1.2 Estequiometria biológica

Estequiometria biológica é o estudo do balanço de energia e dos múltiplos elementos químicos em sistemas biológicos (Elser et al. [8]). Ela é uma extensão da teoria da estequiometria ecológica, uma aproximação desenvolvida em ecologia de ecossistema para melhor entender a dinâmica ecológica em termos de balanço de material de organismos interagentes no ambiente.

O desenvolvimento da estequiometria biológica foi motivado pelo conhecimento que diferentes organismos podem contrastar fortemente em sua composição elementar, com particular atenção para os macronutrientes carbono (C), nitrogênio (N) e fósforo (P). Em lagos, por exemplo, algumas espécies de crustáceos apresentem baixa concentração de fósforo corpóreo (C:P=200, N:P=40), enquanto outros possuem alta concentração desse elemento (C:P=67, N:P=13) (Elser et al. [7]).

As quantidades dos elementos são, freqüentemente, expressas em relação ao carbono. Por exemplo, um valor alto da razão C:N, indica que o elemento N está em baixa abundância em relação ao carbono (C). Sterner & Elser [36], justificam o uso de razões entre os elementos e defendem dois motivos para esse uso. Primeiro, pelo fato da estequiometria estar diretamente relacionada com proporções. E a segunda justificativa é porque as razões já foram muito utilizadas na ecologia, em trabalhos bem sucedidos.

Uma idéia central nesse ramo da ciência é a hipótese da taxa de crescimento (*GRH*). Ela estabelece que diferenças nas razões C:N:P de organismos são causadas por diferentes alocações de *RNA* ribossômico necessárias para síntese de proteínas, que atendem as demandas de rápidas taxas de crescimento e desenvolvimento (Sterner & Elser [36]).

A estequiometria biológica considera os organismos como sendo simples moléculas (Sterner & Elser [36]). Embora essa abstração não seja estritamente verdadeira, é conhecido que a complexidade do funcionamento de um organismo é demasiadamente elevada para ser entendida em todos os níveis, sem antes ser compreendida em sua organização e propriedades mais básicas.

O foco da estequiometria biológica/ecológica está fundamentada sobre os elementos químicos e seus padrões de abundância em um organismo. Toda forma de vida requer o suplemento de macroelementos como C (carbono), H (hidrogênio), O (oxigênio), N (nitrogênio), P (fósforo), etc. Além de alguns menos abundantes como Fe (ferro), Mg (magnésio), entre outros. As concentrações de pelo menos 22 elementos em humanos foram determinadas (Sterner & Elser [36]) e notou-se que para 1 átomo de Co (Cobalto), que é o elemento menos abundante no organismo humano, existe 375 milhões de átomos de hidrogênio, que é o elemento mais abundante. A relação completa dos 22 elementos, cuja abundância foi determinada, permite calcular a fórmula estequiométrica para um humano como sendo

$$\text{H}_{375000000}\text{O}_{132000000}\text{C}_{85700000}\text{N}_{6430000}\text{Ca}_{1500000}\text{P}_{1020000}\text{S}_{206000}\text{Na}_{183000}\text{K}_{177000}\text{Cl}_{127000}\text{Mg}_{40000}\text{Si}_{38600}\text{Fe}_{2680}\text{Zn}_{2110}\text{Cu}_{76}\text{I}_{14}\text{Mn}_{13}\text{F}_{13}\text{Cr}_7\text{Se}_4\text{Mo}_3\text{Co}_1.$$

Esta fórmula combina todos os elementos de um organismo humano como sendo uma simples molécula abstrata, a molécula humana (assim como, por exemplo, $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$ forma a molécula de glicose), e cada indivíduo é produto dessa combinação e proporção de átomos que, senão constante, obedece ou está ligada por algumas regras. Assim, humanos devem obter estes elementos em quantidade suficiente do ambiente, que pode ou não ter similar proporção entre os mesmos. A fisiologia humana deve possuir recursos para arranjar esses múltiplos elementos em uma miríade de diferentes moléculas, absorver alguns, metabolizar outros, rearranjar muitos e, quando necessário, excretá-los.

A estequiometria biológica é um assunto muito extenso, com muitos detalhes e teorias. Por isso, é impossível descrevê-la de maneira breve. No entanto, exprimi-la em minúcias não é o objetivo deste trabalho e sim utilizar as principais idéias desse ramo da ecologia em um assunto tão complexo, como o câncer. O assunto é apresentado e discutido em muito maior detalhe em Sterner & Elser [36].

1.2.1 Estequiometria biológica aplicada ao câncer

Uma miscelânea de novas estratégias, técnicas experimentais e aproximações teóricas estão emergindo na progressiva batalha contra o câncer (Araujo & McElwain [1]). Segundo Elser et al. [7], a biologia do câncer apresenta uma enorme complexidade e é um campo em crescente expansão. Trabalhos dessa área envolvem desde biologia molecular a epidemiologia ambiental. Assim, há uma enorme motivação, entre os pesquisadores, para integrar diversos campos do conhecimento da biologia do câncer e introduzir novos conceitos e estruturas teóricas que podem melhorar o entendimento da dinâmica tumoral, corroborando para o desenvolvimento das terapias. A estequiometria biológica é um dos campos que podem colaborar para este progresso.

Na estequiometria biológica aplicada ao câncer, deve-se admitir um ponto de vista, no qual, tumor e hospedeiro (paciente), são vistos como componentes de um sistema ecológico, cada um com demandas particulares de materiais que estabelecem os termos de interação e assim afetam suas dinâmicas (Elser et al. [7]). A meta na terapia do câncer é assegurar que o hospedeiro (paciente) vença esta competição (isto é, o tumor seja eliminado) ou, ao menos, que haja uma coexistência estável que mantenha o paciente em níveis de saúde aceitáveis. Pela aplicação de uma perspectiva estequiométrica para representar a multivariada demanda por materiais e transações dos competidores, profissionais da saúde podem ser mais capazes de interferir nessa competição, em favor do paciente.

1.2.2 Proliferação celular e demanda por RNA em tumores

Um componente chave da hipótese da taxa de crescimento é que células crescendo rapidamente, demandam elevadas alocações de RNA ribossômico, já que, segundo Sterner & Elser [36], os ribossomos são as “organelas da síntese de proteínas”. Segundo os mesmos autores, os ribossomos também são as organelas mais ricas em fósforo das células, por isso, mais sensíveis a abundância desse elemento. No rápido crescimento de culturas de *Escherichia coli*, entre 30 e 40% de sua massa seca pode ser referente ao RNA, sendo que cerca de 85% desse RNA seja RNA ribossômico (Elser et al. [7], Sterner & Elser

[36]). Esse alto nível de *RNA* não ocorre apenas em microorganismos, mas também em muitos metazoos. O desenvolvimento de muitos animais envolve períodos de rápido desenvolvimento e crescimento. Esses períodos são geralmente caracterizados por aumento nos níveis de alocação de *RNA*.

Tumores são tecidos com taxas de proliferação altas, portanto, são um campo de aplicação da hipótese da taxa de crescimento. Durante o crescimento tumoral, então, deve-se notar o aumento da alocação de *RNA* ribossômico. Segundo Elser et al. [7], existem estudos que comprovam essa relação, como exemplo:

- Em tumores de pele induzidos por aplicação epidermal de promotores de tumor, a razão *RNA:DNA* e a quantidade de *RNA* (porcentagem de massa seca contribuída pelo *RNA*) era de duas a três vezes maior que em tecidos normais.
- Em vários tipos de leucemia, a quantidade de *RNA* celular dos linfócitos estava fortemente correlacionada com acelerado crescimento celular.
- Em estudo de cânceres ginecológicos, no qual o tecido neoplásico era comparado com seu correspondente sadio, as quantidades de *DNA* e *RNA* no tecido neoplásico estava aumentada de 1,6 e 2,4 vezes, respectivamente.
- Similarmente, quantidade de *RNA* estava aumentada por um fator de 1,4 em células de *myc-transfected neuroblastoma* em relação a células normais.

Um exemplo interessante ocorre em pacientes com anemia (eritropoiese idiopática inefetiva [IIE]), na qual é notada uma ineficiência na proliferação celular (neste caso, células vermelhas do sangue). Pacientes sofrendo de IIE tem eritroblastos contendo apenas 70% dos níveis normais de *RNA* ribossômico (Elser [7], citando Lourenco [23]). Assim, em uma situação de excesso de proliferação (câncer), os níveis de *RNA* ribossômico são aumentados, enquanto em uma situação de insuficiência de proliferação celular (anemia), os níveis de *RNA* ribossômico são diminuídos.

Outra evidência vem de estudos citológicos. A síntese de ribossomos se dá numa região do núcleo chamada nucléolo. Estudos mostraram que em células cancerígenas o nucléolo é aumentado por conta do aumento da atividade transcricional e que o tamanho e forma são preditivos da taxa de proliferação.

Altas demandas por *RNA* ribossômico devem consumir muito fósforo, devido a grande concentração desse elemento neste tipo de *RNA*. Ainda há poucos estudos acerca da composição elementar dos tecidos cancerígenos. No entanto, existe algumas evidências do aumento dos níveis de fósforo em tumores, oriundas de estudos do elemento ^{31}P com ressonância magnética nuclear. Por exemplo, em um estudo de câncer de mama humano,

os fosfatos totais no tecido tumoral diminuíram significativamente durante um tratamento bem sucedido (Elser et al. [7], citando Leach et al. [20]).

Todas as observações parecem estar confluindo em direção a validade da estequiometria biológica e da hipótese da taxa de crescimento. Pode-se, então, principiar estudos para colher dados e observações, que podem favorecer o desenvolvimento de terapias. Uma das alternativas de tratamento que os estudos indicam, seria o controle ou a manipulação da quantidade de fósforo fornecida ao organismo, que poderia frear o acelerado crescimento, já que as células não teriam provisões para a produção do maquinário necessário para a duplicação. A modelagem matemática é uma importante ferramenta para o teste de hipóteses provenientes das diversas áreas das ciências biológicas. Na estequiometria biológica não é diferente. Modelos matemáticos podem ser empregados, neste caso, para inferir como o organismo e o tumor irão responder a certas variações, as quais deseja-se testar. Agora, então, será apresentado o modelo que este trabalho está baseado.

Capítulo 2

Modelos matemáticos

Neste capítulo são apresentados os modelos matemáticos que serão utilizados neste trabalho. Inicialmente, apresentado o modelo de Winkler [38]. Em seguida, são apresentadas as modificações realizadas sobre o modelo de Winkler.

2.1 Modelo de Winkler

Assim como o fósforo, o nitrogênio também tem importância na síntese de proteínas. Proteínas são polímeros formados por várias seqüências de aminoácidos, que apresentam, entre outros elementos, o nitrogênio em uma abundância de aproximadamente 17% de sua composição (Sterner & Elser [36]).

Para que ocorra divisão celular é necessário que a célula duplique seu número de proteínas e outras moléculas. Nesta situação, não só a demanda por fósforo pode ser aumentada, mas também de outros elementos como nitrogênio e carbono. Para melhor entender este mecanismo celular, Winkler [38] propôs um modelo matemático, que será estudado neste trabalho. Um dos objetivos do modelo de Winkler é examinar a relação carbono-nitrogênio (C:N). Outro foco desse modelo é examinar a questão de como células cancerígenas que estão se deslocando para outros sítios (metástase), são capazes de sobreviver em novos ambientes a despeito da competição por nutrientes das células do tumor primário. Para entender essa questão, o modelo considera a competição de nutrientes (carbono e nitrogênio) entre o tumor primário e o secundário. A hipótese é que células do tumor primário e secundário são capazes de coexistir devido a diferenças genótípicas que influenciam suas relações com os nutrientes do ambiente. A lógica é que essas diferenças em nível genético entre as células do tumor primário e secundário podem fazer com que as células tenham demandas completamente diversas de nutrientes. Evidências experimen-

tais sugerem que isso possa ser verdadeiro (Winkler [38], citando Hanahan & Weinberg [12]).

O modelo de Winkler é:

$$\frac{dp}{dt} = \left[\alpha_1 V e^{-\beta_1 V} - \left(d_{\max,1} - \frac{\sigma_1 c(t)}{K_{d,1} + c(t)} \right) - \delta \right] p(t), \quad (2.1)$$

$$\frac{ds}{dt} = \left[\alpha_2 V e^{-\beta_2 V} - \left(d_{\max,2} - \frac{\sigma_2 c(t)}{K_{d,2} + c(t)} \right) - \delta \right] s(t), \quad (2.2)$$

$$\frac{dc}{dt} = \lambda_c [C_B - c(t)] - \gamma_1 \left(\alpha_1 V p(t) e^{-\beta_1 V} \right) - \gamma_2 \left(\alpha_2 V s(t) e^{-\beta_2 V} \right), \quad (2.3)$$

$$\frac{dn}{dt} = \lambda_N [N_B - n(t)] - \omega_1 p(t) n(t) - \omega_2 s(t) n(t), \quad (2.4)$$

$$V = \frac{c(t)}{n(t) + \varepsilon}. \quad (2.5)$$

A Tabela 2.1 define as variáveis dependentes e suas propriedades e a Tabela 2.2 lista os parâmetros do modelo, sendo que o índice i assume o valor 1, para o tumor primário e 2 para o secundário.

O modelo se foca nas massas dos tumores primário $p(t)$ e secundário $s(t)$ em um ambiente recurso-dependente, suas taxas de crescimento são representadas pelas equações (2.1) e (2.2), respectivamente. A máxima taxa de crescimento per capita do tumor i é α_i e o crescimento é diretamente afetado pela razão da concentração de carbono pela de nitrogênio do ambiente, a qual é representada por V . Para evitar uma singularidade nesta quantidade quando a concentração de nitrogênio vai a zero, V é modificado pela adição de ε no denominador. Desde que a taxa de crescimento dos tumores primário e secundário

Tabela 2.1: Variáveis dependentes, seus significados biológicos e unidades.

Variável dependente	Interpretação biológica	Unidades
$p(t)$	Massa do tumor primário	gramas (g)
$s(t)$	Massa do tumor secundário	gramas (g)
$c(t)$	Concentração de carbono (C)	mol/litro (M)
$n(t)$	Concentração de nitrogênio (N)	mol/litro (M)

Tabela 2.2: Parâmetros do modelo, seus significados biológicos e unidades

Parâmetro	Interpretação biológica	Unidades
α_i	Taxa de crescimento per capta do tumor i	$(\text{dia})^{-1}$
β_i	Sensitividade da taxa de crescimento do tumor i a variações na razão C:N	adimensional
$d_{\max,i}$	Máxima taxa de mortalidade do tumor i devido a limitação de nutrientes	$(\text{dia})^{-1}$
σ_i	Taxa de morte per capta do tumor i devido a limitação de nutrientes	$(\text{dia})^{-1}$
$K_{d,i}$	Concentração de nutrientes a metade da máxima taxa de morte do tumor i	mol/litro(M)
δ	Taxa de mortalidade por causas não relacionadas a limitação de nutrientes	$(\text{dia})^{-1}$
λ_C	Taxa de influxo de carbono no ambiente	$(\text{dia})^{-1}$
λ_N	Taxa de influxo de nitrogênio no ambiente	$(\text{dia})^{-1}$
C_B	Concentração intersticial de carbono	mol/litro(M)
C_N	Concentração intersticial de nitrogênio	mol/litro(M)
γ_i	Taxa de absorção de carbono do tumor i	mol/(glitro)
ω_i	Taxa de absorção de nitrogênio do tumor i	$(\text{gdia})^{-1}$

são diferentes (Saidel et al. [34]), a taxa de crescimento per capta α_i para os dois tumores serão diferentes. O parâmetro β_i representa a sensibilidade da taxa de crescimento a variações de V . Um valor grande para β_i implica uma menor razão ótima C:N, enquanto um pequeno significa uma maior razão ótima C:N.

Neste modelo, as células tumorais podem morrer de dois modos. Primeiramente, por morte natural, representada por δ , a qual é assumida ter o mesmo valor para ambos os tumores. Esse parâmetro representa a morte por vários fatores, exceto por nutrientes. A segunda causa de morte das células tumorais é assumida ser relacionada aos nutrientes. O termo $\left(d_{\max,i} - \frac{\sigma_i c(t)}{K_{d,i} + c(t)}\right)$ representa o total de mortes relacionadas a limitação de nutrientes. A taxa de mortalidade devido a limitação de carbono é assumida nunca ir além de um máximo finito, representado por $d_{\max,i}$. Esta taxa de mortalidade é assumida diminuir com o aumento da concentração de carbono, pois quanto maior a concentração desse elemento, maior é a capacidade da célula produzir *ATP* para suprir suas necessidades. Contudo, quando a concentração de carbono vai para o infinito, o nível de sobrevivência apenas vai para σ_i , e dessa forma a taxa de mortalidade em um ambiente rico em carbono

é $d_{\max,i} - \sigma_i$. Por isto, $d_{\max,i}$ deve necessariamente ser maior ou igual a σ_i , caso contrário a taxa de mortalidade seria positiva, ou seja, células cancerígenas estariam se formando do nada.

As equações (2.3) e (2.4) representam as dinâmicas das concentrações de carbono e nitrogênio, respectivamente. Enquanto ambas equações contêm termos similares para o influxo e depleção de nutrientes no ambiente ($\lambda_C[C_B - c(t)]$ e $\lambda_N[N_B - n(t)]$), os termos relacionados a absorção de nutrientes são diferentes para o carbono e nitrogênio, refletindo diferenças biológicas no uso desses dois elementos. É assumido que o organismo trabalhe para manter níveis sangüíneos constantes da concentração de carbono e nitrogênio de C_B e C_N , respectivamente.

A absorção de carbono pelas células tumorais está diretamente relacionado a taxa de crescimento tumoral, enquanto o de nitrogênio está relacionado ao tamanho total do tumor. Isto ocorre porque o carbono é assumido ser a maior fonte de energia para a proliferação celular e o nitrogênio está relacionado a parte estrutural das células. Winkler [38] também assume que o carbono liberado pela célula, quando esta morre, não é reaproveitado, pois considera que esse elemento foi completamente oxidado a dióxido de carbono ou outras moléculas que não podem ser utilizadas pelo organismo.

Os valores dos parâmetros, segundo Winkler [38], foram baseados nos trabalhos de Kuang et al. [19], Nagy [26], Pescarmona et al. [29] e Sterner & Elser [36]. Os valores são apresentados na Tabela 2.3.

Tabela 2.3: Parâmetros e seus valores.

Parâmetro	Valor	Parâmetro	Valor
α_1	0,05	α_2	0,05
$K_{d,1}$	0,50	$K_{d,2}$	0,50
$d_{\max,1}$	1,00	$d_{\max,2}$	1,00
σ_1	1,00	σ_2	1,00
β_1	0,077	β_2	0,077
γ_1	0,60	γ_2	0,60
ω_1	0,20	ω_2	0,20
λ_N	6,40	λ_C	19,0
C_B	9,0	N_B	3,0
δ	0,01	ε	0,00001

2.2 Modificações do modelo

Foram feitas algumas modificações no modelo de Winkler, com o objetivo de analisar o comportamento do crescimento dos tumores primário e secundário e das concentrações dos elementos carbono e nitrogênio e verificar como essas mudanças afetam a dinâmica dos tumores.

2.2.1 Modificação da equação (2.3)

A primeira modificação do modelo de Winkler foi feita na equação (2.3), enquanto todas as outras equações (2.1), (2.2), (2.4) e (2.5) ficam inalteradas. A equação (2.3) é representada como

$$\frac{dc}{dt} = \lambda_C(C_B - c(t)) - \gamma_1 p(t)c(t) - \gamma_2 s(t)c(t). \quad (2.6)$$

Tal equação continua com os termos referentes ao influxo e depleção natural de nutrientes intactos, mas os termos referentes ao sequestro de nutrientes são modificados. Essa equação é muito parecida com a equação (2.4). Biologicamente, essa alteração trará informações acerca da dinâmica tumoral quando ambos nutrientes são absorvidos de formas semelhantes.

2.2.2 Modificação da equação (2.4)

Agora a equação (2.4) foi modificada, enquanto todas as outras equações, não. A equação (2.4) assume uma forma que é análoga a equação (2.3), com exceção de valores particulares de parâmetros, sendo expressa como

$$\frac{dn}{dt} = \lambda_N(N_B - n(t)) - \omega_1(\alpha_1 V p(t)e^{-\beta_1 V}) - \omega_2(\alpha_2 V s(t)e^{-\beta_2 V}). \quad (2.7)$$

Novamente os nutrientes estão sendo regidos por formas matemáticas semelhantes, o que significa que estamos considerando uma situação onde as concentrações de carbono e nitrogênio variam de forma semelhante nos dois tumores.

2.2.3 Modificação do modelo de Michaelis-Menten por um presa-predador

Essa mudança foi realizada nas equações (2.1) e (2.2), no termo $\left(d_{\max,i} - \frac{\sigma_i c(t)}{K_{d,i} + c(t)}\right)$, que representa a taxa de morte total devido a limitação de nutrientes, enquanto todas as outras equações (2.3), (2.4) e (2.5) são as mesmas. Nas equações originais esse termo segue um modelo de Michaelis-Menten, que agora será substituído por um modelo presa-predador. As equações ficam

$$\frac{dp}{dt} = \left(\alpha_1 V e^{-\beta_1 V} - \sigma_1 c(t) - \delta\right) p(t), \quad (2.8)$$

$$\frac{ds}{dt} = \left(\alpha_2 V e^{-\beta_2 V} - \sigma_2 c(t) - \delta\right) p(t). \quad (2.9)$$

Nessa nova forma, a morte total de células tumorais fica $\sigma_i c(t)$. Os parâmetros $d_{\max,i}$, que representa a máxima taxa de morte devido a limitação de nutrientes do tumor i e $K_{d,i}$, que representa a concentração de nutrientes à metade da máxima taxa de morte do tumor i , foram eliminados.

Capítulo 3

Resultados

Neste capítulo são apresentados os resultados obtidos a partir do modelo de Winkler e de suas modificações. Nas simulações realizadas, caso não se fale nada acerca de valores para os parâmetros, os valores que foram usados são aqueles apresentados na Tabela 2.3.

3.1 Resultados referentes às equações (2.1)-(2.5)

Nesta seção são mostrados os resultados referentes ao modelo de Winkler ([38]), e são variados os parâmetros α , β , γ e ω .

3.1.1 Variação da habilidade de sequestro de nutrientes pelos tumores

Como mostrado na Tabela 2.2, os parâmetros γ_i e ω_i estão relacionados com a taxa de sequestro de nutrientes, neste caso carbono e nitrogênio. Portanto, é interessante avaliar o comportamento do crescimento dos tumores quando tais parâmetros são modificados. Segundo Winkler [38], as variações desses parâmetros estão ligadas a variações no genótipo das células que constituem os dois tumores, já que a absorção desses nutrientes pelas mesmas é feita através de receptores na membrana celular, que são expressos segundo as características genéticas.

A Figura 3.1 mostra os gráficos resultantes das dinâmicas dos elementos carbono e nitrogênio e também das dinâmicas dos dois tumores, primário e secundário, quando as concentrações do carbono e nitrogênio são 9,0M e 3,0M, respectivamente, e os parâmetros α , β e γ são iguais para os dois tumores. Percebe-se que nenhum dos tumores pode crescer até que a concentração de nitrogênio caia abaixo de um valor crítico. Isso ocorre porque, enquanto a concentração de nitrogênio é alta, os dois tumores devem ineficientemente

excretar todo o excesso de carbono que não podem utilizar, gastando um excesso de energia e afetando seus crescimentos. Isso fica mais evidente por volta do quinquagésimo dia, quando a concentração de nitrogênio cai, aproximadamente, à metade. Nesse período, o carbono deixa de ser excretado em excesso e é utilizado pelos tumores e um grande aumento do crescimento dos tumores é verificado.

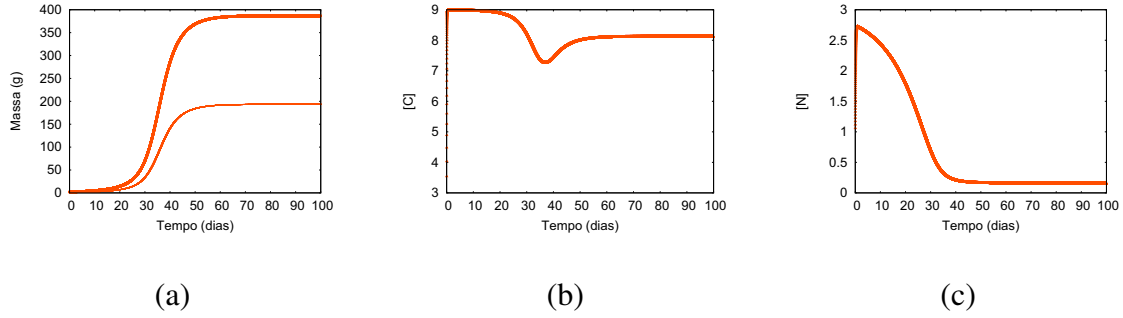


Figura 3.1: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

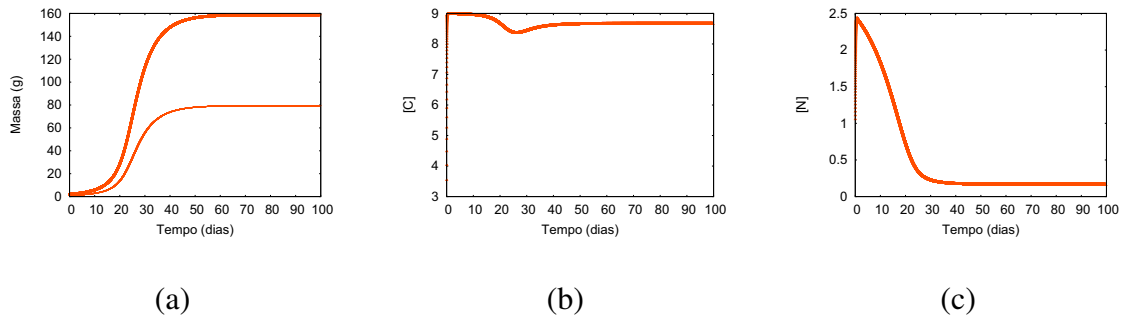


Figura 3.2: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,6$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

Agora é considerada a situação em que o tumor primário sequestra nitrogênio a uma taxa três vezes maior que a do secundário, os gráficos são apresentados na Figura 3.2. Nesta figura vê-se que nos primeiros dias há um excesso de nitrogênio, por isso o tumor não cresce até que a concentração de nitrogênio diminua e uma razão ótima C:N seja atingida. Quando isto ocorre os tumores passam a crescer, mas crescem até massas inferiores às daquelas atingidas pelos tumores quando os parâmetros ω_1 e ω_2 são iguais e possuem valores de 0,2, expresso na Figura 3.1. Essa diminuição das massas dos tumores

ocorre porque, embora o tumor primário obtenha nitrogênio a uma taxa maior que a do secundário, sua taxa de crescimento per capita α_1 continua com o mesmo valor, apresentado na Tabela 2.3. Assim, o tumor primário sequestra nitrogênio ineficientemente, ou seja, ele não é capaz de utilizar todo o nitrogênio que absorve, restando a ele excretar o excedente, gastando energia, desfavorecendo seu crescimento. Já o tumor secundário sofre pelo fato do ambiente estar com menor concentração de nitrogênio, pois muito está sendo sequestrado pelo primário, não recebendo esse nutriente de forma ótima. Na Figura 3.3 são mostrados as simulações obtidas com ω_1 e ω_2 iguais a 0,2 e 0,6, respectivamente.

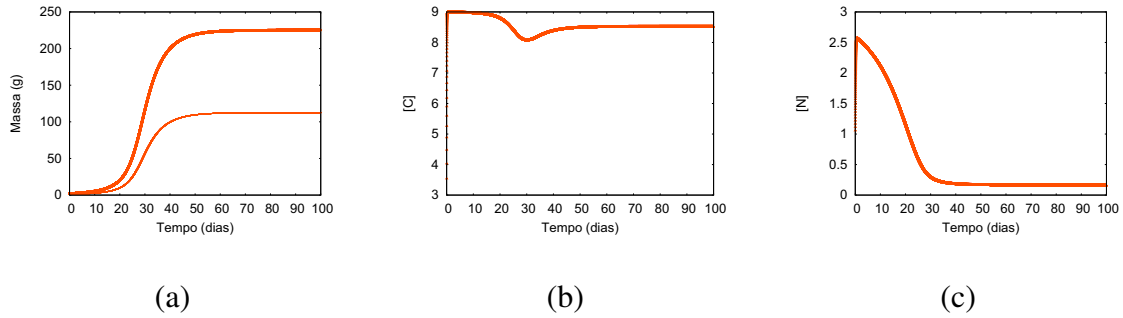


Figura 3.3: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,6$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

Na Figura 3.4 os parâmetros ω_i e γ_i são tomados todos com o mesmo valor. Aqui a baixa taxa de sequestro de nutrientes pelos tumores evita que os mesmos capturem nutrientes além de suas necessidades. Por isso, as células estão crescendo de uma maneira muito eficiente, permitindo que ambos atinjam tamanhos consideráveis. Nota-se que quando os tumores começam a crescer, a concentração de carbono cai abruptamente, enquanto a de nitrogênio cai lentamente até que se atinja um relação C:N ótima para o crescimento.

Agora, serão consideradas as situações em que os valores de γ_i são variados e os parâmetros ω_i são mantidos constantes. A Figura 3.1 mostra o resultado quando $\gamma_1 = \gamma_2 = 0,6$. Nela observa-se que os tumores não crescem até que o nitrogênio excedente seja excretado. Na Figura 3.5 a taxa de sequestro de carbono pelo tumor primário é três vezes maior que a do secundário. Neste caso o tumor primário chega a massa máxima de aproximadamente 300 gramas e o secundário de 160 gramas. A Figura 3.6 mostra a situação oposta, o tumor secundário sequestra carbono a uma taxa três vezes maior que a do tumor primário, este chegando a massa de 200 gramas e aquele de 420 gramas.

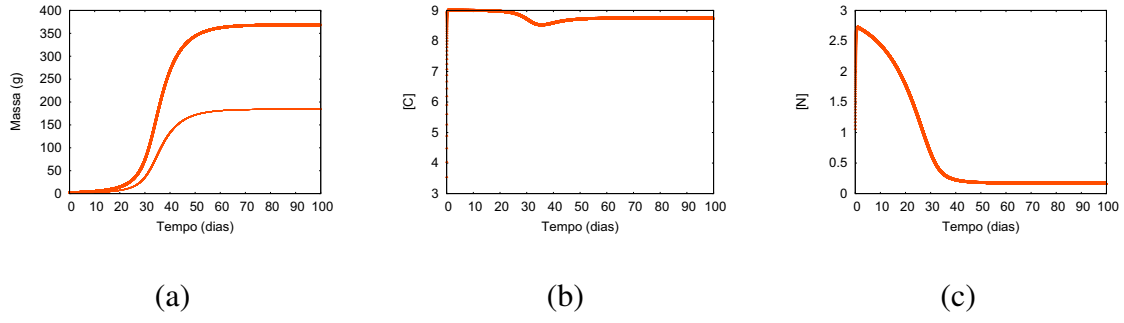


Figura 3.4: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,2$ e $\gamma_2=0,2$.

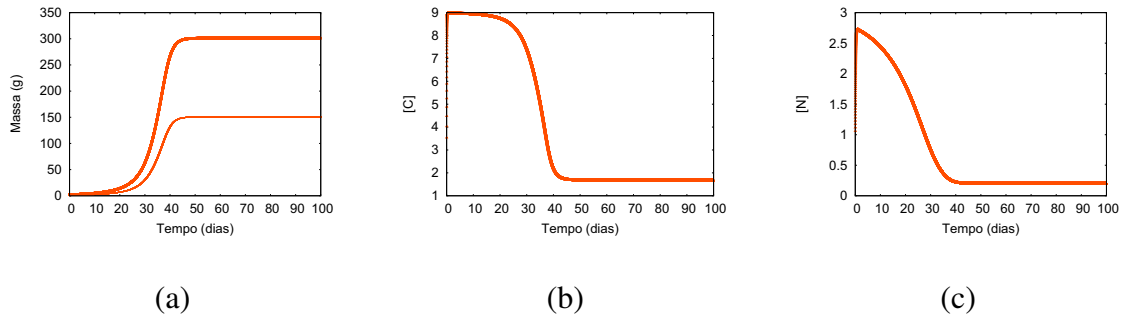


Figura 3.5: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=1,8$ e $\gamma_2=0,6$.

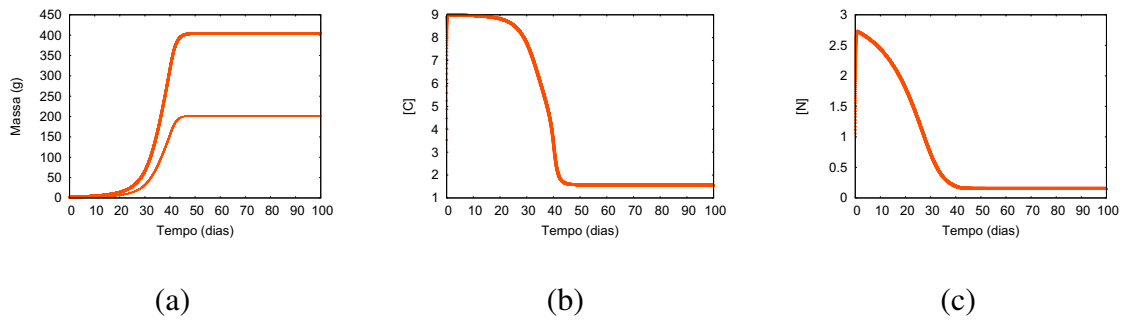


Figura 3.6: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=1,8$.

3.1.2 Variação da sensibilidade dos tumores a variações da razão C:N (β_i)

Novamente a Figura 3.1 mostra o comportamento da dinâmica tumoral e dos nutrientes para a situação em que β_1 e β_2 possuem valores iguais a 0,077. Ambos tumores crescem rapidamente após um período sem nenhuma resposta, com o tumor primário atingindo uma massa de 380 gramas e o secundário de 190 gramas. O período sem resposta dos tumores ocorre por conta da razão C:N no ambiente ser menor que a razão ótima para o crescimento dos tumores, quando tal razão for atingida os tumores passam a crescer. A Figura 3.7 mostra que aumentando a razão C:N (diminuindo β_i) para o tumor primário em apenas 10%, ele torna-se muito mais competitivo que o tumor secundário. Nesta situação ambos passam a crescer a partir do vigésimo dia, só que o tumor primário a uma taxa muito maior que a do tumor secundário, que cresce por um certo período de tempo e quando atinge uma massa de aproximadamente 100 gramas passa a gradualmente diminuir de tamanho até sua morte, enquanto o tumor primário cresce até a massa de 600 gramas. O tumor primário cresce mais rapidamente porque pode usar mais carbono para crescimento por átomo de nitrogênio que o tumor secundário. A quantidade de carbono no ambiente cai com o crescimento dos tumores e a razão C:N vai para um nível onde o tumor primário pode manter seu crescimento enquanto o secundário morre gradualmente. Situação oposta é vista na Figura 3.8. Neste caso a razão ótima C:N do tumor secundário é 10% maior que a do tumor primário. Desta vez o tumor secundário cresce até por volta de 620 gramas enquanto o tumor primário morre. Esta situação é interessante porque é um exemplo de como um tumor secundário pode ser capaz de vencer o tumor primário (que o gerou) na competição por nutrientes. Clinicamente, isto pode explicar porque alguns tumores secundários são detectados antes que os primários.

3.1.3 Variação da taxa de crescimento α_i e da sensibilidade dos tumores a variações da razão C:N (β_i)

Nas Figuras 3.7 e 3.8 são exibidos os comportamentos dos tumores quando os parâmetros β_i são variados. Agora será incluído a variação do parâmetro α_i , que está relacionado com a taxa de crescimento de cada tumor. Na Figura 3.9 são apresentadas as dinâmicas dos tumores e nutrientes para a situação em que α_1 e β_1 são maiores que α_2 e β_2 e possuem valores de 0,05 e 0,07, respectivamente. Apesar do tumor primário ter uma taxa de crescimento maior, ele não consegue crescer com tanta eficiência na quanto o tumor secundário e quando atinge massa de aproximadamente 450 gramas, passa a diminuir de

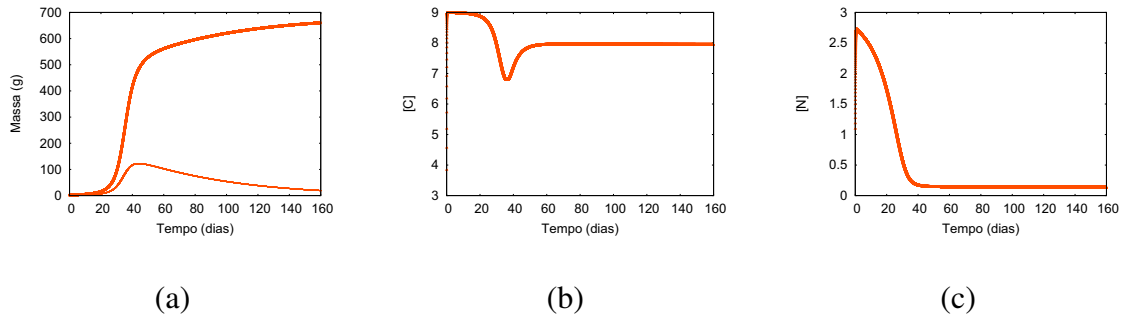


Figura 3.7: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,0693$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

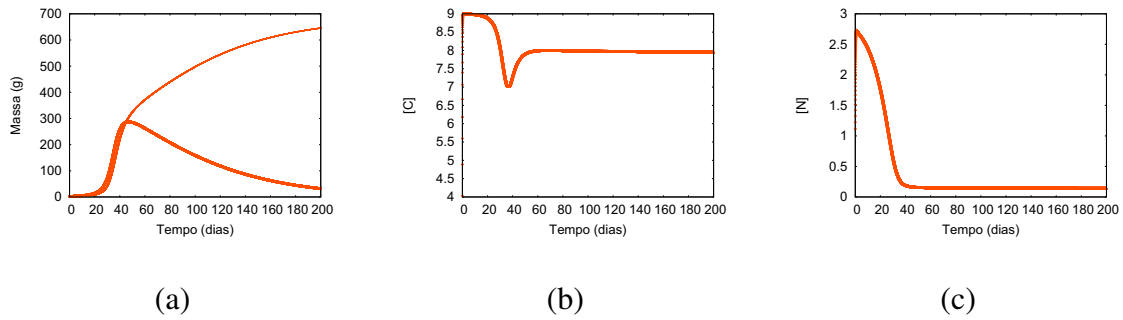


Figura 3.8: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

tamanho. Isto ocorre porque o tumor primário possui uma alta taxa de crescimento, mas para crescer necessita de nutrientes, que apresentam-se distribuídos no ambiente numa concentração que produz uma razão C:N menor que aquela ótima, ou seja, ele tem alta taxa de crescimento, mas pode usar menos átomos de carbono por átomo de nitrogênio. Já o tumor secundário, que possui menor α e β cresce consideravelmente. O crescimento do tumor secundário é favorecido porque ele pode usar um número maior de átomos de carbono por átomo de nitrogênio, pois seu β é menor. Sua taxa de crescimento também corrobora para seu crescimento, já que ela é menor e o tumor pode crescer mais eficientemente. O oposto é visto na Figura 3.10, em que α_2 e β_2 são maiores que os correspondentes do tumor primário, este crescendo até uma massa superior a 450 gramas e o secundário crescendo até aproximadamente 320 gramas, e então passa a diminuir de massa.

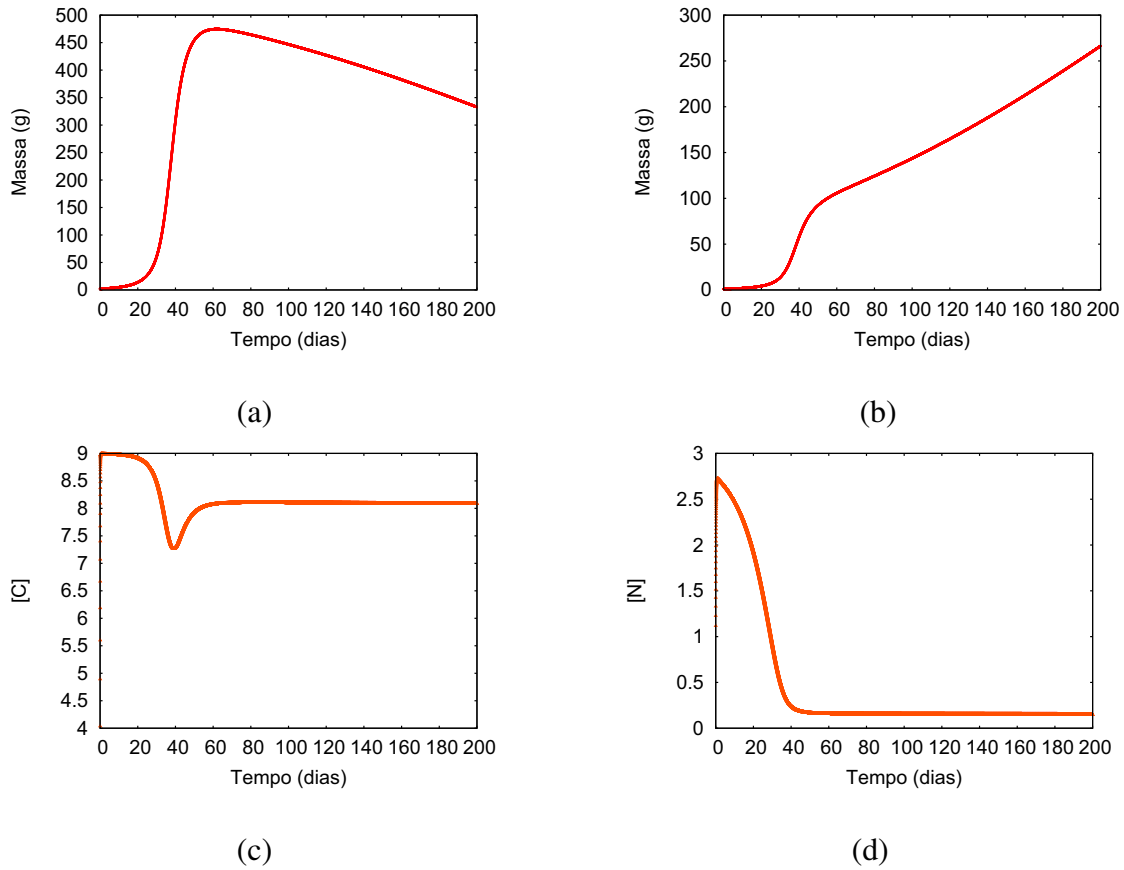


Figura 3.9: a) Dinâmica do tumor primário, b) Dinâmica do tumor secundário, c) Dinâmica do carbono e d) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$; $\alpha_1=0,05$ e $\alpha_2=0,04$.

3.2 Resultados referentes à modificação da equação (2.3)

A Figura 3.11 mostra o resultado obtido pela primeira dessas modificações. Percebe-se que o crescimento de ambos os tumores é mais lento quando comparado ao das equações originais mostrado na Figura 3.1. O tumor primário cresce até cerca de 35 gramas e o secundário até por volta de 15 gramas. As concentrações de carbono e nitrogênio estabilizam-se em 3,5 e 1,2 mols/L, respectivamente.

A Figura 3.12 mostra a dinâmica tumoral quando o parâmetro β_i é variado para um dos tumores. O tumor primário possui um β igual a 0,077, enquanto o secundário de 0,0693. Como já discutido, quanto menor o β maior a razão C:N e mais carbono por átomo de nitrogênio pode ser usado pelo tumor. Nesse caso o tumor secundário possui um β 10% menor que o correspondente do tumor primário, por isso cresce mais eficientemente que o outro tumor. Inicialmente os dois tumores crescem e consequentemente as concentrações

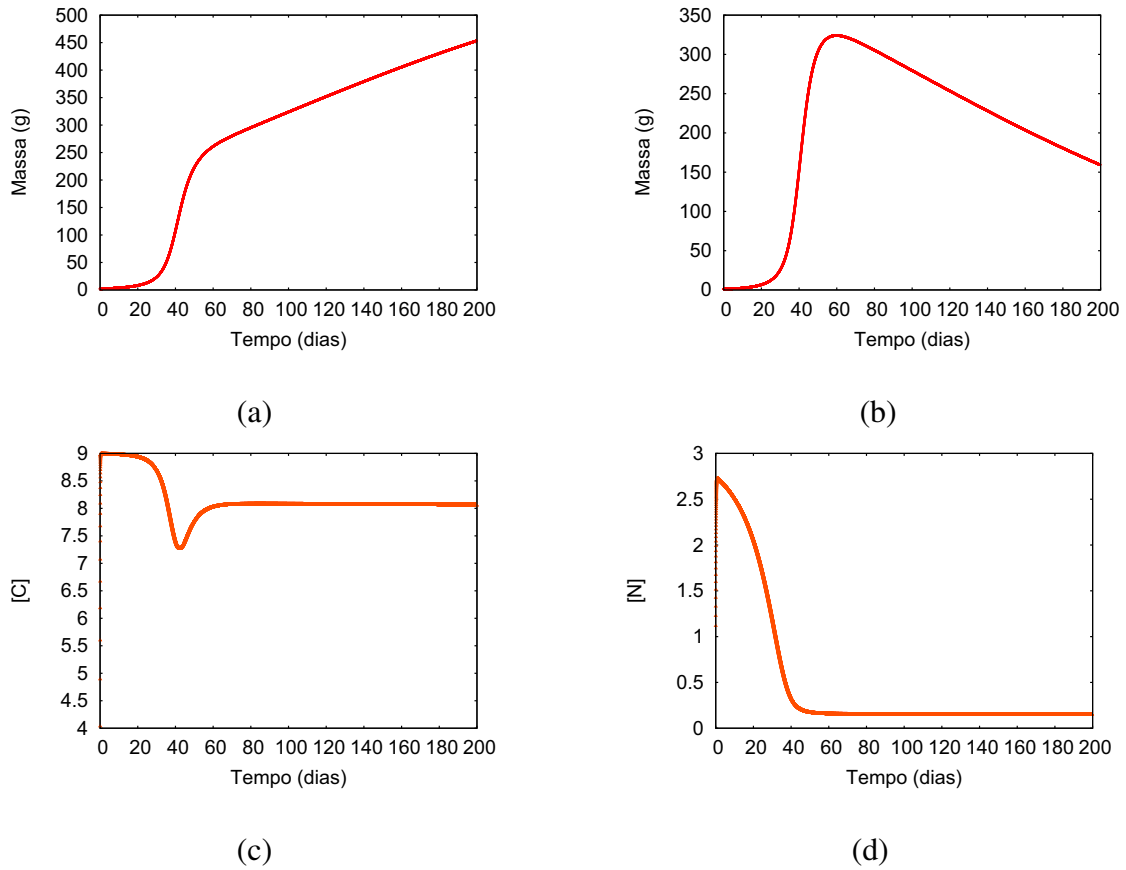


Figura 3.10: a) Dinâmica do tumor primário, b) Dinâmica do tumor secundário, c) Dinâmica do carbono e d) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,0693$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$, $\gamma_2=0,6$; $\alpha_1=0,04$ e $\alpha_2=0,05$.

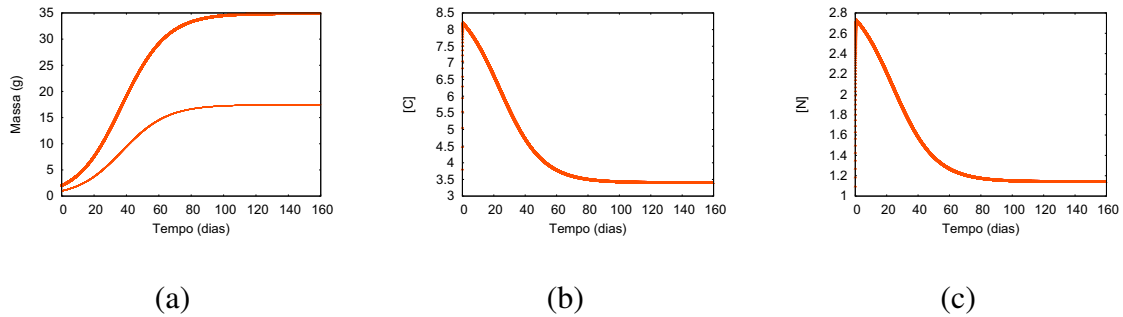


Figura 3.11: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

de nutrientes caem, até que por volta do centésimo dia a relação C:N atinge um valor que

somente o tumor secundário pode manter o crescimento, pois pode utilizar mais átomos de carbono por átomo de nitrogênio, então gradualmente o tumor primário vai diminuindo sua massa que, por volta do milésimo dia não passa de 7 gramas.

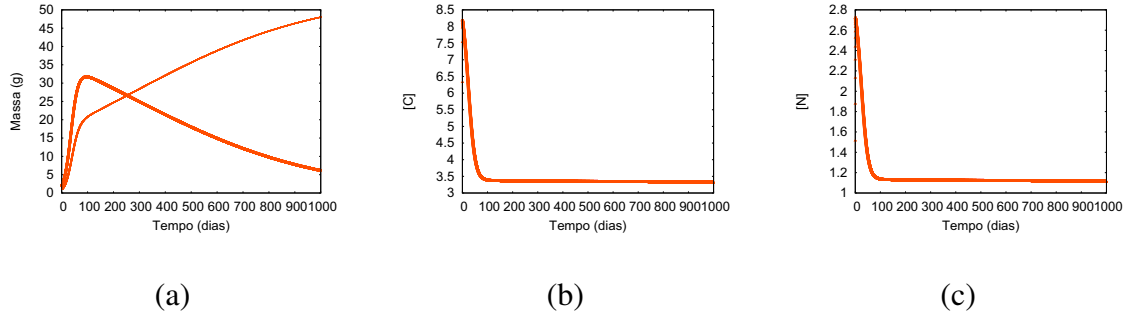


Figura 3.12: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

3.3 Resultados referentes à modificação da equação (2.4)

Na Figura 3.13 são mostrados os gráficos das simulações com os valores de β e γ iguais a 0,077 e 0,6, respectivamente. Nos gráficos fica evidenciado um período sem crescimento dos tumores e por volta do quadragésimo dia ambos passam a crescer rapidamente, com o tumor primário aproximando-se de uma massa de 1000 gramas e o secundário de 500 gramas. Esse período sem resposta ocorre por que inicialmente, no ambiente, a concentração de nutrientes está menor do que aquela ideal para o crescimento. Quando a ideal é atingida os tumores crescem rapidamente.

Na Figura 3.14 o parâmetro β_2 é diminuído em 10%. Novamente o tumor secundário utiliza mais átomos de carbono por átomo de nitrogênio e por volta do sexagésimo dia suplanta o tumor primário no crescimento, sendo que este passa a diminuir de massa em direção ao desaparecimento. O tumor secundário cresce além de 1200 gramas, pois possui nutrientes no ambiente em concentrações ideais para seu crescimento. A Figura 3.15 mostra a situação em que β_1 é diminuído em 10% e dessa vez o tumor secundário não suporta as condições ambientais e vai em direção ao desaparecimento.

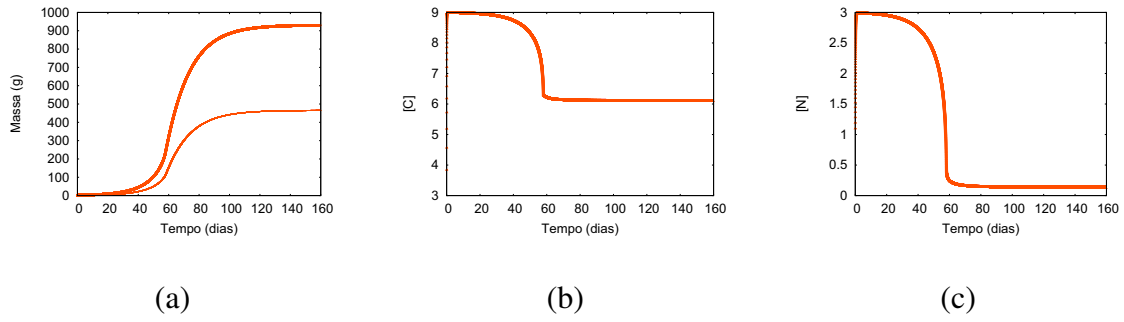


Figura 3.13: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

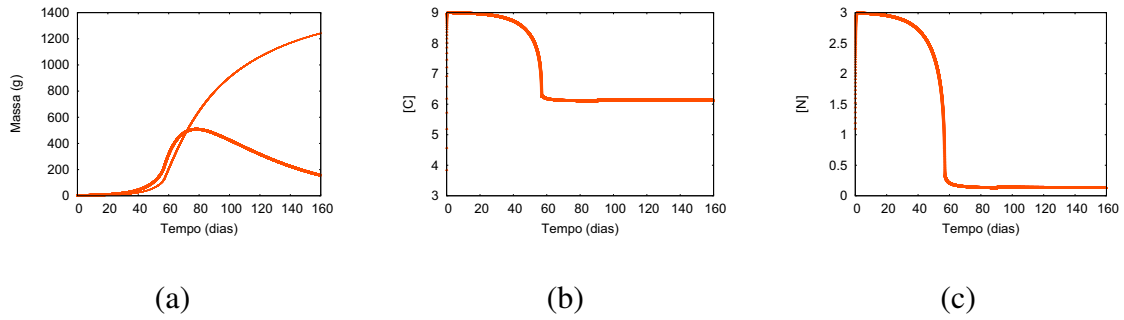


Figura 3.14: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,0693$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

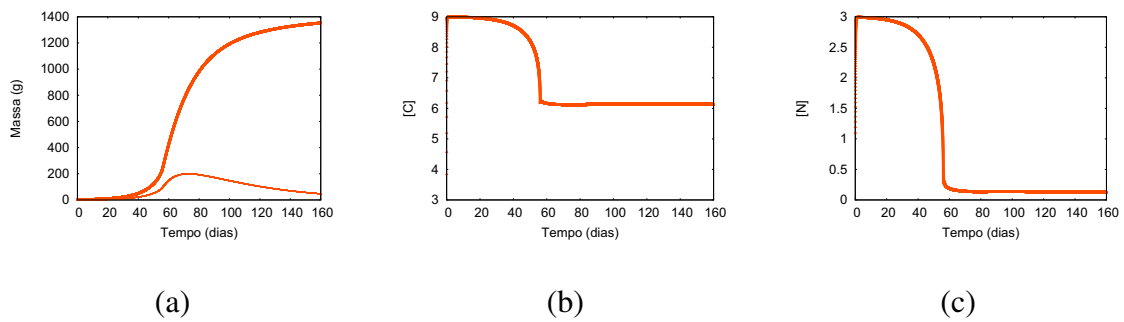


Figura 3.15: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,0693$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

3.4 Resultados referentes à modificação das equações (2.1) e (2.2) de um modelo de Michaelis-Menten por um presa-predador

A Figura 3.16 mostra as dinâmicas dos tumores e nutrientes. Nota-se que os tumores desaparecem rapidamente e as concentrações de carbono e nitrogênio vão para suas concentrações máximas, ou seja, 9 mols/L para o carbono e 3 mols/L para o nitrogênio. Isso ocorre porque a eliminação do parâmetro $d_{max,i}$ permite que haja uma taxa de mortalidade das células tumorais ilimitada, que culmina com a destruição de todas as células. Foram feitas várias simulações variando todos os parâmetros possíveis, mas em nenhuma situação os tumores cresceram, em todas sucumbiram. As figuras não serão apresentadas pois todos os gráficos apresentam a mesma forma daquelas da Figura 3.16, com alta taxa de mortalidade e rápido desaparecimento dos tumores, enquanto as concentrações de nutrientes iguala-se a concentração ambiental não mostrando, à primeira vista, importância biológica.

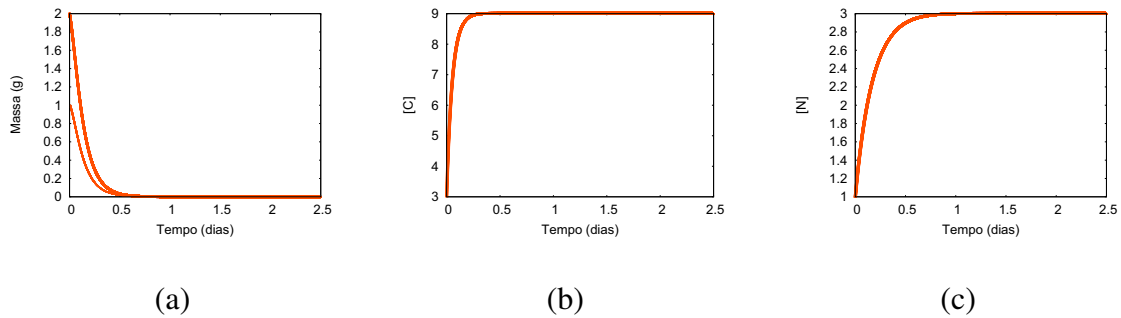


Figura 3.16: a) Dinâmica do crescimento dos tumores (linha grossa, representa a dinâmica do tumor primário e a linha fina, a dinâmica do tumor secundário), b) Dinâmica do carbono e c) Dinâmica do nitrogênio. Parâmetros: $C_B=9,0M$ e $N_B=3,0M$; $\omega_1=0,2$, $\omega_2=0,2$; $\beta_1=0,077$, $\beta_2=0,077$; $\gamma_1=0,6$ e $\gamma_2=0,6$.

Capítulo 4

Conclusão

O câncer é uma doença muito grave e de altíssima letalidade. Embora a taxa de mortalidade de alguns tipos de câncer tenha diminuído nos últimos anos, por conta de políticas de saúde pública e diagnóstico precoce. Outros, como câncer de pulmão, por exemplo, não mostram variações em suas taxas de mortalidade a despeito dos grandes avanços tecnológicos (Elser [5]). Esse contexto sugere que a biologia do câncer necessita de novas idéias e perspectivas, que corroborem para um melhor entendimento do câncer, tanto na prevenção, como no tratamento. Nesta conjuntura, estão surgindo inúmeros trabalhos e grupos de pesquisa, que buscam elaborar modelos que ampliem o entendimento acerca do câncer, desde o processo inicial da doença, passando pela metástase e angiogênese. Avanços estão aflorando, praticamente, de todos os campos de pesquisa. A estequiometria biológica aplicada ao câncer, embora seja ainda incipiente, já que suas utilizações se concentram no final da década de 90 e no século corrente, vem colaborando na compreensão de como os elementos químicos podem interferir na dinâmica tumoral.

Os resultados colhidos mostram, claramente, que para o crescimento tumoral ocorrer uma certa proporção entre os elementos químicos deve ser respeitada. Isso fica evidente em todas as figuras apresentadas. Vê-se também, que tanto o carbono, como o nitrogênio, em excesso, causam a diminuição da massa tumoral, por conta do demasiado gasto de energia para excretar o elemento excedente. Outro fato interessante é a observação da existência de uma razão C:N ideal, a partir da qual os tumores crescem de maneira pronunciada. É possível notar esse fato nas Figuras 3.1 e 3.4, sendo que, inicialmente, os tumores não mostram crescimento até que o elemento em excesso, que está sendo excretado, atinja uma concentração que proporcione uma razão C:N ótima, e então os tumores crescem.

A primeira parte desse trabalho analisou o comportamento das dinâmicas tumorais e dos nutrientes utilizando as equações desenvolvidas por Winkler [38] e então foram reali-

zadas três modificações sobre o modelo. A primeira modificação foi realizada na equação (2.3), a segunda na equação (2.4) e a última nas equações (2.1) e (2.2), onde foi substituído o modelo de Michaelis-Menten por um modelo presa-predador. Todas as simulações foram feitas variando os parâmetros α_i , γ_i , ω_i e β_i , todos esses parâmetros estão relacionados com fatores genéticos. Por exemplo, o parâmetro ω_i representa a taxa de sequestro de nitrogênio pelo tumor i e essa taxa de sequestro é determinada pelo número de receptores existentes na membrana celular, já que os nutrientes considerados dependem de receptores para penetrarem nas células. O número de receptores, por sua vez, é condicionado por fatores genéticos que podem variar de célula para célula, indivíduo para indivíduo etc.

As variações realizadas sobre as taxas de sequestro de nutrientes mostraram-se não alterar muito os resultados do modelo. A observação mais importante dessas variações é que ao se aumentar apenas a taxa de absorção dos nutrientes e não a taxa de crescimento do tumor, este vai crescer de forma ineficiente, porque absorve nutrientes além de suas necessidades e gasta muita energia para excretar o excedente. Para todas as variações dos parâmetros ω_i e γ_i , o tumor primário atingiu a maior massa, tendo ou não o valor do correspondente parâmetro (ω_i ou γ_i) maior.

Um parâmetro que mostrou-se ser importante para o crescimento e competição dos tumores é o β_i . Ao variar esse parâmetro a competição entre os tumores primário e secundário é diretamente afetada. De forma geral, o tumor que possuir o menor β , consequentemente, a maior razão C:N, supera o outro na competição por nutrientes. Tendo uma razão C:N maior, o tumor pode usar menos átomos de nitrogênio por átomo de carbono, podendo crescer e sobreviver num ambiente que tem menos nitrogênio com respeito ao carbono.

Ao variar-se os parâmetros α_i e β_i em conjunto, os resultados mostraram que se o tumor tiver maior α_i (taxa de crescimento tumoral) e menor β_i (o que favorece a utilização de nutrientes) ele suplantar um tumor que possuir maior taxa de crescimento, mas maior β_i , pois apesar dele possuir uma menor taxa de crescimento, seu β permite que ele utilize os nutrientes de forma muito eficiente e após um certo período consegue alcançar e crescer além do outro tumor. Pode-se concluir, então, que o parâmetro β é mais influente que a própria taxa de crescimento tumoral.

As modificações do modelo foram feitas assumindo a situação em que as dinâmicas dos nutrientes fossem regidas por formas matemáticas semelhantes. Então, na primeira modificação foi assumido que a variação do carbono era representada por uma equação similar à equação (2.4). Na segunda modificação assumiu-se que a dinâmica do nitrogênio era igual à do carbono e finalmente, a implementação do modelo Presa - Predador. Assumir que ambos nutrientes sejam regidos de modo semelhante pode parecer uma aproximação irreal, já que Sterner & Elser [36] afirmam que na composição das proteínas

encontram-se, aproximadamente, 57% de carbono e 17% de nitrogênio, então é natural esperar que suas dinâmicas sejam governadas de maneiras diferentes. Mas os resultados mostraram-se interessantes, neles vê-se que as massas de ambos tumores sempre ficaram pequenas, o que não é observado em casos reais de câncer, mas se conseguir-se fazer com que suas dinâmicas tornassem semelhantes, o crescimento do tumor primário e do secundário seriam contidos e dependendo das regiões seriam inócuos. A alteração do modelo de Michaelis-Menten por um modelo presa-predador não produziu bons resultados, já que os dois tumores desapareceram muito rapidamente para todas as variações e essa velocidade foi alta demais quando considera-se que o motivo delas seriam somente competição entre tumores, portanto, esse modelo não representa de maneira razoável o fenômeno do crescimento tumoral.

De maneira geral os resultados foram bons. A grande vantagem é que nesse modelo não apenas um fator influencia na dinâmica, mas a interação de dois, carbono e nitrogênio. Isso faz com que as investigações sejam mais próximas da realidade. A estequiometria biológica possibilita o estudo dessa relação e é um campo que vem produzindo ótimos resultados e provavelmente, num futuro próximo produzirá outras novas e boas conclusões.

Um ponto fraco do modelo de Winkler é que em algumas situações as massas tumorais atingem massas muito altas, ultrapassando 1000 gramas em alguns casos, um tamanho considerável para um tumor, pois, é sabido que em alguns tipos de câncer essa massa nunca seria atingida e o paciente morreria antes. Os resultados produzidos através da modificação da equação (2.3), mostram uma limitação do tamanho final dos tumores, portanto, produzem resultados mais próximos do esperado em casos reais da doença.

Em todas as figuras fica expresso que, se de alguma forma conseguir-se interferir nas concentrações intersticiais dos elementos químicos, é possível controlar o crescimento tumoral, podendo até eliminar totalmente os tumores. No entanto, alterando essas concentrações, não estariam somente as células cancerígenas sendo afetadas, mas também células saudáveis seriam submetidas a essa mudança. Winkler [38], cita Kuang et al. [19], onde foi feita uma restrição do elemento químico fósforo. Tal restrição atingiu células cancerígenas e saudáveis e não mostrou-se ser um tratamento efetivo. Uma questão aberta é como poderíamos alterar a concentração de elementos químicos, sem que essa mudança seja sentida por células saudáveis. Essa resposta, se possível, deverá vir de experimentos. Como justificam Araujo & McElwain [1]: *A relação entre teoria e experimento é crucial e guiará o progresso da pesquisa do câncer no futuro.*

Referências Bibliográficas

- [1] Araujo, R. P. and McElwain, D. L. S. *A history of the study of solid tumour growth: the contribution of mathematical modelling*. Bulletin of Mathematical Biology, 1039-1091, 66, 2004.
- [2] Chaplain, M. A. J. *Mathematical modelling of angiogenesis*. Journal of Neuro-Oncology, 37-51, 50, 2000.
- [3] Chaplain, M. A. J., McDougall, S. R. and Anderson, A. R. A. *Mathematical modelling of tumor-induced angiogenesis*. Annu. Rev. Biomed. Eng., 233-257, 8, 2006.
- [4] Diaz, J. I. and Tello, J. I. *On the mathematical controllability in a simple growth tumors model by internal localized action of inhibitors*. Nonlinear Analysis: Real World Applications, 109-125, 4, 2003.
- [5] Elser, J. J. *Biological stoichiometry: An ecological perspective on the complexity of cancer*. www.cas.uio.no/Publications/Seminar/SynergiesElser.pdf, copiado em 05/06/2007.
- [6] Elser, J. J., Kyle, M. M., Smith, M. S. and Nagy, J. D. *Biological stoichiometry in human cancer*, PLoS ONE, 2(10), 2007 .
- [7] Elser, J. J., Nagy, J. D. and Kuang, Y. *Biological stoichiometry: an ecological perspective on tumor dynamics*. BioScience, 1112-1120, 53(11), 2003.
- [8] Elser, J. J., Sterner, R. W., Gorokhova, E., Fagan, W. F., Markow, T. A., Cotner, J. B., Harrison, J. F., Hobbie, S. E., Odell, G. M. and Weider, L. J. *Biological stoichiometry from genes to ecosystems*, Ecology Letters, 540-550, 3, 2000.
- [9] Folkman, J. *Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid, and other disease*. Nature Med. 1, 27-31, 1995.
- [10] Franks, L. M. and Teich, N. M. *Introdução à biologia celular e molecular do câncer*, São Paulo: ROCA, 1990, 423p.

- [11] Graham, C. H. and Lala, P. k. *Mechanisms of placental invasion of the uterus and their control*. Biochem. Cell Bio., 70, 867-874, 1992.
- [12] Hanahan, D. and Weinberg, R. *The hallmarks of cancer*. Cell, 57-70, 100, 2000.
- [13] Harrington, H. *Modeling tumor-induced angiogenesis in the cornea*. Honor Thesis, Univesity of Massachusetts, 2005.
- [14] Jones, P. F. and Sleeman, B. D. G. *Angiogenesis-understanding the mathematical challenge*. Angiogenesis, 127-138, 9, 2006.
- [15] Jones, A. F., Byrne, H. M. and Dold, J.W. *A mathematical model of the stress induced during avascular tumour growth*. J. Math. Biol., 473-499, 40, 2000.
- [16] Kerbel, R. S. *Tumor angiogenesis: past, present and the near future*. Carcinogenesis, 505-515, 21(3), 2000.
- [17] King, J. R. *Emerging areas of mathematical modelling*. Phil. Trans. R. Soc. Lon., A, 3-19, 358, 2000.
- [18] Kuang, Y. *Basics properties of mathematical population models*. J. Math. Biol., 17-30, 46, 2003.
- [19] Kuang, Y., Nagy, J. D. and Elser, J. J. *Biological stoichiometry of tumor dynamics: mathematical models and analysis*. Discrete and Continuous Dynamical Systems - Series B, 221-240, 4(1), 2004.
- [20] Leach, M. O., et al. *Measurements of human breast cancer using magnetic resonance spectroscopy: a review of clinical measurements and a report of localized ^{31}P measurements of response to treatment*, NMR in Biomedicine, 314-340, 62, 1998.
- [21] Levine, H. A., Sleeman, B. D. and Nilsen-Hamilton, M. *Mathematical modeling of the capillary formation initiating angiogenesis*. J. Math. Biol., 195-238, 42, 2001.
- [22] Liota, L. A., Saidel, G. M. and Kleinerman, J. *Diffusion model of tumor vascularization and growth*. Bulletin of Mathematical Biology, 117-129, 39, 1977.
- [23] Lourenco, G., Embury S., Schrier, S. L. and Kedes, L. H. *Decreased ribosomal RNA content and in vitro RNA synthesis in puriefed bone marrow erythroblasts of patients with idiopathic ineffective erythropoiesis and DiGuglielmo disease*. American Journal of Hematology, 169-182, 5, 1978.

- [24] Mantzaris, N. V., Webb, S. and Othmer, H. G. *Mathematical modeling of tumor-induced angiogenesis*. J. Math. Biol., 111-187, 49, 2004.
- [25] McDougall, S. R., Anderson, A. R. A., Chaplain, M. A. J. and Sherratt, J. A. *Mathematical modelling of flow through vascular networks: implications of tumour-induced angiogenesis and chemotherapy strategies*. Bulletin of Mathematical Biology, 673-702, 64, 2002.
- [26] Nagy, J. D. *Competition and natural selection in a mathematical model of cancer*. Bulletin of Mathematical Biology, 663-687, 66, 2004.
- [27] Nagy, J. D. *The ecology and evolutionary biology of cancer: a review of mathematical models of necrosis and tumor cell diversity*. Mathematical Biosciences and Engineering, 381-418, 2(2), 2005.
- [28] Perumpanani, A. J. and Norbury, J. *Numerical interactions of random and directed motility during cancer invasion*. Mathematical and Computer Modelling, 123-133, 30, 1999.
- [29] Pescarmona, G. P., Scalerandi, M., Delsanto, P. P. and Condat, C. A. *Non-linear model of cancer growth and metastasis: a limiting nutrient as major determinant of tumor shape and diffusion*. Medical Hypotheses, 497-503, 53(6), 1999.
- [30] Plank, M. J. *Cell - based models of tumour angiogenesis*. Doctor of Philosophy Thesis, Department of Applied Mathematics, The University of Leeds, 2003.
- [31] Preziosi, L. (ed.) *Cancer modelling and simulation*. Boca Raton: Chapman & Hall/CRC, 2003.
- [32] Rocha, V. *Modelagem matemática de tumores*. Trabalho de conclusão de curso, Instituto de Biociências de Botucatu, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2006.
- [33] Sachs, R. K., Hlatky, L. R. and Hahnfeldt, P. *Simple ODE models os tumor growth and anti-angiogenic or radiation treatment*. Mathematical and Computer Modeling, 1297-1305, 33, 2001.
- [34] Saidel, G., Liotta, L. and Kleinerman, J. *System dynamics of a metastatic process from an implanted tumor*. Journal of Theoretical Biology, 417-434, 56, 1976.
- [35] Scalerandi, M. and Griffa, M. *Physical modelling and simulations of tumour growth and angiogenesis: predictions and new hypotheses*. Physica Scripta, 179-182, T118, 2005.

- [36] Sterner, R. W. and Elser, J. J. *Ecological stoichiometry: The biology of elements from molecules to the biosphere*. Princeton (NJ): Princeton University Press, 2002.
- [37] Tikhomirova, A. E. and Volpert, V. A. *Nonlinear dynamics of endothelial cells*. Applied Mathematics Letters, 163-169, 20, 2007.
- [38] Winkler, J. A. *A mathematical model of competition for nutrients between malignant and secondary tumors*. Honor Thesis, Department of Mathematics and Statistics, Arizona State University, 2000.
- [39] Wodarz, D. and Komarova, N. L. *Computational Biology of Cancer: Lectures Notes and Mathematical Modeling*, New Jersey: World Scientific, 2005.