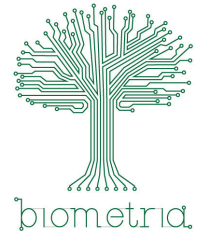




Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Biociências – Câmpus de Botucatu
Programa de Pós-graduação em Biometria



Ferramentas matemáticas para modelagem do crescimento tumoral e terapias

Edgard Lourenço Júnior

Botucatu
2022

Edgard Lourenço Júnior

Ferramentas matemáticas para modelagem do crescimento tumoral e terapias

Tese apresentada ao Curso de Programa de Pós-graduação em Biometria da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” como parte dos requisitos necessários para a obtenção do título de Doutor em Biometria.

Orientador: Prof. Assoc. Paulo Fernando de Arruda Mancera

Coorientador: Prof. Dr. Diego Samuel Rodrigues

Botucatu
2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Lourenço Júnior, Edgard.

Ferramentas matemáticas para modelagem do crescimento tumoral e terapias / Edgard Lourenço Júnior. - Botucatu, 2022

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Paulo Fernando de Arruda Mancera

Coorientador: Diego Samuel Rodrigues

Capes: 10104003

1. Pulmões- Câncer. 2. Sistema imune. 3. Equações diferenciais ordinárias. 4. Tumores - Crescimento.

Palavras-chave: Câncer de pulmão; Equações diferenciais ordinárias; Modelagem matemática; NSCLC; Sistema imune.

À todos os estudantes, de origem simples, sonhos grandes, lutas homéricas e cuja chama pelo saber nunca esmaeceu: compartilhem, sempre.

Agradecimentos

Talvez seja uma encruzilhada para muitos autores não saber como redigir agradecimentos pela realização de um trabalho que representa a concretização de um sonho, como é para mim neste momento. É certo que, nem de longe, os agradecimentos que faço aqui expressam o quão grato estou por toda a graça que me foi concedida, desde as oportunidades que tive, até as pessoas que participaram dessa jornada e fizeram da minha luta algo muito mais significativo, e desse pequeno instante, uma eterna felicidade, por ser inesquecível.

Agradeço, então, aos meus pais e às minhas irmãs pela educação, apoio, incentivo, acolhimento, companheirismo e amor que nunca me faltaram e sem os quais, não poderia nem sonhar com essa conquista. Pais, vocês me formaram para o mundo, me compartilharam com o mundo e, agora, é minha vez de compartilhar um mundo de possibilidades com vocês.

À minha noiva, Karina, pelo apoio incondicional, pela compreensão quase onisciente do que essa jornada significa para mim e por me fazer sentir muito amado. A retribuição é sempre a melhor forma de se agradecer e, Karina, espero retribuir à altura todo o amor que me faz sentir.

Ao meu orientador, Paulo Fernando de Arruda Mancera, pela confiança em meu trabalho, pelos ensinamentos que vão além da sala de aula, pela compreensão da escolha em dividir meu tempo entre os estudos e o meu emprego como professor da rede pública. Pelo senhor, sinto profunda admiração e respeito, e é uma honra e um privilégio tê-lo como orientador.

Ao meu coorientador, Diego Samuel Rodrigues, pela confiança em meu trabalho, pelos ensinamentos e sugestões, sinto, também, profunda admiração e respeito.

À diretora Márcia Herculano da Silveira, representante do Centro Paula Souza na unidade educacional da cidade de São Pedro, estado de São Paulo, pelo respeito e confiança em meu trabalho como docente, pela celeridade e transparência no meu processo de afiliação ao corpo discente deste programa de pós-graduação.

Ao Centro Paula Souza (CPS), pela disponibilização da parceria com a Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), que proporcionou a oportunidade de trilhar o caminho e realizar esse sonho, junto com outros docentes do CPS em vários outros programas de pós-graduação da UNESP.

Ao programa de pós-graduação em Biometria da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, Botucatu – e aos professores e demais servidores, pela oportunidade e pelo respeito aos estudantes.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES).

À banca examinadora pelo zelo com o exame da tese e pela disponibilidade.

Todos deixaram marcas indelévels em mim, as carregarei responsável e respeitosamente onde quer que eu vá.

Amar e mudar as coisas me interessam mais...

Antônio Carlos Belchior

Resumo

Utilizamos a Matemática como ferramenta para a análise de processos biológicos relacionados ao desenvolvimento do microambiente tumoral do câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC), supondo um modelo matemático de Equações Diferenciais Ordinárias (EDO). Apresentamos os conceitos de câncer como doença, a heterogeneidade celular da composição do microambiente tumoral e a heterogeneidade epigenética das células macrófagos e exploramos as dinâmicas das relações entre elas, as células citotóxicas T CD8+ e as células da neoplasia através da análise matemática do sistema dinâmico que as modelam. Os resultados obtidos mostram que a taxa de apoptose dos macrófagos de características pró-tumorais desempenham um papel fundamental na estabilidade local dos pontos de equilíbrio do modelo matemático proposto. Além disso, a hipótese que consideramos sobre a importância das células T CD8+ no auxílio às células macrófagos para o controle do volume tumoral indica uma possibilidade de imunoterapia que contempla ambas de forma eficaz.

Palavras-chave: Câncer de Pulmão, Equações Diferenciais Ordinárias, Modelagem Matemática, NSCLC, Macrófagos, Sistema Imune, Imunoterapia.

Abstract

Mathematics is used as a tool to analyze biological processes interconnected to the tumor microenvironment development of non-small cell lung cancer (NSCLC), considering an Ordinary Differential Equation (ODE) model. The concepts of cancer as a disease, the cell heterogeneity of the tumor microenvironment composition and the macrophage cell epigenetic heterogeneity are presented, and the dynamics of the relations between them, the cytotoxic T cells and the neoplasm cells, through the mathematical analysis of the dynamic system that models them were explored. The results obtained exhibit that the apoptosis rate of the macrophage cells which present pro-tumor characteristics, play a key role in the local stability of the mathematical models' equilibrium point suggested. Furthermore, the hypothesis considered about the importance of the T CD8+ cells assisting the macrophage cells to control the tumor volume indicates a immunotherapeutic treatment possibility that considers both cells effectively.

Keywords: Lung Cancer, Ordinary Differential Equations, Mathematical Modelling, NSCLC, Macrophages, Immune System, Immunotherapy.

Lista de ilustrações

- Figura 1 – Incidência estimada de novos casos de câncer em cada ano do triênio 2020-2022 para ambos os sexos (BRASIL, 2019). 5
- Figura 2 – Etapas e fases do ciclo celular com indicação de eventos importantes: o início do ciclo na fase G1, o ponto de restrição na fase G1 e antes de entrar na fase S, a síntese do DNA na fase S e a divisão celular na fase M (WEITZMAN; WANG; VERMA, 2021). (Adaptada da obra original citada na legenda). 7
- Figura 3 – Indicação dos pontos checagem (*checkpoints*) entre as etapas e fases do ciclo celular. O primeiro ponto de checagem (G1/S) ocorre durante o ponto de restrição, na transição da fase G1 para a fase S. O segundo ponto de checagem (Intra-S) ocorre na fase S, após a síntese da réplica do DNA. O terceiro ponto de checagem (G2/M) ocorre na transição da fase G2 para a fase M, antes da divisão celular e do processo de mitose (WEITZMAN; WANG; VERMA, 2021). (Adaptada da obra original citada na legenda). 9
- Figura 4 – As dez características presentes na maioria dos tipos de cânceres. No centro da figura, a representação do microambiente tumoral de neoplasias malignas e, ao redor (texto em azul), as características compartilhadas entre elas, denominadas *hallmarks of cancer*. Periféricamente, nas extremidades da figura, estão representados os respectivos agentes que impedem a manifestação dessas *hallmarks*, indicando, também, um direcionamento para tratamentos do câncer ao identificarem esses agentes como alvos terapêuticos – figura adaptada da original em (HANAHAN; WEINBERG, 2011). (Adaptada da obra original citada na legenda). 10
- Figura 5 – As classificações e subtipos do câncer de pulmão de acordo com suas características citológicas e de origem. Os adenocarcinomas e carcinomas de pequenas células estão fortemente correlacionados ao tabagismo. O carcinoma de grandes células é diagnosticado por exclusão do adenocarcinoma e do carcinoma de células escamosas, no entanto, distingue-se do SCLC (PADHYE, 2021). (Criada em *BioRender.com* e adaptada da obra original citada na legenda). 14

Figura 6	– Mecanismo pró-tumoral do macrófago M2 para a inibição de células efetoras do sistema imune: (1) Impedindo a migração de NK para o linfonodo, mantendo as CD8 inativas; (2) Secretando TGF- β e IL-10, suprimindo as T efectoras e induzindo as funções reguladoras do sistema imune, via iTreg; (3) Recrutamento continuamente nTreg e expressando quimiocinas, além da manutenção das funções imunossupressoras das Treg; (4) Inibição das células T efectoras por contato direto “célula-a-célula” através da inibição de CTLA-4 e PD-1 (NOY; POLLARD, 2014). (Criada em <i>BioRender.com</i> e adaptada da obra original citada na legenda).	18
Figura 7	– Cenário 1: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+ e repolarização dos macrófagos ($\rho_2 = 0$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, T medido em dias.	51
Figura 8	– Cenário 2: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+, mas com estímulos à repolarização dos macrófagos ($\rho_2 = 0, 2$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 180]$, T medido em dias.	53
Figura 9	– Cenário 3: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+ e estímulo à repolarização dos macrófagos, mas considerando reduções à polarização ($\rho_1 = 10^{-5}$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, mostrando a relação entre as variações nas quantidades $N(t)$ em função de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, T medido em dias.	54
Figura 10	– Cenário 4: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+, mas com estímulos à repolarização dos macrófagos ($\rho_2 = 0, 7$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, T medido em dias.	54
Figura 11	– Cenário 5: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+, mas com redução à polarização dos macrófagos M1 ($\rho_1 = 10^{-5}$) e de repolarização dos macrófagos M2 ($\rho_2 = 0, 2$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 180]$, T medido em dias.	56

Figura 12 – Cenário 6: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+ e à (re)polarização dos macrófagos. (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, t medido em dias.	56
Figura 13 – Cenário 6: Soluções numéricas das curvas integrais do sistema (2.1). (a) Considerando a condição inicial $T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-4}$, para o volume das células T CD8+, como descrito na Tabela 3. (b) Considerando a condição inicial $T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-2}$, para o mesmo volume de células no item (a).	57
Figura 14 – Retratos de fase: (a) do cenário 1. (b) do cenário 2. Ambos considerando três condições iniciais distintas para o volume das células T CD8+, no sistema (2.1).	58
Figura 15 – Protocolo adotado para a terapia TIL: infusão de células equivalentes à proporcionalidade de 0,2857 do volume máximo de T CD8+ no microambiente tumoral do NSCLC, em dose única e contínua entre os dias 7 e 8.	63
Figura 16 – Cenário 1: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento TIL e repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$). (b) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (4.6) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 6, com tratamento TIL, mas sem repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$).	67
Figura 17 – Cenário 1: (a) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, t medido em dias, do sistema (2.1). (b) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, t medido em dias, do sistema (4.6).	67
Figura 18 – Cenário 2: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento TIL, mas com repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0,2$). (b) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (4.6) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 6, com tratamento TIL e com repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0,2$).	69
Figura 19 – Cenário 2: (a) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (2.1). (b) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (4.6).	70

Figura 20 – **Cenário 6:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento TIL, sem repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$), mas considerando a taxa de apoptose de M1 como $\mu_1 = 0,37$. (b) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (4.6) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 6, com tratamento TIL, sem repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$), mas considerando a taxa de apoptose de M1 como $\mu_1 = 0,37$ 71

Figura 21 – **Cenário 6:** (a) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (2.1). (b) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (4.6). . . 72

Lista de tabelas

Tabela 1	– Descrição de parâmetros utilizados no modelo e suas respectivas unidades de medida.	25
Tabela 2	– Tabela de Routh: dispositivo prático dos arranjos dos coeficientes de $p(\lambda)$, em (2.109), para observação do Teorema 2.4.	41
Tabela 3	– Valores padrões dos parâmetros e condições iniciais do sistema (2.1): valores adimensionalizados dos parâmetros na Tabela 1 e das condições iniciais para o sistema (2.1), considerando as respectivas referências listadas.	50
Tabela 4	– Descrição do parâmetro λ utilizado no modelo (2.1).	62
Tabela 5	– Descrição de parâmetros utilizados no modelo e suas respectivas unidades de medida.	64
Tabela 6	– Valores padrões dos parâmetros e condições iniciais do sistema (4.6).	65
Tabela 7	– Pontos de equilíbrio do sistema (2.1) vs. sistema (4.6) – calculados no Apêndice A – e suas respectivas classificações quanto à estabilidade local: primeiro cenário.	66
Tabela 8	– Pontos de equilíbrio do sistema (2.1) vs. sistema (4.6) – calculados no Apêndice A – e suas respectivas classificações quanto à estabilidade local: segundo cenário.	68
Tabela 9	– Pontos de equilíbrio do sistema (2.1) vs. sistema (4.6) – calculados no Apêndice A – e suas respectivas classificações quanto à estabilidade local: sexto cenário.	71
Tabela 10	– Comparativo do estado de controle da neoplasia para os sistemas (2.1) e (4.6).	73
Tabela 11	– Valores padrões dos parâmetros e condições iniciais do sistema (4.6).	82
Tabela 12	– Estado de controle da doença para cenários simulados do sistema (4.6).	91

Lista de abreviaturas e siglas

BH3	<i>B Homology 3</i>
CAR T	<i>Chimeric antigen receptor T cells</i>
CCL	<i>C-C Motif Chemokine Ligand</i>
CD4/8	<i>Cluster of Differentiation 4/8</i>
Cdk	<i>Cyclin-dependent kinases</i>
CTLA-4	<i>Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4</i>
CSF-1	<i>Colony Stimulating Factor 1</i>
CSFR-1	<i>Colony Stimulating Factor 1 Receptor</i>
DC	<i>Dendritic Cell</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
EDO	Equações Diferenciais Ordinárias
EGFR	<i>Epidermal Growth Factor Receptor</i>
HGF	<i>Hepatocyte Growth Factor</i>
HLA	<i>Human Leukocyte Antigens</i>
IFN- γ	<i>Interferon γ</i>
IL-10	Interleucina 10
INCA	Instituto Nacional de Câncer
M0/1/2	Macrófagos de fenótipo 0/1/2
MHC-1	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
NK	<i>Natural Killer</i>
NKG2	Receptor de células NK
NSCLC	<i>Non-small cell lung cancer</i>
ODE	<i>Ordinary Differential Equations</i>
PARP	<i>Poly (ADP-ribose) polymerase</i>

PD-1	<i>Programmed Death-1</i>
PD-L1	<i>Programmed Death-Ligand 1</i>
SCLC	<i>Small cell lung cancer</i>
T CD8	Linfócito T citotóxico
TGF- β	<i>Transforming Growth Factor β</i>
TIL	<i>Tumor-Infiltrating Lymphocytes</i>
TLR	<i>Toll-Like Receptor</i>
Treg	Linfócito T regulatório
TNF- α	<i>Tumor Necrosis Factor α</i>
VEGF	<i>Vascular Endothelial Growth Factor</i>

Sumário

1	A MATEMÁTICA E O CÂNCER	1
1.1	Introdução	1
1.2	Modelos Matemáticos	2
1.3	O câncer: estimativas no Brasil para o triênio 2020-2022	5
1.4	O câncer: aspectos introdutórios da fisiopatologia	6
1.5	O câncer de pulmão: aspectos introdutórios e de classificação	13
1.6	O sistema imune e o câncer	15
1.6.1	Os macrófagos e seu papel no microambiente tumoral	16
1.7	Objetivo da tese	19
2	MODELO MATEMÁTICO PROPOSTO	20
2.1	Concepção e modelagem matemática	22
2.2	Análise e estudo de estabilidade	26
2.2.1	Soluções das curvas isóclinas nulas do modelo proposto	26
2.2.2	Pontos de equilíbrio do modelo proposto	31
2.2.3	Análise de estabilidade local dos pontos de equilíbrio	33
3	SIMULAÇÕES NUMÉRICAS E RESULTADOS	49
3.1	Considerações sobre os parâmetros	49
3.2	Primeiro cenário simulado	51
3.3	Segundo cenário simulado	52
3.4	Terceiro cenário simulado	53
3.5	Quarto cenário simulado	53
3.6	Quinto cenário simulado	55
3.7	Sexto cenário simulado	55
3.8	Considerações sobre os resultados obtidos	58
4	NOVA ABORDAGEM PARA O MODELO MATEMÁTICO PRO- POSTO	61
4.1	Revisão da modelagem para a taxa de variação dos macrófagos e T CD8+	61
4.2	Resultados de simulações numéricas	65
4.2.1	Primeiro cenário	66
4.2.2	Segundo cenário	68
4.2.3	Sexto cenário	70
4.3	Considerações sobre os resultados obtidos	72

	5 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS	74
5.1	Trabalhos futuros	75
	Referências	77
	Apêndices	80
	APÊNDICE A – ANÁLISE DE ESTABILIDADE LOCAL DO MODELO	
	MATEMÁTICO AMPLIADO	81
A.1	Os pontos de equilíbrio e a análise de estabilidade	82
A.1.1	Primeiro cenário	84
A.1.2	Segundo cenário	86
A.1.3	Sexto cenário	88

1 A Matemática e o Câncer

Neste capítulo, discorreremos sobre temas envolvendo modelagem matemática, conceitos de biologia do câncer e de tratamentos que fundamentam resultados obtidos e que serão discutidos nos próximos capítulos da tese.

1.1 Introdução

Nesta introdução apresentaremos como a Matemática pode ser utilizada como ferramenta para discutir processos biológicos que envolvem o crescimento tumoral. De modo particular, escolhemos desenvolver um modelo matemático para o câncer de pulmão, que se apresenta como um dos cânceres com maior índice de mortalidade no Brasil, segundo [Brasil \(2021\)](#). Mas, de modo geral, os conceitos e ideias desenvolvidos e discutidos durante nossa investigação podem ser ampliados para outros tipos de cânceres, sempre tomando cuidado com as premissas supostas sobre o objeto que se modela, a concepção do modelo e as ferramentas matemáticas utilizadas. Por isso, nesse sentido, é importante que conheçamos cada aspecto que envolve nosso estudo, desde a natureza do objeto que se modela, até os fundamentos das ferramentas que usaremos nesse modelo.

No primeiro capítulo nós apresentaremos conceitos que são fundamentais para atingirmos nossos objetivos. Discutiremos sobre o que define um modelo matemático – e seu objetivo em si – e alguns aspectos sobre o câncer: do ponto de vista genético e da sua patologia e fisiologia. Esses conceitos e fundamentos se mostrarão suficientes para concebermos um modelo para o câncer de pulmão, no [Capítulo 2](#).

No [Capítulo 2](#), estudaremos os aspectos matemáticos que envolvem o modelo, que será construído usando EDO. Esses aspectos nos darão um guia para nossa investigação e formulação de hipóteses sobre a dinâmica dos processos biológicos que envolvem o crescimento tumoral do câncer de pulmão.

Algumas das hipóteses serão exploradas no [Capítulo 3](#), quando simularmos alguns cenários e ambientes para observarmos sua coerência com o que conhecemos sobre o assunto. A partir desse ponto, faremos algumas considerações do que foi discutido e apontaremos as próximas ações para a conclusão desse estudo.

No quarto capítulo, apresentaremos modificações no modelo matemático proposto no Capítulo 2 para analisarmos os efeitos da imunoterapia escolhida para o câncer de pulmão, comparando os resultados obtidos através de simulações com os resultados discutidos no Capítulo 3, de modo sistêmico.

Dessa forma, no Capítulo 5, discutiremos os resultados apresentados nesse trabalho de modo geral e apontaremos os temas que dão continuidade à linha de pesquisa desse estudo.

Este trabalho, ainda, conta o Apêndice A, no qual apresentamos os cálculos da análise de estabilidade local para os pontos de equilíbrio referentes ao sistema de Equações Diferenciais obtido do modelo matemático para câncer de pulmão apresentado no Capítulo 4, obtendo seus respectivos autovalores e autovetores.

1.2 Modelos Matemáticos

Usando um dicionário da Língua Portuguesa, encontramos em expressões como “réplica, em tamanho natural ou em escala, de alguma coisa” uma definição para a palavra modelo (MODELO, 2021). Contudo, essa definição é insuficiente para descrever o conceito do que realmente queremos com o chamado Modelo Matemático. Na verdade e em suma, o objetivo de um modelo matemático encontra seu fim na reflexão sobre uma parte da realidade que observamos por interesse, na tentativa de explicá-la ou entendê-la (BASSANEZI, 2002).

É nesse sentido que nos apoiamos à Teoria dos Registros de Representações Semióticas, desenvolvida pelo filósofo e psicólogo Raymond Duval, para entendermos o Modelo Matemático como um esquema representativo do objeto observado, utilizando, ele próprio, representações de outros objetos (matemáticos) com a finalidade de nos fazer apreender a ideia ou o conceito associado àquilo que se está sendo esquematizado nele.

De fato, Silva e Almeida (2009), nos apontam que essa ideia de utilizar representações em “linguagem matemática” para conceituar ou idealizar objetos é a própria função dos signos, dentro dos conceitos da Semiótica Peirceana, caracterizada pelo pesquisador Charles Sanders Peirce (1839-1914). Basicamente, Pierce se preocupou em fundamentar uma doutrina filosófica geral e analítica capaz de compreender o estudo da produção do significado e sua relação com o conhecimento, retomando o conceito de semiótica relacionada à Lógica concebida como filosofia científica da linguagem (SANTAELLA, 2008 apud SILVA; ALMEIDA, 2009).

Na Semiótica Peirceana, o signo toma lugar da coisa que ele representa e se torna, também, uma coisa. Portanto, percebe-se como indispensável a presença de alguém que o interprete, para que o signo exista e possa cumprir sua função de representante da coisa a se idealizar. De acordo com Almeida (2011), o signo não é o objeto, ele está no lugar desse objeto e só existe se o puder substituir, em representação, porque o objeto é inacessível à percepção humana e precisa do signo para torná-lo presente ao interpretador.

Para Peirce (2005 apud ALMEIDA, 2011), o signo é composto por três conceitos: o representâmen, o interpretante e o fundamento do representâmen. O representâmen é o que representa algo para alguém, sob algum aspecto. A natureza do representâmen é ser dirigido a alguém que, em sua mente, cria um outro signo equivalente ou, até mesmo, mais desenvolvido dessa representação. Por sua vez, o interpretante é exatamente esse signo equivalente que foi criado na mente desse alguém ao qual o representâmen se dirige. E, finalmente, esse alguém passa a ter a ideia do objeto representado, não em sua totalidade, mas sob algum aspecto que é apreendido por esse alguém. Por isso, inclusive, o fundamento do representâmen não pode se confundir com o próprio objeto em equivalência, porque ele não o é por completo, é apenas uma idealização desse objeto.

Esse aspecto da Semiótica Peirceana se assemelha com a ideia de signo de Platão, embora ainda hajam diferenças consideráveis. Segundo Barbosa e Descardec (2012), a ideia de signo por Platão nos mostra que o estudo da palavra não nos revela a verdadeira essência da coisa que ela representa, porque o ambiente das ideias é intangível ao indivíduo. Dessa forma, ninguém, de fato, poderia ter acesso a todos os aspectos do objeto através de seu signo, nem de outra forma, porque a ideia do objeto existe, perfeita, nesse ambiente onde ninguém tem acesso e, assim, o que conhecemos é apenas uma representação incompleta dele. No entanto, Platão limita a ideia de signo, por exemplo, a representações verbais, enquanto a ideia de signo na Semiótica Peirceana se estende para além dos verbais e isso traz para a Semiótica, como ciência da cognição, uma fundamentação maior.

Em nossas considerações, nos restringiremos aos signos verbais, afinal a “linguagem matemática” é uma representação verbal. Na verdade, podemos encarar a comunicação matemática como feita por representações, através de signos: esse signo é uma representação do objeto matemático que usamos para idealizarmos parte de seus aspectos. Inclusive, é peculiar do processo de ensino e aprendizagem em Matemática entendermos que não se ensina e aprende objetos matemáticos, mas sim seus signos e suas representações (SILVA; ALMEIDA, 2009).

Nesse sentido, é importante percebermos que certos objetos matemáticos possuem diversos signos que o representam sob algum aspecto e, em parte, isso influencia a percepção e o estudo que o interpretador tem e realiza do objeto matemático representado. Por sua vez, cada representação semiótica diferente carrega consigo um sistema de registros diferentes, mas relacionados, daí a área de interesse da Teoria dos Registros de Representações Semióticas em Matemática (DUVAL, 2003 apud SILVA; ALMEIDA, 2009).

De acordo com Duval (2004 apud SILVA; ALMEIDA, 2009), observado o contexto da pluralidade de representações semióticas e sua influência na atividade cognitiva do interpretador, é necessário distinguir os conceitos de *semiosis* e *noesis*: enquanto a *semiosis* compreende a apreensão ou produção de uma representação semiótica, a *noesis* compreende a apreensão conceitual do objeto ou de uma inferência sobre ele. É, também, nesse sentido, que tentamos trazer alguma luz sobre a natureza dos Modelos Matemáticos.

Então, se objetivo de um Modelo Matemático é criar uma representação de um objeto com a finalidade de entendê-lo sob o ponto de vista dos objetos matemáticos, precisamos saber que o faremos no processo de *semiosis*, para que atinjamos a *noesis*. Inclusive, é no âmbito da *semiosis* que se encontra a Modelagem Matemática: a apreensão e produção da representação semiótica de um objeto a ser idealizado, compreendido, e que depende de como o interpretador encara o objeto e de quais representações semióticas ele conhece de outros objetos matemáticos que utilizará.

Também é importante destacar que é a *semiosis* que determina a condicionalidade em que se desenvolverá a *noesis*, de modo que não há *noesis* sem *semiosis*. Nesse contexto, vale ressaltar a importância da pluralidade da Modelagem Matemática e de como a construção do modelo – que também é um signo – é afetado pela percepção da pessoa que a exerce, influenciando no aspecto apreendido pelo sistema de signos escolhidos para sua representação semiótica e, conseqüentemente, influenciando a obtenção daquela *noesis* para que se acesse o significado contido no signo (interpretante).

Dessa forma, parece justo tentarmos definir o que é um modelo matemático fundamentando-o nos conceitos de Semiótica considerados até aqui. Portanto, de acordo com Duval (2003), podemos definir um modelo matemático como abaixo.

Definição 1.1 (Modelo Matemático). *Conjunto de signos coesos de um registro de representações semióticas em Matemática.*

Assim definido, como consequência, podemos fundamentar algumas das afirmações que normalmente pontuamos a respeito dos modelos matemáticos, como, por exemplo:

- Um modelo matemático representará uma simplificação da realidade, tomando-a como objeto a ser idealizado num processo de significação e obtenção de significado;
- Um mesmo objeto pode, em alguns casos, ser representado por modelos matemáticos com representações distintas, mas equivalentes em seu significado;

Segundo Almeida (2011), ainda, é preciso notar como o modelo matemático se aproxima do conceito de metáfora, justamente por compartilharem conceitos em Semiótica. Nesse aspecto, a modelagem matemática estaria interligada com o conceito de construção de uma metáfora e o processo de obtenção de significado também funcionaria de forma semelhante entre elas.

É neste sentido que discutiremos Modelos Matemáticos em Biomatemática, em particular, no desenvolvimento tumoral, durante os próximos tópicos. Também é nosso objetivo, sempre que apresentarmos ferramentas matemáticas para o desenvolvimento desses modelos, antes de mais nada, entendermos que elas também são signos que pertencem a um sistema de representações semióticas em Matemática.

1.3 O câncer: estimativas no Brasil para o triênio 2020-2022

O Instituto Nacional do Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA) é um órgão auxiliar do Ministério da Saúde para a coordenação e desenvolvimento de ações integradas de controle e prevenção do câncer no Brasil. Para realizar suas ações, o INCA presta assistência médica e hospitalar direta e indiretamente a pacientes com câncer através do Sistema Único de Saúde (SUS), além de manter um centro de pesquisas que conta com dois programas de Pós-Graduação *stricto sensu*, relacionados à Oncologia e à Saúde Pública, e em diversos outros níveis da Educação. É do trabalho de pesquisa do INCA que levantamos alguns dados preliminares que nos chamam a atenção e, em parte, fundamenta o nosso trabalho nessa seção.

O INCA divulgou, em 2020, estimativas sobre a incidência de novos casos de câncer para o Brasil no triênio de 2020 a 2022: 625 mil novos casos são estimados para cada um dos anos desse triênio. Desse total, o câncer de pele não melanoma terá a maior incidência – estima-se 177 mil novos casos – e as demais incidências seguem estimadas como exibido na Figura 1 (BRASIL, 2019).

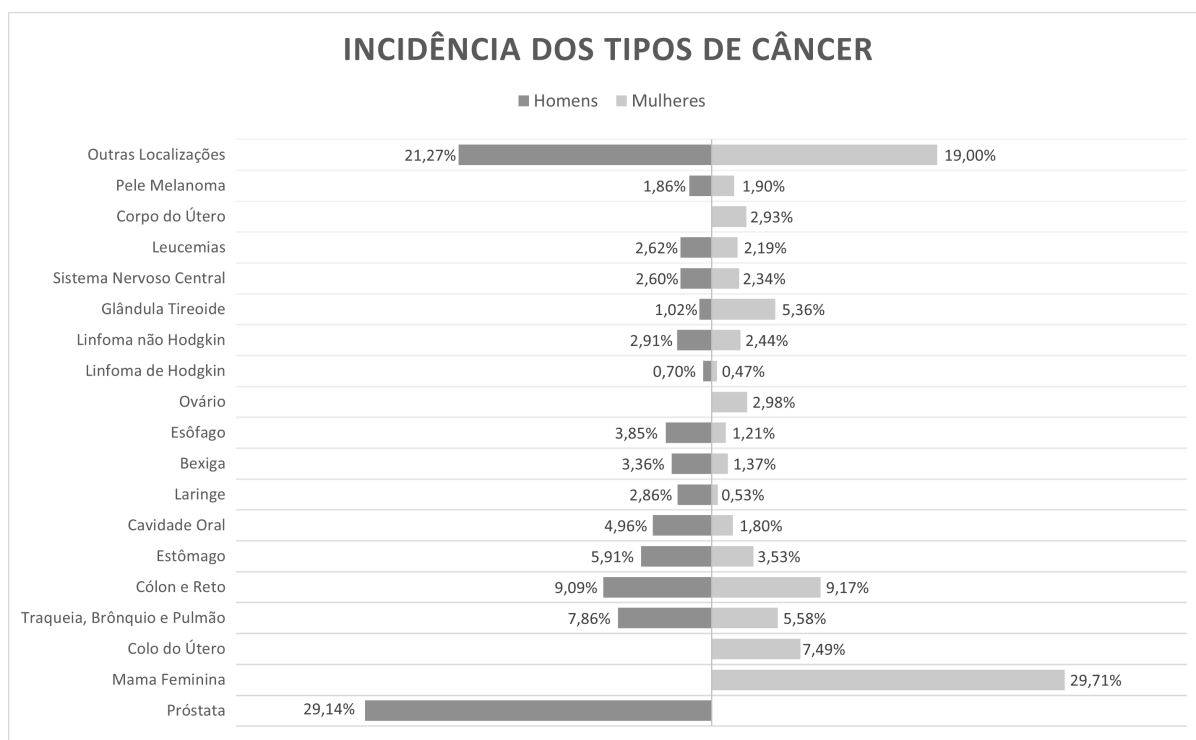


Figura 1 – Incidência estimada de novos casos de câncer em cada ano do triênio 2020-2022 para ambos os sexos (BRASIL, 2019).

Intrinsecamente ligados aos dados de novos casos, estão os dados sobre a mortalidade dessa doença. Ainda, de acordo com as tabulações apresentadas em Brasil (2021), no Atlas On-Line de Mortalidade relacionadas ao câncer, publicado pelo INCA, foram declarados 232.040 óbitos no Brasil durante o ano de 2019, o que representa 17,16% de todas as mortes registradas no país para o ano.

Os dados abordados, portanto, revelam a importância que possui a pesquisa científica acerca do câncer e que é necessário entender a patologia da doença para que possamos propor intervenções que possam contribuir com a melhora significativa das ações do combate preventivo e de controle ao câncer (BRASIL, 2019).

Nesse sentido, a Matemática tem muito a oferecer às pesquisas nessa área da Medicina, assim como as demais áreas da ciência que, *a priori*, por um costume cultural-educacional, são tratadas modularmente, como incomunicáveis.

A ideia de tomarmos o conceito de Modelo Matemático como um signo, como vimos na seção anterior, nos dá a oportunidade de olharmos para o câncer de modo mais objetivo e para um ou alguns aspectos que nos interessam, não para dar uma solução definitiva ao assunto ou simplesmente para corroborar com o conceito tomado pelo tratamento A ou B, mas para fornecer mais um “ângulo de visão” sobre o mesmo objeto, indicando possíveis caminhos ainda não considerados.

Antes, porém, é necessário entendermos quais as contribuições que a Matemática e as demais ciências podem fornecer ao estudo do câncer. A Modelagem Matemática, por exemplo, nunca fornecerá um modelo que substituirá a doença observada em todos os seus aspectos patológicos: a modelagem se concentrará em uma visão reducionista do problema, com um objetivo específico, tomando como produto um modelo que não substituirá o sistema real modelado, por mais complexo que o modelo se apresente à sua análise matemática e/ou computacional. No entanto, o modelo pode se apresentar como útil para entendermos o funcionamento da dinâmica que envolve as variáveis articuladas nele.

Por outro lado, também é importante que a modelagem ocorra de modo coerente em relação ao que se observa. No caso, alguém que se proponha a apresentar um modelo matemático para o câncer, precisa compreender aspectos da fisiologia da doença observada. Iniciaremos, então, um breve estudo introdutório sobre a fisiologia do câncer na próxima seção.

1.4 O câncer: aspectos introdutórios da fisiopatologia

É importante entendermos que o câncer é uma doença genética: ela acontece no âmbito celular e devido a mutações ocasionadas nos genes que compõem o ácido desoxirribonucleico (DNA) pela sua exposição aos agentes cancerígenos através do tempo. Por isso, inclusive, é uma doença associada ao envelhecimento, embora não exclusiva de pessoas com mais idade. Segundo os dados publicados pelo INCA, em 2019, cerca de 87% dos óbitos declarados como relacionados ao câncer são de pessoas com 50 anos de idade ou mais (BRASIL, 2019).

Da fisiologia celular, sabemos que os genes são sequências específicas do DNA e que essas sequências constituem códigos para a síntese proteica. Por sua vez, quando sintetizadas, essas proteínas possuem funções determinadas nas células e no corpo, como a de catalizadoras

de reações químicas (enzimas), de compor o sistema imune como anticorpos, de transportar oxigênio através do sangue (hemoglobina), entre outras funções. Em especial, existe uma família de proteínas que pode nos servir como exemplo para entendermos a fisiopatologia do câncer em alguns aspectos: a ciclina.

A ciclina é uma família de proteínas associadas à regulação do ciclo celular e são compostas por quatro tipos básicos no corpo humano: as ciclinas G1, ciclinas G1/S, ciclinas S e ciclinas M. Se pensarmos nas etapas das fases do ciclo celular, não é difícil identificarmos que elas agem nas respectivas fases G1, S e M.

Basicamente, o ciclo celular consiste de quatro fases distintas: G1, S, G2 e M, conforme ilustrado na Figura 2. Na fase G1 são sintetizadas as enzimas necessárias para a cópia do DNA que será feita na fase S, na qual o genoma será replicado e o DNA, então, estará em duplicata na célula. Quando em G2, serão produzidas proteínas associados ao processo de mitose celular. E, finalmente na fase M, o processo de mitose ocorrerá e a célula apresentará, ao final desse processo, a separação dos cromossomos em duas outras células com igual material genético (WEITZMAN; WANG; VERMA, 2021).

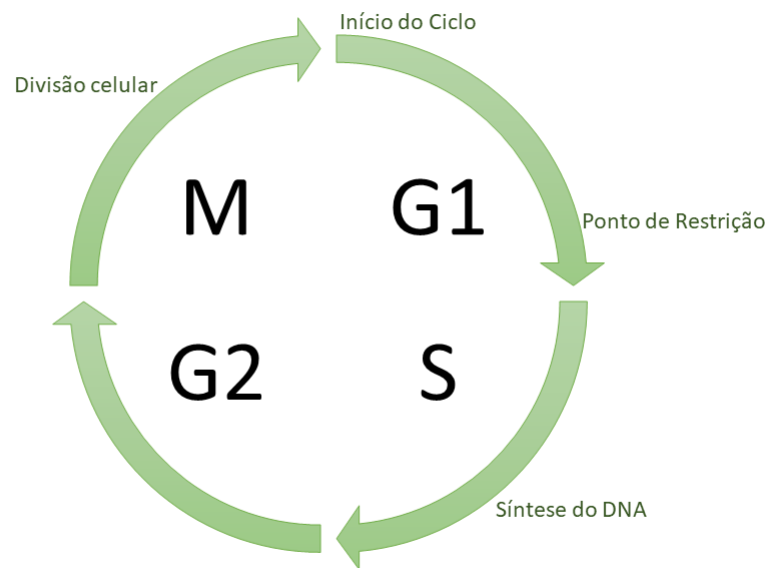


Figura 2 – Etapas e fases do ciclo celular com indicação de eventos importantes: o início do ciclo na fase G1, o ponto de restrição na fase G1 e antes de entrar na fase S, a síntese do DNA na fase S e a divisão celular na fase M (WEITZMAN; WANG; VERMA, 2021). (Adaptada da obra original citada na legenda).

Um fato destacado por Weitzman, Wang e Verma (2021) é que, no ciclo celular, há pontos de checagem (*checkpoints*) para verificar se tudo que deveria ter ocorrido numa etapa anterior a esse ponto foi satisfeito ou não e, assim, controlar a progressão para a próxima fase do ciclo.

Ao final da etapa G1, por exemplo, quando as células estão preparadas para entrarem na

fase S (chamado de ponto de restrição), os fatores de crescimento induzem a síntese da ciclina-G1/S (composta pela ciclina E) que se associa a uma enzima da família das quinases dependentes de ciclinas (Cdk) e, nessas associações ciclina-G1/S-Cdk, a enzima quinase Cdk2 torna-se ativa, modificando outras proteínas celulares (proteínas alvo) com a finalidade de induzir a síntese de enzimas específicas para fase S e verificar possíveis danos no DNA. Caso esses sinais de danos no DNA não existam, são produzidas outras proteínas que favorecem a manutenção da Cdk2 como ativa, promovendo a célula para a fase S.

No entanto, caso sejam sinalizados danos no DNA, o nível de atividade dessas associações ciclina-G1/S-Cdk podem diminuir, dada a produção de outras proteínas que são inibidoras da Cdk2, impedindo que elas modifiquem proteínas alvo que induzam a síntese de enzimas específicas para a fase S. As proteínas inibidoras de Cdk são chamadas de CKI: elas ligam-se às ciclinas-Cdk e inibem as ações da enzima Cdk, desfavorecendo uma checagem positiva e impedindo a progressão da célula para a próxima etapa.

Nesse cenário, mesmo que de forma não tão precisa, percebemos que se o gene responsável pela codificação da síntese de uma ciclina ou de uma enzima Cdk ou, ainda, de uma enzima CKI possuir uma mutação ocasionada pela exposição a algum agente nocivo ao DNA (irradiações UV ou gama, infecções por alguns vírus, substâncias químicas, etc), as funções delas no processo do ciclo celular serão comprometidas e o resultado pode levar à reprodução mitótica de uma célula com danos no genoma ou, até mesmo, que se diferenciou pouco para que possa cumprir seu papel celular no órgão originário. Quando essas mutações se acumulam e se somam a outras mutações com o passar do tempo, podem ocasionar a doença que conhecemos como câncer que, segundo [Brasil \(2019\)](#), é um termo que abrange mais de cem tipos de diferentes de doenças. A variabilidade do câncer como um conjunto com mais de cem doenças, por sua vez, se deve aos diversos tipos de células que compõem o corpo humano.

Os danos no DNA podem ser reparados e o gene TP53, por exemplo, cumpre essa função em três níveis de proteção como “o guardião do genoma”, de acordo com [Lane \(1992\)](#). Esse gene é responsável pela codificação da proteína p53, que age justamente na síntese das CKI que inibem a enzima Cdk2, no primeiro nível de proteção. Nesse primeiro nível, no ponto de checagem da etapa G1, o objetivo da síntese das CKIs é interromper a progressão do ciclo para a etapa S, caso sejam identificados danos no DNA.

Ao inibir a formação do complexo ciclina-G1/S-Cdk no ponto de checagem da fase G1, a p53 impede que as enzimas que ativarão a replicação do DNA na fase S sejam sintetizadas, mesmo que diante dos fatores de crescimento. Posteriormente, no segundo nível de proteção, a proteína p53 ativa as enzimas para a reparação do DNA e, caso o dano seja muito extenso e não reparável, ela ainda ativa a morte programada da célula (apoptose) no terceiro nível de proteção. Com a morte dessa célula, o dano irreparável no DNA não é duplicado através do processo de mitose e o genoma se mantém protegido ([LANE, 1992](#)).

Ao todo, segundo [Weitzman, Wang e Verma \(2021\)](#), o ciclo celular possui três pontos de

checagem para impedir a reprodução de células com danos no DNA e que estão ilustrados na Figura 3.

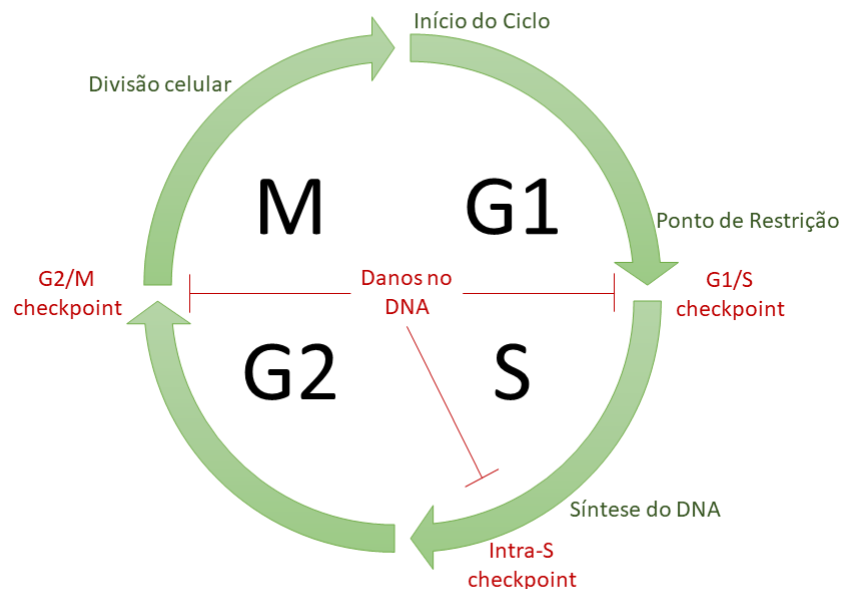


Figura 3 – Indicação dos pontos checagem (*checkpoints*) entre as etapas e fases do ciclo celular. O primeiro ponto de checagem (G1/S) ocorre durante o ponto de restrição, na transição da fase G1 para a fase S. O segundo ponto de checagem (Intra-S) ocorre na fase S, após a síntese da réplica do DNA. O terceiro ponto de checagem (G2/M) ocorre na transição da fase G2 para a fase M, antes da divisão celular e do processo de mitose (WEITZMAN; WANG; VERMA, 2021). (Adaptada da obra original citada na legenda).

O gene TP53 também é conhecido por ser um gene supressor tumoral, visto que sua proteína p53 impede o surgimento de células “defeituosas” e de crescimento desordenado – chamadas de células neoplásicas – ao interferir no ciclo celular. Portanto, uma mutação no gene TP53 pode ocasionar uma neoplasia e, uma neoplasia, é um tumor. As neoplasias podem ser malignas ou não: basicamente, o que determina essa classificação é o grau de diferenciação da célula neoplásica e sua capacidade de invadir tecidos de órgãos adjacentes. Assim, uma neoplasia maligna se classifica por ser formada por células pouco diferenciadas e com alta capacidade de infiltração em tecidos dos órgãos adjacentes. Neste ponto vale destacar que, embora o câncer seja uma doença genética, nem toda doença genética é um câncer e que todos os tipos de cânceres possuem a característica de serem neoplasias malignas.

De modo mais geral, Hanahan e Weinberg (2011) apontam que essas características comuns discutidas até agora nessa seção, são características do câncer denominadas de “evasão de supressores de crescimento”, relacionadas à inibição de CKIs e de proteínas como a p53, e de “sustentação de sinalização proliferativa”, relacionadas à indução da síntese de ciclinas e de outros fatores de crescimento, mesmo quando suas ausências é que deveriam ser sinalizadas.

Todas as duas marcas estão comprometidas em fazer com que as células passem pelos seus pontos de checagem sem interromperem, portanto, o processo mitótico de divisão celular.

O estudo também nos mostra que essas marcas são características compartilhadas entre a maioria dos tipos de cânceres e que são persistentes quando observadas nos diversos casos estudados através do tempo. Ao todo, são apresentadas dez características aos cânceres cujas representações estão ilustradas na Figura 4 (HANAHAN; WEINBERG, 2011).

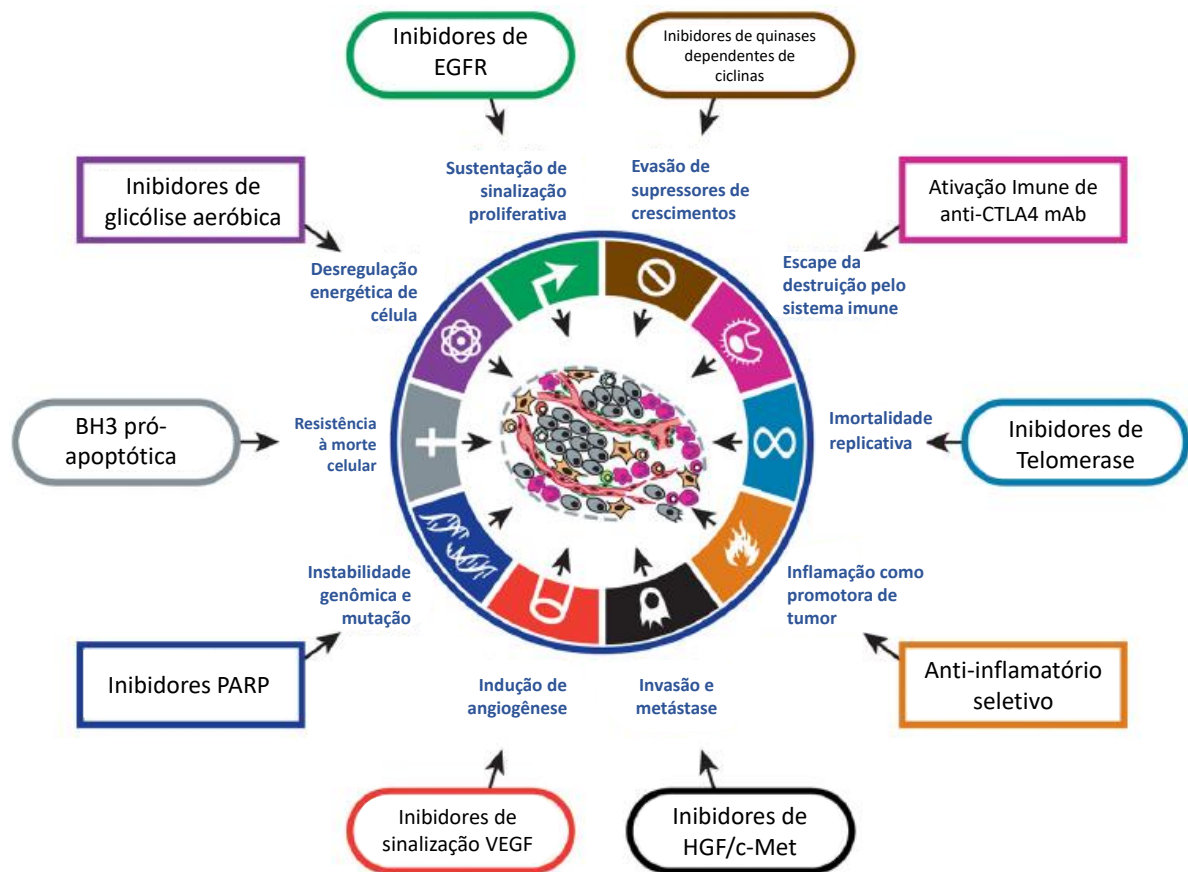


Figura 4 – As dez características presentes na maioria dos tipos de cânceres. No centro da figura, a representação do microambiente tumoral de neoplasias malignas e, ao redor (texto em azul), as características compartilhadas entre elas, denominadas *hallmarks of cancer*. Periféricamente, nas extremidades da figura, estão representados os respectivos agentes que impedem a manifestação dessas *hallmarks*, indicando, também, um direcionamento para tratamentos do câncer ao identificarem esses agentes como alvos terapêuticos – figura adaptada da original em (HANAHAN; WEINBERG, 2011). (Adaptada da obra original citada na legenda).

A proposta inicial em Hanahan e Weinberg (2011), e certamente uma de suas maiores contribuições ao assunto, é entendermos o câncer através de um modelo racional - no sentido semiótico, inclusive - que organize as características mais comuns observadas entre a maioria das neoplasias malignas. Como resultado, apresentam as *hallmarks of cancer* que, além de identificarem essas características, também elucidam os elos entre processos biológicos e bioquímicos da fisiopatologia do câncer e que contribuem com os estudos do câncer em diversas áreas.

Segundo Hanahan e Weinberg (2011), além das *hallmarks* “evasão de supressores de

crescimento [tumerais]” e “sustentação de sinalização proliferativa [da célula]”, relacionados aos aspectos que discutimos anteriormente, temos como características das neoplasias malignas, resumidamente

- o **escape da destruição pelo sistema imune**: células de neoplasias malignas possuem a capacidade de serem ignoradas pelo sistema imune. A proteína T-linfócito-associada citotóxico 4 (CTLA-4), por exemplo, tem a função de regular negativamente a resposta imune, funcionando como um ponto de verificação do sistema imunológico, para mantê-lo sob controle. Nesse sentido, as células neoplásicas induzem a CTLA-4 com a finalidade de regular negativamente o sistema imune e, assim, passarem imperceptíveis a ele. Dessa forma, ao ativarmos mecanismos anti-CTLA-4, podemos ajudar o sistema imune a reconhecer células cancerosas e combatê-las. **Alvo**: ativação imunológica anti-CTLA-4 mAb;
- a **imortalidade replicativa**: células cancerosas não possuem os telômeros diminuídos a cada processo de mitose sofrida, como ocorrem em células saudáveis, e dificilmente entram em senescência (processo natural de envelhecimento). A enzima telomerase tem a função específica de adicionar sequências repetitivas do DNA na região telomérica dos cromossomos, para evitar que eles se encurtem a cada geração de células replicadas e entrem em senescência (e apoptose, no final do processo). Os níveis de expressão da telomerase em células saudáveis são muito baixos, mas se apresentam altas em células neoplásicas, garantindo potencial replicativo ilimitado a elas. Em células cancerosas, vale ressaltar que nem sempre a telomerase age na região telomérica e acaba incluindo sequências do DNA em outras regiões do cromossomo, contribuindo com a desordem da replicação celular. **Alvo**: inibidores de telomerase;
- a **inflamação como promotora de tumor**: células de neoplasias malignas podem surgir de inflamações crônicas (pré-existentes) ou as induzir no microambiente tumoral. O problema com as inflamações crônicas é que elas ativam o uso de células do sistema imune adaptativo (como os linfócitos T e B, por exemplo) que, por sua vez, induzem a produção de proteínas como as interleucinas e o Fator de Transformação de Crescimento beta (TGF- β) ou, ainda, de macrófagos do tipo M2, que agem como promotores tumorais. No entanto, o processo inflamatório também é parte do sistema imune inato e é interessante observar que as células da imunidade inata (macrófagos M1, *Natural Killer* e neutrófilos, por exemplo) desenvolvem papéis anti-tumorais. Nesse sentido, o desenvolvimento de fármacos que possam regredir a inflamação crônica para uma inflamação associada à imunidade inata, como alvo, se mostram como uma das vias de combate ao câncer. **Alvo**: anti-inflamatórios seletivos;
- a **invasão tecidual e metástase**: neoplasias malignas podem ou não invadir tecidos adjacentes e realizar metástase. Quando se observa a invasão tecidual e a metástase, o que

percebemos, em geral, é uma baixa expressão da proteína E-caderina, relacionada à adesão celular e integridade tecidual, aumentando a Transição-Epitélio-Mesenquimal (EMT). Portanto, uma mutação no gene que codifica a síntese da família de proteínas caderina, poderá ocasionar a não adesão celular de células neoplásicas e as levarem para uma invasão tecidual e metástase. Com o objetivo de diminuir a EMT e aumentar a expressividade das E-caderina, inibe-se o Fator de Crescimento Hepatocítico (HGF/c-Met). **Alvo:** inibidores de HGF/c-Met;

- a **indução de angiogênese:** células cancerosas induzem a formação de vasos sanguíneos na região onde estão alocadas com a finalidade de se abastecerem de oxigênio e demais nutrientes e de secretarem substâncias tóxicas. Para garantirem a formação de vasos sanguíneos, as células neoplásicas recrutam Fatores de Crescimento Endotelial Vascular (VEGF). No entanto, o crescimento de vasos sanguíneos é descontrolado e disforme, diferentemente do que ocorre em tecidos saudáveis, mas satisfatório para que as células neoplásicas desenvolvam suas atividades. **Alvo:** inibidores de VEGF;
- a **instabilidade genômica e mutação:** células cancerosas possuem a capacidade de utilizar a enzima Poli Adenosina difosfato-Ribose Polimerase (PARP) para reparar danos sofridos no DNA ocasionados por exposição à substâncias tóxicas, como medicamentos quimioterápicos, por exemplo. No entanto, esse reparo é feito sob um DNA com acúmulo de mutações e, conseqüentemente, garantirá a sobrevivência e a replicação da célula neoplásica. Portanto, ao se inibir enzimas PARP, espera-se que as células cancerosas não reparem os danos causados ao DNA por essa exposição a agentes citotóxicos e, conforme sofrem mitose, gerarão células filhas com lesões (mutações) em seu DNA, ocasionando quebras em sua dupla fita. Essa instabilidade genômica deverá resultar na apoptose da célula neoplásica. **Alvo:** inibidores de PARP;
- a **resistência à morte celular:** mutações de células cancerosas desenvolvem mecanismos que produzem inibidores de proteínas BH3, que pertencem a uma família de proteínas pró-apoptóticas, impedindo-as de ativarem a apoptose durante os pontos de checagem do ciclo celular. **Alvo:** mimetizações da proteína pró-apoptótica BH3;
- a **desregulação energética da célula:** células cancerosas realizam Glicólise Aeróbica, também conhecida como Efeito Warburg. Células saudáveis possuem dois modos de produzir energia através do metabolismo da glicose: a oxidação fosforilativa (na presença de oxigênio, pelas mitocôndrias) e a glicólise anaeróbica (na ausência de oxigênio, através de enzimas e no citoplasma). A oxidação fosforilativa é energeticamente mais eficiente do que a glicólise anaeróbica e, sempre que na presença de oxigênio, uma célula saudável preferirá pela respiração aeróbica, mesmo que se leve mais tempo para produzir energia, quando comparado à glicólise anaeróbica. De fato, em células saudáveis, cerca de 90% da produção de ATPs é oriunda da oxidação fosforilativa e o restante, do processamento do

piruvato sem a presença de oxigênio, o que gera o lactato no citoplasma. No entanto, células neoplásicas precisam de agilidade e eficiência na produção energética e, por isso, produzem 85% de seus ATPs através da glicólise e o processamento do piruvato no citoplasma, mesmo quando na presença de oxigênio e de mitocôndrias saudáveis, em um processo conhecido como Glicólise Aeróbica. A glicólise aeróbica confere à célula neoplásica uma série de vantagens adaptativas, como rápida produção de energia, geração de biomassa, proteção contra danos oxidativos, entre outras. Dessa forma, inibindo-se a glicólise aeróbica, espera-se colapsar a produção de energia celular em neoplasias e suas funções caóticas. **Alvo:** inibidores de Glicólise Aeróbica;

É importante observar que, além de discutirem as principais características compartilhadas entre os diferentes tipos de cânceres, [Hanahan e Weinberg \(2011\)](#) também trazem um direcionamento para o tratamento da doença. Percebemos, também, que se trata de uma doença altamente complexa, mostrando que o tratamento de apenas uma ou duas características, talvez, se tornem ineficientes, dado o caso.

É possível notar, também, que cada caso revela condições muito específicas, justamente porque o câncer não se trata apenas de uma mutação que se evidencia por apenas uma *hallmark*, mas sim de um acúmulo de mutações e que podem se manifestar através de diversas combinações observadas dessas *hallmarks*.

Contudo, os aspectos do câncer discutidos nessa seção, são apenas introdutórios e foram tratados brevemente, mas se mostram suficientes para nossos objetivos de observarmos, entendermos a dinâmica e propormos modelos e ferramentas matemáticas que descrevam uma neoplasia maligna sob o prisma de uma ou mais *hallmarks*.

1.5 O câncer de pulmão: aspectos introdutórios e de classificação

O câncer de pulmão, foi registrado como a segunda maior causa de mortalidade entre mulheres que desenvolveram algum tipo de câncer e a primeira causa de mortalidade entre os homens, sob as mesmas condições, no ano de 2019. E, para cada ano do triênio 2020-2022, as previsões estimam uma média de 6,72% de novos casos para esse tipo de câncer, para ambos os sexos ([BRASIL, 2021](#)). Esses índices se revelam preocupantes e também nos chamam a atenção para conhecermos e entendermos um pouco mais sobre esse tipo de câncer.

Basicamente, o câncer de pulmão se divide em dois subtipos: os cânceres de pulmão de células não pequenas (NSCLC, de sua terminologia em língua inglesa *Non-Small Cell Lung Cancer*) e os cânceres de células pequenas (SCLC, também de sua terminologia em língua inglesa *Small Cell Lung Cancer*). Segundo [Padhye \(2021\)](#), o subtipo NSCLC é o mais recorrente em

pacientes e pode, ainda, ser classificado como adenocarcinoma, carcinoma de células escamosas (ou epidermoides) ou carcinoma de grandes células.

O adenocarcinoma é a classificação com mais incidência em pessoas que desenvolvem o NSCLC e se origina nas células que revestem os alvéolos pulmonares, produzindo substâncias como o muco. O carcinoma de células escamosas é o subtipo de segunda maior incidência em pessoas que desenvolvem o NSCLC, e se origina de células epiteliais escamosas que revestem o interior das vias aéreas. Essas duas classificações citadas desenvolvem-se de forma lenta, em relação ao carcinoma de grandes células, que pode ter seu tratamento mais dificultado devido a essa característica de rápido crescimento.

O carcinoma de grandes células é uma neoplasia maligna de células indiferenciadas e, por isso, não possui características citológicas, o que dificulta sua identificação (PADHYE, 2021). A Figura 5 ilustra essas relações. Do ponto de vista do tratamento clínico, Stankovic et al. (2019) aponta que a diversidade de células no microambiente tumoral do NSCLC deve ser explorada para o estudo de possíveis protocolos, em detrimento aos protocolos com uso exclusivo de quimioterapia e/ou radioterapia.

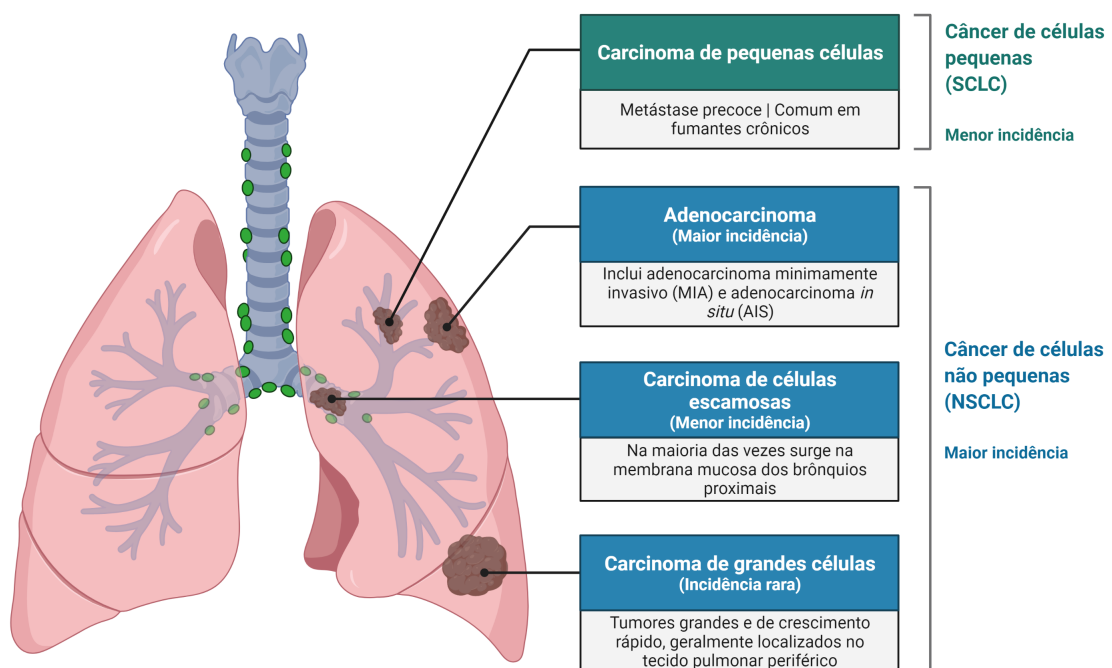


Figura 5 – As classificações e subtipos do câncer de pulmão de acordo com suas características citológicas e de origem. Os adenocarcinomas e carcinomas de pequenas células estão fortemente correlacionados ao tabagismo. O carcinoma de grandes células é diagnosticado por exclusão do adenocarcinoma e do carcinoma de células escamosas, no entanto, distingue-se do SCLC (PADHYE, 2021). (Criada em *BioRender.com* e adaptada da obra original citada na legenda).

Através de técnicas de citometria em amostras de microambientes tumorais do NSCLC, por exemplo, [Stankovic et al. \(2019\)](#) encontra treze tipos distintos de células do sistema imune. E, dentre elas, as mais abundantes são as T CD4+, representando cerca de 26% da composição do microambiente tumoral, seguida pelas T CD8+, com cerca de 22% dessa mesma composição.

As causas dessa diversidade celular, apontadas em [Stankovic et al. \(2019\)](#), corroboram com as concepções em torno das *hallmarks* desenvolvidas em [Hanahan e Weinberg \(2011\)](#) e, também nesse sentido, em [Padhye \(2021\)](#) há apontamentos de que, além da heterogeneidade celular no microambiente tumoral do NSCLC, há ainda os aspectos das heterogeneidades genética e epigenética, com as quais ressalta que os tumores desse tipo de câncer do pulmão são formações de mutações em múltiplos oncogenes e respectivas sinalizações, reforçando, também, múltiplas alterações não esperadas de fenótipos celulares que compõem esse microambiente.

Em particular, sobre o conceito de epigenética e alterações de fenótipos de células do microambiente tumoral do NSCLC, há um conjunto de células de grande interesse para este trabalho: os macrófagos, que discutiremos brevemente na próxima seção.

1.6 O sistema imune e o câncer

O sistema imune é um conjunto de mecanismos de proteção conferidos ao nosso corpo contra agentes causadores de doenças, chamados de patógenos. Uma das estratégias de defesa adotadas pelo sistema imune é a **resposta imune humoral**, que consiste em produzir anticorpos que se ligam de modo específico a um agente infeccioso com a finalidade de “marcá-lo”, para que células como os macrófagos, por exemplo, o possa reconhecer, fagocitar e o destruir. Outra estratégia fundamental é a **resposta imune celular**, que consiste na adaptação de células citotóxicas específicas, capazes de reconhecer e atacar células com antígenos em sua superfície. Na resposta imune celular, diferentemente do que ocorre na resposta imune humoral, por exemplo, não é necessária a ação de anticorpos para intermediar a ação contra o patógeno ([WEINBERG, 2008](#)).

Segundo [Kim, Youn e Kang \(2021\)](#), uma outra forma de ilustrarmos o sistema imune é sob o ponto de vista do contato prévio do corpo com o agente infeccioso. Algumas respostas imunológicas dependem do contato com o patógeno para desenvolverem mecanismos específicos de defesa, como no caso das células citotóxicas do linfócitos T, que também estão associadas com a resposta imune celular. No entanto, nem toda resposta imunológica depende do contato prévio com o patógeno, como no caso das células *natural killer* (NK), que são capazes de reconhecer células com padrões anormais, desenvolvendo mecanismos inespecíficos para a defesa do corpo.

Dessa forma, quando o sistema imune desenvolve mecanismos específicos a um patógeno, dizemos que essas são **respostas imune adaptativas**. Enquanto que mecanismos inespecíficos de combate a um patógeno são chamadas de **respostas imune inatas**.

E, nesse sentido, é importante destacar que independentemente de como classificamos o sistema imune, o combate a esses patógenos ocorre de modo conjunto. De acordo com [Duan e Luo \(2021\)](#), a resposta imune adaptativa, por exemplo, leva à produção de anticorpos após que os macrófagos de células dendríticas (DCs) apresentam esses antígenos fagocitados às células do linfócito T. Além disso, a resposta imune adaptativa também ativa células altamente citotóxicas e específicas para o antígeno apresentado, como as células T CD8+.

No entanto, segundo [Weinberg \(2008\)](#), o sistema imune é muito específico e finamente regulado: deve ser capaz de distinguir entre proteínas estranhas daquelas produzidas por células do organismo. Portanto, há a necessidade de distinguir o “próprio” do “não próprio” e isso deve gerar a tolerância do sistema imune para aquilo que é encontrado frequentemente em nosso organismo. Assim, ao levarmos em consideração os aspectos introdutórios da fisiologia do câncer, discutidos nas seções anteriores, e fica mais claro a possibilidade que o câncer possui de se “evadir” da imunovigilância.

É nesse sentido que os macrófagos possuem um papel muito importante na imunovigilância tumoral do NSCLC e que abordaremos na próxima seção.

1.6.1 Os macrófagos e seu papel no microambiente tumoral

De acordo com [Stankovic et al. \(2019\)](#), os macrófagos constituem cerca de 4,7% das células infiltradas no estroma tumoral do NSCLC. Se comparado com a porcentagem das células T CD8, parece pouco provável que os macrófagos desempenhem um papel significativo na evolução tumoral, pelo menos desse ponto de vista quantitativo.

No entanto, [Rakaee et al. \(2019\)](#) defendem que essas quantidades de macrófagos no microambiente tumoral estão bastante relacionadas com o prognóstico para o NSCLC. Em particular, se um microambiente tumoral possui predominância de um tipo específico de macrófagos, com características antitumorais, o prognóstico pode ser positivo.

Isso nos remete aos apontamentos levantados em [Padhye \(2021\)](#): os macrófagos possuem uma diversidade epigenética, que lhes conferem características antitumorais e pró-tumorais. De modo simples, as propriedades epigenéticas permitem com que as células tenham seus fenótipos alterados sem, contudo, terem seus genes (ou uma sequência do DNA) alterados.

Dessa forma, os macrófagos podem assumir um fenótipo que possui características antitumorais, conhecida como macrófagos de fenótipo 1 (M1), ou um fenótipo com propriedades pró-tumorais, conhecida como macrófagos de fenótipo 2 (M2) ([RAKAEET et al., 2019](#)).

No entanto, existem investigações, como em [Noy e Pollard \(2014\)](#), apontando que essa divisão – quase que mutuamente exclusiva – entre fenótipos do macrófago é uma simplificação acentuada da real complexidade na alteração dos fenótipos dos macrófagos no microambiente tumoral. No entanto, um ponto em comum é a discussão que envolve as características anti- e pró-tumorais que os fenótipos podem conferir aos macrófagos.

Os macrófagos são constituintes do sistema imune e, em um indivíduo adulto, são originárias tanto da medula óssea (predominantemente), quanto do baço. No entanto, nos estágios embrionários, também são originários da vesícula vitelina e do fígado fetal (DUAN; LUO, 2021). Sendo parte do sistema imune, desempenham papéis importantes tanto no sistema imune inato quanto no adaptativo (REIS-SOBREIRO et al., 2021).

Em um primeiro instante, logo no surgimento das primeiras células tumorais e na formação de microambiente neoplásico, os macrófagos M1, associados ao sistema imune inato, matam e fagocitam as células neoplásicas com a finalidade de apresentarem os antígenos e ativar o sistema imune adaptativo, de células T efectoras (REIS-SOBREIRO et al., 2021). Esta é uma simplificação da realidade visto que outras células também possuem participação nesse primeiro estágio, como as células dendríticas (DC) e *natural killer*, mas estamos considerando o papel dos macrófagos, inicialmente.

A medida que as células neoplásicas se desenvolvem, existem citocinas e quimiocinas específicas (CCL5, CCL20, CCL22) que estimulam a regulação do sistema imune através de células Treg, associados ao sistema imune adaptativo, e outras, como a CCL2 e CSF-1 (fator estimulador de colônias), que recrutam os macrófagos, ativando-os alternativamente (fenótipo M2). Essa ativação alternativa é chamada de polarização que, resumidamente, é um processo epigenético que altera o fenótipo dos macrófagos M1. Em alguns cânceres específicos, como no NSCLC, esse recrutamento pela polarização é quase que imediato (NOY; POLLARD, 2014).

Uma vez polarizados, os macrófagos M2 desenvolvem um papel importante na promoção tumoral: inibir mecanismos de defesa do sistema imune. Para isso, os macrófagos M2 agem de forma direta, no contato “célula-a-célula” com os demais linfócitos T, e de forma indireta, através de proteínas que induzem as funções reguladoras do sistema imune através das Treg (NOY; POLLARD, 2014). A Figura 6 ilustra esse mecanismo de inibição do sistema imune.

No contato direto com o linfócitos T, os macrófagos M2 expressam receptores para o PD-1 (proteína ligada à morte celular programada) e CTLA-4, como descrito pelas *hallmarks* em Hanahan e Weinberg (2011), suprimindo as ações das células T, “evitando” o sistema imune (NOY; POLLARD, 2014).

De forma indireta, temos uma ação em três frentes:

1. **Inibição da migração das NK para linfonodo:** macrófagos e DC são apresentadoras de antígenos via moléculas MHC-1 e também podem expressar moléculas HLA, HLA-C, HLA-E e HLA-G em suas membranas. Por sua vez, as NK possuem em suas membranas os receptores dessas moléculas HLA, conhecidas como CD94 ou NKG2 e, dessa forma, os macrófagos M2 inibem as funções das NK, impedindo, inclusive, que elas migrem para o linfonodo e ativem as T CD8.
2. **Indução da função regulatória do sistema imune:** os macrófagos M2 usam TGF- β e

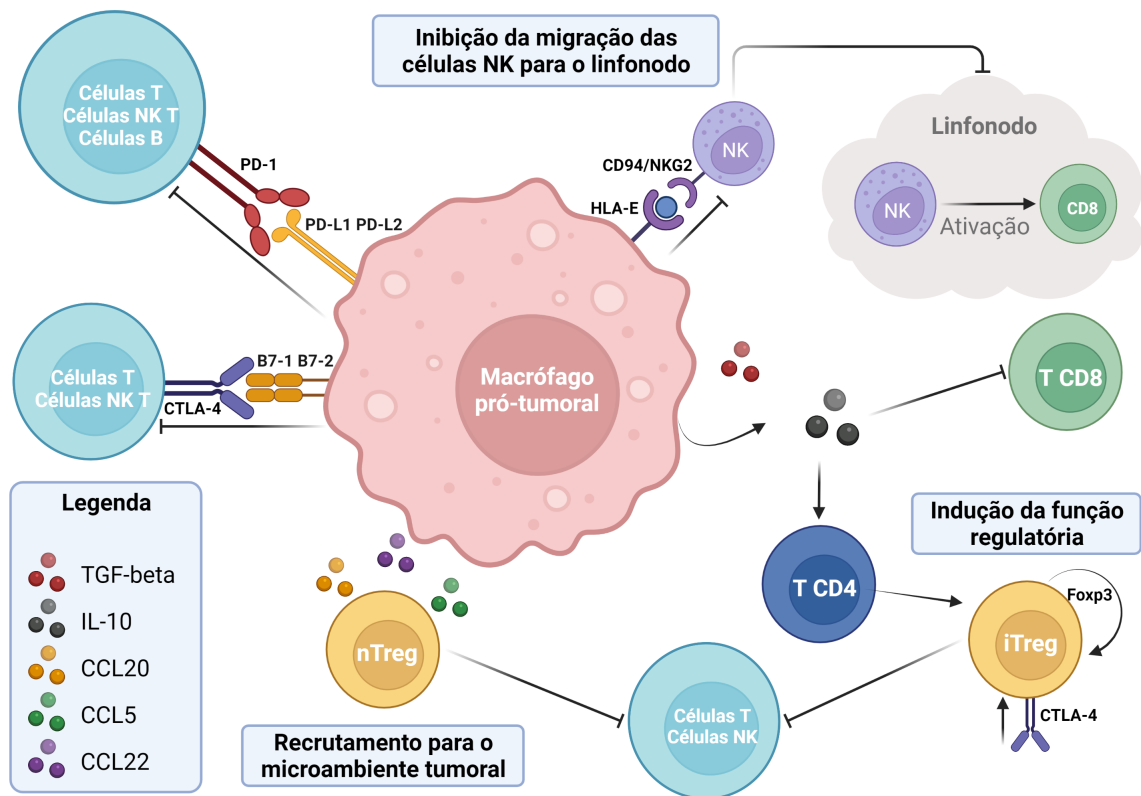


Figura 6 – Mecanismo pró-tumoral do macrófago M2 para a inibição de células efetoras do sistema imune: (1) Impedindo a migração de NK para o linfonodo, mantendo as CD8 inativas; (2) Secretando TGF- β e IL-10, suprimindo as T efetoras e induzindo as funções reguladoras do sistema imune, via iTreg; (3) Recrutamento continuamente nTreg e expressando quimiocinas, além da manutenção das funções imunossupressoras das Treg; (4) Inibição das células T efetoras por contato direto “célula-a-célula” através da inibição de CTLA-4 e PD-1 (NOY; POLLARD, 2014). (Criada em BioRender.com e adaptada da obra original citada na legenda).

IL-10 (interleucina 10) secretados para também inibir as CD8 e estimular as Treg que regulam a atividade do sistema imune através da supressão das atividades das células T, de modo geral.

- Recrutamento contínuo para o microambiente tumoral:** células nTreg são recrutadas continuamente pelas quimiocinas CCL5, CCL20 e CCL22 expressas pelos macrófagos M2. Esse recrutamento contínuo reforça a secreção de TGF- β e de IL-10, completando um ciclo de estímulos pró-tumorais dos macrófagos M2.

Para interromper esse ciclo pró-tumoral dos macrófagos M2, Reis-Sobreiro et al. (2021) revisam algumas das principais terapias envolvendo macrófagos. De modo geral, elas são divididas entre

- Esgotamento de macrófagos:** utilizando medicamentos da classe do bifosfonato, como o zoledronato.

2. **Bloqueio de sinais de sobrevivência:** a polarização de macrófagos M1, para alterarem seu fenótipo para M2 e garantir a sobrevivência tumoral, dependem de quimiocinas como CFS-1. As terapias que envolvem a supressão do gene que o expressa ou o bloqueio bioquímico dessa quimiocina são consideradas.
3. **Bloqueio de recrutamento para o tumor:** nessa terapia, a intenção é usar inibidores para as quimiocinas CCL2 e CCL5, principalmente.
4. **Inibição das funções pró-tumorais dos macrófagos M2:** nessa terapia, usa-se inibidores de PD-1/PD-L1, EGFR, VEGFA, entre outros. Observamos que alguns desses inibidores também são alvos em terapias, citados em [Hanahan e Weinberg \(2011\)](#).
5. **Regulação da polarização de macrófagos:** ao todo, uma célula macrófaga do corpo humano expressa onze receptores *toll-like* (TLR), que podem controlar a ativação dos macrófagos por várias vias. Nessa terapia, a ideia é administrar quimioterápicos ou protocolos com radioterapia, estímulos às citocinas IFN- γ e TNF- α , Anti-CSFR1, Anti-PD-1 e, até mesmo, macrófagos alterados geneticamente (via células CAR T, por exemplo) que possam regularizar a polarização, mantendo um número significativo de macrófagos M1 no microambiente tumoral.

De modo geral, apresentamos o papel dos macrófagos no desenvolvimento tumoral através das alterações em seu fenótipo e algumas terapias que são consideradas, segundo [Reis-Sobreiro et al. \(2021\)](#).

1.7 Objetivo da tese

Neste trabalho, portanto, nosso objetivo é explorarmos o uso de ferramentas matemáticas para realizar uma análise da dinâmica das heterogeneidades celulares e epigenéticas do microambiente tumoral do câncer de pulmão do tipo NSCLC, considerando o desenvolvimento de células específicas nesse tumor como objetos modelados matematicamente.

2 Modelo Matemático Proposto

Neste capítulo, introduziremos o modelo matemático que sintetiza algumas observações levantadas no capítulo anterior, ao mesmo tempo que supõe hipóteses específicas para o câncer de pulmão do tipo NSCLC.

De modo geral, estamos supondo taxas de variações para as células tumorais, que também denominaremos como neoplásicas, e para as células do sistema imune que compõem o microambiente tumoral do NSCLC: os macrófagos que manifestam os fenótipos 1 e 2, respectivamente anti- e pró-tumorais, de acordo com [Noy e Pollard \(2014\)](#), e as células T CD8+, citotóxicas às células neoplásicas.

Segundo [Stankovic et al. \(2019\)](#), o número de células CD8+ no microambiente tumoral do NSCLC é cerca de 22% e, as células NKs e os macrófagos, representam cerca de 4,7% da composição do tumor.

Embora o microambiente tumoral do NSCLC tenha mais células de linfócitos T do que macrófagos, nosso modelo leva em consideração não somente os apontamentos sobre a composição do seu microambiente tumoral, mas também os impactos dessas células no combate ao câncer NSCLC.

Além das quantidades significativas das CD8+ infiltradas no estroma tumoral, existe a questão do impacto no combate às células neoplásicas do NSCLC que essas células possuem, dado suas altas citotoxicidades, causando a morte dessas células tumorais. Segundo [Kuznetsov e Knott \(2001\)](#), células T citotóxicas são muito eficazes no processo de morte de células neoplásicas. Nesse mesmo sentido, [Zeng, Lv e Du \(2021\)](#) sugerem que imunoterapias envolvendo estímulos às NK também se comprovam eficazes no controle ao crescimento das células tumorais.

De acordo com [Reis-Sobreiro et al. \(2021\)](#), a imunoterapia envolvendo estímulos aos macrófagos com características antitumorais são promissoras e, ao mesmo tempo, inovadoras, já que nos últimos anos há uma preponderância nos estudos clínicos de imunoterapias com células dos linfócitos T. Dessa forma, a imunoterapia com macrófagos também se constitui uma via terapêutica importante.

Nesse ponto, para esse tipo de câncer que possui um alto índice de mortalidade, todas as vias terapêuticas disponíveis devem ser consideradas, mas que as combinações de imunoterapias e/ou outras terapias devem ser estudadas com o máximo cuidado possível ([DUAN; LUO, 2021](#)).

Segundo [Kaur et al. \(2021\)](#), é possível que haja combinações entre imunoterapias diversas e que, em geral, as vacinas que estimulam as células T são eficazes quando tomadas como única via imunoterápica. Com base nesses apontamentos, os estudos de [Eftimie e Barelle \(2021\)](#) e [Shu et al. \(2020\)](#) inspiram e motivam nosso trabalho.

Em [Eftimie e Barelle \(2021\)](#), os efeitos do fenótipo misto dos macrófagos sobre a evolução do volume tumoral do NSCLC são investigados ao mesmo tempo que se observa a importância de alguns parâmetros no controle desse volume tumoral. O fenótipo misto dos macrófagos é a manifestação do genótipo da transição entre os fenótipos 1, de características antitumorais, e 2, de características pró-tumorais, na polarização e repolarização dos macrófagos e constitui um dos principais objetos de estudo.

Em [Shu et al. \(2020\)](#), investiga-se a interação entre as células tumorais e macrófagos de fenótipos 1 e 2 e como essa dinâmica afeta a estabilidade do volume tumoral a partir de uma análise sobre bifurcações em torno do ponto de equilíbrio. Esse estudo revela a importância que alguns dos parâmetros ligados à (re)polarização possuem no controle do volume de células neoplásicas em geral e, portanto, não necessariamente no NSCLC.

Dessa forma, nosso trabalho reconhece a importância da imunoterapia envolvendo macrófagos e seus diferentes fenótipos no microambiente tumoral do NSCLC, mas amplia a investigação de ambos os trabalhos, citados acima, sobre a evolução e controle do volume tumoral, quando considera as interações com as células T CD8+ do sistema imune.

É importante destacar, então, que nosso objetivo mais específico é investigar a dinâmica das interações entre células neoplásicas, macrófagos e T CD8+ que compõem o microambiente tumoral do NSCLC, considerando suas heterogeneidades epigenéticas e celulares, como aponta [Padhye \(2021\)](#) e é evidenciado em [Stankovic et al. \(2019\)](#), explorando possíveis combinações imunoterápicas, como sugerem [Kaur et al. \(2021\)](#) e [Duan e Luo \(2021\)](#).

Assim, vejamos algumas das hipóteses supostas para a concepção de nosso modelo para o NSCLC.

Hipóteses supostas:

1. sobre as células **neoplásicas**: crescem desordenadamente, seguindo a lei logística e, consequentemente, limitadas a um volume máximo. Além disso, supomos pequena ou inexistente sua taxa de apoptose quando comparada com sua taxa proliferativa. No entanto, são suscetíveis à morte celular quando interagem com macrófagos de características antitumorais (M1) e T CD8+ devido ao estímulo de citocinas como IFN- γ e TNF- α . Com seu fenótipo alterado pela expressão da citocina CSF-1, os macrófagos de fenótipo 2 (M2) estimulam o crescimento de células neoplásicas através da expressão de TGF- β e da citocinas e quimiocinas (IL-10, CCL5, CCL20 e CCL22), que impedem a ação antitumoral das células T;

2. sobre os **macrófagos** de fenótipo 1: possuem uma taxa de crescimento das quantidades celulares no microambiente tumoral relacionada ao seu recrutamento pelas células neoplásicas, quando essas expressarem a quimiocina CCL2. Uma vez recrutadas para o microambiente tumoral, sofrem com a ação de polarização e consequente mudança de fenótipo, ocasionada pela ação da citocina CSF-1, que regula os macrófagos M1 e M2 no microambiente tumoral. A ação da CSF-1 age tanto na limitação do volume máximo que os macrófagos M1 podem alcançar no microambiente tumoral, quanto na polarização de seu fenótipo para que sejam alternativamente ativadas como M2. Para os macrófagos M1, é considerada uma taxa de apoptose;
3. sobre os **macrófagos** de fenótipo 2: possuem uma taxa de crescimento das quantidades celulares com influência direta das células neoplásicas, uma vez que seu volume depende do recrutamento de macrófagos e das polarizações intermediadas pelas quimiocinas e citocinas expressas por essas células. Essa dependência devida ao recrutamento e polarização, analogamente ao suposto para os macrófagos M1, limita seu volume máximo. No entanto, quando sob tratamento para regulação da citocina CSF-1 no microambiente tumoral, seu fenótipo pode ser alterado para M1. Para os macrófagos M2 é considerada uma taxa de apoptose relativamente menor, quando comparada com a taxa de apoptose dos macrófagos M1, segundo [Eftimie e Barelle \(2021\)](#);
4. sobre as **T CD8+**: possuem uma taxa de crescimento com influência direta dos macrófagos M1, uma vez que sua diferenciação depende dos antígenos apresentados por essas células aos linfócitos T. Porém, seu volume máximo é limitado devido às ações dos macrófagos M2, que expressam proteínas, como as IL-10, CCL5, CCL20 e CCL22 que regulam a ação das células T efectoras. Para as efectoras CD8+ consideramos uma taxa de apoptose.

Dessa forma, conhecidas nossas suposições sobre as células de interesse, na próxima seção, apresentaremos um modelo matemático que contempla as suposições desenvolvidas.

2.1 Concepção e modelagem matemática

Considerando as hipóteses levantadas anteriormente e, admitindo $N(t)$ a função que representa o número de células neoplásicas, $M_1(t)$ a função associada à contagem celular de macrófagos que manifestam o fenótipo 1 (de propriedades antitumorais), $M_2(t)$ a função que indica o número de macrófagos que manifestam o fenótipo 2 (de propriedades pró-tumorais), e $T_8(t)$ a função que indica o número de CD8+ efectoras no sistema imune, todas dependentes do tempo t , apresentamos o seguinte modelo matemático genérico para o NSCLC:

$$\frac{dN}{dt} = \underbrace{B_1(M_2, N)}_{\text{crescimento}} - \underbrace{B_2(M_1, N)}_{\substack{\text{redução} \\ \text{fagocitose}}} - \underbrace{B_3(T_8, N)}_{\substack{\text{eliminação} \\ \text{TNF-}\alpha, \text{IFN-}\gamma}}, \quad (2.1)$$

$$\frac{dM_1}{dt} = \underbrace{C_1(M_1)}_{\text{recrutamento}} - \underbrace{C_2(M_2, M_1)}_{\text{inibição}} + \underbrace{C_3(N, M_2, M_1)}_{\text{(re)polarização CSF-1}} - \underbrace{\mu_1 M_1}_{\text{morte}}, \quad (2.2)$$

$$\frac{dM_2}{dt} = \underbrace{D_1(N, M_2)}_{\text{recrutamento}} - \underbrace{D_2(M_1, M_2)}_{\text{inibição}} + \underbrace{D_3(N, M_1, M_2)}_{\text{(re)polarização CSF-1}} - \underbrace{\mu_2 M_2}_{\text{morte}}, \quad (2.3)$$

$$\frac{dT_8}{dt} = \underbrace{O_1(M_1, T_8)}_{\text{crescimento}} - \underbrace{O_2(M_2, T_8)}_{\substack{\text{inibição} \\ \text{IL-10}}} - \underbrace{\mu_3 T_8}_{\text{morte}}. \quad (2.4)$$

Para o modelo constituído pelas equações de (2.1) a (2.4) apresentadas acima, consideramos que

- na equação (2.1),

1. para o termo $B_1(M_2, N)$, o crescimento das células neoplásicas associadas ao câncer de pulmão são influenciadas pela quantidade de macrófagos de fenótipo 2, presentes no microambiente tumoral, e dos fatores de crescimento tumorais β (TGF- β), sendo expresso como

$$B_1(M_2, N) = \alpha_1 N \left(1 - \frac{N}{K_n}\right) (1 + \alpha_2 M_2); \quad (2.5)$$

2. para os termos $B_2(M_1, N)$ e $B_3(T_8, N)$, o crescimento das células neoplásicas sofre uma redução devido à ação dos macrófagos com fenótipo 1 e CD8+ efetoras, respectivamente, e dessa forma, são expressos como

$$B_2(M_1, N) = \beta_1 M_1 N, \quad (2.6)$$

$$B_3(T_8, N) = \beta_2 T_8 N; \quad (2.7)$$

- na equação (2.2),

1. os termos $C_1(M_1)$ e $C_2(M_2, M_1)$ indicam, respectivamente, o crescimento no número de macrófagos de fenótipo 1 do sistema imune inato e uma inibição a esse crescimento, limitando essa quantidade de macrófagos que expressam o fenótipo 1, a depender da quantidade de macrófagos que manifestam o fenótipo 2. Conjuntamente, os termos são definidos através da equação

$$C_1(M_1) - C_2(M_2, M_1) = \alpha_3 M_1 \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m}\right); \quad (2.8)$$

2. o termo $C_3(N, M_2, M_1)$ representa uma redução nesse crescimento do número de células ocasionada por fatores internos ao microambiente tumoral, dependentes da quantidade de células neoplásicas que deflagram o efeito epigenético de polarização dos macrófagos com fenótipo 1 para expressarem o fenótipo 2. O termo é definido como

$$C_3(N, M_2, M_1) = \rho_2 M_2 - \rho_1 M_1 N; \quad (2.9)$$

- na equação (2.3),

1. de modo análogo ao discutido na equação (2.2), os termos $D_1(N, M_2) - D_2(M_1, M_2)$, representam o crescimento nas quantidades de macrófagos com o fenótipo 2 mediante o recrutamento de células neoplásicas e, respectivamente, a inibição natural a esse crescimento levando-se em consideração a quantidade de macrófagos com o fenótipo 1. Conjuntamente, os termos são expressos como

$$D_1(N, M_2) - D_2(M_1, M_2) = \alpha_4 M_2 N \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m} \right); \quad (2.10)$$

2. o termo $D_3(N, M_1, M_2)$ representa a redução das quantidades de macrófagos de fenótipo 2, mas, diferentemente de como ocorre com o processo representado pelo termo $C_3(N, M_2, M_1)$, o efeito epigenético que permite a repolarização de macrófagos que expressam o fenótipo 2 em macrófagos de fenótipo 1 não é natural e, portanto, depende de tratamento terapêutico do sistema imune. Assim, definimos o termo de repolarização como

$$D_3(N, M_1, M_2) = \rho_1 M_1 N - \rho_2 M_2; \quad (2.11)$$

- na equação (2.4),

1. o termo $O_1(M_1, T_8)$ modela o crescimento do número de CD8+ efectoras do sistema imune que provocam a redução de células neoplásicas N , consideradas no termo $B_3(T_8, N)$, e que dependem da função celular dos macrófagos com fenótipo 1 de serem apresentadoras de antígenos. Esse termo é expresso como

$$O_1(M_1, T_8) = \alpha_5 M_1 T_8 \left(1 - \frac{T_8}{K_t} \right); \quad (2.12)$$

2. o termo $O_2(M_2, T_8)$, por sua vez, indica o efeito de redução que o número de CD8+ sofre devido a influência da quantidade de macrófagos com fenótipo 2 existentes no microambiente tumoral. Expressamos esse termo como

$$O_2(M_2, T_8) = \beta_3 M_2 T_8. \quad (2.13)$$

É importante ressaltar que os parâmetros utilizados nas expressões, embora não discutidos na descrição que fizemos acima, modelam as interações de regulação que as quantidades de

células N , M_1 , M_2 e T_8 têm entre si, através de enzimas e outros mecanismos bioquímicos. Do ponto de vista matemático, destacamos como necessária a condição de que não sejam negativos, uma vez que, além de garantir uma correta concepção do modelo matemático diante das hipóteses supostas para o câncer de pulmão (ver Tabela 1), isso também garante a existência e a positividade das soluções analíticas, como veremos nas seções posteriores.

Considerando as expressões discutidas acima e utilizadas nas equações de (2.1) a (2.4), apresentamos o seguinte modelo matemático representativo para o NSCLC, considerando o papel de células específicas do sistema imune em sua evolução:

$$\frac{dN}{dt} = \alpha_1 N \left(1 - \frac{N}{K_n}\right) (1 + \alpha_2 M_2) - \beta_1 M_1 N - \beta_2 T_8 N, \quad (2.14)$$

$$\frac{dM_1}{dt} = \alpha_3 M_1 \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m}\right) + \rho_2 M_2 - \rho_1 M_1 N - \mu_1 M_1, \quad (2.15)$$

$$\frac{dM_2}{dt} = \alpha_4 M_2 N \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m}\right) + \rho_1 M_1 N - \rho_2 M_2 - \mu_2 M_2, \quad (2.16)$$

$$\frac{dT_8}{dt} = \alpha_5 M_1 T_8 \left(1 - \frac{T_8}{K_t}\right) - \beta_3 M_2 T_8 - \mu_3 T_8, \quad (2.17)$$

cujas condições iniciais são tomadas como $N(0) = N_0$, $M_1(0) = M1_0$, $M_2(0) = M2_0$ e $T_8(0) = T8_0$.

Na Tabela 1, indicamos a descrição de cada um dos parâmetros utilizados, bem como as unidades de medida consideradas nas equações discutidas acima.

Tabela 1 – Descrição de parâmetros utilizados no modelo e suas respectivas unidades de medida.

Parâmetros	Unidades	Descrição
$\alpha_i, i = 1, 3$	dia ⁻¹	Taxa de crescimento das quantidades de células
α_2	mm ⁻³	Taxa de influência dos macrófagos no volume tumoral
$\alpha_i, i = 4, 5$	(mm ³ · dia) ⁻¹	Taxa de influência volume-dia no crescimento das células
$\mu_i, i = 1, 2, 3$	dia ⁻¹	Taxa de apoptose celular
$\beta_i, i = 1, 2, 3$	(mm ³ · dia) ⁻¹	Taxas relacionadas à competição entre células
ρ_1	(mm ³ · dia) ⁻¹	Taxa de polarização do fenótipo 1 em 2 do macrófago
ρ_2	dia ⁻¹	Taxa de repolarização do fenótipo 2 em 1 do macrófago
$K_{n,m,t}$	mm ⁻³	Capacidades suportes de células neoplásicas, macrófagos e CD8+

Antes de explorarmos algumas situações específicas em simulações do modelo apresentado, é necessário entendermos alguns aspectos da dinâmica da doença através da análise matemática do sistema de equações diferenciais ordinárias composto pelas equações de (2.14) a (2.17) que, daqui em diante, denominaremos de sistema (2.1).

2.2 Análise e estudo de estabilidade

Em particular, estudaremos a estabilidade do sistema (2.1) para seus pontos de equilíbrio. Ao realizar esse estudo, dividimos essa seção em três partes: a primeira se concentrará no estudo do comportamento do sistema através da busca pelas soluções das curvas isóclinas nulas das equações que compõem o sistema, a segunda parte se concentrará nos pontos de equilíbrio do referido sistema, com base no estudo das soluções das isóclinas nulas e a terceira parte na qual serão estudadas as respectivas estabilidades dos pontos de equilíbrio encontrados para o modelo.

2.2.1 Soluções das curvas isóclinas nulas do modelo proposto

Inicialmente, é preciso destacar que as funções $N(t)$, $M_1(t)$, $M_2(t)$ e $T_8(t)$, que compõem o sistema de equações diferenciais ordinárias (2.1), são dependentes do parâmetro $t \in \mathbb{R}^+$.

Nesse sentido, uma vez definida a EDO como, digamos, $\frac{dN}{dt} = f(N, M_1, M_2, T_8)$, podemos entender uma isóclina como um conjunto de pontos $(N^*, M_1^*, M_2^*, T_8^*)$, para algum $t \in \mathbb{R}^+$, que são soluções da equação $f(N, M_1, M_2, T_8) = k$, para qualquer $k \in \mathbb{R}$, e nos quais as retas tangentes à curva integral de dN/dt mantêm sempre a mesma direção (inclinação).

Dessa forma, notamos que esse conjunto de pontos $(N^*, M_1^*, M_2^*, T_8^*)$ é, também, solução da equação diferencial $\frac{dN}{dt} = k$, k fixado. Por outro lado, encontrar uma solução para a igualdade em k específico, é encontrar apenas uma das infinitas soluções para $f(N, M_1, M_2, T_8) = k$, quando observamos todas as possibilidades para $k \in \mathbb{R}$. Do ponto de vista geométrico, quando consideramos todas essas variações de k e seus respectivos conjuntos soluções para essas igualdades, esses conjuntos de pontos formam curvas (ou retas) que são sempre tangentes às soluções dessa EDO em um hiperplano conhecido como *espaço de fase* ou *plano de fase*.

De modo restritivo, estamos interessados nos casos onde $k = 0$ para as equações do sistema (2.1), que chamamos de isóclinas nulas. Nosso interesse, reside no fato de que a procura pelas isóclinas nulas de um sistema de EDOs pode nos revelar a dinâmica desse sistema, seus pontos de equilíbrio e, até mesmo, suas soluções.

Dessa forma, das equações de (2.14) a (2.17), considere que

$$\frac{dN}{dt} = \frac{dM_1}{dt} = \frac{dM_2}{dt} = \frac{T_8}{dt} = 0, \quad (2.18)$$

definem as isóclinas nulas do sistema (2.1).

Dessa forma, para a equação (2.14) e (2.18), teremos

$$N \left[\alpha_1 \left(1 - \frac{N}{K_n} \right) (1 + \alpha_2 M_2) - \beta_1 M_1 - \beta_2 T_8 \right] = 0, \quad (2.19)$$

de forma que

$$N^* = 0, \quad (2.20)$$

$$N^{**} = K_m \left[1 - \frac{\beta_1 M_1 + \beta_2 T_8}{\alpha_1 (1 + \alpha_2 M_2)} \right], \quad (2.21)$$

com $\alpha_1(1 + \alpha_2 M_2) > \beta_1 M_1 + \beta_2 T_8$, são soluções da equação (2.19).

Observe que, ao considerarmos que N^* é solução para a equação (2.19), entendemos que a função $N(t)$, que contabiliza o volume das células neoplásicas através do tempo, possui valor nulo para todo tempo $t \geq 0$. Desse modo, ao assumirmos que N^* é solução para a equação (2.19) no sistema (2.1), interpretamos que o organismo não possui células neoplásicas.

Neste sentido, ao supormos N^{**} como solução para a equação (2.19), entendemos que o organismo desenvolve um comportamento específico para a proliferação de células neoplásicas, cujo volume pode ser expresso pelo segundo membro da equação (2.21) através do tempo, com $N^{**}(t) > 0$, para todo $t \geq 0$.

Essa interpretação é matematicamente corroborada quando, ao assumimos que N^{**} é solução de (2.19), identificamos como condição necessária que $\alpha_1(1 + \alpha_2 M_2) > \beta_1 M_1 + \beta_2 T_8$, uma vez que, assumida a igualdade entre esses termos, a solução de (2.19) é dada pela equação (2.20).

É importante notarmos que estamos interessados em soluções positivas para todas as equações isóclinas nulas em (2.18), devido à coerência na interpretação com as hipóteses assumidas para o modelo e na obtenção de resultados significativos para o sistema dinâmico (2.1), mesmo que, matematicamente, ele tenha soluções negativas.

Aliado a essa busca de soluções positivas para as equações (2.18), portanto, lembremos que os parâmetros utilizados no sistema (2.1) e listados na Tabela 1, são todos supostos não negativos.

Retomando nossa análise, quando consideradas as equações (2.15) e (2.18), analogamente ao caso anterior, teremos

$$-\frac{\alpha_3}{K_m} M_1^2 + \left[\alpha_3 \left(1 - \frac{M_2}{K_m} \right) - \rho_1 N - \mu_1 \right] M_1 + \rho_2 M_2 = 0. \quad (2.22)$$

A partir desse ponto, é fácil reconhecer na equação (2.22) uma equação do segundo grau quando tomamos a variável dependente M_1 como incógnita. Dessa forma, uma solução para (2.22) pode ser expressa como

$$M_1^* = \frac{1}{2} \left[K_m \left(1 - \frac{\rho_1 N + \mu_1 \pm \sqrt{\Delta}}{\alpha_3} \right) - M_2 \right], \quad (2.23)$$

com $\Delta = b^2 - 4ac$, desde que adotemos

$$a = -\frac{\alpha_3}{K_m}, \quad (2.24)$$

$$b = \alpha_3 \left(1 - \frac{M_2}{K_m} \right) - \rho_1 N - \mu_1, \quad (2.25)$$

$$c = \rho_2 M_2. \quad (2.26)$$

Supondo M_1^* como solução para o sistema (2.1), definida pela equação (2.23), cabe um apontamento sobre o termo c , indicado pela equação (2.26): conforme discutido nas concepções de modelagem para os termos $C_3(N, M_2, M_1)$ e $D_3(N, M_1, M_2)$, a expressão $\rho_2 M_2$ representa o tratamento terapêutico do sistema imune que faz com que os macrófagos possam alterar o fenótipo 2 para o fenótipo 1. Caso esse tratamento não seja realizado, teremos que $\rho_2 = 0 \Rightarrow c = 0$ e, então, teremos na ausência de tratamento (2.22), a solução

$$M_1^* = K_m \left(1 - \frac{\rho_1 N + \mu_1}{\alpha_3} \right) - M_2, \quad (2.27)$$

que indicará a evolução temporal da quantidade de macrófagos de fenótipo 1 sem a referida imunoterapia.

No entanto, a solução representada pela equação (2.23) precisa ser melhor estudada. Note que, mesmo assumindo a hipótese de que os parâmetros em (2.23) sejam todos não negativos, a solução M_1^* pode representar raízes negativas para $t \geq 0$.

Nesse sentido, para garantirmos que a solução (2.23) seja positiva para $t \geq 0$, apresentamos o teorema a seguir.

Teorema 2.1. *Sejam a , b e c dados pelas equações (2.24), (2.25) e (2.26), respectivamente, e $\Delta = b^2 - 4ac$. A solução M_1^* , representada pela equação (2.23), será positiva se, e somente se, a condição $\Delta > b^2$ for satisfeita.*

Demonstração 2.1. *Considere as equações (2.24), (2.25) e (2.26). Se $M_1^* > 0$, então*

$$0 < K_m \left(1 - \frac{\rho_1 N + \mu_1 \pm \sqrt{\Delta}}{\alpha_3} \right) - M_2 \iff \quad (2.28)$$

$$\pm \sqrt{\Delta} < \alpha_3 \left(1 - \frac{M_2}{K_m} \right) - \rho_1 N - \mu_1, \quad (2.29)$$

e, da equação (2.25), temos que

$$\pm \sqrt{\Delta} < b. \quad (2.30)$$

Dessa forma, a equação (2.30) nos revela duas desigualdades,

$$\Delta < b^2, \quad (2.31)$$

$$\Delta > b^2. \quad (2.32)$$

Por um lado, se supusermos que a equação (2.31) é satisfeita, temos que $-4ac < 0$ e concluímos que essa desigualdade é falsa, uma vez que os termos $c > 0$ e $a < 0$. Note que, ao considerarmos como verdadeira a expressão (2.31), ela se torna uma contradição à suposição de que $M_1^* > 0$.

No entanto, se supusermos a equação (2.32) como verdadeira, temos que

$$\Delta > b^2 \iff -4ac > 0, \quad (2.33)$$

e sabendo que $c > 0$ e $a < 0$, a expressão (2.33) é válida e representa uma tautologia aos supostos $M_1^* > 0$.

Portanto, a desigualdade (2.32) é necessária e suficiente para que a solução M_1^* , definida pela equação (2.23) seja positiva e não nula.

O Teorema 2.1 também nos revela um comportamento específico das soluções da equação (2.22), conforme indica o corolário a seguir.

Corolário 2.1. *As soluções positivas da equação (2.22) são definidas como*

$$M_1^+ = \frac{1}{2} \left[K_m \left(1 - \frac{\rho_1 N + \mu_1 - \sqrt{\Delta}}{\alpha_3} \right) - M_2 \right]. \quad (2.34)$$

Demonstração 2.2. *Ao considerarmos as soluções positivas da equação (2.22), pelo Teorema 2.1, temos que*

$$\Delta > b^2 \iff -\sqrt{\Delta} < b, \quad (2.35)$$

e, de acordo com a equação (2.30), temos que a solução M_1^* , definida pela equação (2.23), pode ser reescrita como

$$M_1^+ = \frac{1}{2} \left[K_m \left(1 - \frac{\rho_1 N + \mu_1 - \sqrt{\Delta}}{\alpha_3} \right) - M_2 \right]. \quad (2.36)$$

De modo análogo ao desenvolvido anteriormente, considerando as equações (2.16) e (2.18), teremos

$$-\frac{\alpha_4 N}{K_m} M_2^2 + \left[\alpha_4 N \left(1 - \frac{M_1}{K_m} \right) - \rho_2 - \mu_2 \right] M_2 + \rho_1 M_1 N = 0. \quad (2.37)$$

Do mesmo modo como na equação (2.22), vemos na equação (2.37) uma equação do segundo grau ao adotarmos a variável independente M_2 como incógnita. Assim, temos em

$$M_2^* = \frac{1}{2} \left[K_m \left(1 - \frac{\rho_2 + \mu_2 \pm \sqrt{\Delta}}{\alpha_4 N} \right) - M_1 \right], \quad (2.38)$$

com $\alpha_4 N > 0$ e $\Delta = b^2 - 4ac$, a solução para a equação (2.37) no sistema (2.1), desde que adotemos

$$a = -\frac{\alpha_4 N}{K_m}, \quad (2.39)$$

$$b = \alpha_4 N \left(1 - \frac{M_1}{K_m} \right) - \rho_2 - \mu_2, \quad (2.40)$$

$$c = \rho_1 M_1 N. \quad (2.41)$$

No entanto, diferentemente do observado no caso anterior, o termo c , definido pela equação (2.41), é necessariamente diferente de zero, uma vez que a presença de células da neoplasia no

microambiente tumoral recruta, quase que imediatamente, os macrófagos de fenótipo 1 para o processo de polarização.

É muito importante ressaltar que a condição de existência da solução expressa pela equação (2.38) também marca um comportamento característico da evolução temporal do volume de células pela função $M_2(t)$. Afinal, identificar como necessário que $\alpha_4 N > 0$, implica em afirmar que a solução M_2^* existirá se, e somente se, $N > 0$, uma vez que $\alpha_4 > 0$. Isso vincula a existência de células macrófagos de fenótipo 2 à existência de células neoplásicas.

Ainda assim, de modo análogo ao ocorrido com a solução expressa pela equação (2.23), a solução (2.38) pode assumir valores negativos para as raízes da equação (2.37). Dessa forma, se faz necessário o teorema a seguir.

Teorema 2.2. *Sejam a , b e c dados pelas equações (2.39), (2.40) e (2.41), respectivamente, e $\Delta = b^2 - 4ac$. A solução M_2^* , representada pela equação (2.38), será positiva se, e somente se, a condição $\Delta > b^2$ for satisfeita.*

Demonstração 2.3. *A demonstração desse teorema segue análoga a do Teorema 2.1, dado a semelhança na estrutura algébrica das soluções (2.23) e (2.38).*

Considere as equações (2.39), (2.40) e (2.41). Se $M_2^* > 0$, então

$$0 < K_m \left(1 - \frac{\rho_2 + \mu_2 \pm \sqrt{\Delta}}{\alpha_4 N} \right) - M_1 \iff \quad (2.42)$$

$$\pm \sqrt{\Delta} < \alpha_4 N \left(1 - \frac{M_1}{K_m} \right) - \rho_2 - \mu_2, \quad (2.43)$$

e, da equação (2.40), temos que

$$\pm \sqrt{\Delta} < b. \quad (2.44)$$

Dessa forma, a equação (2.44) nos revela duas desigualdades,

$$\Delta < b^2, \quad (2.45)$$

$$\Delta > b^2. \quad (2.46)$$

Por um lado, se supusermos que a equação (2.45) é satisfeita, temos que $-4ac < 0$ e concluímos que essa desigualdade é falsa, uma vez que os termos $c > 0$ e $a < 0$. Note que, ao considerarmos como verdadeira a expressão (2.45), ela se torna uma contradição à suposição de que $M_2^* > 0$.

No entanto, se supusermos a equação (2.46) como verdadeira, temos que

$$\Delta > b^2 \iff -4ac > 0, \quad (2.47)$$

e sabendo que $c > 0$ e $a < 0$, a expressão (2.47) é válida e representa uma tautologia ao supormos $M_2^* > 0$.

Portanto, a desigualdade (2.46) é necessária e suficiente para que a solução M_2^* , definida pela equação (2.38) seja positiva e não nula.

Corolário 2.2. As soluções positivas da equação (2.22) são definidas como

$$M_2^+ = \frac{1}{2} \left[K_m \left(1 - \frac{\rho_2 + \mu_2 - \sqrt{\Delta}}{\alpha_4 N} \right) - M_1 \right], \text{ com } N > 0. \quad (2.48)$$

Demonstração 2.4. Ao considerarmos as soluções positivas da equação (2.37), pelo Teorema 2.2, temos que

$$\Delta > b^2 \iff -\sqrt{\Delta} < b, \quad (2.49)$$

e, de acordo com a equação (2.44), temos que a solução M_2^* , definida pela equação (2.38), pode ser reescrita como

$$M_2^+ = \frac{1}{2} \left[K_m \left(1 - \frac{\rho_2 + \mu_2 - \sqrt{\Delta}}{\alpha_4 N} \right) - M_1 \right]. \quad (2.50)$$

Por fim, ao considerarmos as equações (2.17) e (2.18), teremos

$$T_8 \left[\alpha_5 M_1 \left(1 - \frac{T_8}{K_t} \right) - \beta_3 M_2 - \mu_3 \right] = 0, \quad (2.51)$$

de forma que

$$T_8^* = 0, \quad (2.52)$$

$$T_8^{**} = K_t \left(1 - \frac{\beta_3 M_2 + \mu_3}{\alpha_5 M_1} \right), \quad (2.53)$$

com $\alpha_5 M_1 > \beta_3 M_2 + \mu_3$, são soluções da equação (2.51).

Observe que a condição necessária para a existência de solução não trivial para a equação (2.37) é $\alpha_5 M_1 > \beta_3 M_2 + \mu_3$, quando $N(t) \equiv N^{**}$. Portanto, para o modelo proposto pelo sistema (2.1), vinculamos a existência de contagem positiva e não nula do volume de CD8+ à contagem positiva do volume de macrófagos com fenótipo 1 e de células neoplásicas.

2.2.2 Pontos de equilíbrio do modelo proposto

Antes de discutirmos os pontos de equilíbrio do sistema (2.1), tomando como base as considerações de suas soluções isóclinas nulas, definiremos o que é um ponto de equilíbrio.

Definição 2.1 (Ponto de Equilíbrio e Solução Estacionária). *Seja $\frac{dF}{dt} = f(x)$, $x(t)$, uma equação autônoma e que x^* seja um zero da função f , para algum t pertencente ao domínio de f . Então,*

(a) $x(t) \equiv x^*$ é solução da equação $\frac{dF}{dt} = f(x^*) = 0$ e é chamada de solução estacionária ou de equilíbrio;

(b) x^* é chamado de ponto de equilíbrio de dF/dt .

Observe que a Definição 2.1 merece destaque por justificar de modo objetivo nosso interesse no cálculo das isóclinas nulas, feito durante a seção anterior: ao calcularmos as soluções das isóclinas nulas do sistema (2.1), estamos calculando suas soluções estacionárias e definindo seus pontos de equilíbrio.

Nesse sentido, estabeleceremos os pontos de equilíbrio do sistema (2.1) com base em suas soluções estacionárias expressas pelas equações de (2.20), (2.21), (2.34), (2.48), (2.52) e (2.53), fazendo

1. **Ponto de equilíbrio sem a presença da neoplasia:** neste cenário, para todo $t \geq 0$, supomos $N(t) \equiv N^* = 0$, e, dessa forma, consideraremos um organismo livre de células neoplásicas. Resguardadas as observações acima,

- (a) para $M_2(t)$, considerando a equação (2.37) e a condição necessária para a existência de sua solução, a equação (2.38), temos que

$$N^* = 0 \Rightarrow M_2^* = 0; \quad (2.54)$$

- (b) para $M_1(t)$, considerando o termo c dado pela equação (2.26) e a solução representada pela equação (2.27), do item anterior, temos que $M_2^* = 0 \Rightarrow c = 0$ e, por sua vez, $c = 0$ implica em

$$M_1^* = K_m \left(1 - \frac{\mu_1}{\alpha_3} \right); \quad (2.55)$$

- (c) para $T_8(t)$, considerando a solução (2.52) e M_1^* expresso em (2.55), temos o seguinte ponto de equilíbrio para o sistema (2.1)

$$P_0(0, M_1^*, 0, 0). \quad (2.56)$$

2. **Ponto de equilíbrio com a presença da neoplasia:** neste cenário, estamos supondo a solução (2.21), $N(t) \equiv N^{**}$, para todo $t \geq 0$. Dessa forma, sabemos que a existência de células neoplásicas no organismo nos leva a considerar as soluções positivas $M_1(t) \equiv M_1^+$, em (2.34), $M_2(t) \equiv M_2^+$, em (2.48), e $T_8(t) \equiv T_8^{**}$, expressa em (2.53), para a formação do seguinte ponto de equilíbrio que denota coexistência de células para o sistema (2.1)

$$P_1(N^{**}, M_1^+, M_2^+, T_8^{**}). \quad (2.57)$$

Note que o sistema dinâmico (2.1) certamente possui mais soluções estacionárias que somente as observadas em nosso estudo e que usamos para compor os pontos de equilíbrio P_0 e P_1 . Uma evidência conclusiva sobre isso encontra-se nos estudos sobre positividade das soluções gerais expressas em (2.21), (2.23), (2.38) e (2.53), que também sugerem condições específicas para que seus valores sejam negativos.

No entanto, novamente, ressaltamos que as soluções negativas não pautam nosso objetivo de entendermos a dinâmica da patologia proposta pelo modelo matemático representado no sistema (2.1).

Na próxima seção, faremos um estudo sobre a estabilidade local dos pontos em (2.56) e (2.57).

2.2.3 Análise de estabilidade local dos pontos de equilíbrio

A análise de estabilidade local do sistema (2.1) nos pontos críticos P_0 e P_1 , que desenvolveremos nessa seção, ocorrerá em torno do Teorema de Hartman-Grobman, enunciado a seguir.

Teorema 2.3 (Teorema de Hartman-Grobman). *Sejam $f : \mathbb{R}^m \rightarrow \mathbb{R}^m$ um difeomorfismo de classe C^r , $r \geq 1$ e $p \in \mathbb{R}^m$ um ponto fixo hiperbólico de f . Então, existem $U, V \subset \mathbb{R}^m$ vizinhanças abertas de 0 e p , respectivamente, e um homeomorfismo $h : U \rightarrow V$ tal que*

$$hA = fh, \quad (2.58)$$

em que $A = Df_p : \mathbb{R}^m \rightarrow \mathbb{R}^m$.

Uma demonstração do teorema pode ser encontrada em Machado (2016).

Basicamente, o Teorema 2.3 nos diz que, tomado os pontos P_0 e P_1 de singularidade no campo vetorial do sistema (2.1), uma vizinhança suficientemente próxima desses pontos guardará um homeomorfismo com uma vizinhança suficientemente próxima a 0 , em outro campo vetorial, através de um isomorfismo diferenciável de classe C^r desse sistema.

Nesse sentido, ainda, o Teorema 2.3 nos fornece a oportunidade de analisar localmente a estabilidade do sistema (2.1), observando seu comportamento em torno de seus pontos críticos em outro espaço, homeomórfico, linearizado e, portanto, mais simples do que seu espaço “original” e não-linear.

Dessa forma, reescreveremos o sistema (2.1), com a finalidade de construirmos esse homeomorfismo. Considere, então, que o sistema (2.1) possa reescrito como

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dN}{dt} = F_1(N, M_1, M_2, T_8) \\ \frac{dM_1}{dt} = F_2(N, M_1, M_2, T_8) \\ \frac{dM_2}{dt} = F_3(N, M_1, M_2, T_8) \\ \frac{dT_8}{dt} = F_4(N, M_1, M_2, T_8) \end{array} \right. \quad (2.59)$$

Note que, ao supormos que os pontos críticos do sistema (2.59) podem ser escritos

genericamente como $P_c(n, m_1, m_2, t_8)$, então a transformação

$$\begin{cases} X = N - n \\ Y = M_1 - m_1 \\ Z = M_2 - m_2 \\ W = T_8 - t_8 \end{cases}, \quad (2.60)$$

levará os pontos de equilíbrio P_0 e P_1 , respectivamente representados em (2.56) e (2.57), ao ponto de origem do espaço de contradomínio das funções que definem o sistema (2.1).

Nesse sentido, dada a transformação (2.60) para o sistema em sua forma reescrita em (2.59), temos que

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = F_1(X + n, Y + m_1, Z + m_2, W + t_8) \\ \frac{dM_1}{dt} = F_2(X + n, Y + m_1, Z + m_2, W + t_8) \\ \frac{dM_2}{dt} = F_3(X + n, Y + m_1, Z + m_2, W + t_8) \\ \frac{dT_8}{dt} = F_4(X + n, Y + m_1, Z + m_2, W + t_8) \end{cases}, \quad (2.61)$$

pode ser linearizado em torno de seus pontos críticos P_c , tomando a igualdade

$$\begin{bmatrix} \frac{dN}{dt} \\ \frac{dM_1}{dt} \\ \frac{dM_2}{dt} \\ \frac{dT_8}{dt} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{\partial F_1}{\partial n} & \frac{\partial F_1}{\partial m_1} & \frac{\partial F_1}{\partial m_2} & \frac{\partial F_1}{\partial t_8} \\ \frac{\partial F_2}{\partial n} & \frac{\partial F_2}{\partial m_1} & \frac{\partial F_2}{\partial m_2} & \frac{\partial F_2}{\partial t_8} \\ \frac{\partial F_3}{\partial n} & \frac{\partial F_3}{\partial m_1} & \frac{\partial F_3}{\partial m_2} & \frac{\partial F_3}{\partial t_8} \\ \frac{\partial F_4}{\partial n} & \frac{\partial F_4}{\partial m_1} & \frac{\partial F_4}{\partial m_2} & \frac{\partial F_4}{\partial t_8} \end{bmatrix}_{P_c} \begin{bmatrix} X \\ Y \\ Z \\ W \end{bmatrix}. \quad (2.62)$$

Notamos na equação (2.62) acima, a presença da matriz Jacobiana para as funções $F_i(P_c)$, $i = 1, 2, 3, 4$, do sistema (2.1), reescrito em (2.59).

Dessa forma, pelo Teorema de Hartman-Grobman, em (2.3), tomando os pontos fixos P_c dos difeomorfismos em $F_i(X + n, Y + m_1, Z + m_2, W + t_8)$, $i = 1, 2, 3, 4$, existe um homeomorfismo que relaciona vizinhas abertas de P_c e 0 através da linearização assegurada pela matriz A , tal que

$$A(P_c) = J(n, m_1, m_2, t_8) = \begin{bmatrix} \frac{\partial F_1}{\partial n} & \frac{\partial F_1}{\partial m_1} & \frac{\partial F_1}{\partial m_2} & \frac{\partial F_1}{\partial t_8} \\ \frac{\partial F_2}{\partial n} & \frac{\partial F_2}{\partial m_1} & \frac{\partial F_2}{\partial m_2} & \frac{\partial F_2}{\partial t_8} \\ \frac{\partial F_3}{\partial n} & \frac{\partial F_3}{\partial m_1} & \frac{\partial F_3}{\partial m_2} & \frac{\partial F_3}{\partial t_8} \\ \frac{\partial F_4}{\partial n} & \frac{\partial F_4}{\partial m_1} & \frac{\partial F_4}{\partial m_2} & \frac{\partial F_4}{\partial t_8} \end{bmatrix}_{P_c}. \quad (2.63)$$

A partir desse ponto, analisaremos a estabilidade local do sistema (2.1) para os pontos P_0 e P_1 através de sua linearização, representada pelo sistema (2.62), usando as ferramentas matemáticas conhecidas da Álgebra Linear.

Considerando a matriz $A(P_c)$, seus termos são expressos pelas equações,

- para $F_1(n, m_1, m_2, t_8)$,

$$\frac{\partial F_1}{\partial n} = \frac{K_n [\alpha_1 (1 + \alpha_2 m_2) - \beta_1 m_1 - \beta_2 t_8] - 2\alpha_1 n (1 + \alpha_2 m_2)}{K_n}, \quad (2.64)$$

$$\frac{\partial F_1}{\partial m_1} = -\beta_1 n, \quad (2.65)$$

$$\frac{\partial F_1}{\partial m_2} = \frac{\alpha_1 \alpha_2 n (K_n - n)}{K_n}, \quad (2.66)$$

$$\frac{\partial F_1}{\partial t_8} = -\beta_2 n; \quad (2.67)$$

- para $F_2(n, m_1, m_2, t_8)$,

$$\frac{\partial F_2}{\partial n} = -\rho_1 m_1, \quad (2.68)$$

$$\frac{\partial F_2}{\partial m_1} = \frac{\alpha_3 (K_m - 2m_1 - m_2) - K_m (\rho_1 n + \mu_1)}{K_m}, \quad (2.69)$$

$$\frac{\partial F_2}{\partial m_2} = \frac{\rho_2 K_m - \alpha_3 m_2}{K_m}, \quad (2.70)$$

$$\frac{\partial F_2}{\partial t_8} = 0; \quad (2.71)$$

- para $F_3(n, m_1, m_2, t_8)$,

$$\frac{\partial F_3}{\partial n} = \frac{\alpha_4 m_2 (K_m - m_1 - m_2) + \rho_1 K_m m_1}{K_m}, \quad (2.72)$$

$$\frac{\partial F_3}{\partial m_1} = \frac{n (\rho_1 K_m - \alpha_4 m_2)}{K_m}, \quad (2.73)$$

$$\frac{\partial F_3}{\partial m_2} = \frac{\alpha_4 n (K_m - m_1 - 2m_2) - K_m (\rho_2 + \mu_2)}{K_m}, \quad (2.74)$$

$$\frac{\partial F_3}{\partial t_8} = 0; \quad (2.75)$$

- e para $F_4(n, m_1, m_2, t_8)$,

$$\frac{\partial F_4}{\partial n} = 0, \quad (2.76)$$

$$\frac{\partial F_4}{\partial m_1} = \frac{\alpha_5 t_8 (K_t - t_8)}{K_t}, \quad (2.77)$$

$$\frac{\partial F_4}{\partial m_2} = -\beta_3 t_8, \quad (2.78)$$

$$\frac{\partial F_4}{\partial t_8} = \frac{\alpha_5 m_1 (K_t - 2t_8) - K_t (\beta_3 m_2 + \mu_3)}{K_t}. \quad (2.79)$$

Dessa forma, ao analisarmos o comportamento do sistema dinâmico linearizado (2.62) para o ponto crítico P_0 , em (2.56), temos que a matriz $A(P_0)$ é escrita como

$$J \left(0, \frac{K_m (\alpha_3 - \mu_1)}{\alpha_3}, 0, 0 \right) = \begin{bmatrix} a_{11} & 0 & 0 & 0 \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} & 0 \\ a_{31} & 0 & a_{33} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & a_{44} \end{bmatrix}, \quad (2.80)$$

de forma que seus elementos são expressos como

$$a_{11} = \frac{\beta_1 K_m (\mu_1 - \alpha_3) + \alpha_1 \alpha_3}{K_m}, \quad (2.81)$$

$$a_{21} = \frac{\rho_1 K_m (\mu_1 - \alpha_3)}{K_m}, \quad (2.82)$$

$$a_{22} = \mu_1 - \alpha_3, \quad (2.83)$$

$$a_{23} = \mu_1 - \alpha_3 + \rho_2, \quad (2.84)$$

$$a_{31} = \frac{\rho_1 K_m (\alpha_3 - \mu_1)}{K_m}, \quad (2.85)$$

$$a_{33} = -(\rho_2 + \mu_2), \quad (2.86)$$

$$a_{44} = \frac{\alpha_5 K_m (\alpha_3 - \mu_1) - \alpha_3 \mu_3}{K_m}, \quad (2.87)$$

e seus autovalores λ_i , $i = 1, 2, 3, 4$, associados, que podem ser escritos como

$$\lambda_1 = -(\rho_2 + \mu_2), \quad (2.88)$$

$$\lambda_2 = \mu_1 - \alpha_3, \quad (2.89)$$

$$\lambda_3 = \frac{\alpha_5 K_m (\alpha_3 - \mu_1) - \alpha_3 \mu_3}{K_m}, \quad (2.90)$$

$$\lambda_4 = \frac{\beta_1 K_m (\mu_1 - \alpha_3) + \alpha_1 \alpha_3}{K_m}. \quad (2.91)$$

Como vimos, é importante destacar a condição de que os parâmetros listados na Tabela 1 sejam não negativos. Essa condição é essencial para entendermos as equações (2.88), (2.89), (2.90) e (2.91), referentes aos autovalores associados à matriz $A(P_0)$, uma vez que nos permite inferir P_0 como ponto localmente estável ou instável, a depender dos parâmetros na equação (2.90).

Primeiro, note que $\lambda_1 < 0$ em (2.88), quando nos é assegurado que $\rho_2 > 0$ e $\mu_2 > 0$, pela positividade das soluções que compõem os pontos de equilíbrio do sistema (2.1).

No segundo ponto, observe que, na equação (2.55), $M_1^* > 0$, o que nos revela o fato de que

$$K_m \frac{(\alpha_3 - \mu_1)}{\alpha_3} > 0 \Rightarrow \alpha_3 - \mu_1 > 0, \quad (2.92)$$

e, conseqüentemente, de (2.92), temos que $\lambda_2 < 0$ e $\lambda_4 < 0$. No entanto, ainda de (2.92), temos que

$$\lambda_3 < 0 \iff \alpha_5 K_m (\alpha_3 - \mu_1) < \alpha_3 \mu_3, \text{ ou} \quad (2.93)$$

$$\lambda_3 > 0 \iff \alpha_5 K_m (\alpha_3 - \mu_1) > \alpha_3 \mu_3, \quad (2.94)$$

o que coloca os parâmetros α_3 , α_5 , μ_1 , μ_3 e K_m como responsáveis por uma bifurcação na análise de estabilidade de P_0 .

Conclusivamente, se $\lambda_i < 0$, para todo i , $i = 1, 2, 3, 4$, na equação (2.93), temos que P_0 é um ponto estável para o sistema (2.1). Caso contrário, $\lambda_i < 0$ para $i = 1, 2, 4$, com $\lambda_3 > 0$ na equação (2.94), então P_0 será um ponto instável no sistema (2.1).

Do ponto de vista biológico, tomando uma interpretação do modelo matemático proposto, sobretudo nas equações (2.2) e (2.4), notamos que $\lambda_3 < 0$ nos revela uma predominância do crescimento de macrófagos de fenótipo 1 (α_3) e da apoptose das efetoras CD8+ (μ_3) em contraponto à baixa influência no aumento da quantidade celular das CD8+ (α_5), que se explica, possivelmente, pelo fato do organismo permanecer sem a presença de células neoplásicas.

No entanto, para $\lambda_3 > 0$ entendemos que a alta influência no aumento do número de efetoras CD8+ (α_5), aliada ao alto crescimento do número de macrófagos de fenótipo 1 (α_3), é

ocasionada por alguma perturbação ao organismo inicialmente saudável, possivelmente pelo surgimento de células neoplásicas, o que supera o contraponto da apoptose celular das T CD8+ (μ_3).

Análogo à forma como procedemos ao analisar a estabilidade do sistema (2.1) para o ponto P_0 , o faremos para o ponto P_1 . Considere, então, a matriz $A(P_1)$, tal que

$$A(P_1) = J(N^{**}, M_1^+, M_2^+, T_8^{**}) = \begin{bmatrix} b_{11} & b_{12} & b_{13} & b_{14} \\ b_{21} & b_{22} & b_{23} & 0 \\ b_{31} & b_{32} & b_{33} & 0 \\ 0 & b_{42} & b_{43} & b_{44} \end{bmatrix}. \quad (2.95)$$

Para as equações que se apresentam nos termos da matriz em (2.95), é importante ressaltar que os termos N^{**} , M_1^+ , M_2^+ e T_8^{**} são aqueles representados em (2.21), (2.34), (2.48) e (2.53), respectivamente.

Os termos não nulos da matriz $A(P_1)$, em (2.95), são expressos pelas seguintes igualdades:

$$b_{11} = \frac{K_n [\alpha_1 (1 + \alpha_2 M_2^+) - \beta_1 M_1^+ - \beta_2 T_8^{**}] - 2\alpha_1 N^{**} (1 + \alpha_2 M_2^+)}{K_n}, \quad (2.96)$$

$$b_{12} = -\beta_1 N^{**}, \quad (2.97)$$

$$b_{13} = \frac{\alpha_1 \alpha_2 N^{**} (K_n - N^{**})}{K_n}, \quad (2.98)$$

$$b_{14} = -\beta_2 N^{**}, \quad (2.99)$$

$$b_{21} = -\rho_1 M_1^+, \quad (2.100)$$

$$b_{22} = \frac{\alpha_3 (K_m - 2M_1^+ - M_2^+) - K_m (\rho_1 N^{**} + \mu_1)}{K_m}, \quad (2.101)$$

$$b_{23} = \frac{\rho_2 K_m - \alpha_3 M_2^+}{K_m}, \quad (2.102)$$

$$b_{31} = \frac{\alpha_4 M_2^+ (K_m - M_1^+ - M_2^+) + \rho_1 K_m M_1^+}{K_m}, \quad (2.103)$$

$$b_{32} = \frac{N^{**} (\rho_1 K_m - \alpha_4 M_2^+)}{K_m}, \quad (2.104)$$

$$b_{33} = \frac{\alpha_4 N^{**} (K_m - M_1^+ - 2M_2^+) - K_m (\rho_2 + \mu_2)}{K_m}, \quad (2.105)$$

$$b_{42} = \frac{\alpha_5 T_8^{**} (K_t - T_8^{**})}{K_t}, \quad (2.106)$$

$$b_{43} = -\beta_3 T_8^{**}, \quad (2.107)$$

$$b_{44} = \frac{\alpha_5 M_1^+ (K_t - 2T_8^{**}) - K_t (\beta_3 M_2^+ + \mu_3)}{K_t}. \quad (2.108)$$

Por sua vez, o polinômio característico $p(\lambda) = \det (A(P_1) - \lambda I)$ associado à matriz $A(P_1)$, em (2.95), é escrito como

$$p(\lambda) = a_4 \lambda^4 - a_3 \lambda^3 + a_2 \lambda^2 + a_1 \lambda + a_0, \quad (2.109)$$

de modo que,

$$a_4 = 1, \quad (2.110)$$

$$a_3 = b_{11} + b_{22} + b_{33} + b_{44}, \quad (2.111)$$

$$a_2 = b_{11}b_{22} + b_{11}b_{33} + b_{11}b_{44} - b_{12}b_{21} - b_{13}b_{31} + b_{22}b_{33} + b_{22}b_{44} - b_{23}b_{32} + b_{33}b_{44}, \quad (2.112)$$

$$a_1 = -b_{11}b_{22}b_{33} - b_{11}b_{22}b_{44} + b_{11}b_{23}b_{32} - b_{11}b_{33}b_{44} + b_{12}b_{21}b_{33} + b_{12}b_{21}b_{44} - b_{12}b_{23}b_{31} - b_{13}b_{21}b_{32} + b_{13}b_{22}b_{31} + b_{13}b_{31}b_{44} - b_{14}b_{21}b_{42} - b_{14}b_{31}b_{43} - b_{22}b_{33}b_{44} + b_{23}b_{32}b_{44}, \quad (2.113)$$

$$a_0 = b_{11}b_{22}b_{33}b_{44} - b_{11}b_{23}b_{32}b_{44} - b_{12}b_{21}b_{33}b_{44} + b_{12}b_{23}b_{31}b_{44} + b_{13}b_{21}b_{32}b_{44} - b_{13}b_{22}b_{31}b_{44} - b_{14}b_{21}b_{32}b_{43} + b_{14}b_{21}b_{33}b_{42} + b_{14}b_{22}b_{31}b_{43} - b_{14}b_{23}b_{31}b_{42}. \quad (2.114)$$

Note que, nas equações (2.111) e (2.113), temos $a_3 = \text{tr}(A(P_1))$ e $a_0 = \det(A(P_1))$, respectivamente. Além disso, encontrar os autovalores λ associados à matriz $A(P_1)$, em (2.95), fazendo $p(\lambda) = 0$ em (2.109), é custoso do ponto vista algébrico, quando considerada a composição dos coeficientes de $p(\lambda)$ nas equações de (2.110) à (2.113). Neste caso, para uma análise local de estabilidade do sistema (2.1), em relação ao ponto P_1 , usaremos o Critério de Routh-Hurwitz.

O Critério de Routh-Hurwitz é uma coleção de teoremas que nos indica algumas particularidades sobre as raízes de um polinômio, partindo de um arranjo específico dos seus coeficientes, construído em uma tabela chamada de Tabela de Routh. Dentre essas particularidades, o Critério de Routh-Hurwitz estabelece uma condição necessária e suficiente para que a parte real das raízes desse polinômio sejam negativas, o que ajuda na observação de condições para a estabilidade local de sistemas, quando observado seu polinômio característico associado. Essa condição é descrita no teorema a seguir.

Teorema 2.4 (Critério de Routh-Hurwitz - condição para a estabilidade local). *Considere o polinômio característico $p(\lambda)$, associado a um ponto crítico de um sistema dinâmico. Todos os autovalores associados ao $p(\lambda)$ terão sua parte real negativa se, e somente se, os arranjos dos coeficientes de $p(\lambda)$, na primeira coluna da Tabela de Routh, forem todos positivos.*

Os arranjos aos quais se refere o Teorema 2.4, para o polinômio $p(\lambda)$ em (2.109), são organizados e calculados de acordo com o dispositivo prático na Tabela 2, chamada de Tabela de Routh.

Dessa forma, analisando a positividade dos termos na primeira coluna da Tabela de Routh, para os coeficientes do polinômio característico $p(\lambda)$, em (2.109), podemos entender algumas condições para a estabilidade do sistema (2.1) em relação ao ponto P_1 .

Portanto, para o polinômio em (2.109), analisaremos os termos que compõem a primeira coluna da Tabela de Routh e suas respectivas condições de positividade, fazendo

Tabela 2 – **Tabela de Routh**: dispositivo prático dos arranjos dos coeficientes de $p(\lambda)$, em (2.109), para observação do Teorema 2.4.

	a_4	a_2	a_0	λ^4
	$-a_3$	a_1	0	λ^3
			\dots
$c_1 =$	$\frac{\begin{vmatrix} a_4 & a_2 \\ -a_3 & a_1 \end{vmatrix}}{a_3}$	$c_2 =$	$\frac{\begin{vmatrix} a_4 & a_0 \\ -a_3 & 0 \end{vmatrix}}{a_3}$	0
	a_3		a_3	λ^2
$c_3 = -$	$\frac{\begin{vmatrix} -a_3 & a_1 \\ c_1 & c_2 \end{vmatrix}}{c_1}$		0	0
	c_1		0	λ^1
	$\frac{\begin{vmatrix} c_1 & c_2 \\ c_3 & 0 \end{vmatrix}}{c_3}$		0	0
	c_3		0	λ^0

1. **Primeiro termo:** a_4 .

Positivo, dado que $a_4 = 1$.

2. **Segundo termo:** $-a_3$.

Aqui cabe uma análise sobre as condições em que $-a_3 > 0$, uma vez que

$$-a_3 > 0 \Rightarrow \text{tr}(A(P_1)) < 0, \tag{2.115}$$

quando considerada a equação em (2.111).

3. **Terceiro termo:** $a_2 + \frac{a_1}{a_3}$.

Da condição em (2.115), temos que $a_3 < 0$ e sabemos que esse terceiro termo será positivo em qualquer um dos três cenários a seguir:

(a) No 1º cenário,

$$\begin{aligned} a_1 &< 0, \\ a_2 &> 0; \end{aligned} \tag{2.116}$$

(b) No 2º cenário,

$$\begin{aligned} a_1 &< 0, \\ a_2 &< 0, \\ |a_2| &< \left| \frac{a_1}{a_3} \right|; \end{aligned} \tag{2.117}$$

(c) No 3º cenário,

$$\begin{aligned} a_1 &> 0, \\ a_2 &> 0, \\ |a_2| &> \left| \frac{a_1}{a_3} \right|. \end{aligned} \tag{2.118}$$

Note que os cenários descritos acima são mutuamente excludentes, porém, todos possíveis *a priori*.

4. **Quarto termo:** $a_1 + \frac{a_0 a_3}{d}$, considerando $d = a_2 + \frac{a_1}{a_3}$.

Analogamente à análise feita para o terceiro termo, considerando que $a_3 < 0$ e os cenários tal que $d > 0$, temos que o quarto termo será positivo para qualquer dos cenários abaixo:

(a) No 1º cenário,

$$\begin{aligned} a_0 &< 0, \\ a_1 &> 0; \end{aligned} \tag{2.119}$$

(b) No 2º cenário,

$$\begin{aligned} a_0 &< 0, \\ a_1 &< 0, \\ |a_1| &< \left| \frac{a_0 a_3}{d} \right|; \end{aligned} \tag{2.120}$$

(c) No 3º cenário,

$$\begin{aligned} a_0 &> 0, \\ a_1 &> 0, \\ |a_1| &> \left| \frac{a_0 a_3}{d} \right|. \end{aligned} \tag{2.121}$$

Também como no caso do terceiro termo, os cenários apresentados acima são mutuamente exclusivos, porém, todos possíveis *a priori*.

5. **Quinto e último termo:** a_0 .

Para completar as condições de positividade dos termos na primeira coluna da Tabela de Routh, teremos a condição $a_0 > 0$.

No entanto, note que a condicionalidade do quinto termo ($a_0 > 0$) automaticamente coloca como impossíveis os cenários 4(a) e 4(b), respectivamente em (2.119) e (2.120), se quisermos garantir a estabilidade local do sistema (2.1).

Por sua vez, e com uma análise análoga à anterior, ao considerarmos $a_0 > 0$ e o cenário 4(c), em (2.121), temos que os cenários 3(a) e 3(b), respectivamente em (2.116) e (2.117), devem

ser descartados do rol de cenários possíveis para que, coerentemente ao condicionado pelo Teorema 2.4, possamos listar as seguintes condicionalidades para a garantia da estabilidade local do sistema (2.1) em relação ao ponto P_1 , como

$$a_3 < 0, \quad (2.122)$$

$$a_2 > 0, \quad (2.123)$$

$$a_1 > 0, \quad (2.124)$$

$$a_0 > 0, \quad (2.125)$$

$$|a_2| > \left| \frac{a_1}{a_3} \right|, \quad (2.126)$$

$$|a_1| > \left| \frac{a_0 a_3}{d} \right|, \quad (2.127)$$

com $d = a_2 + \frac{a_1}{a_3}$.

Nesse ponto de nossa análise, vale destacar que as condições encontradas nas desigualdades de (2.122) à (2.127) são indicações generalistas, mas que apontam para outras condições equivalentes e mais precisas em relação aos termos e parâmetros que compõem o sistema (2.1). Para isso, analisaremos a composição dos coeficientes do polinômio característico $p(\lambda)$, em (2.109), e dos termos da matriz $A(P_1)$, em (2.95), sob o ponto de vistas das condições acima, sobretudo das condições em (2.122) e em (2.125).

Antes, no entanto, é importante notarmos que entre os termos da matriz em (2.95), denotados pelas igualdades de (2.96) a (2.108), para quaisquer valores assumidos pelos parâmetros do sistema (2.1), existem aqueles que são positivos ou negativos. Entre os termos positivos da matriz em (2.95) estão os indicados pelas equações (2.98), (2.103) e (2.106). Os termos negativos, estão indicados pelas equações (2.97), (2.99), (2.100) e (2.107).

Os demais termos, indicados pelas equações (2.96), (2.101), (2.102), (2.104), (2.105) e (2.108), possuem suas positivities dependentes dos valores assumidos pelos parâmetros no sistema (2.1).

Dessa forma, por exemplo, quando impomos que $a_3 < 0$, como em (2.122), temos que

$$b_{11} + b_{22} + b_{33} + b_{44} < 0, \quad (2.128)$$

o que pode resultar em algumas análises para a positividade dos termos, tais como $b_{ij} < 0$, $i = j$,

$i = 1, 2, 3, 4$, ou, ainda, como em

$$\begin{aligned} b_{11} + b_{44} &< 0, \text{ e} \\ b_{22} + b_{33} &> 0, \text{ com} \\ |b_{11} + b_{44}| &> b_{22} + b_{33}. \end{aligned} \quad (2.129)$$

De fato, as desigualdades em (2.129) são encontradas em muitos cenários quando impomos a desigualdade $a_0 > 0$, dada em (2.125), em conjunto com as seguintes condições:

1. da igualdade em (2.102),

$$b_{23} > 0 \Leftrightarrow \frac{\alpha_3 M_2^+}{\rho_2} < K_m; \quad (2.130)$$

2. da igualdade em (2.104),

$$b_{32} > 0 \Leftrightarrow \frac{\alpha_4 M_2^+}{\rho_1} < K_m. \quad (2.131)$$

É importante observarmos o papel das capacidades suportes na positividade das equações (2.96), (2.101), (2.102), (2.104), (2.105) e (2.108), quando tratamos das condições em (2.122) à (2.127), como visto em (2.130) e (2.131). Para as condições apresentadas em (2.129), impondo $a_0 > 0$, temos,

1. da igualdade em (2.96), que

$$N^{**} \geq \frac{K_n}{2} \quad (2.132)$$

é condição suficiente, embora não necessária, para $b_{11} < 0$. No entanto, mesmo que seja possível obtermos $b_{11} < 0$ em outras condições que não sejam como em (2.132), todas elas dependem dos valores assumidos pelos parâmetros $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$, além das avaliações funcionais M_1^+, M_2^+, T_8^{**} no ponto P_1 , tais que $N^{**} < K_n/2$.

Portanto, do ponto de vista matemático, ao ultrapassarem o limite $K_n/2$, a avaliação funcional N^{**} faz com que $b_{11} < 0$, independente dos valores assumidos por outros parâmetros e avaliações funcionais, contribuindo suficientemente para a estabilidade do ponto P_1 , segundo o Teorema 2.4, em conjunto com as condições a seguir;

2. da igualdade (2.101), que

$$2M_1^+ + M_2^+ < K_m \quad (2.133)$$

é condição necessária para discutirmos $b_{22} > 0$, mas não suficiente, uma vez que a positividade de b_{22} ainda depende dos valores assumidos pelos parâmetros α_3, ρ_1 e μ_1 , e das avaliações funcionais N^{**}, M_1^+ e M_2^+ no ponto P_1 . Por outro lado, se $2M_1^+ + M_2^+ \geq K_m$, teremos uma condição suficiente, porém, não necessária, para garantirmos $b_{22} < 0$;

3. da igualdade (2.105), que

$$M_1^+ + 2M_2^+ < K_m \quad (2.134)$$

é uma condição necessária para termos $b_{33} > 0$, mas não suficiente, por ainda depender dos parâmetros α_4 , ρ_2 e μ_2 e das avaliações das funções N^{**} , M_1^+ e M_2^+ no ponto P_1 . De modo análogo ao caso anterior, se $M_1^+ + 2M_2^+ \geq K_m$, teremos uma condição suficiente para $b_{33} < 0$, mesmo que esta não seja necessária.

Ainda sobre as condições em (2.129), pensando nas desigualdades obtidas em (2.133) e (2.134), note que $b_{22} + b_{33} > 0$ não requer, necessariamente, que b_{22} e b_{33} sejam todos positivos. No entanto, para o cenário suposto em $a_0 > 0$, dado o Critério de Routh-Hurwitz pelo Teorema 2.4, teremos b_{22} e b_{33} positivos para que satisfaçam as desigualdades em (2.129);

4. da igualdade (2.108), que

$$T_8^{**} \geq \frac{K_t}{2} \quad (2.135)$$

é condição suficiente para que $b_{44} < 0$, mas não necessária. Em uma análise semelhante à condição (2.132), com $T_8^{**} < K_t/2$, teremos uma condição necessária para discutirmos $b_{44} > 0$, mesmo que essa positividade dependa dos parâmetros α_5 , β_3 e μ_3 .

Novamente, note que a condição $b_{11} + b_{44} < 0$, em (2.129), não requer que $b_{11} < 0$ e $b_{44} < 0$, necessariamente. No entanto, é suficiente supor que se os termos b_{11} e b_{44} forem negativos, a desigualdade dada em (2.129) é satisfeita.

Portanto, com as inequações entre (2.130) e (2.135), garantiremos $a_3 < 0$ e $a_0 > 0$ em (2.122) e (2.125), respectivamente.

Para garantirmos as condições $a_2 > 0$ e $a_1 > 0$ em (2.123) e (2.124), respectivamente, continuaremos considerando os sinais dos termos na matriz $A(P_1)$, em (2.95), e as condições que já obtemos de (2.130) à (2.135).

Dessa forma, para $a_2 > 0$, temos

$$b_{12}b_{21}b_{33} + b_{13}b_{22}b_{31} - b_{11}b_{22}b_{33} - b_{12}b_{23}b_{31} - b_{13}b_{21}b_{32} - b_{22}b_{33}b_{44} > \frac{a_2}{2}. \quad (2.136)$$

E, para $a_1 > 0$, temos

$$b_{11}b_{44} + b_{22}b_{33} > \frac{a_1}{2}. \quad (2.137)$$

Note que os primeiros membros nas desigualdades em (2.136) e (2.137) são todos positivos, se considerarmos os sinais dos termos na matriz $A(P_1)$ em (2.95).

Consideradas satisfeitas, as condições (2.126) e (2.127) se unem às demais condições de (2.130) a (2.137) para que todos os cinco termos da primeira coluna da Tabela de Routh sejam positivos, tais como esperávamos. Nesse sentido, o Teorema 2.4, nos garante que as partes reais do polinômio característico (2.109) sejam todas negativas e, conseqüentemente, o ponto P_1 seja localmente assintoticamente estável para o sistema (2.1). Porém, observe que se alguma condição não for satisfeita e, assim, a positividade de algum dos cinco termos não for garantida, entendemos que o ponto P_1 é instável.

A questão da estabilidade do ponto P_1 , expresso em (2.57), possui sentido matemático quando, ao considerarmos a desigualdade em (2.94), observamos o ponto P_0 como instável. Do ponto de vista biológico, podemos considerar que a instabilidade do ponto P_0 , expresso em (2.56) e que representava um organismo livre da neoplasia, passa a retratar o seu surgimento nesse mesmo organismo e esse, por sua vez, apresenta um quadro de progressão desse câncer até o ponto P_1 , estável.

É importante destacar que, embora estável, o ponto P_1 não pode ser confundido com uma possível estabilidade na progressão da doença, ao contrário, por ser estável, ele evidencia que a progressão do câncer no organismo só é limitada pela própria existência desse organismo e que a neoplasia será fatal caso não seja proposta uma intervenção médica.

Até esse ponto, discutimos a questão da estabilidade do ponto P_1 e suas condições de ocorrência no sentido matemático. No entanto, é importante que vejamos algumas possíveis interpretações no ponto de vista biológico, sobretudo para as condições de (2.130) à (2.137).

De modo geral, é importante notarmos que as condições de (2.122) à (2.127) são necessárias e suficientes para que a estabilidade local do ponto P_1 seja obtida para o sistema (2.1). No entanto, de modo particular, as condições de (2.129) à (2.137) retratam um dos muitos cenários em que P_1 se comporta como estável no sistema (2.1) e que, portanto, satisfazem as condições gerais. Essa identificação do que é condição geral e do que é uma possibilidade, nos ajuda a entender que as interpretações feitas a seguir são considerações específicas dentro de um contexto mais generalista, mas que nos ajudam a compreender um pouco da dinâmica da neoplasia.

Outro ponto importante é entendermos que as condições, sejam elas gerais ou específicas, são as causas da estabilidade do ponto P_1 e da instabilidade do ponto P_0 no sentido matemático, mas que, biologicamente, tanto as condições quanto as estabilidades dos pontos, são apenas consequências do comportamento da neoplasia no organismo. Ou seja, devemos tomar as análises das condições e das estabilidades como evidências matemáticas de um processo biológico.

Nesse sentido, nas considerações desenvolvidas entre (2.130) e (2.137), vinculamos a necessidade de alguns termos da matriz $A(P_1)$, em (2.95), serem positivos ou negativos, para que as condições gerais de (2.122) à (2.127) fossem satisfeitas. Dessa forma, vemos que essa questão é uma das influenciadoras na estabilidade de P_1 – evidência da progressão da neoplasia – e que, em algum nível, poderia ser tomada como forma de controle com a finalidade de aferir a progressão/regressão da neoplasia no organismo.

Como exemplo, podemos citar a desigualdade obtida em (2.132). Naquele momento, analisamos que, ao ultrapassar o limite referente à metade da capacidade suporte das células neoplásicas no organismo ($K_n/2$), o volume dessas células colabora para a estabilidade do ponto P_1 , uma vez que permite analisar o termo a_3 como negativo. Dessa forma, manter o volume $N(t)$ de células neoplásicas abaixo de $K_n/2$ é uma forma de termos a instabilidade do ponto P_1 , que seria observado como evidência de um possível tratamento eficaz contra essa neoplasia.

Note, portanto, que a busca pela instabilidade de P_1 torna-se relevante para o ponto de vista biológico, uma vez que, matematicamente, a instabilidade de P_1 também significa a estabilidade de P_0 . Se o ponto P_0 torna-se estável, nossa análise em (2.93), revela que o organismo torna-se livre da neoplasia. Dessa forma, podemos considerar dois estados para o organismo modelado pelo sistema (2.1):

1. **Estado de neoplasia controlada:** evidenciado por P_0 estável e P_1 instável.
2. **Estado de neoplasia não controlada:** evidenciado por P_0 instável e P_1 estável.

Nesse sentido, considerando as desigualdades em (2.133) e (2.134), nossa busca pelo estado de controle da neoplasia pode tomar como evidência os seguintes valores limites para o volume de macrófagos

- do tipo 1:

$$M_1^+ < \frac{K_m - M_2^+}{2}, \text{ se } M_2^+ < \frac{K_m}{3}, \quad (2.138)$$

$$M_1^+ < K_m - 2M_2^+, \text{ se } M_2^+ > \frac{K_m}{3};$$

- do tipo 2:

$$M_2^+ < \frac{K_m - M_1^+}{2}, \text{ se } M_1^+ < \frac{K_m}{3}, \quad (2.139)$$

$$M_2^+ < K_m - 2M_1^+, \text{ se } M_1^+ > \frac{K_m}{3},$$

de modo que as expressões em (2.138) e (2.139), acima, são matematicamente equivalentes às expressões em (2.133) e (2.134) que, se satisfeitas, evidenciam que ambas as expressões $2M_1^+ + M_2$ e $M_1^+ + 2M_2^+$ estão abaixo da capacidade suporte dos macrófagos no organismo (K_m) e, conseqüentemente, teremos b_{22} e b_{33} positivos, contribuindo com o estado de controle da neoplasia.

Dessa forma, ao analisarmos do mesmo modo a expressão em (2.135), fazendo com que o volume de células efectoras CD8+ estejam abaixo da metade de sua capacidade suporte no organismo ($K_t/2$), teremos b_{44} positivo, contribuindo para a instabilidade de P_1 e a estabilidade de P_0 .

Observe, portanto, que esse é um dos cenários que certamente indicam esse estado de controle da neoplasia, porque se constituem como evidências suficientes para indicar que os Critérios de Routh-Hurwitz, dado pelo Teorema 2.4, não foram cumpridos para o ponto P_1 .

No entanto, poderíamos explorar outras possibilidades, como, por exemplo, a condição de termos uma taxa de apoptose celular dos macrófagos de fenótipo 1 menor do que sua taxa de

crescimento ($\alpha_3 > \mu_1$), mas mantendo a inequação em (2.93), o que contribui para a estabilidade do ponto P_0 , uma das evidências para um estado controlado da neoplasia, mas que deve ser analisado sempre em conjunto com outras condições que integram esse cenário.

No próximo capítulo, exploraremos essa análise matemática de modo computacional, com simulações de ambientes em que os valores dos parâmetros são estabelecidos para o sistema (2.1).

3 Simulações Numéricas e Resultados

Neste capítulo, exploraremos os diferentes cenários proporcionados pelo sistema dinâmico (2.1) ao modelar o câncer de pulmão de células não pequenas (NSCLC).

Para isso, em cada seção desse capítulo, separamos uma simulação com um conjunto específico de valores para os parâmetros da Tabela 1, encontrados nas literaturas e referenciados para consulta. Alguns dados, no entanto, foram estimados a partir de metodologias que envolvem contagem de célula em volumes tumorais, como em [Stankovic et al. \(2019\)](#) e [Monte \(2021\)](#).

Assim, nosso objetivo se figura em entender como algumas ferramentas matemáticas nos ajudam nas investigações sobre o NSCLC, fornecendo informações sobre a relevância dos processos biológicos na evolução do volume tumoral através do tempo.

Em resumo, algumas especificidades desses processos, são representadas pelos parâmetros do nosso modelo, cuja dinâmica na interação é coordenada pelo conjunto de equações do sistema (2.1) sem, contudo, perdermos de vista as relativizações consequentes de como entendemos e definimos um Modelo Matemático, em 1.1.

3.1 Considerações sobre os parâmetros

Os parâmetros utilizados nos cenários simulados nas próximas seções foram tomados como base de [Eftimie e Barelle \(2021\)](#). No entanto, é preciso considerar as diferenças nos cálculos, dada a concepção distinta entre os modelos e as hipóteses assumidas.

Nesse sentido, alguns valores para os parâmetros foram estimados, outros adotados e, todos, colocados em escalas. A escala serve a alguns propósitos como, entre eles, uniformizar os dados encontrados em diversas literaturas e melhorar o desempenho durante o processamento dos cálculos numéricos.

Para os valores estimados, calculamos as dimensões médias dos tipos de células cujos volumes são modelados pelo sistema (2.1), segundo [Monte \(2021\)](#), e obtivemos o número de células por unidade de volume (mm^3 , como indicado na Tabela 1).

Dessa forma, considerando ([SATO et al., 2017](#) apud [EFTIMIE; BARELLE, 2021](#)), é possível estimarmos a taxa de crescimento proliferativo das células neoplásicas para o volume

tumoral do NSCLC em $\alpha_1 = 0,23$ por dia e seu respectivo volume máximo em 1400 mm^3 .

A obtenção do volume tumoral é importante para calcularmos as escalas de parâmetros como β_1 e β_2 (ver Tabela 1), além das condições iniciais $N(0)$, $M_1(0)$ e $T_8(0)$. Por exemplo, segundo Stankovic et al. (2019), cerca de 22% do microambiente tumoral do câncer de pulmão de células não pequenas é composto por células citotóxicas CD8+ e, assim, podemos estimar um número máximo de $3,08 \cdot 10^7$ células CD8+ nesse tecido conjuntivo.

As capacidades suportes K_n , K_m e K_t foram obtidas através dessa metodologia, como apontado em Eftimie e Barelle (2021), de modo geral.

Os únicos valores não encontrados na literatura, mas estimados com a metodologia indicada, foram os dos parâmetros α_5 , β_2 , μ_3 , K_t e a condição inicial $T_8(0)$. De modo particular, para estimar α_5 e μ_3 , também consideramos alguns parâmetros em Qomlaqi et al. (2017) e, para estimar β_2 , também consideramos Kuznetsov e Knott (2001).

Uma vez estimado os parâmetros, os utilizamos para simular os cenários apresentados nas próximas seções, através do método numérico de Runge-Kutta de quarta ordem (RK4).

Tabela 3 – Valores padrões dos parâmetros e condições iniciais do sistema (2.1): valores adimensionalizados dos parâmetros na Tabela 1 e das condições iniciais para o sistema (2.1), considerando as respectivas referências listadas.

Parâmetros	Valores	Descrição	Referência
α_1	$2,30 \cdot 10^{-1}$	Taxa de crescimento proliferativo de N	Eftimie e Barelle (2021)
α_2	$6,72 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de M_2 no volume tumoral	Eftimie e Barelle (2021)
α_3	$7,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de crescimento de M_1	Eftimie e Barelle (2021)
α_4	$7,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de N no crescimento de M_2	Adotado
α_5	$8,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de M_1 no crescimento de CD8+	Qomlaqi et al. (2017)
β_1	1,344	Taxa de eficácia de M_1 no combate às células N	Eftimie e Barelle (2021)
β_2	4,312	Taxa de eficácia de CD8+ no combate às células N	Kuznetsov e Knott (2001)
β_3	1,344	Taxa de eficácia de M_2 no combate às células CD8+	Adotado
ρ_1	$1,00 \cdot 10^{-2}$	Taxa de polarização do fenótipo 1 em 2 do macrófago	Eftimie e Barelle (2021)
ρ_2	0	Taxa de repolarização do fenótipo 2 em 1 do macrófago	Eftimie e Barelle (2021)
μ_1	$8,70 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células M_1	Eftimie e Barelle (2021)
μ_2	$1,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células M_2	Eftimie e Barelle (2021)
μ_3	$4,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células CD8+	Qomlaqi et al. (2017)
K_n	1	Capacidade suporte das células neoplásicas	Eftimie e Barelle (2021)
K_m	1	Capacidade suporte dos macrófagos	Eftimie e Barelle (2021)
K_t	1	Capacidade suporte das células CD8+	Adotado
$N(0)$	$2,86 \cdot 10^{-3}$	Valor inicial para células neoplásicas N	Eftimie e Barelle (2021)
$M_1(0)$	$8,93 \cdot 10^{-4}$	Valor inicial para os macrófagos M_1	Eftimie e Barelle (2021)
$M_2(0)$	0	Valor inicial para os macrófagos M_2	Eftimie e Barelle (2021)
$T_8(0)$	$2,86 \cdot 10^{-4}$	Valor inicial para células CD8+ citotóxicas	Adotado

Para o desenvolvimento do método RK4, utilizamos a linguagem C de programação, optando por uma malha de integração de espaçamento 10^{-3} e, como apoio para conferência

de resultados numéricos e da modelagem matemática, utilizamos o software de computação algébrica Maple, versão 15.

Os valores dos parâmetros utilizados nos cenários, estão descritos na Tabela 3 e, conforme os cenários variam, os valores modificados para criá-los serão exibidos nas legendas das figuras que ilustram as soluções numéricas das curvas integrais do sistema (2.1).

A finalidade na variação dos parâmetros para os cenários que se apresentam a seguir, neste primeiro momento, é entendermos alguns aspectos da dinâmica entre as células no microambiente tumoral através do modelo matemático em (2.1).

Portanto, os parâmetros cujas variações estamos observando, são aqueles relacionados à regulação da polarização (ρ_1 e ρ_2), em revista aos tratamentos abordados em Reis-Sobreiro et al. (2021), e relacionados ao prognóstico positivo (μ_1), como em Rakaee et al. (2019).

3.2 Primeiro cenário simulado

É importante destacar que o modelo (2.1) considera dois conjuntos de células citotóxicas para as células neoplásicas: os macrófagos de fenótipo 1 (M1) e as células efetoras CD8+.

De modo geral, exploraremos as possibilidades numéricas na interação dinâmica do sistema para revelar, a princípio, aqueles processos biológicos que podem ser promissores contra o câncer de pulmão de células não pequenas.

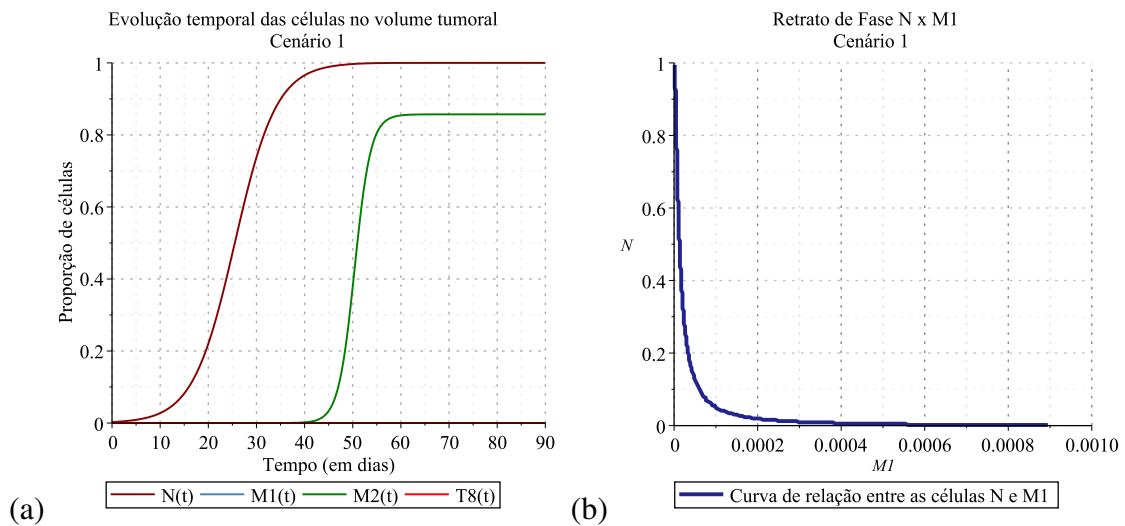


Figura 7 – **Cenário 1**: (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+ e repolarização dos macrófagos ($\rho_2 = 0$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, T medido em dias.

Em particular, esse primeiro cenário, utiliza valores encontrados na literatura, conforme indicados na Tabela 3, para observar a evolução temporal do volume.

Contudo, para esse cenário, note que não consideramos nenhum tratamento que estimule qualquer uma das duas células citotóxicas para a neoplasia e, portanto, estamos simulando sua progressão natural, desde a observação de seu surgimento em $t = 0$, tal que $N(0) = 2,86 \cdot 10^{-3}$.

A Figura 7-a, nos revela a predominância das células neoplásicas e dos macrófagos de fenótipo 2 (M2) diante das condições iniciais consideradas na Tabela 3 e da falta de estímulos à repolarização dos macrófagos M2. Nesse cenário, apresenta-se um ponto de equilíbrio localmente assintoticamente estável, numericamente avaliados como $P_1 \approx (1; 0; 0,85; 0)$.

Observamos que, a inexistência de estímulos à repolarização ($\rho_2 = 0$), aliada ao fato da taxa de apoptose das células M2 ($\mu_2 = 0,1$) possuir valor mais baixo em relação à taxa de apoptose das células M1 ($\mu_1 = 0,87$), contribui para a evolução tumoral das células neoplásicas N até sua capacidade suporte $K_n = 1$. A descrição desse cenário é plausível quando consideramos que, segundo Shu et al. (2020) e Noy e Pollard (2014), os macrófagos também possuem características pró-tumorais.

A Figura 7-b, aponta para uma relação interessante entre o volume de células neoplásicas N e dos macrófagos M1: uma baixa alteração no volume dos macrófagos M1 decorre em alta variação do volume de células neoplásicas N .

3.3 Segundo cenário simulado

Nesse segundo cenário simulado, utilizaremos o conjunto padrão de valores para quase todos os parâmetros. A única diferença em relação ao conjunto de dados adotados na Tabela 3, é para o valor do parâmetro de repolarização, que assumimos $\rho_2 = 0,2$. Nosso objetivo essencial é observar os efeitos de um possível estímulo à repolarização, por mais que ainda desconsideremos estímulos às células efectoras CD8+.

Observando as curvas integrais na Figura 8-a, notamos que a alteração no valor do parâmetro ρ_2 foi significativa o suficiente para alterar a dinâmica do sistema (2.1), quando comparada ao primeiro cenário simulado. Nesse cenário, apresenta-se um ponto de equilíbrio, numericamente avaliados como $P_1 \approx (0,60; 0,07; 0,11; 0)$.

A Figura 8-a nos mostra um estado de coexistência das populações N , M_1 e M_2 , tal como também nos indica o ponto P_1 , classificado como localmente estável. Ainda, é importante ressaltar que, do ponto vista clínico, embora o volume tumoral permaneça estável, ele ainda está presente no organismo.

Na Figura 8-b, o retrato de fase nos mostra a relação de equilíbrio estável para a coexistência de N e M_1 .

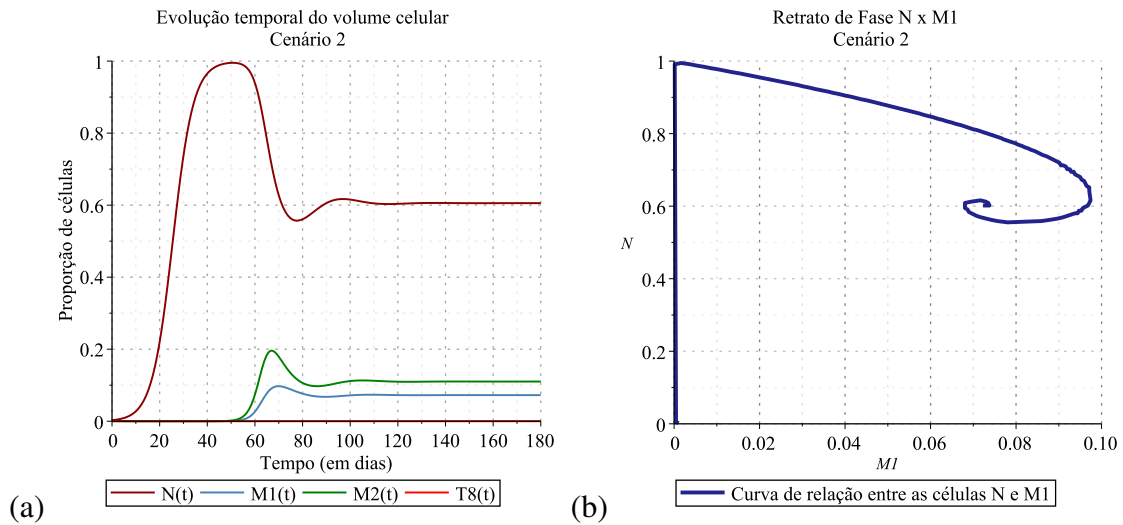


Figura 8 – **Cenário 2:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+, mas com estímulos à repolarização dos macrófagos ($\rho_2 = 0, 2$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 180]$, T medido em dias.

3.4 Terceiro cenário simulado

O terceiro cenário simulado, observa uma possível redução nos níveis de polarização dos macrófagos de fenótipo 1 para as de fenótipo 2 sem, contudo, estimular a repolarização. Dessa forma, para os valores descritos na Tabela 3, adotamos $\rho_1 = 10^{-5}$ e $\rho_2 = 0$. Neste cenário, apresenta-se um ponto de equilíbrio, numericamente avaliados como $P_1 \approx (1; 0; 0, 85; 0)$.

A Figura 9-a nos mostra um cenário muito semelhante ao primeiro cenário simulado, exceto pelo fato de que os valores na curva integral da variação temporal no volume dos macrófagos M2 parecem sofrer um “atraso” de, aproximadamente, 10 dias em relação a esse primeiro cenário. No entanto, note que a evolução temporal no volume de células neoplásicas, permanece muito próxima do primeiro cenário simulado.

Essa proximidade com o primeiro cenário, também é revelada pelo retrato de fase, na Figura 9-b. Ainda, note que os valores numéricos para o ponto de equilíbrio obtido nesse cenário, são os mesmos para o cenário 1.

3.5 Quarto cenário simulado

O quarto cenário simulado é motivado pela observação do aumento adicional ao estímulo de repolarização, quando comparado ao segundo cenário simulado. Adotaremos $\rho_2 = 0, 7$ e, para os demais parâmetros, utilizamos os valores como na Tabela 3.

Observamos, no entanto, que a dinâmica do sistema (2.1) se mostra bem diferente em

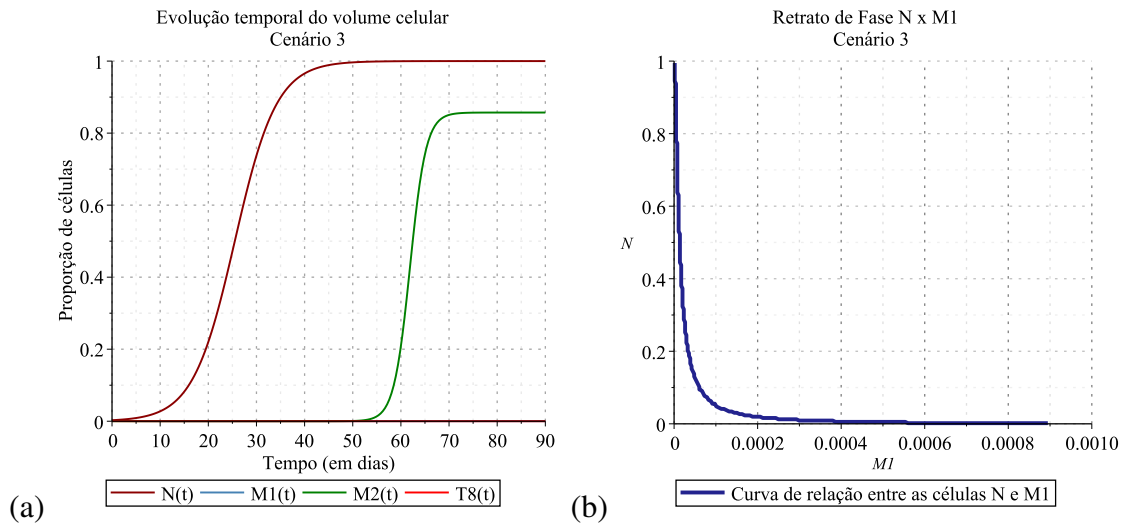


Figura 9 – **Cenário 3:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+ e estímulo à repolarização dos macrófagos, mas considerando reduções à polarização ($\rho_1 = 10^{-5}$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, mostrando a relação entre as variações nas quantidades $N(t)$ em função de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, T medido em dias.

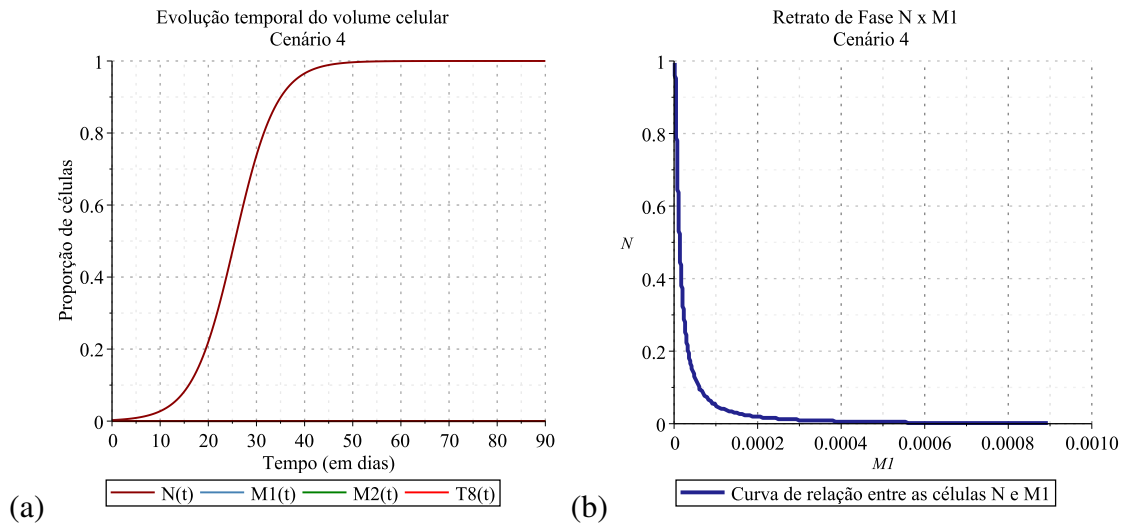


Figura 10 – **Cenário 4:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+, mas com estímulos à repolarização dos macrófagos ($\rho_2 = 0, 7$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, T medido em dias.

relação ao segundo cenário simulado, quando adotamos $\rho_2 = 0, 2$.

No entanto, sob o ponto de vista da estabilidade dos pontos apresentados nas simulações, ambos mantêm o estado de neoplasia não controlada, de modo que o ponto de equilíbrio para esse quarto cenário, numericamente, é dado por $P_1 = (1; 0; 0; 0)$.

Enquanto a Figura 10-b revela uma relação entre o volume dos macrófagos M1 e das células neoplásicas N muito semelhante ao dos primeiro e terceiro cenário, a Figura 10-a nos mostra uma evolução do volume tumoral sem a crescente evolução no volume dos macrófagos M2, de natureza pró-tumoral.

3.6 Quinto cenário simulado

Para esse cenário, combinamos os fatores de redução ao estímulo da polarização dos macrófagos M1, simulado no terceiro cenário, e o aumento nos estímulos à repolarização dos macrófagos M2, adotando, para isso, os valores $\rho_1 = 10^{-5}$ e $\rho_2 = 0, 2$.

Notamos que a dinâmica apresentada pela evolução do volume tumoral e das demais células modeladas no sistema (2.1), é muito semelhante àquela apresentada na Figura 8-a e 8-b, no segundo cenário que simulamos. As ilustrações nas Figuras 11-a e 11-b, respectivamente, mostram essa proximidade entre as simulações.

O que diferem os segundo e quinto cenários simulados é o “atraso”, em aproximadamente 10 dias, na evolução temporal das células N , M_1 e M_2 , conforme apontado no terceiro cenário simulado.

A priori, a redução aos estímulos de polarização dos macrófagos M1 parece atrasar alguns processos na dinâmica de evolução temporal desses volumes celulares.

No entanto, o ponto de equilíbrio permanece como no segundo cenário:
 $P_1 \approx (0, 60; 0, 07; 0, 11; 0)$.

3.7 Sexto cenário simulado

No sexto cenário simulado, mantivemos os valores dos parâmetros adotados na Tabela 3, exceto pela taxa de apoptose dos macrófagos M1.

Nossa motivação toma como base as observações de que, entre os parâmetros descritos na Tabela 1, o μ_1 possa ser considerado um dos mais sensíveis à dinâmica do sistema (2.1). Talvez, um indício mais claro dessa hipótese, sejam os retratos de fase exibidos em cada cenário, que indicam alta variação no volume tumoral em contraste a uma baixa variação no volume dos macrófagos M1, relacionadas.

De fato, o retrato de fase exibido na Figura 12-b, revela que, para o valores dos macrófagos de fenótipo 1 próximos de 0, 5, não há volume tumoral. A evolução desse volume tumoral, pode ser visto na Figura 12-a. Numericamente, esse cenário apresenta um estado de neoplasia controlada, com o ponto de equilíbrio dado por $P_0 \approx (0; 0, 47; 0; 0)$.

Contudo, observamos que esse cenário foi o único que apresentou estabilidade local em torno do ponto de equilíbrio P_0 , tal como previsto em (2.56).

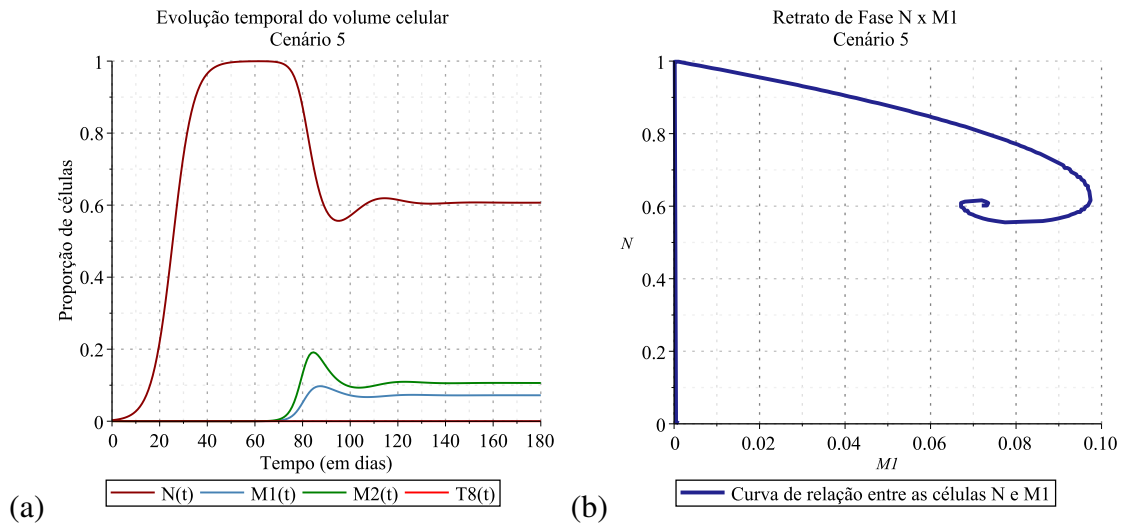


Figura 11 – **Cenário 5:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+, mas com redução à polarização dos macrófagos M1 ($\rho_1 = 10^{-5}$) e de repolarização dos macrófagos M2 ($\rho_2 = 0, 2$). (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 180]$, T medido em dias.

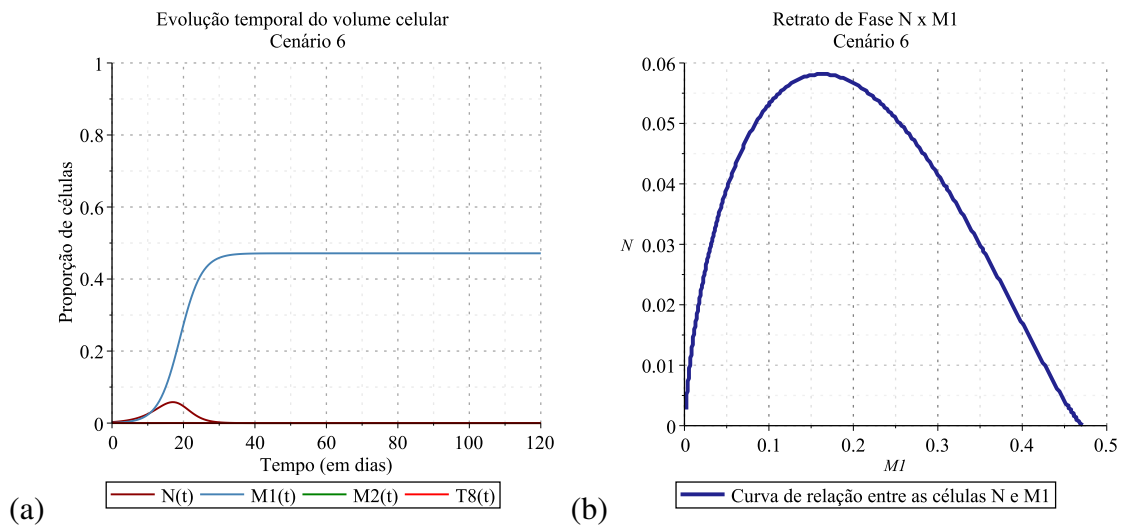


Figura 12 – **Cenário 6:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do modelo (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento para estímulo de células citotóxicas CD8+ e à (re)polarização dos macrófagos. (b) Retrato de fase para $N \times M_1$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, T medido em dias.

De modo geral e *a priori*, isso é inesperado, mas faz sentido numérico e matemático, quando observamos que os macrófagos M1 possuem a taxa de mortalidade (μ_1) com o valor mais alto entre as células, como podemos observar na Tabela 3.

Do ponto de vista biológico, a observação numérica corrobora com os apontamentos levantados em Rakae et al. (2019), sobre o prognóstico positivo para microambientes tumorais

do NSCLC com um número alto de macrófagos M1. Com uma taxa apoptótica menor, elevam-se o número de células efetoras no combate às células neoplásicas.

Neste ponto, é possível considerarmos um tratamento que objetive, conjuntamente, o aumento no volume dos macrófagos M1 e de células T CD8+.

Embora o modelo (2.1) ainda não considere um tratamento imunoterápico específico para células CD8+, é possível uma observação *a priori* de seu papel nessa dinâmica.

Do ponto de vista numérico, propomos uma simulação com os valores dos parâmetro usados nesse sexto cenário com duas condições iniciais distintas para o volume das CD8+. Uma dessas condições iniciais é a originalmente proposta para a simulação ilustrada na Figura 12 e, para a outra condição inicial, propomos $T_8(0) = 2,857 \cdot 10^{-2}$.

Nesse cenário de estabilidade para o ponto P_0 , livre da neoplasia, a alteração nas condições iniciais do volume de células CD8+ tornam-se mais perceptíveis às soluções numéricas obtidas para o sistema (2.1).

A Figura 13 mostra as curvas integrais para as condições iniciais distintas, tomadas para o volume celular de CD8+.

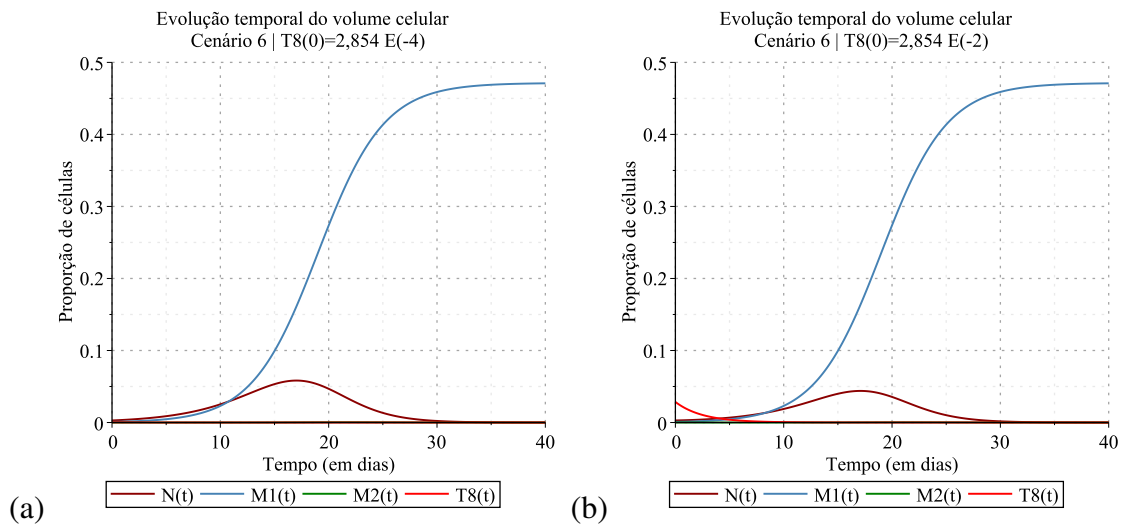


Figura 13 – **Cenário 6:** Soluções numéricas das curvas integrais do sistema (2.1). (a) Considerando a condição inicial $T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-4}$, para o volume das células T CD8+, como descrito na Tabela 3. (b) Considerando a condição inicial $T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-2}$, para o mesmo volume de células no item (a).

Comparativamente, entre os gráficos na Figura 13-a e 13-b, temos que a escolha da segunda condição inicial ($T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-2}$) reduz o volume de células neoplásicas, sem alterar o volume de macrófagos M1.

Na Figura 14, ilustramos os retratos de fase do primeiro e do sexto cenários, para três condições iniciais distintas, para que possamos observar a influência das células CD8+ na relação entre as células neoplásicas e os macrófagos M1.

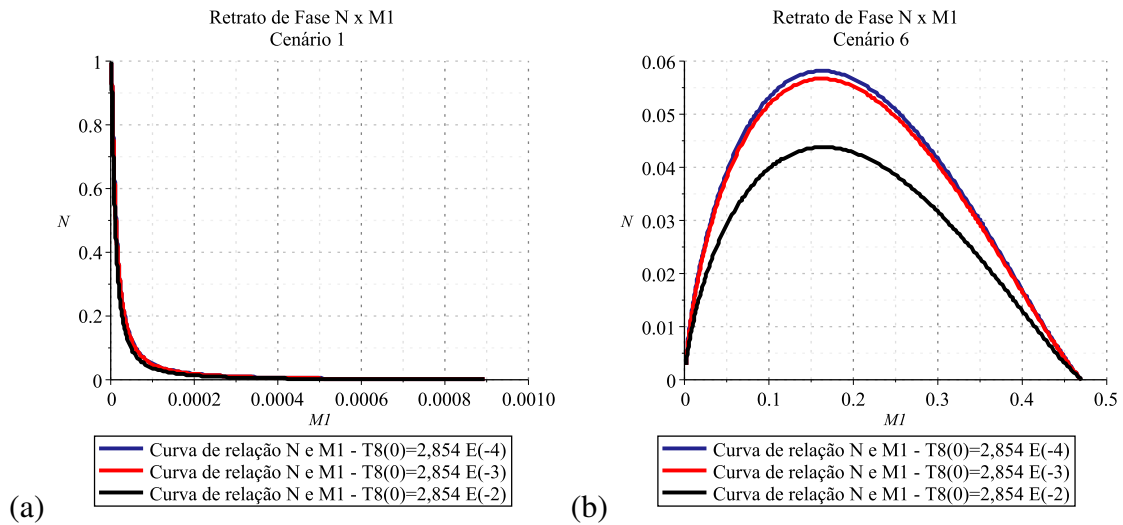


Figura 14 – Retratos de fase: (a) do cenário 1. (b) do cenário 2. Ambos considerando três condições iniciais distintas para o volume das células T CD8+, no sistema (2.1).

Para os dois cenários, escolhemos as seguintes condições iniciais:

- Condição inicial 1: $T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-4}$, tomada inicialmente na Tabela 3;
- Condição inicial 2: $T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-3}$;
- Condição inicial 3: $T_8(0) = 2,854 \cdot 10^{-2}$, utilizada na simulação ilustrada na Figura 13-b.

Para ambos os cenários, uma variação na condição inicial implica em uma redução no volume tumoral. No entanto, a redução parece ser um pouco mais acentuada no sexto cenário, principalmente com relação à condição inicial 3.

Portanto, há o indício de que as células CD8+ possuem um papel que se enquadra em auxiliar os macrófagos M1 no controle das células neoplásicas. Nesse sentido, a ideia de um protocolo que utilize vacina como imunoterapia para estimular o volume das células CD8+, como sugerido em [Kaur et al. \(2021\)](#), faz com que esses nossos resultados prévios sejam coerentes.

De modo geral, os seis cenários planejados foram apresentados, mas não esgotam as possibilidades e, nesse sentido, apresentaremos algumas discussões sobre os resultados encontrados, considerações e possibilidades futuras para nossa investigação.

3.8 Considerações sobre os resultados obtidos

Durante o desenvolvimento da nossa investigação, notamos que os resultados e simulações numéricas que obtemos no Capítulo 3 são coerentes com a análise matemática desenvolvida no Capítulo 2, para o modelo (2.1), principalmente quando tratamos dos estados de neoplasia controlada e não controlada.

Nos seis cenários simulados, todos os pontos de equilíbrio apresentados estavam ou sob a forma prevista em (2.56), para P_0 , ou em (2.57), para P_1 . Em particular, é possível observar que a estabilidade do ponto que tomamos como $(0; 0, 47; 0; 0)$, no sexto cenário, pode ser classificada analiticamente como localmente estável porque os valores dos parâmetros α_3 , α_5 , K_m , μ_1 e μ_3 satisfazem a condição (2.93), para estabilidade de P_0 .

Inclusive, da relação em (2.92), se $\mu_1 > \alpha_3$, obtemos que o ponto P_0 torna-se instável. Dentro do contexto de nosso modelo, admitir que a relação (2.92) é uma condição necessária para se discutir um estado de neoplasia controlada, é admitir a necessidade de termos uma taxa de crescimento nas quantidades de macrófagos M1 maior do que sua taxa de apoptose.

E, a partir desse ponto, qualquer protocolo de tratamento para o NSCLC que ofereça um efeito em que tenhamos uma taxa de apoptose menor do que a taxa de crescimento das quantidades de macrófagos M1, passa a ser relevante para nossa discussão.

Ainda, a discussão em torno da importância do valor do parâmetro μ_1 ser inferior ao valor do parâmetro α_3 , relacionado a um volume maior de macrófagos M1 associados a um prognóstico positivo para o NSCLC, é corroborado pelos resultados obtidos em [Rakae et al. \(2019\)](#), o que reforça a correspondência dos resultados que obtemos com a realidade retratada pela literatura.

Nesse sentido, parte do nosso objetivo de apresentarmos a Matemática como ferramenta para discutir processos biológicos que envolvem crescimento tumoral, foi satisfeito. Por outro lado, esse objetivo ainda está em progresso. Quando propomos analisar toda a dinâmica sintetizada acima, mas em conjunto com as relações que as células neoplásicas e os macrófagos guardam com as células T CD8+, ampliamos as investigações sobre o assunto.

Conforme desenvolvemos as simulações, no Capítulo 3, os resultados obtidos não consideravam terapias para as células CD8+, mas também não ignoravam sua relação com as demais células. E, numa investigação preliminar, quando propomos uma análise para o conjunto de valores de parâmetros utilizados no sexto cenário, mas com condições iniciais distintas para elas, encontramos indícios de que o papel das células CD8+ está no auxílio à redução no volume das células neoplásicas. Analisamos esse auxílio observando a variação no volume dessas células em relação à variação do volume dos macrófagos M1, para três condições iniciais, como ilustrado na Figura 14-b.

Quando estimamos a taxa de eficácia das células CD8+ como $\beta_2 = 4, 312$, cerca de 3,5 vezes maior do que a taxa β_1 , de eficácia das células M1 no combate às mesmas células neoplásicas do NSCLC, percebemos o quão significativa deve ser a contribuição das células T citotóxicas para a redução do volume tumoral. De fato, essa relevância das células T citotóxicas no combate às neoplasias, por exemplo, é destacada em [Kuznetsov e Knott \(2001\)](#).

Contudo, observando a condição inicial 3 para as células CD8+ como cerca de 100 vezes maior do que a condição inicial 1, tomada na simulação ilustrada na Figura 13-a, obtemos

uma redução máxima no volume de células neoplásicas em torno de 25%, quando comparada à simulação do cenário 6, originalmente, conforme ilustrado na Figura 14-b.

Nesse ponto, mesmo que preliminarmente, os resultados obtidos se coadunam aos resultados discutidos em [Eftimie e Barelle \(2021\)](#) e [Shu et al. \(2020\)](#), ampliando as discussões sobre o papel que as células CD8+ desempenham na dinâmica do microambiente tumoral e nos tratamentos imunoterápicos de combate ao câncer.

A partir desse ponto, mesmo que a condição inicial 3 não pareça ser naturalmente verossímil, como sugere [Stankovic et al. \(2019\)](#), poderíamos levantar uma hipótese acerca da utilização de vacinas para o estímulo ao aumento no volume celular das CD8+ e investigar um comportamento que poderia se assemelhar muito ao efeito da condição inicial 3 para a evolução no volume das células tumorais, dado um protocolo imunoterápico de vacinação.

De fato, essa é uma estratégia que abordaremos no próximo capítulo, dentro de nosso objetivo principal de apresentar a Matemática como ferramenta de reflexão sobre processos biológicos relacionados ao crescimento tumoral, supondo tratamentos imunológicos que considerem a regulação das (re)polarizações dos macrófagos e o estímulo imunológico às células CD8+, conforme [Kaur et al. \(2021\)](#).

4 Nova abordagem para o modelo matemático proposto

Neste capítulo, introduziremos uma breve revisão da modelagem matemática feita para as equações referentes às taxas de variações dos macrófagos M1 e M2, com o objetivo de tornarmos o sistema dinâmico (2.1) mais próximo do que foi discutido durante a seção sobre o sistema imune, no Capítulo 1. Dessa forma, também apresentaremos uma nova abordagem para a modelagem matemática da taxa de variação da T CD8+ que, agora, contará com o tratamento de infusão celular, estendendo, portanto, o modelo matemático proposto no Capítulo 2.

Além das considerações sobre a nova abordagem do sistema em (2.1), exploraremos os resultados obtidos das simulações numéricas do respectivo modelo, comparando-os com os resultados obtidos no Capítulo 3, com a finalidade de identificarmos o impacto do tratamento misto proposto através da infusão de T CD8+ e repolarização de macrófagos M2.

4.1 Revisão da modelagem para a taxa de variação dos macrófagos e T CD8+

A revisão da modelagem proposta para as equações referentes às taxas de variações dos macrófagos M1 e M2, indicadas respectivamente em (2.2) e (2.3), são fundamentadas pela existência de uma fonte de macrófagos (M0) que, a depender das citocinas encontradas no microambiente tumoral, podem alterar seu fenótipo para M1 ou para M2, de acordo com Stanley et al. (2007). Além disso, se justifica ao proporcionar um modelo matemático que se aproxima melhor do que foi discutido durante a seção sobre o sistema imune, no Capítulo 1, garantindo soluções numéricas mais verossímeis ao sistema dinâmico que simularemos para o NSCLC, segundo Hao, Schlesinger e Friedman (2016).

Dessa forma, como hipótese, supomos uma fonte constante de macrófagos (m_0) no microambiente tumoral, de modo que possa ser ativado alternativamente como M2 ou como M1, dependendo da sinalização fenotípica apresentada. Nesse sentido, também supomos a hipótese dessa alteração em seu fenótipo ser expressa por uma taxa λ de diferenciação em M1 ou em M2.

Portanto, consideramos que a igualdade

$$F(m_0) = \lambda \cdot m_0, \quad (4.1)$$

modele matematicamente as diferentes ativações de macrófagos M0 no microambiente tumoral do NSCLC, reescrevendo as equações (2.2) e (2.3), respectivamente, como

$$\frac{dM_1}{dt} = F(m_0) + C_1(M_1) - C_2(M_2, M_1) + C_3(N, M_2, M_1) - \mu_1 M_1, \quad (4.2)$$

$$\frac{dM_2}{dt} = F(m_0) + D_1(N, M_2) - D_2(M_1, M_2) + D_3(N, M_1, M_2) - \mu_2 M_2. \quad (4.3)$$

Notamos, assim, que o parâmetro λ será acrescentado na Tabela 1 de descrição de parâmetros utilizados no modelo, como

Tabela 4 – Descrição do parâmetro λ utilizado no modelo (2.1).

Parâmetro	Unidade	Descrição
λ	dia ⁻¹	Taxa de diferenciação de macrófagos M0 em M1 ou M2

Também proporemos uma modificação para a equação (2.4), que modela a taxa de variação da T CD8+, com a finalidade de apresentarmos as suposições para o tratamento imunoterápico do NSCLC, tal como discutido no Capítulo 3.

O tratamento imunoterápico que modelaremos matematicamente é o de linfócitos infiltrantes do tumor (TIL, de sua terminologia em língua inglesa *Tumor-Infiltration Lymphocytes*) que, basicamente, consiste na realização de uma biópsia do tumor para a retirada de células do linfócito T que estão infiltradas nele, com o objetivo de cultivá-las e aumentar suas quantidades para que, posteriormente, possam ser injetadas de volta no microambiente tumoral (DIAZ-CANO; PAZ-ARES; OTANO, 2022). As técnicas utilizadas para a seleção de células que serão retiradas do tumor, bem como as técnicas que tratam de suas expansões e injeções no microambiente tumoral são bem mais elaboradas e sofisticadas, como explicado em Mandriani et al. (2021).

No entanto, estamos interessados em supor hipóteses que coadunem com o modelo proposto em (2.1), de modo que uma extensão para a equação (2.4) possa refletir o tratamento imunoterápico TIL para o tumor desenvolvido pelo NSCLC. Dessa forma, consideraremos $v(t)$ a função que representa a infusão de T CD8+ no microambiente tumoral do NSCLC, seguindo um protocolo específico de infusão, de modo que represente um acréscimo na taxa de variação em (2.4), modificando a referida equação para

$$\frac{dT_8}{dt} = v(t) + O_1(M_1, T_8) - O_2(M_2, T_8) - \mu_3 T_8. \quad (4.4)$$

Antes de apresentarmos o novo sistema dinâmico, obtido pelas revisões realizadas em (4.2), (4.3) e (4.4), é necessário discutirmos o protocolo de infusão para células T CD8+ que

adotamos para a terapia TIL e que nos ajudará a definir, em termos técnicos, o domínio da função $v(t)$. De acordo com Zhang et al. (2022), um protocolo tradicional de tratamento com terapia TIL considera

1. **a quantidade de células:** será inserida no microambiente tumoral uma quantidade de células de T CD8+ equivalente à proporcionalidade de $2,857 \cdot 10^{-1}$ do volume tumoral máximo do NSCLC – obtida da majoração pela respectiva capacidade suporte K_t (volume máximo do tumor);
2. **a dose e a frequência de infusão:** será em dose única, aplicada continuamente entre o sétimo e o oitavo dia.

Portanto, uma vez estabelecido o protocolo de infusão para a terapia TIL, podemos definir a função $v(t)$, apresentada em (4.4), como

$$v(t) = \begin{cases} 2,857 \cdot 10^{-1}, & t \in [7, 8], \\ 0, & t \in (-\infty, 7) \cup (8, \infty). \end{cases} \quad (4.5)$$

A Figura 15 ilustra o padrão de aplicação adotado para o tratamento TIL através da função $v(t)$.

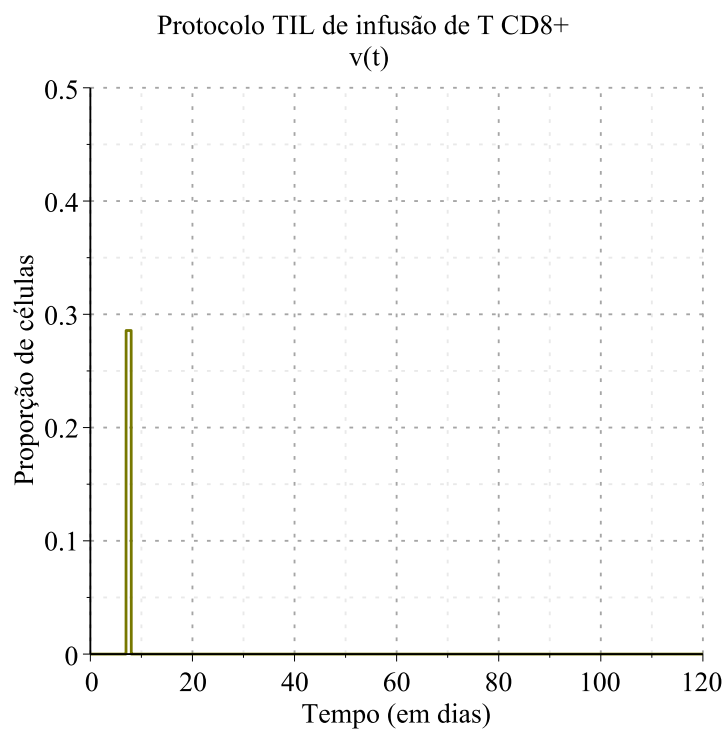


Figura 15 – Protocolo adotado para a terapia TIL: infusão de células equivalentes à proporcionalidade de $0,2857$ do volume máximo de T CD8+ no microambiente tumoral do NSCLC, em dose única e contínua entre os dias 7 e 8.

Por sua vez, considerando as modificações apresentadas pelas equações em (4.2), (4.3), (4.4) e a introdução do termo que modela matematicamente o tratamento TIL em (4.5), ampliamos o modelo representado pelo sistema dinâmico (2.1) através de

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dN}{dt} = \alpha_1 N \left(1 - \frac{N}{K_n}\right) (1 + \alpha_2 M_2) - \beta_1 M_1 N - \beta_2 T_8 N, \\ \frac{dM_1}{dt} = \lambda m_0 + \alpha_3 M_1 \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m}\right) + \rho_2 M_2 - \rho_1 M_1 N - \mu_1 M_1, \\ \frac{dM_2}{dt} = \lambda m_0 + \alpha_4 M_2 N \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m}\right) + \rho_1 M_1 N - \rho_2 M_2 - \mu_2 M_2, \\ \frac{dT_8}{dt} = v(t) + \alpha_5 M_1 T_8 \left(1 - \frac{T_8}{K_t}\right) - \beta_3 M_2 T_8 - \mu_3 T_8, \end{array} \right. \quad (4.6)$$

cujas condições iniciais são tomadas como $N(0) = N_0$, $M_1(0) = M1_0$, $M_2(0) = M2_0$ e $T_8(0) = T8_0$, a função $v(t)$ é definida em (4.5) e os parâmetros do sistema dinâmico (4.6), estabelecidos como o que se mostra na Tabela 5.

Tabela 5 – Descrição de parâmetros utilizados no modelo e suas respectivas unidades de medida.

Parâmetros	Unidades	Descrição
t	dia	Variável independente das funções $N(t)$, $M_1(t)$, $M_2(t)$ e $T_8(t)$
$\alpha_i, i = 1, 3$	dia ⁻¹	Taxa de crescimento das quantidades da célula
α_2	mm ⁻³	Taxa de influência dos macrófagos no volume tumoral
$\alpha_i, i = 4, 5$	(mm ³ · dia) ⁻¹	Taxa de influência volume-dia no crescimento de células
$\beta_i, i = 1, 2, 3$	(mm ³ · dia) ⁻¹	Taxas relacionadas à competição entre células
λ	dia ⁻¹	Taxa de diferenciação de macrófagos M0 em M1 ou M2
ρ_1	(mm ³ · dia) ⁻¹	Taxa de polarização do fenótipo 1 em 2 do macrófago
ρ_2	dia ⁻¹	Taxa de repolarização do fenótipo 2 em 1 do macrófago
$\mu_i, i = 1, 2, 3$	dia ⁻¹	Taxa de apoptose celular
m_0	mm ³	Termo fonte (constante) de macrófagos M0
$K_{n,m,t}$	mm ⁻³	Capacidades suportes de células neoplásicas, macrófagos e CD8+

Portanto, o objetivo principal de nosso estudo com o modelo matemático representado pelo sistema (4.6), é analisar o desenvolvimento da dinâmica das populações celulares que compõem o microambiente tumoral do NSCLC considerando os efeitos combinados dos tratamentos imunoterápicos para a (re)polarização dos macrófagos e para a terapia TIL, como apontado por Kaur et al. (2021) e Duan e Luo (2021). Para isso, utilizaremos os resultados obtidos pelas simulações numéricas do sistema (2.1), comparando-as sistematicamente com os resultados obtidos pelas simulações do sistema (4.6).

4.2 Resultados de simulações numéricas

Além de discutirmos os resultados obtidos da simulação numérica do sistema (4.6), apresentaremos algumas considerações sobre a estabilidade local dos seus respectivos pontos equilíbrios, com base no estudo numérico mais detalhado que pode ser conferido no Apêndice A deste trabalho. Com isso, esperamos fornecer mais subsídios para a leitura e discussão dos resultados obtidos pelas simulações numéricas do sistema (4.6).

Primeiramente, acrescentaremos à Tabela 3 as informações sobre o valor da fonte constante de macrófagos (m_0) e da taxa de diferenciação (λ) de macrófagos M0 em M1/M2, tal como mostrado na Tabela 6.

Tabela 6 – Valores padrões dos parâmetros e condições iniciais do sistema (4.6).

Parâmetros	Valores	Descrição	Referência
α_1	$2,30 \cdot 10^{-1}$	Taxa de crescimento proliferativo de N	Eftimie e Barelle (2021)
α_2	$6,72 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de M_2 no volume tumoral	Eftimie e Barelle (2021)
α_3	$7,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de crescimento de M_1	Eftimie e Barelle (2021)
α_4	$7,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de N na proliferação de M_2	Adotado
α_5	$8,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de M_1 na proliferação de CD8+	Qomlaqi et al. (2017)
β_1	1,344	Taxa de eficácia de M_1 no combate às células N	Eftimie e Barelle (2021)
β_2	4,312	Taxa de eficácia de CD8+ no combate às células N	Kuznetsov e Knott (2001)
β_3	1,344	Taxa de eficácia de M_2 no combate às células CD8+	Adotado
λ	10^{-2}	Taxa de diferenciação de macrófagos M0 em M1/M2	Hao, Schlesinger e Friedman (2016)
ρ_1	$1,00 \cdot 10^{-2}$	Taxa de polarização de M1 para M2	Eftimie e Barelle (2021)
ρ_2	0	Taxa de repolarização de M2 para M1	Eftimie e Barelle (2021)
m_0	1	Termo fonte de macrófagos de fenótipo M0	Hao, Schlesinger e Friedman (2016)
μ_1	$8,70 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células M_1	Eftimie e Barelle (2021)
μ_2	$1,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células M_2	Eftimie e Barelle (2021)
μ_3	$4,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células CD8+	Qomlaqi et al. (2017)
K_n	1	Capacidade suporte das células neoplásicas	Eftimie e Barelle (2021)
K_m	1	Capacidade suporte dos macrófagos	Eftimie e Barelle (2021)
K_t	1	Capacidade suporte das células CD8+	Adotado
$N(0)$	$2,86 \cdot 10^{-3}$	Valor inicial para células neoplásicas N	Eftimie e Barelle (2021)
$M_1(0)$	$8,93 \cdot 10^{-4}$	Valor inicial para os macrófagos M_1	Eftimie e Barelle (2021)
$M_2(0)$	0	Valor inicial para os macrófagos M_2	Eftimie e Barelle (2021)
$T_8(0)$	$2,86 \cdot 10^{-4}$	Valor inicial para células CD8+ citotóxicas	Adotado

Os demais valores para os parâmetros e o conjunto de condições iniciais adotados para as simulações numéricas de cenários para o sistema (4.6) permanecem inalterados aos apresentados na Tabela 3, exceto, quando da variação desses cenários, forem indicados os parâmetros com os respectivos valores alterados.

No entanto, de modo análogo às simulações de cenários para o sistema (2.1), as alterações ocorrerão nos parâmetros relacionados ao tratamento imunoterápico quanto à (re)polarização de macrófagos. A única diferença é quanto à variação das condições iniciais para as T CD8+, cuja variação ocorrerá pela natureza da vacina no tratamento imunoterápico TIL, representada

pela função $v(t)$ no sistema (4.6), e não mais pela adoção de diferentes condições iniciais para o sistema dinâmico.

Neste sentido, podemos estabelecer como estratégia de comparação de resultados, que simularemos o primeiro, segundo e sexto cenários - apresentados no Capítulo 3 – para o sistema (4.6), a fim de compreender as contribuições dos tratamentos imunoterápicos combinados.

4.2.1 Primeiro cenário

Para o primeiro cenário, consideraremos o sistema (4.6), cujos valores para os parâmetros e condições iniciais estão dispostos nas Tabelas 6, e pontos de equilíbrio classificados como na Tabela 7.

A Tabela 7 inicia nossa comparação do primeiro cenário simulado para o sistema (2.1) e para o sistema (4.6), evidenciando a mudança no ponto de equilíbrio, dado os novos termos do modelo apresentadas entre (4.2) e (4.4). No entanto, note que o novo modelo não altera a dinâmica dos pontos de equilíbrio quanto à estabilidade local.

Tabela 7 – Pontos de equilíbrio do sistema (2.1) vs. sistema (4.6) – calculados no Apêndice A – e suas respectivas classificações quanto à estabilidade local: **primeiro cenário**.

Pontos	Sistema (2.1)	Sistema (4.6)	Estabilidade local
P_0	$\approx (0; 0; 0; 0)$	$\approx (0; 0, 037; 0, 1; 0)$	Instável
P_1	$\approx (1; 0; 0, 85; 0)$	$\approx (0, 95; 0, 013; 0, 85; 0)$	Estável

Logo, em relação ao estado de controle da doença, como discutido no Capítulo 2, o primeiro cenário ainda reflete o estado de neoplasia não controlada.

A Figura 16 ilustra a dinâmica no número de proporção das células para este cenário, como discutido acima. No entanto, comparativamente, a Figura 15-b ilustra um número de células neoplásicas muito menor nos primeiros 20 dias em relação ao ilustrado no Figura 16-a. O baixo valor nas proporções de células se deve às modificações que modelam a fonte de macrófagos e o tratamento TIL.

É possível notar, ainda, que a introdução da terapia TIL, mesmo que sem o tratamento imunoterápico para a repolarização de macrófagos M2, influencia no número de macrófagos M1 do ponto de equilíbrio, modificando a relação que ambas tinham na dinâmica do sistema (2.1). Essa comparação entre as dinâmicas é ilustrada na Figura 17.

O que vemos nas ilustrações das Figuras 15 e 17, como consequência das modificações apresentadas pelas equações de (4.2) à (4.4), é uma baixa redução no volume de células neoplásicas ocasionadas pela terapia TIL que, em um período aproximado de 30 dias, favorece o aumento de macrófagos M1 e uma redução na taxa de crescimento do número de macrófagos M2. Posterior a esse período, já sem o efeito da infusão de T CD8+ e sem a repolarização dos macrófagos M2, o

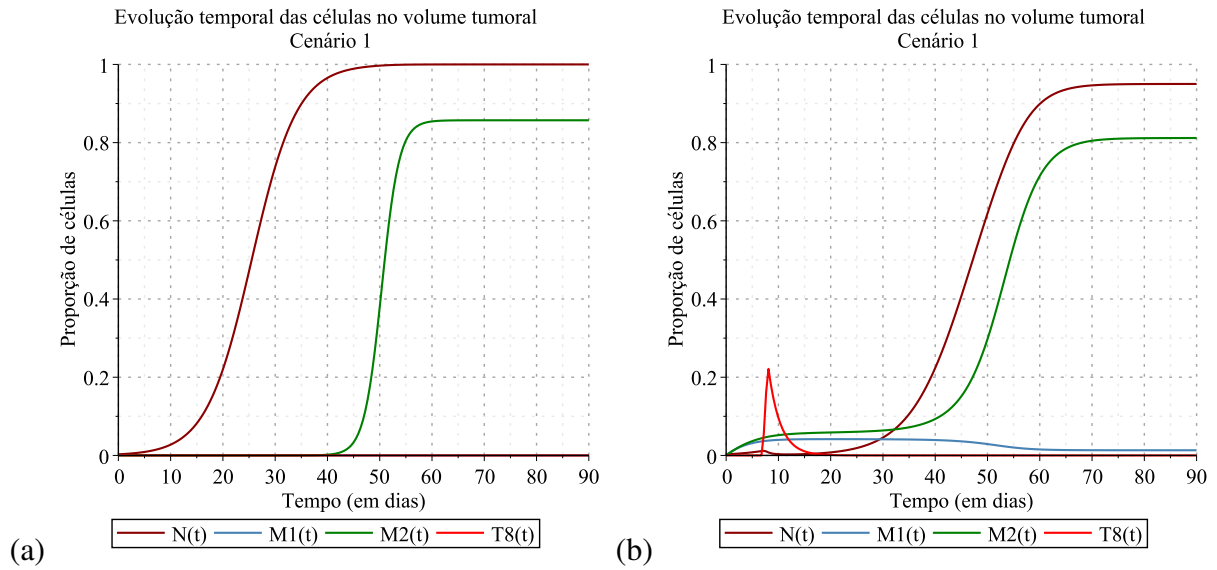


Figura 16 – **Cenário 1:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento TIL e repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$). (b) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (4.6) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 6, com tratamento TIL, mas sem repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$).

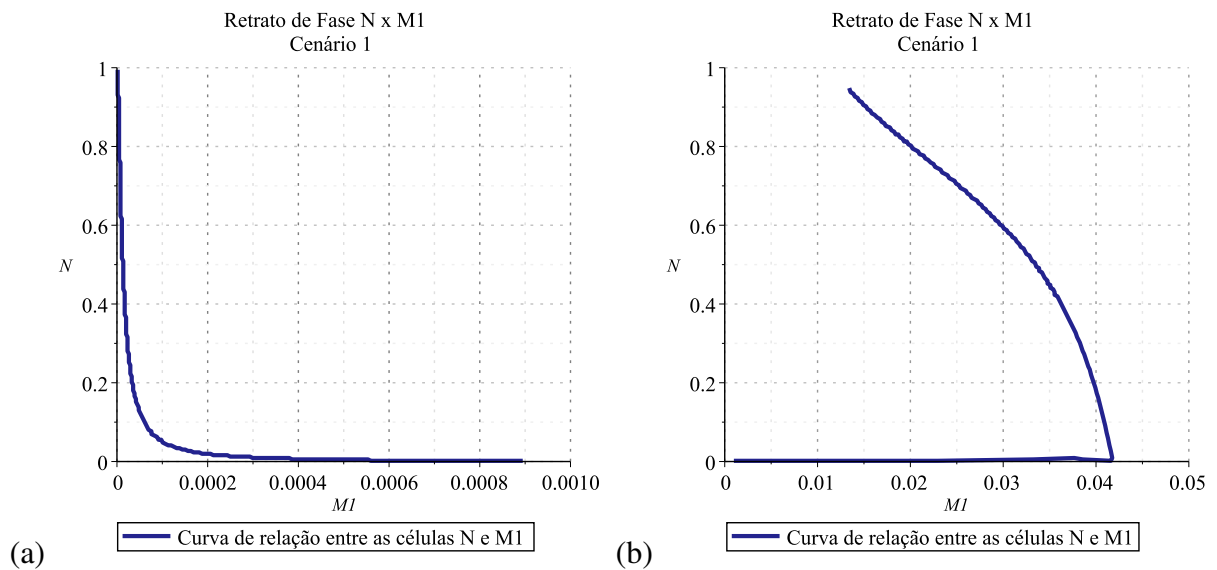


Figura 17 – **Cenário 1:** (a) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, t medido em dias, do sistema (2.1). (b) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 90]$, t medido em dias, do sistema (4.6).

número de células neoplásicas e M2 voltam a crescer de modo acentuado, atingindo o ponto P_1 de equilíbrio do sistema (4.6).

Notamos, portanto, o significativo efeito da terapia TIL e das modificações introduzidas

pelas equações de (4.2) à (4.4) ao modelo matemático proposto inicialmente: a redução inicial do crescimento de células neoplásicas, que pode ser importante para a eficácia de um segundo tratamento imunoterápico, como veremos no segundo cenário.

4.2.2 Segundo cenário

Neste segundo cenário, conforme discutido no Capítulo 3, consideraremos todos os valores da Tabela 6 para os parâmetros do sistema (4.6), exceto para o parâmetro de repolarização de macrófagos M2, que assumiremos como $\rho_2 = 0, 2$.

Note, também, que a desigualdade $\alpha_3 < \mu_1$ – entre a taxa de crescimento do número de macrófagos M1 e sua respectiva taxa de apoptose, nessa ordem – está mantida. Conforme a análise de estabilidade realizada no Capítulo 2, da inequação em (2.93), temos que essa desigualdade é importante para a manutenção do estado de neoplasia não controlada do sistema (2.1). Portanto, é esperado que este estado também seja mantido para o sistema (4.6).

De fato, ao observarmos a Tabela 8, temos que os pontos P_0 e P_1 mantêm suas classificações quanto estabilidade local.

Tabela 8 – Pontos de equilíbrio do sistema (2.1) vs. sistema (4.6) – calculados no Apêndice A – e suas respectivas classificações quanto à estabilidade local: **segundo cenário**.

Pontos	Sistema (2.1)	Sistema (4.6)	Estabilidade local
P_0	$\approx (0; 0; 0; 0)$	$\approx (0; 0, 07; 0, 04; 0)$	Instável
P_1	$\approx (0, 60; 0, 07; 0, 11; 0)$	$\approx (0, 47; 0, 11; 0, 14; 0)$	Estável

Considerando que a capacidade suporte $K_t = 1$ representa um volume tumoral máximo de 1400 mm^3 , conforme discutimos no Capítulo 3 e, segundo Monte (2021), sabendo que a ordem de grandeza da quantidade de células por unidade de volume (mm) é 10^6 , temos que a convergência dos valores de N para a proporção aproximada do volume tumoral de 0, 47, revela a ordem de grandeza 10^8 para a quantidade de células neoplásicas simuladas neste segundo cenário. Nesta ordem de grandeza, é importante destacar que o tumor atinge um valor que é primeiramente visível em raio X sem passar por um processo de regressão tumoral (WEINBERG, 2008 apud RODRIGUES; MANCERA; PINHO, 2011).

A Figura 18 mostra a comparação entre os segundos cenários simulados para cada sistema dinâmico. Assim como no comparativo do primeiro cenário, a Figura 18-b ilustra uma quantidade de células neoplásicas menores nos primeiros dias em relação ao ilustrado pela Figura 18-a. Este baixo valor de células neoplásicas no período inicial é ocasionado pelo recrutamento de macrófagos e sua respectiva repolarização para o fenótipo M1 que, em conjunto com a terapia TIL, auxilia na estabilização do volume tumoral sem que antes tenha atingido seu volume máximo.

Portanto, mesmo que a classificação de estado de controle do sistema seja o de neoplasia não controla, dentro do contexto discutido na conclusão do Capítulo 2, é positivo afirmar que há

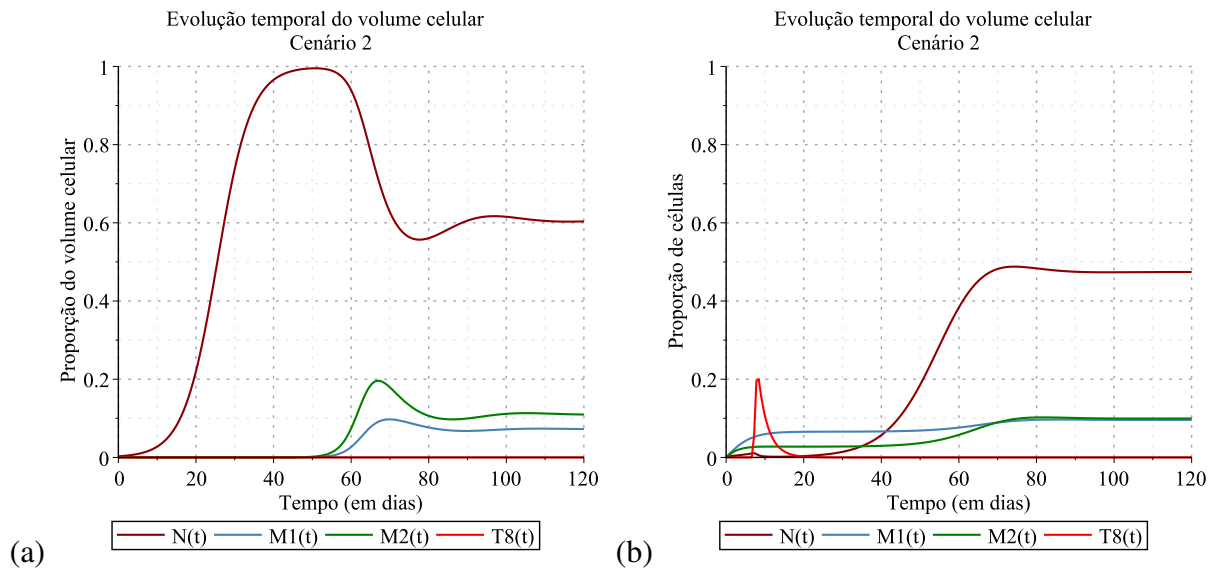


Figura 18 – **Cenário 2:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento TIL, mas com repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0, 2$). (b) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (4.6) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 6, com tratamento TIL e com repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0, 2$).

estabilização no crescimento do volume tumoral.

A Figura 19 ilustra a relação entre a dinâmica de crescimento dos valores de N e M_1 . A principal diferença entre o que vemos nas Figuras 19-a e 19-b, é que na segunda figura, os valores de N são muito menores do que na primeira e, isso, é essencialmente eficiente para que combinação dos tratamentos imunoterápicos estabilize o volume tumoral. De modo complementar, no Apêndice A, mostramos que em ambos os retratos de fase, o ponto de convergência ilustrado é um foco/espiral estável, dada a existência de autovalores complexos conjugados com partes reais negativas.

É possível perceber que o tratamento imunoterápico para a repolarização de macrófagos M2 permite a existência de um número maior de macrófagos M1 no microambiente tumoral. Embora somente o tratamento para a repolarização não seja suficiente para o controle do volume do tumor, como vemos na Figura 18-a, notamos que a introdução da terapia TIL auxilia na elevação do número de macrófagos M1 neste microambiente, em conjunto com o termo fonte de macrófagos M0 que se diferencia, a uma certa taxa λ , em M1 – como vemos na ilustração da Figura 18-b.

A combinação das duas terapias, portanto, retarda o crescimento de células neoplásicas ao mesmo tempo que permite que o microambiente tumoral desenvolva mecanismos para a estabilização de seu volume, contando com uma maior quantidade de macrófagos M1 e T CD8+.

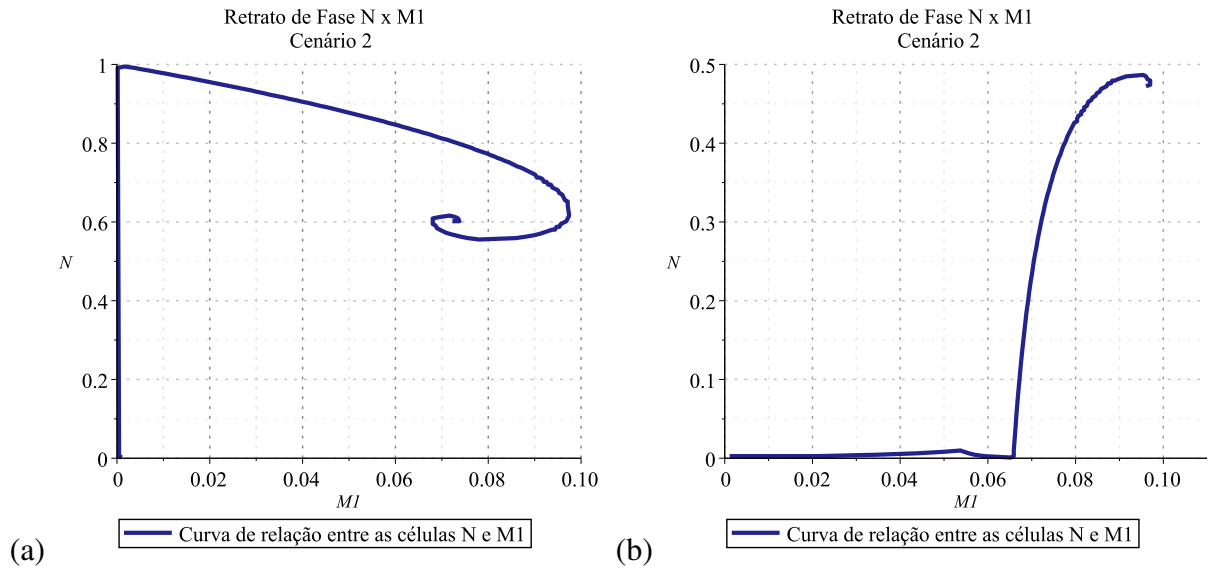


Figura 19 – **Cenário 2:** (a) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (2.1). (b) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (4.6).

4.2.3 Sexto cenário

No sexto cenário, adotaremos apenas a terapia TIL e a taxa de apoptose celular dos macrófagos M1 com o valor $\mu_1 = 0,37$. Assim, a única diferença entre esse cenário e o sexto cenário simulado para o sistema (2.1) é o tratamento de infusão de células T CD8+.

Resumidamente, conforme discutido no cenário anterior, a desigualdade $\alpha_3 > \mu_1$, de (2.92), é uma condição necessária para que P_0 seja classificado como localmente assintoticamente estável no espaço de soluções do sistema (2.1). De fato, considerando os valores dos parâmetros na Tabela 6, temos que além da condição necessária acima, a condição suficiente em (2.93), expressa por

$$\alpha_5 K_m (\alpha_3 - \mu_1) < \alpha_3 \mu_3, \tag{4.7}$$

é satisfeita.

Dentro do contexto que estamos considerando, essa condição para o valor da taxa de apoptose celular dos macrófagos M1 (μ_1), torna-se mais relevante para o estado de controle da neoplasia em ambos os modelos matemáticos apresentados neste trabalho do que a adoção de tratamentos imunoterápicos combinados. Do ponto de vista matemático, os valores assumidos para μ_1 são mais relevantes para o controle da doença, nos sistemas dinâmicos (2.1) e (4.6), do que para qualquer outro valor assumido por qualquer outro parâmetro desses mesmos sistemas.

A partir desse ponto, portanto, é esperado que a classificação de estabilidade para os pontos de equilíbrio do sistema (4.6) não se alterem quando comparados às classificações dos pontos do sistema (2.1). De fato, observando a Tabela 9, teremos as classificações dos pontos

mantidas, muito embora os pontos de equilíbrio tenham alterados os respectivos valores de seus componentes.

Tabela 9 – Pontos de equilíbrio do sistema (2.1) vs. sistema (4.6) – calculados no Apêndice A – e suas respectivas classificações quanto à estabilidade local: **sexto cenário**.

Pontos	Sistema (2.1)	Sistema (4.6)	Estabilidade local
P_0	$\approx (0; 0, 47; 0; 0)$	$\approx (0; 0, 48; 0, 02; 0)$	Estável
P_1	$\approx (0, 60; 0, 08; 0, 38; 0)$	$\approx (0, 23; 0, 16; 0, 39; 0)$	Instável

Logo, para a classificação de estabilidade dos pontos configuradas na Tabela 9, o estado apresentado pelo sistema (4.6) é o de neoplasia controlada.

A Figura 20, mostra as diferenças entre as dinâmicas da evolução celular para cada um dos sistemas. Notamos que, de fato, a introdução da terapia TIL auxilia na redução do volume tumoral.

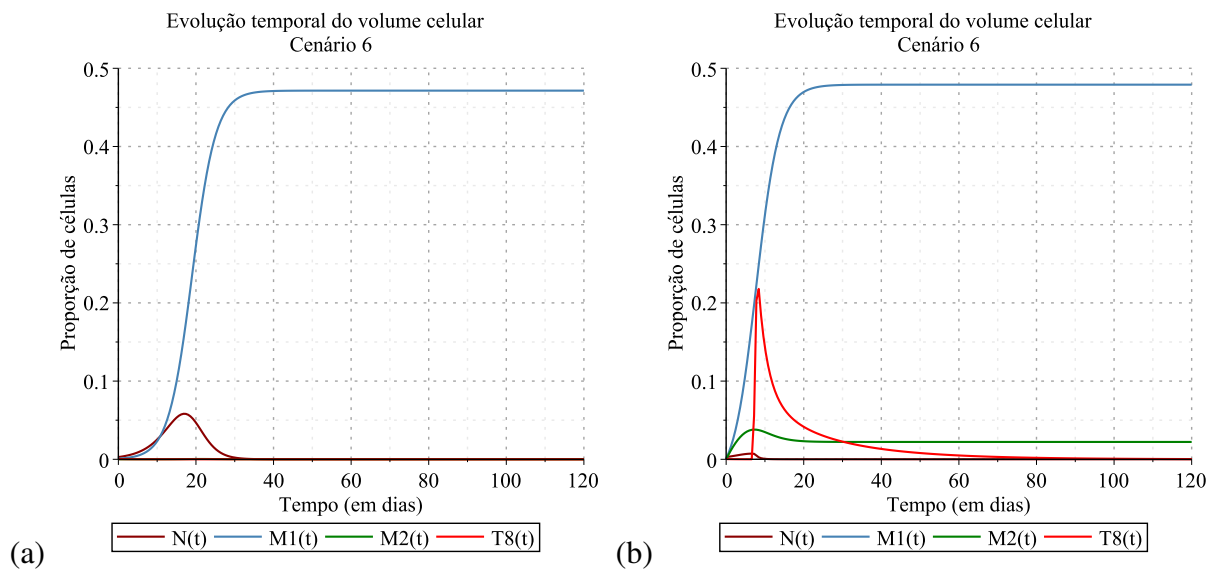


Figura 20 – **Cenário 6:** (a) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (2.1) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 3, sem tratamento TIL, sem repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$), mas considerando a taxa de apoptose de M1 como $\mu_1 = 0, 37$. (b) Soluções numéricas para curvas integrais do sistema (4.6) com valores de parâmetros e condições iniciais na Tabela 6, com tratamento TIL, sem repolarização de macrófagos ($\rho_2 = 0$), mas considerando a taxa de apoptose de M1 como $\mu_1 = 0, 37$.

A Figura 21, por sua vez, revela que a introdução da terapia TIL é eficiente na redução do número máximo células neoplásicas no microambiente tumoral, uma vez que esse valor simulado para o sistema (4.6) é cerca de 12% do valor máximo de células contabilizadas na simulação ilustrada pela Figura 21-a.

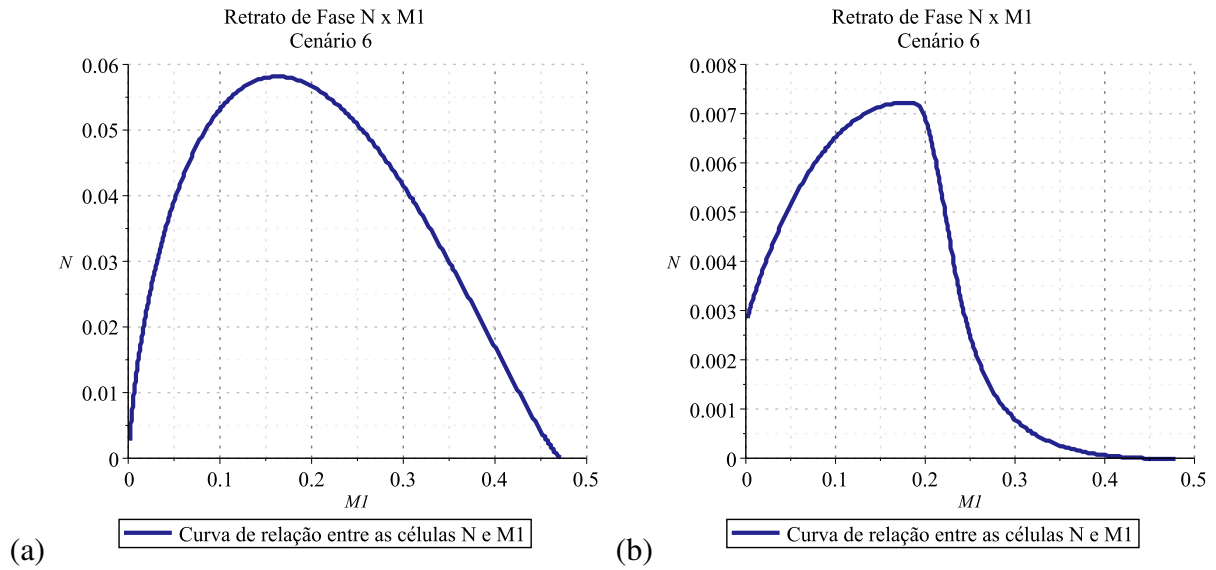


Figura 21 – **Cenário 6:** (a) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (2.1). (b) Retrato de fase para $M_1 \times N$, relacionando as variações nos volumes de $N(t)$ e de $M_1(t)$, para $t \in [0, 120]$, t medido em dias, do sistema (4.6).

Na Figura 21-b, também é possível notar uma acentuada redução no número de células neoplásicas (N), após os números de macrófagos M1 (M_1) atingirem valores próximos de 0, 2: para estes valores de $N(t)$ e $M_1(t)$, o tempo (t) de início desta queda acentuada é o oitavo dia, logo ao término da aplicação da infusão de T CD8+.

Dessa forma, mesmo que a baixa taxa de apoptose de macrófagos M1 seja, do ponto de vista matemático, responsável pelo estado de controle da neoplasia no sistema dinâmico (4.6), fica clara a contribuição da terapia TIL no auxílio à redução do volume tumoral neste cenário.

4.3 Considerações sobre os resultados obtidos

Podemos concluir que a introdução da terapia TIL auxilia na redução do volume tumoral, como previsto na conclusão do Capítulo 3 e evidenciado na simulação do sexto cenário para o sistema (4.6).

Quanto ao tratamento de repolarização e à introdução do termo fonte de macrófagos M0, é importante a modificação na dinâmica entre os sistemas que comparamos, permitindo que, no sistema (4.6), a taxa de variação das células neoplásicas se mantenham crescente, mas com valores menores nos instantes iniciais, em comparação com as simulações realizadas para o sistema (2.1). No entanto, é necessário que haja a combinação dos tratamentos para eficácia no combate ao NSCLC, como sugerem Kaur et al. (2021) e Duan e Luo (2021).

Na Tabela 10 comparativa, podemos resumir os estados de controle para os cenários

reprisados em ambas as simulações.

Tabela 10 – Comparativo do estado de controle da neoplasia para os sistemas (2.1) e (4.6).

Sistema	1º cenário	2º cenário	3º cenário
(2.1)	Não controlada	Não controlada	Controlada
(4.6)	Não controlada	Não controlada	Controlada

Esse resultado, portanto, nos leva a algumas possibilidades de terapias não abordadas nesse trabalho, como, por exemplo, uma que considere a apoptose de macrófagos M1 como alvo terapêutico.

Vale o destaque para o resultado obtido na simulação do segundo cenário para o sistema (4.6) que, diferentemente da sua respectiva simulação para o sistema (2.1), converge para o ponto P_1 de coexistência da população de células sem passar uma regressão tumoral após ter atingido seu volume máximo (ver Figura 18). Neste sentido, mostra-se a eficiência do tratamento combinado.

Todos os resultados simulados, portanto, não se opõem aos resultados apresentados por [Rakaee et al. \(2019\)](#), uma vez que, através do modelo matemático que propomos, fica claro a importância do alto número de macrófagos M1 para o prognóstico positivo para o NSCLC, e se coadunam aos resultados apresentados por [Eftimie e Barelle \(2021\)](#) e [Shu et al. \(2020\)](#) porque amplia a discussão para a possibilidade de tratamentos que possam ter como alvo a redução da taxa de apoptose de macrófagos M1 em detrimento aos demais parâmetros observados nas desigualdades em (2.92) e (2.93).

5 Conclusões e trabalhos futuros

O objetivo geral dessa tese foi apresentarmos como a Matemática pode ser utilizada como ferramenta para discutir processos biológicos que envolvem o desenvolvimento tumoral.

E, quando colocamos o termo discussão, entendemos que a própria linguagem Matemática jamais substituirá quaisquer outras ferramentas biotecnológicas que também auxiliam a Medicina e a Biologia a entenderem e tratarem o câncer. Tão pouco temos a falsa pretensão de achar que a Matemática resolverá os problemas que são colocados ao estudarmos a doença do ponto de vista da Saúde.

A Matemática, porém, se apresenta como uma excelente ferramenta que comporá, junto a outras excelentes ferramentas, um conjunto de instrumentos à disposição da Medicina e demais Ciências da Saúde.

Dessa forma, nosso objetivo mais específico de investigar a dinâmica entre as células neoplásicas, os macrófagos e T CD8+, que compõem o microambiente tumoral, com a finalidade de entender efeitos que a combinação de imunoterapias que envolvam macrófagos e T CD8+ possam ter no combate ao NSCLC, foi cumprido.

Como apresentados no Capítulo 2, os trabalhos de [Eftimie e Barelle \(2021\)](#) e [Shu et al. \(2020\)](#) inspiraram esta tese, principalmente quando supomos algumas das hipóteses para a dinâmica de macrófagos no modelo matemático que se viabiliza pelo sistema dinâmico (2.1), mas se restringem apenas à discussão dos papéis que esta dinâmica tem no desenvolvimento tumoral. Dessa forma, reconhecendo a importância desta dinâmica para a imunoterapia que envolvem os macrófagos, os resultados apresentados e discutidos nos Capítulos 2, 3 e 4, ampliam as discussões dos trabalhos citados acima porque contribuem para o entendimento da relação entre os efeitos da imunoterapia TIL em combinação com a imunoterapia para macrófagos e seus respectivos papéis na redução ou eliminação das células neoplásicas do NSCLC.

Sobretudo, como considerado nos Capítulos 3 e 4, mesmo que os sistemas (2.1) e (4.6) possuam diferenças na modelagem de suas equações diferenciais, devido às considerações das imunoterapias que adotamos ao longo deste trabalho, a classificação da estabilidade local de seus pontos de equilíbrio têm uma dependência do parâmetro μ_1 , que representa a taxa de apoptose dos macrófagos M1 para ambos os sistemas.

Notamos que, por mais que a introdução do termo fonte m_0 (de macrófagos de fenótipo

M0) e da infusão de T CD8+ representem alterações significativas nas isóclinas nulas do sistema (4.6) e, portanto, alterações na forma como se expressam seus pontos de equilíbrio e se estudam analiticamente suas estabilidades locais, os estados de controle da neoplasia que foram apresentados nas simulações realizadas em vários cenários para os dois sistemas se mantiveram, inclusive, como previstos nas análises realizadas no Capítulo 2.

Os resultados obtidos no segundo cenário simulado para o sistema (4.6), contribuem para o entendimento do efeito que a dinâmica de infusão de T CD8+ tem na evolução da quantidade de células da neoplasia estudada. Como citadas ao longo deste trabalho, as literaturas informam da capacidade que a terapia TIL que adotamos possui de reduzir o volume tumoral e, de fato, foi o que evidenciamos durante as simulações do segundo cenário.

Encontramos o mesmo comportamento nas simulações do primeiro cenário – sem a combinação da imunoterapia de repolarização de macrófagos M2 – e do sexto cenário – sem a combinação da mesma imunoterapia de repolarização, mas com o valor do parâmetro μ_1 mais baixo. É possível acompanhar a situação descrita acima, observando o número de células neoplásicas N em relação ao número de macrófagos M1 M_1 nos retratos de fase $M_1 \times N$.

Ainda, no segundo cenário do sistema (4.6), existe um aspecto importante quando comparado com o mesmo cenário para o sistema (2.1): a estabilização da quantidade de células neoplásicas na ordem de 10^8 acontece sem que essa quantidade tenha atingido a capacidade suporte. Esse resultado caracteriza a eficiência da combinação dos tratamentos imunoterápicos.

Portanto, somente o tratamento imunoterápico de repolarização de macrófagos M2 para o NSCLC não é suficiente para combater o desenvolvimento da neoplasia. Mas, a introdução da terapia TIL em conjunto com a repolarização, demonstra-se eficaz na estabilização do volume tumoral e controle do estado da neoplasia no organismo do paciente.

5.1 Trabalhos futuros

Das possibilidades que se apresentam, a mais instigante é a investigação de terapias que tenham como alvo terapêutico a redução da taxa de apoptose dos macrófagos M1, como apontado nos capítulos anteriores. Isso, devido a relevância que a taxa de apoptose μ_1 , nos sistemas (2.1) e (4.6), possuem para a estabilidade local do ponto P_0 de equilíbrio. Além disso, para os macrófagos M1, uma taxa de apoptose menor do que a de crescimento de sua quantidade pode significar uma quantidade maior dessas células no microambiente tumoral do NSCLC, que pressupõe um prognóstico positivo, segundo [Rakaee et al. \(2019\)](#).

Uma outra possibilidade de investigação é assumir imunoterapias que estimulam células do linfócito T como única via de tratamento para o NSCLC. Segundo [Kaur et al. \(2021\)](#), vacinas que causam esse estímulo costumam ser eficazes sem que haja combinação com outras terapias. Dentro deste espectro, é possível, ainda, analisar outros protocolos TIL ou vacinas com fármacos

específicos, como analisa [Reis-Sobreiro et al. \(2021\)](#).

Consequentemente, as combinações de imunoterapias também são possibilidades para investigarmos tratamentos que sejam eficientes e eficazes, no sentido de controle ótimo dos sistemas dinâmicos obtidos dos modelos matemáticos. Dessa forma, é possível propormos protocolos para imunoterapias que tenham respostas adequadas às características dos organismos e da doença que se desenvolve nele (explorando outros cânceres que não o NSCLC).

No entanto, vale ressaltar que, das possibilidades apontadas acima, a que dá sequência imediata aos trabalhos desta tese é a investigação de imunoterapias que tenham como alvo a redução da taxa de apoptose dos macrófagos M1.

Referências

- ALMEIDA, L. M. W. Um olhar semiótico sobre modelos e modelagem: metáforas como foco de análise. *ZETETIKÉ*, v. 18, n. 2010, p. 387–414, 2011. 2, 3, 4
- BARBOSA, J. L.; DESCARDECI, M. A. Percurso para compreender a semiótica: a cooperação entre a epistemologia e o histórico da semiótica. *Estudos Semióticos - FFLCH/USP*, v. 8, n. 1, p. 124–137, 2012. 3
- BASSANEZI, R. C. *Ensino-aprendizagem com Modelagem Matemática*. São Paulo: Contexto, 2002. 389 p. 2
- BRASIL. *Estimativa 2020 : incidência de câncer no Brasil*. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), 2019. 120 p. ISBN 978-85-7318-389-4. ix, 5, 6, 8
- BRASIL. *Atlas On-line da Mortalidade*. Rio de Janeiro: Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), 2021. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/MortalidadeWeb/pages/Modelo01/consultar.xhtml>>. Acesso em: 01/04/2021. 1, 5, 13
- DIAZ-CANO, I.; PAZ-ARES, L.; OTANO, I. Adoptive tumor infiltrating lymphocyte transfer as personalized immunotherapy. In: *International Review of Cell and Molecular Biology*. [S.l.]: Academic Press, 2022. 62
- DUAN, Z.; LUO, Y. Targeting macrophages in cancer immunotherapy. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 6, n. 1, 2021. 16, 17, 20, 21, 64, 72
- DUVAL, R. Registros de representações semióticas e funcionamento cognitivo da compreensão em matemática. In: MACHADO, S. D. A. (Ed.). *Aprendizagem em Matemática: Registros de Representação Semiótica*. Campinas: Papirus, 2003. p. 11–34. 3, 4
- DUVAL, R. *Semiosis y pensamiento humano: registros semióticos y aprendizajes intelectuales*. Colômbia: Universidad del Valle, Instituto de Educación y Pedagogía, Grupo de Educación Matemática, 2004. 3
- EFTIMIE, R.; BARELLE, C. Mathematical investigation of innate immune responses to lung cancer: the role of macrophages with mixed phenotypes. *Journal of Theoretical Biology*, v. 524, n. 110739, 2021. 21, 22, 49, 50, 60, 65, 73, 74, 82
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell Press*, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011. ix, 9, 10, 13, 15, 17, 19
- HAO, W.; SCHLESINGER, L. S.; FRIEDMAN, A. Modeling granulomas in response to infection in the lung. *PLoS ONE*, v. 11, n. 3, p. 26, 2016. 61, 65, 82
- KAUR, J. et al. Immunotherapy for non-small cell lung cancer (NSCLC), as a stand-alone and in combination therapy. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, v. 164, p. 103417, 2021. ISSN 1040-8428. 21, 58, 60, 64, 72, 75
- KIM, E. E.; YOUN, H.; KANG, K. W. Imaging in tumor immunology. *Nuclear Medicine and Molecular Imaging*, 2021. ISSN 1869-3482. 15

- KUZNETSOV, V. A.; KNOTT, G. D. Modeling tumor regrowth and immunotherapy. *Mathematical and Computer Modelling*, v. 33, n. 12, p. 1275–1287, 2001. 20, 50, 59, 65, 82
- LANE, D. P. P53, guardian of the genome. *Nature*, v. 358, n. 6381, p. 15–16, 1992. 8
- MACHADO, A. M. *O Teorema de Poincaré–Bendixson e o Teorema de Hartman–Grobman*. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) — Universidade Federal Fluminense (UFF), 2016. 33
- MANDRIANI, B. et al. Adoptive t-cell immunotherapy in digestive tract malignancies: Current challenges and future perspectives. *Cancer Treatment Reviews*, v. 100, p. 102288, 2021. ISSN 0305-7372. 62
- MODELO. In: *Michaelis, Dicionário Brasileiro da Língua Portuguesa*. [S.l.]: Ed. Melhoramentos, 2021. Disponível em: <<https://michaelis.uol.com.br/moderno-portugues/busca/portugues-brasileiro/modelo/>>. Acesso em: 01/04/2021. 2
- MONTE, U. Does the cell number 10^9 still really fit one gram of tumor tissue? *Cell Cycle*, v. 524, n. 110739, 2021. 49, 68
- NOY, R.; POLLARD, J. W. Tumor-associated macrophages: From mechanisms to therapy. *Cell Press - Immunity*, v. 41, 2014. x, 16, 17, 18, 20, 52
- PADHYE, A. *Dissecting Tumor Heterogeneity in Lung Cancer*. Tese (Doutorado) — University of Texas, 2021. ix, 13, 14, 15, 16, 21
- PEIRCE, C. S. *Semiótica*. São Paulo: Perspectiva, 2005. 3
- QOMLAQI, M. et al. An extended mathematical model of tumor growth and its interaction with the immune system, to be used for developing an optimized immunotherapy treatment protocol. *Mathematical Biosciences*, v. 292, n. 1, p. 1–9, 2017. 50, 65, 82
- RAKAE, M. et al. Prognostic value of macrophage phenotypes in resectable non–small cell lung cancer assessed by multiplex immunohistochemistry. *Neoplasia*, v. 21, n. 3, p. 282–293, 2019. ISSN 1476-5586. 16, 51, 56, 59, 73, 75, 90
- REIS-SOBREIRO, M. et al. Bringing macrophages to the frontline against cancer: Current immunotherapies targeting macrophages. *Cells*, v. 10, n. 9, 2021. ISSN 2073-4409. 17, 18, 19, 20, 51, 76
- RODRIGUES, D. S.; MANCERA, P. F. A.; PINHO, S. T. R. *Modelagem Matemática em Câncer: uma introdução*. São Carlos: SBMAC, 2011. 74 p. ISBN 978-85-86883-60-6. 68
- SANTAELLA, L. *O que é semiótica*. São Paulo: Brasiliense, 2008. 87 p. 2
- SATO, T. et al. Ex vivo model of non-small cell lung cancer using mouse lung epithelial cells. *Oncology Letters*, v. 14, n. 6, p. 6863–6868, 2017. 49
- SHU, Y. et al. Mathematical modeling and bifurcation analysis of pro- and anti-tumor macrophages. *Applied Mathematical Modelling*, v. 88, n. 1, p. 758–773, 2020. 21, 52, 60, 73, 74
- SILVA, K. A. P.; ALMEIDA, L. M. W. Modelagem matemática e semiótica: algumas relações. *VI Conferência Nacional sobre Modelagem na Educação Matemática*, 2009. ISSN 2176-0489. 2, 3

STANKOVIC, B. et al. Immune cell composition in human non-small cell lung cancer. *Frontiers in Immunology*, v. 9, n. 3101, 2019. 14, 15, 16, 20, 21, 49, 50, 60

STANLEY, S. A. et al. The type i ifn response to infection with mycobacterium tuberculosis requires esx-1-mediated secretion and contributes to pathogenesis. *The Journal of Immunology*, v. 178, n. 5, p. 3143–3152, 2007. ISSN 0022-1767. 61

WEINBERG, R. A. *A Biologia do Câncer*. Porto Alegre: Artmed, 2008. 844 p. ISBN ISBN 978-85-363-1568-3. 15, 16, 68

WEITZMAN, M. D.; WANG, J. Y.; VERMA, V. Cell cycle: Dna damage checkpoints. In: *Reference Module in Life Sciences*. [S.l.]: Elsevier, 2021. ISBN 978-0-12-809633-8. ix, 7, 8, 9

ZENG, Y.; LV, X.; DU, J. Natural killer cell-based immunotherapy for lung cancer: Challenges and perspectives (review). *Oncology Reports*, v. 46, n. 5, 2021. ISSN 1791-2431. 20

ZHANG, Z. et al. A tumor-immune model with mixed immunotherapy and chemotherapy: qualitative analysis and optimal control. *Journal of Biological Systems*, v. 30, n. 2, p. 1–26, 2022. 63

Apêndices

A Análise de estabilidade local do modelo matemático ampliado

Neste apêndice, nosso objetivo é estudarmos numericamente a estabilidade local dos pontos de equilíbrio do sistema dinâmico em (4.6), expresso pelo conjunto de equações

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dN}{dt} = \alpha_1 N \left(1 - \frac{N}{K_n}\right) (1 + \alpha_2 M_2) - \beta_1 M_1 N - \beta_2 T_8 N, \\ \frac{dM_1}{dt} = \lambda m_0 + \alpha_3 M_1 \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m}\right) + \rho_2 M_2 - \rho_1 M_1 N - \mu_1 M_1, \\ \frac{dM_2}{dt} = \lambda m_0 + \alpha_4 M_2 N \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{K_m}\right) + \rho_1 M_1 N - \rho_2 M_2 - \mu_2 M_2, \\ \frac{dT_8}{dt} = v(t) + \alpha_5 M_1 T_8 \left(1 - \frac{T_8}{K_t}\right) - \beta_3 M_2 T_8 - \mu_3 T_8, \end{array} \right. \quad (\text{A.1})$$

cujas condições iniciais são tomadas como $N(0) = N_0$, $M_1(0) = M1_0$, $M_2(0) = M2_0$ e $T_8(0) = T8_0$, a função $v(t)$ é definida em (4.5) como

$$v(t) = \begin{cases} 2,857 \cdot 10^{-1}, & t \in [7, 8], \\ 0, & t \in (-\infty, 7) \cup (8, \infty), \end{cases} \quad (\text{A.2})$$

e com os valores de parâmetros estabelecidos na Tabela 6, reproduzidos na Tabela 11, e cujas descrições e unidades de medidas estão na Tabela 5.

Dessa forma, para analisarmos a estabilidade local dos pontos de equilíbrio do sistema (4.6), utilizaremos a mesma técnica discutida no Capítulo 2: obtidos os pontos de equilíbrio P_0 e P_1 do sistema (4.6), recorreremos ao Teorema 2.3 (de Hartman-Grobman) para discutirmos sua linearização e, conseqüentemente, a estabilidade local desses pontos.

Lembramos, também, que, assim como o sistema dinâmico em (2.1), o sistema (4.6) possui muito mais do que apenas dois pontos de equilíbrios obtidos de suas isóclinas nulas. No entanto, para que as hipóteses supostas na modelagem do sistema possam ser testadas e seus resultados interpretados dentro deste contexto, consideramos apenas as soluções positivas para todas as equações, conforme discutido no Capítulo 2.

Tabela 11 – Valores padrões dos parâmetros e condições iniciais do sistema (4.6).

Parâmetros	Valores	Descrição	Referência
α_1	$2,30 \cdot 10^{-1}$	Taxa de crescimento proliferativo de N	Eftimie e Barelle (2021)
α_2	$6,72 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de M_2 no volume tumoral	Eftimie e Barelle (2021)
α_3	$7,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de crescimento de M_1	Eftimie e Barelle (2021)
α_4	$7,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de N no crescimento de M_2	Adotado
α_5	$8,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de influência de M_1 no crescimento de CD8+	Qomlaqi et al. (2017)
β_1	1,344	Taxa de eficácia de M_1 no combate às células N	Eftimie e Barelle (2021)
β_2	4,312	Taxa de eficácia de CD8+ no combate às células N	Kuznetsov e Knott (2001)
β_3	1,344	Taxa de eficácia de M_2 no combate às células CD8+	Adotado
λ	10^{-2}	Taxa de diferenciação de macrófagos M0 em M1/M2	Hao, Schlesinger e Friedman (2016)
ρ_1	$1,00 \cdot 10^{-2}$	Taxa de polarização de M1 para M2	Eftimie e Barelle (2021)
ρ_2	0	Taxa de repolarização de M2 para M1	Eftimie e Barelle (2021)
m_0	1	Fonte constante de macrófagos de fenótipo M0	Hao, Schlesinger e Friedman (2016)
μ_1	$8,70 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células M_1	Eftimie e Barelle (2021)
μ_2	$1,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células M_2	Eftimie e Barelle (2021)
μ_3	$4,00 \cdot 10^{-1}$	Taxa de mortalidade das células CD8+	Qomlaqi et al. (2017)
K_n	1	Capacidade suporte das células neoplásicas	Eftimie e Barelle (2021)
K_m	1	Capacidade suporte dos macrófagos	Eftimie e Barelle (2021)
K_t	1	Capacidade suporte das células CD8+	Adotado
$N(0)$	$2,86 \cdot 10^{-3}$	Valor inicial para células neoplásicas N	Eftimie e Barelle (2021)
$M_1(0)$	$8,93 \cdot 10^{-4}$	Valor inicial para os macrófagos M_1	Eftimie e Barelle (2021)
$M_2(0)$	0	Valor inicial para os macrófagos M_2	Eftimie e Barelle (2021)
$T_8(0)$	$2,86 \cdot 10^{-4}$	Valor inicial para células CD8+ citotóxicas	Adotado

Além das observações, destacaremos que a única diferença entre o estudo que realizaremos a seguir e o que foi realizado no Capítulo 2 é o fato de que as matrizes Jacobianas $A(P_c)$, em (2.63), consideram os valores numéricos dos parâmetros do sistema (4.6) conforme disposto na Tabela 11. Portanto, no final do processo, obteremos numericamente os autovalores e seus respectivos autovetores com a finalidade de analisarmos a estabilidade local dos pontos de equilíbrios P_c , $c = 0, 1$.

A.1 Os pontos de equilíbrio e a análise de estabilidade

Para obtermos os pontos de equilíbrio numericamente, precisaremos considerar os valores dos parâmetros no sistema (4.6) para os cenários de interesse, analisados no Capítulo 4 e simulados no Capítulo 3: primeiro, segundo e sexto cenários.

Nos três cenários citados acima, os únicos parâmetros que possuem seus valores alterados são os parâmetros ρ_1 , ρ_2 e μ_1 . Conforme indicarmos os cenários observados, mostraremos as alterações no valores em cada parâmetro.

Primeiramente, considere que o sistema (4.6) possa ser reescrito como

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = F_1(N, M_1, M_2, T_8), \\ \frac{dM_1}{dt} = F_2(N, M_1, M_2, T_8), \\ \frac{dM_2}{dt} = F_3(N, M_1, M_2, T_8), \\ \frac{dT_8}{dt} = F_4(N, M_1, M_2, T_8), \end{cases} \quad (\text{A.3})$$

do mesmo modo como em (2.59), aplicamos o Teorema 2.3 e, a menos de uma mudança de variável para $F_i(N, M_1, M_2, T_8)$, $i = 1, 2, 3, 4$, encontramos em

$$A(P_c) = \begin{bmatrix} \frac{\partial F_1}{\partial N} & \frac{\partial F_1}{\partial M_1} & \frac{\partial F_1}{\partial M_2} & \frac{\partial F_1}{\partial T_8} \\ \frac{\partial F_2}{\partial N} & \frac{\partial F_2}{\partial M_1} & \frac{\partial F_2}{\partial M_2} & \frac{\partial F_2}{\partial T_8} \\ \frac{\partial F_3}{\partial N} & \frac{\partial F_3}{\partial M_1} & \frac{\partial F_3}{\partial M_2} & \frac{\partial F_3}{\partial T_8} \\ \frac{\partial F_4}{\partial N} & \frac{\partial F_4}{\partial M_1} & \frac{\partial F_4}{\partial M_2} & \frac{\partial F_4}{\partial T_8} \end{bmatrix}_{P_c}, \quad (\text{A.4})$$

um homeomorfismo que relaciona vizinhanças abertas e suficientemente próximas dos pontos de equilíbrio P_c - do sistema (4.6) - com as vizinhanças do ponto $(0, 0, 0, 0)$, solução de um sistema dinâmico linear equivalente.

Consideremos, para a matriz $A(P_c)$, os termos

- para $F_1(N, M_1, M_2, T_8)$

$$\frac{\partial F_1}{\partial N} = \frac{K_n [\alpha_1 (1 + \alpha_2 M_2) - \beta_1 M_1 - \beta_2 T_8] - 2\alpha_1 N (1 + \alpha_2 M_2)}{K_n}, \quad (\text{A.5})$$

$$\frac{\partial F_1}{\partial M_1} = -\beta_1 N, \quad (\text{A.6})$$

$$\frac{\partial F_1}{\partial M_2} = \frac{\alpha_1 \alpha_2 N (K_n - N)}{K_n}, \quad (\text{A.7})$$

$$\frac{\partial F_1}{\partial T_8} = -\beta_2 N; \quad (\text{A.8})$$

- para $F_2(N, M_1, M_2, T_8)$

$$\frac{\partial F_2}{\partial N} = -\rho_1 M_1, \quad (\text{A.9})$$

$$\frac{\partial F_2}{\partial M_1} = \frac{\alpha_3 (K_m - 2M_1 - M_2) - K_m (\rho_1 N + \mu_1)}{K_m}, \quad (\text{A.10})$$

$$\frac{\partial F_2}{\partial M_2} = \frac{\rho_2 K_m - \alpha_3 M_2}{K_m}, \quad (\text{A.11})$$

$$\frac{\partial F_2}{\partial T_8} = 0; \quad (\text{A.12})$$

- para $F_3(N, M_1, M_2, T_8)$

$$\frac{\partial F_3}{\partial N} = \frac{\alpha_4 M_2 (K_m - M_1 - M_2) + \rho_1 K_m M_1}{K_m}, \quad (\text{A.13})$$

$$\frac{\partial F_3}{\partial M_1} = \frac{N (\rho_1 K_m - \alpha_4 M_2)}{K_m}, \quad (\text{A.14})$$

$$\frac{\partial F_3}{\partial M_2} = \frac{\alpha_4 N (K_m - M_1 - 2M_2) - K_m (\rho_2 + \mu_2)}{K_m}, \quad (\text{A.15})$$

$$\frac{\partial F_3}{\partial T_8} = 0; \quad (\text{A.16})$$

- e para $F_4(N, M_1, M_2, T_8)$

$$\frac{\partial F_4}{\partial N} = 0, \quad (\text{A.17})$$

$$\frac{\partial F_4}{\partial M_1} = \frac{\alpha_5 T_8 (K_t - T_8)}{K_t}, \quad (\text{A.18})$$

$$\frac{\partial F_4}{\partial M_2} = -\beta_3 T_8, \quad (\text{A.19})$$

$$\frac{\partial F_4}{\partial T_8} = \frac{\alpha_5 M_1 (K_t - 2T_8) - K_t (\beta_3 M_2 + \mu_3)}{K_t}. \quad (\text{A.20})$$

A.1.1 Primeiro cenário

Dessa forma, teremos no **primeiro cenário** nenhum estímulo à repolarização ($\rho_2 = 0$) e uma taxa de apoptose de macrófagos M1 ($\mu_1 = 0,87$) maior do que sua própria taxa de crescimento ($\alpha_3 = 0,7$) e do que a taxa de apoptose para macrófagos M2 ($\mu_2 = 0,1$). Logo, como estudamos, este cenário indica um microambiente tumoral favorável ao crescimento do número de células neoplásicas N . Então, obtemos

1. Os pontos de equilíbrio $P_0 \approx (0; 0,037; 0,1; 0)$ e $P_1 \approx (0,95; 0,013; 0,85; 0)$.

2. Para o ponto P_0 , a matriz Jacobiana

$$A(P_0) = \begin{bmatrix} 1,95 \cdot 10^{-1} & 0 & 0 & 0 \\ -3,75 \cdot 10^{-4} & -2,92 \cdot 10^{-1} & -2,63 \cdot 10^{-2} & 0 \\ 6,07 \cdot 10^{-2} & 0 & -1 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -5,04 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.21})$$

com autovalores λ_i , $i = 1, 2, 3, 4$, $\Lambda(P_0) = [\lambda_i]_{4 \times 1}$, tal que

$$\Lambda(P_0) = \begin{bmatrix} 1,95 \cdot 10^{-1} \\ -1 \cdot 10^{-1} \\ -2,92 \cdot 10^{-1} \\ -5,04 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.22})$$

e os respectivos autovetores

$$V_1 = \begin{bmatrix} -9,79 \cdot 10^{-1} \\ 5,44 \cdot 10^{-17} \\ -3,44 \cdot 10^{-18} \\ 0 \end{bmatrix}, V_2 = \begin{bmatrix} 1,16 \cdot 10^{-2} \\ 1,35 \cdot 10^{-1} \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix},$$

$$V_3 = \begin{bmatrix} -2,02 \cdot 10^{-1} \\ -9,9 \cdot 10^{-1} \\ -8,25 \cdot 10^{-17} \\ 0 \end{bmatrix}, V_4 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}. \quad (\text{A.23})$$

Os autovalores em (A.22), de modo geral, classificam o ponto P_0 como **instável**, uma vez que nem todos as suas partes reais são negativas.

Em particular, nesse espaço linear homeomórfico, o autovalor λ_1 indica que a reta suporte do autovetor V_1 é um subespaço vetorial instável, enquanto as retas suportes dos demais autovetores constituem subespaços estáveis, de atração ao ponto P_0 . É interessante ressaltar, ainda, que o vetor V_4 indica uma atração acentuada para valores de T_8 na reta de mesma direção.

3. Para o ponto P_1 , analogamente, a matriz Jacobiana

$$A(P_1) = \begin{bmatrix} -3,45 \cdot 10^{-1} & -1,28 & 6,94 \cdot 10^{-3} & -4,11 \\ -1,27 \cdot 10^{-4} & -7,96 \cdot 10^{-1} & -8,9 \cdot 10^{-3} & 0 \\ 7,92 \cdot 10^{-2} & -5,61 \cdot 10^{-1} & -5,82 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -1,54 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.24})$$

com autovalores λ_i , $i = 1, 2, 3, 4$, $\Lambda(P_1) = [\lambda_i]_{4 \times 1}$, tal que

$$\Lambda(P_1) = \begin{bmatrix} -3,34 \cdot 10^{-1} \\ -5,79 \cdot 10^{-1} \\ -8,10 \cdot 10^{-1} \\ -1,53 \end{bmatrix}, \quad (\text{A.25})$$

e os respectivos autovetores

$$\begin{aligned} V_1 &= \begin{bmatrix} -9,48 \cdot 10^{-1} \\ 2,45 \cdot 10^{-1} \\ 8,33 \cdot 10^{-1} \\ 9,57 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, V_2 = \begin{bmatrix} 6,37 \cdot 10^{-3} \\ 3,96 \cdot 10^{-2} \\ 3,05 \cdot 10^{-1} \\ -7,9 \cdot 10^{-4} \end{bmatrix}, \\ V_3 &= \begin{bmatrix} -3,17 \cdot 10^{-1} \\ -9,69 \cdot 10^{-1} \\ 4,61 \cdot 10^{-1} \\ -7,97 \cdot 10^{-2} \end{bmatrix}, V_4 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 2,78 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}. \end{aligned} \quad (\text{A.26})$$

De modo geral, os autovalores em (A.25) classificam o ponto P_1 como localmente assintoticamente **estável**, uma vez que todos eles possuem parte real negativa. Este é o caso no qual o ponto P_1 é de convergência para todos os valores de células e, como esperado, todas as retas suportes dos autovetores V_i , $i = 1, 2, 3, 4$, são subespaços estáveis e, em particular, mostram o crescimento nos valores de N e M_2 e o decréscimo dos demais números de células no microambiente tumoral.

Também é importante ressaltar que, considerando apenas a dinâmica entre M_1 e N , dado os autovetores (A.26), o plano $M_1 \times N$ apresenta um ponto que pode ser classificado como um nó assintoticamente estável.

Portanto, como visto na conclusão do Capítulo 2, com a configuração de P_0 como instável e P_1 como localmente assintoticamente estável, temos que este primeiro cenário revela um estado de neoplasia não controlada.

A.1.2 Segundo cenário

Ao considerarmos, agora, o **segundo cenário**, com um estímulo à repolarização representada pela adoção do valor $\rho_2 = 0,2$, mesmo que mantendo inalteradas as taxas de apoptose dos macrófagos M1, M2, bem como a taxa de crescimento do número de macrófagos M1 no microambiente tumoral, obtemos $\alpha_3 < \mu_1$, indicando que esse microambiente ainda deve ser favorável ao crescimento das células neoplásicas do NSCLC.

Mas, para o sistema (4.6), considere como

1. Pontos de equilíbrio $P_0 \approx (0; 0,07; 0,04; 0)$ e $P_1 \approx (0,47; 0,11; 0,14; 0)$.
2. Para o ponto P_0 , a matriz Jacobiana

$$A(P_0) = \begin{bmatrix} 1,42 \cdot 10^{-1} & 0 & 0 & 0 \\ -6,90 \cdot 10^{-4} & -2,90 \cdot 10^{-1} & 1,52 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 2,16 \cdot 10^{-2} & 0 & 3 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -3,90 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.27})$$

com autovalores $\lambda_i, i = 1, 2, 3, 4, \Lambda(P_0) = [\lambda_i]_{4 \times 1}$, tal que

$$\Lambda(P_0) = \begin{bmatrix} 1,42 \cdot 10^{-1} \\ -3 \cdot 10^{-1} \\ -2,90 \cdot 10^{-1} \\ -3,90 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.28})$$

e respectivos autovetores

$$V_1 = \begin{bmatrix} -1 \\ -6,94 \cdot 10^{-18} \\ -7,36 \cdot 10^{-18} \\ 0 \end{bmatrix}, V_2 = \begin{bmatrix} -1,55 \cdot 10^{-2} \\ 1 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix},$$

$$V_3 = \begin{bmatrix} -4,90 \cdot 10^{-2} \\ -6,64 \cdot 10^{-2} \\ -1,04 \cdot 10^{-14} \\ 0 \end{bmatrix}, V_4 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}. \quad (\text{A.29})$$

E, de modo análogo ao discutido no primeiro cenário, para o ponto P_0 , os autovalores em (A.28) indicam que sua classificação é **instável**. Portanto, o autovetor V_1 , associado ao autovalor λ_1 , revela um subespaço vetorial de instabilidade e afastamento do ponto P_0 , diferentemente dos demais autovetores.

3. Para o ponto P_1 , analogamente, a matriz Jacobiana

$$A(P_1) = \begin{bmatrix} -1,06 \cdot 10^{-1} & -5,67 \cdot 10^{-1} & 3,77 \cdot 10^{-2} & -1,82 \\ -1,08 \cdot 10^{-4} & -4,21 \cdot 10^{-1} & 1,24 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 7,32 \cdot 10^{-2} & -3,61 \cdot 10^{-2} & -1,17 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -4,97 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.30})$$

com autovalores $\lambda_i, i = 1, 2, 3, 4, \Lambda(P_1) = [\lambda_i]_{4 \times 1}$, tal que

$$\Lambda(P_1) = \begin{bmatrix} -9,48 \cdot 10^{-2} + 1,10 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -9,48 \cdot 10^{-2} - 1,10 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -4,54 \cdot 10^{-1} \\ -4,97 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.31})$$

e autovetores associados

$$V_1 = \begin{bmatrix} 8,20 \cdot 10^{-1} \\ 8,20 \cdot 10^{-1} \\ 8,50 \cdot 10^{-1} \\ 9,43 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, V_2 = \begin{bmatrix} -5,10 \cdot 10^{-3} - 1,94 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -5,10 \cdot 10^{-3} + 1,94 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ 5,12 \cdot 10^{-1} \\ 2,69 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix},$$

$$V_3 = \begin{bmatrix} 1,66 \cdot 10^{-1} - 5,12 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ 1,66 \cdot 10^{-1} + 5,12 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -1,29 \cdot 10^{-1} \\ -1,56 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, V_4 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 1,15 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}. \quad (\text{A.32})$$

Assim como no primeiro cenário, este caso mostra o ponto de equilíbrio P_1 como ponto de convergência para os valores de todas as células. Esta classificação como localmente assintoticamente **estável** fica mais evidente ao observarmos que as partes reais dos autovalores em (A.31) são todas negativas.

Temos, também, a existência de autovalores complexos conjugados, λ_1 e λ_2 , indicando que a dinâmica da relação entre M_1 e N , considerando o plano $M_1 \times N$, nos revela um foco/espiral estável.

No entanto, é importante ressaltar que o ponto P_1 converge para valores bem menores do que quando comparado com este mesmo ponto para o primeiro cenário. O valor 0,47 para N , guardada sua ordem de grandeza que discutimos no Capítulo 4, denota um volume tumoral que é primeiramente visível em raio X. Assim, neste caso, poderíamos considerar que o cenário é o de neoplasia controlada.

A.1.3 Sexto cenário

Adotaremos, agora, o conjunto de parâmetros do **sexto cenário** simulado no Capítulo 3 e revisto no Capítulo 4. Nesse cenário, mantivemos os valores referentes à (re)polarização tomados no primeiro cenário ($\rho_1 = 0,1$ e $\rho_2 = 0$), mas assumimos uma taxa de apoptose de macrófagos M1 menor do que nos cenários anteriores ($\mu_1 = 0,37$).

Note que, da análise de estabilidade realizada no Capítulo 2, temos que a desigualdade $\alpha_3 < \mu_1$ resulta na instabilidade de P_0 , referente ao sistema (2.1), uma vez que “força” os autovalores λ_2 e λ_4 , respectivamente em (2.89) e (2.91) de $A(P_0)$ em (2.80), a terem suas partes reais positivas. No entanto, $\alpha_3 > \mu_1$ não garante que todos os autovalores de $A(P_0)$ tenham partes reais negativas, é necessário que além disso seja satisfeita a inequação em (2.93). E, de acordo com as simulações realizadas no sexto cenário do Capítulo 3, essas condições são satisfeitas.

Por isso, reproduziremos tais condições nesta análise para o sistema (4.6) que amplia o modelo matemático proposto inicialmente através do sistema (2.1).

Dessa forma, obtemos

1. Pontos de equilíbrio $P_0 \approx (0; 0,48; 0,02; 0)$ e $P_1 \approx (0,23; 0,16; 0,39; 0)$.

2. Para o ponto P_0 , a matriz Jacobiana

$$A(P_0) = \begin{bmatrix} -3 \cdot 10^{-1} & 0 & 0 & 0 \\ -4,10 \cdot 10^{-3} & -3,10 \cdot 10^{-1} & -2,84 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 3,86 \cdot 10^{-2} & 0 & -1 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -2,10 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.33})$$

com autovalores $\lambda_i, i = 1, 2, 3, 4, \Lambda(P_0) = [\lambda_i]_{4 \times 1}$, tal que

$$\Lambda(P_0) = \begin{bmatrix} -1 \cdot 10^{-1} \\ -3,01 \cdot 10^{-1} \\ -3,10 \cdot 10^{-1} \\ -2,10 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.34})$$

e respectivos autovetores

$$V_1 = \begin{bmatrix} -4,13 \cdot 10^{-18} \\ 1,60 \cdot 10^{-1} \\ 1,19 \cdot 10^{-14} \\ 0 \end{bmatrix}, V_2 = \begin{bmatrix} -8,05 \cdot 10^{-1} \\ 9,91 \cdot 10^{-1} \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix},$$

$$V_3 = \begin{bmatrix} 5,92 \cdot 10^{-1} \\ -6,64 \cdot 10^{-1} \\ -2,53 \cdot 10^{-15} \\ 0 \end{bmatrix}, V_4 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix}. \quad (\text{A.35})$$

Notamos, portanto, que todos os autovalores em (A.34) possuem parte real negativa, classificando P_0 como localmente assintoticamente **estável**. Agora, considerando que

3. Para o ponto P_1 , analogamente, a matriz Jacobiana

$$A(P_1) = \begin{bmatrix} -6,82 \cdot 10^{-2} & -3,16 \cdot 10^{-1} & 2,78 \cdot 10^{-2} & -1,01 \\ -1,65 \cdot 10^{-3} & -1,76 \cdot 10^{-1} & -1,15 \cdot 10^{-1} & 0 \\ 1,23 \cdot 10^{-1} & -6,17 \cdot 10^{-2} & -9,10 \cdot 10^{-2} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & -7,91 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.36})$$

com autovalores $\lambda_i, i = 1, 2, 3, 4, \Lambda(P_1) = [\lambda_i]_{4 \times 1}$, tal que

$$\Lambda(P_1) = \begin{bmatrix} 8,04 \cdot 10^{-2} \\ -2,10 \cdot 10^{-1} + 1,15 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -2,10 \cdot 10^{-1} - 1,15 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -7,91 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.37})$$

e autovetores associados

$$V_1 = \begin{bmatrix} -7,26 \cdot 10^{-1} \\ 7,63 \cdot 10^{-1} \\ 7,63 \cdot 10^{-1} \\ 8,04 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, V_2 = \begin{bmatrix} 2,86 \cdot 10^{-1} \\ 3,16 \cdot 10^{-1} - 3,14 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ 3,16 \cdot 10^{-1} + 3,14 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -2,45 \cdot 10^{-2} \end{bmatrix},$$

$$V_3 = \begin{bmatrix} -6,25 \cdot 10^{-1} \\ -2,39 \cdot 10^{-1} - 4,02 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -2,39 \cdot 10^{-1} + 4,02 \cdot 10^{-1} \cdot i \\ -1,43 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, V_4 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 0 \\ 5,77 \cdot 10^{-1} \end{bmatrix}, \quad (\text{A.38})$$

temos que o ponto P_1 é classificado como instável, uma vez que o autovalor λ_1 , em (A.37), possui parte real positiva.

Em particular, observe que a existência de dois autovalores complexos conjugados e com parte real negativa, indica que o ponto de convergência para os valores de M1 e M2 pode ser classificado como um foco/espiral estável, no plano $M_1 \times M_2$.

Esse resultado também corrobora com o que já era esperado sobre o prognóstico positivo de tumores do NSCLC que possuem números altos de macrófagos M1 em seu microambiente tumoral, segundo Rakaee et al. (2019).

E todo caso, como já discutido no Capítulo 2, a configuração de P_0 como localmente assintoticamente estável e de P_1 como instável, coloca esse cenário como aquele que possui um estado de neoplasia controlada.

Resumidamente, podemos classificar os cenários de simulação do sistema (4.6), com os valores de parâmetros indicados pela Tabela 11 e particularidades de simulação de cada cenário quanto ao tratamento misto, como indicado na Tabela 12.

Tabela 12 – Estado de controle da doença para cenários simulados do sistema (4.6).

Cenários	Estado de controle da neoplasia
1º cenário	Não controlada
2º cenário	Não controlada (tumor estabilizado – primeiramente visível em raio X)
6º cenário	Controlada (inexistência de células tumorais)