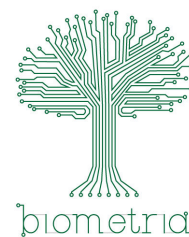




Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu
Instituto de Biociências
Programa de Pós-graduação em Biometria



Dinâmica tumoral do melanoma envolvendo macrófagos e modelagem matemática

Guilherme Rodrigues

Botucatu
2023

Guilherme Rodrigues

Dinâmica tumoral do melanoma envolvendo macrófagos e modelagem matemática

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu , para obtenção do título de Mestre
em Biometria.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernando de Arruda Mancera

Coorientador: Prof. Dr. Jairo Gomes da Silva

Botucatu
2023

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: MARIA CAROLINA ANDRADE CRUZ E SANTOS-CRB

Rodrigues, Guilherme.

Dinâmica tumoral do melanoma envolvendo macrófagos e modelagem matemática / Guilherme Rodrigues. - Botucatu, 2023

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Paulo Fernando de Arruda Mancera

Coorientador: Jairo Gomes da Silva

Capes: 90194000

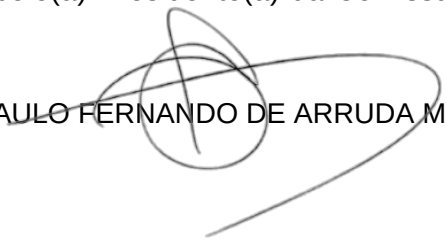
1. Análise de sensibilidade. 2. Receptores de Antígenos Quiméricos. 3. Câncer. 4. Equações diferenciais ordinárias. 5. Imunoterapia.

Palavras-chave: Análise de sensibilidade; CAR-T; Câncer; Equações diferenciais ordinárias; Imunoterapia.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE GUILHERME RODRIGUES, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOMETRIA, DO INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 16 dias do mês de fevereiro do ano de 2023, às 09:00 horas, no(a) Sala LDI 3, no Setor de Bioestatística, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de GUILHERME RODRIGUES, intitulada **Dinâmica tumoral do melanoma envolvendo macrófagos e modelagem matemática**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. PAULO FERNANDO DE ARRUDA MANCERA (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Biodiversidade e Bioestatística / Instituto de Biociências de Botucatu UNESP, Prof. Dr. DIEGO SAMUEL RODRIGUES (Participação Presencial) do(a) Faculdade de Tecnologia - Universidade Estadual de Campinas, Profa. Dra. LUCIANA RODRIGUES CARVALHO BARROS (Participação Virtual) do(a) Centro de Investigação Translacional em Oncologia / Instituto do Câncer do Estado de São Paulo. Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: Aprovado
_____. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. PAULO FERNANDO DE ARRUDA MANCERA



*Ao meu pai, Paulo,
por todos esses anos de apoio incondicional,
dedico-lhe este trabalho.*

Agradecimentos

Ao meu pai, Paulo, pelo apoio e pela confiança incondicional, fundamentais nessa jornada. Sem o seu incentivo nada disso seria possível, por isso serei eternamente grato e esta conquista também é sua.

A Letícia, minha maravilhosa companheira, que vivenciou cada etapa desta jornada, me motivando e me apoiando incondicionalmente em todos os momentos. Obrigado por estar comigo.

Agradeço ao Prof. Dr. Paulo Fernando de Arruda Mancera, por toda dedicação e atenção prestada a mim, e que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço por toda a orientação e por ter me aceitado como orientado, contribuindo para minha formação, não só como profissional, mas também como pessoa, servindo de exemplo a ser seguido.

Ao Prof. Dr. Jairo Gomes da Silva, por aceitar me coorientar e contribuir com este trabalho e com minha formação. Suas correções e considerações foram de suma importância e enriqueceram grandemente este trabalho.

Agradeço a todos os colegas e professores do Programa de Pós-Graduação em Biometria pelo acolhimento e que, direta ou indiretamente, contribuíram para este trabalho com conselhos e sugestões. A todos vocês, muito obrigado.

Ao Programa de Pós-Graduação em Biometria, agradeço por todas as oportunidades a mim oferecidas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro.

“O começo de todas as ciências é o espanto de as coisas serem o que são.”
Aristóteles

Resumo

Embora o melanoma represente uma pequena porcentagem dos casos de câncer no Brasil e no mundo, quando comparado a outras malignidades, ele é tido como um dos mais agressivos, sobretudo por sua grande capacidade de provocar metástases. Suas características imunogênicas, que incluem a capacidade de recrutamento de células do sistema imune, principalmente macrófagos associados tumores (TAM, *tumour-associated macrophages*), tem impacto negativo nas terapias comumente utilizadas, elevando a necessidade do desenvolvimento de técnicas terapêuticas mais eficazes. Neste sentido, a imunoterapia com células CAR-T (CAR, *chimeric antigen receptor*) consiste em uma nova abordagem imunoterapêutica que, embora tenha exibido resultados promissores contra malignidades hematológicas, ainda não obteve bons resultados contra cânceres sólidos, necessitando de investigações acerca dos mecanismos de falha. A modelagem matemática aplicada a oncologia tornou-se uma importante aliada para o entendimento dos complexos mecanismos implicados na progressão tumoral, permitindo a análise de diversos cenários e abrindo caminho para novas abordagens experimentais e clínicas, que nem mesmo seriam cogitadas sem as capacidades das análises teóricas e simulações computacionais. Nesta dissertação, propomos um modelo matemático baseado em equações diferenciais ordinárias (EDO) para descrever a dinâmica do melanoma na presença de macrófagos associados a tumores e um tratamento imunoterápico com células CAR-T para testar cenários de falha e sucesso do tratamento. Realizamos estudos dos pontos de equilíbrio e estabilidade linear, além de uma análise de sensibilidade dos parâmetros do modelo. Como resultados principais, o modelo proposto conseguiu descrever as fases cinéticas das células CAR-T, características a sua dinâmica, além de observar que os macrófagos possuem grande relevância em cenários de fracasso do tratamento, sendo que a modulação das doses iniciais bem como o emprego de imunoterapia em ciclos podem aumentar o tempo de controle tumoral mesmo sob condições de imunossupressão.

Palavras-chave: Análise de Sensibilidade, Câncer, CAR-T, Equações Diferenciais Ordinárias, Imunoterapia, Melanoma.

Abstract

Although melanoma represents a small percentage of cancer cases in Brazil and worldwide, when compared to other malignancies, it is considered one of the most aggressive types of cancer, especially for its great ability to cause metastases. Its immunogenic characteristics, which include the capacity to recruit cells of the immune system, mainly tumour-associated macrophages, have a negative impact on commonly used therapies, raising the need for the development of more effective therapeutic techniques. In this sense, immunotherapy with CAR-T cells consists in a new immunotherapeutic approach that, although it has shown promising results against hematological malignancies, has not yet obtained good results against solid cancers, requiring investigations about the failure mechanisms. Mathematical modeling applied to oncology has become an important ally for the understanding of the complex mechanisms involved in tumor progression, allowing the analysis of various scenarios and opening the way for new clinical and experimental approaches, which would not even be considered without the capabilities of theoretical analysis and computer simulations. In this master thesis, we propose a mathematical model based on ordinary differential equations (ODE) to describe the dynamics of melanoma in the presence of tumor-associated macrophages and an immunotherapeutic treatment with CAR-T cells to test scenarios of treatment failure and success. We performed studies of the equilibrium points and linear stability, in addition to a sensitivity analysis of the model parameters. As main results, the proposed model was able to describe the kinetic phases of CAR-T cells, characteristics of their dynamics, besides observing that macrophages have great relevance in scenarios of treatment failure, and that the modulation of initial doses as well as the use of immunotherapy in cycles can increase the time of tumor control even under conditions of immunosuppression.

Keywords: Sensitivity Analysis, Cancer, CAR-T, Ordinary Differential Equations, Immunotherapy, Melanoma.

Lista de figuras

Figura 1	– Estágios de desenvolvimento do melanoma desde a incidência localizada na epiderme (estágio I) até o espalhamento para outros tecidos pela corrente sanguínea (estágio IV). Figura criada pelo autor com BioRender.	3
Figura 2	– TAM produzem fatores que atuam na progressão do melanoma. Figura adaptada de (ADAMS et al., 2022) e criada com BioRender.	6
Figura 3	– Macrófagos associados a tumores impedem a ação citotóxica dos linfócitos T através de diversos mecanismos como, por exemplo, pela expressão de PD-L1. Figura criada pelo autor com BioRender.	7
Figura 4	– Etapas da produção das células CAR-T. O sangue é coletado do paciente ou doador compatível para que sejam separados os linfócitos T e, após a modificação genética e expansão <i>in vitro</i> , as células são novamente transplantadas ao paciente para combater o câncer. Figura criada pelo autor com BioRender.	9
Figura 5	– Esquematização gráfica do modelo (3.1) mostrando as interações no microambiente tumoral entre as células de melanoma, os TAM e as células CAR-T. Figura elaborada pelo autor com BioRender.	25
Figura 6	– A redução na taxa de recrutamento de TAM para o sítio tumoral implica na estabilidade do ponto de equilíbrio E_2^2	36
Figura 7	– Soluções numéricas do modelo (3.1) com variações no parâmetro θ_3 . Em (a), (b) e (c) as soluções convergem para o ponto de equilíbrio de coexistência (linha tracejada preta) e variações em θ_3 fazem com que as soluções tenham sua convergência voltada para o ponto de equilíbrio E_3 (linha pontilhada magenta), como mostram as Figuras (j), (k) e (i). Em todos os cenários o ponto de equilíbrio E_2 é uma espiral instável. As condições iniciais utilizadas foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ e $C(0) = 10^7$ células.	41
Figura 8	– Retratos de fase em 3D mostrando os pontos de equilíbrio E_c^2 , E_2 e E_3 para valores diferentes de θ_3	42
Figura 9	– Índices de sensibilidade dos parâmetros considerando a população de células tumorais $T(t)$	45
Figura 10	– Índices de sensibilidade dos parâmetros considerando a população de TAM ($M(t)$).	46
Figura 11	– Índices de sensibilidade dos parâmetros considerando a população de células CAR-T ($C(t)$).	47

Figura 12 – Fases do comportamento cinético das células CAR-T captadas pelo modelo proposto. A curva vermelha representa a dinâmica populacional das células CAR-T sob baixa taxa de apoptose ($\kappa_3 = 0,1 \text{ dia}^{-1}$) onde foram captadas as fases de distribuição (região amarela), expansão (região azul), e a fase de contração e persistência (região verde). Na ampliação a fase de distribuição é evidenciada. As condições iniciais utilizadas foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ e $C(0) = 10^6$ células.	49
Figura 13 – O aumento da taxa de apoptose das células CAR-T causa um atraso no pico de expansão. São mostrados em (a) a dinâmica tumoral (curvas pretas) e (b) a dinâmica das células CAR-T (curvas vermelhas).	50
Figura 14 – A modulação da dose imunoterápica inicial pode auxiliar no controle tumoral (permanência da população de células tumorais na região cinza dos gráficos), mesmo sob taxas elevadas de apoptose de células CAR-T, considerando um microambiente sem TAM. A dinâmica tumoral é representada pelas curvas pretas e a dinâmica das células CAR-T pelas curvas vermelhas. A linha tracejada em cor ciano representa o limiar de controle tumoral, estipulado em 10^2 células tumorais. As condições iniciais utilizadas foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$ e $M(0) = 10^6$ células.	51
Figura 15 – A imunossupressão causada por TAM prejudica a cinética populacional das células CAR-T <i>in silico</i> e, consequentemente, o tratamento da doença. Dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas) sob diferentes cenários de imunossupressão devido aos TAM.	53
Figura 16 – Aumentar a dose inicial de células CAR-T contribui para o controle tumoral mesmo sob condições altamente imunossupressoras do microambiente tumoral. São mostradas a dinâmica populacional das células tumoral (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). A região cinza abaixo da linha pontilhada em cor ciano representa o controle tumoral.	55
Figura 17 – A eficiência da citotoxicidade e a dose de células CAR-T mudam a dinâmica do sistema e o tempo de controle tumoral. São mostradas na Figura as dinâmicas das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). As doses iniciais para células tumorais e TAM foram, respectivamente, $T(0) = 2 \cdot 10^6$ e $M(0) = 10^6$ células.	57
Figura 18 – A variação da quantidade de TAM no microambiente tumoral interfere o tratamento imunoterápico. A Figura mostra a dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). As doses iniciais para células tumorais e CAR-T foram, respectivamente, $T(0) = 2 \cdot 10^6$ e $C(0) = 10^8$ células.	58

Figura 19 – Simulações computacionais para diferentes cargas tumorais iniciais sendo mostradas a dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). As curvas representam diferentes valores iniciais de carga tumoral em um paciente após a utilização de terapias neoadjuvantes e adjuvantes, considerando duas doses iniciais de células CAR-T sendo $C(0) = 10^7$ e $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e, para os macrófagos $M(0) = 10^6$ células. 60

Figura 20 – Simulações computacionais para imunoterapia administrada em ciclos. A dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas) é mostrada na Figura. As curvas representam, nos dois blocos superiores, a dinâmica com dose imunoterápica inicial de $5 \cdot 10^7$ células em intervalos de 7 e 14 dias, respectivamente. Nos dois blocos inferiores, as curvas representam a dinâmica com dose imunoterápica inicial de 10^8 células em intervalos de 7 e 14 dias. 62

Lista de tabelas

Tabela 1	– Descrição dos parâmetros do modelo incluindo os valores, unidades e referência.	28
Tabela 2	– Critério de Routh-Hurwitz para polinômios de grau $n \leq 4$. Adaptado de Edelstein-Keshet (2005).	34
Tabela 3	– Resumo dos pontos de equilíbrio associados ao modelo proposto e estabilidade linear.	43
Tabela 4	– Índices de sensibilidade de primeira ordem e de ordem total dos parâmetros do modelo (3.1) considerando a população de células tumorais ($T(t)$).	45
Tabela 5	– Índices de sensibilidade de primeira ordem e de ordem total dos parâmetros do modelo (3.1) considerando a população de TAM ($M(t)$).	46
Tabela 6	– Índices de sensibilidade de primeira ordem e de ordem total dos parâmetros do modelo (3.1) considerando a população de células CAR-T ($C(t)$).	47

Lista de abreviaturas e siglas

ALM	<i>Acral Lentiginous Melanoma</i>
APC	<i>Antigen Presenting Cells</i>
ATP	Adenosina Trifosfato
ATC	<i>Adoptive T-cell</i>
CAR-T	<i>Chimeric Antigen Receptor</i>
CD	<i>Clusters of Differentiation</i>
CRS	<i>Cytokine Release Syndrome</i>
CTLA4	<i>Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4</i>
DAMP	<i>Damage-Associated Molecular Patterns</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i>
GBM	Glioblastoma
GD2	Disialogangliosídeo
gp100	Glicoproteína 100
IL	Interleucina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
MAGE	<i>Melanoma-Associated Antigen</i>
MART-1	<i>Melanoma Antigen Recognized by T cells</i>
MCSP	<i>Melanoma-associated Chondroitin Sulfate Proteoglycan</i>
Melan-A	<i>Melanoma Antigen</i>
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
NCI	<i>National Cancer Institute</i>
NK	<i>Natural Killer Cell</i>
PAMP	<i>Pathogen-associated Molecular Patterns</i>
PD1	<i>Program Death 1</i>

PD-L1	<i>Program Death Ligand 1</i>
PRR	<i>Pattern Recognition Receptor</i>
SSM	<i>Superficial Spreading Melanoma</i>
TAM	<i>Tumor-Associated Macrophages</i>
TIL	<i>Tumor-Infiltrating Lymphocytes</i>
TME	<i>Tumor Microenvironment</i>
TNF	<i>Tumor Necrose Factor</i>
UV	Ultravioleta
VEGFR-2	<i>Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2</i>

Sumário

1	INTRODUÇÃO	1
1.1	Aspectos biológicos do melanoma	2
1.2	Macrófagos associados a tumores contribuem para progressão do melanoma	4
1.3	Imunoterapia com células CAR-T	7
1.4	Terapia com células CAR-T no contexto do melanoma	10
1.5	Objetivos	13
2	MODELOS MATEMÁTICOS EM ONCOLOGIA	14
2.1	Modelagem matemática do crescimento tumoral	14
2.2	Modelagem matemática envolvendo o sistema imunológico	18
3	UM MODELO MATEMÁTICO PARA A DINÂMICA TUMORAL DO MELANOMA	23
3.1	Revisão bibliográfica dos parâmetros do modelo	26
3.2	Pontos de equilíbrio	28
3.3	Análise de estabilidade local	32
3.4	Análise de sensibilidade global	43
3.5	Simulações computacionais	48
3.5.1	Cenário 1: avaliando os efeitos imunossupressores do melanoma e as fases cinéticas das células CAR-T sem a presença de TAM	48
3.5.2	Cenário 2: TAM influenciam negativamente a imunoterapia de células CAR-T	52
3.5.3	Cenário 3: aumentar a dose imunoterápica inicial pode auxiliar a vencer o microambiente imunossupressor	54
3.5.4	Cenário 4: a modulação da carga inicial de células tumorais e macrófagos altera a dinâmica geral	58
3.5.5	Cenário 5: doses imunoterapêuticas administradas em ciclos podem aumentar o tempo de controle tumoral	61
4	CONSIDERAÇÕES FINAIS	64
	Referências	65

Apêndices	72
APÊNDICE A – <i>HALLMARKS</i> DO CÂNCER E CONCEITOS BÁSICOS DE IMUNOLOGIA	73
A.1 <i>As Hallmarks</i> do câncer	73
A.2 Conceitos básicos de imunologia	75
A.2.1 Sistema imune inato	76
A.2.2 Sistema imune adaptativo	77
APÊNDICE B – ANÁLISE DIMENSIONAL DO MODELO	80

1 Introdução

O câncer representa uma das principais causas de morte em todo o mundo. De acordo com dados da Organização Mundial da Saúde ([WHO, 2021](#)), cerca de 10 milhões de pessoas morreram em decorrência de algum tipo de câncer no mundo em 2020. Para o Brasil, o Instituto Nacional do Câncer ([INCA, 2022](#)) estima que ocorrerão 704 mil novos casos de câncer no triênio 2023 – 2025. Além de causar graves debilitações, o câncer também tem impactos negativos de caráter social e econômico na população, aumentando a importância de investimentos governamentais em políticas de prevenção e autocuidado, tendo em vista que, se descoberto no início, as chances de cura aumentam consideravelmente.

A palavra câncer, cuja etimologia provém do grego “*karkinos*”, refere-se a um conjunto de mais de 100 tipos diferentes de doenças consideradas malignas, que possuem determinadas características em comum¹. No decorrer da história, pesquisas mostraram que o câncer é resultado de uma série de eventos que ocorrem ao nível molecular e promovem modificações genéticas que alteram as propriedades básicas das células. Por essa razão, atualmente o câncer é considerado uma doença genética em que, devido a diversos fatores, os genes responsáveis pelo controle celular sofrem mutações, funcionando inadequadamente ([MUKHERJEE, 2012](#); [HANAHAHAN; WEINBERG, 2000](#)).

De modo geral, o câncer tem como ponto de partida o acúmulo progressivo de mutações genéticas, processo conhecido como carcinogênese, que ocorre quando as células começam a se multiplicar de maneira desordenada devido a danos causados no DNA (do inglês, *Deoxyribonucleic Acid*). Devido a tais danos, o controle basal que impede a multiplicação desordenada das células é desativado, dando início a neoplasia² ([CHAMMAS, 2013](#)).

Um dos tipos mais agressivos de câncer é o melanoma cutâneo. Embora represente um baixo percentual de casos e mortes quando comparado a outros tipos de câncer, o melanoma possui características que o tornam um importante problema de saúde pública. No Brasil, estima-se para 2023 cerca de 8.930 novos casos de melanoma, caracterizando um aumento de aproximadamente 5,68% quando comparado aos dados de 2020 ([INCA, 2022](#)). Este tipo de câncer possui alto

¹ O Apêndice A exibe um breve resumo das *hallmarks* do câncer, fruto dos trabalhos de Hanahan e Weinberg que visaram unificar as características comuns a todos os tipos de câncer ([HANAHAHAN; WEINBERG, 2000](#); [HANAHAHAN; WEINBERG, 2011](#); [HANAHAHAN, 2022](#)).

² Proliferação de células anormais com crescimento independente de estímulos e que tendem a perder sua diferenciação.

potencial para provocar metástases, o que reduz de maneira drástica as chances de sobrevivência do paciente se descoberto tardiamente. Além disso, tratamentos normalmente utilizados, como a quimioterapia, possuem baixa eficácia, elevando a importância do desenvolvimento de pesquisas científicas voltadas para o desenvolvimento de novas modalidades de tratamento.

1.1 Aspectos biológicos do melanoma

O melanoma é uma doença genética complexa que pode afetar a pele (melanoma cutâneo), olhos (melanoma uveal), sola dos pés e palmas das mãos (melanoma acral), o tecido ungueal (melanoma ungueal), e seu gerenciamento exige uma compreensão aprofundada da biologia subjacente ao seu início e progressão.

A pele é o maior órgão do corpo humano, abrangendo uma área superficial de aproximadamente dois metros quadrados em um adulto, é dividida em três camadas principais: epiderme, derme e hipoderme. Este órgão consiste na primeira linha de defesa do organismo contra agentes presentes no ambiente como produtos químicos, radiação ultravioleta (UV), microorganismos e traumas mecânicos, além de ser um órgão sensorial imunologicamente ativo que possui grande importância na regulação da temperatura corporal (GRAY-SCHOPFER; WELLBROCK; MARAIS, 2007; HWA; BAUER; COHEN, 2011).

Os melanócitos cutâneos localizam-se, principalmente, na camada basal da epiderme e sua função é produzir melanina, proteína responsável por dar cor a pele e aos olhos. A melanina é sintetizada em organelas denominadas melanossomas, as quais são posicionadas nas áreas perinucleares (limite nuclear) com a finalidade de proteger o DNA dos danos mediados por raios UV, absorvendo e dissipando a energia dessa radiação e resultando no bronzeamento da pele (OSTROWSKI; FISHER, 2021).

O melanoma tem início quando os melanócitos saudáveis sofrem mutações genéticas que os induzem a se multiplicar de maneira desordenada, passando suas características para as próximas gerações de células, formando um tumor maligno. A avaliação do grau de disseminação do melanoma, ou estadiamento, é realizado com base no sistema do *American Joint Committee on Cancer* (AJCC) de 2018, que considera, entre outros fatores, a localização do tumor primário, tamanho do tumor, número de tumores e metástase (KEUNG; GERSHENWALD, 2018). De acordo com este sistema, pacientes que apresentam tumor disseminado por todo o corpo são considerados portadores de melanoma metastático, o grau mais letal da doença (SOLTANTOYEH et al., 2021).

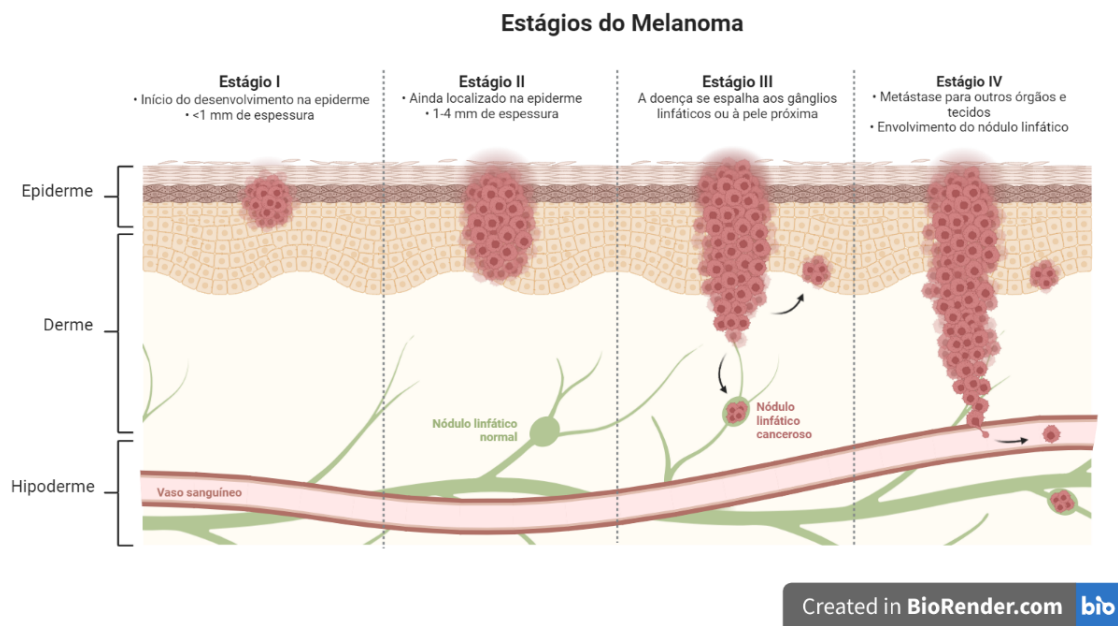


Figura 1 – Estágios de desenvolvimento do melanoma desde a incidência localizada na epiderme (estágio I) até o espalhamento para outros tecidos pela corrente sanguínea (estágio IV). Figura criada pelo autor com BioRender.

O melanoma é conhecido por ser muito resistente a quimioterápicos, mesmo os administrados de maneira direcionada, fato que interfere no sucesso do tratamento a longo prazo. Quando identificado nos estágios iniciais, cerca de 80% dos casos são tratados com cirurgia, aumentando significativamente as chances de cura e sobrevida do paciente. Entretanto, se descoberto tardiamente, as chances de sobrevida decaem bastante (GRAY-SCHOPFER; WELLBROCK; MARAIS, 2007).

Além da quimioterapia e cirurgia, outras técnicas de tratamento são utilizadas no combate ao melanoma. Dependendo do contexto e do estágio da doença, a imunoterapia, terapia alvo e radioterapia também podem ser consideradas. A imunoterapia tem se mostrado uma técnica cada vez mais promissora contra o melanoma devido suas características imunogênicas. Como exemplo podemos citar os inibidores de *checkpoint* imunológico que impedem as células tumorais de inibir a ação efetora das células imunes, e a imunoterapia de células CAR-T, que consiste na modificação genética de linfócitos T para reconhecerem antígenos específicos de melanoma (SOLTANTOYEH et al., 2021).

Os fatores de risco para melanoma incluem pele com baixo grau de pigmentação, número elevado de pintas, conhecidas clinicamente como nevos melanocíticos benignos ou atípicos (displásicos), além de um histórico familiar de melanoma. Em particular, a exposição exacerbada à radiação UV é um dos principais fatores de risco para melanoma devido a sua alta capacidade de causar alterações genéticas na pele, estimulando a produção de fatores de crescimento e prejudicando sua função imunológica. Além disso, a radiação UV tem sido relacionada a indução

de respostas inflamatórias envolvendo macrófagos e neutrófilos, os quais podem promover a sobrevivência das células de melanoma, bem como auxiliar na imunoevasão e angiogênese (MILLER; JR, 2006; OSTROWSKI; FISHER, 2021).

1.2 Macrófagos associados a tumores contribuem para progressão do melanoma

Os macrófagos fazem parte de uma ampla gama celular pertencente ao sistema imune inato³ e atuam na eliminação de patógenos, células senescentes e células mortas. Além disso, participam ativamente na manutenção da homeostase e reparo tecidual, por exemplo, no processo de cicatrização de feridas e regeneração celular. Além disso, macrófagos podem ativar outras células do sistema imune através da produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias como interleucina-1 β (IL-1 β), IL-6, IL-12 e o fator de necrose tumoral- α (TNF- α , *Tumour Necrose Factor* α). Assim sendo, a exposição a certas citocinas resulta em uma resposta adequada dos macrófagos a várias adversidades que podem afetar o bom funcionamento do organismo de modo geral (LENDECKEL; VENZ; WOLKE, 2022).

A depender do microambiente circundante e do contexto imunológico, os macrófagos podem adquirir características funcionais distintas através da polarização, que pode levar a formação de macrófagos “classicamente ativados” (tipo M1) ou “alternativamente ativados” (tipo M2), representando as principais categorias funcionais dos macrófagos (LENDECKEL; VENZ; WOLKE, 2022). Macrófagos do tipo M2 também são usualmente denominados macrófagos associados a tumores (TAM, *Tumor-associated macrophages*) por secretarem citocinas e quimioquinas relacionadas a progressão tumoral, atuando na angiogênese e neovascularização, reparo tecidual, regulação imunológica, metástase e quimiorresistência (SHEN; DU; YE, 2021). Esta classe de macrófagos constitui uma população celular no microambiente tumoral (TME, *Tumour Microenvironment*) que pode chegar a até 50% do total de células e, em alguns tumores sólidos, como o melanoma, são tidos como fundamentais para a progressão tumoral (VITALE et al., 2019). Os TAM apoiam a progressão do melanoma por meio de vários mecanismos:

- **Plasticidade funcional.** TAM adaptam-se rapidamente as perturbações do TME, inclusive durante a utilização de tratamentos imunoterápicos (MANTOVANI et al., 2017; VITALE et al., 2019).
- **Intensificação da progressão tumoral.** TAM secretam fatores de crescimento, moléculas pró-angiogênicas como VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) e fatores imunossuppressores como IL-10 (MANTOVANI et al., 2017; VITALE et al., 2019).

³ Informações complementares acerca dos conceitos básicos de imunologia contemplando o sistema imune inato e adaptativo, bem como as células constituintes de cada uma dessas categorias, estão contidas no Apêndice A

- **Proliferação e metástase.** Ao produzirem enzimas que digerem a matriz extracelular como TNF- α (*Tumour Necrosis Factor*), bem como enzimas que atuam no crescimento tumoral como TGF- β (*Tumour Growth Factor*), TAM abrem caminho para a disseminação de células tumorais a partir do local do tumor primário. A capacidade de disseminação é aumentada pela secreção de metaloproteínases, como a gelatinase B (MMP-9), que possibilitam o remodelamento da matriz extracelular (MANTOVANI et al., 2017; VITALE et al., 2019; ADAMS et al., 2022). Segundo Adams et al. (2022), acredita-se que os TAM desempenham um papel importante na metástase do melanoma, tanto na mudança do fenótipo do câncer, um processo semelhante à transição epitelial para mesenquimal, quando no estabelecimento de nichos pré-metastáticos, promovendo a sobrevivência e o crescimento das células malignas à medida que deixam o tumor primário, invadindo locais teciduais distantes.
- **Angiogênese tumoral.** Quando tumores sólidos crescem até um certo tamanho, o TME se torna hipóxico, ou seja, apresenta *déficit* de oxigênio. Para corrigir isto, um “interruptor angiogênico” é ativado promovendo a vascularização do tumor para o fornecimento de nutrientes e oxigênio. Este é o principal mecanismo de suporte nutricional para as células malignas intermediado por TAM. Além disso, este mecanismo intensifica o recrutamento de TAM para o sítio tumoral, aumentando sua população no TME (NIELSEN; SCHMID, 2017; LIN; XU; LAN, 2019; VITALE et al., 2019).
- **TAM são identificados por marcadores.** Alguns marcadores são utilizados para identificar TAM, os chamados grupos de diferenciação (CD, *clusters of differentiation*), tais como CD163 e CD206, encontrados em diversas neoplasias em progressão, incluindo o melanoma (VITALE et al., 2019).

A Figura 2 mostra uma representação gráfica dos TAM e sua atuação no microambiente do melanoma.

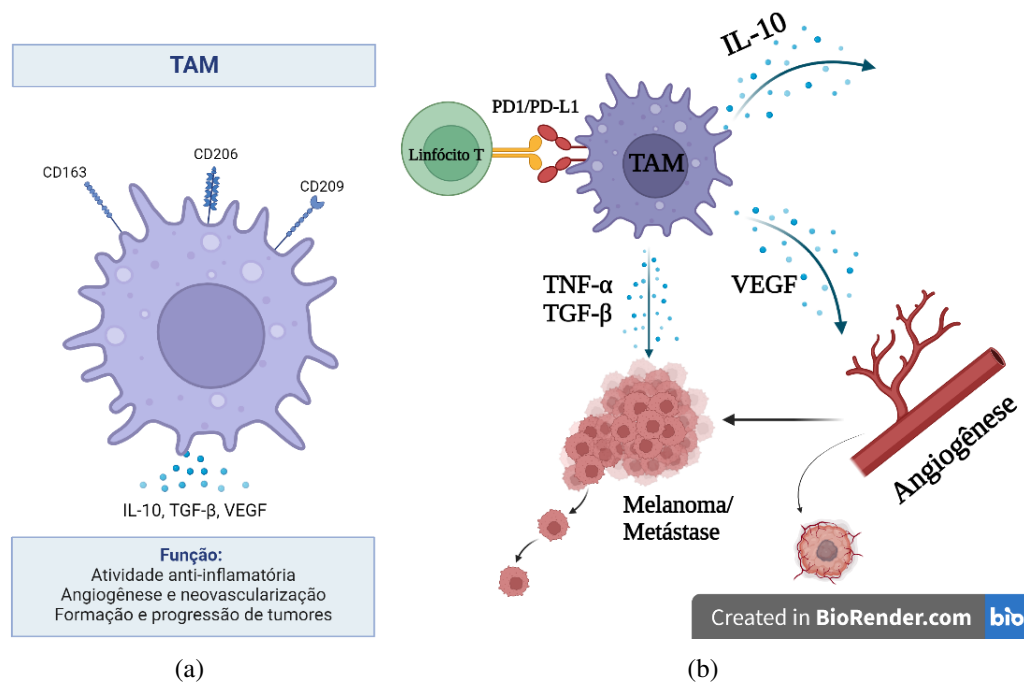


Figura 2 – TAM produzem fatores que atuam na progressão do melanoma. Figura adaptada de (ADAMS et al., 2022) e criada com BioRender.

Outra característica dos TAM é a capacidade de evitar a infiltração tumoral por linfócitos T citotóxicos, dificultando a ação destas células no combate ao tumor. Macrófagos associados a tumores suprimem as células imunes produzindo citocinas anti-inflamatórias como IL-10, bem como enzimas que esgotam os aminoácidos essenciais para a função dos linfócitos T, como a Arginase 1, ou expressando ligantes de *checkpoint* imunológico como PD-L1 (do inglês, *Program Death Ligand 1*) (RODRIGUEZ-GARCIA et al., 2021; ADAMS et al., 2022). No melanoma, a expressão do PD-L1 não só é crucial para a manutenção de um microambiente imunossupressor, mas também pode ser um fator prognóstico independente e até representar um biomarcador para prever a eficácia dos anticorpos anti-PD1 no melanoma. Além disso, a expressão de PD-L1 nas células do melanoma mantém a função imunossupressora dos TAM (FUJIMURA, 2022). A Figura 3 exibe uma esquematização do recrutamento dos TAM ao microambiente tumoral e sua ação de inibição dos linfócitos T efetores devido ao eixo PD1/PD-L1.

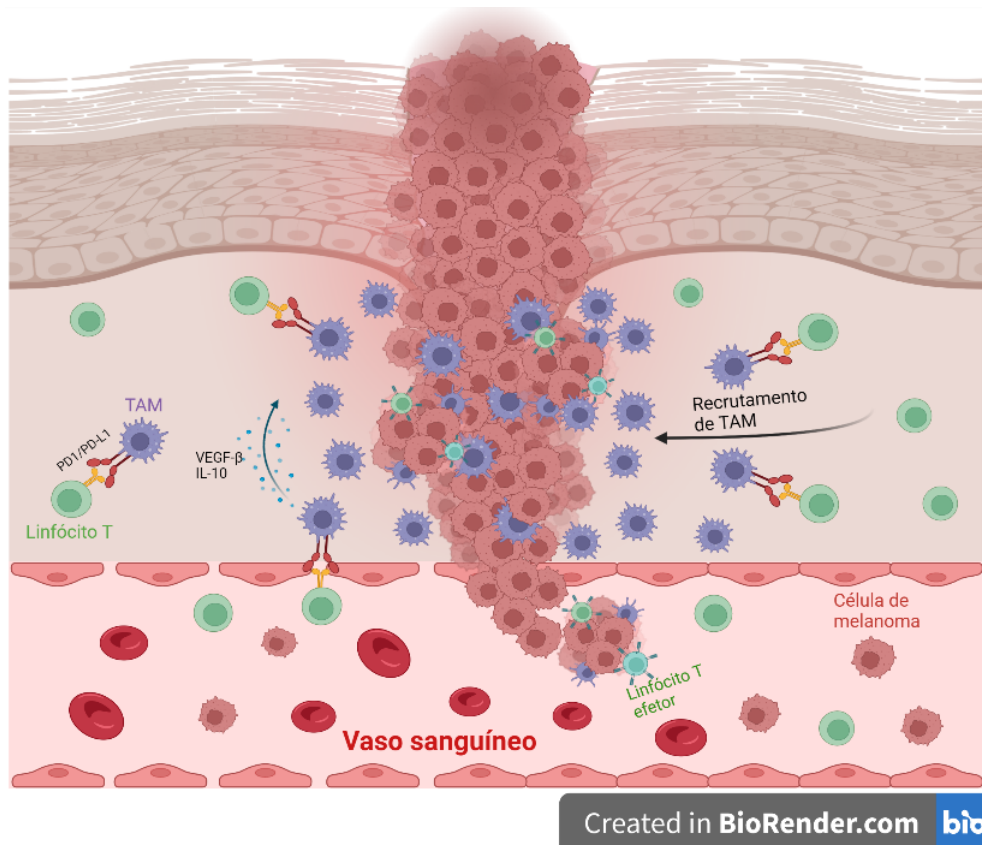


Figura 3 – Macrófagos associados a tumores impedem a ação citotóxica dos linfócitos T através de diversos mecanismos como, por exemplo, pela expressão de PD-L1. Figura criada pelo autor com BioRender.

De fato, os mecanismos imunossupressores inerentes aos TAM diminuí a eficácia de tratamentos imunoterápicos, e para muitos tipos de tumores sólidos como o melanoma, um alto grau de infiltração de TAM tem sido associado a um mau prognóstico, embora muitos mecanismos subjacentes às interações celulares ainda não sejam bem compreendidos (MANTOVANI et al., 2017; LIN; XU; LAN, 2019; LENDECKEL; VENZ; WOLKE, 2022).

1.3 Imunoterapia com células CAR-T

Devido à capacidade de citotoxicidade direcionada ao antígeno, o linfócito T se tornou um importante aliado no combate ao câncer. Um exemplo é a terapia adotiva de transferência de células T (ATC, *Adoptive T-Cell*) em que são utilizados linfócitos T do paciente ou de um doador compatível para combater o câncer. Uma das terapias ATC consiste na chamada terapia de linfócitos infiltrantes de tumor (TIL) com a finalidade de aumentar a efetividade da eliminação de tumores mediados por células T através da injeção de uma grande quantidade de linfócitos T específicos de tumor em pacientes com câncer. Essa terapia começou em estudos com melanoma metastático no final da década de 80 no *National Cancer Institute* (NCI), nos Estados Unidos da América e, desde então, a maioria dos estudos e ensaios clínicos tem se concentrado neste tipo

de terapia para melanoma devido a sua alta imunogenicidade (HOUOT et al., 2015; DELUCIA; LEE, 2022). Para que a terapia ATC baseada em TIL resulte em respostas duradouras, as células T efectoras com atividade antitumoral devem estar presentes no tumor, fato que não ocorre na maioria dos tipos de câncer, incluindo o melanoma, representando um importante desafio para sua aplicabilidade (ADAMS et al., 2022). Assim sendo, outras abordagens que visam ajustar a especificidade e a proliferação das células T tem sido objetos de estudo, como a terapia com células CAR-T (WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020; SOLTANTOYEH et al., 2021; DELUCIA; LEE, 2022).

A terapia com células CAR-T possui semelhanças à terapia TIL, no entanto, após a coleta das células T do sangue periférico do paciente ou doador compatível, elas passam por modificações genéticas para produzirem o chamado receptor de antígeno quimérico (CAR). Receptores de antígenos quiméricos sintéticos podem direcionar a citotoxicidade específica para uma molécula alvo na superfície da célula maligna sem depender das moléculas de MHC (do inglês, *Major Histocompatibility Complex*), reguladas negativamente pelas células cancerosas, tornando as células apresentadoras de antígenos incapazes de cumprir seu papel de apresentar o antígeno tumoral aos linfócitos T convencionais, inviabilizando a ação citotóxica contra células malignas (WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020; SOLTANTOYEH et al., 2021). A Figura 4 mostra as etapas da produção das células CAR-T, desde a coleta até sua atuação contra o câncer.

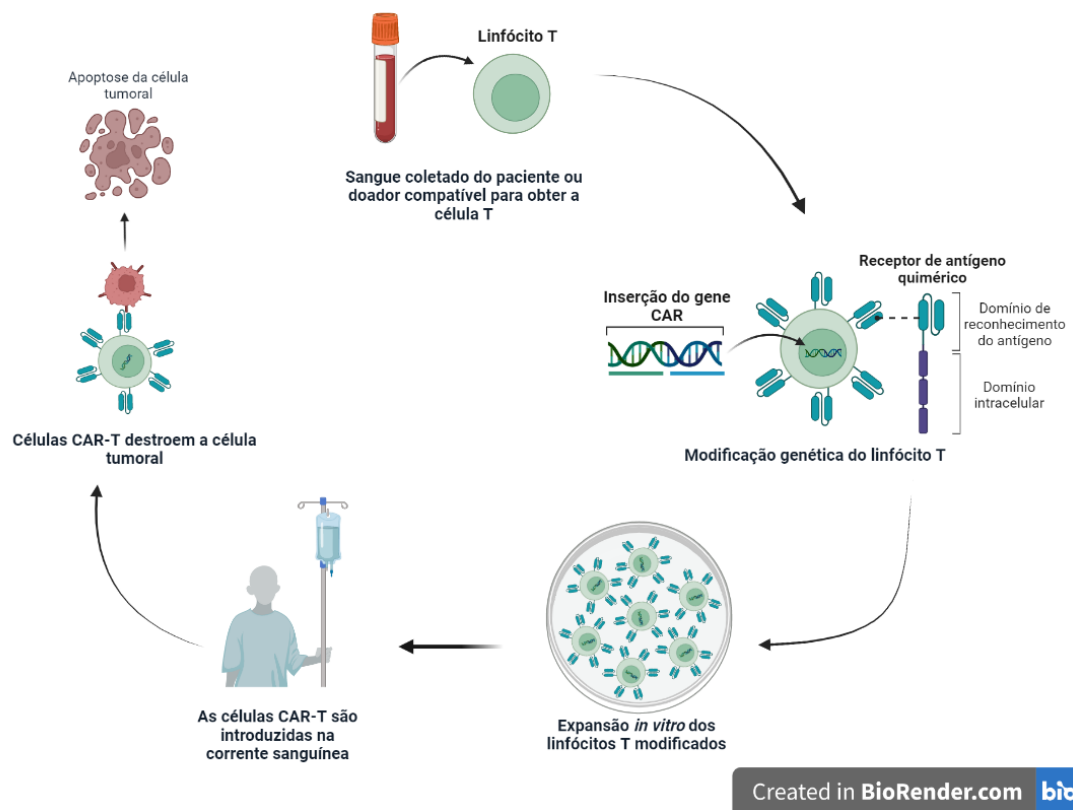


Figura 4 – Etapas da produção das células CAR-T. O sangue é coletado do paciente ou doador compatível para que sejam separados os linfócitos T e, após a modificação genética e expansão *in vitro*, as células são novamente transplantadas ao paciente para combater o câncer. Figura criada pelo autor com BioRender.

As células CAR-T expressam receptores de antígenos quiméricos com três regiões principais: domínio extracelular, intracelular e transmembranar. O domínio extracelular consiste em um domínio de ligação derivado do fragmento variável de cadeia única (scFv, *single chain variable fragment*) de um anticorpo monoclonal (mAB, *monoclonal Antibody*) que tem como alvo um antígeno tumoral de maneira não restrita ao MHC. O domínio extracelular está ligado ao domínio intracelular CD3 ζ , com ou sem domínios co-estimuladores adicionais na região intracelular pela região transmembranar, para desencadear a ativação de linfócitos T. O domínio transmembranar é considerado um requisito puramente estrutural para ancorar a proteína CAR a membrana celular, com pouco ou nenhum efeito na sua função (SOLTANTOYEH et al., 2021; WANG; GUO; HAN, 2017).

Dada a modularidade do domínio das proteínas de sinalização da superfície celular, misturas e combinações de domínios de direcionamento extracelular e domínios de sinalização internos podem ser montados usando engenharia de proteínas, oferecendo muitas opções para adaptar CARs a tumores específicos (WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020). Devido a essa modularidade, as células CAR-T são classificadas em cinco gerações:

- **CAR-T de 1ª geração:** baseia-se na cadeia ζ da proteína CD3 (CD3 ζ) para simular a

sinalização do receptor de células T, no entanto, se mostrou ineficaz em ensaios clínicos devido à proliferação limitada de células T e produção de citocinas (WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020).

- **CAR-T de 2ª geração:** inclui a CD3 ζ e uma molécula coestimuladora de células T como, por exemplo, a CD28 ou CD137 (4-1BB) (SOLTANTOYEH et al., 2021).
- **CAR-T de 3ª geração:** consiste na CD3 ζ e duas moléculas coestimuladoras de células T, por exemplo, a CD28 com a CD137 ou a CD28 com a CD134 (OX-40) (SOLTANTOYEH et al., 2021).
- **CAR-T de 4ª geração:** baseada nos produtos CAR de 2ª geração, são construídas em junção com uma citocina ou quimiocina indutível, ou expressa constitutivamente, como a IL-12, por exemplo (SOLTANTOYEH et al., 2021).
- **CAR-T de 5ª geração:** sendo explorada atualmente, também é baseada nos produtos CAR de 2ª geração, mas possuem um domínio de cadeia β do receptor de IL-2 citoplasmático truncado com um sítio de ligação para o fator de transcrição STAT3 (do inglês, *Signal Transducers and Activators of Transcription 3*) (TOKAREW et al., 2019).

Variantes adicionais das células CAR-T exibidas anteriormente, tais como células CAR-T duplas, CAR-T induzíveis e CAR-T divididas foram desenvolvidas para melhorar ainda mais a especificidade e o controle das células T infundidas (TOKAREW et al., 2019).

A terapia com células CAR-T pode ter efeitos adversos e afetar muitos sistemas diferentes com graus variados de gravidade em que, a síndrome de liberação de citocinas (CRS, *cytokine release syndrome*) e a neurotoxicidade são os efeitos mais comuns em pacientes (DELUCIA; LEE, 2022). A CRS é causada pela ativação e proliferação intensa de células CAR-T no paciente, e geralmente ocorre rapidamente após a transferência das células. Portanto, a utilização dessa imunoterapia requer uma ampla gama de cuidados clínicos, encarecendo o tratamento significativamente.

1.4 Terapia com células CAR-T no contexto do melanoma

A eficácia da imunoterapia com células CAR-T tem sido avaliada em diferentes tumores sólidos e, devido ao alto grau de imunogenicidade do melanoma, ele tem sido utilizado como modelo experimental em estudos que envolvem esta técnica imunoterapêutica (SOLTANTOYEH et al., 2021). Embora esta terapia tenha exibido resultados promissores contra malignidades hematológicas, sua utilização contra cânceres sólidos ainda não obteve o mesmo sucesso. São diversos os fatores que prejudicam a eficácia desta imunoterapia contra o melanoma e que, inclusive, podem ser utilizadas como hipóteses para a elaboração de modelos matemáticos. Logo, alguns destes fatores são listados a seguir.

- **Migração insuficiente de células T.** A desmoplasia⁴, associada à progressão do melanoma, impede a migração normal dos linfócitos T para o sítio tumoral. Além disso, as células do estroma, incluindo TAM, podem dificultar a penetração das células CAR-T e prejudicar sua capacidade de infiltração no leito do tumor devido à regulação negativa de diversas quimiocinas. Para superar essa barreira, a manipulação de células CAR-T para super-expressar receptores específicos de quimiocinas ou o uso de fármacos para regular positivamente a expressão de quimiocinas no local do tumor, pode resultar em infiltração e penetração aumentadas de células CAR-T no melanoma (SOLTANTOYEH et al., 2021; SIMON; USLU, 2018).
- **Microambiente tumoral imunossupressor.** O TME pode suprimir a atividade citotóxica dos linfócitos T mantendo o crescimento do tumor. Como já discutido, o TME do melanoma é complexo e munido de diversos elementos imunossupressores tais como citocinas, fatores de crescimento, condições hipóxicas e várias células imunes, incluindo TAM. Todos esses fatores trabalhando em conjunto colaboram para a progressão e metástase do melanoma e, além disso, podem diminuir a atividade antitumoral das células CAR-T. A utilização conjunta de fármacos inibidores de *checkpoint* imunológico e células CAR-T tem sido utilizada no tratamento de melanoma em alguns trabalhos pré-clínicos. Por exemplo, imunoterápicos anti-PD1 e anti CTLA4⁵, fármacos imunoterapêuticos consolidados contra melanoma metastático, podem ser utilizados para este fim (SIMON; USLU, 2018; WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020; SOLTANTOYEH et al., 2021).
- **Seleção do antígeno ideal.** Ao utilizar células CAR-T contra o câncer é esperado que ocorra a liberação de citocinas pró-inflamatórias no encontro com o antígeno alvo. No entanto, antígenos expressos por células malignas também podem ser expressos por células de tecidos saudáveis, resultando na toxicidade conhecida como *on-target/off tumor*, onde as células CAR-T também atacam células saudáveis. Portanto, identificar moléculas alvo que causam poucos efeitos adversos ao paciente é um desafio a ser superado (SOLTANTOYEH et al., 2021; RAZAVI et al., 2021).

Dada a importância da seleção dos antígenos ideais de melanoma, muitos foram sendo identificados. Soltantoyeh et al. (2021) e Razavi et al. (2021) realizaram uma revisão bibliográfica acerca dos estudos pré-clínicos e clínicos que envolvem diversos antígenos expressos em células de melanoma com potencial para utilização em células CAR-T com aplicações em melanoma e melanoma metastático. Alguns dos principais antígenos de melanoma considerados nesses estudos clínicos e pré-clínicos são apresentados a seguir.

⁴ Crescimento contínuo do tecido fibroso e conjuntivo ao redor do tumor.

⁵ O antígeno 4 do linfócito T citotóxico (CTLA4, *cytotoxic T lymphocyte antigen 4*) e a proteína de morte celular programa 1 (PD1, *program death 1*) são moléculas de *checkpoint* imunológico de células T que se complementam funcionalmente e garantem que as respostas das células T preservem autotolerância, mecanismo que alguns cânceres utilizam para fugir do sistema imune. Fármacos anti-PD1 e anti-CTLA4 permitem que os linfócitos T atuem sem restrições contra o câncer (WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020).

- Estudos clínicos e pré-clínicos mostraram que células CAR-T direcionadas ao antígeno CD126, superexpresso no melanoma, de maneira dependente da dose, tiveram uma potente função antitumoral *in vitro* e uma forte resposta antitumoral em modelo de camundongo com melanoma metastático.
- O MCSP (*Melanoma-Associated Chondroitin Sulfate Proteoglycan*), uma proteína de superfície expressa em cerca de 90% das lesões de melanoma, tem importante influência nos processos de migração, invasão, angiogênese e metástase. Estudos clínicos e pré-clínicos mostraram que células CAR-T anti-MCSP exibiram uma expressão reduzida de PD-1, aumentando a efetividade da imunoterapia. Além disso, foram capazes de secretar maiores quantidades de citocinas e um bom efeito citolítico contra a linhagem celular de melanoma A375M.
- A inibição do receptor VEGFR-2 (*Vascular Endothelial Growth Factor Receptor*) poderia, em teoria, inibir o crescimento do tumor devido ao efeito anti-angiogênico. No entanto, um estudo clínico realizado em 24 pacientes trouxeram resultados decepcionantes, contrastando com ensaios realizados em camundongos. *Clinical trial*: NCT01218867.
- Um estudo utilizando o antígeno GD2 (Disialogangliosídeo), antígeno superexpresso em melanoma assim como em tecidos saudáveis, testou as células CAR-T anti-GD2 em amostras de sangue de pacientes com melanoma e linhas celulares de melanoma SK-Mel-28. As células CAR-T produziram efeitos citotóxicos de maneira significativa e o uso simultâneo de terapia anti-PD1 aumentou sua eficácia. Yu et al. (2018) desenvolveram uma proteína CAR incorporando CD137 (4-1BB) em células CAR-T anti-GD2 para testar a citotoxicidade em melanoma *in vitro* e *in vivo* com resultados promissores. *Clinical trials*: NCT02107963 e NCT03635632.

São muitas as limitações para a utilização de terapia com células CAR-T para o melanoma e ainda não existem resultados que possibilitem sua aplicabilidade em humanos. Assim sendo, a utilização de modelos matemáticos em oncologia pode auxiliar para elucidação dos mecanismos subjacentes a falha e o sucesso da terapia de células CAR-T contra o melanoma. Neste senso, desenvolvemos um modelo matemático original baseado em equações diferenciais ordinárias para descrever a dinâmica tumoral do melanoma em estágio avançado, na presença de TAM e doses imunoterapêuticas de células CAR-T. Dentre os aspectos utilizados na modelagem incluímos termos que incorporam a influência dos TAM para os processos de falha da imunoterapia e analisamos diferentes cenários, incluindo a técnica de imunoterapia em ciclos. Também realizamos uma análise de sensibilidade dos parâmetros, com o intuito de observar quais parâmetros são mais importantes para os mecanismos de falha e sucesso da imunoterapia contra o melanoma.

De fato, a conclusão dos ensaios clínicos em andamento e a utilização de modelos matemáticos em oncologia podem contribuir para a obtenção de novas descobertas e aumentar o leque de possibilidades experimentais.

1.5 Objetivos

Tendo em vista as diversas barreiras para a aplicabilidade da imunoterapia com células CAR-T contra o melanoma e, em particular, considerando os macrófagos associados a tumores presentes no microambiente tumoral, a presente dissertação tem os seguintes objetivos:

- Estudar e compreender a dinâmica tumoral utilizando alguns modelos matemáticos que envolvem células do sistema imune e terapias;
- Desenvolver um modelo matemático original para descrever a dinâmica tumoral do melanoma metastático em estado avançado, na presença de macrófagos associados a tumores, configurando um microambiente tumoral bastante imunossupressor, com a utilização de imunoterapia com células CAR-T;
- Estudar a estabilidade dos pontos de equilíbrio associados ao modelo proposto;
- Realizar uma análise de sensibilidade dos parâmetros do modelo proposto;
- Simular computacionalmente alguns cenários de relevância clínica para compreender o papel dos macrófagos associados a tumores nos mecanismos de falha do tratamento.

Dado que um dos objetivos deste trabalho é descrever as interações entre as células tumorais e células do sistema imune, o próximo capítulo trará uma revisão bibliográfica no que diz respeito a modelagem matemática do crescimento tumoral, bem como os principais trabalhos que serviram como embasamento teórico para o desenvolvimento do modelo matemático.

2 Modelos Matemáticos em Oncologia

A medida que os estudos dos mecanismos que envolvem o crescimento tumoral avançam, tem ficado cada vez mais claro que isto não se dá única e exclusivamente pelas células tumorais. Como apresentado no Capítulo 1, diversos mecanismos e processos biológicos complexos cooperam entre si para promover a progressão e o crescimento tumoral. Interações que ocorrem entre as células tumorais e o estroma, principalmente com as células do sistema imune, tem sido consideradas em alguns casos como sendo impulsionadores do crescimento tumoral (WAJEH et al., 2022). No entanto, muitos destes processos ainda não são bem esclarecidos e carecem de mais investigação. Neste contexto, aplicada a oncologia, a modelagem matemática possibilita a análise e a distinção de diferentes tipos de mecanismos que envolvem a progressão tumoral, permitindo a abordagem de muitos cenários que seriam inviáveis de reproduzir experimentalmente (ARAÚJO; MCELWAIN, 2004).

Neste capítulo, serão apresentados alguns conceitos básicos da modelagem matemática do crescimento tumoral, bem como uma revisão bibliográfica acerca de alguns modelos que abrangem células cancerosas e células do sistema imunológico, os quais serviram de base para esta dissertação, onde utilizamos uma abordagem inspirada em dinâmica de populações.

2.1 Modelagem matemática do crescimento tumoral

A modelagem matemática aplicada a oncologia possui raízes que datam de 1825, quando o matemático e atuário Benjamim Gompertz (1779–1865) desenvolveu um modelo para estudar o crescimento populacional baseando-se em modelos atuariais¹ (GOMPERTZ, 1825). Ele argumentou que o número de pessoas vivas em função de sua idade $L(x)$ decresce mais rapidamente do que funções exponenciais, significando que a taxa de mortalidade deve aumentar com a idade. Ludwig von Bertalanffy (1901–1972), 135 anos depois, levantou a seguinte questão: por que um organismo cresce e por que depois de um certo tempo, seu crescimento para? A substituição do conceito de “organismo” por um tumor maligno resultou em um modelo matemático para o crescimento do tumor (LALEH et al., 2021).

Muitos estudos de crescimento tumoral em animais e humanos utilizando modelagem

¹ Ciência das técnicas específicas de análises de riscos e expectativas, principalmente na administração de seguros e fundos de pensão.

matemática foram realizados e diversos modelos foram desenvolvidos para esta finalidade (BENZEKRY et al., 2014). Entretanto, não existem modelos matemáticos que consigam captar todas as propriedades observáveis da biologia do câncer. Os processos de modelagem, no geral, envolvem ajustes de dados experimentais, simulações computacionais e a utilização de ferramentas matemáticas baseadas em simplificações de conceitos biológicos.

Estudos *in vivo* e *in vitro* envolvendo tumores em animais e humanos apontam que, geralmente, as curvas de crescimento tumoral são inicialmente ajustadas para representar um crescimento exponencial. Modelos exponenciais podem prever o crescimento ou o declínio exponencial dependendo dos valores absolutos das taxas de crescimento e decrescimento. Se um tumor está em estágio inicial de desenvolvimento, ele não apresenta angiogênese e, ao ser considerado composto por uma única população celular, é possível assumir que sua taxa de crescimento é diretamente proporcional ao número de células tumorais $N(t)$, isto é, $\frac{dN(t)}{dt} \propto N$ (RODRIGUES; MANCERA; PINHO, 2011). O modelo exponencial é dado por

$$\frac{dN(t)}{dt} = rN(t), \quad (2.1)$$

em que $r > 0$ representa a taxa de crescimento intrínseca na qual as células se dividem. A solução do modelo exponencial para $N(t = 0) = N_0 > 0$ resulta que

$$N(t) = N_0 \exp(rt). \quad (2.2)$$

Embora o crescimento tumoral, de fato, expresse um crescimento exponencial nos estágio iniciais, esse crescimento não é ilimitado. Para simular que o crescimento do tumor é limitado por restrições nutricionais, imunológicas ou espaciais, podem ser utilizados modelos logísticos, que permitem a inclusão de parâmetros para modular a capacidade de suporte no qual o volume do tumor se estabiliza. Essa capacidade de suporte está incluída na taxa de crescimento per capita, conforme a observação de que o crescimento do tumor diminui quando o volume do tumor se torna grande. Logo, uma ampla gama de possibilidades podem ser abordadas para descrever processos oncogênicos, incluindo tratamentos anticâncer, através da combinação de diversos padrões de modelagem (RODRIGUES; MANCERA; PINHO, 2011; LALEH et al., 2021). O modelo logístico é dado por

$$\frac{dN}{dt} = rN \left(1 - \frac{N}{k}\right), \quad (2.3)$$

em que $k > 0$ representa a capacidade de suporte nutricional do ambiente e o termo $\left(1 - \frac{N}{k}\right)$ representa a competição intraespecífica.

Em 1964, Anna Kane Laird mostrou que uma variedade de tumores primários transplantados de ratos, camundongos e coelhos poderiam ser descritos adequadamente utilizando o modelo de Gompertz, abrindo caminho para a sua utilização em processos biológicos. O modelo matemático para a dinâmica tumoral baseado no modelo de Gompertz é dado por

$$\frac{dN}{dt} = rN \ln \left(\frac{k}{N}\right), \quad (2.4)$$

em que r é a taxa de crescimento ou decrescimento *per capita* das células tumorais (ou natalidade e mortalidade considerando um modelo atuarial), e k refere-se a capacidade de suporte, ou seja, a quantidade máxima de células tumorais que o sistema consegue suportar com os nutrientes disponíveis (ou pelo modelo atuarial, a quantidade máxima de pessoas que um ambiente pode suportar com os recursos disponíveis).

Modelos baseados em ecologia populacional também podem ser empregados para descrever processos oncogênicos. Esses modelos podem ser construídos para revelar os mecanismos subjacentes à dinâmica de diferentes tipos de células no corpo humano. Um exemplo é o modelo de Lotka-Volterra, desenvolvido pelos matemáticos Vito Volterra (1860 – 1940) e Alfred J. Lotka (1880 – 1949), de maneira independente. Esse modelo, baseado em equações diferenciais ordinárias de primeira ordem não-lineares, foi desenvolvido, a princípio, para descrever a dinâmica de sistemas biológicos com intuito de estudar a relação entre espécies que interagem entre si. Ao nível celular, diversos tipos de espécies celulares interagem constantemente, tornando o modelo presa-predador adequado. De fato, as interações entre células e patógenos ou células tumorais se assemelham a um sistema presa predador. Assumindo as células tumorais como presas para o sistema imunológico, as células tumorais diferem das células normais devido a mutações acumuladas e alterações nos níveis de antígenos que podem ativar os linfócitos T citotóxicos predatórios. Como um predador, as taxas de proliferação e sobrevivência de linfócitos T citotóxicos específicos de tumor dependem da presença e interações com suas presas (KAREVA et al., 2021).

As suposições básicas de um modelo presa-predador se adéquam à compreensão atual acerca da dinâmica imunológica do tumor e podem ser formuladas como segue:

- 1) As populações de células tumorais crescem exponencialmente na ausência do sistema imunológico, até uma capacidade de suporte a qual pode estar relacionada, por exemplo, com a quantidade de células competindo por espaço e nutrientes no microambiente tumoral, havendo a possibilidade de um limiar de extinção;
- 2) Cada célula imune elimina uma proporção fixa da população tumoral por unidade de tempo;
- 3) A taxa de natalidade das células imunes aumenta com a taxa de morte das células tumorais;
- 4) As células imunes possuem uma taxa de mortalidade constante.

Algumas considerações devem ser realizadas sobre tais hipóteses: a suposição 1 ignora a possibilidade de que as taxas de proliferação de células tumorais possam mostrar uma resposta hiper-proliferativa à introdução de células imunes; a suposição 2 ignora a diversidade de células imunes; a suposição 3 implica que as células imunes ganham energia ao matar as células-alvo; a suposição 4 ignora a tolerância, perda de função por meio de vários mecanismos de exaustão das células imunes e formação de memória imunológica. Embora essas considerações não desqualifiquem a utilização do modelo presa-predador para interações tumor-imune, elas mostram

que um modelo matemático deve ser elaborado sempre cuidadosamente, com aprofundamento dos aspectos biológicos que desejam ser incorporados (KAREVA et al., 2021).

Um modelo de competição celular foi proposto por (GATENBY, 1996):

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} = r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1}{k_1} - \frac{\alpha_1 N_2}{k_1} \right), \\ \frac{dN_2}{dt} = r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2} - \frac{\alpha_2 N_1}{k_2} \right), \end{cases} \quad (2.5)$$

em que N_1 é a população de células cancerosas, N_2 a população de células normais, r_1 e r_2 são, respectivamente, as taxas de crescimento populacional de células cancerosas e normais, α_1 o coeficiente de competição medindo os efeitos em N_1 causados pela presença de N_2 , α_2 o coeficiente de competição medindo os efeitos em N_2 causados pela presença de N_1 , e $k_{1,2}$ representam a capacidade de suporte ou número máximo de células de cada população que poderia ocupar o espaço tecidual e ser adequadamente suportado pelo ambiente (GATENBY, 1996; RODRIGUES; MANCERA; PINHO, 2011).

A modelagem matemática foi e continua sendo uma importante ferramenta empregada para compreender a dinâmica subjacente aos mecanismos que envolvem a oncogênese, importância que está na sua capacidade de absorver suposições acerca dos fenômenos que envolvem a progressão tumoral, permitindo a modeladores realizar comparações utilizando dados empíricos, quando disponíveis. Se as previsões do modelo corroboram as observações experimentais, pode-se propor novos experimentos abrindo um leque de possibilidades, caso contrário, as suposições devem ser revisadas. Isso mostra que o processo ideal de modelagem se dá pela interação constante entre modeladores e empiristas (ARAUJO; MCELWAIN, 2004; KAREVA et al., 2021).

A união entre matemáticos e pesquisadores experimentais têm elucidado diversas questões profundas acerca da dinâmica tumoral, colaborando, não apenas para a compreensão da doença, mas também para o desenvolvimento de novos tipos de tratamento. Várias abordagens de modelagem matemática foram utilizadas para investigar cenários com protocolos diferentes de tratamento, tais como quimioterapia (RODRIGUES; PINHO; MANCERA, 2012; BENZEKRY et al., 2015; RODRIGUES et al., 2019), imunoterapia (KIRSCHNER; PANETTA, 1998; SAHOO et al., 2020; RODRIGUES; BARROS; ALMEIDA, 2020; BARROS et al., 2021; LEÓN-TRIANA et al., 2021; SILVA et al., 2022) e radioterapia (ENDERLING et al., 2006; ROCKNE et al., 2010). Também, muitos pesquisadores modelaram interações entre células cancerosas e células do sistema imune (KUZNETSOV et al., 1994; DEPILLIS; RADUNSKAYA; WISEMAN, 2005; DEPILLIS; GU; RADUNSKAYA, 2006; EFTIMIE; BRAMSON; EARN, 2010; EFTIMIE; BRAMSON; EARN, 2011; DEPILLIS; ELADDADI; RADUNSKAYA, 2014; EFTIMIE; HAMAM, 2017; SHU et al., 2020).

Dado que o enfoque desta dissertação se concentra na modelagem matemática envolvendo células cancerosas e células do sistema imunológico, a próxima seção exibirá uma breve revisão bibliográfica com os principais artigos que serviram de base e inspiração para este trabalho.

2.2 Modelagem matemática envolvendo o sistema imunológico

A modulação da interação entre os componentes do sistema imunológico e as células cancerosas por meio da imunoterapia consiste em um dos objetivos mais promissores dentre as abordagens modernas de tratamento do câncer. Neste senso, diversos modelos matemáticos que consideram as interações entre células tumorais e imunes foram, e ainda tem sido desenvolvidos, visando lançar luz aos diversos mecanismos subjacentes que ainda carecem de compreensão.

Como já discutido anteriormente, modelos matemáticos baseados em ecologia populacional do tipo presa-predador conseguem capturar interações entre as células imunológicas (predador) e as células cancerosas (presas) e isso possibilita, por exemplo, o estudo de mecanismos de evasão imune através da competição por nutrientes compartilhados no microambiente tumoral, além da supressão imunológica que ocorre através da regulação negativa de mecanismos de reconhecimento de antígenos. Além disso, tais modelos podem contribuir como um importante ferramental para o estudo da eficácia/ineficácia de diversos tipos de tratamentos imunoterapêuticos (ALTROCK; LIU; MICHOR, 2015; BECKMAN; KAREVA; ADLER, 2020).

Um modelo matemático considerado precursor no estudo das interações entre células cancerosas e imunes foi proposto por Kuznetsov et al. (1994), servindo de base para muitos outros trabalhos relacionados. Os autores desenvolveram um modelo matemático para estudar a resposta dos linfócitos T citotóxicos ao crescimento de um tumor imunogênico, mais especificamente, o linfoma BCL1 (*B-Cell Lymphoma 1*) em camundongos. Dentre as hipóteses incorporadas no modelo há que a inibição do crescimento tumoral pode ser causada pela competição das populações celulares por nutrientes, como metabólitos e/ou fatores de crescimento produzidos pelas células tumorais. O modelo proposto é dado por

$$\begin{cases} \frac{dE}{dt} = s + \frac{pET}{g + T} - mET - dE, \\ \frac{dT}{dt} = aT(1 - bT) - nET, \end{cases} \quad (2.6)$$

em que E é a concentração local de células efetoras, T é a concentração de células cancerosas e os parâmetros s, p, g, m, d, a, b e n são constantes cinéticas não negativas.

O parâmetro s representa uma fonte constante de células efetoras e o termo $\frac{pET}{g + T}$ representa o recrutamento das células imunológicas pelas células tumorais sob efeitos da cinética de Michaelis-Menten, permitindo que tal recrutamento se dê até que ocorra uma saturação. O termo $-mET$ representa a exaustão das células imunes devido aos fatores imunossupressores associados ao tumor e o termo $-dE$ representa a apoptose das células efetoras. O crescimento tumoral é modelado pelo termo $aT(1 - bT)$ representando a competição por nutrientes no microambiente e, finalmente, o termo $-nET$ representa a ação citotóxica das células efetoras sob as células tumorais.

Kuznetsov et al. (1994) compararam o modelo com dados experimentais e conseguiram

realizar a estimação dos parâmetros cinéticos que descrevem os processos que não puderam ser medidos *in vivo*. Na realidade, muitos parâmetros envolvendo interações celulares são impossíveis de serem medidos diretamente, sendo necessários métodos numéricos e estatísticos para serem estimados com uma boa margem de erro, o que pode ser feito quando dados experimentais são disponibilizados. Como principais resultados, os autores mostraram que o modelo matemático conseguiu descrever adequadamente a cinética das populações celulares em uma ampla faixa de concentração inicial de células tumorais.

Kirschner e Panetta (1998) também desenvolveram um modelo matemático para descrever a dinâmica entre células tumorais e células imunes efectoras, porém, sob efeitos da interleucina-2 (IL-2), citocina utilizada como imunoterapia para impulsionar o sistema imunológico contra tumores. Além disso, os autores implementaram os efeitos da imunoterapia celular adotiva no modelo para avaliar sob quais circunstâncias o tumor pode ser eliminado. O modelo matemático é dado por

$$\begin{cases} \frac{dE}{dt} = cT - \mu_2 E + \frac{p_1 E I_L}{g_1 + I_L} + s_1, \\ \frac{dT}{dt} = r_2(T)T - \frac{aET}{g_2 + T}, \\ \frac{dI_L}{dt} = \frac{p_2 ET}{g_3 + T} - \mu_3 I_L + s_2, \end{cases} \quad (2.7)$$

em que E representa as células efectoras do sistema imunológico, tais como linfócitos T, macrófagos e células matadoras naturais (NK, *natural killers*), T representa as células cancerosas, e I_L a concentração de IL-2 no sítio tumoral. Além disso, $r_2(T) = r_2(1 - bT)$, e os parâmetros cinéticos $c, \mu_2, p_1, g_1, s_1, a, g_2, p_2, g_3, \mu_3, s_2$ são não negativas.

Como principais resultados, Kirschner e Panetta (1998) mostraram que, em tumores que expressam baixos níveis de antígeno, o sistema imunológico não teve eficácia para combatê-los, ao passo que, em tumores que expressam altos níveis antigênicos, o sistema imunológico foi eficaz no combate, promovendo a redução para um pequeno tumor adormecido, representando o melhor cenário analisado. Em tumores com antigenicidade moderada, as análises mostraram a ocorrência de ciclos limites estáveis que implicam em uma dinâmica oscilatória entre o tumor e o sistema imunológico, e em tumores com antigenicidade de baixa a moderada, os ciclos variaram entre 8 e 10 anos com grandes amplitudes, estando o tumor em estado de dormência na maior parte do tempo, fato que pode explicar, por exemplo, a recorrência de câncer a longo prazo.

Em trabalhos mais recentes, Eftimie e Hamam (2017) investigaram os possíveis mecanismos que poderiam explicar a eliminação de células de melanoma de camundongo B16 por células do sistema imunológico, tais como células T auxiliares de tipo 1 e 2 (Th1 e Th2), bem como o papel desempenhado pelos macrófagos do tipo 1 e 2 (M1 e M2) no crescimento e eliminação do tumor. Para este fim os autores propuseram 2 modelos matemáticos:

- i) Um modelo matemático para descrever as interações entre as células T auxiliares e macrófagos isoladamente com o intuito de investigar as respostas imunes do tipo 1 e 2 que elas geram (em que se definiu a resposta de tipo 1 como uma resposta dominada por células Th1 e M1, e uma resposta do tipo 2 para ser dominada por células Th2 e M2);
- ii) Um modelo matemático baseado no modelo descrito no item i) com a inclusão população de células tumorais.

Nesta revisão apenas o segundo modelo proposto por [Eftimie e Hamam \(2017\)](#) será mostrado, o qual é dado por

$$\frac{dT}{dt} = \alpha T \left(1 - \frac{T}{\beta}\right) - fT - g_{H_1} H_1 T - g_{H_2} H_2 T - g_{M_1} M_1 T + g_{M_2} M_2 T, \quad (2.8)$$

$$\frac{dH_1}{dt} = a_{H_1} M_1 + p_{H_1} H_1 M_1 \left(1 - \frac{H_1 + H_2}{m_1}\right) - n_{H_1 H_1 T} - e_{H_1} H_1, \quad (2.9)$$

$$\frac{dH_2}{dt} = a_{H_2} M_2 + p_{H_2} H_2 M_2 \left(1 - \frac{H_1 + H_2}{m_1}\right) - n_{H_2 H_2 T} - e_{H_2} H_2, \quad (2.10)$$

$$\begin{aligned} \frac{dM_1}{dt} &= a_{M_1} H_1 + p_{M_1} M_1 \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{m_2}\right) - n_{m_1} M_1 T - e_{M_1} T - e_{M_1} M_1 \\ &+ r_{M_1} M_2 - r_{M_2} M_1, \end{aligned} \quad (2.11)$$

$$\begin{aligned} \frac{dM_2}{dt} &= a_{M_2} H_2 + p_{M_2} H_2 + p_{M_2} M_2 H_2 \left(1 - \frac{M_1 + M_2}{m_2}\right) + n_{M_2} M_2 T - e_{M_2} M_2 \\ &- r_{M_1} M_2 + r_{M_2} M_1. \end{aligned} \quad (2.12)$$

em que T , H_1 , H_2 , M_1 e M_2 são, respectivamente, as população de células tumorais, células T auxiliares de tipo 1 e 2, e macrófagos do tipo 1 e 2. Além disso, m_1 , m_2 e β são parâmetros estritamente positivos, e os outros parâmetros são não negativos.

Detre as hipóteses incorporadas no modelo, [Eftimie e Hamam \(2017\)](#) consideraram as propriedades das células imunes e seu papel na progressão tumoral e, como principais resultados obtidos no estudo, os autores mostraram que o tumor pode ser eliminado tanto na presença de uma resposta imune do tipo 1 quanto na presença de uma resposta do tipo 2 e que o crescimento do tumor está sempre associado à presença de uma resposta imune do tipo 2.

[Sahoo et al. \(2020\)](#) desenvolveram um modelo matemático baseado na dinâmica presa-predador para explorar a cinética de morte de células CAR-T, utilizada como imunoterapia contra o glioma. Visto que a imunoterapia com células CAR-T demonstra baixa eficácia quando aplicada no combate a tumores sólidos, neste estudo os autores realizaram análises de falha e sucesso do tratamento ajustando os resultados obtidos a dados experimentais. O modelo é dado por

$$\begin{cases} \frac{dX}{dt} = \rho X \left(1 - \frac{X}{K}\right) - \kappa_1 XY, \\ \frac{dY}{dt} = \kappa_2 XY - \theta Y, \end{cases} \quad (2.13)$$

em que X representa a densidade de células cancerosas e Y a densidade de células CAR-T. No sistema (2.13), o termo logístico $\rho X \left(1 - \frac{X}{K}\right)$ representa o crescimento tumoral que ocorre a uma taxa ρ até que atinja a capacidade de suporte nutricional K , e o termo $-\kappa_1 XY$ representa a ação citotóxica das células CAR-T contra as células tumorais. O termo $\kappa_2 XY$ modela o crescimento populacional das células CAR-T segundo a lei exponencial, em que o parâmetro κ_2 representa a taxa de expansão e exaustão celular devido ao contato com o antígeno tumoral. Finalmente, o termo $-\theta Y$ modela a morte natural das células CAR-T.

Dentre os resultados obtidos, [Sahoo et al. \(2020\)](#) observaram que a taxa de mortalidade das células CAR-T tem relação direta com a taxa de proliferação e exaustão, sugerindo que doses imunoterapêuticas menores tem mais eficácia, embora os linfócitos CAR-T se tornem mais exaustos em comparação com doses mais altas de tratamento. Segundo os autores, os resultados indicam que o tratamento pode ser adaptado às características individuais do tumor, incluindo taxa de crescimento e nível de antígeno, aumentando a eficácia do tratamento.

Um modelo matemático foi desenvolvido por [Barros et al. \(2021\)](#) para investigar a interação entre células tumorais e células CAR-T efetoras com adição de uma população das chamadas células CAR-T de memória, as quais possuem a capacidade de combater células tumorais tempos depois da administração da dose imunoterápica. O modelo é dado por

$$\begin{cases} \frac{dC_T}{dt} = \phi C_T - \rho C_T + \theta T C_M - \alpha T C_T, \\ \frac{dC_M}{dt} = \epsilon C_T - \theta T C_M - \mu C_M, \\ \frac{dT}{dt} = rT(1 - bT) - \gamma C_T T, \end{cases} \quad (2.14)$$

em que C_T é a densidade de células CAR-T efetoras, C_M é a densidade de células CAR-T de memória e T é a densidade de células tumorais. Na primeira equação do sistema (2.14), o termo ϕC_T representa a expansão das células CAR-T efetoras e $-\rho C_T$ a redução desta população, incluindo a morte natural e a diferenciação em células CAR-T de memória. O termo $\theta T C_M$ modela a ativação das células CAR-T de memória em um estado efetor devido ao contato com o antígeno tumoral e, o termo $-\alpha T C_T$ incorpora os efeitos de expansão e inibição devido ao contato com o tumor. Na segunda equação do sistema (2.14), o termo ϵC_T incorpora a formação de células CAR-T de memória devido à diferenciação das células CAR-T efetoras, o termo $\theta T C_M$ incorpora o fenômeno de mudança fenotípica de células CAR-T de memória em células CAR-T efetoras devido ao contato futuro com o mesmo antígeno tumoral, e o termo $-\mu C_M$ modela a morte natural das células CAR-T de memória. A terceira equação do sistema (2.14), por fim, modela a dinâmica das células tumorais, as quais crescem segundo a lei logística e morrem devido à ação citotóxica das células CAR-T efetoras a uma taxa γ .

Dentre os principais resultados do trabalho, o modelo proposto demonstrou potencial para contribuir com a redução e otimização do número de experimentos *in vivo* através de simulações

computacionais. Além disso, com objetivo de facilitar a utilização de outros profissionais ao ferramental que a modelagem matemática oferece, os autores desenvolveram um simulador de código aberto chamado *CARTmath* para testar diferentes protocolos de imunoterapia.

Para encerrar esta breve revisão bibliográfica, [León-Triana et al. \(2021\)](#) estudaram *in silico* a utilização de células CAR-T visando dois antígenos: o CD19, expresso em células B, e um antígeno associado ao tumor. Tendo como alvo de estudo o glioblastoma (GBM), dois modelos matemáticos foram desenvolvidos, em que apenas um será apresentado nesta revisão, o qual descreve o efeito da imunoterapia com células CAR-T direcionada a um antígeno tumoral na presença de imunossupressão. O modelo matemático é dado por

$$\begin{cases} \frac{dC}{dt} = \frac{\rho_C CT}{g_T + T} - \frac{\alpha_1 CT}{g_C + C} - \frac{1}{\tau_C} C, \\ \frac{dT}{dt} = \rho_T T - \alpha_2 CT, \end{cases} \quad (2.15)$$

em que C consiste na densidade de células CAR-T e T é a densidade de células tumorais. No sistema (2.15), os dois primeiros termos de Michaelis-Menten representam, respectivamente, a expansão e inibição das células CAR-T devido ao contato com o antígeno tumoral. Como mostrado em ([KIRSCHNER; PANETTA, 1998](#)), termos Michaelis-Menten são comumente utilizados quando se considera a interação entre células tumorais e imunes, pois permitem que tal crescimento se dê até atingir a saturação. Dentre os resultados obtidos no estudo, [León-Triana et al. \(2021\)](#) mostraram que a expansão da população de células CAR-T no sangue e órgãos linfopoiéticos poderia levar à produção massiva de células CAR-T visando um tumor sólido, e potencialmente superar suas capacidades de imunossupressão.

Tendo como referencial alguns dos modelos apresentados nesta revisão bibliográfica, o Capítulo 3 apresentará o modelo matemático proposto nesta dissertação.

3 Um modelo matemático para a dinâmica tumoral do melanoma

Dada a complexidade para a aplicação da imunoterapia com células CAR-T em tumores sólidos, em particular contra o melanoma, como discutido no Capítulo 1, propomos um modelo matemático baseado em EDOs para descrever a dinâmica tumoral do melanoma em estágio avançado, munido de um microambiente tumoral bastante imunossupressor e repleto de macrófagos associados a tumores. Consideramos um melanoma em estágio avançado para justificar a utilização da imunoterapia de células CAR-T, a qual, atualmente, só tem sido empregada em situações onde já tenham sido esgotadas todas as outras possibilidades terapêuticas possíveis para o paciente.

O principal interesse nesta proposta de modelagem é estudar, por meio de simulações computacionais, os mecanismos envolvidos na ineficácia desta técnica terapêutica contra o melanoma, bem como entender qual o papel dos TAM para tal ineficácia. Além da análise de estabilidade linear dos pontos de equilíbrio associados ao modelo matemático proposto, nosso interesse também se concentrou no estudo da sensibilidade global dos parâmetros associados ao modelo para verificar quais parâmetros são mais importantes para a falha do tratamento imunoterápico. Baseados nos trabalhos de [Kuznetsov et al. \(1994\)](#), [Eftimie e Hamam \(2017\)](#), [Sahoo et al. \(2020\)](#), [Barros et al. \(2021\)](#) e [León-Triana et al. \(2021\)](#), desenvolvemos um modelo matemático que incorpora as seguintes suposições biológicas:

- (S1) As células de melanoma se proliferam naturalmente a uma taxa α_1 até que atinjam a capacidade de suporte nutricional do ambiente K_1 ([EFTIMIE; HAMAM, 2017](#)).
- (S2) A presença de TAM no microambiente tumoral contribui para a proliferação de células de melanoma, fazendo com que a população tumoral cresça mais rapidamente a uma taxa β_1 ([SICA et al., 2008](#); [EFTIMIE; HAMAM, 2017](#)). [Yamaguchi et al. \(2016\)](#) mostraram que tumores gástricos co-inoculados com macrófagos M2 (TAM) crescem muito mais rápido do que tumores sem a presença destes macrófagos.
- (S3) Células CAR-T matam células de melanoma a uma taxa μ_1 devido ao reconhecimento de antígenos específicos de melanoma como GD2, VEGFF-2, MCSP, entre outros ([SOLTAN-](#)

TOYEH et al., 2021).

- (S4) TAM são recrutados para o sítio tumoral a uma taxa α_2 e infiltram-se no microambiente tumoral devido a citocinas e quimiocinas produzidas pelas células de melanoma (EFTIMIE; HAMAM, 2017). Além disso, TAM competem por espaço e nutrientes com células de melanoma até que atinjam a capacidade de suporte nutricional K_2 e, além disso, morrem naturalmente a uma taxa κ_3 .
- (S5) A expansão populacional das células CAR-T ocorre devido ao contato com o antígeno tumoral e ocorre a uma taxa α_3 . Este crescimento é modelado por um termo Michaelis-Menten, em que a constante de saturação $\mathcal{P}$ determina quando a taxa de crescimento das células CAR-T está na metade do seu valor máximo ($T = \mathcal{P}$) (KUZNETSOV et al., 1994; LEÓN-TRIANA et al., 2021). León-Triana et al. (2021) afirmam que $\mathcal{P}$ indica o ponto de inflexão a partir do qual a taxa de estimulação das células CAR-T aumenta e está relacionado ao nível de antígeno expresso pelas células cancerosas.
- (S6) Devido a mecanismos imunossupressores inerentes ao microambiente tumoral, a população de células CAR-T tem seu crescimento desacelerado e sofrem exaustão medida pelo parâmetro γ_3 . Como a expansão, o decrescimento populacional das células CAR-T, seja por exaustão ou inibição, também é modelada pelo termo de Michaelis-Menten, em que a constante de saturação $\mathcal{G}$ determina quando esse decrescimento está na metade do seu valor máximo ($C = \mathcal{G}$), podendo ser considerado o nível típico de linfócitos T na corrente sanguínea (LEÓN-TRIANA et al., 2021).
- (S7) Para estudar o impacto causado pela presença de TAM no microambiente tumoral durante a imunoterapia foi incorporado na dinâmica o parâmetro θ_3 que representa a taxa de decrescimento da população de células CAR-T devido ao contato com fatores imunossupressores produzidos por TAM como, por exemplo, a proteína de morte programada PD-1 (SIMON; USLU, 2018; SOLTANTOYEH et al., 2021). Além disso, uma taxa de apoptose κ_3 para a população de células CAR-T também é considerada no modelo (SAHOO et al., 2020).

Os processos biológicos incorporados pelo modelo matemático são esquematizados na Figura 5.

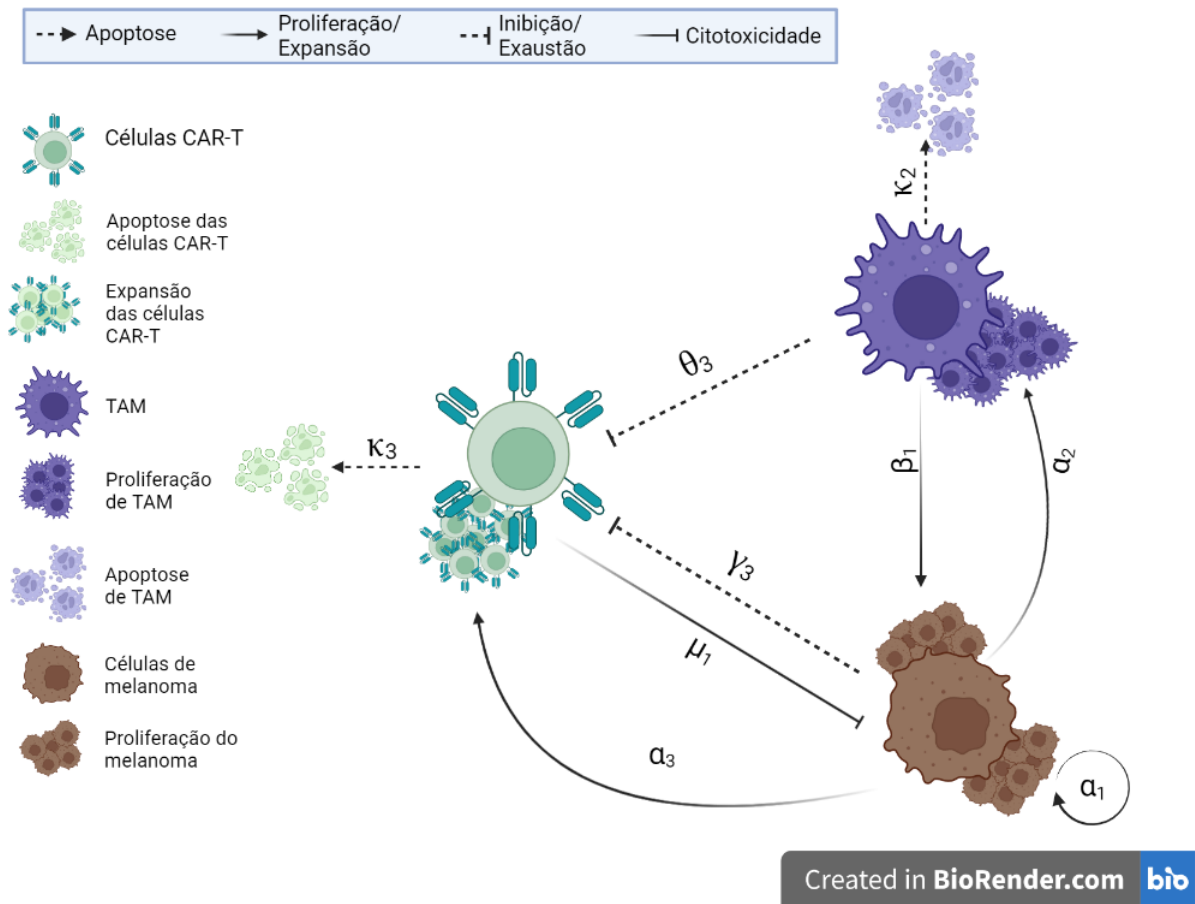


Figura 5 – Esquemática gráfica do modelo (3.1) mostrando as interações no microambiente tumoral entre as células de melanoma, os TAM e as células CAR-T. Figura elaborada pelo autor com BioRender.

O modelo matemático proposto é dado pelo seguinte sistema de EDOs:

$$\begin{cases} \frac{dT}{dt} = \alpha_1 T \left(1 - \frac{T}{K_1}\right) (1 + \beta_1 M) - \mu_1 CT, \\ \frac{dM}{dt} = \alpha_2 MT \left(1 - \frac{M}{K_2}\right) - \kappa_2 M, \\ \frac{dC}{dt} = \frac{\alpha_3 CT}{P + T} - \frac{\gamma_3 CT}{G + C} - \theta_3 MC - \kappa_3 C, \end{cases} \quad (3.1)$$

em que T é a população de células tumorais, M é a população de TAM, e C a população de células CAR-T no sistema.

Para definir as unidades dos parâmetros do modelo (3.1) realizamos uma análise dimensional, a qual encontra-se no Apêndice B. Além disso, tendo em vista que os parâmetros cinéticos associados ao modelo (3.1) correspondem a fenômenos biológicos complexos, realizamos uma revisão bibliográfica com o intuito de encontrá-los na literatura e justificar a escolha de cada valor.

3.1 Revisão bibliográfica dos parâmetros do modelo

Nesta seção serão justificadas as escolhas dos valores de cada parâmetro do modelo. Nesta revisão priorizamos trabalhos que utilizaram valores para os parâmetros oriundos de experimentos realizados em camundongos, visto que parâmetros cinéticos oriundos de humanos ainda não são bem consolidados na literatura.

- **Taxa de crescimento das células de melanoma (α_1).** Eftimie e Hamam (2017) basearam-se nos trabalhos de Danciu et al. (2013) para a escolha deste parâmetro, onde foram estudadas algumas linhagens celulares de melanoma cutâneo inoculadas em camundongos. Os resultados publicados mostraram que as células de melanoma possuem um tempo de duplicação que varia entre 17,2 e 24 horas. O cálculo do tempo de meia-vida pode ser realizado por meio da solução do modelo exponencial (2.2) a qual, após algumas manipulações algébricas, fornece

$$t_{1/2} = \frac{\ln(2)}{\text{tempo de duplicação celular}} \quad (3.2)$$

Portanto, com base nesses dados, escolhemos como sendo a taxa de crescimento do melanoma o intervalo entre 0,69 e 0,97 dia⁻¹.

- **Taxa de proliferação tumoral devido à ação dos macrófagos associados a tumores (β_1).** Eftimie e Hamam (2017), baseados em (SICA et al., 2008) e (YAMAGUCHI et al., 2016), consideraram que a presença de TAM contribui para a proliferação das células tumorais e estimaram valores entre $2,3 \cdot 10^{-10}$ e $7,3 \cdot 10^{-10}$ células⁻¹. Com base nesses dados, consideramos o parâmetro $\beta_1 = 2,3 \cdot 10^{-10}$ células⁻¹.
- **Taxa de recrutamento/proliferação de TAM na presença de células tumorais (α_2).** Para manter a população de TAM, monócitos inflamatórios são recrutados para o local do tumor, devido a mecanismos de sinalização das células tumorais e, então, são diferenciados em TAM para reposição, auxiliando na progressão do câncer (SICA et al., 2008). Eftimie e Hamam (2017) e DEN BREEMS e Eftimie (2016) estimaram valores para a taxa de recrutamento de macrófagos em um intervalo entre 10^{-10} e 10^{-7} (células·dia)⁻¹. Com base nestes trabalhos α_2 assumimos para este parâmetro o valor 10^{-7} (células·dia)⁻¹.
- **Taxa de proliferação das células CAR-T devido ao contato com o antígeno tumoral (α_3).** Este parâmetro descreve a taxa de estimulação da proliferação de células CAR-T devido ao reconhecimento do antígeno tumoral, e é relacionado com o produto CAR utilizado no tratamento. León-Triana et al. (2021) estimaram valores para este parâmetro no intervalo entre 0,2 e 0,9 dia⁻¹ e, em nossas análises, utilizamos 0,9 dia⁻¹.
- **Capacidade de suporte das células tumorais (K_1).** Este parâmetro foi escolhido com valor 10^9 células para corresponder ao tamanho máximo do tumor permitido para proto-

colos experimentais em camundongos (DEPILLIS; RADUNSKAYA; WISEMAN, 2005; EFTIMIE; BRAMSON; EARN, 2010; EFTIMIE; HAMAM, 2017).

- **Capacidade de suporte dos macrófagos (K_2).** Lee, Starkey e Gordon (1985) sugeriram que uma estimativa conservadora para o número total de macrófagos em um camundongo adulto normal seria maior que 10^8 células. O valor escolhido para este parâmetro foi de 10^9 células, ressaltando que a capacidade de suporte total, incluindo células tumorais e macrófagos, é de $2 \cdot 10^9$ células Eftimie e Hamam (2017).
- **Taxa de morte das células tumorais devido à ação citotóxica das células CAR-T (μ_1).** Barros et al. (2021) consideraram dois cenários diferentes de imunoterapia em camundongos imunodeficientes e utilizaram dados publicados para estimar alguns parâmetros cinéticos, incluindo a eficiência citotóxica. Com base nesse trabalho, o intervalo escolhido para este parâmetro foi $[10^{-7}; 3 \cdot 10^{-7}]$ (células-dia) $^{-1}$.
- **Taxa de apoptose de macrófagos (κ_2).** Segundo Kuo et al. (2022), macrófagos associados a tumores possuem uma meia-vida curta e baixa atividade proliferativa em tecidos tumorais. A meia-vida de monócitos inflamatórios varia entre 20 horas e 2,2 dias, aproximadamente. Baseados nestas informações e utilizando a equação (3.2), utilizamos para este parâmetro valores no intervalo entre 0,23 e 0,69 dia $^{-1}$.
- **Taxa de apoptose de células CAR-T (κ_3).** Barros et al. (2021) consideraram que a população de células CAR-T é reduzida a uma taxa que inclui morte natural de células CAR-T efetoras e sua diferenciação em células CAR-T de memória de longo prazo. Para estimar os dados, utilizaram dados disponíveis de experimentos com camundongos imunodeficientes disponíveis em (RUELLA et al., 2017) e (NINOMIYA et al., 2015) onde os valores ficaram entre 0,350 e 0,830 dia $^{-1}$. Por definição, células efetoras são as células do sistema imune que, quando ativadas, modulam tanto a resposta imune quanto a sinalização inflamatória. Quando não são mais necessárias, devem morrer para evitar resposta persistente do sistema imune, o que poderia resultar em danos ao hospedeiro, como é o caso de doenças autoimunes. Para a imunoterapia em camundongos imunodeficientes apresentada em (RUELLA et al., 2017), foi mostrado que as células CAR-T não são detectadas em exame após a eliminação do tumor e o parâmetro de mortalidade ajustado aos dados foi de 0,3 dia $^{-1}$. Com base nestes trabalhos, escolhemos para o parâmetro κ_3 valores no intervalo entre 0,15 e 0,5 dia $^{-1}$.

Taxa de saturação referente à contribuição das células cancerosas para a expansão das células CAR-T ($\mathcal{P}$). Kuznetsov et al. (1994) estimaram este parâmetro usando dados experimentais de camundongos, em que obtiveram o valor aproximado de $2 \cdot 10^{-7}$ células. Com base neste trabalho, o parâmetro $\mathcal{P}$ recebeu este mesmo valor.

A Tabela 1 exibe os parâmetros do modelo, bem como sua descrição, valor, unidade e referência.

Tabela 1 – Descrição dos parâmetros do modelo incluindo os valores, unidades e referência.

Parâmetro	Descrição	Valor	Unidade	Referência
α_1	Taxa natural de proliferação das células tumorais	[0,69, 0,97]	dia ⁻¹	(EFTIMIE; HAMAM, 2017)
α_2	Taxa de proliferação de macrófagos promovida pelo tumor	10^{-7}	(célula·dia) ⁻¹	(EFTIMIE; HAMAM, 2017)
α_3	Taxa de proliferação de células CAR-T devido ao contato com antígeno tumoral	0,9	dia ⁻¹	(LEÓN-TRIANA et al., 2021)
β_1	Taxa de proliferação tumoral devido à ação pró-tumor dos TAM	$2,3 \cdot 10^{-10}$	célula ⁻¹	(EFTIMIE; HAMAM, 2017)
K_1	Capacidade de suporte das células tumorais	10^9	células	(EFTIMIE; BRAMSON; EARN, 2010)
K_2	Capacidade de suporte dos macrófagos	10^9	células	(LEE; STARKEY; GORDON, 1985)
μ_1	Taxa de morte de células tumorais devido a ação citotóxica das células CAR-T	$[10^{-7}; 3 \cdot 10^{-7}]$	(célula·dia) ⁻¹	(BARROS et al., 2021)
κ_2	Taxa de apoptose dos macrófagos	[0,23; 0,69]	dia ⁻¹	(EFTIMIE, 2020; KUO et al., 2022)
κ_3	Taxa de apoptose de células CAR-T	[0,1; 0,5]	dia ⁻¹	Suposto
θ_3	Taxa de inibição das células CAR-T devido à interação com macrófagos	$[0; 5 \cdot 10^{-7}]$	(célula·dia) ⁻¹	Suposto
γ_3	Taxa de exaustão das células CAR-T devido às células tumorais	[0,02; 0,04]	(célula·dia) ⁻¹	Suposto
$\mathcal{P}$	Constante de saturação referente à expansão das células CAR-T devido ao antígeno tumoral	$2 \cdot 10^7$	células	(KUZNETSOV et al., 1994)
$\mathcal{G}$	Constante de saturação referente à exaustão das células CAR-T devido à imunossupressão tumoral	$2 \cdot 10^7$	células	Suposto

3.2 Pontos de equilíbrio

Sejam $\frac{dT}{dt} := f_1$, $\frac{dM}{dt} := f_2$ e $\frac{dC}{dt} := f_3$. Os pontos de equilíbrio associados ao modelo (3.1) foram encontrados a partir da solução do seguinte sistema de equações:

$$f_1 := \left(\alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1} \right) (1 + \beta_1 M^*) - \mu_1 C^* \right) T^* = 0, \quad (3.3)$$

$$f_2 := \left(\alpha_2 T^* \left(1 - \frac{M^*}{K_2} \right) - \kappa_2 \right) M^* = 0, \quad (3.4)$$

$$f_3 := \left(\frac{\alpha_3 T^*}{\mathcal{P} + T^*} - \frac{\gamma_3 T^*}{\mathcal{G} + C^*} - \theta_3 M^* - \kappa_3 \right) C^* = 0. \quad (3.5)$$

De (3.3) temos que, se $T^* = 0$, então não existe outro estado estacionário se não o trivial, dado por $E_0 = (0, 0, 0)$. Este ponto de equilíbrio representa a extinção de todas as populações celulares e não possui relevância biológica neste estudo.

Seja $M^* = 0$ na equação (3.4). Substituindo na equação (3.3) segue que

$$\alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1}\right) - \mu_1 C^* = 0 \Rightarrow C^* = \frac{\alpha_1}{\mu_1} \left(1 - \frac{T^*}{K_1}\right), \quad T^* \leq K_1,$$

e, substituindo C^* na equação (3.5) implica que

$$f_3 := \frac{\alpha_3 \alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1}\right)}{\mu_1 (\mathcal{P} + T^*)} - \frac{\gamma_3 \alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1}\right) T^*}{\mu_1 \left(\mathcal{G} + \frac{\alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1}\right)}{\mu_1}\right)} - \frac{\kappa_3 \alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1}\right)}{\mu_1} = 0.$$

Existem duas situações a serem avaliadas:

- (i) Se $T^* = K_1$, de f_3 temos que $C^* = 0$ e o estado estacionário é dado por $E_1 = (K_1, 0, 0)$. Este ponto representa o fracasso da imunoterapia e descreve a persistência das células de melanoma até alcançarem a capacidade de suporte nutricional do ambiente. Além disso, as células CAR-T e os TAM desaparecem do sistema, o que pode ser associado com a morte do paciente.
- (ii) Realizando algumas manipulações algébricas e simplificando f_3 , temos a seguinte equação em termos de T^* :

$$T^{*2} (K_1 \mu_1 \gamma_3 + \alpha_1 (\alpha_3 - \kappa_3)) + T^* (((-\alpha_3 + \kappa_3) \alpha_1 + \mu_1 (\mathcal{P} \gamma_3 - \mathcal{G} \alpha_3 + \mathcal{G} \kappa_3)) K_1 - \mathcal{P} \alpha_1 \kappa_3) + K_1 \mathcal{P} \kappa_3 (\mathcal{G} \mu_1 + \alpha_1) = 0.$$

Sejam,

$$\begin{aligned} a_1 &:= (K_1 \mu_1 \gamma_3 + \alpha_1 (\alpha_3 - \kappa_3)), \quad \alpha_1 > -\frac{K_1 \mu_1 \gamma_3}{\alpha_3 - \kappa_3}, \\ a_2 &:= (((-\alpha_3 + \kappa_3) \alpha_1 + \mu_1 (\mathcal{P} \gamma_3 - \mathcal{G} \alpha_3 + \mathcal{G} \kappa_3)) K_1 - \mathcal{P} \alpha_1 \kappa_3), \\ &\quad \alpha_1 > \mu_1 K_1 \left(\frac{\mathcal{G} \alpha_3 - \mathcal{P} \gamma_3 - \mathcal{G} \kappa_3}{K_1 \kappa_3 - K_1 \alpha_3 - \mathcal{P} \kappa_3} \right), \\ a_3 &:= K_1 \mathcal{P} \kappa_3 (\mathcal{G} \mu_1 + \alpha_1), \quad \alpha_1 > -\frac{K_1 \mathcal{P} \mathcal{G} \kappa_3 \mu_1}{K_1 \mathcal{P} \kappa_3}. \end{aligned}$$

Supondo que a condição para $a_1 > 0$ seja satisfeita (e em particular ela é satisfeita pois $\alpha_1 > -\frac{K_1 \mu_1 \gamma_3}{\alpha_3 - \kappa_3}$), a equação quadrática pode ser expressa por

$$T^{*2} + T^* \frac{a_2}{a_1} + \frac{a_3}{a_1} = 0, \text{ em que } a_1 > 0.$$

Sejam $b_1 := \frac{a_2}{a_1}$ e $b_2 := \frac{a_3}{a_1}$. Então,

$$T^{*2} + b_1 T^* + b_2 = 0 \Rightarrow T_{1,2}^* = \frac{-b_1 \pm \sqrt{b_1^2 - 4b_2}}{2}.$$

Supondo ainda que $T_{1,2}^* \in \mathbb{R}$, as seguintes situações devem ser analisadas:

- (ii.a) Se, para um dado conjunto de parâmetros, $b_2 < 0$ então existirão duas raízes reais em que, uma será positiva, e outra será negativa no caso de $b_1 > 0$. Vale ressaltar que nosso interesse se encontra na obtenção de raízes reais positivas.
- (ii.b) Se, para um dado conjunto de parâmetros, $b_1 < 0$ e $b_1^2 \geq 4b_2$, então T_1^* e T_2^* serão raízes reais e positivas, havendo possibilidade de também serem iguais.

Definamos, sem perda de generalidade, $T_{1,2}^* := \tilde{T}^* \in \mathbb{R}$. Dadas as suposições que implicaram em (ii.a) e (ii.b), podemos reescrever C^* como uma função de $\tilde{T}^*$. Isto implica que,

$$C^*(\tilde{T}^*) = \frac{\alpha_1}{\mu_1} \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1} \right), \quad \tilde{T}^* \leq K_1,$$

fornecendo como resultado o ponto de equilíbrio $E_2 = \left(\tilde{T}^*, 0, \frac{\alpha_1}{\mu_1} \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1} \right) \right)$ que existe se, e somente se, $\tilde{T}^* \leq K_1$. Este ponto de equilíbrio representa o desaparecimento da população de TAM e a persistência das células CAR-T e de melanoma. Além disso, este ponto de equilíbrio é igual a E_1 quando $\tilde{T}^* = K_1$.

Seja $C^* = 0$ na equação (3.5). Substituindo na equação (3.3) segue que

$$\alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1} \right) (1 + \beta_1 M^*) = 0 \Rightarrow \begin{cases} T^* = K_1, \\ M^* = -\frac{1}{\beta_1}. \end{cases}$$

Como $M^* = -\frac{1}{\beta_1}$ não possui significado biológico, consideremos $T^* = K_1$. Substituindo na equação (3.4), temos que

$$M^* = \frac{K_2(K_1\alpha_2 - \kappa_2)}{\alpha_2 K_1},$$

implicando no ponto de equilíbrio $E_3 = \left(K_1, \frac{K_2(K_1\alpha_2 - \kappa_2)}{\alpha_2 K_1}, 0 \right)$ que existe se, e somente se, $\alpha_2 \geq \frac{\kappa_2}{K_1}$. Assim como o ponto E_1 , o ponto E_3 também caracteriza a falha do tratamento imunoterápico, em que ocorre o desaparecimento da população de células CAR-T e a persistência da população de células de melanoma e TAM. Além disso, este ponto é igual a E_1 quando $\alpha_2 = \frac{\kappa_2}{K_1}$.

O estado estacionário de coexistência satisfaz:

$$\begin{cases} \alpha_1 \left(1 - \frac{T^*}{K_1} \right) (1 + \beta_1 M^*) - \mu_1 C^* = 0, \\ \alpha_2 T^* \left(1 - \frac{M^*}{K_2} \right) - \kappa_2 = 0, \\ \frac{\alpha_3 T^*}{\mathcal{P} + T^*} - \frac{\gamma_3 T^*}{\mathcal{G} + C^*} - \theta_3 M^* - \kappa_3 = 0. \end{cases} \quad (3.6)$$

Considerando a segunda equação do sistema (3.6), seja M^* expressa em termos de T^* , tal que $M^*(T^*) = \frac{K_2(\alpha_2 T^* - \kappa_2)}{\alpha_2 T^*}$. Substituindo $M^*(T^*)$ na primeira equação de (3.6), temos que

$$\frac{1}{T^* K_1 \alpha_2} (-\alpha_1 \alpha_2 (\beta_1 K_2 + 1) T^{*2} + ((K_1(\beta_1 K_2 + 1) \alpha_2 + K_2 \beta_1 \kappa_2) \alpha_1 - C^* K_1 \alpha_2 \mu_1) T^* - K_1 K_2 \alpha_1 \beta_1 \kappa_2) = 0. \quad (3.7)$$

A solução da equação (3.7) fornece duas raízes para T^* que podem ser expressas em função de C^* , e são dadas por

$$T_1^*(C^*) = \frac{((K_1(\beta_1 K_2 + 1) \alpha_2 + K_2 \beta_1 \kappa_2) \alpha_1 - C^* K_1 \alpha_2 \mu_1) + \sqrt{\Delta}}{2(\alpha_1 \alpha_2 (\beta_1 K_2 + 1))}$$

e

$$T_2^*(C^*) = \frac{((K_1(\beta_1 K_2 + 1) \alpha_2 + K_2 \beta_1 \kappa_2) \alpha_1 - C^* K_1 \alpha_2 \mu_1) - \sqrt{\Delta}}{2(\alpha_1 \alpha_2 (\beta_1 K_2 + 1))},$$

em que o discriminante Δ é definido por

$$\Delta := ((K_1(\beta_1 K_2 + 1) \alpha_2 + K_2 \beta_1 \kappa_2) \alpha_1 - C^* K_1 \alpha_2 \mu_1)^2 - 4(-\alpha_1 \alpha_2 (\beta_1 K_2 + 1)(-K_1 K_2 \alpha_1 \beta_1 \kappa_2)).$$

Supondo que, para um dado conjunto de parâmetros, $T_1^*(C^*)$ e $T_2^*(C^*) \in \mathbb{R}$, então existirão dois possíveis pontos de equilíbrio de coexistência, os quais serão analisados a seguir.

- (i) Seja $T_1^*(C^*) := T_1^*$. Substituindo T_1^* em $M^*(T^*)$, tem-se a coordenada M_1^* como função de C^* , que será definida como C_1^* . Então,

$$M_1^*(C_1^*) := M_1^* = \frac{K_2(-\sqrt{\Delta} + ((-K_2 \beta_1 - 1) K_1 \alpha_2 + \kappa_2 (K_2 \beta_1 + 2)) \alpha_1 + C_1^* K_1 \alpha_2 \mu_1)}{-\sqrt{\Delta} + ((-K_2 \beta_1 - 1) K_1 \alpha_2 - K_2 \beta_1 \kappa_2) \alpha_1 + C_1^* K_1 \alpha_2 \mu_1}.$$

Então, da terceira equação de (3.6), a coordenada C_1^* pode ser escrita em termos de T_1^* e M_1^* resultando que

$$C_1^* = \frac{-T_1^{*2} \gamma_3 + (-\gamma_3 \mathcal{P} - \mathcal{G}(\theta_3 M_1^* - \alpha_3 + \kappa_3)) T_1^* - \mathcal{P} \mathcal{G}(\theta_3 M_1^* + \kappa_3)}{(\theta_3 M_1^* - \alpha_3 + \kappa_3) T_1^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_1^* + \kappa_3)}.$$

Portanto, o primeiro possível ponto de equilíbrio de coexistência é dado por

$$E_c^1 = \left(T_1^*, M_1^*, \frac{-T_1^{*2} \gamma_3 + (-\gamma_3 \mathcal{P} - \mathcal{G}(\theta_3 M_1^* - \alpha_3 + \kappa_3)) T_1^* - \mathcal{P} \mathcal{G}(\theta_3 M_1^* + \kappa_3)}{(\theta_3 M_1^* - \alpha_3 + \kappa_3) T_1^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_1^* + \kappa_3)} \right).$$

- (ii) Seja $T_2^*(C^*) := T_2^*$. Substituindo T_2^* em $M^*(T^*)$, tem-se a coordenada M_2^* como função de C^* que agora será definida como C_2^* . Então,

$$M_2^*(C_2^*) := M_2^* = \frac{K_2(\sqrt{\Delta} + ((-K_2 \beta_1 - 1) K_1 \alpha_2 + \kappa_2 (K_2 \beta_1 + 2)) \alpha_1 + C_2^* K_1 \alpha_2 \mu_1)}{\sqrt{\Delta} + ((-K_2 \beta_1 - 1) K_1 \alpha_2 - K_2 \beta_1 \kappa_2) \alpha_1 + C_2^* K_1 \alpha_2 \mu_1}.$$

Como no item anterior, da terceira equação de (3.6), a coordenada C_2^* pode ser obtida em termos de T_2^* e M_2^* , resultando que

$$C_2^* = \frac{-T_2^{*2}\gamma_3 + (-\gamma_3\mathcal{P} - \mathcal{G}(\theta_3 M_2^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_2^* - \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_2^* + \kappa_3)}{(\theta_3 M_2^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_2^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_2^* + \kappa_3)}.$$

Portanto, o segundo possível ponto de equilíbrio de coexistência é dado por

$$E_c^2 = \left(T_2^*, M_2^*, \frac{-T_2^{*2}\gamma_3 + (-\gamma_3\mathcal{P} - \mathcal{G}(\theta_3 M_2^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_2^* - \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_2^* + \kappa_3)}{(\theta_3 M_2^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_2^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_2^* + \kappa_3)} \right).$$

Observamos que houve a necessidade de escrever a coordenada C_1^* em termos de $T_1^*(C_1^*)$ e $M_1^*(C_1^*)$ (C_2^* de forma análoga) devido à alta complexidade algébrica associada, a qual não possibilita a solução do sistema para encontrar as coordenadas $C_{1,2}^*$.

3.3 Análise de estabilidade local

Nesta seção faremos o estudo da estabilidade local dos pontos de equilíbrio associados ao modelo (3.1) mostrados na seção anterior.

Sejam $\bar{E} := (\bar{T}, \bar{M}, \bar{C})$ qualquer ponto de equilíbrio do modelo (3.1) e F_1 , F_2 e F_3 as três componentes do modelo (3.1). As derivadas parciais aplicadas ao ponto de equilíbrio $\bar{E}$ são:

$$\begin{aligned} \frac{\partial F_1}{\partial \bar{T}} &= \frac{-2\left(\bar{T} - \frac{K_1}{2}\right)(\bar{M}\beta_1 + 1)\alpha_1 - \mu_1\bar{C}K_1}{K_1}, \\ \frac{\partial F_1}{\partial \bar{M}} &= -\frac{\alpha_1\bar{T}(-K_1 + \bar{T})\beta_1}{K_1}, \\ \frac{\partial F_1}{\partial \bar{C}} &= -\mu_1\bar{T}, \\ \frac{\partial F_2}{\partial \bar{T}} &= -\frac{\alpha_2\bar{M}(-K_2 + \bar{M})}{K_2}, \\ \frac{\partial F_2}{\partial \bar{M}} &= \frac{(\alpha_2\bar{T} - \kappa_2)K_2 - 2\alpha_2\bar{M}\bar{T}}{K_2}, \\ \frac{\partial F_2}{\partial \bar{C}} &= 0, \\ \frac{\partial F_3}{\partial \bar{T}} &= \frac{\bar{C}(-\mathcal{P}^2\gamma_3 + (-2\gamma_3\bar{T} + \alpha_3(\mathcal{G} + \bar{C}))\mathcal{P} - \bar{T}^2\gamma_3)}{(\mathcal{P} + \bar{T})^2(\mathcal{G} + \bar{C})}, \\ \frac{\partial F_3}{\partial \bar{M}} &= -\theta_3\bar{C}, \\ \frac{\partial F_3}{\partial \bar{C}} &= \frac{1}{(\mathcal{P} + \bar{T})(\mathcal{G} + \bar{C})^2}(((-\theta_3\bar{M} + \alpha_3 - \kappa_3)\bar{T} - \mathcal{P}(\theta_3\bar{M} + \kappa_3))\mathcal{G}^2 + \\ &\quad (-\bar{T}^2\gamma_3 + ((-2\theta_3\bar{M} + 2\alpha_3 - 2\kappa_3)\bar{C} - \mathcal{P}\gamma_3)\bar{T} - 2\bar{C}\mathcal{P}(\theta_3\bar{M} + \kappa_3))\mathcal{G} - \\ &\quad \bar{C}^2((\theta_3\bar{M} - \alpha_3 + \kappa_3)\bar{T} + \mathcal{P}(\theta_3\bar{M} + \kappa_3))). \end{aligned}$$

Analisando a estabilidade do ponto de equilíbrio $E_0 = (0, 0, 0)$, temos que a matriz jacobiana J é dada por

$$J_0 = \begin{pmatrix} \alpha_1 & 0 & 0 \\ 0 & -\kappa_2 & 0 \\ 0 & 0 & -\kappa_3 \end{pmatrix}. \quad (3.8)$$

Então, os autovalores associados a matriz jacobiana (3.8) são $\lambda_1 = \alpha_1$, $\lambda_2 = -\kappa_2$ e $\lambda_3 = -\kappa_3$. Como todos os parâmetros do modelo são positivos, conclui-se que E_0 é instável.

Avaliando a estabilidade do ponto de equilíbrio $E_1 = (K_1, 0, 0)$, a matriz jacobiana é dada por

$$J_1 = \begin{pmatrix} -\alpha_1 & 0 & -\mu_1 K_1 \\ 0 & \alpha_2 K_1 - \kappa_2 & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\alpha_3 K_1}{\mathcal{P} + K_1} - \frac{\gamma_3 K_1}{\mathcal{G}} - \kappa_3 \end{pmatrix}. \quad (3.9)$$

Os autovalores associados a matriz (3.9) são

$$\lambda_1 = -\alpha_1, \quad \lambda_2 = \alpha_2 K_1 - \kappa_2 \quad \text{e} \quad \lambda_3 = \frac{\alpha_3 K_1}{\mathcal{P} + K_1} - \frac{\gamma_3 K_1}{\mathcal{G}} - \kappa_3.$$

Portanto, o ponto de equilíbrio E_1 será linearmente assintoticamente estável se, e somente se,

$$\alpha_2 < \frac{\kappa_2}{K_1} \quad \text{e} \quad \alpha_3 < \frac{(\gamma_3 K_1 + \mathcal{G} \kappa_3)(\mathcal{P} + K_1)}{K_1 \mathcal{G}}.$$

Avaliando a estabilidade do ponto de equilíbrio $E_2 = \left(\tilde{T}^*, 0, \frac{\alpha_1}{\mu_1} \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1} \right) \right)$, em que $\tilde{T}^* \leq K_1$ e, considerando as suposições para positividade de $T_{1,2}^*$ expressas em (ii.a) e (ii.b), a matriz jacobiana é dada por

$$J_2 = \begin{pmatrix} c_{11} & c_{12} & c_{13} \\ 0 & c_{22} & 0 \\ c_{31} & c_{32} & c_{33} \end{pmatrix}, \quad (3.10)$$

em que,

$$\begin{aligned}
c_{11} &= -\frac{\alpha_1 \tilde{T}^*}{K_1}, \\
c_{12} &= \alpha_1 \tilde{T}^* \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right) \beta_1, \\
c_{13} &= -\mu_1 \tilde{T}^*, \\
c_{22} &= \tilde{T}^* \alpha_2 - \kappa_2, \\
c_{31} &= \frac{\alpha_3 \alpha_1 \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1 (\mathcal{P} + \tilde{T}^*)} - \frac{\alpha_3 \alpha_1 \tilde{T}^* \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1 (\mathcal{P} + \tilde{T}^*)^2} - \frac{\gamma_3 \alpha_1 \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1 \left(\mathcal{G} + \frac{\alpha_1 \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1}\right)}, \\
c_{32} &= -\frac{\theta_3 \alpha_1 \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1}, \\
c_{33} &= \frac{\alpha_3 \tilde{T}^*}{\mathcal{P} + \tilde{T}^*} - \frac{\gamma_3 \tilde{T}^*}{\mathcal{G} + \frac{\alpha_1 \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1}} + \frac{\gamma_3 \alpha_1 \tilde{T}^* \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1 \left(\mathcal{G} + \frac{\alpha_1 \left(1 - \frac{\tilde{T}^*}{K_1}\right)}{\mu_1}\right)^2} - \kappa_3.
\end{aligned}$$

A equação característica associada a matriz jacobiana (3.10) é dada por

$$(-c_{22} + \lambda)(\lambda^2 - c_{11}\lambda - c_{13}c_{31}) = 0. \quad (3.11)$$

Do primeiro termo da equação (3.11), tem-se que $\lambda_1 = c_{22}$ e, além disso, este autovalor será negativo se, e somente se,

$$\alpha_2 < \frac{\kappa_2}{\tilde{T}^*}. \quad (3.12)$$

O segundo termo da equação (3.11), será analisado utilizando o critério de Routh-Hurwitz (EDELSTEIN-KESHET, 2005). Seja um polinômio característico de grau n dado por:

$$\lambda^n + p_1 \lambda^{n-1} + \dots + p_n = 0. \quad (3.13)$$

O critério de Routh-Hurwitz estabelece uma condição necessária e suficiente para que a parte real das raízes de polinômios de grau n sejam negativas, sem a necessidade de resolvê-los, auxiliando a análise da estabilidade de pontos de equilíbrio com elevada complexidade algébrica. A Tabela 2 exibe as condições impostas pelo critério de Routh-Hurwitz para polinômios de grau $n \leq 4$.

Tabela 2 – Critério de Routh-Hurwitz para polinômios de grau $n \leq 4$. Adaptado de Edelstein-Keshet (2005).

n	Condições a serem satisfeitas
2	$p_1 > 0; p_2 > 0$
3	$p_1 > 0; p_3 > 0; p_1 p_2 > p_3$
4	$p_1 > 0; p_3 > 0; p_4 > 0; p_1 p_2 p_3 > p_3^2 + p_1^2 p_2$

Utilizando o critério de Routh-Hurwitz para o segundo termo da equação (3.11), tem-se que:

- $p_1 := -c_{11} > 0$, o que é sempre satisfeito, dadas as condições de positividade para $\tilde{T}^*$.
- $p_2 := -c_{13}c_{31} > 0$ se, e somente se,

$$\alpha_3 > -\frac{K_1\gamma_3\mu_1(\mathcal{P} + \tilde{T}^*)^2}{\mathcal{P}((-K_1 + \tilde{T}^*)\alpha_1 - K_1\mathcal{G}\mu_1)} := \bar{\alpha}_3. \quad (3.14)$$

Sabe-se que a existência do ponto é condicionada a $\tilde{T}^* \leq K_1$, fato que torna o denominador de $\bar{\alpha}_3$ um termo negativo, implicando que $\bar{\alpha}_3 > 0$.

Portanto, se as condições acima forem satisfeitas, dependendo do conjunto de parâmetros utilizado, o ponto de equilíbrio E_2 é linearmente assintoticamente estável.

Para mostrar os possíveis pontos de equilíbrio E_2 com seus valores numéricos utilizamos linguagem de programação Python como apoio computacional, e os parâmetros da Tabela 1. Além disso, fixamos $\alpha_1 = 0,69$, $\kappa_2 = 0,34$, $\kappa_3 = 0,13$, $\theta_3 = 10^{-10}$ e $\gamma_3 = 0,04$, sendo escolhidos alguns valores para α_2 e α_3 visando observar as possíveis mudanças na dinâmica. Segue que:

1. Se $\alpha_3 = 0$ (célula·dia) $^{-1}$, então existe apenas um ponto de equilíbrio dado por $E_2 = (-8,9430 \cdot 10^7, 0,7, 5170 \cdot 10^6)$. Então, neste caso o ponto não terá significado biológico.
2. Se $\alpha_3 = 0,3$ (célula·dia) $^{-1}$, então existem duas raízes reais e distintas para as componentes T_1^* e T_2^* que foram definidas, sem perda de generalidade como $\tilde{T}^*$. Os pontos de equilíbrio são:
 - (2.a) $E_2^1 = (6,6547 \cdot 10^7, 0,6, 4408 \cdot 10^6)$ e, os autovalores associados são $\lambda_1 = -0,1888$, $\lambda_2 = 0,1674$ e $\lambda_3 = 6,3147$. Portanto, o ponto é instável, pois, além dos autovalores serem positivos, as condições de estabilidade impostas em (3.12) e (3.12) não são satisfeitas.
 - (2.b) $E_2^2 = (2,5525 \cdot 10^7, 0,6, 7238 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -0,0039 + 0,1543i$, $\lambda_2 = -0,0039 - 0,1543i$ e $\lambda_3 = 2,2125$. Portanto, o ponto é uma espiral instável. Em particular, a condição para estabilidade (3.12) falha, pois

$$\alpha_2 := 10^{-7} > 1,3319 \cdot 10^{-8} := \frac{\kappa_2}{\tilde{T}^*}.$$

Se $\alpha_2 := 10^{-8}$ (célula·dia) $^{-1}$, os autovalores associados tornam-se $\lambda_1 = -0,0039 + 0,1543i$, $\lambda_2 = -0,0039 - 0,1543i$ e $\lambda_3 = -0,0847$, ou seja, o ponto E_2 é uma espiral linearmente assintoticamente estável. Biologicamente, α_2 representa a taxa de recrutamento de TAM pelo tumor, então, a redução desta taxa implica na coexistência das células tumorais e CAR-T, fato que pode ser favorável do ponto de vista terapêutico, tendo em vista as características pró-tumorais dos TAM.

3. $\alpha_3 = 0,9$ (célula·dia) $^{-1}$, então existem, como no item anterior, duas raízes reais e distintas para as componentes T_1^* e T_2^* . Os pontos de equilíbrio são:

(3.a) $E_1^2 = (4,3631 \cdot 10^8, 0,3, 8894 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -0,6510$, $\lambda_2 = 0,4689$ e $\lambda_3 = 43,2912$. Portanto, o ponto é instável, pois as condições de estabilidade expressas em (3.12) e (3.14) falham.

(3.b) $E_2^2 = (3,5375 \cdot 10^6, 0,6, 8755 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -0,0005 + 0,2745i$, $\lambda_2 = -0,0005 - 0,2745i$ e $\lambda_3 = 0,01375$. Portanto, o ponto é uma espiral instável.

Utilizando o mesmo argumento do item anterior, seja $\alpha_2 = 10^{-8}$ (célula·dia) $^{-1}$. Isso implica que nos autovalores $\lambda_1 = -0,0005 + 0,2745i$, $\lambda_2 = -0,0005 - 0,2745i$ e $\lambda_3 = -0,3046$, ou seja, o ponto de equilíbrio torna-se uma espiral estável.

Para representar graficamente o ponto de equilíbrio E_2^2 e testar suas condições de estabilidade utilizamos o pacote de solução de EDOs *Odeint* da biblioteca SciPy, em linguagem de programação Python, sob influência da variação no parâmetro α_2 (cenário mostrado no item 3). As condições iniciais utilizadas nas simulações numéricas foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ e $C(0) = 10^7$ células e os resultados são mostrados na Figura 6.

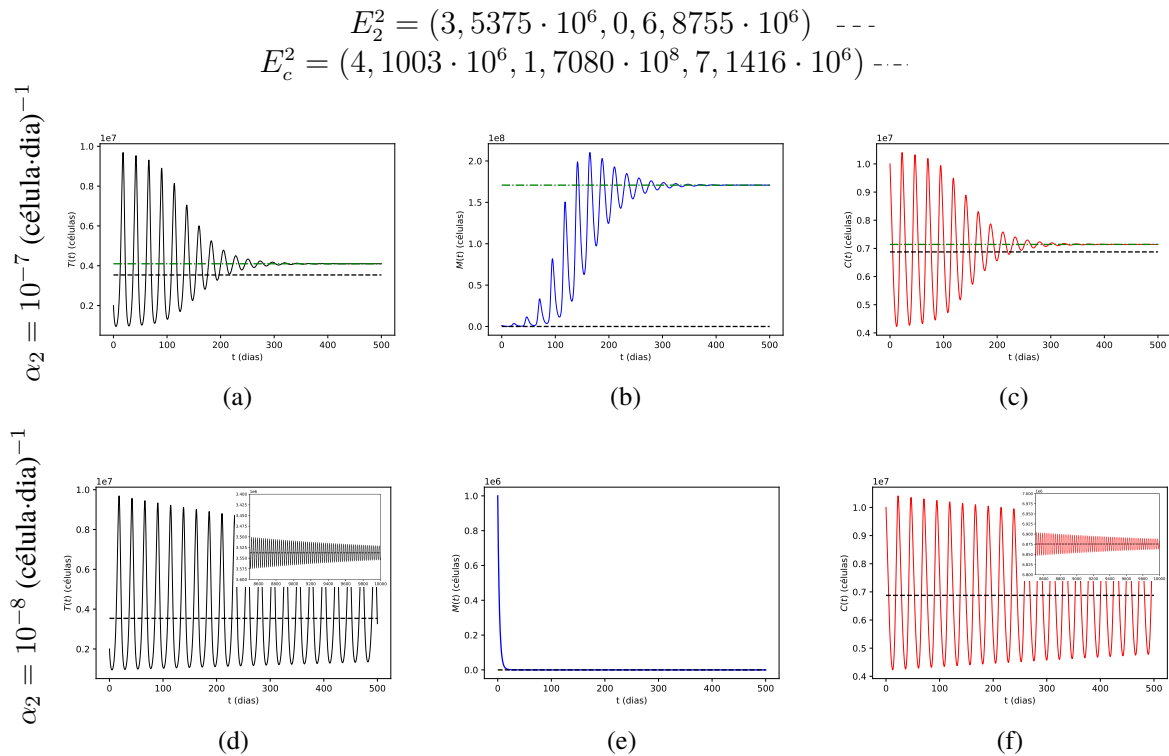


Figura 6 – A redução na taxa de recrutamento de TAM para o sítio tumoral implica na estabilidade do ponto de equilíbrio E_2^2 .

Como mostra as Figuras 6(a), 6(b) e 6(c), quando $\alpha_2 = 10^{-7}$ (célula·dia) $^{-1}$, as soluções tendem a um ponto de equilíbrio de coexistência entre as populações celulares (linha traço-ponto

verde), resultando na instabilidade do ponto E_2^2 . Quando $\alpha_2 = 10^{-8}$ (célula·dia) $^{-1}$, as condições de estabilidade são satisfeitas e as soluções tendem ao ponto de equilíbrio E_2^2 (linha tracejada preta), embora o tempo para a convergência seja elevado, como observado no zoom. De fato, mesmo após dez mil dias, a solução ainda se mostra convergindo para ponto de equilíbrio E_2 . Estas simulações indicam que apenas reduzir a taxa de recrutamento de TAM, implicando na redução população no microambiente tumoral, por si só não é o suficiente para promover um controle tumoral adequado em tempo hábil.

Analisando a estabilidade do ponto de equilíbrio $E_3 = \left(K_1, \frac{K_2(K_1\alpha_2 - \kappa_2)}{\alpha_2 K_1}, 0 \right)$, em que $\alpha_2 \geq \frac{\kappa_2}{K_1}$, a matriz jacobiana é dada por

$$J_3 = \begin{pmatrix} d_{11} & 0 & d_{13} \\ d_{21} & d_{22} & 0 \\ 0 & 0 & d_{33} \end{pmatrix}, \quad (3.15)$$

com,

$$\begin{aligned} d_{11} &= -\alpha_1 \left(\frac{K_2(K_1\alpha_2 - \kappa_2)\beta_1}{K_1\alpha_2} + 1 \right), \\ d_{13} &= -\mu_1 K_1, \\ d_{21} &= \frac{K_2(K_1\alpha_2 - \kappa_2) \left(1 - \frac{K_1\alpha_2 - \kappa_2}{K_1\alpha_2} \right)}{K_1}, \\ d_{22} &= -K_1\alpha_2 + \kappa_2, \\ d_{33} &= \frac{\alpha_3 K_1}{\mathcal{P} + K_1} - \frac{\gamma_3 K_1}{\mathcal{G}} - \frac{\theta_3 K_2(K_1\alpha_2 - \kappa_2)}{K_1\alpha_2} - \kappa_3. \end{aligned}$$

A equação característica associada a matriz (3.15) é

$$(-d_{11} + \lambda)(-d_{22} + \lambda)(-d_{33} + \lambda) = 0 \quad (3.16)$$

e, conforme os termos da equação (3.16), os autovalores são $\lambda_1 = d_{11}$, $\lambda_2 = d_{22}$ e $\lambda_3 = d_{33}$. Analisando o sinal de cada autovalor tem-se que:

- $\lambda_1 < 0$ se, e somente se, $\alpha_2 > \frac{K_2\beta_1\kappa_2}{K_1(K_2 + 1)}$.
- $\lambda_2 < 0$ se, e somente se, $\alpha_2 > \frac{\kappa_2}{K_1}$. É importante notar que esta condição de estabilidade sempre é satisfeita se o ponto existir.
- $\lambda_3 < 0$ se, e somente se,

$$\alpha_3 < \frac{(K_1^2\alpha_2\gamma_3 + \mathcal{G}\alpha_2(K_2\theta_3 + \kappa_3)K_1 - K_2\mathcal{G}\kappa_2\theta_3)(\mathcal{P} + K_1)}{\mathcal{G}K_1^2\alpha_2}.$$

Se as condições acima forem satisfeitas para um dado conjunto de parâmetros, o ponto de equilíbrio E_3 será linearmente assintoticamente estável.

Finalmente, analisemos agora a estabilidade do ponto de equilíbrio de coexistência E_c . Seja $T_{1,2} := T_c$, $M_{1,2}^* := M_c$ e $C_{1,2}^* := C_c^*$. Então,

$$E_c = \left(T_c^*, M_c^*, \frac{-T_c^{*2}\gamma_3 + (-\gamma_3\mathcal{P} - \mathcal{G}(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_c^* - \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3)}{(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_c^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3)} \right),$$

em que

$$T_c^* = \frac{((K_1(\beta_1 K_2 + 1)\alpha_2 + K_2\beta_1\kappa_2)\alpha_1 - C_c^* K_1\alpha_2\mu_1) \pm \sqrt{\Delta}}{2(\alpha_1\alpha_2(\beta_1 K_2 + 1))}$$

e

$$M_c^* = \frac{K_2(\pm\sqrt{\Delta} + ((-K_2\beta_1 - 1)K_1\alpha_2 + \kappa_2(K_2\beta_1 + 2))\alpha_1 + C_c^* K_1\alpha_2\mu_1)}{\pm\sqrt{\Delta} + ((-K_2\beta_1 - 1)K_1\alpha_2 - K_2\beta_1\kappa_2)\alpha_1 + C_c^* K_1\alpha_2\mu_1}.$$

A matriz jacobiana avaliada no ponto E_c é dada por

$$J(E_c) = \begin{pmatrix} e_{11} & e_{12} & e_{13} \\ e_{21} & e_{22} & 0 \\ e_{31} & e_{32} & e_{33} \end{pmatrix}, \quad (3.17)$$

em que,

$$\begin{aligned} e_{11} &= \alpha_1 \left(1 - \frac{T_c^*}{K_1} \right) (M_c^* \beta_1 + 1) - \frac{\alpha_1 T_c^* (M_c^* \beta_1 + 1)}{K_1} - \\ &\quad \frac{\mu_1 (-T_c^{*2}\gamma_3 + (-\mathcal{P}\gamma_3 - \mathcal{G}(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_c^* - \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3))}{(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_c^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3)}, \\ e_{12} &= \alpha_1 \beta_1 T_c^* \left(1 - \frac{T_c^*}{K_1} \right), \\ e_{13} &= -\mu_1 T_c^*, \\ e_{21} &= \alpha_2 M_c^* \left(1 - \frac{M_c^*}{K_2} \right), \\ e_{22} &= \frac{(\alpha_2 T_c^* - \kappa_2)K_2 - 2\alpha_2 M_c^* T_c^*}{K_2}, \\ e_{31} &= -\frac{(T_c^{*2}\gamma_3 + (\mathcal{P}\gamma_3 + \mathcal{G}(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_c^* + \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3))\mathcal{P}\alpha_3}{((\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_c^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3))(\mathcal{P} + T_c^*)^2} - \\ &\quad \frac{T_c^{*2}\gamma_3 + (\mathcal{P}\gamma_3 + \mathcal{G}(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_c^* + \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3)}{T_c^*(\mathcal{P} + T_c^*)}, \\ e_{32} &= -\frac{\theta_3 (-T_c^{*2}\gamma_3 + (-\mathcal{P}\gamma_3 - \mathcal{G}(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_c^* - \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3))}{(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_c^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3)}, \\ e_{33} &= -\frac{1}{T_c^* \gamma_3 (\mathcal{P} + T_c^*)^2} ((T_c^{*2}\gamma_3 + (\mathcal{P}\gamma_3 + \mathcal{G}(\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_c^* + \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3)) \\ &\quad ((\theta_3 M_c^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_c^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_c^* + \kappa_3))). \end{aligned}$$

A equação característica associada a matriz (3.17) é dada por

$$\lambda^3 - (e_{11} + e_{22} + e_{33})\lambda^2 - ((-e_{11} - e_{33})e_{22} - e_{11}e_{33} + e_{12}e_{21} + e_{31}e_{13})\lambda - (e_{11}e_{33} - e_{31}e_{13})e_{22} + e_{21}(e_{12}e_{33} - e_{13}e_{32}) = 0. \quad (3.18)$$

Devido à complexidade algébrica associada a análise de estabilidade do ponto E_c utilizaremos apoio computacional para mostrar os valores numéricos para os possíveis pontos de equilíbrio de coexistência, considerando apenas os positivos, bem como sua estabilidade. Utilizando os parâmetros da Tabela 1, em que fixamos $\alpha_1 = 0,69$, $\alpha_2 = 10^{-7}$, $\kappa_2 = 0,34$, $\kappa_3 = 0,13$, $\gamma_3 = 0,04$, e alguns valores para o parâmetro θ_3 . Segue que:

1. Se $\theta_3 = 10^{-11}$ (célula·dia) $^{-1}$, então existem dois pontos de equilíbrio de coexistência E_c^1 e E_c^2 que são:
 - (1.a) $E_c^1 = (4,4546 \cdot 10^8, 9,9236 \cdot 10^8, 4,6996 \cdot 10^6)$ e, os autovalores associados são $\lambda_1 = -44,2068$, $\lambda_2 = -0,7424$ e $\lambda_3 = 0,5029$. Portanto, o ponto é instável.
 - (1.b) $E_c^2 = (3,5508 \cdot 10^6, 4,2484 \cdot 10^7, 6,9426 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -0,0009 + 0,2721i$, $\lambda_2 = -0,0009 - 0,2721i$ e $\lambda_3 = -0,0142$. Portanto, o ponto é uma espiral estável.
2. Se $\theta_3 = 10^{-10}$ (célula·dia) $^{-1}$, então existem dois pontos de equilíbrio de coexistência E_c^1 e E_c^2 que são:
 - (2.a) $E_c^1 = (3,9421 \cdot 10^8, 9,9137 \cdot 10^8, 5,1330 \cdot 10^6)$ e, os autovalores associados são $\lambda_1 = -39,0823$, $\lambda_2 = -0,6979$ e $\lambda_3 = 0,4928$. Portanto, o ponto é instável.
 - (2.b) $E_c^2 = (4,1003 \cdot 10^6, 1,7080 \cdot 10^8, 7,1416 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -0,0230 + 0,2750i$, $\lambda_2 = -0,0230 - 0,2750i$ e $\lambda_3 = -0,0252$. Portanto, o ponto é uma espiral estável.
3. Se $\theta_3 = 4 \cdot 10^{-10}$ (célula·dia) $^{-1}$, então existem dois pontos de equilíbrio de coexistência E_c^1 e E_c^2 que são:
 - (3.a) $E_c^1 = (1,9687 \cdot 10^8, 9,8273 \cdot 10^8, 6,7940 \cdot 10^6)$ e, os autovalores associados são $\lambda_1 = -19,3497$, $\lambda_2 = -0,4542$ e $\lambda_3 = 0,3641$. Portanto, o ponto é instável.
 - (3.b) $E_c^2 = (2,7226 \cdot 10^7, 8,7511 \cdot 10^8, 8,0631 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -2,3850$, $\lambda_2 = -0,0044 + 0,3247i$ e $\lambda_3 = -0,0044 - 0,3247i$. Portanto, o ponto é uma espiral estável.
4. Se $\theta_3 = 4,25 \cdot 10^{-10}$ (célula·dia) $^{-1}$, então existem dois pontos de equilíbrio de coexistência E_c^1 e E_c^2 que são:
 - (4.a) $E_c^1 = (1,7628 \cdot 10^8, 9,8071 \cdot 10^8, 6,9656 \cdot 10^6)$ e, os autovalores associados são $\lambda_1 = -17,2905$, $\lambda_2 = -0,4164$ e $\lambda_3 = 0,3370$. Portanto, o ponto é instável.

(4.b) $E_c^2 = (3,2430 \cdot 10^7, 8,9516 \cdot 10^8, 8,0507 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -2,9068$, $\lambda_2 = -0,0049 + 0,3123i$ e $\lambda_3 = -0,0049 - 0,3123i$. Portanto, o ponto é uma espiral estável.

5. Se $\theta_3 = 4,5 \cdot 10^{-10}$ (célula·dia) $^{-1}$, então existem dois pontos de equilíbrio de coexistência E_c^1 e E_c^2 que são:

(5.a) $E_c^1 = (1,5360 \cdot 10^8, 9,7786 \cdot 10^8, 7,1536 \cdot 10^6)$ e, os autovalores associados são $\lambda_1 = -15,02316$, $\lambda_2 = -0,3685$ e $\lambda_3 = 0,3009$. Portanto, o ponto é instável.

(5.b) $E_c^2 = (3,9565 \cdot 10^7, 9,1406 \cdot 10^8, 8,0202 \cdot 10^6)$ e os autovalores associados são $\lambda_1 = -3,6211$, $\lambda_2 = -0,0061 + 0,2901i$ e $\lambda_3 = -0,0061 - 0,2901i$. Portanto, o ponto é uma espiral estável.

Para mostrar graficamente os pontos de equilíbrio de coexistência, mais especificamente o ponto E_c^2 , utilizamos os mesmos valores para os parâmetros considerados nos itens acima. As soluções numéricas foram realizadas com o pacote de solução de EDOs *Odeint* da biblioteca SciPy, em linguagem de programação Python, com condições iniciais $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ e $C(0) = 10^7$ células. Os resultados são mostrados na Figura 7.

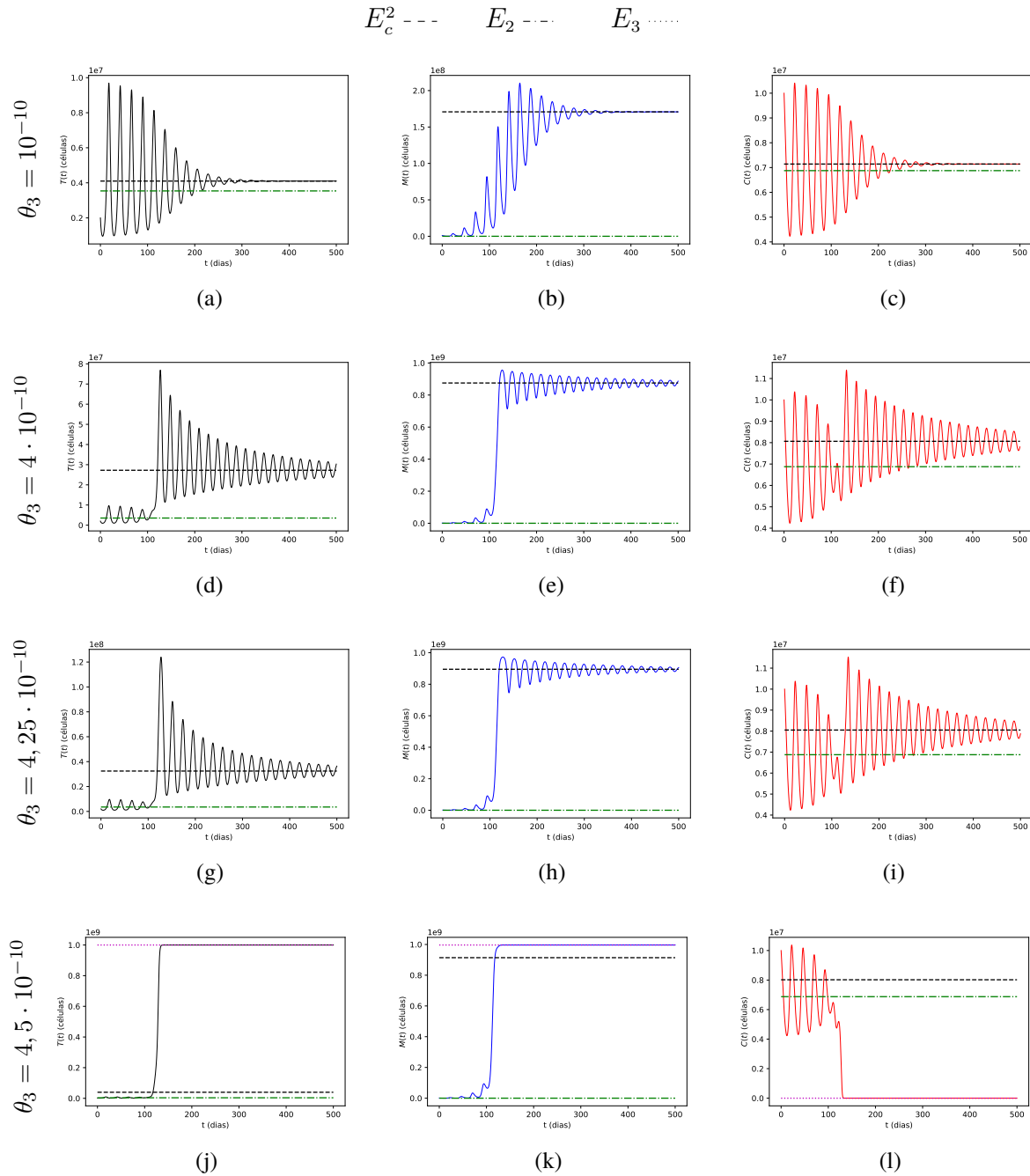


Figura 7 – Soluções numéricas do modelo (3.1) com variações no parâmetro θ_3 . Em (a), (b) e (c) as soluções convergem para o ponto de equilíbrio de coexistência (linha tracejada preta) e variações em θ_3 fazem com que as soluções tenham sua convergência voltada para o ponto de equilíbrio E_3 (linha pontilhada magenta), como mostram as Figuras (j), (k) e (i). Em todos os cenários o ponto de equilíbrio E_2 é uma espiral instável. As condições iniciais utilizadas foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ e $C(0) = 10^7$ células.

As simulações numéricas mostradas na Figura 7 exibem o comportamento das soluções do modelo (3.1) com ênfase para o ponto de equilíbrio E_c^2 . Ao passo que o parâmetro θ_3 aumenta de valor, as soluções tendem a se afastar do ponto de equilíbrio de coexistência, muito embora ele continue sendo um ponto de equilíbrio estável. Em todos os casos analisados, assim como o

ponto E_c^2 é uma espiral estável, o ponto de equilíbrio E_3 também é linearmente assintoticamente estável (linha pontilhada magenta). Isso indica que, a depender das condições iniciais escolhidas, as soluções podem convergir para um ou outro ponto de equilíbrio. A Figura 8 mostra as soluções numéricas dos cenários anteriores em 3D.

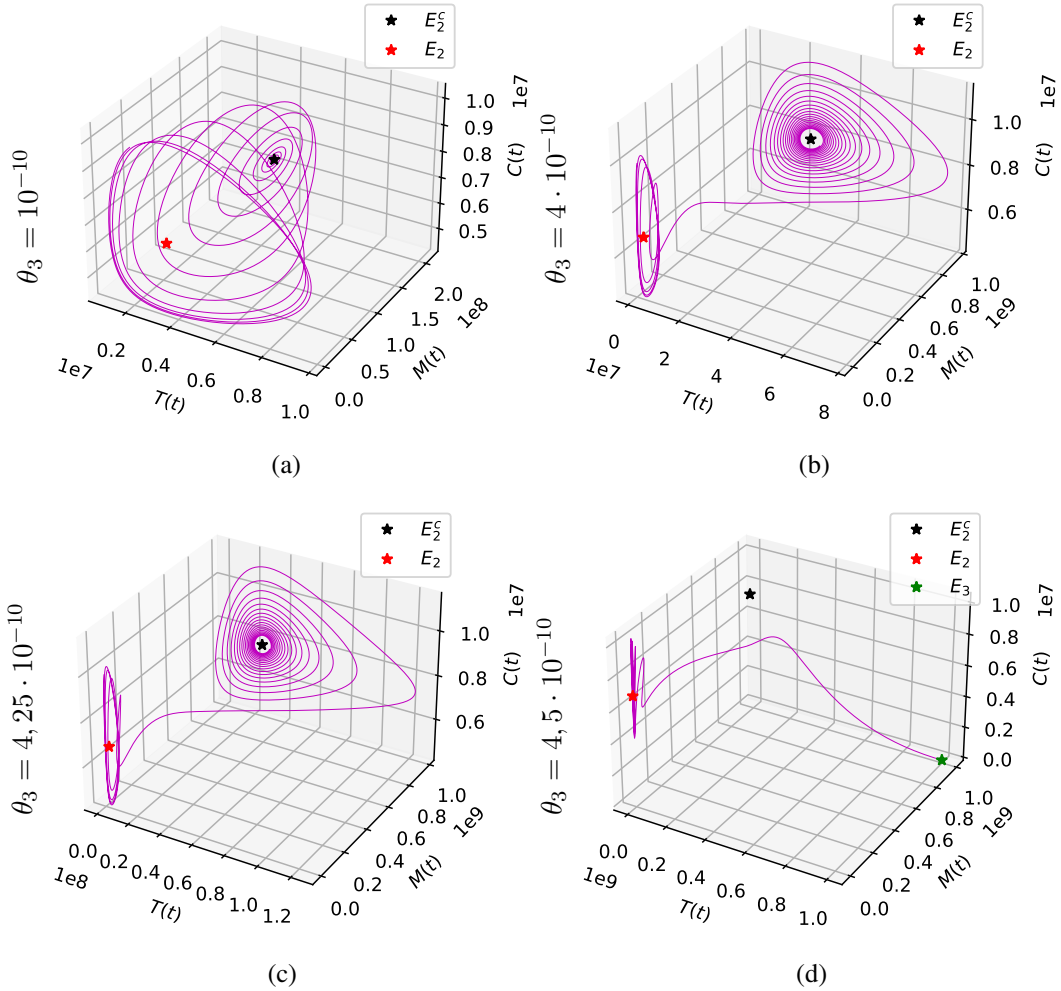


Figura 8 – Retratos de fase em 3D mostrando os pontos de equilíbrio E_c^2 , E_2 e E_3 para valores diferentes de θ_3 .

No modelo, o parâmetro θ_3 representa a taxa de supressão sob as células CAR-T pelos TAM, então, aumentar essa taxa implica tornar o microambiente tumoral mais supressor, fazendo com que a população de células CAR-T decline mais rapidamente, favorecendo a existência do ponto de equilíbrio E_3 , que representa a coexistência apenas das populações de células tumorais e TAM. Além disso, o aumento na taxa θ_3 de modo que $\theta_3 \geq 5 \cdot 10^{-10}$ (células·dia) $^{-1}$ faz com que o ponto E_c^2 deixe de existir, e apenas o ponto E_3 seja estável.

A Tabela 3 traz um resumo dos pontos de equilíbrio associados ao modelo matemático (3.1), bem como a estabilidade linear.

Tabela 3 – Resumo dos pontos de equilíbrio associados ao modelo proposto e estabilidade linear.

Pontos de Equilíbrio	Condições de Existência e Observações	Estabilidade
$E_0 = (0, 0, 0)$	Ponto de equilíbrio trivial	Instável
$E_1 = (K_1, 0, 0)$	Sempre existe	LAE ¹
$E_2 = \left(\bar{T}^*, 0, \frac{\alpha_1}{\mu_1} \left(1 - \frac{\bar{T}^*}{K_1} \right) \right)$	$\bar{T}^* \leq K_1$	Espiral estável
$E_3 = \left(K_1, \frac{K_2(K_1\alpha_2 - \kappa_2)}{\alpha_2 K_1}, 0 \right)$	$\alpha_2 \geq \frac{\kappa_2}{K_1}$	LAE
$E_c^1 = \left(T_1^*, M_1^*, \frac{-T_1^{*2}\gamma_3 + (-\gamma_3 P - \mathcal{G}(\theta_3 M_1^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_1^* - \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_1^* + \kappa_3)}{(\theta_3 M_1^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_1^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_1^* + \kappa_3)} \right)$	$T_1^* = \frac{((K_1(\beta_1 K_2 + 1)\alpha_2 + K_2\beta_1\kappa_2)\alpha_1 - C^* K_1\alpha_2\mu_1) + \sqrt{\Delta}}{2(\alpha_1\alpha_2(\beta_1 K_2 + 1))}$ $M_1^* = \frac{K_2(-\sqrt{\Delta} + ((-K_2\beta_1 - 1)K_1\alpha_2 + \kappa_2(K_2\beta_1 + 2))\alpha_1 + C^* K_1\alpha_2\mu_1)}{-\sqrt{\Delta} + ((-K_2\beta_1 - 1)K_1\alpha_2 - K_2\beta_1\kappa_2)\alpha_1 + C^* K_1\alpha_2\mu_1}$	Analísado numericamente
$E_c^2 = \left(T_2^*, M_2^*, \frac{-T_2^{*2}\gamma_3 + (-\gamma_3 P - \mathcal{G}(\theta_3 M_2^* - \alpha_3 + \kappa_3))T_2^* - \mathcal{P}\mathcal{G}(\theta_3 M_2^* + \kappa_3)}{(\theta_3 M_2^* - \alpha_3 + \kappa_3)T_2^* + \mathcal{P}(\theta_3 M_2^* + \kappa_3)} \right)$	$T_2^* = \frac{((K_1(\beta_1 K_2 + 1)\alpha_2 + K_2\beta_1\kappa_2)\alpha_1 - C^* K_1\alpha_2\mu_1) - \sqrt{\Delta}}{2(\alpha_1\alpha_2(\beta_1 K_2 + 1))}$ $M_2^* = \frac{K_2(\sqrt{\Delta} + ((-K_2\beta_1 - 1)K_1\alpha_2 + \kappa_2(K_2\beta_1 + 2))\alpha_1 + C^* K_1\alpha_2\mu_1)}{\sqrt{\Delta} + ((-K_2\beta_1 - 1)K_1\alpha_2 - K_2\beta_1\kappa_2)\alpha_1 + C^* K_1\alpha_2\mu_1}$	Analísado numericamente

¹LAE: Linearmente assintoticamente estável para um dado conjunto de parâmetros.

3.4 Análise de sensibilidade global

Muitos fenômenos envolvidos na dinâmica entre as células CAR-T, células tumorais e macrófagos associados a tumores incorporados do modelo (3.1) não são bem compreendidos. Cada população celular possui particularidades e participam de processos e fenômenos biológicos distintos como, por exemplo, a liberação de citocinas citotóxicas pelas células CAR-T, a apresentação de antígenos pelas células tumorais, e fatores imunossupressores produzidos pelos TAM. Desse modo, construir cenários para investigar tais fenômenos, bem como quantificar os parâmetros do modelo são fontes de incerteza que podem afetar a qualidade dos resultados. Portanto, quantificar as incertezas associadas ao modelo e entender como elas se propagam durante o processo de previsão pode determinar se o modelo será uma boa ferramenta de previsão dos fenômenos biológicos que se espera captar. Esse processo de quantificação de incertezas é denominado análise de sensibilidade (SA, *Sensitivity Analysis*).

De acordo com (SALTELLI; TARANTOLA; CHAN, 1999), a análise de sensibilidade visa determinar como um modelo depende de seus parâmetros associados, contribuindo para a compreensão do comportamento, a coerência entre o modelo e o fenômeno a ser modelado, e como diferentes partes do modelo interagem. Isso possibilita identificar e classificar os parâmetros que possuem maior relevância para as respostas do modelo.

Uma análise de sensibilidade pode ser dividida em duas vertentes, a análise local e global. Na SA local, são investigadas as respostas locais das saídas do modelo, obtidas a partir da variação dos parâmetros de entrada um de cada vez, mantendo as outras fixada a um valor central (nominal). A análise é realizada em um determinado ponto central no espaço de fatores de entrada, e o volume da região explorada é nulo. A SA global envolve dois aspectos: primeiro, o espaço dos fatores de entrada é explorado em uma região finita (ou mesmo infinita), e, segundo, a variação da saída induzida por um fator é tomada globalmente, ou seja, calcula-se a média sobre a variação de todos os fatores (SALTELLI; TARANTOLA; CHAN, 1999). Em nossas análises utilizamos técnicas SA globais.

O sistema de EDOs (3.1) possui 13 parâmetros em que, alguns tiveram seus valores

oriundos da literatura e outros foram considerados valores que possuem incertezas intrínsecas. Para modelos que possuem parâmetros com tais incertezas, deve-se avaliar quais destes são mais relevantes para as respostas do modelo. Para isso, utilizaremos um método baseado em variância, isto é, um método que afere como uma pequena variação em um determinado parâmetro pode afetar a resposta do modelo. Métodos baseados em variância possuem as seguintes características (SALTELLI et al., 2008):

- Independência do modelo: a medida de sensibilidade é livre de modelos;
- Capacidade de captar a influência de toda a gama de variação de cada fator de entrada;
- Apreciação dos efeitos de interação entre os fatores de entrada;
- Capacidade de lidar com grupos de fatores de entrada: fatores incertos podem pertencer a diferentes tipos lógicos, e pode ser desejável decompor a incerteza de acordo com esses tipos.

De modo geral, as SA são realizadas através da avaliação dos índices de sensibilidade. O índice de sensibilidade de primeira ordem (S_1) estima a contribuição do parâmetro individual para o desvio na saída do modelo, ou seja, na sua solução numérica, enquanto o índice de sensibilidade total (S_T) estima a contribuição total de cada parâmetro após considerar as interações com outros parâmetros. Os parâmetros com índices de sensibilidade de primeira ordem e total superiores a 0,05 são considerados significativos para a saída do modelo (ZHANG et al., 2015; AMBAHERA, 2022).

Realizamos a SA global dos parâmetros do modelo utilizando o teste de sensibilidade de amplitude de Fourier estendido (eFAST, *extended Fourier Amplitude Sensitivity Test*), disponível em linguagem de programação Python, na biblioteca SaLib (SALTELLI; TARANTOLA; CHAN, 1999; SALTELLI et al., 2008; HERMAN; USHER, 2017; IWANAGA; USHER; HERMAN, 2022). O teste de sensibilidade de amplitude de Fourier (FAST, *Fourier Amplitude Sensitivity Test*) foi introduzido na década de 70, considerado um dos testes mais elegantes para SA. A característica central do FAST é que o espaço multidimensional dos fatores de entrada é explorada por uma curva de busca adequadamente definida (SALTELLI; TARANTOLA; CHAN, 1999). Nesta técnica, calcula-se a chamada contribuição de “efeito principal” de cada fator de entrada para a variação da saída, uma quantidade denominada “medida de importância” ou “taxa de correlação” (SALTELLI; TARANTOLA; CHAN, 1999). O método eFAST consiste em um melhoramento do método original, conseguindo captar índices de sensibilidade de ordem total.

Em nossas análises consideramos o efeito de pequenas mudanças nos parâmetros, isto é, uma perturbação de $\pm 20\%$ dos valores de referência mostrados na Tabela 1. Por exemplo, dado o parâmetro $\alpha_1 = 0,69$, nas análises, consideramos uma faixa de valores para α_1 entre $0,69 \cdot 0,8 \leq \alpha_1 \leq 0,69 \cdot 1,20$. Além disso, consideramos o cenário em que exibimos numericamente

o ponto de equilíbrio de coexistência E_c^2 na seção 3.3, visto que este se mostrou interessante do ponto de vista terapêutico. As Figuras 9, 10 e 11, bem como as Tabelas 4, 5 e 6 exibem os resultados obtidos.

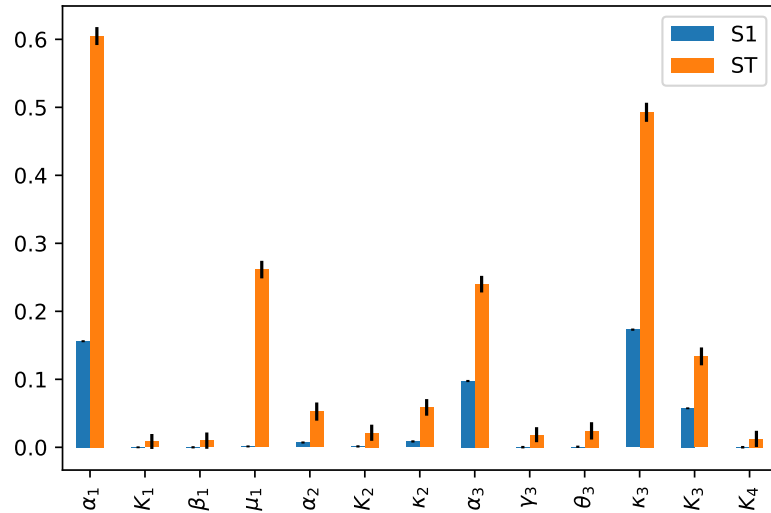


Figura 9 – Índices de sensibilidade dos parâmetros considerando a população de células tumorais $T(t)$.

No cenário onde a saída é a população de células tumorais (Figura 9), a análise de sensibilidade mostrou que os parâmetros mais sensíveis à dinâmica são os intrínsecos as células tumorais e as células CAR-T, devido ao elevado índice de sensibilidade total para estes parâmetros ($> 0,05$). Isso também é mostrado na Tabela 4, onde são exibidos os valores numéricos para os índices de sensibilidade de primeira ordem (S1) e de ordem total (ST) de cada parâmetro.

Tabela 4 – Índices de sensibilidade de primeira ordem e de ordem total dos parâmetros do modelo (3.1) considerando a população de células tumorais ($T(t)$).

Parâmetros	Sensibilidade de ordem 1 (S1)	IC 95% para S1	Sensibilidade total (ST)	IC 95% para ST
α_1	0,156030	0,001485	0,604807	0,013194
K_1	0,000001	0,001419	0,008570	0,011010
β_1	0,000002	0,001658	0,009806	0,011985
μ_1	0,001300	0,001494	0,261346	0,012919
α_2	0,007076	0,001560	0,052564	0,013356
K_2	0,001319	0,001661	0,021412	0,011859
κ_2	0,008663	0,001653	0,058697	0,012202
α_3	0,097485	0,001605	0,239945	0,012203
γ_3	0,000195	0,001844	0,018569	0,011034
θ_3	0,000845	0,001653	0,024191	0,012735
κ_3	0,173062	0,001633	0,492698	0,014034
$\mathcal{P}$	0,057381	0,001390	0,133735	0,013131
$\mathcal{G}$	0,000098	0,001870	0,012392	0,011888

Em particular, o crescimento tumoral (α_1), a capacidade citotóxica das células CAR-T

(μ_1), a expansão das células CAR-T (α_3), a apoptose das células CAR-T (κ_3) e a taxa de saturação referente a expansão das células CAR-T ($\mathcal{P}$) são os que causam maior impacto na população de células tumorais. Isso indica que a modulação de tais parâmetros pode auxiliar na busca por um controle tumoral.

A Figura 10 e a Tabela 5 exibem os índices de sensibilidade dos parâmetros considerando as soluções numéricas, ou seja, as saídas do modelo relacionadas a população de TAM.

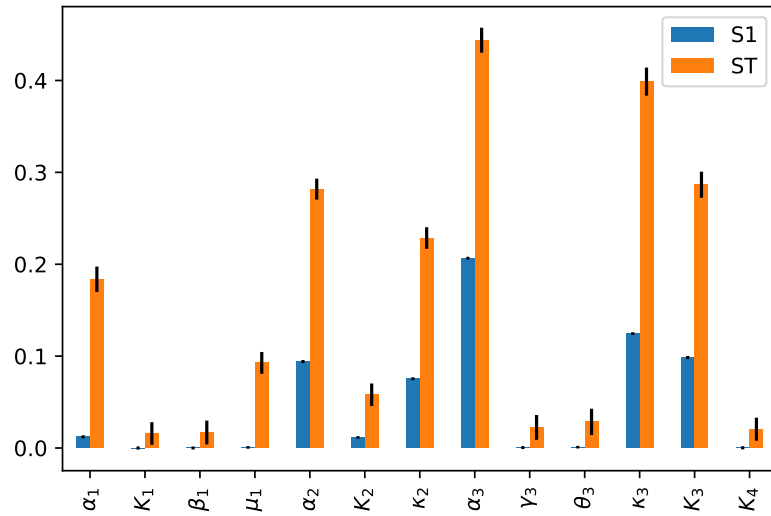


Figura 10 – Índices de sensibilidade dos parâmetros considerando a população de TAM ($M(t)$).

Tabela 5 – Índices de sensibilidade de primeira ordem e de ordem total dos parâmetros do modelo (3.1) considerando a população de TAM ($M(t)$).

Parâmetros	Sensibilidade de ordem 1 (S1)	IC 95% para S1	Sensibilidade total (ST)	IC 95% para ST
α_1	0,012151	0,001623	0,183628	0,013841
K_1	0,0000001	0,001731	0,015763	0,012342
β_1	0,000026	0,001616	0,016864	0,012989
μ_1	0,000663	0,001419	0,092647	0,011880
α_2	0,094071	0,001700	0,281754	0,011396
K_2	0,011545	0,001354	0,057922	0,012280
κ_2	0,075413	0,001587	0,228512	0,011747
α_3	0,206626	0,001493	0,443841	0,013589
γ_3	0,000458	0,001612	0,022407	0,013509
θ_3	0,000921	0,001399	0,028419	0,014342
κ_3	0,124592	0,001438	0,398766	0,015272
$\mathcal{P}$	0,098450	0,001749	0,286537	0,014203
$\mathcal{G}$	0,000234	0,001719	0,020449	0,012535

Nesta população celular, o parâmetro α_3 tem maior influência nas soluções numéricas, além dos parâmetros intrínsecos aos TAM. Isso indica que as células CAR-T, mesmo que indiretamente, também causam impacto na população de TAM presentes no sítio tumoral.

Por fim, a Figura 11 e a Tabela 6 mostram os índices de sensibilidade dos parâmetros onde a saída do modelo é a população de células CAR-T.

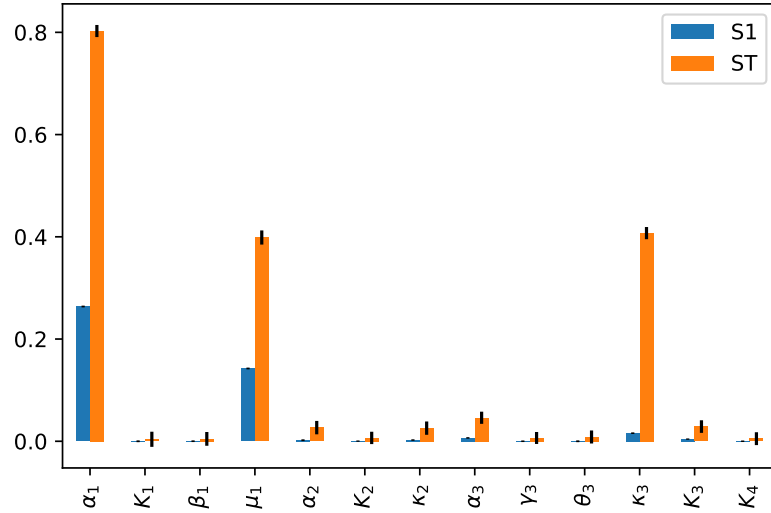


Figura 11 – Índices de sensibilidade dos parâmetros considerando a população de células CAR-T ($C(t)$).

Tabela 6 – Índices de sensibilidade de primeira ordem e de ordem total dos parâmetros do modelo (3.1) considerando a população de células CAR-T ($C(t)$).

Parâmetros	Sensibilidade de ordem 1 (S1)	IC 95% para S1	Sensibilidade total (ST)	IC 95% para ST
α_1	0,263634	0,001714	0,802579	0,011837
K_1	0,000002	0,001767	0,003878	0,014806
β_1	0,000112	0,001648	0,004662	0,013457
μ_1	0,142410	0,001729	0,398635	0,013836
α_2	0,002036	0,001760	0,026699	0,013095
K_2	0,000319	0,001298	0,006564	0,012079
κ_2	0,002387	0,001484	0,025695	0,013022
α_3	0,006570	0,001490	0,045990	0,011898
γ_3	0,000025	0,001547	0,006436	0,011726
θ_3	0,000006	0,001749	0,008388	0,012744
κ_3	0,015811	0,001572	0,407209	0,011924
$\mathcal{P}$	0,004229	0,001311	0,028759	0,012322
$\mathcal{G}$	0,000018	0,001483	0,005082	0,012580

Os resultados obtidos mostram que os parâmetros mais influentes à dinâmica são os intrínsecos às células CAR-T. Além disso, o parâmetro α_1 exibiu o maior índice de sensibilidade para a população de células CAR-T, fato esperado devido à dependência do antígeno tumoral para que esta população possa se expandir.

A análise de sensibilidade se mostrou importante para a escolha dos parâmetros a serem modulados, bem como para a construção dos cenários estudados nas simulações computacionais, os quais serão apresentados na seção seguinte.

3.5 Simulações computacionais

Nesta seção serão apresentadas as simulações computacionais realizadas através da implementação do método de Runge-Kutta de quarta ordem adaptado e aplicado ao modelo (3.1) utilizando linguagem de programação Python. Na seção 3.3 mostramos, por algumas simulações numéricas com o pacote *Odeint*, que a dinâmica possui um caráter oscilatório. Alguns modelos envolvendo a cinética das células CAR-T foram desenvolvidos para mostrar as fases distintas que a compõe, sendo as fases de distribuição, expansão, contração e persistência (QI et al., 2022). As fases de contração e persistência das células CAR-T compõem as últimas fases, antes da extinção da população celular e, devido a este fato, um comportamento oscilatório não é esperado e não é biologicamente possível.

Para adaptar as simulações a um cenário mais realista, como quando as células CAR-T sofrem esgotamento ou quando o tumor perde o antígeno, utilizamos um procedimento numérico para que a população de células CAR-T não se expanda novamente, sem causar interferências nas outras populações, permitindo, por exemplo, o escape do tumor. Além disso, o algoritmo foi construído para calcular o tempo com que a população de células tumorais T permanece abaixo de 10^2 células, possibilitando simular o tempo de controle tumoral mediante a dose imunoterápica utilizada em diferentes cenários (BARROS et al., 2021).

3.5.1 Cenário 1: avaliando os efeitos imunossupressores do melanoma e as fases cinéticas das células CAR-T sem a presença de TAM

Neste primeiro cenário, todos os parâmetros relacionados aos macrófagos foram tomados como iguais a zero com o intuito de avaliar apenas a interação entre as células CAR-T e de melanoma. A princípio, o objetivo neste cenário foi verificar se a dinâmica das células CAR-T possui significado biológico, e se a população de células CAR-T exibe as fases que são características a sua dinâmica. Para isso, foram utilizados os valores para os parâmetros da Tabela 1 e assumimos que $\kappa_3 = 0,01 \text{ dia}^{-1}$ e $\gamma_3 = 0,02 \text{ (células} \cdot \text{dia)}^{-1}$. As condições iniciais utilizadas neste cenário foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ (que não teve efeitos sob a dinâmica) e $C(0) = 10^6$ células, e o tempo considerado nas simulações foi de 40 dias. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 12.

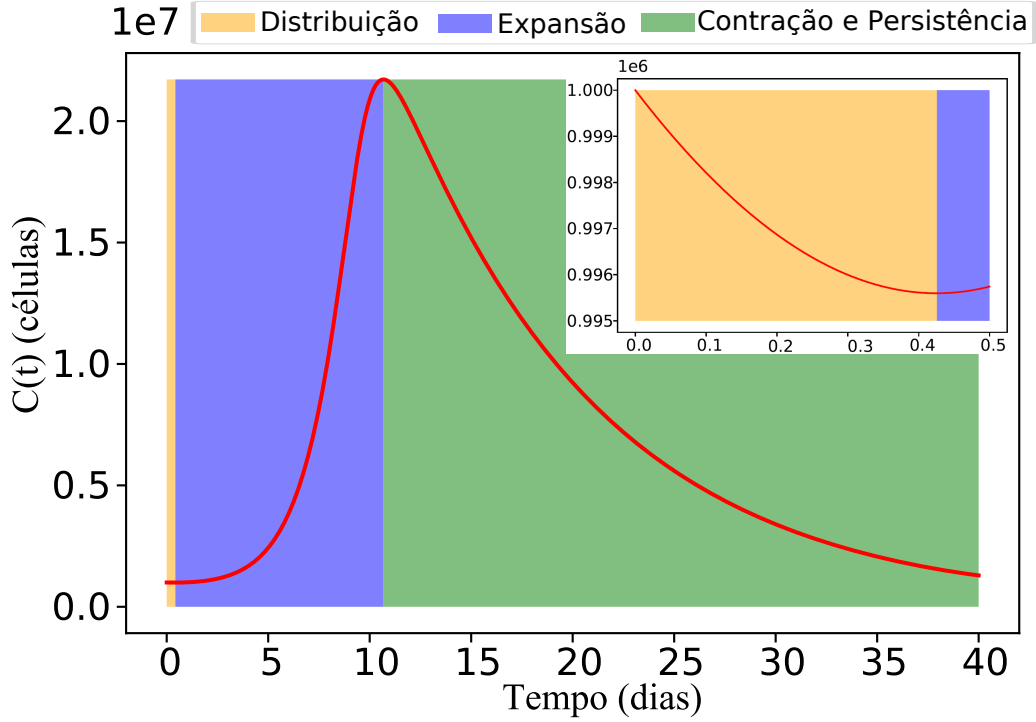


Figura 12 – Fases do comportamento cinético das células CAR-T captadas pelo modelo proposto. A curva vermelha representa a dinâmica populacional das células CAR-T sob baixa taxa de apoptose ($\kappa_3 = 0,1 \text{ dia}^{-1}$) onde foram captadas as fases de distribuição (região amarela), expansão (região azul), e a fase de contração e persistência (região verde). Na ampliação a fase de distribuição é evidenciada. As condições iniciais utilizadas foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ e $C(0) = 10^6$ células.

Após a aplicação da dose imunoterapêutica no paciente, as células CAR-T se distribuem (fase de distribuição) para os diversos tecidos do organismo, resultando em um declínio populacional das células, fato observável na região amarela do gráfico na Figura 12, e na ampliação. Após esse declínio as células se expandem (fase de expansão) até atingir um pico de expansão, devido ao contato com o antígeno tumoral. O pico de expansão é a quantidade máxima populacional, o que pode ser visto na região azul da Figura 12. Neste cenário o pico de expansão se deu em aproximadamente 10,7 dias e a população atingiu cerca de $2,1 \cdot 10^7$ células. Por fim, as células CAR-T passam por alguns processos que contribuem para um novo declínio populacional, a fase de contração e persistência, denotada pela região verde. Alguns fenômenos biológicos contribuem para esta última fase, tais como a apoptose e a perda do antígeno tumoral. Além disso, biologicamente, uma fração das células CAR-T passa por mudanças fenotípicas, adotando fenótipos de memória, podendo persistir por meses ou anos, mediando uma atividade antitumoral contínua (QI et al., 2022; BARROS et al., 2021).

No contexto da dinâmica apenas entre as células CAR-T e de melanoma, visando avaliar os efeitos imunossupressores que induzem as células CAR-T a apoptose durante a sua atuação contra o melanoma, os quais são captados pelo parâmetro κ_3 , assumimos alguns valores para

este parâmetro no intervalo $[0,1; 0,5]$ dia^{-1} , e utilizamos as condições iniciais $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$ e $C(0) = 10^6$ células. A Figura 13 exhibe os resultados obtidos.

$$\kappa_3 = 0,1 \text{ dia}^{-1} \text{ — } \kappa_3 = 0,25 \text{ dia}^{-1} \text{ - - - } \kappa_3 = 0,35 \text{ dia}^{-1} \text{ - . - . } \kappa_3 = 0,5 \text{ dia}^{-1} \text{}$$

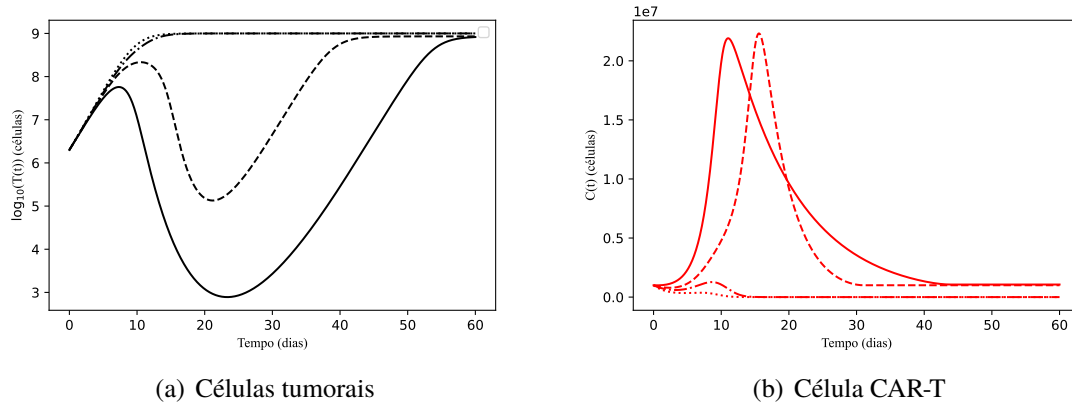


Figura 13 – O aumento da taxa de apoptose das células CAR-T causa um atraso no pico de expansão. São mostrados em (a) a dinâmica tumoral (curvas pretas) e (b) a dinâmica das células CAR-T (curvas vermelhas).

Os resultados mostram que o aumento da taxa de apoptose κ_3 causa um atraso na expansão das células CAR-T. Ao comparar as Figuras 13(a) e 13(b), as células de melanoma sofrem um declínio populacional logo após o pico de expansão ser alcançado pelas células CAR-T, então, tal atraso afeta negativamente o tratamento. Estas observações podem representar, por exemplo, a interação do ligante PD-L1 presente nas células tumorais com o receptor PD-1, presente na superfície dos linfócitos T. Uma forma de contornar essa barreira seria a utilização adjuvante de imunoterápicos bloqueadores de *checkpoint* imunológico, como, por exemplo, anti-PD-1/PD-L1, evitando a depleção das células CAR-T pelo tumor (MCGOWAN et al., 2020; SOLTANTOYEH et al., 2021; LEÓN-TRIANA et al., 2021; CHOW et al., 2022).

Para avaliar a modulação da dose inicial das células CAR-T contra o melanoma supusemos $\kappa_3 = 0,35$ e $\kappa_3 = 0,5 \text{ dia}^{-1}$, com doses iniciais de células CAR-T entre $[5 \cdot 10^6, 10^8]$ células. Nesta simulações computacionais o objetivo foi avaliar qual seria a dose mais eficaz para controlar as células tumorais sob altas taxas de apoptose de células CAR-T. Os resultados são mostrados na Figura 14.

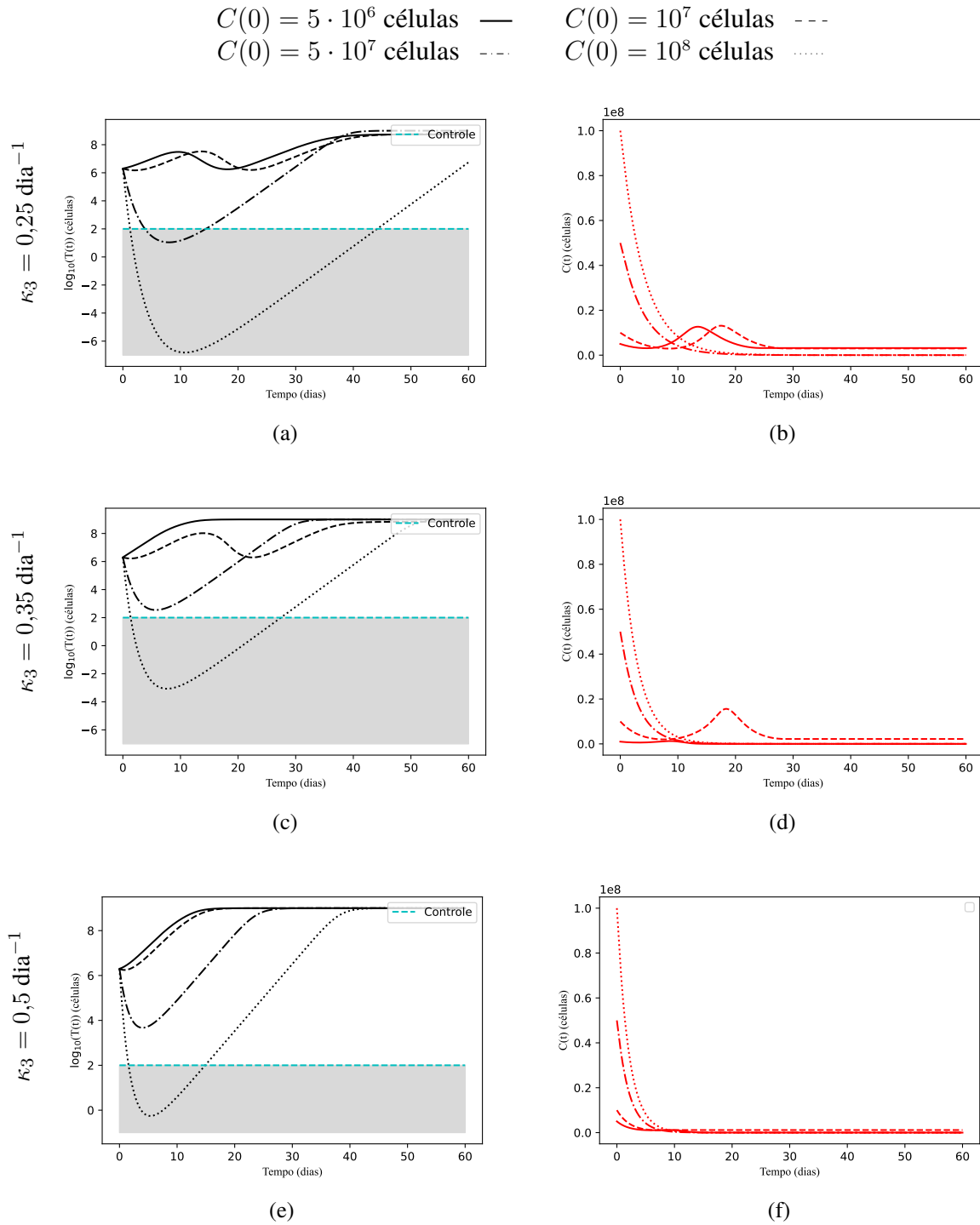


Figura 14 – A modulação da dose imunoterápica inicial pode auxiliar no controle tumoral (permanência da população de células tumorais na região cinza dos gráficos), mesmo sob taxas elevadas de apoptose de células CAR-T, considerando um microambiente sem TAM. A dinâmica tumoral é representada pelas curvas pretas e a dinâmica das células CAR-T pelas curvas vermelhas. A linha tracejada em cor ciano representa o limiar de controle tumoral, estipulado em 10^2 células tumorais. As condições iniciais utilizadas foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$ e $M(0) = 10^6$ células.

Nossos resultados mostram que a modulação da dose inicial de células CAR-T pode aumentar a efetividade da imunoterapia, mesmo sob altas taxas de apoptose. Na Figura 14(a)

observamos que, para um microambiente tumoral munido com baixos fatores indutores de apoptose, as doses $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e $C(0) = 10^8$ células conseguiram controlar o tumor por 10 e 42 dias, respectivamente.

A Figura 14 mostra a dinâmica populacional das células CAR-T para diferentes doses iniciais. O aumento da dose inicial promove um controle mais eficaz das células tumorais. Vale ressaltar que, embora as doses imunoterápicas de $C(0) = 5 \cdot 10^6$ e $C(0) = 10^7$ células tenham mostrado picos de expansão, elas não obtiveram sucesso em controlar o tumor. No entanto, as doses iniciais $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e $C(0) = 10^8$ células tiveram sucesso em controlar as células tumorais por um período, mas não apresentaram nenhum pico de expansão evidente. Isso ocorre porque a expansão populacional das células CAR-T é estritamente dependente do antígeno tumoral e, como a população tumoral decresce rapidamente a baixos níveis populacionais, as células CAR-T perdem a capacidade de expandir a população e extinguem-se da dinâmica.

O aumento da taxa de apoptose para $\kappa_3 = 0,35$ e $\kappa_3 = 0,5 \text{ dia}^{-1}$, respectivamente, faz com que as doses percam eficácia, fato observável nas Figuras 14(c) e 14(e), onde apenas a dose imunoterápica de $C(0) = 10^8$ células obteve sucesso no controle tumoral, controlando-o por 26 e 13 dias, respectivamente.

Essas análises são importantes, pois, devido à complexidade que envolve o tratamento oncológico, uma das principais preocupações está em como estender ao máximo possível o tempo de vida do paciente. Nossos resultados, portanto, mostram que a dose imunoterápica possui um importante papel no que diz respeito a prolongar a vida do paciente, abrindo caminho para outras possibilidades terapêuticas. No entanto, dadas as dificuldades relacionadas a produção *in vitro* de células CAR-T, a escolha da dose ainda irá depender da quantidade disponível para a terapia.

3.5.2 Cenário 2: TAM influenciam negativamente a imunoterapia de células CAR-T

Neste cenário incluímos a população de macrófagos associados a tumores utilizando os parâmetros a eles relacionados presentes na Tabela 1. Como mencionado no Capítulo 1, a imunossupressão causada por células do sistema imune presentes no microambiente tumoral, em especial os TAM, representam uma das maiores barreiras para respostas eficazes do tratamento com células CAR-T e participam na progressão da doença. Neste senso, avaliamos o impacto causado por um microambiente tumoral cada vez mais imunossupressor devido à presença de TAM e, para isso, assumimos o parâmetro $\kappa_3 = 0,35 \text{ dia}^{-1}$ para simular um microambiente tumoral indutor de apoptose, e variamos o parâmetro θ_3 no intervalo $[0; 10^{-10}] \text{ (célula} \cdot \text{dia)}^{-1}$.

O parâmetro θ_3 consiste em um dos parâmetros mais importantes do modelo (3.1) pois nele são incorporados os fenômenos relacionados a imunossupressão causada pelos TAM sob as células CAR-T, podendo trazer informações acerca dos mecanismos de falha desta imunoterapia contra o melanoma. As condições iniciais utilizadas neste cenário foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$

e $C(0) = 5 \cdot 10^6$ células e o tempo simulado foi $t = 60$ dias. A motivação para a escolha do $M(0)$ é baseada no fato de que TAM correspondem a cerca de 50% das células que populam o microambiente tumoral em diversos cânceres sólidos, como o melanoma (MANTOVANI et al., 2017; VITALE et al., 2019). Os resultados obtidos são mostrados na Figura 15.

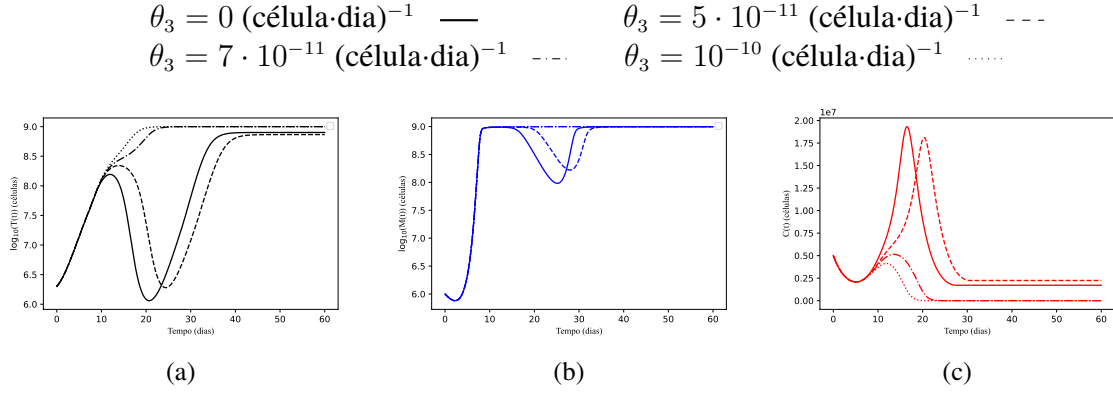


Figura 15 – A imunossupressão causada por TAM prejudica a cinética populacional das células CAR-T *in silico* e, consequentemente, o tratamento da doença. Dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas) sob diferentes cenários de imunossupressão devido aos TAM.

A Figura 15(a) mostra que a imunossupressão causada por TAM nas células CAR-T tem um impacto negativo no tratamento. Embora o tumor não atinja níveis de controle (10^2 células) em nenhum dos casos, este cenário mostra que quanto maior é a taxa de imunossupressão, mais rapidamente as células tumorais escapam para a capacidade de suporte. Nossos resultados corroboram observações clínicas de que a ação do TAM está correlacionada com a má sobrevivência em muitos tipos de cânceres sólidos (MANTOVANI et al., 2017; VITALE et al., 2019).

A Figura 15(b) mostra que os macrófagos associados a tumores possuem dinâmica semelhante à das células de melanoma. Isso é esperado devido à maneira como o modelo matemático foi construído, em que tanto as células tumorais quanto TAM crescem segundo a lei logística. Além disso, TAM são recrutados para o local do tumor participando dos processos envolvidos na progressão tumoral. Isso mostra que o impacto causado pela imunoterapia nas células tumorais também impacta a população de TAM e, mesmo que o TAM não expresse o antígeno alvo das células CAR-T, o tratamento interfere indiretamente na dinâmica populacional.

Na Figura 15(c), fica claro que os macrófagos têm um impacto negativo na população de células CAR-T. As simulações mostram que o aumento do parâmetro θ_3 faz com que a população de células CAR-T diminua mais rapidamente, afetando o tratamento. Em particular, nas simulações em que $\theta_3 = 7 \cdot 10^{-11}$ e $\theta_3 = 10^{-10}$ (células $\cdot$ dia) $^{-1}$, as células CAR-T perderam a capacidade de expansão e não afetaram a população de células tumorais. Nossos resultados corroboram os dados da literatura sobre a imunossupressão causada por TAM quando são utilizadas imunoterapias com células CAR-T (MEHRABADI et al., 2022; ZHANG et al., 2022). Fatores imunossupressores como a IL-10, produzidas por TAM, estão entre as possíveis causas do fracasso da imunoterapia

com células CAR-T no combate a tumores sólidos como o melanoma (RODRIGUEZ-GARCIA et al., 2021). A utilização de imunoterapias que utilizam células CAR-T capazes de atuar contra mais de um antígeno, por exemplo, antígenos de melanoma como o GD2 e antígenos expressos por TAM como CD163, poderiam ser consideradas para diminuir os efeitos pró tumorais dos TAM (YAMAGUCHI et al., 2022; RODRIGUEZ-GARCIA et al., 2021; YU et al., 2018).

3.5.3 Cenário 3: aumentar a dose imunoterápica inicial pode auxiliar a vencer o microambiente imunossupressor

Neste cenário, realizamos simulações variando as doses iniciais de células CAR-T com a finalidade de verificar a dose que por mais tempo consegue controlar o tumor sob condições de imunossupressão. Para isso, utilizamos os parâmetros da Tabela 1 e assumimos $\kappa_3 = 0,35 \text{ dia}^{-1}$ para simular um microambiente indutor de apoptose e, além disso, variamos o parâmetro θ_3 partindo do valor $10^{-10} (\text{célula} \cdot \text{dia})^{-1}$ que foi o valor observado como sendo o que mais afetou a dinâmica das células CAR-T no cenário anterior. As condições iniciais utilizadas neste cenário foram $T(0) = 2 \cdot 10^6$, $M(0) = 10^6$, respectivamente, e as doses iniciais de células CAR-T foram $C(0) = 5 \cdot 10^6$, $C(0) = 10^7$, $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e $C(0) = 10^8$ células. Os resultados são mostrados na Figura 16, a seguir.

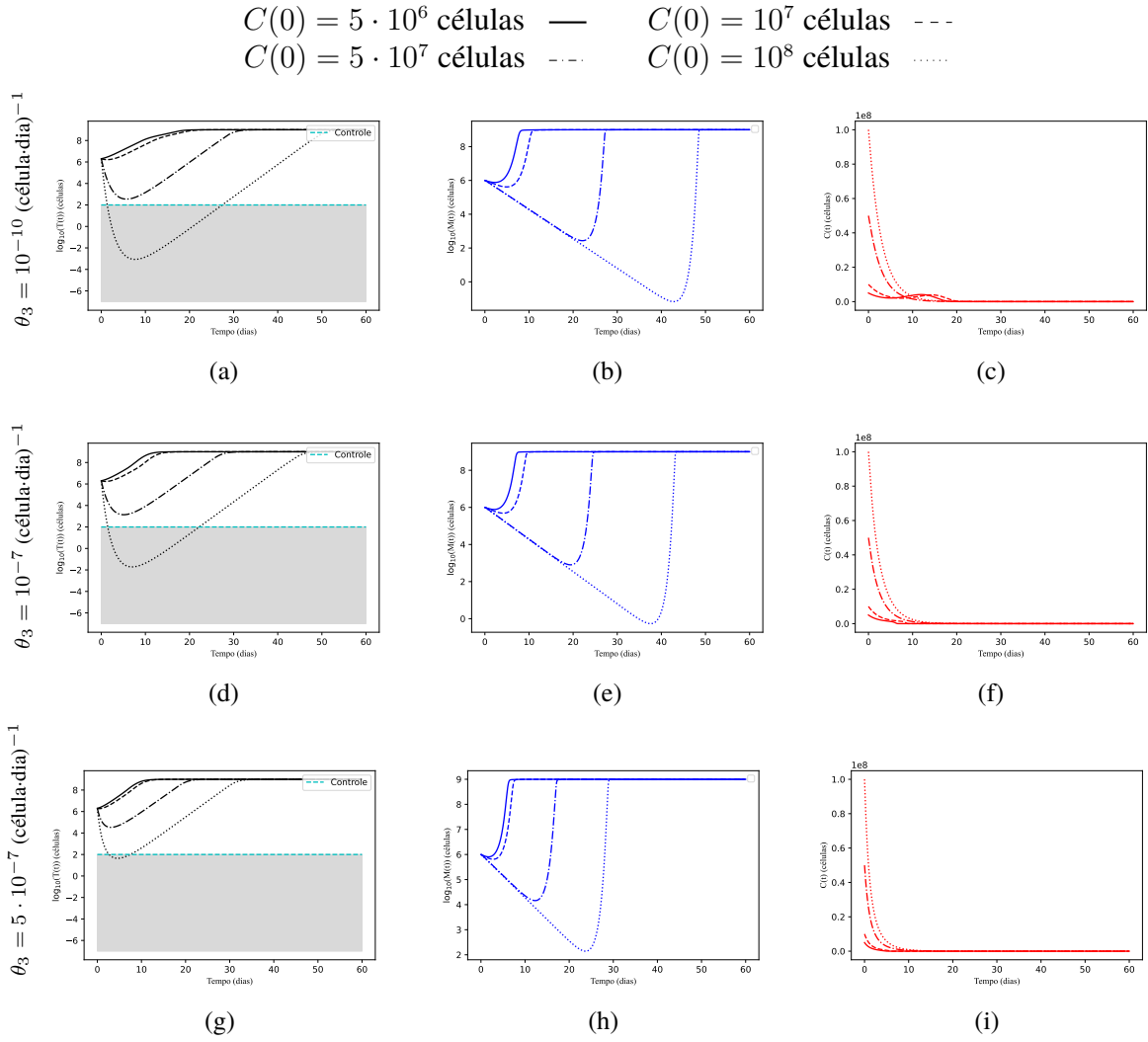


Figura 16 – Aumentar a dose inicial de células CAR-T contribui para o controle tumoral mesmo sob condições altamente imunossupressoras do microambiente tumoral. São mostradas a dinâmica populacional das células tumoral (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). A região cinza abaixo da linha pontilhada em cor ciano representa o controle tumoral.

Os resultados indicam que, em condições de alta imunossupressão tumoral, para que o tratamento imunoterápico tenha maior eficácia, devem ser realizados ajustes nas doses iniciais. As Figuras 16(a), 16(d) e 16(g) mostram que a dose $C(0) = 10^8$ células foi a mais eficaz, mantendo a população em níveis de controle por 26, 20 e 4 dias, respectivamente. Isso mostra que a escolha da dose inicial é importante, sobretudo, para utilização contra cânceres muito imunogênicos como o melanoma. Estas observações também sugerem que estratégias terapêuticas visando os subconjuntos TAM devem ser exploradas tendo em vista que a população de TAM também pode ser afetada, mesmo que indiretamente, pela imunoterapia. Além disso, um aumento no tempo de controle tumoral fornece ao paciente a oportunidade de novas estratégias terapêuticas adjuvantes.

As Figuras 16(b), 16(e) e 16(h) mostram a dinâmica dos macrófagos que, como já avaliada nos cenários anteriores, é semelhante às células tumorais, o que é esperado dada a modelagem

matemática realizada.

A dinâmica das células CAR-T é mostrada nas Figuras 16(c), 16(f) e 16(i). Podemos notar que as doses imunoterápicas iniciais $C(0) = 5 \cdot 10^6$ e $C(0) = 10^7$ células não conseguem causar efeitos relevantes nas células de melanoma. Quando a dose inicial é aumentada, logo nos primeiros dias as células CAR-T exibem efeitos citotóxicos contra as células tumorais, levando-as a níveis de controle. Como já discutido, as células CAR-T dependem do antígeno tumoral para proliferar, então, quando a população de células tumorais atinge limites populacionais considerados de controle, como, por exemplo, quando $C(0) = 10^8$ células, as células CAR-T perdem a capacidade de se expandir. Assim sendo, em aproximadamente 30 dias, as células tumorais escapam da região de controle e seguem para a capacidade de suporte. Esse fenômeno poderia ser corrigido com a inserção de uma população de células CAR-T de memória, as quais conseguem mudar seu fenótipo em CAR-T efectoras após um novo contato com o antígeno tumoral. Outra maneira de melhorar esse cenário seria a utilização da imunoterapia em ciclos com a finalidade de manter a população tumoral sempre em níveis de controle. Ainda, fazendo um paralelo com o cenário 1, se compararmos os resultados obtidos na Figura 14(c) com a Figura 16(a), podemos observar que, mesmo com a adição da população de TAM na dinâmica, a dose inicial $C(0) = 10^8$ células conseguiu controlar o tumor pelo mesmo período, 26 dias. Isso também é um indicativo de que a dose inicial pode auxiliar o controle tumoral sob condições imunossupressoras.

Com o intuito de investigar a eficiência da citotoxicidade das células CAR-T, modulada pelo parâmetro μ_1 , assumimos $\theta_3 = 5 \cdot 10^{-7} \text{ (célula} \cdot \text{dia)}^{-1}$, $\kappa_3 = 0,35 \text{ dia}^{-1}$ e utilizamos as mesmas doses iniciais anteriores. Realizamos simulações com variações no parâmetro μ_1 para testar diferentes doses imunoterápicas e observar se ocorrem diferenças significativas no controle tumoral. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 17, a seguir.

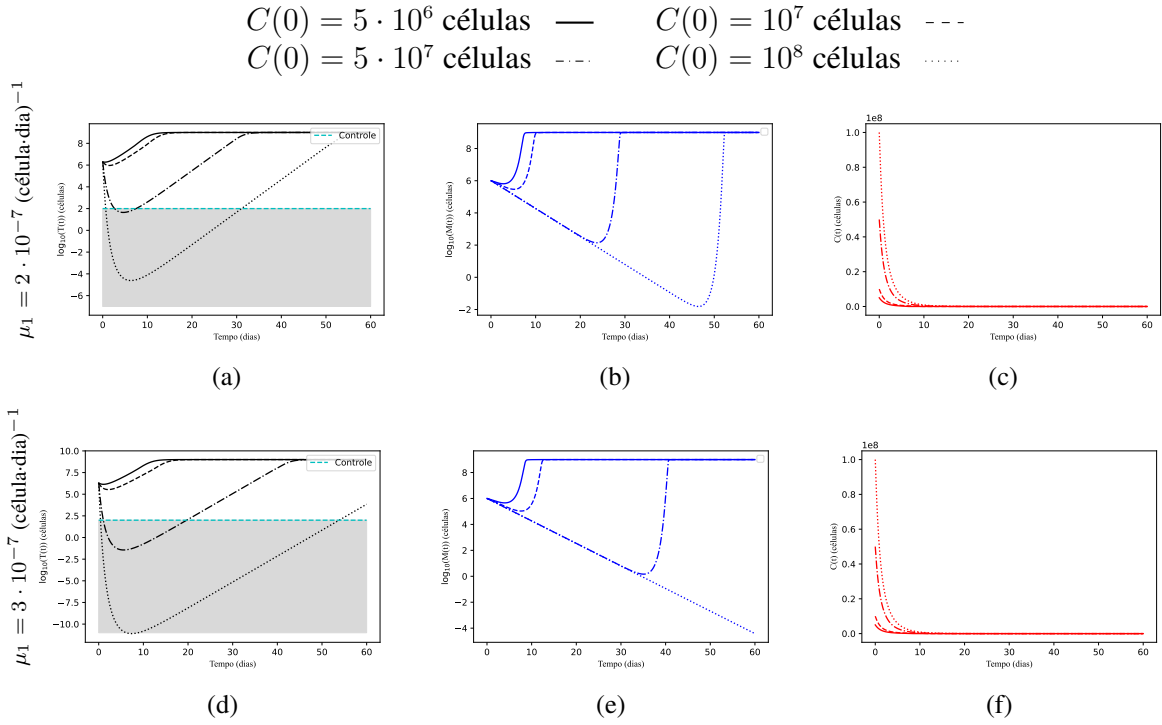


Figura 17 – A eficiência da citotoxicidade e a dose de células CAR-T mudam a dinâmica do sistema e o tempo de controle tumoral. São mostradas na Figura as dinâmicas das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). As doses iniciais para células tumorais e TAM foram, respectivamente, $T(0) = 2 \cdot 10^6$ e $M(0) = 10^6$ células.

Os resultados obtidos e mostrados na Figura 17 podem ser comparados com o terceiro bloco da Figura 16. Um pequeno aumento na taxa de citotoxicidade das células CAR-T acarreta mudanças significativas na dinâmica, sobretudo na dinâmica tumoral. A Figura 17(a) mostra que, quando aumentamos, mesmo que levemente, a citotoxicidade da célula CAR-T, isso permite um maior controle do crescimento do tumor e, além disso, notamos que a dose $C(0) = 5 \cdot 10^7$ células também adquire capacidade de controle tumoral, diferentemente do que ocorre no cenário representado pela Figura 16(g). De fato, as doses iniciais $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e $C(0) = 10^8$ células conseguiram controlar o tumor por 4 e 30 dias, respectivamente. A Figura 17(d) também mostra um comportamento semelhante ao aumentar o parâmetro μ_1 um pouco mais. Neste caso, as doses $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e $C(0) = 10^8$ conseguiram controlar o tumor por 18 e 53 dias, respectivamente.

Nestas simulações *in silico* vimos que pequenas doses de células CAR-T, mesmo com a citotoxicidade mais elevada, não conseguem controlar o tumor de maneira significativa, enquanto doses imunoterápicas maiores conseguem controlar o crescimento do tumor por um período mais longo. Como nos cenários anteriores, os macrófagos possuem dinâmica semelhante às células tumorais, como mostram as Figuras 17(b) e 17(e).

Estes resultados sugerem que, além da dose imunoterápica inicial, a produção de células CAR-T com efetividade citotóxica mais elevada pode proporcionar melhores resultados, aumen-

tando o tempo de controle tumoral, mesmo com a utilização de doses imunoterápicas menores. A produção de células CAR-T elenca vários desafios, dentre eles, a dificuldade em encontrar antígenos tumorais ideais, prejudicando sua eficiência e citotoxicidade. Portanto, a escolha do antígeno ideal para aumentar a capacidade citotóxica das células CAR-T se faz necessária, como mostrado neste cenário.

3.5.4 Cenário 4: a modulação da carga inicial de células tumorais e macrófagos altera a dinâmica geral

Para testar *in silico* o impacto causado pela quantidade de TAM no microambiente tumoral durante o tratamento imunoterápico com células CAR-T, fizemos algumas simulações em que foram variadas as quantidades iniciais dos TAM. Como já discutido, a presença de macrófagos associados a tumores no microambiente tumoral auxilia a progressão do tumor e afeta negativamente a ação de linfócitos T. Neste cenário utilizamos os valores dos parâmetros dispostos na Tabela 1, assumimos $\theta_3 = 10^{-7} \text{ (célula} \cdot \text{dia)}^{-1}$, e as condições iniciais utilizadas para as células tumorais e células CAR-T foram, respectivamente, $T(0) = 2 \cdot 10^6$ e $C(0) = 10^8$ células. Os resultados obtidos são mostrados na Figura 18, a seguir.

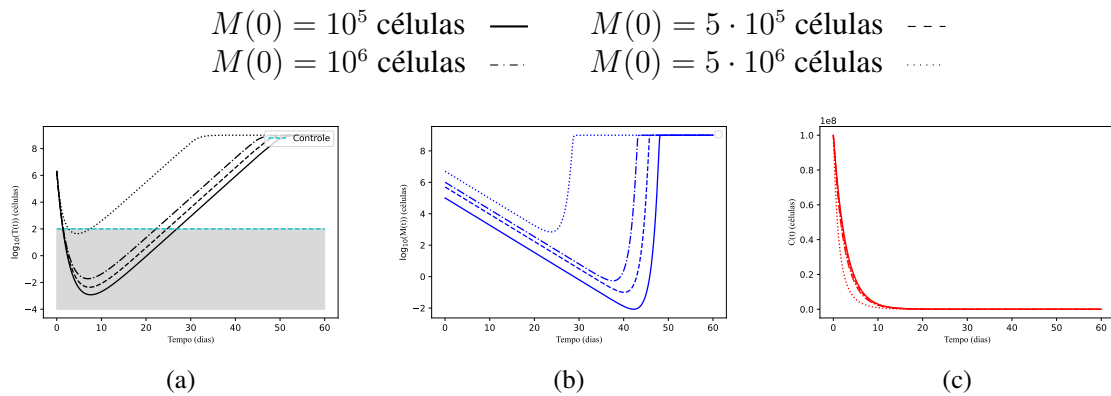


Figura 18 – A variação da quantidade de TAM no microambiente tumoral interfere o tratamento imunoterápico. A Figura mostra a dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). As doses iniciais para células tumorais e CAR-T foram, respectivamente, $T(0) = 2 \cdot 10^6$ e $C(0) = 10^8$ células.

Os resultados mostram que um microambiente tumoral populado com baixas quantidades de TAM permitem que a dose imunoterápica controle o tumor por mais tempo. Na Figura 18(a), observamos a dinâmica tumoral sob efeito de imunoterapia com variações na quantidade de macrófagos. Em um microambiente tumoral populado com $M(0) = 10^5$ células, ou seja, uma proporção de 5% de TAM em relação às células tumorais, o tumor pode ser controlado por 25 dias antes de expandir populacionalmente até a capacidade de suporte. Aumentar essa proporção para 250% ($M(0) = 5 \cdot 10^6$ células) reduz o tempo de controle tumoral para 4 dias. Vale ressaltar que utilizamos neste cenário, a dose mais alta utilizada nos cenários anteriores ($C(0) = 10^8$

células) para garantir o controle tumoral. A Figura 18(b) mostra que a dinâmica dos macrófagos é semelhante a das células tumorais, como nos cenários anteriores.

Por fim, a Figura 18(c) mostra a dinâmica das células CAR-T onde podemos observar que o rápido efeito citotóxico contra as células tumorais não permite que a população se expanda devido ao esgotamento de antígenos tumorais. No entanto, é possível notar que, quando o microambiente tumoral é altamente populado por macrófagos ($M(0) = 5 \cdot 10^6$ células), as células CAR-T tem seu decrescimento populacional acelerado, o que pode ser visto na linha vermelha pontilhada.

Para finalizar este cenário, investigamos o efeito da carga tumoral na dinâmica. A carga tumoral possui um duplo papel: uma carga tumoral elevada pode favorecer a expansão inicial das células CAR-T, porém, pode aumentar a capacidade de supressão imunológica do tumor. Mediante isso, surge uma questão: como usar tratamentos com células CAR-T em combinação com outras terapias adjuvantes e neoadjuvantes e qual seria o resultado desta combinação? Nas simulações seguintes, utilizamos a ideia de empregar a terapia de células CAR-T após um procedimento cirúrgico, ou após um regime parcial de radioterapia, modalidades terapêuticas amplamente utilizadas para melanoma. Além disso, consideramos como hipótese que o paciente já passou por outros tratamentos imunoterápicos que aumentam a eficácia dos linfócitos T, como fármacos imunoterápicos anti-PD1. Com isso em mente, consideramos que as condições de imunossupressão do microambiente tumoral estão reduzidas, e então assumimos que $\kappa_3 = 0,25 \text{ dia}^{-1}$, $\theta_3 = 0,25 \text{ (células} \cdot \text{dia)}^{-1}$, mantendo todos os outros valores dos parâmetros mostrados na Tabela 1. As doses imunoterápicas iniciais utilizadas foram $C(0) = 10^7$ e $C(0) = 5 \cdot 10^7$ células, respectivamente, e os resultados são mostrados na Figura 19 a seguir.

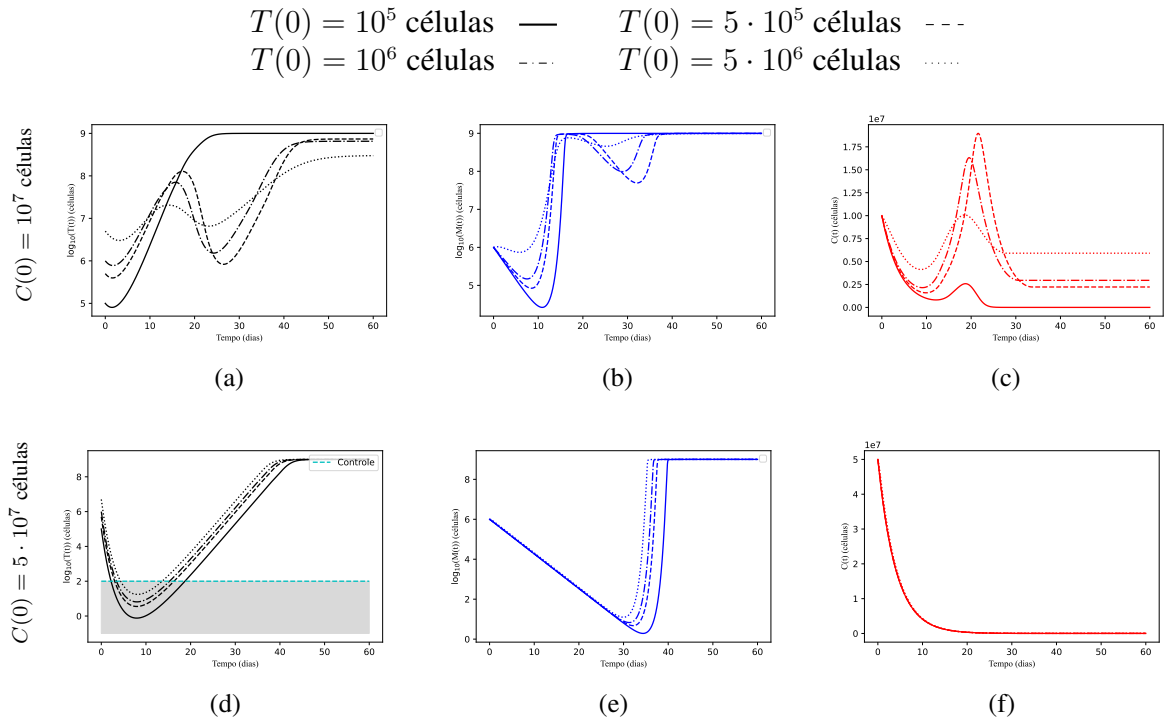


Figura 19 – Simulações computacionais para diferentes cargas tumorais iniciais sendo mostradas a dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas). As curvas representam diferentes valores iniciais de carga tumoral em um paciente após a utilização de terapias neoadjuvantes e adjuvantes, considerando duas doses iniciais de células CAR-T sendo $C(0) = 10^7$ e $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e, para os macrófagos $M(0) = 10^6$ células.

No bloco superior da Figura 19 podemos observar que a redução da carga tumoral resultou em uma progressão inicial do tumor dada de modo mais lento, atrasando a fase de expansão das células CAR-T. Na Figura 19(a) podemos observar tal resultado em que, para cargas tumorais iniciais entre 10^5 (linha cheia) e $5 \cdot 10^5$ (linha tracejada) células, a população cresce de modo mais desacelerado quando comparado com as outras cargas tumorais utilizadas.

A Figura 19(c) mostra a dinâmica das células CAR-T sob diferentes cargas tumorais. Para a menor carga tumoral considerada ($T(0) = 10^5$ células) podemos notar que a fase de distribuição ocorreu de maneira mais prolongada, sem atingir um pico de expansão expressivo. Isso sugere que uma menor quantidade de células tumorais implica em uma menor densidade populacional de células CAR-T (linha cheia). Quando $T(0) = 5 \cdot 10^5$ células, a população de células CAR-T alcança o pico de expansão (linha tracejada), impactando a população de células tumorais e TAM (Figura 19(b)). Para as maiores cargas tumorais consideradas, notamos um encurtamento na duração da fase de distribuição das células CAR-T, mantendo uma maior quantidade no sistema e resultando no retardo da proliferação inicial do tumor.

No segundo bloco da Figura 19, podemos observar a dinâmica sob influência de uma maior dose imunoterápica. Nestas circunstâncias, é possível obter um controle tumoral, onde, para as cargas tumorais $T(0) = 10^5$, $T(0) = 5 \cdot 10^5$, $T(0) = 10^6$ e $T(0) = 5 \cdot 10^6$ células, as

doses imunoterápicas utilizadas mantiveram as populações tumorais sob controle por 16, 13, 11 e 9 dias, respectivamente.

3.5.5 Cenário 5: doses imunoterapêuticas administradas em ciclos podem aumentar o tempo de controle tumoral

Tendo em vista que, mesmo com a utilização de doses imunoterapêuticas relativamente altas, da ordem de 10^8 células, após um determinado período, as células tumorais escapam, propusemos neste cenário avaliar se a utilização de doses imunoterapêuticas administradas em ciclos¹ pode influenciar o tempo de controle tumoral, mesmo sob níveis altos de imunossupressão. Para a construção deste cenário nos baseamos em um ensaio clínico em andamento (*Clinical trial*: NCT03635632) que propõe, entre outros objetivos, a utilização de imunoterapia com células CAR-T em ciclos contra cânceres sólidos. Para esta finalidade, adaptamos o algoritmo de resolução numérica do modelo (3.1) de modo a possibilitar a administração das doses imunoterápicas em ciclos.

Neste cenário, utilizamos os valores para os parâmetros da Tabela 1 e estabelecemos que $\theta_3 = 10^{-7}$ (célula·dia)⁻¹ e $\kappa_3 = 0,35$ dia⁻¹ para simular um microambiente tumoral imunossupressor. Além disso, assumimos $\mu_1 = 10^{-7}$ (célula·dia)⁻¹ para possibilitar a comparação com cenários anteriores que possuem as mesmas características. Para as doses iniciais das células CAR-T assumimos $C(0) = 5 \cdot 10^7$ e $C(0) = 10^8$ células e, após a primeira administração (dia 0), as doses foram administradas mais uma vez (dia 1), 7 e 14 dias após a primeira administração. A Figura 20 mostra os resultados obtidos.

¹ Administração em ciclos consiste na repetição do protocolo de tratamento após um determinado período.

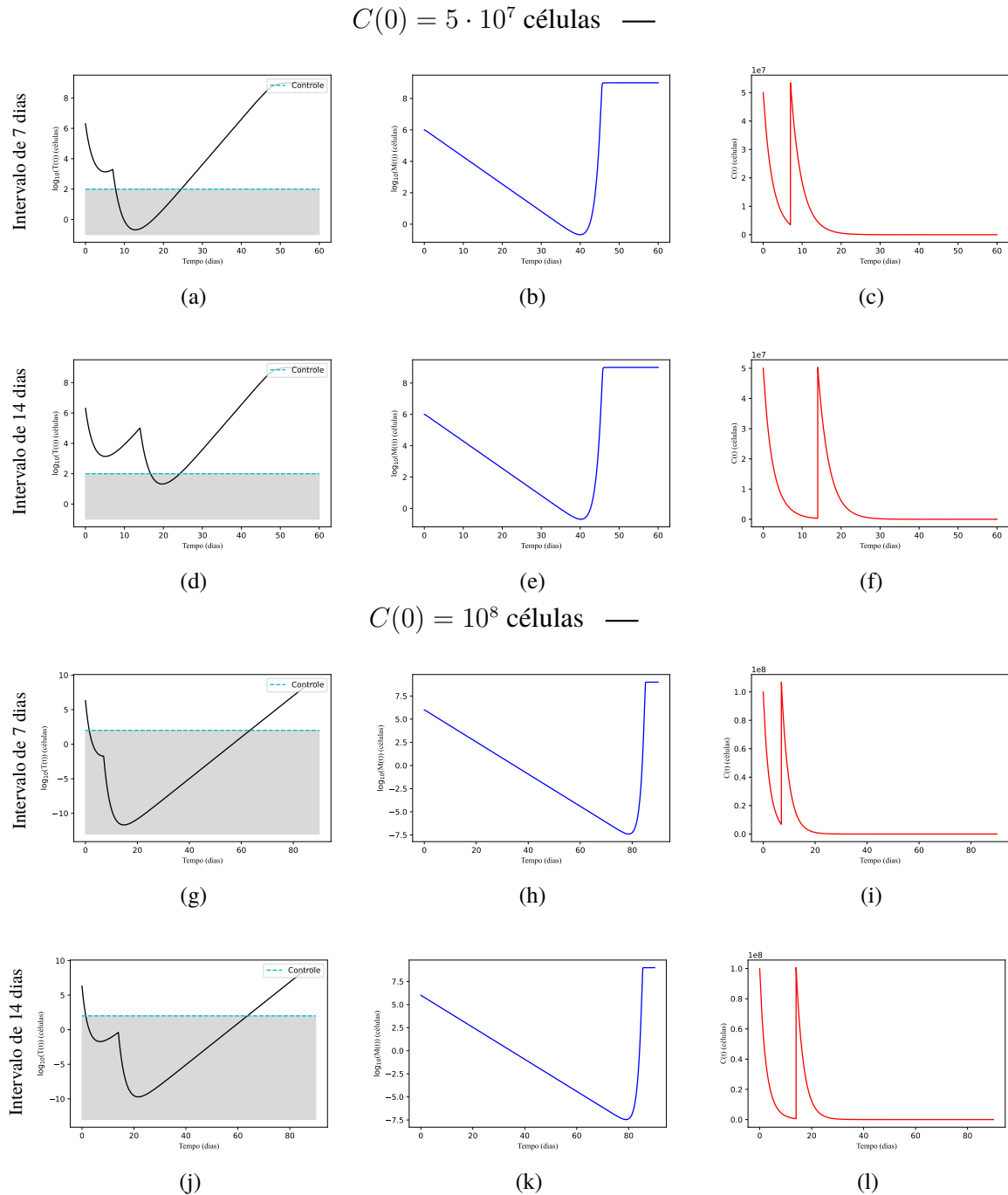


Figura 20 – Simulações computacionais para imunoterapia administrada em ciclos. A dinâmica das células tumorais (curvas pretas), TAM (curvas azuis) e células CAR-T (curvas vermelhas) é mostrada na Figura. As curvas representam, nos dois blocos superiores, a dinâmica com dose imunoterápica inicial de $5 \cdot 10^7$ células em intervalos de 7 e 14 dias, respectivamente. Nos dois blocos inferiores, as curvas representam a dinâmica com dose imunoterápica inicial de 10^8 células em intervalos de 7 e 14 dias.

Ao observarmos as Figuras 20(a) e 20(d), observamos que a dose administrada em um ciclo de 7 dias conseguiu controlar o tumor a níveis abaixo de 10^2 células por 16 dias e, para o ciclo com intervalo de 14 dias, a imunoterapia controlou o tumor por 7 dias. Isso contrasta com os resultados mostrados na Figura 16(d), onde o tumor não atingiu níveis de controle utilizando

os mesmos parâmetros e a mesma dose imunoterápica administrada uma única vez, em $t = 0$.

As Figuras 20(g) e (h) também mostram que houve controle tumoral após a administração em ciclos de 10^8 células CAR-T, possibilitando o controle tumoral por 61 dias no ciclo de 7 dias e 62 dias no ciclo de 14 dias. Esses resultados também contrastam com os mostrados na Figura 16(d) onde o tumor foi controlado por 20 dias.

Os resultados computacionais deste cenário mostram, portanto, que a administração da imunoterapia em ciclos pode contribuir para aumentar o tempo de controle tumoral, mesmo sob condições de imunossupressão. Além disso, estes resultados apontam que esta modalidade de imunoterapia pode estender o tempo de sobrevida para o paciente, aumentando o leque de possibilidades terapêuticas adjuvantes e neoadjuvantes.

4 Considerações Finais

A presente dissertação teve como objetivo propor um modelo matemático baseado em EDOs para descrever a dinâmica do melanoma em estágio avançado sob efeitos de um tratamento imunoterápico com células CAR-T, e sob influência de uma população de macrófagos associados a tumores, conhecidos por indicarem um mal prognóstico e impedirem a ação dos linfócitos T, e consequentemente, das células CAR-T contra o tumor. No Capítulo 1 elaboramos uma introdução envolvendo os principais aspectos biológicos do câncer de modo geral, a imunologia no contexto do câncer, e sobre os aspectos biológicos do câncer de pele melanoma. No Capítulo 2 fizemos uma revisão bibliográfica envolvendo a história da modelagem matemática aplicada a oncologia e os principais modelos matemáticos que embasaram este trabalho. No Capítulo 3 exibimos o modelo matemático proposto onde foram realizados estudos da estabilidade dos pontos de equilíbrio associados ao modelo, além de uma análise de sensibilidade dos parâmetros do modelo e simulações computacionais em que foram considerados 5 cenários.

Dentre nossos resultados, observamos os efeitos imunossupressores que afetam a vida útil das células CAR-T circulantes, principalmente os efeitos relacionados aos TAM, corroborando dados da literatura. Além disso, observamos que ajustes nas doses iniciais são necessários para se obter bons resultados com a imunoterapia, principalmente quando o câncer é bastante imunossupressor. Com relação ao cenário 5, baseados em ensaios clínicos em andamento, testamos doses de células CAR-T administradas em ciclos e nossos resultados mostraram que esta modalidade de tratamento pode aumentar o tempo de controle do tumor com doses imunoterapêuticas menores, mesmo sob condições altamente imunossupressoras, estendendo o tempo de sobrevivência do paciente, permitindo que novas estratégias terapêuticas possam ser consideradas.

Embora a modelagem matemática se mostre uma importante ferramenta utilizada para quebrar diversos paradigmas da oncologia, sua validade é muito relacionada a dados empíricos e conceitos biológicos. De fato, a união entre modeladores e empiristas tem se mostrado cada vez mais relevante para responder às grandes questões que permeiam a oncologia. Muitos aspectos da dinâmica envolvendo células CAR-T e malignidades sólidas constituem uma lacuna no conhecimento, servindo de motivação para mais investigações. Neste senso, o modelo matemático proposto se mostrou uma fonte rica de informação, com potencial para esclarecer, ao menos *in silico*, questões relevantes sobre a utilização de células CAR-T no combate ao melanoma.

Referências

- ADAMS, R. et al. Influencing tumor-associated macrophages in malignant melanoma with monoclonal antibodies. *OncoImmunology*, v. 11, n. 1, p. 2127284, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/2162402X.2022.2127284>>. ix, 5, 6, 8
- ALBERTS, B. et al. *Biologia molecular da célula*. 5. ed. Porto Alegre, RS: Artmed Editora, 2010. ISBN 978-85-363-2170-7. 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79
- ALTROCK, P. M.; LIU, L. L.; MICHOR, F. The mathematics of cancer: integrating quantitative models. *Nat. Rev. Cancer*, v. 15, n. 12, p. 730–745, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrc4029>>. 18
- AMBAHERA, S. *Mathematical Analysis of ordinary differential equations (ODE) and fractional order differential equation (FODE) models of CD70 CAR T-cell therapy for gliomas*. Tese (Doutorado) — Middle Tennessee State University, 2022. 44
- ARAUJO, R. P.; MCELWAIN, D. S. A history of the study of solid tumour growth: the contribution of mathematical modelling. *B. Math. Biol.*, v. 66, n. 5, p. 1039–1091, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.bulm.2003.11.002>>. 14, 17
- BARROS, L. R. C. et al. CARTmath—A mathematical model of CAR-T immunotherapy in preclinical studies of hematological cancers. *Cancers*, v. 13, n. 12, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cancers13122941>>. 17, 21, 23, 27, 28, 48, 49, 78
- BECKMAN, R. A.; KAREVA, I.; ADLER, F. R. How should cancer models be constructed? *Cancer Control*, v. 27, n. 1, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1073274820962008>>. 18
- BENZEKRY, S. et al. Classical mathematical models for description and prediction of experimental tumor growth. *PLoS Comput. Biol.*, v. 10, n. 8, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003800>>. 15
- BENZEKRY, S. et al. Metronomic reloaded: Theoretical models bringing chemotherapy into the era of precision medicine. *Semi. Cancer Biol.*, v. 35, p. 53–61, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.semancer.2015.09.002>>. 17
- CHAMMAS, R. Biologia do câncer: uma breve introdução. In: Hoff, P. M. G. (Ed.). *Tratado de Oncologia*. São Paulo, SP: Atheneu, 2013. cap. 1, p. 3–8. 1
- CHOW, A. et al. Clinical implications of t cell exhaustion for cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, v. 19, p. 775–790, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41571-022-00689-z>>. 50
- DANCIU, C. et al. A characterization of four B16 murine melanoma cell sublines molecular fingerprint and proliferation behavior. *Cancer Cell Int.*, v. 13, n. 1, p. 1–12, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1475-2867-13-75>>. 26
- DELUCIA, D. C.; LEE, J. K. Development of cancer immunotherapies. In: HAYS, P. (Ed.). *Cancer Immunotherapies: Solid Tumors and Hematologic Malignancies*. Springer

International Publishing, 2022. p. 1–48. ISBN 978-3-030-96376-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-96376-7_1>. 8, 10

DEN BREEMS, N. Y.; EFTIMIE, R. The re-polarisation of M2 and M1 macrophages and its role on cancer outcomes. *J. Theor. Biol.*, v. 390, p. 23–39, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.10.034>>. 26

DEPILLIS, L.; ELADDADI, A.; RADUNSKAYA, A. Modeling cancer-immune responses to therapy. *J. Pharmacokinet. Phar.*, v. 41, n. 5, p. 461–478, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10928-014-9386-9>>. 17

DEPILLIS, L. G.; GU, W.; RADUNSKAYA, A. E. Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations. *J. of Theor. Biol.*, v. 238, n. 4, p. 841–862, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.06.037>>. 17

DEPILLIS, L. G.; RADUNSKAYA, A. E.; WISEMAN, C. L. A validated mathematical model of cell-mediated immune response to tumor growth. *Cancer Res.*, v. 65, n. 17, p. 7950–7958, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0564>>. 17, 27

EDELSTEIN-KESHET, L. *Mathematical models in biology*. [S.l.]: SIAM, 2005. 231–236 p. xii, 34

EFTIMIE, R. Investigation into the role of macrophages heterogeneity on solid tumour aggregations. *Math. Biosci.*, v. 322, p. 108325, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mbs.2020.108325>>. 28

EFTIMIE, R.; BRAMSON, J. L.; EARN, D. J. Modeling anti-tumor Th1 and Th2 immunity in the rejection of melanoma. *J. Theor. Biol.*, v. 265, n. 3, p. 467–480, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2010.04.030>>. 17, 27, 28

EFTIMIE, R.; BRAMSON, J. L.; EARN, D. J. Interactions between the immune system and cancer: a brief review of non-spatial mathematical models. *B. Math. Biol.*, v. 73, n. 1, p. 2–32, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11538-010-9526-3>>. 17

EFTIMIE, R.; HAMAM, H. Modelling and investigation of the CD4+ T cells — Macrophages paradox in melanoma immunotherapies. *J. Theor. Biol.*, v. 420, p. 82–104, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2017.02.022>>. 17, 19, 20, 23, 24, 26, 27, 28

ENDERLING, H. et al. Mathematical modelling of radiotherapy strategies for early breast cancer. *J. Theor. Biol.*, v. 241, n. 1, p. 158–171, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.11.015>>. 17

FUJIMURA, T. Stromal factors as a target for immunotherapy in melanoma and non-melanoma skin cancers. *Int. J. of Mol. Sci.*, v. 23, n. 7, p. 4044, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/ijms23074044>>. 6

GATENBY, R. Application of competition theory to tumour growth: implications for tumour biology and treatment. *Eur. J. Cancer*, v. 32, n. 4, p. 722–726, 1996. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/0959-8049\(95\)00658-3](https://doi.org/10.1016/0959-8049(95)00658-3)>. 17

GOMPERTZ, B. On the nature of the function expressive of the law of human mortality, and on a new mode of determining the value of life contingencies. *Philos. T. R. Soc. Lond.*, n. 115, p. 513–585, 1825. Disponível em: <<https://doi.org/10.1098/rspl.1815.0271>>. 14

- GRAY-SCHOPFER, V.; WELLBROCK, C.; MARAIS, R. Melanoma biology and new targeted therapy. *Nature*, v. 445, n. 7130, p. 851–857, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature05661>>. 2, 3
- HAGERLING, C.; CASBON, A.-J.; WERB, Z. Balancing the innate immune system in tumor development. *Trends Cell Biol.*, v. 25, n. 4, p. 214–220, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.tcb.2014.11.001>>. 75, 77
- HANAHAHAN, D. Hallmarks of cancer: new dimensions. *Cancer discovery*, v. 12, n. 1, p. 31–46, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>>. 1, 75
- HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*, v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81683-9)>. 1, 73, 74, 75
- HANAHAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>>. 1, 73, 74, 75, 77
- HENDERSON, D. A. The eradication of smallpox – an overview of the past, present, and future. *Vaccine*, v. 29, p. D7–D9, 2011. Smallpox Eradication after 30 Years: Lessons, Legacies and Innovations. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.080>>. 76
- HERMAN, J.; USHER, W. SALib: An open-source python library for sensitivity analysis. *J. Open Source Softw.*, v. 2, n. 9, p. 2, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.21105/joss.00097>>. 44
- HOUOT, R. et al. T-cell-based immunotherapy: adoptive cell transfer and checkpoint inhibition. *Cancer Immunol. Res.*, v. 3, n. 10, p. 1115–1122, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/2326-6066.CIR-15-0190>>. 8
- HWA, C.; BAUER, E. A.; COHEN, D. E. Skin biology. *Dermatol. Ther.*, v. 24, n. 5, p. 464–470, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1529-8019.2012.01460.x>>. 2
- INCA. *Brasil - estimativa dos casos novos: Estimativas para o ano de 2023*. 2022. Online. Accessed December 3, 2022. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/estado-capital/brasil>>. 1
- IWANAGA, T.; USHER, W.; HERMAN, J. Toward SALib 2.0: Advancing the accessibility and interpretability of global sensitivity analyses. *Socio-Environ. Sys. Model.*, v. 4, p. 18155, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.18174/sesmo.18155>>. 44
- KAREVA, I. et al. Predator-prey in tumor-immune interactions: a wrong model or just an incomplete one? *Front. Immunol.*, p. 3391, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.6682>>. 16, 17
- KEUNG, E. Z.; GERSHENWALD, J. E. The eighth edition American Joint Committee on Cancer (AJCC) melanoma staging system: implications for melanoma treatment and care. *Expert Rev. Anticanc. Ther.*, v. 18, n. 8, p. 775–784, 2018. 2
- KIRSCHNER, D.; PANETTA, J. C. Modeling immunotherapy of the tumor-immune interaction. *J. Math. Biol.*, v. 37, n. 3, p. 235–252, 1998. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s002850050127>>. 17, 19, 22

- KUO, W.-T. et al. Autophagy drives plasticity and functional polarization of tumor-associated macrophages. *Iubmb Life*, v. 74, n. 2, p. 157–169, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/iub.2543>>. 27, 28
- KUZNETSOV, V. A. et al. Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis. *B. Math. Biol.*, v. 56, n. 2, p. 295–321, 1994. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0092-8240\(05\)80260-5](https://doi.org/10.1016/S0092-8240(05)80260-5)>. 17, 18, 23, 24, 27, 28
- LALEH, N. G. et al. Classical mathematical models for prediction of response to chemotherapy and immunotherapy. *bioRxiv*, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1101/2021.10.23.465549>>. 14, 15
- LEE, S.-H.; STARKEY, P. M.; GORDON, S. Quantitative analysis of total macrophage content in adult mouse tissues. Immunochemical studies with monoclonal antibody F4/80. *J. Exp. Med.*, v. 161, n. 3, p. 475–489, 1985. Disponível em: <<https://doi.org/10.1084/jem.161.3.475>>. 27, 28
- LENDECKEL, U.; VENZ, S.; WOLKE, C. Macrophages: shapes and functions. *ChemTexts*, v. 8, n. 2, p. 1–12, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s40828-022-00163-4>>. 4, 7
- LEÓN-TRIANA, O. et al. Dual-target CAR-Ts with on-and off-tumour activity may override immune suppression in solid cancers: A mathematical proof of concept. *Cancers*, v. 13, n. 4, p. 703, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cancers13040703>>. 17, 22, 23, 24, 26, 28, 50
- LIN, Y.; XU, J.; LAN, H. Tumor-associated macrophages in tumor metastasis: biological roles and clinical therapeutic applications. *J. Hematol. Oncol.*, v. 12, n. 1, p. 1–16, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13045-019-0760-3>>. 5, 7
- MANTOVANI, A. et al. Tumour-associated macrophages as treatment targets in oncology. *Nat. Rev. Clin. Oncol.*, v. 14, n. 7, p. 399–416, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2016.217>>. 4, 5, 7, 53, 77
- MCGOWAN, E. et al. PD-1 disrupted CAR-T cells in the treatment of solid tumors: Promises and challenges. *Biomed. Pharmacother.*, v. 121, p. 109625, 2020. ISSN 0753-3322. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109625>>. 50
- MEHRABADI, A. Z. et al. Therapeutic potential of CAR T cell in malignancies: A scoping review. *Biomed. Pharmacother.*, v. 146, p. 112512, 2022. ISSN 0753-3322. 53
- MILLER, A. J.; JR, M. C. M. Melanoma. *New Engl. J. Med.*, v. 355, n. 1, p. 51–65, 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1056/NEJMra052166>>. 4
- MUKHERJEE, S. *O imperador de todos os males: uma biografia do câncer*. 1ª. ed. Brasil: Companhia das Letras, 2012. ISBN 978-8535920062. 1
- NIELSEN, S. R.; SCHMID, M. C. Macrophages as key drivers of cancer progression and metastasis. *Mediat. Inflamm.*, v. 2017, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1155/2017/9624760>>. 5
- NINOMIYA, S. et al. Tumor indoleamine 2, 3-dioxygenase (IDO) inhibits CD19-CAR T cells and is downregulated by lymphodepleting drugs. *Blood*, v. 125, n. 25, p. 3905–3916, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1182/blood-2015-01-621474>>. 27

- OSTROWSKI, S. M.; FISHER, D. E. Biology of melanoma. *Hematol. Oncol. Clin.*, v. 35, n. 1, p. 29–56, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.hoc.2020.08.010>>. 2, 4
- PORTOU, M. et al. The innate immune system, toll-like receptors and dermal wound healing: a review. *Vasc. Pharmacol.*, v. 71, p. 31–36, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vph.2015.02.007>>. 77
- QI, T. et al. Cellular kinetics: A clinical and computational review of CAR-T cell pharmacology. *Adv. Drug Deliver. Rev.*, p. 114421, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114421>>. 48, 49
- RAZAVI, A. et al. Chimeric antigen receptor T-cell therapy for melanoma. *Expert Rev. Clin. Immu.*, v. 17, n. 3, p. 209–223, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/1744666X.2021.1880895>>. 11
- RIEDEL, S. Edward Jenner and the history of smallpox and vaccination. *Baylor University Medical Center Proceedings*, v. 18, n. 1, p. 21–25, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/08998280.2005.11928028>>. 76
- ROCKNE, R. et al. Predicting the efficacy of radiotherapy in individual glioblastoma patients in vivo: a mathematical modeling approach. *Phys. Med. Biol.*, v. 55, n. 12, p. 3271, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1088/0031-9155/55/12/001>>. 17
- RODRIGUES, B. J.; BARROS, L. R. C.; ALMEIDA, R. C. Three-compartment model of CAR T-cell immunotherapy. *bioRxiv*, p. 779793, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1101/779793>>. 17
- RODRIGUES, D. S. et al. A mathematical model for chemoimmunotherapy of chronic lymphocytic leukemia. *Appl. Math. Comput.*, v. 349, p. 118–133, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.amc.2018.12.008>>. 17
- RODRIGUES, D. S.; MANCERA, P. F.; PINHO, S. T. Modelagem matemática em câncer e quimioterapia: uma introdução. *Notas em Matemática Aplicada*, p. 2236–5915, 2011. Disponível em: <<https://www.sbmec.org.br/publicacoes/#notas>>. 15, 17
- RODRIGUES, D. S.; PINHO, S. T.; MANCERA, P. F. Um modelo matemático em quimioterapia. *TEMA*, (São Carlos, SP), v. 13, p. 01–12, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.5540/tema.2012.013.01.0001>>. 17
- RODRIGUEZ-GARCIA, A. et al. CAR T cell-mediated depletion of immunosuppressive tumor-associated macrophages promotes endogenous antitumor immunity and augments adoptive immunotherapy. *Nat. Commun.*, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41467-021-20893-2>>. 6, 54
- RUELLA, M. et al. Overcoming the immunosuppressive tumor microenvironment of Hodgkin lymphoma using chimeric antigen receptor T cells. *Cancer Discov.*, v. 7, n. 10, p. 1154–1167, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-16-0850>>. 27
- SAHOO, P. et al. Mathematical deconvolution of CAR T-cell proliferation and exhaustion from real-time killing assay data. *J. R. Soc. Interface*, n. 162, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1098/rsif.2019.0734>>. 17, 20, 21, 23, 24
- SALTELLI, A. et al. *Global sensitivity analysis: the primer*. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2008. 44

- SALTELLI, A.; TARANTOLA, S.; CHAN, K. P. S. A quantitative model-independent method for global sensitivity analysis of model output. *Technometrics*, v. 41, n. 1, p. 39–56, 1999. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/00401706.1999.10485594>>. 43, 44
- SHEN, M.; DU, Y.; YE, Y. Tumor-associated macrophages, dendritic cells, and neutrophils: biological roles, crosstalk, and therapeutic relevance. *Medical Review*, v. 1, n. 2, p. 222–243, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1515/mr-2021-0014>>. 4, 75
- SHU, Y. et al. Mathematical modeling and bifurcation analysis of pro- and anti-tumor macrophages. *Appl. Math. Model.*, v. 88, p. 758–773, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.apm.2020.06.042>>. 17
- SICA, A. et al. Macrophage polarization in tumour progression. *Semi. Cancer Biol.*, v. 18, n. 5, p. 349–355, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.semcancer.2008.03.004>>. 23, 26
- SILVA, J. G. D. et al. The effect of lenvatinib and pembrolizumab on thyroid cancer refractory to iodine 131I simulated by mathematical modeling. *J. Biol. Syst.*, v. 30, n. 01, p. 93–112, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1142/S0218339022500036>>. 17
- SIMON, B.; USLU, U. CAR-T cell therapy in melanoma: A future success story? *Exp. Dermatol.*, v. 27, n. 12, p. 1315–1321, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/exd.13792>>. 11, 24
- SOLTANTOYEH, T. et al. Chimeric antigen receptor (CAR) T cell therapy for metastatic melanoma: challenges and road ahead. *Cells*, n. 6, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cells10061450>>. 2, 3, 8, 9, 10, 11, 24, 50
- STROGATZ, S. H. *Nonlinear dynamics and chaos: with applications to physics, biology, chemistry, and engineering*. [S.l.]: CRC press, 2018.
- TOKAREW, N. et al. Teaching an old dog new tricks: next-generation CAR T cells. *Brit. J. Cancer*, v. 120, n. 1, p. 26–37, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41416-018-0325-1>>. 10
- TURVEY, S. E.; BROIDE, D. H. Innate immunity. *J. Allergy Clin. Immun.*, v. 125, n. 2, Supplement 2, p. S24–S32, 2010. 2010 Primer on Allergic and Immunologic Diseases. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.07.016>>. 76, 77
- VITALE, I. et al. Macrophages and metabolism in the tumor microenvironment. *Cell Metab.*, v. 30, n. 1, p. 36–50, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cmet.2019.06.001>>. 4, 5, 53, 74, 75
- WAJEH, M. E. et al. Can the Kuznetsov model replicate and predict cancer growth in humans? *bioRxiv*, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1101/2022.02.02.478884>>. 14
- WALDMAN, A. D.; FRITZ, J. M.; LENARDO, M. J. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice. *Nat. Rev. Immunol.*, v. 20, n. 11, p. 651–668, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/s41577-020-0306-5>>. 8, 9, 10, 11, 78
- WANG, Z.; GUO, Y.; HAN, W. Current status and perspectives of chimeric antigen receptor modified T cells for cancer treatment. *Protein & Cell*, v. 8, n. 12, p. 896–925, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s13238-017-0400-z>>. 9
- WEINBERG, R. A. *A Biologia do Câncer*. Porto Alegre, RS: Artmed, 2008. ISBN 978-85-363-1568-3. 74, 76, 77, 78, 79

WHO. *Cancer*. 2021. Online. Acesso em 11/01/22. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>>. 1

YAMAGUCHI, T. et al. Tumor-associated macrophages of the M2 phenotype contribute to progression in gastric cancer with peritoneal dissemination. *Gastric Cancer*, v. 19, n. 4, p. 1052–1065, 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10120-015-0579-8>>. 23, 26

YAMAGUCHI, Y. et al. PD-L1 blockade restores CAR T cell activity through IFN γ -regulation of CD163+ macrophages. *bioRxiv*, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1101/2022.01.25.477150>>. 54

YU, J. et al. Anti-GD2/4-1BB chimeric antigen receptor T cell therapy for the treatment of chinese melanoma patients. *J. Hematol. Oncol.*, v. 11, n. 1, p. 1–15, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13045-017-0548-2>>. 12, 54

ZHANG, X.-Y. et al. Sobol sensitivity analysis: a tool to guide the development and evaluation of systems pharmacology models. *CPT Pharmacometrics Syst. Pharmacol.*, v. 4, n. 2, p. 69–79, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/psp4.6>>. 44

ZHANG, Z.-Z. et al. Improving the ability of CAR-T cells to hit solid tumors: Challenges and strategies. *Pharmacol. Res.*, v. 175, p. 106036, 2022. ISSN 1043-6618. 53

Apêndices

***A Hallmarks* do câncer e conceitos básicos de imunologia**

A.1 As *Hallmarks* do câncer

Em uma tentativa de unificar as características que são comuns a todos os tipos de câncer, [Hanahan e Weinberg \(2000\)](#) forjaram o conceito que serviu de suporte para a compreensão dos principais aspectos biológicos do câncer. Nesta seção serão exibidas de maneira sucinta as chamadas *hallmarks* do câncer.

- **Resistência à morte celular (apoptose):** células cancerosas conseguem modificar os mecanismos que detectam danos no material genético, impedindo que ocorra a sinalização dos danos e a consequente ativação da apoptose. Esta capacidade pode ser adquirida por uma variedade de estratégias em que, a mais comum envolve o gene supressor de tumor p53 ([ALBERTS et al., 2010](#); [HANAHAN; WEINBERG, 2011](#)).
- **Reprogramação do metabolismo energético:** células normais possuem a glicose como forma de combustível mais usual a qual, após ser metabolizada através da glicólise, resulta na criação de piruvato. Em condições normais de oxigênio, o piruvato é utilizado para gerar adenosina trifosfato (ATP) através do ciclo de Krebs para atender as demandas de energia das células. Células cancerosas demandam muita energia para poderem crescer de maneira rápida, então elas reprogramam seu metabolismo de glicose limitando assim a produção de ATP impedindo que as mitocôndrias completem a respiração aeróbica normal. Esse processo é denominado glicólise aeróbica ou Efeito Warburg, em homenagem a Otto Warburg, quem observou essa característica do metabolismo energético das células cancerosas pela primeira vez. Desse modo, ao invés de oxidar completamente a glicose para produzir o máximo possível de ATP, as células cancerosas convertem piruvato em ácido láctico, ou seja, em blocos de construção para mais células cancerosas ([HANAHAN; WEINBERG, 2000](#); [HANAHAN; WEINBERG, 2011](#)).
- **Sustentação da sinalização proliferativa:** enquanto as células normais necessitam de hormônios e outras moléculas que atuam como sinais para crescerem e se dividirem, as

células cancerosas estimulam seu próprio crescimento de maneira descontrolada, tornando-se independentes de sinais de crescimento externos, dando origem ao tumor (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

- **Habilitando imortalidade replicativa:** após um determinado número de replicações as células normais param de crescer. Este evento é associado aos telômeros, presentes na extremidade dos cromossomos que, durante as replicações, sofrem um encurtamento progressivo, perdendo assim a capacidade de proteger as extremidades do DNA cromossômico. Células cancerosas burlam esse mecanismo regulando positivamente a expressão da enzima telomerase, reparando a erosão dos telômeros causada durante o ciclo celular, ou seja, aumentando o comprimento dos telômeros. Assim, por meio desse processo de manutenção atribuída a regulação positiva da expressão de telomerase, as células cancerosas podem se dividir indefinidamente sem atingir o estado de senescência e apoptose (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011).
- **Evasão da destruição imunológica:** alguns tipos de células cancerosas adaptam mecanismos que lhe dão a capacidade de evitar que o sistema imunológico as detecte e as elimine. Na teoria, o sistema imunológico consegue reconhecer e eliminar tudo que soa estranho ao organismo, inclusive células cancerosas. No entanto, tumores sólidos que surgem no hospedeiro, de alguma maneira, conseguem evitar a detecção pelas várias ramificações do sistema imunológico. Uma das maneiras conhecidas que as células cancerosas utilizam para efetuar tal evasão consiste no recrutamento de células inflamatórias, como macrófagos, sendo ativamente imunossupressoras (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011; VITALE et al., 2019).
- **Instabilidade e mutação genômica:** a instabilidade genômica vem do fato de as células cancerosas se proliferarem passando as mutações para suas descendentes, contribuindo para ocorrer deterioração de diversos genes reguladores da divisão celular e que também são supressores de tumor. A mutação consiste em uma alteração da sequência de DNA que pode ocorrer como resultado de exposição a produtos químicos ou radiação ionizante (HANAHAN; WEINBERG, 2011).
- **Indução da angiogênese:** ocorre quando as células tumorais sofrem com falta de oxigênio devido a rápida expansividade das células em um espaço reduzido. Para suprir essa demanda, o tumor exige que novos vasos sanguíneos se desenvolvam, processo denominado angiogênese. A angiogênese é induzida no início do desenvolvimento de vários tipos de tumores invasivos e contribui para fase microscópica pré-maligna da progressão neoplásica, consolidando assim sua posição de *hallmark* integral do câncer (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011; WEINBERG, 2008; ALBERTS et al., 2010).
- **Evasão de supressores de crescimento:** nas células cancerosas, os genes supressores de tumor sofrem alterações para deixarem de controlar efetivamente a divisão celular, mesmo

em casos de mutações graves. Além disso, diferente das células normais, elas não possuem inibição por contato, logo, independente das células ao seu redor, continuam a crescer e se dividir continuamente (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

- **Inflamação promotora de tumor:** diversas pesquisas envolvendo inflamação e câncer demonstraram que células imunológicas podem ser corrompidas pelas células cancerosas, tornando-as pró-tumorais (SHEN; DU; YE, 2021; VITALE et al., 2019; HAGERLING; CASBON; WERB, 2015). Desse modo, as células imunes que eram antitumorais passam a secretar fatores que contribuem para o crescimento tumoral e metástase (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011).
- **Ativação da invasão e metástase:** as células cancerosas invadem tecidos vizinhos e separam-se de seu local primário através da corrente sanguínea e vasos linfáticos, migrando para outras regiões do corpo em um processo denominado metástase. Para isso elas utilizam mecanismos que envolvem modificações na conexão das células com seu microambiente, tendo em vista que elas devem sobreviver em um ambiente hostil como o do sistema circulatório, migrar desse sistema para o novo tecido e então começar seu crescimento (HANAHAN; WEINBERG, 2000; HANAHAN; WEINBERG, 2011).

Hanahan (2022) propôs outras quatro características unificadoras definidas como marcos prospectivos e características facilitadoras na promoção do câncer para se unirem as clássicas *hallmarks* estabelecidas nos últimos 20 anos: desbloqueio da plasticidade fenotípica, reprogramação epigenética não mutacional, microbiomas polimórficos e células senescentes. Embora cada uma das dez características unificadoras listadas acima tenha sua própria especificidade, vários aspectos relacionados à sua regulação estão pelo menos parcialmente interligados em vários tipos de câncer, tornando as *hallmarks* ferramentas úteis na conceituação e compreensão dos mecanismos da tumorigênese (HANAHAN, 2022).

A.2 Conceitos básicos de imunologia

Imunologia é a ciência que estuda os componentes de defesa do organismo contra diversos tipos de ameaças, tais como vírus, bactérias, fungos, ou mesmo células cancerosas. É uma área da ciência que se encontra em expansão, pois muitos mecanismos inerentes ao sistema imune ainda não foram completamente esclarecidos (ALBERTS et al., 2010).

A origem da imunologia é atribuída ao médico e naturalista britânico Edward Jenner. No final do século XVIII, Jenner observou que camponesas ordenhadeiras de vacas não contraíam a varíola humana, doença muito comum na época, que causava diversos problemas graves a pessoa acometida, podendo até mesmo levar a morte. Ele levantou a hipótese de que a exposição das camponesas através do contato manual com o vírus da varíola bovina (*Variolae vaccinae*)

promovia algum tipo de imunidade contra a varíola humana. Sua hipótese foi comprovada experimentalmente e a inoculação do vírus da varíola bovina tornou-se um método de imunização bastante comum contra a varíola humana (RIEDEL, 2005). Este método de imunização recebeu o nome de vacina, e possibilitou a erradicação da varíola humana em 1980, bem como o controle de diversas outras doenças (HENDERSON, 2011).

O sistema imunológico humano pode ser dividido em dois sistemas distintos, trabalhando em conjunto para promover a proteção de todo o organismo, sendo eles o sistema imune inato e o sistema imune adaptativo. Enquanto as respostas imunes inatas consistem em reações gerais de defesa que podem envolver quase todos os tipos celulares do organismo, as respostas imunes adaptativas são altamente específicas para o patógeno que as induziu e dependem de uma classe de glóbulos brancos sanguíneos denominados linfócitos (ALBERTS et al., 2010; WEINBERG, 2008).

Nas subseções seguintes há uma breve síntese do sistema imune inato e adaptativo, bem como uma visão geral acerca das células que fazem parte de cada um deles.

A.2.1 Sistema imune inato

Como o próprio nome sugere, o sistema imune inato é o sistema de defesa do organismo com o qual o indivíduo nasce. Assim sendo, os mecanismos intrínsecos a este tipo de imunidade são ativados sem que haja a necessidade de substâncias e agentes promotores externos ao organismo (ALBERTS et al., 2010). A proteção imune inata é uma tarefa realizada por células de origem hematopoiética e não hematopoiética. As células hematopoiéticas envolvidas nas respostas imunes inatas incluem macrófagos, células dendríticas, mastócitos, neutrófilos e células NK (NK, *natural killers*) (TURVEY; BROIDE, 2010).

Este sistema utiliza três linhas de defesa para promover a proteção contra patógenos. A primeira linha consiste em barreiras físicas como a pele e células epiteliais, que impedem o fácil acesso de patógenos no interior do organismo. A segunda linha compreende as respostas celulares que possibilitam que uma célula reconheça que está sendo infectada, e então possa tomar as medidas necessárias para combater o patógeno. A terceira linha de defesa depende de um conjunto de proteínas e células denominadas fagocíticas, tais como neutrófilos e macrófagos que reconhecem o patógeno e se ativam para ajudar a destruí-lo (ALBERTS et al., 2010).

O sistema imune inato é conectado com um número limitado de receptores codificados por linhagem germinativa¹ geneticamente predeterminados com o intuito de produzir uma resposta imediata. Esses receptores reconhecem antígenos expressos por grandes grupos de patógenos bem como reconhecem consequências biológicas comuns a infecção (TURVEY; BROIDE, 2010).

Uma das estratégias frequentemente utilizadas pelo sistema imune inato no reconheci-

¹ A linhagem germinativa é a linhagem celular que contém as células importantes para a herança genética, como é o caso dos gametas em organismos que se reproduzem de maneira sexuada.

mento de patógenos consiste na utilização dos chamados receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, *Pattern Recognition Receptor*). Os PRRs reconhecem as células e moléculas que não fazem parte do organismo através de componentes moleculares que são próprios de patógenos invasores denominados padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs, *Pathogen-Associated Molecular Patterns*), tais como lipídeos, lipopetídeos, proteínas e ácidos nucleicos. O reconhecimento de PAMPs por PRRs induz à ativação de vias de sinalização e uma variedade de respostas dependentes de células, incluindo liberação de citocinas pró-inflamatórias e fagócitos (PORTOU et al., 2015).

Outra estratégia utilizada pelo sistema imune inato consiste na detecção de patógenos na forma de padrões moleculares associados a danos (DAMPs, *Damage-Associated Molecular Patterns*). Os DAMPs são moléculas que representam consequências metabólicas que são comuns aos processos de infecção e inflamação e são liberadas durante a lise celular e dano tecidual (TURVEY; BROIDE, 2010).

No contexto do câncer, o sistema imune inato possui um papel duplo tanto na iniciação, quanto na progressão tumoral. Assim como as células imunes inatas podem auxiliar na transformação maligna e no crescimento tumoral, elas também podem impedir tal progressão. Como já abordado, a inflamação promotora de tumor é uma conhecida *hallmark* do câncer (HANAHAN; WEINBERG, 2011) o que transforma os componentes do sistema imune inato fundamentais na inflamação relacionada a oncogênese (HAGERLING; CASBON; WERB, 2015).

Como provenientes do sistema imune inato, os macrófagos estão envolvidos na tumorigênese e progressão tumoral (MANTOVANI et al., 2017). A subseção seguinte apresentará uma breve síntese acerca dos macrófagos e seu papel no desenvolvimento tumoral.

A.2.2 Sistema imune adaptativo

Linfócitos T representam uma população de cerca de 2×10^{12} células no corpo humano, responsáveis pela especificidade das respostas imunes adaptativas. A imunidade adaptativa inicia-se com auxílio do sistema imune inato quando patógenos são fagocitados por células do sistema imune inato, as quais apresentam o conteúdo digerido, denominado antígeno (do inglês, *antibody generator*), desencadeando a ação dos linfócitos B e T. Respostas mediadas por linfócitos T ocorrem quando eles reconhecem os antígenos ligados às proteínas do complexo de histocompatibilidade maior (MHC, *Major Histocompatibility Complex*) na superfície das células fagocíticas. O MHC é dividido em duas classes, onde a molécula MHC de classe I é expressa em todas as células nucleadas e a molécula MHC de classe II é expressa em células fagocíticas especializadas em utilizar suas moléculas MHC de classe II para apresentar antígenos fagocitados para as células T (WEINBERG, 2008; ALBERTS et al., 2010).

Após a ativação pelo antígeno, as células T proliferam e maturam em células efetoras, secretando uma variedade de proteínas sinalizadoras, as citocinas. As citocinas atuam de diferentes

formas com o intuito de destruir células infectadas e cancerosas. As funções dos linfócitos T, responsáveis pela resposta imune adaptativa, podem ser divididas em quatro classes:

- **Linfócitos T citotóxicos:** também conhecidos como linfócitos CD8+ por exibirem a proteína de superfície celular CD8, são especializados em reconhecer e matar células alvo que apresentem antígenos dando início a uma resposta imune. As moléculas CD8 se encaixam nas moléculas MHC-I que foram alteradas pela infecção, permitindo que células T citotóxicas reconheçam e ataquem patógenos e células cancerosas (WEINBERG, 2008; WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020).
- **Linfócitos T auxiliares:** ou linfócitos CD4+, são responsáveis pela ativação e estimulação de outras células do sistema imune, como linfócitos B e macrófagos nas proximidades, com o intuito de destruir as células alvo (WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020).
- **Células T reguladoras (T_{Reg}):** suprimem a atividade de outros linfócitos e auxiliam no controle das respostas imunes.
- **Células T de memória:** no decorrer do desenvolvimento de uma resposta imune, por exemplo, após a vacinação, alguns linfócitos B e T são ativados pelo antígeno e diferenciam-se em linfócitos de memória. Desse modo, se houver uma segunda exposição ao antígeno específico, os linfócitos de memória imediatamente se diferenciam em linfócitos efetores, promovendo a defesa do organismo. Desse modo, as células T de memória são preparadas para reagir mais vigorosamente ao mesmo antígeno durante um encontro subsequente, tornando-as mediadoras críticas das respostas de memória imunológica a patógenos a células cancerosas (WALDMAN; FRITZ; LENARDO, 2020; BARROS et al., 2021).

Respostas imunes adaptativas são iniciadas com auxílio do sistema imune inato quando patógenos ou células anormais são fagocitadas por células especializadas do sistema imune inato, como macrófagos e células dendríticas. Estas células fagocíticas são responsáveis por apresentar o conteúdo digerido a outros componentes do sistema imune para informar acerca dos conjuntos de substâncias associados às partículas ingeridas (WEINBERG, 2008).

Este complexo sistema de defesa tem suas respostas dependentes de uma classe celular presente nos linfonodos, local para o qual as células fagocíticas migram após efetuar a fagocitose, denominada linfócito. Os linfócitos responsáveis por promover respostas imunes adaptativas dividem-se em dois tipos, sendo eles os linfócitos B e os linfócitos T. Qualquer substância capaz de estimular as células B e T a produzir uma resposta imune adaptativa específica contra ela é referida como um antígeno (do inglês, *antibody generator*). Por isso as células fagocíticas são também denominadas células apresentadoras de antígenos (WEINBERG, 2008; ALBERTS et al., 2010).

Os linfócitos B e T que possuem a capacidade de promover resposta contra um determinado patógeno, inicialmente, estão presentes em menor quantidade no organismo. A partir do

momento que entram em contato com o antígeno, são estimuladas a proliferar e diferenciar-se até que consigam estabelecer respostas imunes adaptativas eficazes. Consequentemente, ao passo que as respostas imunes inatas ocorrem de forma rápida, respostas imunes adaptativas se dão de maneira mais lenta e promovem proteção de maior duração (ALBERTS et al., 2010).

As respostas imunes adaptativas são divididas em duas classes: as respostas de anticorpos (resposta humoral) e as respostas imunes mediadas por linfócitos T (resposta celular). As respostas de anticorpos dependem dos linfócitos B, que são ativados para secretarem anticorpos que, nada mais são do que proteínas circulantes na corrente sanguínea, que se ligam de maneira específica aos antígenos que estimularam sua produção.

As respostas imunes mediadas por linfócitos T ocorrem quando esta classe de células reconhece os antígenos ligados às proteínas do chamado complexo de histocompatibilidade maior (MHC, *major histocompatibility complex*) na superfície das células fagocíticas. O MHC é dividido em duas classes, onde a molécula MHC de classe I é expressa em todas as células nucleadas e a molécula MHC de classe II é expressa em células fagocíticas. As células fagocíticas são especializadas em utilizar suas moléculas MHC de classe II para apresentar os antígenos fagocitados para as células T e este é o motivo pelo qual elas também são conhecidas como células apresentadoras de antígenos profissionais (APCs, *antigen presenting cells*) (WEINBERG, 2008; ALBERTS et al., 2010).

B Análise dimensional do modelo

Visando conhecer as unidades dos parâmetros do modelo (3.1) de modo a facilitar encontrá-los na literatura foi realizada uma análise dimensional, onde assumimos que

$$\left[\frac{dT}{dt} \right] = \left[\frac{dM}{dt} \right] = \left[\frac{dC}{dt} \right] = mt^{-1},$$

em que m representa a quantidade de células e, t a unidade de tempo.

Da primeira equação do modelo (3.1), segue que

$$\begin{aligned} mt^{-1} &= [\alpha_1]m &\Rightarrow [\alpha_1] &= t^{-1}, \\ mt^{-1} &= t^{-1}[\beta_1]m^2 &\Rightarrow [\beta_1] &= m^{-1}, \\ mt^{-1} &= \frac{t^{-1}m^2}{[K_1]} &\Rightarrow [K_1] &= m, \\ mt^{-1} &= [\mu_1]m^2 &\Rightarrow [\mu_1] &= m^{-1}t^{-1}. \end{aligned}$$

Da segunda equação do modelo (3.1), segue que

$$\begin{aligned} mt^{-1} &= [\alpha_2]m^2 &\Rightarrow [\alpha_2] &= m^{-1}t^{-1}, \\ mt^{-1} &= \frac{m^{-1}t^{-1}m^3}{[K_2]} &\Rightarrow [K_2] &= m, \\ mt^{-1} &= [\kappa_2]m &\Rightarrow [\kappa_2] &= t^{-1}. \end{aligned}$$

Por fim, da terceira equação do modelo (3.1) temos que

$$\begin{aligned} mt^{-1} &= \frac{[\alpha_3]m^2}{[K_3] + m} = \frac{[\alpha_3]m^2}{m} = [\alpha_3]m &\Rightarrow [\alpha_3] &= t^{-1}, \text{ em que } [K_3] = m, \\ mt^{-1} &= \frac{[\gamma_3]m^2}{[K_4] + m} = [\gamma_3]m &\Rightarrow [\gamma_3] &= t^{-1}, \text{ em que } [K_4] = m, \\ mt^{-1} &= [\theta_3]m^2 &\Rightarrow [\theta_3] &= m^{-1}t^{-1}, \\ mt^{-1} &= [\kappa_3]m &\Rightarrow [\kappa_3] &= t^{-1}. \end{aligned}$$