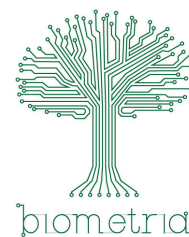




Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”
Instituto de Biociências – Câmpus de Botucatu
Programa de Pós-graduação em Biometria



MODELOS MATEMÁTICOS DE DINÂMICA TUMORAL ENVOLVENDO METÁSTASE E IMUNOTERAPIA

Janielly Matos Vieira

Botucatu
2021

Janielly Matos Vieira

MODELOS MATEMÁTICOS DE DINÂMICA TUMORAL ENVOLVENDO METÁSTASE E IMUNOTERAPIA

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

Orientador: Prof. Dr. Paulo Fernando de Arruda Mancera

Coorientador: Prof. Dr. Diego Samuel Rodrigues

Botucatu
2021

FICHA CATALOGRAFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TEC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP

BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Vieira, Janielly Matos.
Modelo matemático de dinâmica tumoral envolvendo metástase e imunoterapia
/ Janielly Matos Vieira. - Botucatu, 2021

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

Orientador: Paulo Fernando de Arruda Mancera

Coorientador: Diego Samuel Rodrigues

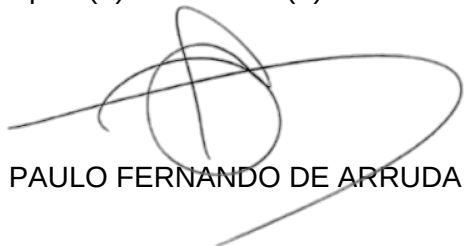
Capes: 90194000

1. Câncer. 2. Metástase. 3. Modelos matemáticos. 4. Imunoterapia adotiva.
5. Equações diferenciais ordinárias. 6. Terapia celular.

Palavras-chave: Câncer; Células CAR T; Equações diferenciais com retardo;
Equações diferenciais ordinárias; Imunoterapia; Modelagem matemática;
Terapia celular adotiva.

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

Aos 19 dias do mês de fevereiro do ano de 2021, às 14:00 horas, por meio de Videoconferência, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de JANIALLY MATOS VIEIRA, intitulada **MODELOS DE DINAMICA TUMORAL ENVOLVENDO METASTASE E IMUNOTERAPIA**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. PAULO FERNANDO DE ARRUDA MANCERA (Orientador(a) - Participação Virtual) do(a) Departamento de Bioestatística, Biologia Vegetal, Parasitologia e Zoologia / Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP, Profa. Dra. IZABEL CRISTINA RODRIGUES DA SILVA (Participação Virtual) do(a) Universidade de Brasília / UNB - Campus Ceilândia, Prof. Dr. ANTONE DOS SANTOS BENEDITO (Participação Virtual) do(a) UNESP . Após a exposição pela mestrande e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, a discente recebeu o conceito final: _ _ _ _ _ **APROVADA** _ _ _ _ _ . 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

Dedico este trabalho primeiramente, à Deus, minha família e aos novos amigos que fiz durante minha jornada no Mestrado.

Agradecimentos

Primeiramente, à Deus pelo dom da vida.

Aos meus pais Janiro e Cleonice, que sempre acreditaram em mim, apoiando minhas decisões e torcendo para o meu sucesso. Mesmo de longe, conseguiram passar-me valores que carrego para a vida, sempre tendo em mente que mesmo em situações mais difíceis, devemos manter o otimismo e a esperança.

Ao Roniel, que em tantas situações difíceis, me incentivou, dando forças para prosseguir a diante. Obrigado pelos momentos em que você me acalmou, tirou minhas dúvidas e teve paciência comigo.

Ao meu orientador Professor Dr. Paulo F. A. Mancera, por ser um excelente pesquisador, apaixonado no que faz, mostrando que ensinar, não é apenas transmitir conhecimento, mas também de criar possibilidades para sua construção e desenvolvimento. Obrigado pela oportunidade de conhecer esse incrível mundo da matemática, que antes não conhecia.

Ao meu coorientador Professor Dr. Diego S. Rodrigues, pelo auxílio e sugestões para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos amigos da pós-graduação, em especial, Felipe Camargo, Eduardo, Marta, Antone e Jairo, pelo apoio e colaboração durante todo esse ciclo. Também agradeço a minha amiga Lara Morena, pela sua amizade, apoio incondicional e seu esforço em me fazer sentir bem.

Aos membros da minha banca de qualificação e defesa de dissertação, aos professores do Programa de Pós-Graduação em Biometria e todos os funcionários da Seção Técnica de Pós-Graduação do Instituto de Biociências de Botucatu, pelos auxílios prestados.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001, pelo apoio financeiro durante o curso.

*A tarefa não é ver aquilo que ninguém viu, mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre aquilo
que todo mundo vê.
Arthur Schopenhauer*

Resumo

A essência do câncer é caracterizada pelo crescimento desordenado de células que possuem a capacidade de invadir tecidos e órgãos adjacentes aos que estão lesionados. Classificado como um problema de saúde mundial, se encontra entre as quatro principais causas de morte em todo o mundo, sendo a metástase responsável por mais de 90% de todas as mortes relacionadas ao câncer. Com intuito de erradicar a doença, diversas terapias têm sido desenvolvidas, dentre as quais a imunoterapia vem ganhando destaque por não apresentar danos severos às células normais, tendo como finalidade reforçar o sistema imunológico do paciente para que o mesmo possa combater as células tumorais. Utilizando equações diferenciais, foram propostos nesta dissertação dois modelos matemáticos de metástase com abordagens imunoterápicas distintas. Em ambos os modelos, a metástase é modelada como um fenômeno migratório, em que duas populações de células tumorais coexistem e se desenvolvem em dois locais diferentes. No primeiro modelo, a imunoterapia é realizada através do aumento de influxo das células imunes e da interação entre as duas populações. Nesse modelo, foi obtido cenários onde temos a eliminação da população tumoral e outros em que a imunoterapia não é suficiente para combater o crescimento das células tumorais. No segundo modelo, utilizamos a terapia celular adotiva, com uso de células CAR T (linfócitos T modificados) no combate ao câncer, nesse modelo obtivemos cenários em que a imunoterapia é capaz de controlar o crescimento da população de células tumorais durante um tempo, porém, não foi capaz de eliminá-las.

Palavras-chave: Câncer, Células CAR T, Equações Diferenciais Ordinárias, Equações Diferenciais com Retardo, Imunoterapia, Modelagem Matemática, Terapia Celular Adotiva .

Abstract

The essence of cancer is characterized by the disordered growth of cells having the ability to invade tissues and injured adjacent organs. Classified as a world health problem, cancer lies among the four leading death causes worldwide, being metastasis responsible for over 90% of all cancer-related deaths. In order to eradicate the disease, several therapies are under development, being the immunotherapy on prominence for not causing severe damages to the normal cells, reinforcing the patient's immune system, so it can better fight the cancer cells. Using differential equations, this dissertation proposed two mathematical models for metastasis with different immunotherapeutic approaches. In both models, the metastasis is modeled as a migratory phenomenon, where two cancer cells populations coexist and develop themselves in two different locations. In the first model, immunotherapy is performed by increasing the influx of immune cells and the interaction between the two populations. In this model, we obtained scenarios where we have the elimination of the tumor population and others in which immunotherapy is not sufficient to combat the growth of tumor cells. In the second model, we used adoptive cell therapy, with the use of CAR T cells (modified T lymphocytes) to combat cancer. In this model, we obtained scenarios in which immunotherapy was capable of controlling the growth of the tumor cell population for a period of time, but was not capable of eliminating them.

Keywords: Adoptive Cell Therapy, Cancer, CAR T Cells, Delay Differential Equations, Immunotherapy, Mathematical Modeling, Ordinary Differential Equations.

Lista de figuras

Figura 1 – Tamanho do tumor.	3
Figura 2 – As <i>hallmarks</i> do câncer	3
Figura 3 – Etapas da cascata metastática	6
Figura 4 – Terapia com células CAR T	14
Figura 5 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro c_i	31
Figura 6 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro r_i	31
Figura 7 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro α_i	32
Figura 8 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro d_i	32
Figura 9 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_i = 6,5 \times 10^5$	33
Figura 10 – Dinâmica tumoral utilizando $c_i = 1,9 \times 10^{-8}$	34
Figura 11 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_i = 5,3 \times 10^5$ e $c_i = 1,3 \times 10^{-8}$	34
Figura 12 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_1 = 6,5 \times 10^5$ e $\alpha_2 = 3,5 \times 10^5$	35
Figura 13 – Dinâmica tumoral utilizando $c_1 = 1,9 \times 10^{-8}$ e $c_2 = 1,0 \times 10^{-8}$	35
Figura 14 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_1 = 5,3 \times 10^5$, $\alpha_2 = 3,5 \times 10^5$, $c_1 = 1,3 \times 10^{-8}$ e $c_2 = 1,0 \times 10^{-8}$	36
Figura 15 – Dinâmica tumoral	36
Figura 16 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 2×10^5 células.	47
Figura 17 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 5×10^5 células.	48
Figura 18 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 1×10^6 células.	48
Figura 19 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 2×10^6 células.	48
Figura 20 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 1 \times 10^7$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 1×10^6 células.	49
Figura 21 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 5 \times 10^7$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 1×10^6 células.	49
Figura 22 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 9 \times 10^7$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 1×10^6 células.	50
Figura 23 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 1 \times 10^8$ células e imunoterapia com $\Lambda =$ 1×10^6 células.	50

Lista de tabelas

Tabela 1	– Descrição e valores dos parâmetros usados no sistema de equações (3.1). . .	26
Tabela 2	– Descrição e valores dos parâmetros usados no sistema de equações (4.1). . .	39

Sumário

	1 INTRODUÇÃO	1
1.1	Biologia do Câncer	2
1.1.1	<i>Hallmarks do Câncer</i>	3
1.1.2	Metástase	6
1.1.3	Sistema Imune	8
1.2	Tipos de Tratamentos	10
1.2.1	Imunoterapia	11
	2 MODELOS MATEMÁTICOS EM CÂNCER	17
2.1	Modelos Matemáticos de Imunoterapia	17
2.2	Modelos Matemáticos de Metástase	19
2.3	Modelos Matemáticos de Imunoterapia com Células CAR T	21
	3 MODELO MATEMÁTICO DE IMUNOTERAPIA E METÁSTASE	24
3.1	Modelo	24
3.1.1	Análise da Estabilidade do Modelo	27
3.2	Resultados e Discussões	32
	4 MODELO MATEMÁTICO DE IMUNOTERAPIA COM CÉLULAS CAR T	38
4.0.1	Modelo	38
4.0.2	Análise da Estabilidade do Modelo	40
4.0.3	Resultados e Discussões	46
	5 CONCLUSÃO	51
	Referências	52
	Apêndices	58
	APÊNDICE A – ANÁLISE DA ESTABILIDADE DO MODELO (4.1)	59
A.0.1	Classificação dos Pontos de Equilíbrio	63

1 Introdução

Classificado como um problema de saúde pública mundial, o câncer encontra-se entre as quatro principais causas de morte precoce (antes dos 70 anos) em quase todo o mundo, sendo considerado como uma barreira no aumento da expectativa de vida no século XXI (BRAY et al., 2018). Caracterizar o câncer¹ pode ser uma tarefa árdua, pois não se trata de uma única doença e sim de várias faces de uma mesma patologia. Diferentemente das células normais, as células cancerosas sobrevivem e multiplicam-se sem respeitar qualquer organização estrutural e fisiológica (WEINBERG, 2008).

A crescente incidência do câncer se dá em decorrência de diversos fatores, dentre eles o envelhecimento e aumento da população, que cada vez mais está exposta a fatores de risco de câncer, sejam eles físicos ou químicos. No entanto, essa incidência também está relacionada ao desenvolvimento socioeconômico e a incorporação de hábitos que visam melhores condições de vida (BRAY et al., 2018). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), estima-se que a incidência da doença passará de 18,1 milhões, em 2018, para 29,4 milhões, em 2040. Em 2018, houve 9,6 milhões de mortes no mundo (WHO, 2020).

O Instituto Nacional do Câncer “José de Alencar Gomes da Silva”(INCA) estima que em 2021, o Brasil terá, aproximadamente, 625 mil novos casos de câncer, sendo 177 mil de câncer de pele não melanoma, seguido de câncer de próstata e de mama com 66 mil casos cada. Estratificada por gênero, a estimativa indica que ainda 29,2% (65.840) dos novos casos em homens corresponderão ao câncer de próstata, ao passo que 29,7% (66.280) dos novos casos em mulheres serão de câncer de mama (INCA, 2020).

Este trabalho tem como objetivo propôr dois modelos matemáticos de metástase com abordagens imunoterápicas distintas e analisar, através de simulações computacionais, a dinâmica tumoral.

Neste capítulo, abordaremos conceitos sobre a biologia do câncer, sistema imune e tratamentos oncológicos, necessários para a compreensão dos modelos matemáticos que serão apresentados nos capítulos seguintes.

¹ Sua etimologia provém do grego *karkinos*, que quer dizer “caranguejo”. Segundo relatos históricos, o termo teria sido cunhado por Hipócrates quando os vasos sanguíneos inchados de um tumor remeteram-se a um caranguejo enterrado na areia com as patas abertas em forma de círculo (MURKHERJEE, 2010).

1.1 Biologia do Câncer

Câncer é o nome dado a um conjunto de mais de 100 doenças, cuja característica em comum é o crescimento neoplásico de células pouco diferenciadas que possuem a capacidade de invadir, através da corrente sanguínea, tecidos e órgãos adjacentes aos que estão lesionados (metástase). São células pouco diferenciadas derivadas de um processo normal que ocorreu de maneira incorreta e que não pode ser corrigido, resultando em um acúmulo de mutações (O'DONNELL-TORMEY; TONTONNOZ, 2016).

Os proto-oncogenes e os genes supressores de tumor são uns dos principais percursores na progressão tumoral, ambos desempenhando papéis cruciais no controle da divisão celular. Os proto-oncogenes são responsáveis por fornecer sinais para que a divisão celular ocorra e os genes supressores são encarregados de freá-la. Quando ocorre a mutações desses dois genes em uma única célula, o processo normal de divisão celular é interrompido, ocasionando uma das principais características do câncer: o crescimento neoplásico (WEINBERG, 1996; TOMASETTI; LI; VOGELSTEIN, 2017).

O tumor pode ser classificado em benigno e maligno, dependendo das suas características morfológicas. Uma neoplasia benigna (tumor benigno) apresenta células altamente diferenciadas, isto é, são semelhantes as células normais, sendo capazes de reproduzir o tecido que lhe deram origem. As células apresentam uma baixa taxa de divisão e proliferação, em muitos casos, e não comprometem a nutrição das células normais em seu entorno, além de não invadirem tecidos vizinhos (BOGLIOLO; FILHO; BARBOSA, 2016). Uma neoplasia benigna, geralmente formada por um agregado esférico, não ocasiona riscos fatais ao hospedeiro, no entanto, o crescimento do tumor pode acarretar algumas complicações devido ao seu volume, levando a compressão de algum órgão vital, além da liberação de altos níveis de hormônios que podem gerar desequilíbrios no organismo (WEINBERG, 2008).

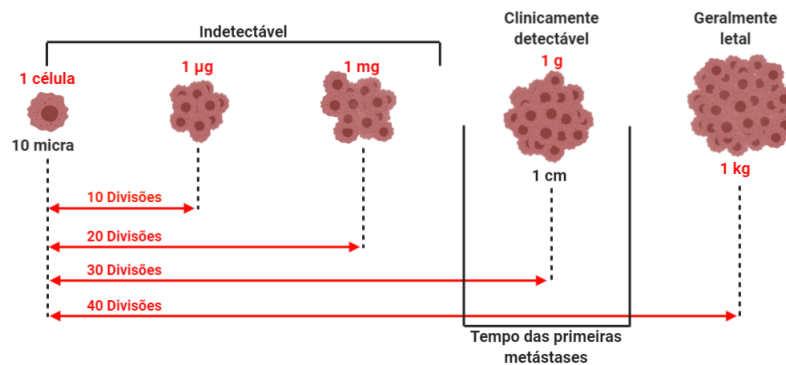
Em contrapartida, as neoplasias malignas (tumor maligno) exibem células pouco diferenciadas, porém com alto índice mitótico, ocasionando um rápido crescimento do tumor. Devido a pouca diferenciação, muitas dessas células perdem suas funções e características do tecido original, resultando na alteração de suas propriedades físicas, químicas e biológicas. Por exibirem uma redução em suas estruturas juncionais² e moléculas de adesão (caderina), essas células ganham maior mobilidade, favorecendo a capacidade de invadir tecidos e órgãos vizinhos (metástase), além de não possuir uma massa totalmente agregada, o que dificulta a sua remoção. Essas neoplasias desencadeiam inúmeros desequilíbrios fisiológicos no hospedeiro, levando-o, na maioria das vezes, à morte (BOGLIOLO; FILHO; BARBOSA, 2016).

Em relação ao tamanho de tumores humanos, apresentamos, na Figura 1, informações segundo a divisão celular. Uma massa tumoral se torna visível aos raios X quando atinge aproxi-

² Um conjunto de junções celulares que mantêm as células unidas, garantindo a vedação do espaço intercelular e a comunicação entre células (ALBERTS et al., 2017).

madamente 10^8 células e clinicamente palpável em humanos a partir de 10^9 células $\approx 1\text{g}$ (JR., 1975; WEINBERG, 2008).

Figura 1 – Tamanho do tumor, segundo a divisão celular. À medida em que ocorrem mais divisões, o tempo de duplicação da massa tumoral é reduzido, acarretando a inibição do crescimento tumoral e, portanto, quanto maior é a massa tumoral, menor é a sua proliferação.

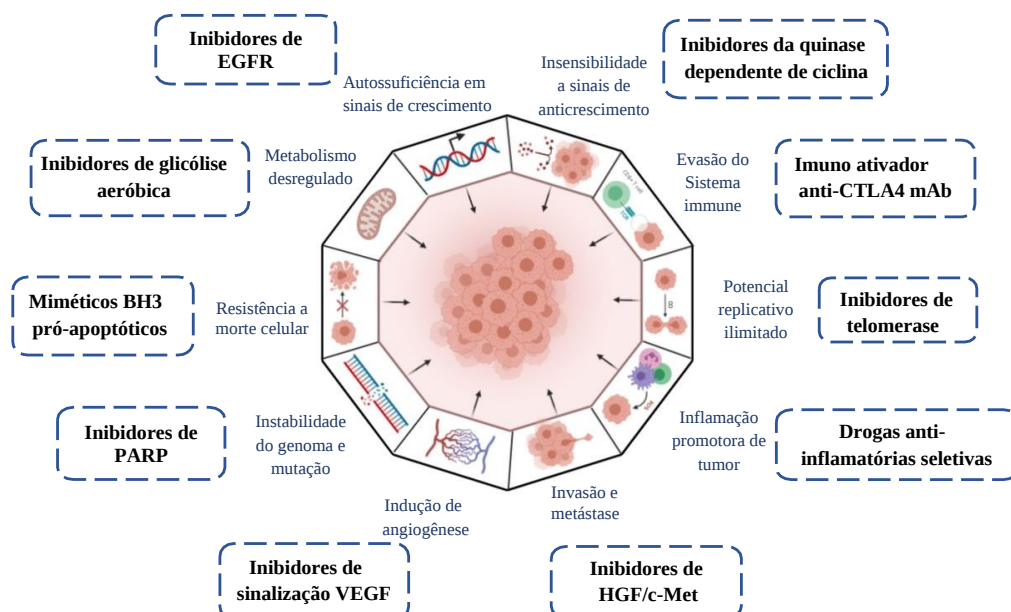


Fonte: Adaptado de Brasil (2008), com dados extraídos de Jr. (1975).

1.1.1 Hallmarks do Câncer

Segundo Hanahan e Weinberg (2000) e Hanahan e Weinberg (2011), as *hallmarks* do câncer representam um conjunto de capacidades distintas, que são compartilhadas pela maioria dos tipos de cânceres, constituindo um princípio organizador para a compreensão da biologia do câncer. O corpo dispõe de diversos mecanismos antineoplásicos e, à cada aquisição de uma nova capacidade esses mecanismos são violados ou inativados pelas células cancerosas. A seguir, é apresentada uma breve explicação sobre as *hallmarks*.

Figura 2 – As *hallmarks* do câncer.



Fonte: Produzida pelo autor, baseada em Hanahan e Weinberg (2011).

- **Autossuficiência em sinais de crescimento:** uma das características fundamentais das células cancerosas é a sustentação proliferativa. Diferentemente das células normais, que necessitam de sinais externos, hormônios e outras moléculas para se desenvolver e dividir em perfeita homeostase, as células cancerosas têm a capacidade de se desenvolverem na ausência desses sinais promotores de crescimento. Essa independência proliferativa pode ser obtida por diferentes mecanismos, dentre eles a sinalização autócrina, em que as mesmas produzem seus próprios sinais de crescimento.
- **Insensibilidade a sinais de anticrescimento:** o corpo dispõe de diversos mecanismos e processos internos que inibem o crescimento e a divisão celular, por exemplo, a proteína conhecida como gene supressor de tumor (TP53), uma das responsáveis por controlar a proliferação celular. Quando esse gene é alterado, ele pode desempenhar um papel crucial no desenvolvimento do câncer. As células tumorais conseguem alterar essa proteína para que divisão e proliferação celular não sejam interrompidas mesmo a célula apresentando anomalias. Outro mecanismo de controle da proliferação é a inibição por contato, que ocorre quando as células preenchem o espaço em que se encontram e as células tumorais, não respeitando essa inibição, continuam a se proliferar independentemente do seu entorno.
- **Evasão da apoptose:** apoptose é uma das formas de morte celular, mecanismo pelo qual as células são programadas para se autodestruírem no caso de apresentarem alguma anomalia. Essa ação é necessária para que o organismo cresça e se desenvolva adequadamente, mas as células tumorais são capazes de contornar esse mecanismo alterando proteínas responsáveis por identificar essas anormalidades, deste modo evitando o processo apoptótico.
- **Potencial replicativo ilimitado:** as células normais não possuem a capacidade de se dividirem indefinidamente. À cada divisão, o DNA telomérico encurta-se, até que se torna tão curto que ativa o processo de senescência, de modo que a célula para de se dividir. As células cancerosas são capazes de contornar essa barreira, manipulando as enzimas responsáveis pelo comprimento dos telômeros. Desta forma, conseguem se replicar sem ativar o processo natural de envelhecimento (senescência).
- **Angiogênese sustentada:** devido à constante replicação e à alta quantidade de nutrientes que são consumidos pelas células tumorais, haverá um momento em que a concentração de nutrientes presentes no local não será suficiente para o desenvolvimento das células. Com a escassez de nutrientes, as células são induzidas a um estado de hipóxia (falta de oxigênio), o que acaba reduzindo a velocidade de proliferação tumoral. Para contornar essa barreira, as células tumorais liberam fatores angiogênicos (*Tumoral Angiogenic Factors*, TAF), capazes de induzirem as células normais em estado de hipóxia a enviarem sinais químicos. Esses sinais são responsáveis pela neovascularização através da liberação de fatores de crescimento do endotélio vascular (*Vascular Endothelial Growth Factors*, VEGF). Com o crescimento de novos vasos sanguíneos a partir de vasos pré-existent, o tumor consegue

vascularizar-se, e esse processo é conhecido como angiogênese tumoral (FOLKMAN, 1972; FOLKMAN, 2002).

- **Invasão tecidual e metástase:** o processo de metástase inicia-se com um tumor primário, que se desenvolve e libera células cancerosas que migram em direção aos vasos sanguíneos, dando início ao processo de intravasão que ocorre na circulação sanguínea ou linfática. Posteriormente, as células são transportadas, sujeitas à força de cisalhamento e ataques do sistema imune e, após o processo de extravasamento, se estabelecem criando sítios secundários.
- **Metabolismo desregulado:** as células tumorais se tornam dinâmicas e flexíveis ao longo do tempo, e utilizam fontes e vias metabólicas alternativas para gerar energia. Diferentemente das células normais, que produzem ATP pela oxidação de glicose, as células tumorais transformam piruvato em energia. Em condições aeróbicas, essas células regulam a glicólise e a fermentação do ácido láctico no citosol e impedem que as mitocôndrias completem a respiração aeróbica normal, processo conhecido como efeito Warburg.
- **Evasão do sistema imunológico:** constantemente células e tecidos são monitorados pelo sistema imune, sendo ele responsável por reconhecer e eliminar qualquer anormalidade presente. No entanto, mesmo com todos os processos inflamatórios que são desencadeados pelas células tumorais, as mesmas conseguem evitar esse monitoramento imunológico, o que é facilitado pela perda da interleucina-33 (IL-33), resultando em um monitoramento defeituoso.

De acordo com Hanahan e Weinberg (2011), a aquisição das múltiplas características enumeradas acima depende em grande parte de uma sucessão de alterações nos genomas das células tumorais e promoção da inflamação.

- **Instabilidade genômica:** as células cancerosas resultam de um processo normal que ocorreu de maneira incorreta, acarretando mutações no gene. Essa instabilidade genômica é herdada, e a cada geração ocorre um acúmulo de mutações, tais como: bases nitrogenadas alteradas com algum gene inativo ou disfuncional e a desregulação da síntese de proteínas via transcrição do RNA e ribossomos. A falta dessas proteínas acarreta alterações nos sinais internos e externos, sem os quais não é possível fazer a reparação no DNA. Embora haja variação dessas alterações entre tipos diferentes de tumores, há inúmeros indícios de que a instabilidade do genoma é inerente a grande maioria das células tumorais, levando a conclusão de que os defeitos nessa manutenção e reparo do genoma são seletivamente vantajosos, acelerando a taxa com que essas células cancerosas evoluem acumulando características favoráveis.
- **Inflamação:** a resposta inflamatória produzida através do sistema imune, associada ao tumor, tem caráter promotor na progressão tumoral, possivelmente auxiliando na aquisição

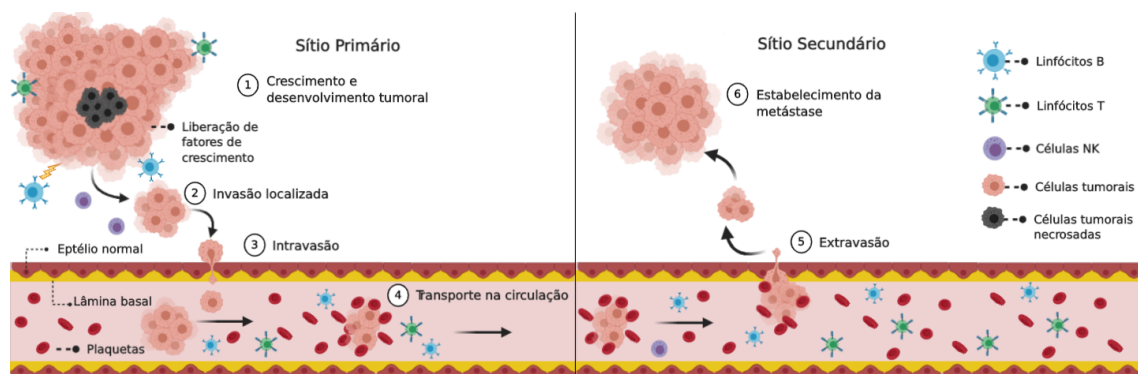
de novas características. A inflamação pode contribuir através do fornecimento de moléculas bioativas ao microambiente tumoral que nutrem as células, fatores de crescimento que sustentam a proliferação e sobrevivência, além de facilitar o processo angiogênico.

1.1.2 Metástase

Os tumores primários são responsáveis, em média, por 10% das mortes associadas ao câncer, ao passo que, 90% estão relacionadas a crescimentos neoplásicos em locais distantes do corpo, onde o tumor primário surgiu (RHODES; HILLEN, 2019; GANESH; MASSAGUÉ, 2021). Esse processo de migração de células é denominado metástase. A disseminação metastática ocorre muito cedo na progressão maligna de um câncer, no entanto, a manifestação clínica das metástases geralmente leva anos, ou seja, a metástase pode ocorrer tarde em relação ao início do tumor primário, mas precoce em relação a detecção clínica (HU; CURTIS, 2020; KLEIN, 2020).

Os sítios secundários são formados por células que se desprenderam do tumor primário e passaram por diversas etapas, viajando através da corrente sanguínea ou vasos linfáticos em busca de novos locais para se estabelecerem, formando inicialmente micrometástases (CHAFFER; WEINBERG, 2011; KITAMURA; QIAN; POLLARD, 2015). Para que a metástase ocorra, as células tumorais passam por um processo chamado de cascata metastática, envolvendo as etapas descritas na Figura 3.

Figura 3 – Para ocorrer a metástase, as células tumorais passam por um processo denominado cascata metastática, inicia-se com o tumor primário que cresce e se desenvolve, e para sobreviverem as células tumorais precisam evadir dos ataques do sistema imunológico. No sítio primário, o tumor libera fatores de crescimento sistêmicos, o que fornece um suporte ao tumor no futuro local metastático. As células tumorais iniciam a invasão local, destruindo a matriz extracelular e intravasando os vasos sanguíneos ou linfáticos. Transportadas na circulação, essas células estão sujeitas a ataques do sistema imune e, devido as interações desenvolvidas com os componentes sanguíneos, essas células param na circulação e extravasam, adentrando o tecido. O último passo é a colonização e desenvolvimento no novo ambiente (KITAMURA; QIAN; POLLARD, 2015; RHODES; HILLEN, 2019).



Fonte: Produzida pelo autor, baseada em Weinberg (2008) e Kitamura, Qian e Pollard (2015).

- **Crescimento do tumor primário:** antes que o câncer possa se disseminar pelo corpo, primeiro ele precisa se desenvolver, processo esse que envolve a aquisição de um conjunto de características (ver Figura 2). Além de escaparem do sistema imune durante esse processo, as células tumorais são capazes de alterar o microambiente ao seu redor em benefício próprio, como por exemplo, a estimulação para o processo de angiogênese. Posteriormente, liberam fatores sistêmicos, que são responsáveis na preparação do nicho pré-metastático, onde futuramente irão se estabelecer as colônias migratórias (CHAFFER; WEINBERG, 2011; RHODES; HILLEN, 2019). Nessa etapa, ocorre também o destacamento dessas células do tumor primário, que é facilitado devido à perda da glicoproteína E-caderina, que é responsável pela adesão célula-célula (GANESH; MASSAGUÉ, 2021).
- **Invasão:** essa etapa é possível por meio da aquisição do fenótipo invasivo, com isso, as células tumorais recrutam moléculas e células específicas que atuam na degradação da matriz extracelular, iniciando o processo de invasão local, através da membrana basal. Feito isso, as células tumorais estão em uma posição favorável, ganhando, posteriormente, acesso direto ao vasos sanguíneos e linfáticos (CHAFFER; WEINBERG, 2011; KITAMURA; QIAN; POLLARD, 2015).
- **Intravasamento:** após a invasão, com a degradação da matriz extracelular, as células cancerosas conseguem intravasar os microvasos, sejam eles sanguíneos ou linfáticos, iniciando sua trajetória pelo corpo. A angiogênese pode favorecer essa etapa (KITAMURA; QIAN; POLLARD, 2015).
- **Circulação:** uma vez dentro dessas vias circulatórias, as células tumorais são transportadas, sujeitas às forças hidrodinâmicas presentes no ambiente e aos ataques do sistema imune. As plaquetas³ desempenham um papel fundamental, auxiliando as células tumorais a evadirem desses ataques e dando suporte na sua trajetória dentro das vias circulatórias. Posteriormente, essas células são retidas nessas vias, devido ao desenvolvimento de interações adesivas com as células endoteliais e componentes sanguíneos (CHAFFER; WEINBERG, 2011; RHODES; HILLEN, 2019).
- **Extravasamento:** devido a imobilização, elas ficam alojadas nos vasos, porém, precisam evadir-se desses locais e penetrar nos tecidos que as rodeiam. Essas células utilizam diversas estratégias para realizar a extravasão para os tecidos, por exemplo, podem iniciar sua proliferação para formar um pequeno tumor, empurrando as células endoteliais e ocasionando o rompimento da membrana basal, de modo que as células tumorais consigam adentrar no tecido (KITAMURA; QIAN; POLLARD, 2015; RHODES; HILLEN, 2019).
- **Estabelecimento da metástase:** milhões de células tumorais são liberadas na corrente sanguínea, no entanto, apenas uma fração dessa população consegue ter sucesso e metatizar-

³ “As plaquetas auxiliam na iniciação da coagulação do sangue, são fragmentos celulares, sem núcleo, que se desprende de um megacariócito na medula óssea e é encontrado em grande número na corrente sanguínea.”(ALBERTS et al., 2017).

se. Ao adentrarem no tecido, as células tumorais precisam se adaptar para sobreviverem, pois o novo local pode não oferecer o mesmo suporte fisiológico (fatores de crescimento) que o sítio primário (RHODES; HILLEN, 2019; GANESH; MASSAGUÉ, 2021).

O processo de metástase pode ser resumido em duas etapas principais: a translocação física das células tumorais para outro ambiente e a colonização (CHAFFER; WEINBERG, 2011). De fato, a disseminação sistêmica de um tumor primário para locais distantes é a principal causa de mortalidade por câncer, logo a compreensão da translocação física das células tumorais pode possibilitar a prevenção de metástase em pacientes com diagnóstico precoce, e entender como esses conjuntos de células viajantes conseguem ter sucesso na sua colonização leva a tratamentos efetivos em pacientes com metástases já estabelecidas (CHAFFER; WEINBERG, 2011; HU; CURTIS, 2020; KLEIN, 2020).

1.1.3 Sistema Imune

Ainda que o nosso corpo disponha de barreiras físicas e químicas, como a pele, lágrimas, saliva e membranas que revestem os órgãos internos, os patógenos, como vírus, bactérias e fungos, ainda conseguem adentrar no corpo. Na maioria das vezes, o sistema imune é eficaz no combate aos patógenos, sendo capaz de reconhecer esses invasores prejudiciais e distingui-los das próprias células. É constituído principalmente por dois mecanismos de defesa, que interagem entre si garantindo a neutralização de microrganismos invasores, a resposta inata e a resposta adaptativa (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Essas respostas são os principais componentes do sistema de defesa, no qual inúmeras moléculas e células trabalham cooperativamente para proteger o corpo de invasores. A imunidade inata é a barreira inicial contra as infecções, porém diversos microrganismos conseguem resistir. Para eliminação desses invasores resistentes, o corpo dispõe de uma ferramenta robusta denominada resposta adaptativa. Existem diversas conexões entre esses mecanismos de defesa, a resposta inata influencia estimulando a resposta adaptativa e, por outro lado, o sistema imune adaptativo auxilia na melhoria dos mecanismos de eliminação de invasores da imunidade inata, juntas essas respostas constituem um sistema de defesa eficaz (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

- **Resposta Inata**

Por se tratar de dois mecanismos que interagem entre si, inicialmente a defesa contra os invasores é feita pela resposta imunológica inata e posteriormente pelas respostas da imunidade adaptativa. A imunidade inata é também denominada como natural ou nativa, atua como primeira linha de defesa, estando os componentes dessa resposta imunológica disponíveis desde o nascimento, os quais atuam rapidamente contra as infecções sem conduzir, entretanto, a uma imunidade duradoura. Os componentes da imunidade inata são específicos para reconhecer estruturas que

são comuns a grupos de microorganismos, não distinguindo pequenas diferenças entre eles (MURPHY, 2014; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

A imunidade inata dispõe de diversos componentes, dentre os principais, pode-se destacar as barreiras físicas e químicas como o epitélio e agentes microbianos que são produzidos nas superfícies epiteliais. As células que pertencem a essa resposta incluem macrófagos, células assassinas naturais (NK, do inglês *natural killers*), leucócitos, neutrófilos, células dendríticas, dentre outras proteínas sanguíneas (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015; EFTIMIE; GILLARD; CANTRELL, 2016; MAHLBACHER; REIHMER; FRIEBOES, 2019). Quando as barreiras físicas são ultrapassadas, iniciam-se as ações do sistema imune: os monócitos que estão no sangue são recrutados para o tecido após a invasão, passam por um processo de diferenciação, tornando-se macrófagos pró ou anti-inflamatórios. Os macrófagos são capazes de ingerir e matar os invasores através da produção de toxinas químicas e enzimas degradadoras. Além de induzir a inflamação, secretam proteínas sinalizadoras para o recrutamento de outras células do sistema imune (MURPHY, 2014; MAHLBACHER; REIHMER; FRIEBOES, 2019).

Conhecidas também como apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês *antigen-presenting cells*), as células dendríticas possuem papel essencial no decorrer das respostas imunes, auxiliando tanto a resposta inata como a adaptativa, sendo capazes de ativar ou inativar os linfócitos T. Assim como os macrófagos e neutrófilos, são capazes de capturar o patógeno e efetuar a degradação do mesmo, porém seu papel não está na eliminação do patógeno. Ao realizar o processo de degradação do invasor, essas células se tornam maduras, expressando o antígeno em sua superfície e, posteriormente, apresentando-o às células especializadas do sistema imunológico (linfócitos T) (MURPHY, 2014).

As células NK são reguladoras do sistema imune, atuando principalmente nos estágios iniciais da resposta imune e, sendo capazes de reconhecer e eliminar células que apresentam anomalia, cancerosas ou infectada por vírus. Quando ocorre o contato das células NK com essas células anormais, são liberados grânulos que adentram a célula alvo ocasionando sua lise⁴ (COICO; SUNSHINE, 2010; EFTIMIE; GILLARD; CANTRELL, 2016; MAHLBACHER; REIHMER; FRIEBOES, 2019).

• Resposta Adaptativa

Diferentemente do sistema inato, em que não é necessária uma exposição prévia ao agente infeccioso para se desenvolver uma resposta imunológica, o sistema adaptativo ou adquirido é estimulado por meio da exposição do agente e sua capacidade de defesa é reforçada a cada reexposição. A resposta adaptativa é específica de cada indivíduo, sendo desenvolvida no decorrer de sua vida, através do contato com novos patógenos. Devido a essa especificidade, a resposta adaptativa cria uma espécie de memória imunológica, conferindo ao indivíduo uma imunidade protetora contra reinfecções pelo mesmo patógeno (MURPHY, 2014; ABBAS; LICHTMAN;

⁴ É um processo de destruição da célula causada pelo rompimento da membrana plasmática, levando a liberação do citoplasma (ALBERTS et al., 2017).

PILLAI, 2015; EFTIMIE; GILLARD; CANTRELL, 2016). O sistema adaptativo é composto por células dendríticas, linfócitos B e T e subdividido em dois tipos de respostas denominados imunidade humoral e imunidade mediada por células. O sistema imune adaptativo pode reconhecer e responder a patógenos individuais devido a receptores especializados expressos na superfície dos linfócitos B e T (MURPHY, 2014; MAHLBACHER; REIHMER; FRIEBOES, 2019).

Mediada pelos linfócitos B, células geradas e amadurecidas na medula óssea, a imunidade humoral é um dos principais mecanismos de defesa contra microrganismos extracelulares. Os linfócitos B secretam anticorpos que são capazes de reconhecer, neutralizar e marcar o invasor, ligando-se a e, posteriormente, efetivando a destruição desses microrganismos (MURPHY, 2014; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

A imunidade mediada por células é realizada pelos linfócitos T, que possuem em sua superfície uma estrutura capaz de reconhecer os antígenos. Essas células são geradas na medula óssea, mas seu amadurecimento ocorre no timo⁵. Após a ativação do linfócito T, este se prolifera e diferencia-se em linfócito T efetor. Conhecidos também por células T, são divididos em três categorias com funções distintas. Os linfócitos T citotóxicos são responsáveis pela eliminação de células infectadas por vírus ou outros patógenos intracelulares. Os linfócitos T reguladores são incumbidos de suprimir as atividades dos outros linfócitos, atuando no controle dessas respostas imunes. Os linfócitos T auxiliares são capazes de produzir sinais adicionais para a ativação de outras células efectoras, auxiliar na ativação de macrófagos para que se tornem eficientes no combate aos patógenos, podendo também induzir células B ativadas a liberarem anticorpos (MURPHY, 2014; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015; MAHLBACHER; REIHMER; FRIEBOES, 2019).

Em relação aos linfócitos, tem-se dois tipos de imunização. Quando a imunidade é conferida pela transferência de linfócitos ou células efectoras, temos a imunização passiva. A imunização ativa pode ser tanto natural como artificial (vacinas), é adquirida quando o sistema imune do hospedeiro reage à presença do patógeno, liberando anticorpos e desenvolvendo a memória imunológica. Em ambas, temos a especificidade, mas apenas na imunização ativa é que o hospedeiro desenvolve uma imunidade duradoura (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

1.2 Tipos de Tratamentos

Diversos tratamentos oncológicos são desenvolvidos com a finalidade de erradicar ou controlar o câncer. A utilização desses tratamento varia de acordo com o tipo de câncer, grau, localização, dentre outros fatores. No âmbito dos tratamentos convencionais, podemos destacar a cirurgia, quimioterapia e radioterapia. A cirurgia pode ser, de acordo com a sua finalidade, classificada em: preventiva, paliativa, curativa ou diagnóstica. Na fase inicial, o câncer pode ser curado ou erradicado cirurgicamente, no entanto, quando se trata de neoplasias malignas, que não possuem uma massa agregada, a sua remoção não é 100% efetiva, já que a cirurgia

⁵ Um órgão linfático situado na cavidade torácica próximo ao coração.

é um tratamento a nível macroscópico. Terapias que atuam em níveis microscópicos, como a quimioterapia e a radioterapia, quando combinadas com a cirurgia, podem trazer inúmeros benefícios aos pacientes como, por exemplo, processos cirúrgicos menos invasivos (BRASIL, 2008).

Indicada para tratamento de leucemias, linfomas e tumores sólidos, a quimioterapia antineoplásica consiste na aplicação de substâncias químicas, isoladas ou combinadas (poliquimioterapia), que visam eliminar as células cancerosas. A quimioterapia pode ser classificada em: curativa, paliativa, potencializadora e neoadjuvante. A maioria dos agentes antineoplásicos atua de forma não seletiva, isto é, lesionam tanto as células malignas como benignas. Esses agentes agem diretamente nas células, afetando diversas fases do ciclo celular. Devido a essa característica, utiliza-se com frequência a combinação de medicamentos (poliquimioterapia). Pelo fato dos agentes atuarem de forma indistinta nas neoplasias malignas e tecidos normais, o tratamento é condicionado de forma periódica para que o paciente possa se recuperar dos efeitos colaterais causados pelo tratamento (BRASIL, 2008).

A radioterapia atua através da administração de feixes de radiação ionizantes para destruir ou impedir o crescimento de células tumorais. O objetivo dessa terapia é alcançar um índice terapêutico favorável, levando as células tumorais a perderem sua clonogenicidade, resultando na impossibilidade de realizarem suas divisões celulares. As doses de radiação e o tempo de aplicação são escolhidos de acordo com o tipo e tamanho do tumor. As formas de radiação mais utilizadas são as eletromagnéticas, como os raios X e raios gama. A aplicação desse tipo de terapia pode ser interna (braquiterapia), em que a fonte de radiação é colocada dentro de reservatórios metálicos e aplicada próxima ao tumor, ou externa (teleterapia), em que a fonte produtora de radiação está distante do paciente. Nota-se que tanto a quimioterapia, quanto a radioterapia visam a administração da dose que poderia erradicar a doença ou controlá-la, porém, sem oferecer danos severos aos órgãos e tecidos normais (BRASIL, 2008).

1.2.1 Imunoterapia

A imunoterapia no tratamento contra o câncer tem como função principal reforçar o sistema imunológico, para que esse possa reagir com eficácia, sendo capaz de reconhecer e eliminar células tumorais. A imunidade antitumoral engloba as respostas da imunidade inata e adaptativa como primeira linha de defesa. Os componentes da imunidade inata reconhecem e eliminam uma variedade de células tumorais sem a restrição do complexo principal de histocompatibilidade (MHC, do inglês *major histocompatibility complex*)⁶. Uma resposta robusta e eficaz é desenvolvida pela imunidade adaptativa, que é restringida pelo MHC e a apresentação do antígeno pelas células dendríticas (MURPHY, 2014; ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

Pelo fato das células tumorais apresentarem algumas semelhanças com as células normais,

⁶ Sua principal função é codificar um conjunto de glicoproteínas, que atuam no reconhecimento e apresentação dos antígenos (ALBERTS et al., 2017).

a efetividade do sistema imune se torna limitada, não sendo capaz de reconhecer e eliminar essas células. Para superar essa limitação, a imunoterapia busca impulsionar o sistema imunológico, através da administração de terapias que atuam em diferentes níveis e células do sistema imune. Os ramos principais da imunoterapia são os anticorpos monoclonais, inibidores do ponto de controle imune, terapia celular adotiva e vacinas (ZHANG; CHEN, 2018).

Os anticorpos monoclonais são proteínas produzidas em laboratório a partir de linfócitos B, que visam determinado tipo de antígeno. Essas proteínas agem de diferentes formas, podendo interagir com moléculas sinalizadoras e bloquear receptores ou fatores de crescimento, além de recrutar células do sistema imune (NK ou macrófagos) que promovem a destruição do patógeno. Dentre os anticorpos monoclonais, podemos destacar o rituximab, específico para o antígeno CD20, que é encontrado tanto nas células normais, quanto cancerosas (O'DONNELL-TORMEY; TONTONNOZ, 2016; ZHANG; CHEN, 2018).

Para evitar que as células T ataquem as células normais, o sistema imune dispõe de alguns *checkpoints*, moléculas que desempenham funções que podem ser ativadas ou desativadas. No entanto, as células tumorais também usufruem dessas moléculas e conseguem evadir do sistema imune. Um exemplo dessas proteínas é a PD-1 (proteína de morte celular programada) presente nas células T. O ataque a outras células do corpo é evitado quando a PD-1 se liga ao PD-L1, outra proteína que é encontrada nas células normais e tumorais. Portanto, a imunoterapia com inibidores de ponto de controle visa interromper as interações entre o receptor tumoral (PD-L1) e a proteína estimulatória (PD-1) do linfócito e, uma vez bloqueada essa interação, a função efetora da célula T é restaurada podendo eliminar a célula tumoral (O'DONNELL-TORMEY; TONTONNOZ, 2016; ZHANG; CHEN, 2018).

A transferência celular adotiva é uma terapia personalizada, na qual células específicas do sistema imune são extraídas do paciente e, em laboratório, modificadas e submetidas a expansão *in vitro*. Após atingir a quantidade necessária, essas células são transplantadas no paciente para reconhecer e eliminar especificamente as células tumorais. Essa transferência de células possui grande potencial para pacientes com sistema imunológico comprometido, pois ignora a necessidade de imunização ativa. Os linfócitos T são comumente utilizados em terapias celulares adotivas, devido à sua eficiência em responder a antígenos de forma específica e desenvolver uma memória imunológica, que, posteriormente, em termos de combate ao câncer, pode proporcionar proteção a longo prazo contra às células cancerosas (KNOCHELMANN et al., 2018; GUEDAN; RUELLA; JUNE, 2019).

Uma das abordagens da terapia celular adotiva é o uso de linfócitos infiltrantes de tumor: essas células T naturalmente surgem e se infiltram na massa tumoral. Essa estratégia terapêutica é baseada na extração de linfócitos T do tumor, os quais são cultivados e expandidos *in vitro* com o uso de IL-2 (interleucina)⁷, e, depois, transplantados no paciente. Em 1980, houve as primeiras

⁷ Fator de crescimento e diferenciação que estimula diversos componentes celulares do sistema imune (WEINBERG, 2008).

aplicações bem sucedidas de linfócitos infiltrantes em pacientes com melanoma metastático (ROSENBERG; RESTIFO, 2015; JUNE; SADELAIN, 2018).

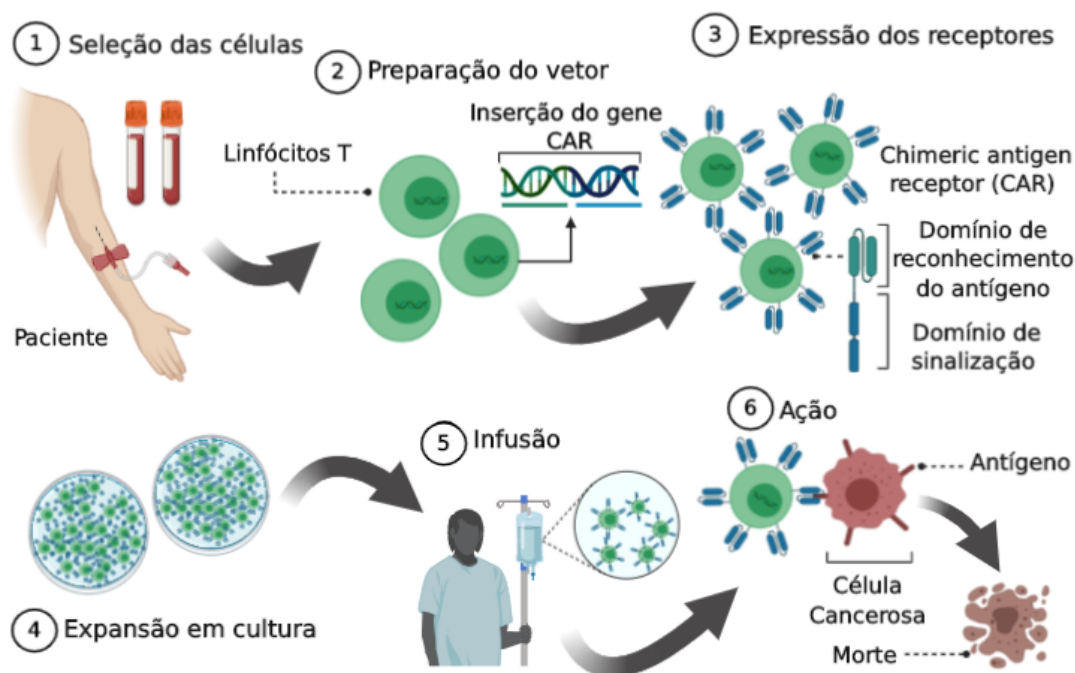
Com os recentes avanços da engenharia genética, tornou-se possível modificar as células T através de alterações nos receptores TCRs ou CARs, tornando-as mais eficazes no reconhecimento de antígenos específicos tumorais. Isso acarretou na geração de uma nova modalidade de terapia celular adotiva, que atualmente tem sido objeto de diversos estudos, devido ao sucesso clínico com neoplasias hematológicas (GUEDAN; RUELLA; JUNE, 2019). No presente trabalho, o interesse está na vertente do uso da terapia celular adotiva.

CAR T

Os receptores de antígenos quiméricos (CARs, do inglês *chimeric antigen receptor*), são receptores geneticamente modificados, constituídos principalmente por um domínio extracelular de ligação ao antígeno derivado de um anticorpo monoclonal para direcionar a especificidade, e um domínio de sinalização intracelular da cadeia CD3- ζ que ativa a célula T. Esses receptores são capazes de redirecionar a especificidade, função e metabolismo das células T, tornando-as capazes de identificar e erradicar células malignas com mais facilidade, independentemente do MHC (WEI et al., 2017; JUNE; SADELAIN, 2018; ZHAO et al., 2020).

Atualmente, existem CARs de primeira, segunda e terceira geração, a distinção é feita pela quantidade de moléculas co-estimuladoras no domínio intracelular. A primeira geração utilizou apenas uma única molécula co-estimuladora, o CD3- ζ , para ativar as células T e obteve sucesso no reconhecimento do antígeno, porém, não apresentou respostas significativas na eliminação da célula alvo, além de exibir baixa proliferação das células efetoras. Os CARs de segunda e terceira geração são os mais utilizados em razão de apresentarem duas ou três moléculas co-estimuladoras, respectivamente, o que resultou em um aumento na expansão, persistência e eficácia das células T (WEI et al., 2017; JUNE; SADELAIN, 2018; GORCHAKOV et al., 2020; SWIECH; MALMEGRIM; PICAÑO-CASTRO, 2020). Um esquema representando as etapas fundamentais da terapia com células CAR T é mostrado na Figura 4.

Figura 4 – Esquema do processo da terapia com uso de células CAR T. Primeiro, é realizada a extração dos linfócitos T do paciente através da leucaférese, em seguida, as células selecionadas são manipuladas para inserção do gene CAR. Com a inserção do gene, os linfócitos T são modificados e passam a expressar um novo receptor em sua superfície, que é capaz de reconhecer de maneira efetiva as células tumorais. As células modificadas são expandidas *in vitro* e, posteriormente, reinfundidas no paciente, dentro do corpo, essas células identificam as células alvo e iniciam o processo de eliminação (WEI et al., 2017; GORCHAKOV et al., 2020).



Fonte: Produzida pelo autor.

A seguir, descrevemos em detalhes o esquema apresentado na Figura 4.

- (1) **Seleção de células:** por se tratar de uma terapia altamente personalizada e que requer várias etapas, a seleção da célula ideal torna-se crucial para se obter bons resultados. As células mais utilizadas são os linfócitos T, pois os mesmos são dotados de características essenciais como capacidade suficiente para eliminação de células tumorais, habilidade de locomoção para o ambiente tumoral, efeitos colaterais previsíveis e gerenciáveis, entre outros atributos (WEI et al., 2017). O sangue do paciente é coletado e submetido a um processo de filtração (leucaférese), que separa os linfócitos T do componente sanguíneo, posteriormente, essas células são purificadas e preparadas para receber o gene CAR (LEVINE et al., 2017; GORCHAKOV et al., 2020).
- (2) **Inserção do gene CAR e expressão dos receptores:** o método mais eficiente e amplamente utilizado pela engenharia genética para esse procedimento é a transdução de vetor viral, utilizando vetor gama-retroviral ou vetor lentiviral. Os genes a serem inseridos nos linfócitos T são incorporados ao material genético de vírus inativados e, então, essas células são

incubados com o vetor viral. Ao adentrarem as células, esses vetores introduzem seu material genético na forma de RNA, no caso da terapia CAR T, esse material genético codifica o gene CAR. Quando o RNA é transcrito, essas codificações são integradas ao genoma da célula e, à medida que ocorre a proliferação, a expressão codificada é mantida e o CAR é expresso na superfície da célula (LEVINE et al., 2017; WEI et al., 2017).

- (3) **Expansão em cultura:** as células geneticamente modificadas são cultivadas por várias semanas em condições favoráveis para sua proliferação até atingir o volume desejado e, então, o produto é congelado e enviado para o centro de tratamento (LEVINE et al., 2017; ELLIS, 2019).
- (4) **Infusão:** geralmente, os pacientes são submetidos a uma quimioterapia linfodepletora antes da infusão das células modificadas. Essa quimioterapia tem a função de potencializar a terapia através da redução da quantidade de células tumorais, a depleção de células T reguladoras e ativação das células imunes inatas, criando um espaço homeostático para a expansão e ativação das células T modificadas. A intensidade da quimioterapia é um fator relevante a ser considerado, podendo influenciar na expansão e persistência das células CAR T (ELLIS, 2019; GUEDAN; RUELLA; JUNE, 2019; GORCHAKOV et al., 2020).
- (5) **Ação:** dentro do corpo, essas células são capazes de reconhecer e eliminar inúmeras células tumorais através da liberação de compostos químicos. Os pacientes são monitorados e, na maioria dos casos, manifestam algum efeito adverso, porém, todos esses efeitos estão relacionados à ativação e proliferação das células CAR T (WEI et al., 2017; ELLIS, 2019).

Efeitos Colaterais da Terapia CAR T

Todas as terapias existentes no combate ao câncer acarretam algum efeito colateral para o paciente e a terapia CAR T não é uma exceção. Um dos principais efeitos tóxicos relatados é a síndrome da liberação de citocinas⁸ (CRS, do inglês *cytokine release syndrome*), uma resposta inflamatória sistêmica produzida por níveis elevados de citocinas e IL-6. Clinicamente, é manifestada no paciente como uma gripe comum não infecciosa, porém, pode evoluir, em alguns casos, para febre, hipóxia, hipotensão e alterações neurológicas (WEI et al., 2017; JUNE; SADELAIN, 2018). No entanto, apesar de ser um efeito que oferece riscos para o paciente, o início dessa “tempestade” de citocinas está relacionado com as características das células T que envolve, a farmacocinética, ativação e proliferação dessas células. Esse efeito tóxico foi comumente relatado em pacientes que apresentaram uma boa resposta clínica a terapia (MAUDE et al., 2014; GUEDAN; RUELLA; JUNE, 2019).

A carga tumoral influencia no nível da CRS, que pode ser de baixa ou alta intensidade, tornando necessário traçar um protocolo que leve em consideração esse aspecto. Para controlar a

⁸ Proteínas que são produzidas e secretadas por diferentes tipos de células e medeiam relações inflamatórias e imunes (ABBAS; LICHTMAN; PILLAI, 2015).

síndrome de liberação de citocinas induzidas pelas CAR T, foram desenvolvidos e aprovados pela FDA⁹ (*Food and Drug Administration*) medicamentos, como tocilizumabe, um anticorpo que atua no bloqueio do receptor IL-6 (MAUDE et al., 2014). Em alguns casos, acompanhando a síndrome da liberação de citocinas, tem-se a neurotoxicidade grave (SNT, do inglês *serious neurotoxicity*), que clinicamente é manifestada como sintomas do sistema nervoso, dores de cabeça, vômito, alterações visuais, convulsão, dentre outros. Ao passo que a CRS é contida ou reduzida, os efeitos da SNT são amenizados e, para casos graves, são administrados glicocorticoides. No entanto, os pacientes se recuperam e não apresentam déficits neurológicos a longo prazo (WEI et al., 2017).

Outra toxicidade relatada é em relação ao ataque auto-imune, quando as células CAR T atacam tecidos normais, e isso ocorre quando além das células tumorais, outras células do corpo expressam o antígeno alvo. Por exemplo, algumas neoplasias de células B expressam a CD19, uma glicoproteína presente em todos os estágios da diferenciação das células B normais e, embora esse efeito não seja fatal, é possível ser controlado através da escolha adequada do antígeno alvo. No geral, todos os sintomas que são desenvolvidos podem ser controlados e, na maioria dos casos, reversíveis, quando as células alvo são eliminadas ou a quantidade de células CAR T no corpo é reduzida (WEI et al., 2017; JUNE; SADELAIN, 2018).

⁹ <https://www.fda.gov/>

2 Modelos Matemáticos em Câncer

A modelagem matemática tem sido utilizada para descrever inúmeros fenômenos e o uso de modelos de equações diferenciais tem-se tornado frequente nas mais diversas áreas do conhecimento humano. Os modelos matemáticos são capazes de descrever um fenômeno de forma simplificada, podendo quantificar e prever comportamentos do sistema estudado (SAHOO et al., 2020).

Neste capítulo, apresentaremos modelos matemáticos que utilizam equações diferenciais para descrever a dinâmica das células tumorais que interagem com células do sistema imunológico, modelos envolvendo metástase e modelos de imunoterapia com células CAR T.

2.1 Modelos Matemáticos de Imunoterapia

Com a finalidade de entender a relação entre o sistema imunológico e a dinâmica tumoral, diversos modelos matemáticos vêm sendo desenvolvidos. Um dos artigos pioneiros nessa linha de estudo foi Kuznetsov et al. (1994), com o objetivo de descrever o crescimento e regressão de um linfoma B, construíram um modelo matemático composto por um conjunto de equações diferenciais ordinárias (EDOs) que inclui duas populações celulares, células tumorais e linfócitos T citotóxicos. O modelo é capaz de exibir alguns fenômenos que são observados *in vivo*, como a infiltração tumoral por linfócitos e a inativação de células efectoras.

Baseado no artigo de Kuznetsov et al. (1994), Kirschner e Panetta (1998) desenvolveram um modelo para descrever as interações entre células tumorais e células imunes efectoras, porém, com um diferencial, foi acrescentada ao modelo a população de citocina IL-2. Como tratamento, utilizou-se a imunoterapia celular adotiva e a administração de citocina IL-2. Os resultados obtidos com a administração de citocina, indicam que o papel fundamental é desempenhado pela antigenicidade do tumor, ou seja, para tumores com baixa antigenicidade o sistema imune não é capaz de eliminar o tumor. No entanto, com a terapia celular adotiva independente da antigenicidade é possível alcançar um estado livre de tumor.

Mantendo a mesma linha de seu artigo anterior, Kuznetsov e Knott (2001), propuseram um modelo que se ajusta a dados de linfoma B e que descreve os mecanismos de crescimento, supressão e regeneração do tumor. Como tratamento, foram considerados dois tipos de imu-

noterapia, uma adjuvante, que consistia no aumento do fluxo de células imunes ou na taxa de proliferação no local, e a outra foi baseada em injeções de linfócitos nas proximidades do tumor.

Cappuccio, Elishmereni e Agur (2006), analisaram os efeitos da IL-21 na erradicação do tumor. O modelo é composto por EDOs que englobam as populações de células tumorais, células T, células NK e proteínas citotóxicas. A IL-21 desempenha um papel importante na mediação da transição da imunidade inata para imunidade adaptativa, característica essa incluída no modelo. Com intuito de investigar os efeitos da IL-21 em diferentes níveis, foram desenvolvidas estratégias de tratamento, que sugerem regimes eficazes para erradicar ou reduzir a massa tumoral. Os autores concluem que um tratamento benéfico deverá maximizar a ativação da imunidade adaptativa estimulada pela IL-21, além de minimizar os efeitos negativos da imunidade inata.

Em Cappuccio, Castiglione e Piccoli (2007), criou-se um algoritmo com o objetivo de otimizar a administração de drogas terapêuticas, sendo capaz de encontrar protocolos ótimos, no que diz respeito ao controle do crescimento tumoral e a redução de possíveis efeitos colaterais derivados da terapia. Ao contrário da abordagem padrão utilizada, no algoritmo há administração de medicamentos por impulso, que consiste em injeções repetidas de um ou mais medicamentos. O algoritmo pode ser aplicado para qualquer sistema de EDOs que descreva a farmacocinética e a farmacodinâmica de agentes terapêuticos. No artigo, o algoritmo foi testado para o modelo de Kirschner e Panetta (1998), explorando três cenários imunoterapêuticos.

Pillis e Radunskaya (2001) desenvolveram um modelo que descreve a interação entre células tumorais, células normais, células imunes e agente quimioterápico. Com o objetivo de identificar protocolos de tratamento que resultassem em melhorias para os regimes de quimioterapia pulsada, utilizaram-se o controle ótimo com restrições e simulações numéricas. Os resultados foram comparados com o tratamento periódico pulsado tradicional. No entanto, os resultados obtidos pelo controle ótimo para quimioterapia pulsada produziram oscilações maiores na população tumoral ao longo do tempo.

Com o objetivo de compreender o papel das células imunes na vigilância e desenvolvimento das células tumorais, Pillis e Radunskaya (2003), Pillis, Radunskaya e Wiseman (2005), construíram um modelo matemático utilizando um conjunto de EDOs que descreve as interações entre células tumorais, células T e células NK. Ambos os modelos utilizaram parâmetros estimados através de dados experimentais, porém, o que difere um modelo do outro são os termos utilizados para retratar alguns aspectos da interação entre células tumorais e imunes. Através de dados experimentais, simulações numéricas e análise de sensibilidade, os autores destacam a importância das células T na promoção da regressão tumoral.

Em Pillis, Gu e Radunskaya (2006), Pillis et al. (2009), os autores desenvolveram e analisaram um modelo de crescimento tumoral que envolve diferentes tratamentos em conjunto. O primeiro foi uma extensão do modelo proposto em Pillis e Radunskaya (2003), com a introdução de novos termos de interação celular, tratamento imunológico, vacinas e quimioterápico. O modelo exibe a interação entre células tumorais, três tipos de células imunes e a concentração de dois

tipos de drogas na corrente sanguínea. O segundo artigo traz uma atualização para o modelo de [Pillis, Gu e Radunskaya \(2006\)](#), acrescentando à dinâmica a população de IL-2 e outros aspectos da interação tumor-imune. De acordo com as simulações, em ambos os trabalhos, a combinação da imunoterapia com quimioterapia é uma estratégia promissora.

Dentre os artigos que utilizam como imunoterapia injeções de células dendríticas para aumentar a resposta imunológica, pode-se destacar [Pillis, Gallegos e Radunskaya \(2013\)](#). Nesse artigo, utilizou-se um conjunto de EDOs e EDRs para descrever a dinâmica entre células dendríticas, células efectoras e células tumorais, sendo o modelo constituído por nove equações diferenciais. No modelo, considerou-se o agrupamento de células imunes entre os compartimentos linfático, sanguíneo e tumoral. Foram realizadas simulações com o objetivo de comparar diferentes dosagens e tempo entre as aplicações de células dendríticas.

Na mesma linha, porém com abordagens diferentes, temos [Qomlari et al. \(2017\)](#), em que foi desenvolvido um modelo composto de equações diferenciais com retardo (EDRs) para descrever as interações entre o tumor e diversas células do sistema imunológico adaptativo. O modelo é composto por células tumorais, células T citotóxicas (maduras e virgens), células T auxiliares (maduras e virgens), células T reguladoras, células dendríticas, NK e citocina IL-2. Características como o ciclo de divisão celular das células imunes foram consideradas no modelo, além da otimização de protocolos de imunoterapia utilizando vacinas de células dendríticas. Com as simulações, os autores concluíram que, aplicando a imunoterapia em intervalos mais curtos foram obtidos melhores resultados no controle do crescimento tumoral, e como trabalho futuro, indicam a possibilidade de se considerar o tratamento quimioterápico junto ao imunoterápico.

2.2 Modelos Matemáticos de Metástase

Diversos modelos matemáticos têm sido desenvolvidos para investigar o fenômeno da metástase, dentre eles, temos o uso de EDOs e equações diferenciais parciais (EDPs), que são capazes de descrever diferentes aspectos do processo metastático, desde o início da invasão até o seu comportamento mediante outras células do sistema imune. Portanto, abordaremos alguns dos modelos mais relevantes para o entendimento da metástase.

Na década de 70, foram introduzidos os primeiros modelos matemáticos para metástase. Utilizando um conjunto de EDOs, [Saidel, Liotta e Kleinerman \(1976\)](#) propuseram um modelo determinístico, em que várias etapas da cascata metastática foram levadas em consideração. O modelo engloba células tumorais, superfícies vasculares, células tumorais invasoras na superfície dos vasos, células tumorais presas em vasos pulmonares e focos metastáticos.

[Liotta et al. \(1977\)](#) desenvolveram modelos estocásticos com intuito de prever a probabilidade de não ter metástase em função do tempo. Uma expressão matemática é obtida para a probabilidade de que nenhuma metástase tenha sido estabelecida por um intervalo de tempo característico após o início do tumor. Os parâmetros relacionados a expressão tem seus valores

estimados através de dados experimentais. A probabilidade permanece próxima de um durante um tempo, mas ao passo em que, esse valor vai para zero, indica que existe um período de tempo no qual as micrometástases têm praticamente a certeza de terem sido formadas.

Utilizando um sistema de EDPs, [Iwata, Kawasaki e Shigesada \(2000\)](#) introduziram um modelo capaz de descrever tamanhos de colônias de metástases. No modelo foram incorporados a colonização por metástase e o crescimento de cada colônia. O tamanho preciso das colônias podem ser medidas com técnicas de imagens, no entanto, mesmo as técnicas mais avançadas não conseguem detectar pequenas colônias. Porém, o modelo ele é capaz de estimar o número de colônias abaixo do limite de detecção, e prever o comportamento de futuras metástases.

Em [Pinho, Freedman e Nani \(2002\)](#), temos um conjunto de seis equações diferenciais (EDOs e EDR) que modelam a dinâmica das células normais, tumorais e a quimioterapia em dois locais distintos, sendo que as duas populações de células sofrem o efeito do quimioterápico. A metástase é retratada como um fenômeno de migração, onde duas populações de células cancerosas coexistem e se desenvolvem em dois locais diferentes. O termo migratório que indica a translocação física das células tumorais, do sítio primário para o secundário, apresenta um retardo.

Empregando um conjunto de EDPs, [Eikenberry, Thalhauser e Kuang \(2009\)](#) apresentam um modelo que descreve a evolução espacial e temporal de diferentes populações celulares. O modelo foi capaz de abordar os processos básicos da invasão de melanoma, a disseminação metastática e a resposta imunológica antitumoral. Com intuito de observar a dinâmica da invasão tumoral sob diferentes níveis da resposta imune, foram realizadas simulações. Diante disso, concluíram que ao dirigir uma resposta imune contra o tumor primário, as metástases locais podem ser suprimidas, porém, quando realizada uma ressecção do tumor primário, essas metástases apresentam uma alta taxa de crescimento.

No modelo proposto por [Diego, Calvo e Pérez-García \(2012\)](#), utilizou-se um conjunto de quatro EDOs para representar duas populações celulares (tumorais e normais) em locais distintos (sítio primário e secundário), porém, no termo de efeito migratório não foi considerado o retardo. Diversos desfechos clínicos do modelo em relação aos parâmetros foram apresentados e o efeito da ressecção no tumor primário foi estudado. Nota-se que, o efeito migratório de células tumorais ocorrem constantemente ao longo do tempo e é unidirecional.

Outro trabalho que considerou os efeitos do sistema imunológico na dinâmica tumoral foi [Ghaffari, Bahmaie e Nazari \(2016\)](#), o modelo é constituído por um conjunto de treze EDOs, que representam as interações entre as populações de células tumorais, células imunes (NK, CD8+), radioterapia e agentes quimioterápicos em dois locais diferentes. O quimioterápico afeta ambas as populações celulares e as interações entre o sistema imune e as células tumorais também foram analisadas. O termo que representa o deslocamento das células tumorais do sítio primário para o secundário possui retardo.

[Rhodes e Hillen \(2019\)](#) utilizaram um conjunto de EDOs para abordar a dinâmica tumoral imuno-mediada em dois locais distintos, considerando as populações de células tumorais, dois tipos de células imunes e células necróticas. No modelo, foram incluídos os efeitos anti-tumorais e pró-tumorais das células imunes, além do fenômeno de plasticidade fenotípica que é induzida nas células imunes pelas células tumorais. Foi considerada como imunoterapia qualquer intervenção que resultasse no aumento de influxo das células imunes. Outras observações foram realizadas em relação a dinâmica tumoral perante ressecções do tumor primário.

2.3 Modelos Matemáticos de Imunoterapia com Células CAR T

A utilização da modelagem matemática para compreender a dinâmica tumoral e os fatores que interferem na eliminação das células tumorais são importantes para se obter resultados significativos ([SAHOO et al., 2020](#)). Na literatura, foi possível encontrar alguns modelos matemáticos para terapia com células CAR T, em sua maioria, além de apresentarem uma dinâmica tumoral entre células do sistema imune e cancerosas, trabalham com a otimização da dose de células CAR T injetada no paciente.

Devido aos resultados promissores com neoplasias de células B, alguns pesquisadores desenvolveram modelos para tumores sólidos. Com o objetivo de auxiliar na previsão e eficácia da terapia com células CAR T para câncer de mama e na escolha da dose mínima eficaz, [Levine et al. \(2017\)](#) desenvolveram um modelo matemático composto por duas EDOs, que retrata a dinâmica entre as células tumorais e células CAR T. Com o modelo, foi possível concluir que, utilizando apenas um décimo da dose completa de células CAR T usadas em ensaios pré-clínicos, seria possível alcançar resultados semelhantes ao tratamento da dose completa.

Em [Mostolizadeh, Afsharnezhad e Marciniak-Czochra \(2018\)](#), utilizaram um sistema de EDOs para modelar o tratamento com células CAR T para leucemia linfoblástica aguda (LLA). O modelo inicial descreve a interação entre quatro populações de células, linfócitos B (saudáveis e cancerosos), células CAR T e outros linfócitos. Diante da manifestação da síndrome da liberação de citocinas, que é desencadeada na maioria dos pacientes, foi adicionado ao modelo um novo compartimento correspondente a citocina. Com o objetivo de minimizar os efeitos da terapia otimizando a dose de células CAR T, foi aplicado o princípio máximo de Pontryagin para controle ótimo.

[Schacht et al. \(2019\)](#) construíram um modelo com intuito de quantificar a concentração de células CAR T em três locais distintos: sangue, tumor e baço. Utilizando um sistema de EDOs foi possível prever a quantidade de células em cada local após um determinado tempo.

Para modelar a dinâmica tumoral, [Kimmel, Locke e Altrock \(2020\)](#), utilizaram um conjunto de EDOs. O modelo retrata o fenômeno da memória imunológica desenvolvida pelas

células CAR T, a qual é inserida como uma das populações, sendo o modelo constituído por células tumorais, células T normais e células CAR T (efetoras e de memória). Os autores apontam como uma propriedade intrínseca que a erradicação do tumor se trata de um evento estocástico. No entanto, intervenções que aumentam a população de células CAR T de memória, podem melhorar a probabilidade de erradicação do tumor.

Com o intuito de compreender os mecanismos de exaustão, proliferação e persistência das células CAR T em um sistema *in vitro* simples e controlado, [Sahoo et al. \(2020\)](#) desenvolveram um modelo que aborda a dinâmica entre células CAR T e tumorais como um sistema predador-presa. O estudo apontou que a taxa de morte das células tumorais por células CAR T está inversamente relacionada a dose de células CAR T, portanto, o aumento da dose não resulta em uma taxa de morte maior das células tumorais.

[Pérez-García et al. \(2021\)](#) e [León-Triana et al. \(2021b\)](#) também propuseram modelos utilizando EDOs para modelar o tratamento com células CAR T para leucemias. O primeiro modelo é constituído pela população de células CAR T, células T e células tumorais. O segundo é composto por células B (tumorais e saudáveis), células CAR T, células estaminais hematopoiéticas CD19 e progenitores de células B CD19+. Ambos os modelos foram capazes de prever que a expansão das células CAR T no paciente está associada a carga tumoral inicial e que a terapia poderia controlar a doença, mas não erradicar.

Em [León-Triana et al. \(2021a\)](#), utilizando EDOs para modelar o tratamento de células CAR T em tumores sólidos, os autores propuseram dois modelos matemáticos. Em ambos os modelos foi considerado a capacidade imunossupressora das células tumorais. O primeiro modelo do artigo, descreve a competição entre a população de células tumorais e a população de células CAR T. O segundo modelo utilizado retrata a dinâmica das células CAR T sendo ativadas por dois tipos de antígenos alvo, o CD19 que é encontrado nas células normais, e um antígeno associado ao tumor. O modelo é composto por quatro populações, a população de células CAR T longe do local do tumor, células CAR T no local do tumor, células normais e células tumorais. As simulações mostram que o uso de um grande número de células CAR T direcionadas ao antígeno do tumor pode superar o potencial imunossupressor.

No âmbito da modelagem matemática, equações diferenciais com retardo (EDRs) são utilizadas em várias áreas relacionadas à medicina, engenharia, indústria, genética e economia. Diversos fenômenos não ocorrem instantaneamente, em seus processos se encontram alguns atrasos ou defasagens no tempo, os quais podem estar relacionados a processos ocultos, como as etapas do ciclo celular, o tempo entre a infecção de uma célula e a produção de novos vírus, o período entre uma resposta imunológica do hospedeiro ou até mesmo o tempo em que uma célula cancerosa leva para se deslocar de um sítio primário para o secundário ([KUANG, 1993](#); [MICHIELS; NICULESCU, 2007](#)).

Quando se trata desses atrasos, as EDOs e EDPs não conseguem expressar o fenômeno com toda sua veracidade, uma vez que as soluções desse tipo de equação no instante t dependem

apenas do estado do fenômeno nesse instante. Para tais fenômenos, o uso das EDRs se torna viável, já que a evolução de alguns fenômenos em um determinado instante não depende apenas da análise do processo nesse instante, mas do histórico do processo em momentos anteriores (KUANG, 1993; SMITH, 2011).

Nos capítulos seguintes, utilizando um conjunto de equações diferenciais, propomos dois modelos matemáticos de metástase com abordagens imunoterápicas distintas. No primeiro modelo, a imunoterapia é realizada através do reforço no sistema imune, aumentando a taxa de influxo das células imunes. No segundo modelo utiliza-se a terapia celular adotiva com células CAR T no combate ao câncer. Ambos os modelos são compostos por EDOs e EDRs.

3 Modelo Matemático de Imunoterapia e Metástase

Neste capítulo, utilizando equações diferenciais ordinárias e equações diferenciais com retardo, propomos um modelo matemático de metástase com imunoterapia. A metástase foi modelada como um fenômeno migratório, em que duas populações de células tumorais coexistem e se desenvolvem em dois locais diferentes. A imunoterapia é realizada através do aumento das taxas de influxo e interação entre as células imunes e tumorais. Com a finalidade de observar a dinâmica tumoral mediante a imunoterapia, no decorrer do capítulo, apresentaremos o estudo da estabilidade do modelo e os resultados obtidos.

3.1 Modelo

Em [Pinho, Freedman e Nani \(2002\)](#), temos um conjunto de seis equações diferenciais (EDOs e EDR) que modelam a dinâmica das células normais, tumorais e a quimioterapia em dois locais distintos, sendo que as duas populações de células sofrem o efeito do quimioterápico. A metástase é retratada como um fenômeno de migração, onde duas populações de células cancerosas coexistem e se desenvolvem em dois locais diferentes. O termo migratório que indica a translocação física das células tumorais, do sítio primário para o secundário, apresenta retardo.

Utilizando um conjunto EDOs, [Rodrigues et al. \(2019\)](#), desenvolveram um modelo que descreve a dinâmica entre linfócitos B (neoplásicos), Linfócitos T (saudáveis) sob o regime de quimioterapia e imunoterapia. A modelagem segue a proposta de [Pillis e Radunskaya \(2001\)](#), com a adição de um termo que simula um transplante de células adotivas. A quimioterapia afeta negativamente ambas as populações de linfócitos. Seus resultados apontam que protocolos que combinam quimioterapia e imunoterapia podem ser eficazes no tratamento de leucemia linfocítica crônica, desde que a imunoterapia não seja limitada pelos efeitos da quimioterapia.

Um dos modelos proposto neste trabalho é baseado em [Rodrigues et al. \(2019\)](#), para a modelagem das células imunes, e em [Pinho, Freedman e Nani \(2002\)](#), para a modelagem das células tumorais. Dessa forma, o modelo (3.1) é composto por três EDOs e uma EDR. Sejam N_i e I_i , com $i = 1, 2$, células tumorais e imunes, respectivamente, no sítio primário ($i = 1$) e

secundário ($i = 2$). O modelo (3.1) é dado por:

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} = r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1}{k_1}\right) - c_1 I_1 N_1 - \delta N_1 \\ \frac{dI_1}{dt} = \alpha_1 + \frac{\rho_1 N_1 I_1}{\gamma_1 + N_1} - g_1 N_1 I_1 - d_1 I_1 \\ \frac{dN_2}{dt} = r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - c_2 I_2 N_2 + \epsilon \delta N_1 (t - \tau) \\ \frac{dI_2}{dt} = \alpha_2 + \frac{\rho_2 N_2 I_2}{\gamma_2 + N_2} - g_2 N_2 I_2 - d_2 I_2 \end{cases} . \quad (3.1)$$

As condições iniciais para o sítio primário são $N_1(0) > 0$ e $I_1(0) \geq 0$, isso implica que o câncer já está estabelecido. Inicialmente, no sítio secundário, não temos células tumorais e imunes, ou seja, $N_2(0) = 0$ e $I_2(0) = 0$. Os parâmetros do modelo (3.1), estão descritos na Tabela 1, em que todos são positivos e não nulos.

Para descrever o crescimento das células tumorais, adotamos o termo logístico, em que r_i , com $i = 1, 2$, representa a taxa intrínseca de crescimento e k_i , com $i = 1, 2$, a capacidade de suporte em ambos os sítios. As células que migraram do sítio primário para o secundário podem ou não encontrar um ambiente favorável, resultando em uma taxa de crescimento diferente em relação ao sítio primário (WEINBERG, 2008). Em Pinho, Freedman e Nani (2002) e Ghaffari, Bahmaie e Nazari (2016), os autores adotaram valores distintos para as taxas de crescimento no sítio primário e secundário ($r_1 < r_2$), já Rhodes e Hillen (2019) utilizam os mesmos valores para ambos os sítios ($r_1 = r_2$), mas afirmam que os mesmos deveriam ser distintos.

A interação entre as células tumorais e as células do sistema imunológico tem impacto negativo para ambas populações. O coeficiente de interação c_i , com $i = 1, 2$, retrata a morte das células tumorais pelo sistema imune, e o parâmetro g_i , com $i = 1, 2$, está relacionado a inativação das células imunes pelas células tumorais. Para o modelo, consideramos que a taxa de mortalidade das células tumorais pelas imunes é maior que a inativação das células imunes, ou seja $c_i > g_i$ (KUZNETSOV et al., 1994; PILLIS et al., 2007; GHAFARI; BAHMAIE; NAZARI, 2016; RODRIGUES et al., 2019). Inicialmente, a quantidade de células tumorais no sítio primário é superior ao sítio secundário, o que poderia resultar em um maior número de células imunes recrutadas para o local. Esse recrutamento pode ocasionar uma variação na taxa de morte das células tumorais e na inativação das células imunes no sítio primário (GHAFARI; BAHMAIE; NAZARI, 2016).

A translocação física das células tumorais do sítio primário para o secundário é modelada pelo parâmetro δ . Portanto, uma porcentagem δ de células tumorais do sítio primário é liberada na corrente sanguínea, porém, apenas uma porcentagem ϵ chega ao sítio secundário com um retardo τ no processo. Milhares de células tumorais são liberadas na corrente sanguínea, mas a probabilidade dessas células conseguirem completar os passos da cascata metastática com

eficiência e chegarem ao sítio secundário é baixa (RHODES; HILLEN, 2019; GANESH; MAS-SAGUÉ, 2021). Em Pinho, Freedman e Nani (2002), os autores utilizam ϵ como 0,1% do valor de δ ; Rhodes e Hillen (2019) afirmam que apenas 0,01% das células que saem do sítio primário conseguem chegar ao sítio secundário e originar uma colônia; Ghaffari, Bahmaie e Nazari (2016), utilizam ϵ como 10% das células que são liberadas na corrente sanguínea (δ).

As células imunes são fornecidas a uma taxa constante α_i , com $i = 1, 2$, e morrem naturalmente a uma taxa d_i , com $i = 1, 2$. A presença de células tumorais estimula a produção de novas células do sistema imunológico; no modelo, esse estímulo é descrito por uma função do tipo Michaelis-Menten. O parâmetro ρ_i , com $i = 1, 2$, representa a taxa de recrutamento das células imunes pelas células tumorais e γ_i , com $i = 1, 2$, a saturação do estímulo causado no sistema imune pela presença do tumor.

Os parâmetros tiveram seus valores baseados em um conjunto de artigos (KUZNETSOV et al., 1994; PINHO; FREEDMAN; NANI, 2002; PILLIS; GU; RADUNSKAYA, 2006; PILLIS et al., 2007; PILLIS; RADUNSKAYA, 2014; GHAFFARI; BAHMAIE; NAZARI, 2016; RHODES; HILLEN, 2019; RODRIGUES et al., 2019). Com a finalidade de encontrar um conjunto de parâmetros biologicamente relevantes, que adequassem ao modelo proposto, foram realizadas vários testes variando o valor de cada parâmetro em um dado intervalo.

Tabela 1 – Descrição e valores dos parâmetros usados no sistema de equações (3.1).

Parâmetros	Descrição	Valores e Unidades	Referências
$r_{1,2}$	Taxa de crescimento da população N_i	0,15 dia ⁻¹	
$k_{1,2}$	Capacidade de suporte da população N_i	10 ¹² células	Weinberg (2008)
$c_{1,2}$	Coefficiente de interação entre as populações I_i e N_i	10 ⁻⁸ células ⁻¹ dia ⁻¹	-
δ	Taxa com que a população N_1 deixa o sítio primário	0,001 dia ⁻¹	Pinho, Freedman e Nani (2002); Ghaffari, Bahmaie e Nazari (2016)
ϵ	Porcentagem da população N_1 que chega ao sítio secundário	0,00001	Pinho, Freedman e Nani (2002); Ghaffari, Bahmaie e Nazari (2016)
$\alpha_{1,2}$	Taxa de influxo natural das células imunes	$3,5 \times 10^5$ células dia ⁻¹	Rodrigues et al. (2019)
$\rho_{1,2}$	Taxa de recrutamento das células imunes pelas tumorais	$2,5 \times 10^{-2}$ dia ⁻¹	Kuznetsov et al. (1994); Pillis e Radunskaya (2014)
$\gamma_{1,2}$	Taxa de saturação no recrutamento das células imunes	$2,02 \times 10^7$ células	Kuznetsov et al. (1994); Pillis e Radunskaya (2014)
$g_{1,2}$	Coefficiente de interação entre as populações N_i e I_i	5×10^{-10} células ⁻¹ dia ⁻¹	Kuznetsov et al. (1994)
$d_{1,2}$	Taxa de mortalidade natural das células imunes	$4,12 \times 10^{-2}$ dia ⁻¹	Kuznetsov et al. (1994)
τ	Parâmetro de retardo	1,0	Pinho, Freedman e Nani (2002)

3.1.1 Análise da Estabilidade do Modelo

Nesta seção, será analisado aspectos relevantes sobre a dinâmica do modelo (3.1) e a sua estabilidade. Definindo que as variáveis de estado são não negativas ao longo do tempo, analisa-se a existência dos pontos de equilíbrio. Para a obtenção desses pontos, deve-se resolver o sistema homogêneo associado ao sistema (3.1), ou seja,

$$\begin{cases} r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1}{k_1}\right) - c_1 I_1 N_1 - \delta N_1 & = 0 \\ \alpha_1 + \frac{\rho_1 N_1 I_1}{\gamma_1 + N_1} - g_1 N_1 I_1 - d_1 I_1 & = 0 \\ r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - c_2 I_2 N_2 + \epsilon \delta N_1(t - \tau) & = 0 \\ \alpha_2 + \frac{\rho_2 N_2 I_2}{\gamma_2 + N_2} - g_2 N_2 I_2 - d_2 I_2 & = 0 \end{cases}. \quad (3.2)$$

Da primeira equação de (3.2), segue que:

$$N_1 = 0, \quad (3.3)$$

ou

$$N_1^+ = \frac{k_1}{r_1}(r_1 - c_1 I_1 - \delta). \quad (3.4)$$

Considerando a igualdade em (3.3), tem-se o seguinte sistema:

$$\begin{cases} \alpha_1 - d_1 I_1 & = 0 \\ r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - c_2 N_2 I_2 & = 0 \\ \alpha_2 + \frac{\rho_2 N_2 I_2}{\gamma_2 + N_2} - d_2 I_2 & = 0 \end{cases}. \quad (3.5)$$

Da primeira e segunda equação do sistema (3.5), obtemos:

$$I_1 = \frac{\alpha_1}{d_1}, \quad (3.6)$$

$$N_2 = 0 \quad (3.7)$$

ou

$$N_2^+ = \frac{k_2}{r_2}(r_2 - c_2 I_2). \quad (3.8)$$

Se (3.7), na terceira equação de (3.5), obtemos:

$$I_2 = \frac{\alpha_2}{d_2}. \quad (3.9)$$

Dessa forma, temos o ponto de equilíbrio livre da doença, dado por:

$$S_1^* = \left(0, \frac{\alpha_1}{d_1}, 0, \frac{\alpha_2}{d_2}\right). \quad (3.10)$$

Considerando (3.8), na terceira equação de (3.5), obtemos:

$$I_2 = \frac{\alpha_2}{\frac{-\rho_2 N_2^+}{\gamma_2 + N_2^+} + g_2 N_2^+ + d_2}. \quad (3.11)$$

Assim, temos o seguinte ponto de equilíbrio:

$$S_2^* = \left(0, \frac{\alpha_1}{d_1}, \frac{k_2}{r_2}(r_2 - c_2 I_2), \frac{\alpha_2}{\frac{-\rho_2 N_2^+}{\gamma_2 + N_2^+} + g_2 N_2^+ + d_2} \right). \quad (3.12)$$

Agora, considerando a igualdade em (3.4), temos:

$$I_1 = \frac{\alpha_1}{\frac{-\rho_1 N_1^+}{\gamma_1 + N_1^+} + g_1 N_1^+ + d_1}, \quad (3.13)$$

$$N_2 = \frac{\epsilon \delta N_1^+}{c_2 I_2 - r_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2} \right)}, \quad (3.14)$$

$$I_2 = \frac{\alpha_2}{\frac{-\rho_2 N_2}{\gamma_2 + N_2} + g_2 N_2 + d_2}. \quad (3.15)$$

Dessa forma, temos o seguinte ponto de equilíbrio:

$$S_3^* = \left(\frac{k_1}{r_1}(r_1 - c_1 I_1 - \delta), \frac{\alpha_1}{B_1^+ + g_1 N_1^+ + d_1}, \frac{\epsilon \delta N_1^+}{c_2 I_2 - r_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2} \right)}, \frac{\alpha_2}{B_2^+ + g_2 N_2 + d_2} \right). \quad (3.16)$$

em que,

$$B_1^+ = \frac{-\rho_1 N_1^+}{\gamma_1 + N_1^+}, \quad (3.17)$$

$$B_2^+ = \frac{-\rho_2 N_2}{\gamma_2 + N_2}.$$

Para analisar a estabilidade dos pontos de equilíbrio é construída a matriz Jacobiana associada ao sistema (3.1). Seja $A(S_i^*)$ a matriz jacobiana do sistema (3.1) avaliada em cada ponto de equilíbrio S_i^* , dada por:

$$A(S_i^*) = \begin{pmatrix} r_1 - \frac{2r_1 N_1}{k_1} - c_1 I_1 - \delta & -c_1 N_1 & 0 & 0 \\ \rho_1 I_1 B_1 - q_1 I_1 & B_2 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & r_2 - \frac{2r_2 N_2}{k_2} - c_2 I_2 & -c_2 N_2 \\ 0 & 0 & \rho_2 I_2 B_3 - q_2 I_2 & B_4 - g_2 N_2 - d_2 \end{pmatrix}. \quad (3.18)$$

em que,

$$\begin{aligned}
 B_1 &= \frac{(\gamma_1 + N_1) - N_1(\gamma_1 + 1)}{(\gamma_1 + N_1)^2}, \\
 B_2 &= \frac{\rho_1 N_1}{\gamma_1} - g_1 N_1 - d_1, \\
 B_3 &= \frac{(\gamma_2 + N_2) - N_2(\gamma_2 + 1)}{(\gamma_2 + N_2)^2}, \\
 B_4 &= \frac{\rho_2 N_2}{\gamma_2}.
 \end{aligned} \tag{3.19}$$

Dessa forma, a equação característica associada é dado por (SMITH, 2011):

$$\det[\lambda I - A(S_1^*) - e^{-\tau\lambda} B] = 0. \tag{3.20}$$

Para o ponto de equilíbrio S_1^* , temos:

$$A(S_1^*) = \begin{pmatrix} r_1 - \frac{c_1 \alpha_1}{d_1} - \delta & 0 & 0 & 0 \\ \frac{\rho_1 \alpha_1}{d_1 \gamma_1} - \frac{q_1 \alpha_1}{d_1} & -d_1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & r_2 - \frac{c_2 \alpha_2}{d_2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\rho_2 \alpha_2}{d_2 \gamma_2} - \frac{q_2 \alpha_2}{d_2} & -d_2 \end{pmatrix}. \tag{3.21}$$

$$B = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ \epsilon \delta & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \tag{3.22}$$

Logo,

$$\det[\lambda I - A(S_1^*) - e^{-\tau\lambda} B] = \det \begin{vmatrix} \lambda - r_1 + \frac{c_1 \alpha_1}{d_1} + \delta & 0 & 0 & 0 \\ \frac{\rho_1 \alpha_1}{d_1 \gamma_1} - \frac{q_1 \alpha_1}{d_1} & \lambda + d_1 & 0 & 0 \\ -\epsilon \delta e^{-\tau\lambda} & 0 & \lambda - r_2 + \frac{c_2 \alpha_2}{d_2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{\rho_2 \alpha_2}{d_2 \gamma_2} - \frac{q_2 \alpha_2}{d_2} & \lambda + d_2 \end{vmatrix} = 0. \tag{3.23}$$

Resolvendo (3.23), obtemos os seguintes autovalores:

$$\begin{cases} \lambda_1 = -d_1 \\ \lambda_2 = r_1 - \frac{c_1 \alpha_1}{d_1} - \delta \\ \lambda_3 = -d_2 \\ \lambda_4 = r_2 - \frac{c_2 \alpha_2}{d_2} \end{cases}. \tag{3.24}$$

Analisando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_1^* , temos que $\lambda_1 < 0$ e $\lambda_3 < 0$. Se (3.25) e (3.26) ocorrer, $\lambda_2 < 0$ e $\lambda_4 < 0$. Portanto, o ponto S_1^* é classificado como localmente assintoticamente estável.

$$r_1 < \frac{c_1 \alpha_1}{d_1} + \delta, \quad (3.25)$$

$$r_2 < \frac{c_2 \alpha_2}{d_2}. \quad (3.26)$$

Para os valores adotados na Tabela (1), temos os seguintes autovalores associados ao ponto S_1^* :

$$\begin{cases} \lambda_1 = -0,041 \\ \lambda_2 = 0,064 \\ \lambda_3 = -0,041 \\ \lambda_4 = 0,065 \end{cases} \quad (3.27)$$

Dado que, $\lambda_2 > 0$ e $\lambda_4 > 0$, para os valores adotados, o ponto S_1^* é classificado como instável. Para os pontos S_2^* e S_3^* a estabilidade foi verificada numericamente. Dessa forma, para os valores considerados na Tabela 1, obtemos os seguintes autovalores associados ao ponto S_2^* :

$$\begin{cases} \lambda_1 = -0,041 \\ \lambda_2 = 0,064 \\ \lambda_3 = -0,149 \\ \lambda_4 = -499,51 \end{cases} \quad (3.28)$$

Analisando (3.28), temos que $\lambda_2 > 0$, $\lambda_1 < 0$, $\lambda_3 < 0$ e $\lambda_4 < 0$, para o conjunto de valores (Tabela 1), o ponto S_2^* é classificado como instável. Entretanto, através da variação dos valores de c_i , d_i e α_i , com $i = 1, 2$, os pontos S_1^* e S_2^* podem sofrer mudanças na sua estabilidade. Em relação ao ponto de equilíbrio S_3^* , obtemos os seguintes autovalores:

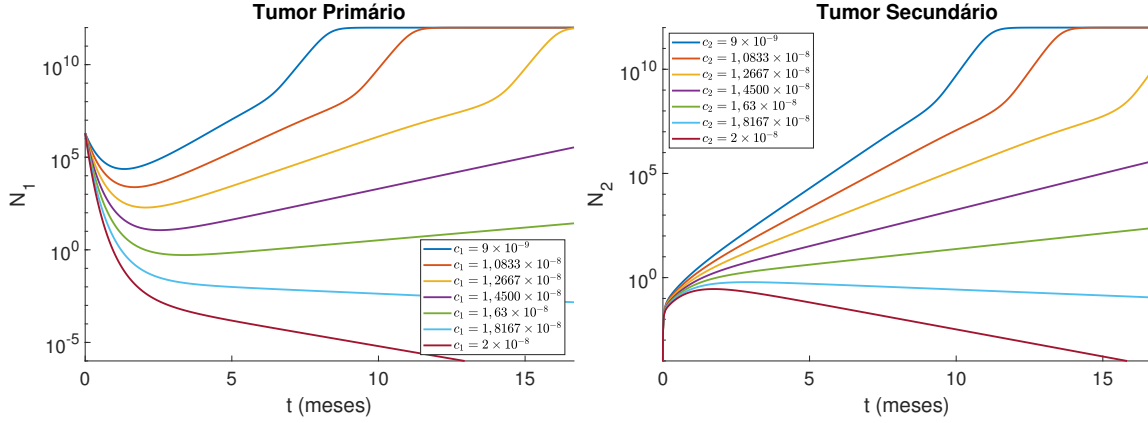
$$\begin{cases} \lambda_1 = -0,148 \\ \lambda_2 = -499,695 \\ \lambda_3 = -0,149 \\ \lambda_4 = -499,992 \end{cases} \quad (3.29)$$

Através da análise de (3.29), temos que todos os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_3^* são negativos, logo o ponto é localmente assintoticamente estável para o conjunto de valores adotados.

Para elucidar a influência que determinados parâmetros possuem sobre a dinâmica entre a população de células tumorais e imunes, algumas simulações foram realizadas para diferentes valores de r_i , c_i , α_i e d_i , com $i = 1, 2$, em um dado intervalo, no entanto, não é realizada uma análise de sensibilidade dos parâmetros. Utilizando os valores listados na Tabela 1 e variando apenas o parâmetro c_i em um dado intervalo, visamos investigar a dinâmica tumoral sob diferentes taxas de interação (Figura 5). Observa-se que ao utilizar $c_i = 2 \times 10^{-8}$, a população de células

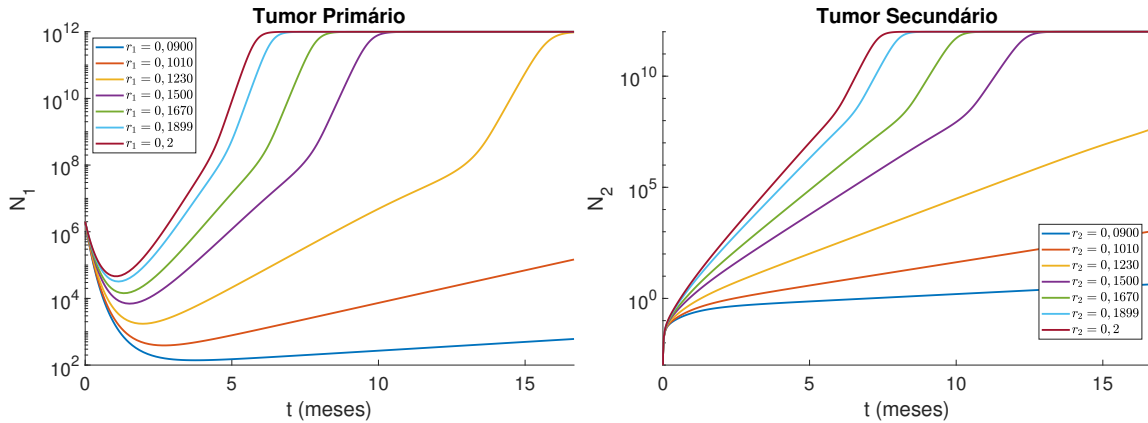
tumorais são erradicadas em ambos os sítios. Na medida em que essa taxa é reduzida, a população de células tumorais volta a crescer, atingindo a capacidade de suporte.

Figura 5 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro c_1 e c_2 no intervalo $[9 \times 10^{-9}; 2 \times 10^{-8}]$.

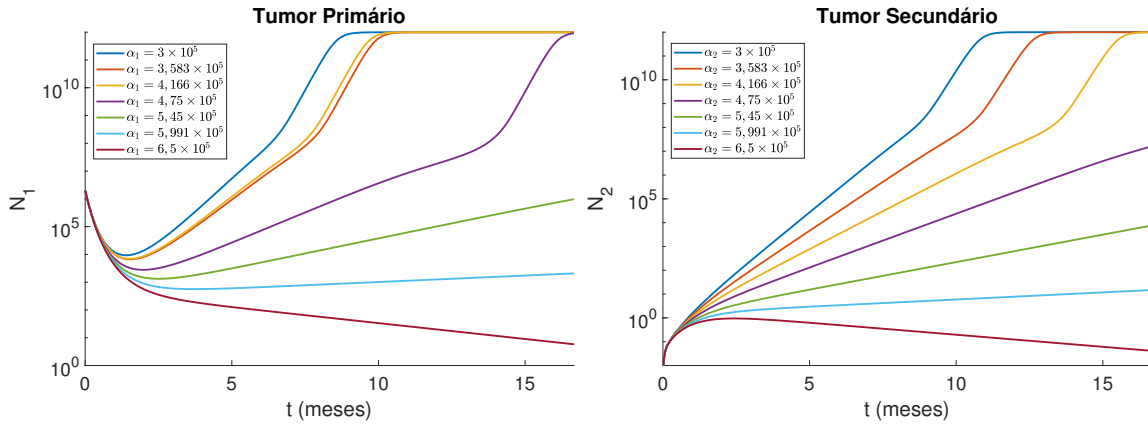


Utilizando os valores listados na Tabela 1 e variando apenas o parâmetro r_i no intervalo $[0,09; 0,2]$, podemos observar na Figura 6 a dinâmica tumoral sob diferentes taxas de crescimento. Nota-se que ao utilizar $r_i = 0,09$, a população de células tumorais exibe um crescimento lento, porém, com $r_i = 0,2$, a população de células tumorais apresenta um rápido crescimento e, em, aproximadamente 5 meses, alcançam a capacidade de suporte.

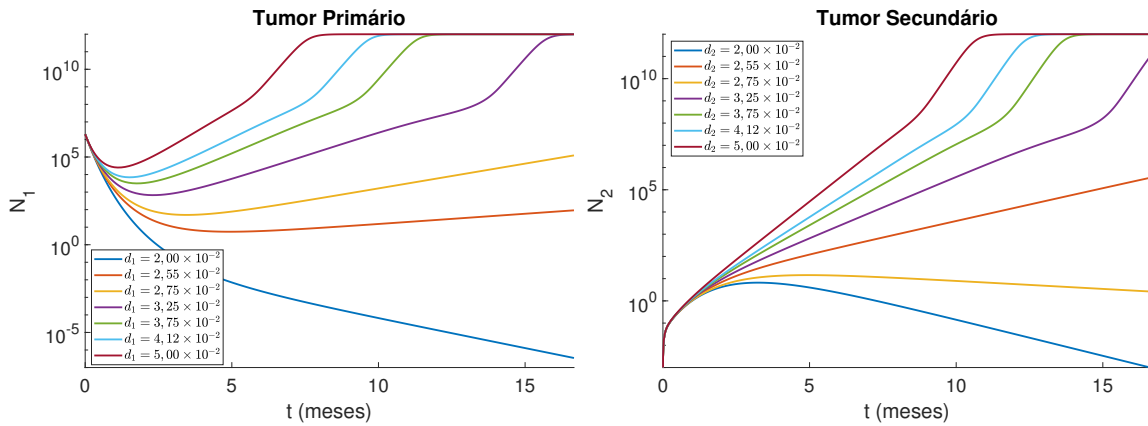
Figura 6 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro r_1 e r_2 no intervalo $[0,09; 0,2]$.



Na Figura 7, temos a dinâmica tumoral sob diferentes valores de α_i ; nota-se que, ao utilizar $\alpha_i = 6,5 \times 10^5$, a população de células tumorais decresce ao longo dos 15 meses. Para os valores de $4,75 \times 10^5 \leq \alpha_i \leq 5,99 \times 10^5$ a população apresentam um crescimento mais lento em relação a $\alpha_i < 4,75 \times 10^5$. Portanto, na medida em que a taxa de influxo é reduzida, a população de células tumorais voltam a crescer e atinge a capacidade de suporte

Figura 7 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro α_1 e α_2 no intervalo $[3 \times 10^5; 6,5 \times 10^5]$.

Na Figura 8, podemos observar a dinâmica das células tumorais sob diferentes valores de d_i no intervalo $[2 \times 10^{-2}; 5 \times 10^{-2}]$. Ao passo que a taxa de mortalidade das células imunes aumenta, a população de células tumorais conseguem evadir-se do sistema imune, se desenvolvendo e atingindo posteriormente a capacidade de suporte. Para valores de $d_i < 3,75 \times 10^{-2}$, nota-se que a população de células tumorais levam mais tempo para se desenvolver.

Figura 8 – Dinâmica tumoral com variação do parâmetro d_1 e d_2 no intervalo $[2 \times 10^{-2}; 5 \times 10^{-2}]$.

3.2 Resultados e Discussões

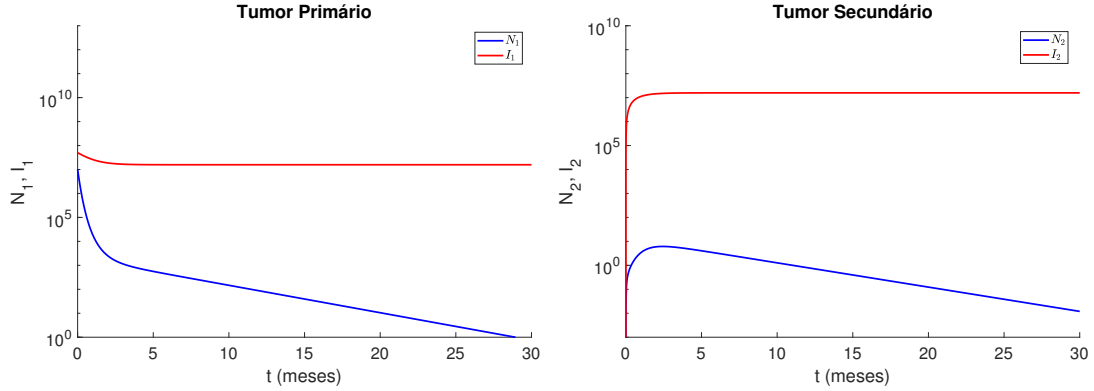
Com a finalidade de observar o comportamento da população de células tumorais mediante as células imunes, foram explorados três cenários distintos e, como imunoterapia, foi considerada qualquer intervenção que resulte no aumento do número de células imunes. Para os resultados apresentados a seguir, utilizamos os valores descritos na Tabela 1, com as seguintes condições iniciais: $N_1(0) = 1 \times 10^7$, $I_1(0) = 5 \times 10^7$, $N_2(0) = 0$ e $I_2(0) = 0$.

Cenário I

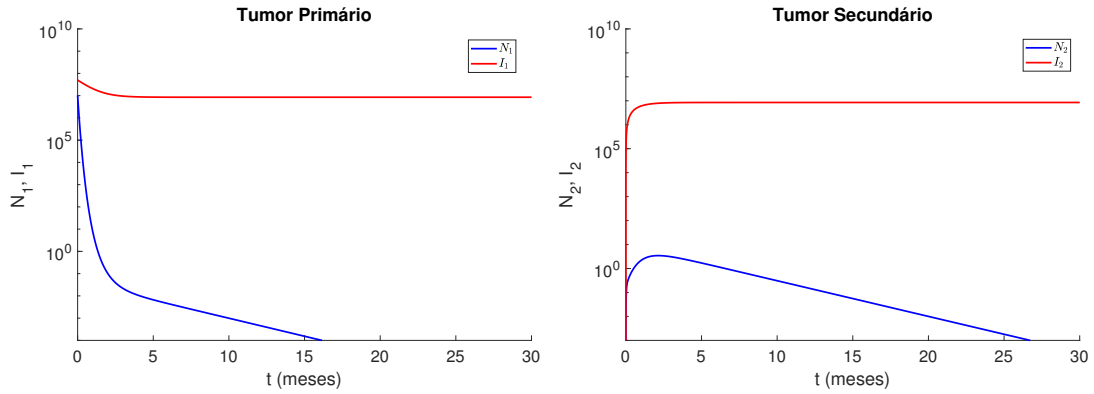
Para a obtenção do cenário livre da doença (cura), alteramos os valores dos parâmetros relacionados à taxa de influxo das células imunes α_i , com $i = 1, 2$, e à taxa de interação entre as duas populações c_i , com $i = 1, 2$. Com a finalidade de aumentar a população de células imunes, para que a mesma possa combater as células tumorais, primeiramente aumentamos a taxa de influxo natural α_i . Utilizando os valores descritos na Tabela 1 e $\alpha_i = 6,5 \times 10^5$, foi possível obter a eliminação da população de células tumorais ao longo dos 30 meses observados (Figura 9). No entanto, devido ao aumento do influxo, a população de células imunes não apresentam um decrescimento ao logo do tempo; esse comportamento também pode ser observado em Rhodes e Hillen (2019).

Com a alteração do parâmetro α_i a solução do sistema (3.1) converge para o ponto de equilíbrio S_1^* , onde temos apenas a população de células imunes. Dessa forma, temos os seguintes autovalores associados a equação característica (3.20) avaliada no ponto de equilíbrio S_1^* , com $\alpha_i = 6,5 \times 10^5$: $\lambda_1 = -0,041$, $\lambda_2 = -0,008$, $\lambda_3 = -0,041$ e $\lambda_4 = -0,007$. Portanto, como a parte real de todos os autovalores associados ao ponto S_1^* é negativa, logo o ponto é classificado como localmente assintoticamente estável para o conjunto de parâmetros utilizado.

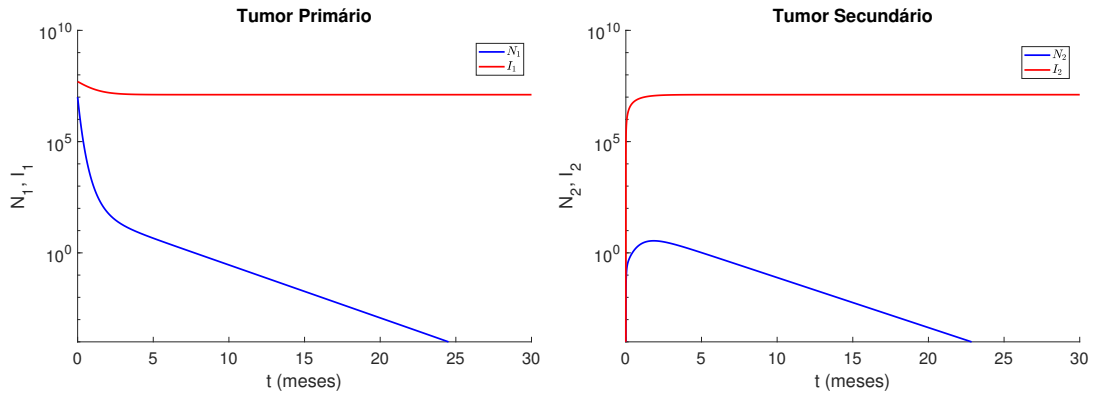
Figura 9 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_i = 6,5 \times 10^5$, com $i = 1, 2$.



Utilizando as mesmas condições iniciais e os valores descritos na Tabela 1, alteramos o parâmetro responsável pela interação entre a população de células tumorais e imunes. Essa interação tem impacto negativo para as duas populações, levando à morte das células tumorais, expressa pelo parâmetro c_i e, por outro lado, à inativação das células imunes, dada pelo g_i . Nota-se que, ao utilizar $c_i = 1,9 \times 10^{-8}$, com $i = 1, 2$, a população de células tumorais são eliminadas em ambos os sítios (Figura 10). Logo, ao aumentar o valor do parâmetro c_i , a solução do sistema (3.1) converge para o ponto de equilíbrio S_1^* , com isso obtemos os seguintes autovalores associados a equação característica (3.20) avaliada no ponto de equilíbrio: $\lambda_1 = -0,041$, $\lambda_2 = -0,012$, $\lambda_3 = -0,041$ e $\lambda_4 = -0,011$. Consequentemente, o ponto de equilíbrio S_1^* , com $c_i = 1,9 \times 10^{-8}$, é classificado como localmente assintoticamente estável, dado que, a parte real dos autovalores associados ao ponto é negativa.

Figura 10 – Dinâmica tumoral utilizando $c_i = 1,9 \times 10^{-8}$, com $i = 1,2$.

Com a finalidade de reforçar a população de células imunes, combinamos o aumento na interação entre as duas populações e no influxo de células imunes. Utilizando $\alpha_i = 5,3 \times 10^5$ e $c_i = 1,3 \times 10^{-8}$, com $i = 1,2$, podemos observar na Figura 11, que a população de células tumorais são erradicadas ao decorrer dos 30 meses observados. Com o aumento nos valores dos parâmetros α_i e c_i , a solução do sistema converge para o ponto de equilíbrio S_1^* . Dessa forma, temos os seguintes autovalores associados a equação característica (3.20) avaliada no ponto de equilíbrio S_1^* : $\lambda_1 = -0,041$, $\lambda_2 = -0,018$, $\lambda_3 = -0,041$ e $\lambda_4 = -0,017$. Dado que, a parte real dos autovalores associados ao ponto é negativa, logo o ponto é classificado como localmente assintoticamente estável para o conjunto de parâmetros utilizados.

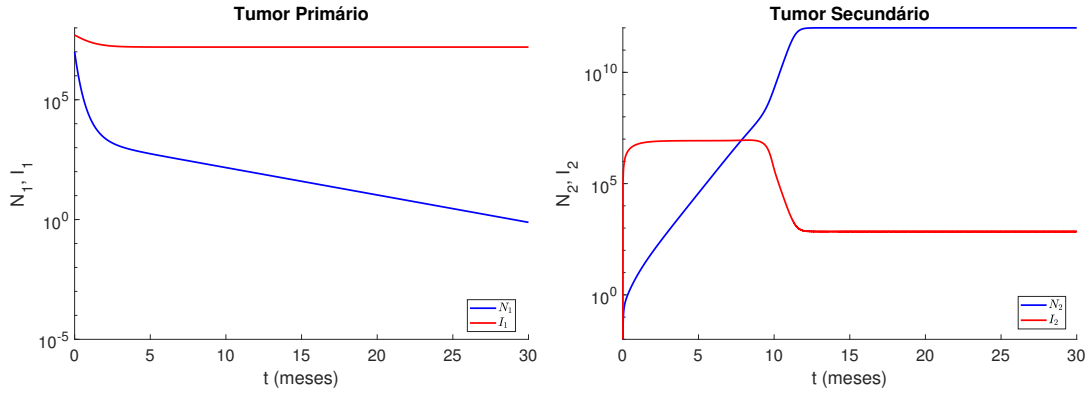
Figura 11 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_i = 5,3 \times 10^5$ e $c_i = 1,3 \times 10^{-8}$, com $i = 1,2$.

Cenário II

Neste cenário, abordaremos apenas o estado metastático, significando que o tumor primário foi erradicado ou controlado pela ação do sistema imune. Para a obtenção deste cenário, alteramos os valores de α_1 e c_1 , os parâmetros relacionados ao influxo de células imunes e a interação entre as populações de células tumorais e imunes. Utilizando os valores descritos na Tabela 1, com $\alpha_1 = 6,5 \times 10^5$ e $\alpha_2 = 3,5 \times 10^5$, foi possível obter a eliminação da população de células tumorais no sítio primário (Figura 12). No entanto, o crescimento da população de células tumorais no sítio secundário não é afetado mediante a imunoterapia no sítio primário.

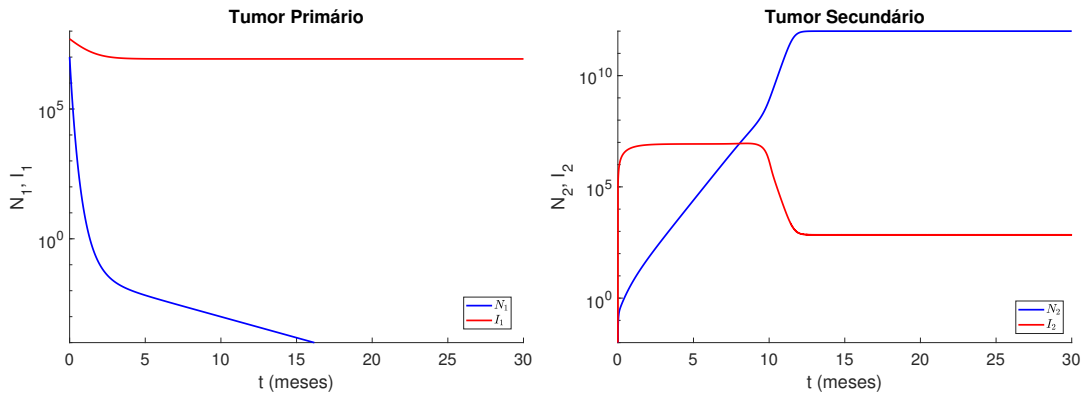
Adotando os valores descritos na Tabela 1, com $\alpha_1 = 6,5 \times 10^5$ e $\alpha_2 = 3,5 \times 10^5$, a solução do sistema (3.1) converge para o ponto de equilíbrio S_2^* , dessa forma, obtemos os seguintes autovalores associados a equação característica (3.20) avaliada no ponto S_2^* : $\lambda_1 = -0,041$, $\lambda_2 = -0,008$, $\lambda_3 = -0,149$ e $\lambda_4 = -500,04$. Logo, o ponto de equilíbrio S_2^* é classificado como localmente assintoticamente estável para esse conjunto de parâmetros, pois a parte de real dos autovalores associados ao ponto é negativa.

Figura 12 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_1 = 6,5 \times 10^5$ e $\alpha_2 = 3,5 \times 10^5$.



Adotando $c_1 = 1,9 \times 10^{-8}$ e $c_2 = 1,0 \times 10^{-8}$, foi possível erradicar a população de células tumorais no sítio primário (Figura 13). Com a alteração do parâmetro c_1 , a solução do sistema (3.1) converge para o ponto de equilíbrio S_2^* . Logo, os autovalores associados a equação característica (3.20) avaliada no ponto S_2^* , com $c_1 = 1,9 \times 10^{-8}$ são: $\lambda_1 = -0,041$, $\lambda_2 = -0,012$, $\lambda_3 = -0,149$ e $\lambda_4 = -500,04$. Portanto, o ponto de equilíbrio S_2^* é classificado como localmente assintoticamente estável para esse conjunto de parâmetros.

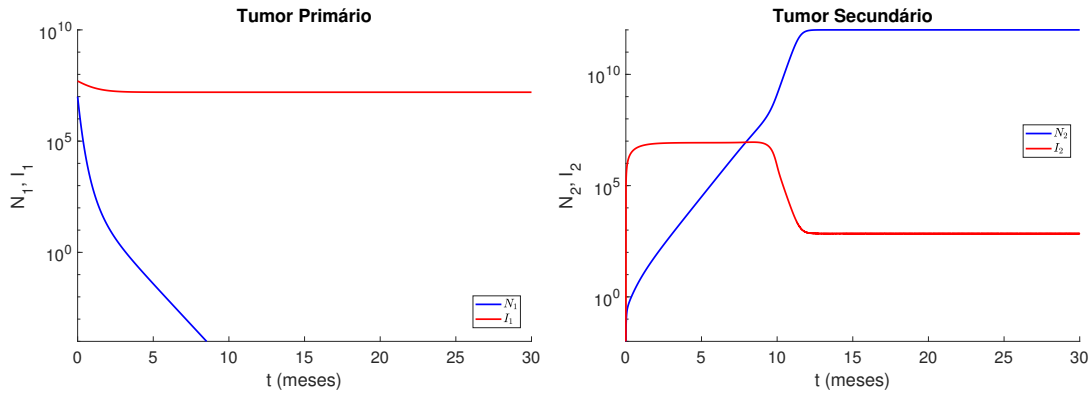
Figura 13 – Dinâmica tumoral utilizando $c_1 = 1,9 \times 10^{-8}$ e $c_2 = 1,0 \times 10^{-8}$.



Utilizando os valores dos parâmetros descritos na Tabela 1, com $\alpha_1 = 5,3 \times 10^5$, $\alpha_2 = 3,5 \times 10^5$, $c_1 = 1,3 \times 10^{-8}$ e $c_2 = 1,0 \times 10^{-8}$, podemos observar na Figura 14, que ao combinar o aumento da interação entre as duas populações e da taxa influxo das células imunes no sítio primário, obtemos a erradicação da população de células tumorais no sítio primário. Logo, com a alteração dos valores de α_1 e c_1 , a solução do sistema (3.1) converge para o ponto de

equilíbrio S_2^* , com os seguintes autovalores associados a equação característica (3.20) avaliada no ponto de equilíbrio: $\lambda_1 = -0,041$, $\lambda_2 = -0,018$, $\lambda_3 = -0,149$ e $\lambda_4 = -500,04$. Avaliando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio, temos que o ponto é classificado como localmente assintoticamente estável para esse conjunto de valores.

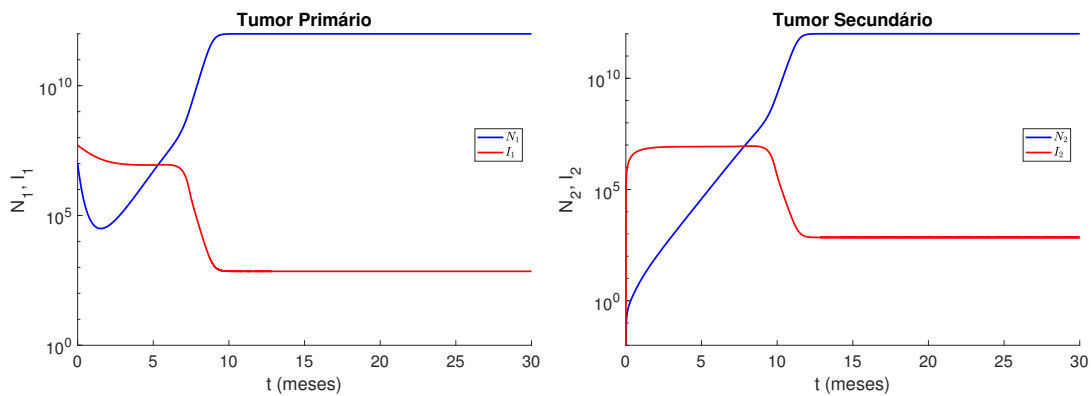
Figura 14 – Dinâmica tumoral utilizando $\alpha_1 = 6,5 \times 10^5$, $\alpha_2 = 3,5 \times 10^5$, $c_1 = 1,3 \times 10^{-8}$ e $c_2 = 1,0 \times 10^{-8}$.



Cenário III

Para se obter o cenário em que temos o estado completo da doença e também a coexistência de ambas as populações celulares, utilizamos os valores dos parâmetros descritos na Tabela 1. Na Figura 15, nota-se que, no sítio primário em aproximadamente 6 meses, a população de células tumorais é superior a população de células imunes. Já no sítio secundário a população de células tumorais leva mais tempo para superar a população de células imunes, entretanto, em poucos meses a população de células tumorais atingem a capacidade de suporte em ambos os sítios. Para esse conjunto de parâmetros adotados a solução do sistema (3.1) converge para o ponto de equilíbrio S_3^* .

Figura 15 – Dinâmica tumoral utilizando os valores descritos na Tabela 1.



Assim como em Rhodes e Hillen (2019), para este modelo foi considerado como imunoterapia qualquer intervenção que resulte no aumento do número de células imunes. Variando os

parâmetros de influxo e interação entre a população de células tumorais e imunes, foi possível obter cenários em que temos a eliminação da população de células tumorais e outros em que mesmo com a imunoterapia, a população consegue se desenvolver e atingir a capacidade de suporte. Foi possível observar que as variações realizadas nos parâmetros α_i e c_i , com $i = 1, 2$, acarretaram mudanças na estabilidade dos pontos de equilíbrio S_1^* e S_2^* .

4 Modelo Matemático de Imunoterapia com Células CAR T

Neste capítulo, propomos um modelo composto por equações diferenciais ordinárias e equações diferenciais com retardo para descrever a dinâmica tumoral envolvendo imunoterapia com células CAR T. A metástase foi modelada como um fenômeno migratório, em que duas populações de células tumorais coexistem e se desenvolvem em dois locais diferentes. Apresentaremos o estudo da estabilidade do modelo proposto e alguns resultados em que variamos a quantidade de células CAR T e a condição inicial das células tumorais.

4.0.1 Modelo

Utilizando um conjunto de EDOs, [Rodrigues \(2019\)](#), desenvolveu um modelo que retrata a dinâmica tumoral mediante a imunoterapia com células CAR T. O modelo é composto por três populações, células tumorais, células CAR T efetoras e células CAR T de memória. Foi considerado em seu modelo o efeito de supressão do sistema imune pelo tumor e a diferenciação das células efetoras em células de memória. O modelo foi parcialmente calibrado utilizando dados da literatura e foi capaz de representar a erradicação da população tumoral; a população de células CAR T de memória tiveram papel importante nos casos de recidiva da população tumoral.

O modelo proposto neste capítulo é baseado em [Pinho, Freedman e Nani \(2002\)](#) para a modelagem das células tumorais e em [Rodrigues \(2019\)](#) para a modelagem com células CAR T, no entanto, no nosso modelo não consideramos a população de células CAR T de memória, mas apenas o efeito da diferenciação de células efetoras para células de memória. Dessa forma, o modelo (4.1) é composto por três EDOs e uma EDR. Sejam N_i e C_{T_i} com $i = 1, 2$, células tumorais e células CAR T, respectivamente, no sítio primário ($i = 1$) e secundário ($i = 2$). O modelo (4.1) é dado por:

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} &= r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1}{k_1}\right) - \gamma_1 N_1 C_{T_1} - \delta_1 N_1 \\ \frac{dC_{T_1}}{dt} &= \phi_1 C_{T_1} - \rho_1 C_{T_1} - \mu_1 C_{T_1} - \alpha_1 N_1 C_{T_1} \\ \frac{dN_2}{dt} &= r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} + \epsilon \delta_1 N_1(t - \tau) \\ \frac{dC_{T_2}}{dt} &= \phi_2 C_{T_2} - \rho_2 C_{T_2} - \mu_2 C_{T_2} - \alpha_2 N_2 C_{T_2} \end{cases} \quad (4.1)$$

Assumimos que, para ambos os sítios, as células tumorais crescem de acordo com a lei de crescimento logístico, a uma taxa r_i , com $i = 1, 2$, com uma capacidade de suporte k_i , com $i = 1, 2$. O deslocamento das células tumorais do sítio primário para o sítio secundário é dado pelo parâmetro δ_1 . Portanto, uma porcentagem δ_1 de células tumorais é liberada na corrente sanguínea constantemente, porém, apenas uma porcentagem ϵ dessas células consegue chegar ao sítio secundário com um retardo τ no processo.

Em um dado instante de tempo, é introduzido no sistema uma quantidade de células CAR T ativadas as quais, tendo contato com as células tumorais, causam sua eliminação a uma taxa γ_i , com $i = 1, 2$. As células CAR T se proliferam a uma taxa constante ϕ_i , com $i = 1, 2$, e morrem naturalmente a uma taxa μ_i , com $i = 1, 2$.

As células CAR T se diferenciam em células de memória a uma taxa ρ_i , com $i = 1, 2$, e são inativadas pelas células tumorais a uma taxa α_i , com $i = 1, 2$. Essa inativação pode representar, por exemplo, a interação entre o receptor PD-1, presente nas células T, com o ligante PD-L1, presente nas células tumorais (RODRIGUES, 2019).

As condições iniciais para a população de células tumorais são $N_1(0) > 0$ e $N_2(0) = 0$, isso implica que o câncer já está estabelecido. Já a população inicial de células CAR T é introduzida no sistema pela imunoterapia Λ . Os parâmetros do modelo (4.1), estão descritos na Tabela 2, em que todos são positivos não nulos.

Tabela 2 – Descrição e valores dos parâmetros usados no sistema de equações (4.1).

Parâmetros	Descrição	Valores e Unidades	Referências
$r_{1,2}$	Taxa de crescimento da população N_i	9×10^{-2} dia ⁻¹	-
$k_{1,2}$	Capacidade de suporte da população N_i	10^{12} células	Weinberg (2008)
$\gamma_{1,2}$	Taxa de mortalidade de N_i induzida pelas C_{T_i}	$3,715 \times 10^{-6}$ células ⁻¹ dia ⁻¹	Rodrigues (2019)
δ_1	Taxa com que a população N_1 deixa o sítio primário	0,001 dia ⁻¹	Pinho, Freedman e Nani (2002); Ghaffari, Bahmaie e Nazari (2016)
ϵ	Porcentagem da população N_1 que chega ao sítio secundário	0,00001	Pinho, Freedman e Nani (2002); Ghaffari, Bahmaie e Nazari (2016)
$\phi_{1,2}$	Taxa de proliferação da população C_{T_i}	$2,65 \times 10^{-1}$ dia ⁻¹	Rodrigues (2019)
$\rho_{1,2}$	Taxa de conversão da população C_{T_i}	5×10^{-2} dia ⁻¹	Rodrigues (2019)
$\mu_{1,2}$	Taxa de mortalidade natural da população C_{T_i}	3×10^{-1} dia ⁻¹	Rodrigues (2019)
$\alpha_{1,2}$	Taxa de inativação de C_{T_i} devido a interação com N_i	$4,5 \times 10^{-10}$ células ⁻¹ dia ⁻¹	Rodrigues (2019)
τ	Parâmetro de retardo	1,0	Pinho, Freedman e Nani (2002)

4.0.2 Análise da Estabilidade do Modelo

Nesta seção, iremos analisar aspectos relevantes sobre a dinâmica do modelo (4.1) e a sua estabilidade. Definindo que as variáveis de estado são não negativas ao longo do tempo, analisamos a existência dos pontos de equilíbrio. Para a obtenção desses pontos, deve-se resolver o sistema homogêneo associado ao sistema (4.1), ou seja,

$$\begin{cases} r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1}{k_1}\right) - \gamma_1 N_1 C_{T_1} - \delta_1 N_1 & = 0 \\ \phi_1 C_{T_1} - \rho_1 C_{T_1} - \mu_1 C_{T_1} - \alpha_1 N_1 C_{T_1} & = 0 \\ r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} + \epsilon \delta_1 N_1 (t - \tau) & = 0 \\ \phi_2 C_{T_2} - \rho_2 C_{T_2} - \mu_2 C_{T_2} - \alpha_2 N_2 C_{T_2} & = 0 \end{cases}. \quad (4.2)$$

Da primeira equação de (4.2), segue que:

$$N_1 = 0 \quad (4.3)$$

ou

$$N_1^+ = \frac{k_1}{r_1} (r_1 - \gamma_1 C_{T_1} - \delta_1). \quad (4.4)$$

Considerando a igualdade em (4.3), temos o seguinte sistema:

$$\begin{cases} \phi_1 C_{T_1} - \rho_1 C_{T_1} - \mu_1 C_{T_1} & = 0 \\ r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} & = 0 \\ \phi_2 C_{T_2} - \rho_2 C_{T_2} - \mu_2 C_{T_2} - \alpha_2 N_2 C_{T_2} & = 0 \end{cases}. \quad (4.5)$$

Da primeira e segunda equação do sistema (4.5), obtemos:

$$C_{T_1} = 0 \quad (4.6)$$

ou

$$\phi_1 - \rho_1 - \mu_1 = 0. \quad (4.7)$$

$$N_2 = 0 \quad (4.8)$$

ou

$$N_2^+ = \frac{k_2}{r_2} (r_2 - \gamma_2 C_{T_2}). \quad (4.9)$$

Considerando a igualdade em (4.8) e substituindo na terceira equação do sistema (4.5), obtemos:

$$C_{T_2} = 0 \quad (4.10)$$

ou

$$\phi_2 - \rho_2 - \mu_2 = 0. \quad (4.11)$$

Dessa forma, temos o ponto de equilíbrio livre da doença, dado por:

$$S_0^* = (0, 0, 0, 0). \quad (4.12)$$

Agora, considerando a igualdade em (4.9) e substituindo na terceira equação do sistema (4.5), temos:

$$C_{T_2} = 0 \quad (4.13)$$

ou

$$\phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 N_2 = 0. \quad (4.14)$$

Substituindo (4.9) em (4.14), temos:

$$\alpha_2 \frac{k_2}{r_2} (r_2 - \gamma_2 C_{T_2}) = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2, \quad (4.15)$$

$$C_{T_2} = \frac{r_2}{\gamma_2} + \frac{r_2(-\phi_2 + \rho_2 + \mu_2)}{\alpha_2 k_2 \gamma_2}. \quad (4.16)$$

Se (4.10), temos:

$$N_2 = k_2. \quad (4.17)$$

Dessa forma, obtemos mais um ponto de equilíbrio, dado por:

$$S_1^* = (0, 0, k_2, 0). \quad (4.18)$$

Agora, utilizando a equação (4.14), temos:

$$N_2 = \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}. \quad (4.19)$$

Desse modo, temos o seguinte ponto de equilíbrio:

$$S_2^* = \left(0, 0, \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}, \frac{r_2}{\gamma_2} + \frac{r_2(\phi_2 - \rho_2 - \mu_2)}{\alpha_2 k_2 \gamma_2} \right). \quad (4.20)$$

Para que o ponto S_2^* exista, a seguinte condição deve ser satisfeita:

$$\phi_2 \geq \rho_2 + \mu_2, \quad (4.21)$$

No entanto, a condição estabelecida em (4.21) não pode ser satisfeita, uma vez que, o conjunto de valores adotados como padrão não satisfaz a dada condição. Logo, o ponto de equilíbrio S_2^* não será analisado.

Considerando a igualdade em (4.4), temos:

$$C_{T_1} = 0 \quad (4.22)$$

ou

$$\phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 N_1 = 0. \quad (4.23)$$

Substituindo (4.4) em (4.23), obtemos:

$$\frac{k_1}{r_1}(r_1 - \gamma_1 C_{T_1} - \delta_1) = \frac{\phi_1 - \rho_1 - \mu_1}{\alpha_1}, \quad (4.24)$$

$$C_{T_1} = - \left[\frac{(\phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 k_1)}{\alpha_1 k_1 \gamma_1} + \frac{\delta_1}{\gamma_1} \right]. \quad (4.25)$$

Considerando a igualdade em (4.22) e substituindo em (4.4), segue que:

$$N_1 = k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{\gamma_1}. \quad (4.26)$$

Logo,

$$\begin{cases} r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} + \epsilon \delta_1 N_1 = 0 \\ C_{T_2} (\phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 N_2) = 0 \end{cases}. \quad (4.27)$$

Da segunda equação do sistema (4.27), obtemos:

$$C_{T_2} = 0 \quad (4.28)$$

ou

$$N_2 = \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}. \quad (4.29)$$

Considerando a igualdade em (4.29) e substituindo na primeira equação em (4.27), segue que:

$$r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} + \epsilon \delta_1 N_1 = 0, \quad (4.30)$$

$$C_{T_2} = \frac{k_2 r_2 N_2 - r_2 N_2^2 + k_2 \epsilon \delta_1 N_1}{k_2 \gamma_2 N_2}. \quad (4.31)$$

Substituindo (4.26) e (4.29) em (4.31), temos:

$$C_{T_2}^* = \frac{r_2}{\gamma_2} - \frac{r_2 (\phi_2 - \rho_2 - \mu_2)}{k_2 \gamma_2 \alpha_2} + \frac{\epsilon \delta_1 \alpha_2 (k_1 r_1 - k_1 \delta_1)}{\gamma_2 r_1 (\phi_2 - \rho_2 - \mu_2)}. \quad (4.32)$$

Dessa forma, obtemos o seguinte ponto de equilíbrio:

$$S_3^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}, C_{T_2}^* \right). \quad (4.33)$$

Logo, em relação ao ponto de equilíbrio S_3^* , temos as seguintes condições de existência:

$$r_1 \geq \delta_1, \quad (4.34)$$

$$\phi_2 \geq \rho_2 + \mu_2, \quad (4.35)$$

$$k_2 \alpha_2 \geq \phi_2 - \rho_2 - \mu_2. \quad (4.36)$$

A condição de existência (4.34) é satisfeita, dado que, a taxa de crescimento (r_1) das células tumorais é maior que a taxa das células que deixam o sítio primário (δ_1). Já a condição (4.35),

não pode ser satisfeita, logo o ponto S_3^* é desconsiderado para o conjunto de parâmetros adotados. Agora, considerando a igualdade em (4.28) e substituindo em (4.27), obtemos:

$$r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) + \epsilon \delta_1 N_1 = 0, \quad (4.37)$$

$$-\frac{N_2^2 r_2}{k_2} + r_2 N_2 + \epsilon \delta_1 N_1 = 0, \quad (4.38)$$

$$N_2 = \left(-r_2 \pm \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon N_1}{k_2}}\right) \left(-\frac{k_2}{2r_2}\right). \quad (4.39)$$

Assim, temos os pontos de equilíbrio em que tem-se a doença estabelecida em ambos os sítios:

$$S_4^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} - \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right). \quad (4.40)$$

$$S_5^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} + \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right). \quad (4.41)$$

Tomando,

$$A = \frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}. \quad (4.42)$$

Para o ponto S_4^* , temos as seguintes condições:

$$A \geq 0 \iff k_2 r_1 r_2 \geq -4\epsilon \delta_1 k_1 (r_1 - \delta_1). \quad (4.43)$$

Logo, A é positivo, uma vez que $r_1 - \delta_1 > 0$. Desse modo, temos a seguinte condição em relação ao ponto S_4^* :

$$r_1 \geq \delta_1, \quad (4.44)$$

$$r_2 \geq \sqrt{A}. \quad (4.45)$$

Dada a semelhança entre os pontos de equilíbrio S_4^* e S_5^* , a restrição (4.44) é aplicada para ambos. Para o conjunto de parâmetros adotados as condições de existência e satisfação para os dois pontos. Dessa forma, os únicos pontos de equilíbrio a serem analisados são:

- $S_0^* = (0, 0, 0, 0)$;
- $S_1^* = (0, 0, k_2, 0)$;
- $S_4^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} - \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right)$;
- $S_5^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} + \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right)$.

Para analisar a estabilidade dos pontos de equilíbrio é construída a matriz Jacobiana associada ao sistema (4.1). Seja $A(S_i^*)$ a matriz Jacobiana do sistema (4.1) avaliada em cada ponto de equilíbrio S_i , dada por:

$$A(S_i^*) = \begin{pmatrix} D_1 & -\gamma_1 N_1 & 0 & 0 \\ -\alpha_1 C_{T_1} & \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 N_1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & D_2 & -\gamma_2 N_2 \\ 0 & 0 & -\alpha_2 C_{T_2} & \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 N_2 \end{pmatrix}. \quad (4.46)$$

em que,

$$D_1 = r_1 - \frac{2r_1 N_1}{k_1} - \gamma_1 C_{T_1} - \delta_1, \quad (4.47)$$

$$D_2 = r_2 - \frac{2r_2 N_2}{k_2} - \gamma_2 C_{T_2}. \quad (4.48)$$

Dessa forma, a equação característica associada é dado por (SMITH, 2011):

$$\det[\lambda I - A(S_1^*) - e^{-\tau\lambda} B] = 0. \quad (4.49)$$

Para o ponto de equilíbrio S_0^* , temos:

$$A(S_0^*) = \begin{pmatrix} r_1 - \delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & r_2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 \end{pmatrix}. \quad (4.50)$$

$$B = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ \epsilon\delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \quad (4.51)$$

Logo,

$$\det[\lambda I - A(S_0^*) - e^{-\tau\lambda} B] = \det \begin{vmatrix} \lambda - r_1 + \delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda - D_1^* & 0 & 0 \\ -\epsilon\delta_1 e^{-\tau\lambda} & 0 & \lambda - r_2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \lambda - D_2^* \end{vmatrix} = 0. \quad (4.52)$$

em que,

$$D_1^* = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1, \quad (4.53)$$

$$D_2^* = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2. \quad (4.54)$$

Resolvendo (4.52), obtemos os seguintes autovalores:

$$\begin{cases} \lambda_1 = r_1 - \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 \\ \lambda_3 = r_2 \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 \end{cases} . \quad (4.55)$$

Analisando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_0^* , temos que $\lambda_3 > 0$, uma vez que, todos os parâmetros são não negativos, logo o ponto é classificado como instável. Todos os cálculos relacionados a estabilidade do modelo (4.1) estão disponíveis no Apêndice (A). Portanto, para os pontos de equilíbrio a seguir será apresentado apenas os autovalores associados ao respectivo ponto de equilíbrio. Para o ponto de equilíbrio S_1^* , temos:

$$\begin{cases} \lambda_1 = r_1 - \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 \\ \lambda_3 = -r_2 \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 k_2 \end{cases} . \quad (4.56)$$

Analisando os autovalores associados, temos que $\lambda_3 < 0$. Se (4.57), (4.58) e (4.59) ocorrer, $\lambda_1 < 0$, $\lambda_2 < 0$ e $\lambda_4 < 0$. Portanto, o ponto S_1^* é classificado como localmente assintoticamente estável.

$$r_1 < \delta_1, \quad (4.57)$$

$$\phi_1 < \rho_1 + \mu_1, \quad (4.58)$$

$$\phi_2 < \rho_2 + \mu_2 + \alpha_2 k_2. \quad (4.59)$$

Entretanto, para o conjunto de valores adotados para os parâmetros, temos que a condição (4.57) não é satisfeita. Dessa forma, o ponto é classificado como instável para o conjunto de valores utilizados (Tabela 2). Para o ponto de equilíbrio S_4^* , temos:

$$\begin{cases} \lambda_1 = -r_1 + \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 k_1 \left(1 - \frac{\delta_1}{r_1}\right) \\ \lambda_3 = \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \frac{\alpha_2 k_2}{2} \left(1 - \frac{k_2}{r_2} \left(\sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}\right)\right) \end{cases} . \quad (4.60)$$

Observando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_4^* , temos que o ponto é classificado como instável, pois o $\lambda_3 > 0$. Agora, em relação ao o ponto de equilíbrio S_5^* , temos os seguintes

autovalores:

$$\begin{cases} \lambda_1 = -r_1 + \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 k_1 \left(1 - \frac{\delta_1}{r_1}\right) \\ \lambda_3 = -\sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2}} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2} \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 M \end{cases} . \quad (4.61)$$

em que,

$$M = \frac{k_2}{2} \left(1 + \frac{1}{r_2} \left(\sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2}} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}\right)\right). \quad (4.62)$$

Analisando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_5^* , temos que $\lambda_3 < 0$. Se (4.63), (4.64) e (4.65) ocorrer, $\lambda_1 < 0$, $\lambda_2 < 0$ e $\lambda_4 < 0$. Portanto, o ponto S_5^* é classificado como localmente assintoticamente estável.

$$r_1 > \delta_1, \quad (4.63)$$

$$\phi_1 < \rho_1 + \mu_1 + \alpha_1 k_1 \left(1 - \frac{\delta_1}{r_1}\right), \quad (4.64)$$

$$\phi_2 < \rho_2 + \mu_2 + \alpha_2 M. \quad (4.65)$$

Todas as condições (4.63), (4.64) e (4.65) são satisfeitas para o conjunto de valores adotados para os parâmetros. Utilizando os valores dos parâmetros descritos na Tabela (2), temos os seguintes autovalores associados ao ponto S_5^* :

$$\begin{cases} \lambda_1 = -0,090 \\ \lambda_2 = -0,089 \\ \lambda_3 = -445,08 \\ \lambda_4 = -450,08 \end{cases} . \quad (4.66)$$

Logo, o ponto S_5^* é classificado como localmente assintoticamente estável. Portanto, devido o conjunto paramétrico adotado, temos apenas um ponto de equilíbrio localmente assintoticamente estável.

4.0.3 Resultados e Discussões

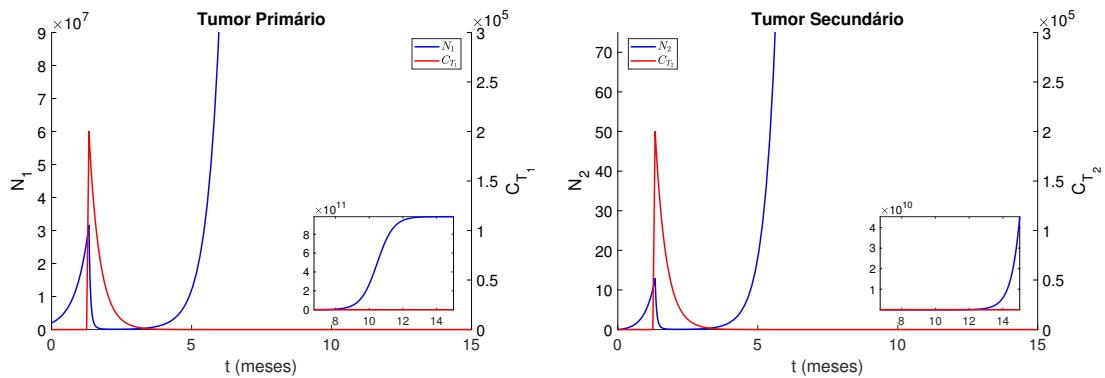
Embora a terapia com células CAR T tenha apresentado um grande potencial terapêutico, a fabricação desse tipo de célula tem custos elevados e a sua manipulação tem sido um dos principais obstáculos para uma aplicação mais ampla no mercado (JUNE; SADELAIN, 2018). Por se tratar de uma terapia personalizada, ainda não existe um protocolo “universal”, porém, através da modelagem podemos avaliar diferentes estratégias que visam uma quantidade ideal de células a serem utilizadas dependendo da massa tumoral (JUNE; SADELAIN, 2018; RODRIGUES, 2019). Portanto, diversas perguntas surgem em relação à quantidade necessária de células CAR para eliminar uma determinada massa tumoral. Os cenários a seguir apresentam simulações associadas a essa questão.

Cenário I

Utilizando a condição inicial das células tumorais $N_1(0) = 2 \times 10^6$, $N_2(0) = 0$ e variando a quantidade de imunoterapia aplicada (Λ), pretendemos analisar para qual dose temos a eliminação da dada massa tumoral. Nas simulações computacionais, as células CAR T são introduzidas no sistema em $t = 1,5$ meses, quando temos aproximadamente 3×10^7 células tumorais no sítio primário. A aplicação da imunoterapia não é realizada inicialmente, pelo fato de que as células no sítio secundário tem a condição inicial $N_2(0) = 0$ e, no presente trabalho, pretende-se analisar os efeitos da imunoterapia em um cenário metastático.

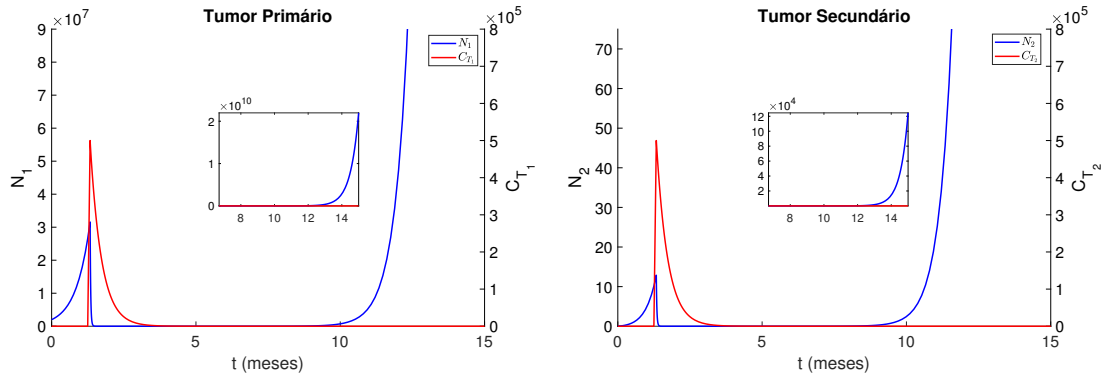
Na Figura 16, com $\Lambda = 2 \times 10^5$ células, podemos observar que, nos primeiros meses as células CAR T reduzem a quantidade de células tumorais. No entanto, a dada dose aplicada não foi suficiente, pois a população de células tumorais voltam a se desenvolver, e no final dos 15 meses, como podemos observar pelo *zoom* na Figura 16, ambas as populações tumorais estão próximas a capacidade de suporte.

Figura 16 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda = 2 \times 10^5$ células.



Agora, aumentando a quantidade de imunoterapia para $\Lambda = 5 \times 10^5$, podemos observar na Figura 17, que a quantidade de células CAR T não foi suficiente para controlar o crescimento da população de células tumorais. Em relação a simulação anterior (Figura 16), com o aumento da quantidade de imunoterapia, a população de células tumorais levaram mais tempo para voltar a crescer, e no final dos 15 meses a quantidade de células tumorais também é inferior em relação a simulação anterior (observar o *zoom* na Figura 17).

Figura 17 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda = 5 \times 10^5$ células.



Utilizando as respectivas quantidades de imunoterapia $\Lambda = 1 \times 10^6$ e $\Lambda = 2 \times 10^6$ células, podemos observar nas Figuras 18 e 19 que foi possível obter o controle do crescimento tumoral em ambos os sítios ao longo dos 15 meses.

Figura 18 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda = 1 \times 10^6$ células.

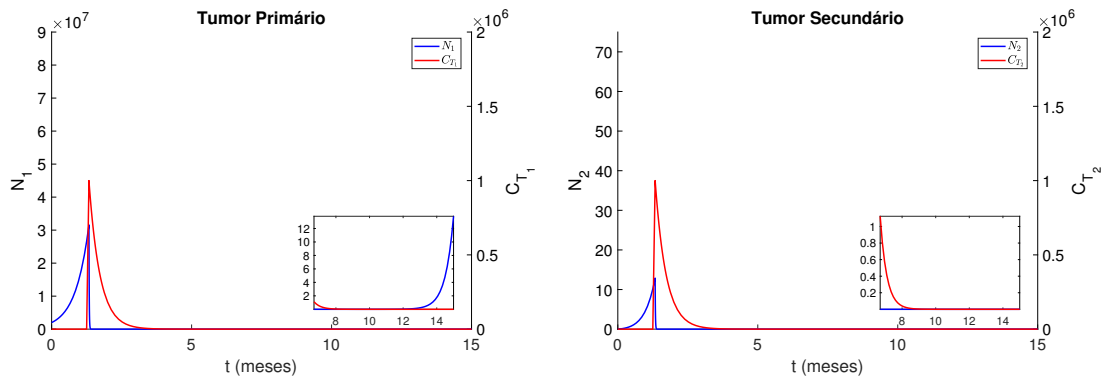
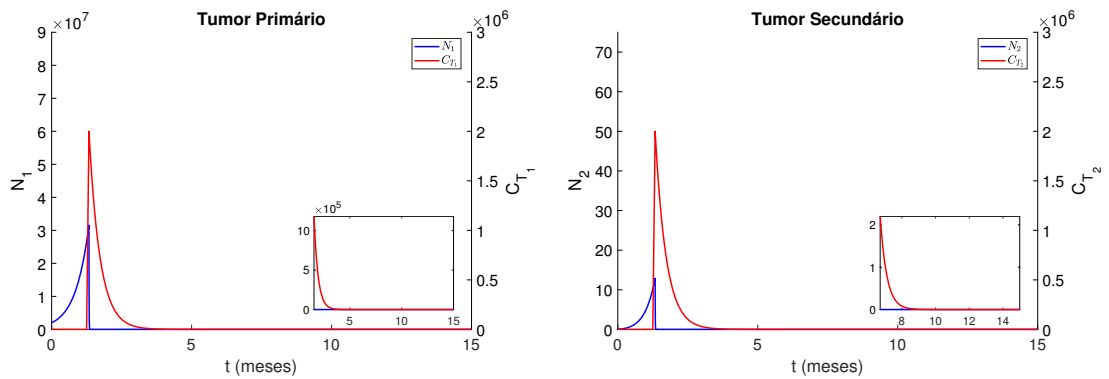


Figura 19 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 2 \times 10^6$ células e imunoterapia com $\Lambda = 2 \times 10^6$ células.

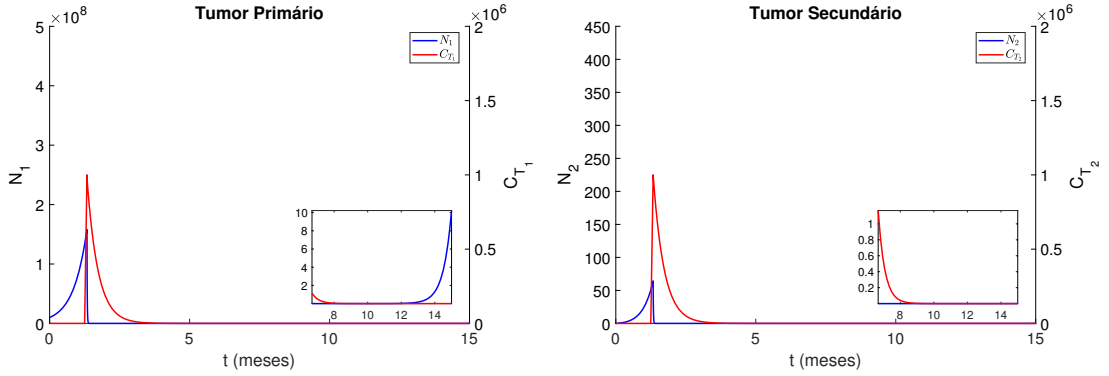


Cenário II

Neste cenário, fixamos a quantidade de imunoterapia em $\Lambda = 1 \times 10^6$ e variamos a condição inicial da população de células tumorais no sítio primário. Nas simulações a seguir, as células CAR T são introduzidas no sistema em $t = 1,5$ meses e os valores dos parâmetros utilizados estão descritos na Tabela 2.

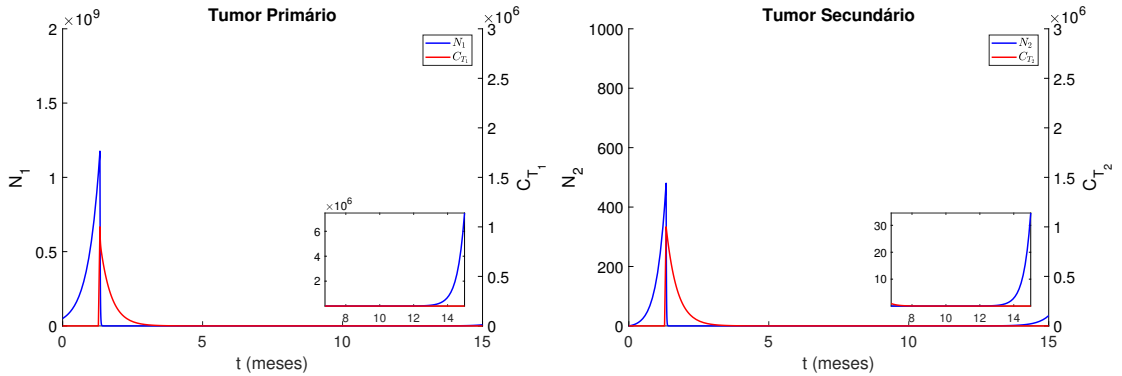
Utilizando $N_1(0) = 1 \times 10^7$ células, podemos observar que em $t = 1,5$ meses, no sítio primário temos uma massa tumoral de aproximadamente 2×10^8 células, porém a dada quantidade de células CAR T foi suficiente para controlar o crescimento das células tumorais em ambos os sítios ao longo dos 15 meses observados (Figura 20).

Figura 20 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 1 \times 10^7$ células e imunoterapia fixada em $\Lambda = 1 \times 10^6$ células.



Na Figura 21, temos $N_1(0) = 5 \times 10^7$ células, podemos observar que a dinâmica tumoral se mostrou distinta da anterior, uma vez que a quantidade de imunoterapia foi suficiente para controlar o crescimento da população tumoral no sítio secundário. Entretanto, observando o zoom na Figura 21, temos que a população tumoral do sítio primário volta a crescer após alguns meses.

Figura 21 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 5 \times 10^7$ células e imunoterapia fixada em $\Lambda = 1 \times 10^6$ células.



Aumentando a condição inicial das células tumorais no sítio primário para $N_1(0) = 9 \times 10^7$ (Figura 22) e $N_1(0) = 1 \times 10^8$ (Figura 23), podemos observar que, em $t = 1,5$ meses, nas duas simulações tem-se uma massa tumoral clinicamente palpável $10^9 \approx 1g$ (JR., 1975). Inicialmente, a quantidade de células CAR T é capaz de combater o crescimento da população de células tumorais em ambos os sítios, no entanto, ao decorrer dos 15 meses a população de células tumorais voltaram a crescer.

Figura 22 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 9 \times 10^7$ células e imunoterapia fixada em $\Lambda = 1 \times 10^6$ células.

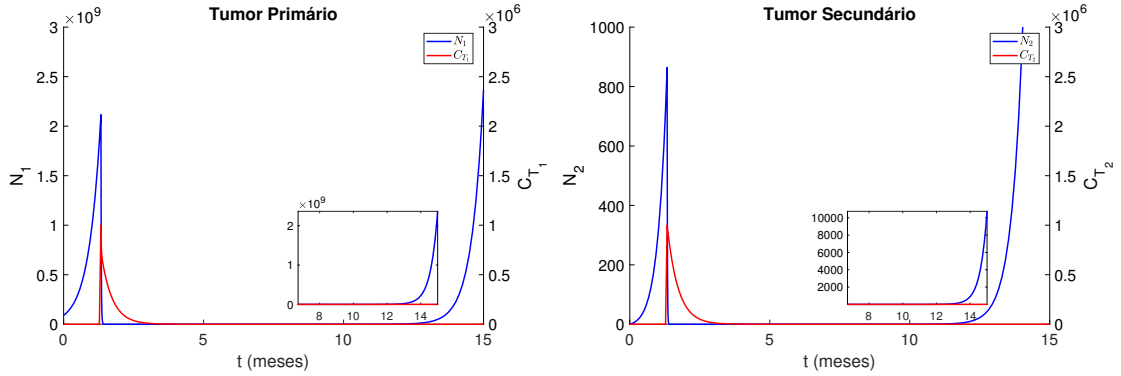
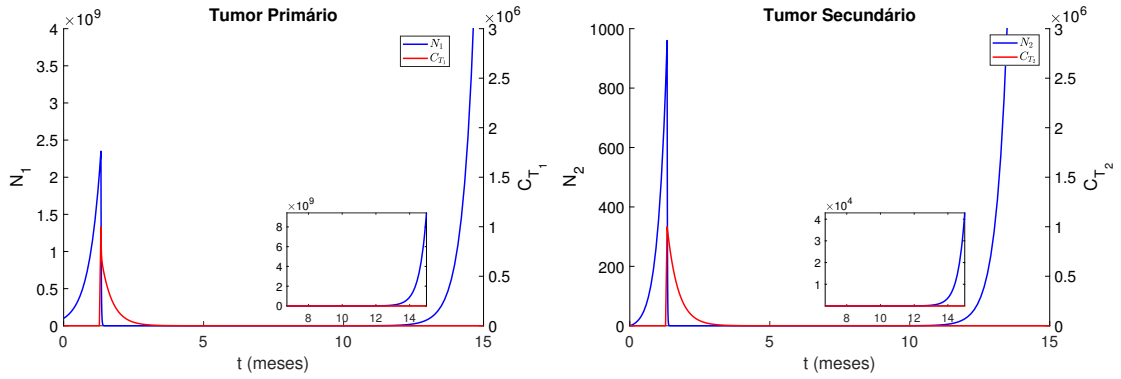


Figura 23 – Dinâmica tumoral com $N_1(0) = 1 \times 10^8$ células e imunoterapia fixada em $\Lambda = 1 \times 10^6$ células.



Através das simulações computacionais, foi possível observar que alterações nas condições iniciais das células tumorais e na quantidade de células CAR T utilizadas, podem levar ao controle do crescimento tumoral ao longo dos 15 meses observados. No entanto, de acordo com a análise de estabilidade realizada anteriormente, o modelo (4.1) tem apenas um ponto de equilíbrio localmente assintoticamente estável, portanto, para todo $N_1 > 0$ e $C_{T_i} > 0$, a solução do modelo converge para o ponto de equilíbrio S_5^* (ver 4.41).

5 Conclusão

Neste trabalho foi proposto dois modelos matemáticos de metástase com abordagens imunoterápicas distintas. Ambos os modelos são constituídos por três EDOs e uma EDR, o diferencial está na modelagem das células imunes. No primeiro modelo foi considerado como imunoterapia qualquer intervenção que resultasse no aumento da população de células imunes, já no segundo modelo foi utilizado a imunoterapia com células CAR T (terapia celular adotiva). Nos dois modelos a metástase é retratada como um fenômeno migratório onde duas populações de células tumorais coexistem e se desenvolvem em dois locais diferentes.

No primeiro modelo, a imunoterapia foi realizada através da variação da taxa e influxo das células imunes e da interação entre as duas populações. Logo, ao aumentar os valores dos parâmetros α_i e c_i , obtivemos cenários onde temos a eliminação da população tumoral e outros em que a imunoterapia não é suficiente para combater o crescimento das células tumorais. Nas simulações numéricas do cenário II, foi possível observar que a dinâmica da população de células tumorais no sítio secundário não é afeta mediante a imunoterapia no sítio primário. Portanto, a imunoterapia do primeiro modelo é eficaz quando é realizada nos dois sítios, uma vez que, ela ocorre gradativamente ao longo dos 30 meses observados.

O segundo modelo abrange a proliferação, morte natural, inativação e diferenciação das células CAR T efectoras. Por se tratar de uma terapia personalizada, ainda não existe um protocolo universal, contudo, através das simulações computacionais, podemos avaliar estratégias que visam uma quantidade ideal de células CAR T a serem utilizadas dependendo da massa tumoral. Através da análise de estabilidade para o conjunto de valores descritos na Tabela 2, obtemos apenas um ponto de equilíbrio estável S_5^* (ver 4.41). Para o conjunto de valores adotados, obtivemos como resultado nas simulações computacionais juntamente com a análise de estabilidade, que para o segundo modelo temos apenas o controle do crescimento tumoral durante os 15 meses observados.

No primeiro modelo, temos uma população de células imunes que agem na eliminação das células tumorais ao longo dos 30 meses. Essa eliminação é realizada de forma gradual nas simulações, porém, observando as simulações relacionadas ao modelo de imunoterapia com células CAR T, nota-se que em um curto espaço de tempo ocorre a eliminação de uma grande quantidade de células tumorais. Nos dois modelos o parâmetro de retardo τ , não exerce nenhuma influência em termos de estabilidade e convergência dos pontos de equilíbrio.

Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A.; PILLAI, S. *Imunologia celular e molecular*. Elsevier Editora Ltda., 2015. ISBN 9788535283204. Disponível em: <<https://books.google.com.br/books?id=n2HuCgAAQBAJ>>. 8, 9, 10, 11, 15
- ALBERTS, B. et al. *Biologia molecular da célula*. [S.l.]: Artmed Editora, 2017. 2, 7, 9, 11
- BOGLIOLO, L.; FILHO, G. B.; BARBOSA, A. J. A. *Bogliolo patologia geral*. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2016. 2
- BRASIL. *Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço*. 2008. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/publicacoes/livros/acoes-de-enfermagem-para-o-controle-do-cancer>>. Acessado em: 30/06/2020. 3, 11
- BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, Wiley, v. 68, n. 6, p. 394–424, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3322/caac.21492>>. 1
- CAPPUCCIO, A.; CASTIGLIONE, F.; PICCOLI, B. Determination of the optimal therapeutic protocols in cancer immunotherapy. *Mathematical Biosciences*, Elsevier BV, v. 209, n. 1, p. 1–13, set. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mbs.2007.02.009>>. 18
- CAPPUCCIO, A.; ELISHMERENI, M.; AGUR, Z. Cancer immunotherapy by interleukin-21: potential treatment strategies evaluated in a mathematical model. *Cancer Research*, American Association for Cancer Research (AACR), v. 66, n. 14, p. 7293–7300, jul. 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-06-0241>>. 18
- CHAFFER, C. L.; WEINBERG, R. A. A perspective on cancer cell metastasis. *Science*, American Association for the Advancement of Science, v. 331, n. 6024, p. 1559–1564, 2011. 6, 7, 8
- COICO, R.; SUNSHINE, G. *Imunologia*. [S.l.]: Guanabara Koogan, 2010. 9
- DIEGO, D.; CALVO, G. F.; PÉREZ-GARCÍA, V. M. Modeling the connection between primary and metastatic tumors. *Journal of Mathematical Biology*, Springer Science and Business Media LLC, v. 67, n. 3, p. 657–692, jul. 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00285-012-0565-2>>. 20
- EFTIMIE, R.; GILLARD, J. J.; CANTRELL, D. A. Mathematical models for immunology: current state of the art and future research directions. *Bulletin of Mathematical Biology*, Springer, v. 78, n. 10, p. 2091–2134, 2016. 9, 10
- EIKENBERRY, S.; THALHAUSER, C.; KUANG, Y. Tumor-immune interaction, surgical treatment, and cancer recurrence in a mathematical model of melanoma. *PLoS Computational Biology*, Public Library of Science (PLOS), v. 5, n. 4, p. e1000362, abr. 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1000362>>. 20
- ELLIS, K. *Cost-effectiveness of Chimeric Antigen Receptor T-cell therapy for treating large B-cell lymphoma patients in Canada*. Dissertação (Mestrado) — University of Waterloo, 2019. 15

- FOLKMAN, J. Anti-angiogenesis: new concept for therapy of solid tumors. *Annals of Surgery*, Lippincott, Williams, and Wilkins, v. 175, n. 3, p. 409, 1972. 5
- FOLKMAN, J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Seminars in Oncology*, Elsevier BV, v. 29, n. 6, p. 15–18, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0093-7754\(02\)70065-1](https://doi.org/10.1016/s0093-7754(02)70065-1)>. 5
- GANESH, K.; MASSAGUÉ, J. Targeting metastatic cancer. *Nature Medicine*, Nature Publishing Group, v. 27, n. 1, p. 34–44, 2021. 6, 7, 8, 26
- GHAFFARI, A.; BAHMAIE, B.; NAZARI, M. A mixed radiotherapy and chemotherapy model for treatment of cancer with metastasis. *Mathematical Methods in the Applied Sciences*, Wiley, v. 39, n. 15, p. 4603–4617, jun. 2016. Disponível em: <<https://doi.org/10.1002/mma.3887>>. 20, 25, 26, 39
- GORCHAKOV, A. A. et al. Challenges and prospects of chimeric antigen receptor t-cell therapy for metastatic prostate cancer. *European Urology*, Elsevier, v. 77, n. 3, p. 299–308, 2020. 13, 14, 15
- GUEDAN, S.; RUELLA, M.; JUNE, C. H. Emerging cellular therapies for cancer. *Annual Review of Immunology*, Annual Reviews, v. 37, p. 145–171, 2019. 12, 13, 15
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. The hallmarks of cancer. *Cell*, Elsevier, v. 100, n. 1, p. 57–70, 2000. 3
- HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, Elsevier, v. 144, n. 5, p. 646–674, 2011. 3, 5
- HU, Z.; CURTIS, C. Looking backward in time to define the chronology of metastasis. *Nature Communications*, Nature Publishing Group, v. 11, n. 1, p. 1–4, 2020. 6, 8
- INCA. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. *Estimativa 2020: Incidência de Câncer no Brasil*. Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: <<https://www.inca.gov.br/estimativa>>. Acessado em: 15/03/2020. 1
- IWATA, K.; KAWASAKI, K.; SHIGESADA, N. A dynamical model for the growth and size distribution of multiple metastatic tumors. *Journal of Theoretical Biology*, Elsevier BV, v. 203, n. 2, p. 177–186, mar. 2000. Disponível em: <<https://doi.org/10.1006/jtbi.2000.1075>>. 20
- JR., F. S. Concepts for systemic treatment of micrometastases. *Cancer*, Wiley Online Library, v. 35, n. 1, p. 15–24, 1975. 3, 49
- JUNE, C. H.; SADELAIN, M. Chimeric antigen receptor therapy. *New England Journal of Medicine*, Mass Medical Soc, v. 379, n. 1, p. 64–73, 2018. 13, 15, 16, 46
- KIMMEL, G. J.; LOCKE, F. L.; ALTROCK, P. M. Response to CAR t cell therapy can be explained by ecological cell dynamics and stochastic extinction events. *BioRxiv*, Cold Spring Harbor Laboratory, p. 717074, 2020. 21
- KIRSCHNER, D.; PANETTA, J. C. Modeling immunotherapy of the tumor - immune interaction. *Journal of Mathematical Biology*, Springer Science and Business Media LLC, v. 37, n. 3, p. 235–252, set. 1998. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s002850050127>>. 17, 18

- KITAMURA, T.; QIAN, B.-Z.; POLLARD, J. W. Immune cell promotion of metastasis. *Nature Reviews Immunology*, Nature Publishing Group, v. 15, n. 2, p. 73–86, 2015. 6, 7
- KLEIN, C. A. Cancer progression and the invisible phase of metastatic colonization. *Nature Reviews Cancer*, Nature Publishing Group, v. 20, n. 11, p. 681–694, 2020. 6, 8
- KNOCHELMANN, H. M. et al. Car t cells in solid tumors: blueprints for building effective therapies. *Frontiers in immunology*, Frontiers, v. 9, p. 1740, 2018. 12
- KUANG, Y. *Delay differential equations: with applications in population dynamics*. [S.l.]: Academic Press, 1993. 22, 23
- KUZNETSOV, V.; KNOTT, G. Modeling tumor regrowth and immunotherapy. *Mathematical and Computer Modelling*, Elsevier BV, v. 33, n. 12-13, p. 1275–1287, jun. 2001. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0895-7177\(00\)00314-9](https://doi.org/10.1016/s0895-7177(00)00314-9)>. 17
- KUZNETSOV, V. et al. Nonlinear dynamics of immunogenic tumors: parameter estimation and global bifurcation analysis. *Bulletin of Mathematical Biology*, Springer Science and Business Media LLC, v. 56, n. 2, p. 295–321, mar. 1994. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0092-8240\(05\)80260-5](https://doi.org/10.1016/s0092-8240(05)80260-5)>. 17, 25, 26
- 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*, MDPI AG, v. 13, n. 4, p. 703, fev. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/cancers13040703>>. 22
- LEÓN-TRIANA, O. et al. CAR t cell therapy in b-cell acute lymphoblastic leukaemia: Insights from mathematical models. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, Elsevier BV, v. 94, p. 105570, mar. 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cnsns.2020.105570>>. 22
- LEVINE, B. L. et al. Global manufacturing of car t cell therapy. *Molecular Therapy-Methods & Clinical Development*, Elsevier, v. 4, p. 92–101, 2017. 14, 15, 21
- LIOTTA, L. A. et al. Micrometastases formation: a probabilistic model. *Cancer Letters*, Elsevier BV, v. 3, p. 203–208, jan. 1977. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0304-3835\(77\)95675-0](https://doi.org/10.1016/s0304-3835(77)95675-0)>. 19
- MAHLBACHER, G. E.; REIHMER, K. C.; FRIEBOES, H. B. Mathematical modeling of tumor-immune cell interactions. *Journal of Theoretical Biology*, Elsevier, v. 469, p. 47–60, 2019. 9, 10
- MAUDE, S. L. et al. Chimeric antigen receptor t cells for sustained remissions in leukemia. *New England Journal of Medicine*, Mass Medical Soc, v. 371, n. 16, p. 1507–1517, 2014. 15, 16
- MICHIELS, W.; NICULESCU, S.-I. *Stability and stabilization of time-delay systems: an eigenvalue-based approach*. [S.l.]: Society for Industrial and Applied Mathematics, 2007. 22
- MOSTOLIZADEH, R.; AFSHARNEZHAD, Z.; MARCINIAK-CZUCHRA, A. Mathematical model of chimeric anti-gene receptor (CAR) t cell therapy with presence of cytokine. *Numerical Algebra, Control & Optimization*, American Institute of Mathematical Sciences (AIMS), v. 8, n. 1, p. 63–80, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.3934/naco.2018004>>. 21
- MURKHERJEE, S. *O imperador de todos os males: uma biografia do câncer*. São Paulo: Companhia das Letras, 2010. 1

- MURPHY, K. *Imunobiologia de janeway-8*. [S.l.]: Artmed Editora, 2014. 9, 10, 11
- O'DONNELL-TORMEY, J.; TONTONOZ, M. Cancer and the immune system: the vital connection. *Cancer Research Institute*, p. 7–8, 2016. 2, 12
- PÉREZ-GARCÍA, V. M. et al. CAR t cells for t-cell leukemias: Insights from mathematical models. *Communications in Nonlinear Science and Numerical Simulation*, Elsevier BV, v. 96, p. 105684, maio 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cnsns.2020.105684>>. 22
- PILLIS, L. et al. Mathematical model creation for cancer chemo-immunotherapy. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, Hindawi Limited, v. 10, n. 3, p. 165–184, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1080/17486700802216301>>. 18
- PILLIS, L.; GALLEGOS, A.; RADUNSKAYA, A. A model of dendritic cell therapy for melanoma. *Frontiers in Oncology*, Frontiers Media SA, v. 3, p. 3–56, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fonc.2013.00056>>. 19
- PILLIS, L. et al. Chemotherapy for tumors: An analysis of the dynamics and a study of quadratic and linear optimal controls. *Mathematical Biosciences*, Elsevier BV, v. 209, n. 1, p. 292–315, set. 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mbs.2006.05.003>>. 25, 26
- PILLIS, L.; GU, W.; RADUNSKAYA, A. Mixed immunotherapy and chemotherapy of tumors: modeling, applications and biological interpretations. *Journal of Theoretical Biology*, Elsevier BV, v. 238, n. 4, p. 841–862, fev. 2006. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2005.06.037>>. 18, 19, 26
- PILLIS, L.; RADUNSKAYA, A. A mathematical model of immune response to tumor invasion. In: *Computational Fluid and Solid Mechanics 2003*. [S.l.]: Elsevier, 2003. p. 1661–1668. 18
- PILLIS, L. G.; RADUNSKAYA, A. A mathematical tumor model with immune resistance and drug therapy: an optimal control approach. *Computational and Mathematical Methods in Medicine*, Taylor & Francis, v. 3, n. 2, p. 79–100, 2001. 18, 24
- PILLIS, L. G.; RADUNSKAYA, A. E. Modeling tumor-immune dynamics. In: *Mathematical models of tumor-immune system dynamics*. [S.l.]: Springer, 2014. p. 59–108. 26
- PILLIS, L. G.; RADUNSKAYA, A. E.; WISEMAN, C. L. A validated mathematical model of cell-mediated immune response to tumor growth. *Cancer Research*, American Association for Cancer Research (AACR), v. 65, n. 17, p. 7950–7958, set. 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-0564>>. 18
- PINHO, S.; FREEDMAN, H.; NANI, F. A chemotherapy model for the treatment of cancer with metastasis. *Mathematical and Computer Modelling*, Elsevier BV, v. 36, n. 7-8, p. 773–803, nov. 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0895-7177\(02\)00227-3](https://doi.org/10.1016/s0895-7177(02)00227-3)>. 20, 24, 25, 26, 38, 39
- QOMLAQI, M. et al. An extended mathematical model of tumor growth and its interaction with the immune system, to be used for developing an optimized immunotherapy treatment protocol. *Mathematical Biosciences*, Elsevier BV, v. 292, p. 1–9, out. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.mbs.2017.07.006>>. 19
- RHODES, A.; HILLEN, T. A mathematical model for the immune-mediated theory of metastasis. *Journal of Theoretical Biology*, Elsevier, v. 482, p. 109999, 2019. 6, 7, 8, 21, 25, 26, 33, 36

- RODRIGUES, B. d. J. *Modelagem matemática da imunoterapia com células CAR T*. Dissertação (Mestrado) — Laboratório Nacional de Computação Científica, 2019. 38, 39, 46
- RODRIGUES, D. S. et al. A mathematical model for chemoimmunotherapy of chronic lymphocytic leukemia. *Applied Mathematics and Computation*, Elsevier, v. 349, p. 118–133, 2019. 24, 25, 26
- ROSENBERG, S. A.; RESTIFO, N. P. Adoptive cell transfer as personalized immunotherapy for human cancer. *Science*, American Association for the Advancement of Science, v. 348, n. 6230, p. 62–68, 2015. 13
- SAHOO, P. et al. Mathematical deconvolution of car t-cell proliferation and exhaustion from real-time killing assay data. *Journal of the Royal Society Interface*, The Royal Society, v. 17, n. 162, p. 20190734, 2020. 17, 21, 22
- SAIDEL, G. M.; LIOTTA, L. A.; KLEINERMAN, J. System dynamics of a metastatic process from an implanted tumor. *Journal of Theoretical Biology*, Elsevier BV, v. 56, n. 2, p. 417–434, fev. 1976. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0022-5193\(76\)80083-5](https://doi.org/10.1016/s0022-5193(76)80083-5)>. 19
- SCHACHT, C. et al. Estimation of probability distributions of parameters using aggregate population data: analysis of a CAR t-cell cancer model. *Mathematical Biosciences and Engineering*, American Institute of Mathematical Sciences (AIMS), v. 16, n. 6, p. 7299–7326, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.3934/mbe.2019365>>. 21
- SMITH, H. L. *An introduction to delay differential equations with applications to the life sciences*. [S.l.]: Springer New York, 2011. v. 57. 23, 29, 44, 63
- SWIECH, K.; MALMEGRIM, K. C. R.; PICANÇO-CASTRO, V. *Chimeric Antigen Receptor T cells*. [S.l.]: Springer, 2020. 13
- TOMASETTI, C.; LI, L.; VOGELSTEIN, B. Stem cell divisions, somatic mutations, cancer etiology, and cancer prevention. *Science*, American Association for the Advancement of Science (AAAS), v. 355, n. 6331, p. 1330–1334, mar. 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1126/science.aaf9011>>. 2
- WEI, G. et al. Advances of cd19-directed chimeric antigen receptor-modified t cells in refractory/relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Experimental Hematology & Oncology*, BioMed Central, v. 6, n. 1, p. 1–7, 2017. 13, 14, 15, 16
- WEINBERG, R. A. How cancer arises. *Scientific American*, JSTOR, v. 275, n. 3, p. 62–70, 1996. 2
- WEINBERG, R. A. *A biologia do câncer*. [S.l.]: Artmed Editora, 2008. 1, 2, 3, 6, 12, 25, 26, 39
- WHO. *World Health Organization report on cancer: setting priorities, investing wisely and providing care for all*. 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/publications/i/item/who-report-on-cancer-setting-priorities-investing-wisely-and-providing-care-for-all>>. Acessado em: 12/05/2020. 1
- ZHANG, H.; CHEN, J. Current status and future directions of cancer immunotherapy. *Journal of Cancer*, Ivyspring International Publisher, v. 9, n. 10, p. 1773–1781, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.7150/jca.24577>>. 12

ZHAO, J. et al. Chimeric antigen receptor therapy in hematological malignancies: antigenic targets and their clinical research progress. *Annals of Hematology*, Springer Science and Business Media LLC, v. 99, n. 8, p. 1681–1699, maio 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00277-020-04020-7>. 13

Apêndices

A Análise da Estabilidade do Modelo (4.1)

Definido que as variáveis de estado são não negativas ao longo do tempo, analisa-se a existência dos pontos de equilíbrio. Para obtenção desses pontos, deve-se resolver o sistema homogêneo associado ao sistema (4.1), ou seja,

$$\begin{cases} r_1 N_1 \left(1 - \frac{N_1}{k_1}\right) - \gamma_1 N_1 C_{T_1} - \delta_1 N_1 & = 0 \\ \phi_1 C_{T_1} - \rho_1 C_{T_1} - \mu_1 C_{T_1} - \alpha_1 N_1 C_{T_1} & = 0 \\ r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} + \epsilon \delta_1 N_1 (t - \tau) & = 0 \\ \phi_2 C_{T_2} - \rho_2 C_{T_2} - \mu_2 C_{T_2} - \alpha_2 N_2 C_{T_2} & = 0 \end{cases} . \quad (\text{A.1})$$

Da primeira equação de (A.1), segue que:

$$N_1 = 0 \quad (\text{A.2})$$

ou

$$N_1^+ = \frac{k_1}{r_1} (r_1 - \gamma_1 C_{T_1} - \delta_1). \quad (\text{A.3})$$

Considerando a igualdade em (A.2), temos o seguinte sistema:

$$\begin{cases} \phi_1 C_{T_1} - \rho_1 C_{T_1} - \mu_1 C_{T_1} & = 0 \\ r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} & = 0 \\ \phi_2 C_{T_2} - \rho_2 C_{T_2} - \mu_2 C_{T_2} - \alpha_2 N_2 C_{T_2} & = 0 \end{cases} . \quad (\text{A.4})$$

Da primeira e segunda equação do sistema (A.4), obtemos:

$$C_{T_1} = 0 \quad (\text{A.5})$$

ou

$$\phi_1 - \rho_1 - \mu_1 = 0. \quad (\text{A.6})$$

$$N_2 = 0 \quad (\text{A.7})$$

ou

$$N_2^+ = \frac{k_2}{r_2} (r_2 - \gamma_2 C_{T_2}). \quad (\text{A.8})$$

Considerando a igualdade em (A.7) e substituindo na terceira equação do sistema (A.4), obtemos:

$$C_{T_2} = 0 \quad (\text{A.9})$$

ou

$$\phi_2 - \rho_2 - \mu_2 = 0. \quad (\text{A.10})$$

Dessa forma, temos o ponto de equilíbrio livre da doença, dado por:

$$S_0^* = (0, 0, 0, 0). \quad (\text{A.11})$$

Agora, considerando a igualdade em (A.8) e substituindo na terceira equação do sistema (A.4), temos:

$$C_{T_2} = 0 \quad (\text{A.12})$$

ou

$$\phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 N_2 = 0. \quad (\text{A.13})$$

Substituindo (A.8) em (A.13), temos:

$$\alpha_2 \frac{k_2}{r_2} (r_2 - \gamma_2 C_{T_2}) = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2, \quad (\text{A.14})$$

$$C_{T_2} = \frac{r_2}{\gamma_2} + \frac{r_2(-\phi_2 + \rho_2 + \mu_2)}{\alpha_2 k_2 \gamma_2}. \quad (\text{A.15})$$

Se (A.9), temos:

$$N_2 = k_2. \quad (\text{A.16})$$

Dessa forma, obtemos mais um ponto de equilíbrio, dado por:

$$S_1^* = (0, 0, k_2, 0). \quad (\text{A.17})$$

Agora, utilizando a equação (A.13), temos:

$$N_2 = \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}. \quad (\text{A.18})$$

Desse modo, temos o seguinte ponto de equilíbrio:

$$S_2^* = \left(0, 0, \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}, \frac{r_2}{\gamma_2} + \frac{r_2(\phi_2 - \rho_2 - \mu_2)}{\alpha_2 k_2 \gamma_2} \right). \quad (\text{A.19})$$

Para que o ponto S_2^* exista, a seguinte condição deve ser satisfeita:

$$\phi_2 \geq \rho_2 + \mu_2, \quad (\text{A.20})$$

No entanto, a condição estabelecida em (A.20) não pode ser satisfeita, uma vez que, o conjunto de valores adotados como padrão não satisfaz a dada condição. Logo, o ponto de equilíbrio S_2^* não será analisado.

Considerando a igualdade em (A.3), temos:

$$C_{T_1} = 0 \quad (\text{A.21})$$

ou

$$\phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 N_1 = 0. \quad (\text{A.22})$$

Substituindo (A.3) em (A.22), obtemos:

$$\frac{k_1}{r_1}(r_1 - \gamma_1 C_{T_1} - \delta_1) = \frac{\phi_1 - \rho_1 - \mu_1}{\alpha_1}, \quad (\text{A.23})$$

$$C_{T_1} = - \left[\frac{(\phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 k_1)}{\alpha_1 k_1 \gamma_1} + \frac{\delta_1}{\gamma_1} \right]. \quad (\text{A.24})$$

Considerando a igualdade em (A.21) e substituindo em (A.3), segue que:

$$N_1 = k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{\gamma_1}. \quad (\text{A.25})$$

Logo,

$$\begin{cases} r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} + \epsilon \delta_1 N_1 = 0 \\ C_{T_2} (\phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 N_2) = 0 \end{cases}. \quad (\text{A.26})$$

Da segunda equação do sistema (A.26), obtemos:

$$C_{T_2} = 0 \quad (\text{A.27})$$

ou

$$N_2 = \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}. \quad (\text{A.28})$$

Considerando a igualdade em (A.28) e substituindo na primeira equação em (A.26), segue que:

$$r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) - \gamma_2 N_2 C_{T_2} + \epsilon \delta_1 N_1 = 0, \quad (\text{A.29})$$

$$C_{T_2} = \frac{k_2 r_2 N_2 - r_2 N_2^2 + k_2 \epsilon \delta_1 N_1}{k_2 \gamma_2 N_2}. \quad (\text{A.30})$$

Substituindo (A.25) e (A.28) em (A.30), temos:

$$C_{T_2}^* = \frac{r_2}{\gamma_2} - \frac{r_2 (\phi_2 - \rho_2 - \mu_2)}{k_2 \gamma_2 \alpha_2} + \frac{\epsilon \delta_1 \alpha_2 (k_1 r_1 - k_1 \delta_1)}{\gamma_2 r_1 (\phi_2 - \rho_2 - \mu_2)}. \quad (\text{A.31})$$

Dessa forma, obtemos o seguinte ponto de equilíbrio:

$$S_3^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{\phi_2 - \rho_2 - \mu_2}{\alpha_2}, C_{T_2}^* \right). \quad (\text{A.32})$$

Logo, em relação ao ponto de equilíbrio S_3^* , temos as seguintes condições de existência:

$$r_1 \geq \delta_1, \quad (\text{A.33})$$

$$\phi_2 \geq \rho_2 + \mu_2, \quad (\text{A.34})$$

$$k_2 \alpha_2 \geq \phi_2 - \rho_2 - \mu_2. \quad (\text{A.35})$$

A condição de existência (A.33) é satisfeita, dado que, a taxa de crescimento (r_1) das células tumorais é maior que a taxa das células que deixam o sítio primário (δ_1). Já a condição (A.34), não pode ser satisfeita, logo o ponto S_3^* é desconsiderado para o conjunto de parâmetros adotados. Agora, considerando a igualdade em (A.27) e substituindo em (A.26), obtemos:

$$r_2 N_2 \left(1 - \frac{N_2}{k_2}\right) + \epsilon \delta_1 N_1 = 0, \quad (\text{A.36})$$

$$-\frac{N_2^2 r_2}{k_2} + r_2 N_2 + \epsilon \delta_1 N_1 = 0, \quad (\text{A.37})$$

$$N_2 = \left(-r_2 \pm \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon N_1}{k_2}}\right) \left(-\frac{k_2}{2r_2}\right). \quad (\text{A.38})$$

Assim, temos os pontos de equilíbrio em que tem-se a doença estabelecida em ambos os sítios:

$$S_4^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} - \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right). \quad (\text{A.39})$$

$$S_5^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} + \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right). \quad (\text{A.40})$$

Tomando,

$$A = \frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}. \quad (\text{A.41})$$

Para o ponto S_4^* , temos as seguintes condições:

$$A \geq 0 \iff k_2 r_1 r_2 \geq -4\epsilon \delta_1 k_1 (r_1 - \delta_1). \quad (\text{A.42})$$

Logo, A é positivo, uma vez que $r_1 - \delta_1 > 0$. Desse modo, temos a seguinte condição em relação ao ponto S_4^* :

$$r_1 \geq \delta_1, \quad (\text{A.43})$$

$$r_2 \geq \sqrt{A}. \quad (\text{A.44})$$

Dada a semelhança entre os pontos de equilíbrio S_4^* e S_5^* , a restrição (A.43) é aplicada para ambos. Para o conjunto de parâmetros adotados as condições de existência e satisfeita para os dois pontos. Dessa forma, os únicos pontos de equilíbrio a serem analisados são:

- $S_0^* = (0, 0, 0, 0)$;
- $S_1^* = (0, 0, k_2, 0)$;
- $S_4^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} - \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right)$;
- $S_5^* = \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1}, 0, \frac{k_2}{2} + \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, 0\right)$.

A.0.1 Classificação dos Pontos de Equilíbrio

Para analisar a estabilidade dos pontos de equilíbrio é construída a matriz Jacobiana associada ao sistema (4.1). Seja $A(S_i^*)$ a matriz Jacobiana do sistema (4.1) avaliada em cada ponto de equilíbrio S_i , dada por:

$$A(S_i^*) = \begin{pmatrix} D_1 & -\gamma_1 N_1 & 0 & 0 \\ -\alpha_1 C_{T_1} & \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 N_1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & D_2 & -\gamma_2 N_2 \\ 0 & 0 & -\alpha_2 C_{T_2} & \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 N_2 \end{pmatrix}. \quad (\text{A.45})$$

em que,

$$D_1 = r_1 - \frac{2r_1 N_1}{k_1} - \gamma_1 C_{T_1} - \delta_1, \quad (\text{A.46})$$

$$D_2 = r_2 - \frac{2r_2 N_2}{k_2} - \gamma_2 C_{T_2}. \quad (\text{A.47})$$

Dessa forma, a equação característica associada é dado por (SMITH, 2011):

$$\det[\lambda I - A(S_1^*) - e^{-\tau\lambda} B] = 0. \quad (\text{A.48})$$

Para o ponto de equilíbrio S_0^* , temos:

$$A(S_0^*) = \begin{pmatrix} r_1 - \delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & r_2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 \end{pmatrix}. \quad (\text{A.49})$$

$$B = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ \epsilon\delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \quad (\text{A.50})$$

Logo,

$$\det[\lambda I - A(S_0^*) - e^{-\tau\lambda} B] = \det \begin{vmatrix} \lambda - r_1 + \delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda - D_1^+ & 0 & 0 \\ -\epsilon\delta_1 e^{-\tau\lambda} & 0 & \lambda - r_2 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \lambda - D_2^+ \end{vmatrix} = 0. \quad (\text{A.51})$$

em que,

$$D_1^+ = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1, \quad (\text{A.52})$$

$$D_2^+ = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2. \quad (\text{A.53})$$

Dessa forma, obtemos a seguinte equação característica:

$$(\lambda - r_1 + \delta_1)(\lambda - \phi_1 + \rho_1 + \mu_1)(\lambda - r_2)(\lambda - \phi_2 + \rho_2 + \mu_2) = 0. \quad (\text{A.54})$$

Resolvendo (A.54), obtemos os seguintes autovalores:

$$\begin{cases} \lambda_1 = r_1 - \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 \\ \lambda_3 = r_2 \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 \end{cases}. \quad (\text{A.55})$$

Analisando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_0^* , temos que $\lambda_3 > 0$, uma vez que, todos os parâmetros são não negativos, logo o ponto é classificado como instável. Em relação ao ponto S_1^* , temos:

$$\det[\lambda I - A(S_1^*) - e^{-\tau\lambda}B] = \det \begin{vmatrix} \lambda - r_1 + \delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & \lambda - D_3^+ & 0 & 0 \\ -\epsilon\delta_1 e^{-\tau\lambda} & 0 & \lambda + r_2 & -\gamma_2 k_2 \\ 0 & 0 & 0 & \lambda - D_4^+ \end{vmatrix} = 0. \quad (\text{A.56})$$

em que,

$$D_3^+ = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2, \quad (\text{A.57})$$

$$D_4^+ = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 k_2. \quad (\text{A.58})$$

Dessa forma, obtemos a seguinte equação característica:

$$(\lambda - r_1 + \delta_1)(\lambda - \phi_1 + \rho_1 + \mu_1)(\lambda + r_2)(\lambda - \phi_2 + \rho_2 + \mu_2 + \alpha_2 k_2) = 0. \quad (\text{A.59})$$

Resolvendo (A.59), obtemos os seguintes autovalores:

$$\begin{cases} \lambda_1 = r_1 - \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 \\ \lambda_3 = -r_2 \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 k_2 \end{cases}. \quad (\text{A.60})$$

Analisando os autovalores associados, temos que $\lambda_3 < 0$. Se (A.61), (A.62) e (A.63) ocorrer, $\lambda_1 < 0$, $\lambda_2 < 0$ e $\lambda_4 < 0$. Portanto, o ponto S_1^* é classificado como localmente assintoticamente estável.

$$r_1 < \delta_1, \quad (\text{A.61})$$

$$\phi_1 < \rho_1 + \mu_1, \quad (\text{A.62})$$

$$\phi_2 < \rho_2 + \mu_2 + \alpha_2 k_2. \quad (\text{A.63})$$

Entretanto, para o conjunto de valores adotados para os parâmetros, temos que a condição (A.61) não é satisfeita. Dessa forma, o ponto é classificado como instável para o conjunto de valores utilizados (Tabela 2). Para o ponto de equilíbrio S_4^* , temos:

$$A(S_4^*) = \begin{pmatrix} -r_1 + \delta_1 & -\gamma_1 \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1} \right) & 0 & 0 \\ 0 & D_5^+ & 0 & 0 \\ 0 & 0 & D_6^+ & D_7^+ \\ 0 & 0 & 0 & D_8^+ \end{pmatrix}. \quad (\text{A.64})$$

$$B = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ \epsilon \delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \quad (\text{A.65})$$

Logo,

$$\det[\lambda I - A(S_4^*) - e^{-\tau\lambda} B] = \det \begin{vmatrix} \lambda + r_1 - \delta_1 & -\gamma_1 \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1} \right) & 0 & 0 \\ 0 & \lambda - D_5^+ & 0 & 0 \\ -\epsilon \delta_1 e^{-\tau\lambda} & 0 & \lambda - D_6^+ & D_7^+ \\ 0 & 0 & 0 & \lambda - D_8^+ \end{vmatrix} = 0. \quad (\text{A.66})$$

em que,

$$\begin{aligned} D_5^+ &= \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1} \right), \\ D_6^+ &= \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, \\ D_7^+ &= -\gamma_2 \left(\frac{k_2}{2} - \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \right), \\ D_8^+ &= \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 \left(\frac{k_2}{2} - \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \right). \end{aligned} \quad (\text{A.67})$$

Resolvendo (A.66), temos os seguintes autovalores:

$$\begin{cases} \lambda_1 = -r_1 + \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 k_1 \left(1 - \frac{\delta_1}{r_1} \right) \\ \lambda_3 = \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \frac{\alpha_2 k_2}{2} \left(1 - \frac{k_2}{r_2} \left(\sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \right) \right) \end{cases}. \quad (\text{A.68})$$

Observando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_4^* , podemos concluir que o ponto é classificado como instável, pois $\lambda_3 > 0$. Agora, em relação ao ponto de equilíbrio S_5^* , temos:

$$A(S_5^*) = \begin{pmatrix} -r_1 + \delta_1 & -\gamma_1 \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1} \right) & 0 & 0 \\ 0 & D_9^+ & 0 & 0 \\ 0 & 0 & D_{10}^+ & D_{11}^+ \\ 0 & 0 & 0 & D_{12}^+ \end{pmatrix}. \quad (\text{A.69})$$

$$B = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \\ \epsilon \delta_1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}. \quad (\text{A.70})$$

Logo,

$$\det[\lambda I - A(S_5^*) - e^{-\tau\lambda} B] = \det \begin{vmatrix} \lambda + r_1 - \delta_1 & -\gamma_1 \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1} \right) & 0 & 0 \\ 0 & \lambda - D_9^+ & 0 & 0 \\ -\epsilon \delta_1 e^{-\tau\lambda} & 0 & \lambda - D_{10}^+ & D_{11}^+ \\ 0 & 0 & 0 & \lambda - D_{12}^+ \end{vmatrix} = 0. \quad (\text{A.71})$$

em que,

$$D_9^+ = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 \left(k_1 - \frac{k_1 \delta_1}{r_1} \right), \quad (\text{A.72})$$

$$D_{10}^+ = \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}}, \quad (\text{A.73})$$

$$D_{11}^+ = -\gamma_2 \left(\frac{k_2}{2} + \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \right), \quad (\text{A.74})$$

$$D_{12}^+ = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 \left(\frac{k_2}{2} + \frac{k_2}{2r_2} \sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \right). \quad (\text{A.75})$$

Resolvendo (A.75), temos os seguintes autovalores:

$$\begin{cases} \lambda_1 = -r_1 + \delta_1 \\ \lambda_2 = \phi_1 - \rho_1 - \mu_1 - \alpha_1 k_1 \left(1 - \frac{\delta_1}{r_1} \right) \\ \lambda_3 = -\sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \\ \lambda_4 = \phi_2 - \rho_2 - \mu_2 - \alpha_2 M \end{cases}. \quad (\text{A.76})$$

em que,

$$M = \frac{k_2}{2} \left(1 + \frac{1}{r_2} \left(\sqrt{\frac{k_2 r_2^2 + 4r_2 \epsilon \delta_1 k_1}{k_2} - \frac{4r_2 \epsilon \delta_1^2 k_1}{r_1 k_2}} \right) \right). \quad (\text{A.77})$$

Analisando os autovalores associados ao ponto de equilíbrio S_5^* , temos que $\lambda_3 < 0$. Se (A.78), (A.79) e (A.80) ocorrerem, $\lambda_1 < 0$, $\lambda_2 < 0$ e $\lambda_4 < 0$. Portanto, o ponto S_5^* é classificado como localmente assintoticamente estável.

$$r_1 > \delta_1, \quad (\text{A.78})$$

$$\phi_1 < \rho_1 + \mu_1 + \alpha_1 k_1 \left(1 - \frac{\delta_1}{r_1}\right), \quad (\text{A.79})$$

$$\phi_2 < \rho_2 + \mu_2 + \alpha_2 M. \quad (\text{A.80})$$

Todas as condições (A.78), (A.79) e (A.80) são satisfeitas para o conjunto de valores adotados para os parâmetros. Utilizando os valores dos parâmetros descritos na Tabela (2), temos os seguintes autovalores associados ao ponto S_5^* :

$$\begin{cases} \lambda_1 = -0,090 \\ \lambda_2 = -0,089 \\ \lambda_3 = -445,08 \\ \lambda_4 = -450,08 \end{cases} . \quad (\text{A.81})$$

Logo, o ponto S_5^* é classificado como assintoticamente estável.