



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS FÍSICAS E MATEMÁTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MATEMÁTICA PURA E APLICADA

Victória Foyes Gittens

**Modelagem Matemática e Simulação Numérica do Recrutamento de Células
Natural Killer e T CD8⁺ na Viroterapia Oncolítica**

Florianópolis
2022

Victória Foyes Gittens

**Modelagem Matemática e Simulação Numérica do Recrutamento de Células
Natural Killer e T CD8⁺ na Viroterapia Oncolítica**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação
em Matemática Pura e Aplicada da Universidade
Federal de Santa Catarina para a obtenção do tí-
tulo de mestre em Matemática Aplicada.
Orientador: Prof. Vladimir Pestov, Dr.
Coorientadora: Prof. Sonia Elena Palomino Castro,
Dra.

Florianópolis
2022

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Gittens, Victória Foyes
Modelagem Matemática e Simulação Numérica do
Recrutamento de Células Natural Killer e T CD8+ na
Viroterapia Oncolítica / Victória Foyes Gittens ;
orientador, Vladimir Pestov, coorientadora, Sonia Elena
Palomino Castro, 2022.
92 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas,
Programa de Pós-Graduação em Matemática Pura e Aplicada,
Florianópolis, 2022.

Inclui referências.

1. Matemática Pura e Aplicada. 2. Modelagem Matemática.
3. Equações Diferenciais Ordinárias. 4. Imuno-oncologia. 5.
Simulações Numéricas. I. Pestov, Vladimir. II. Castro,
Sonia Elena Palomino . III. Universidade Federal de Santa
Catarina. Programa de Pós-Graduação em Matemática Pura e
Aplicada. IV. Título.

Victória Foyes Gittens

Modelagem Matemática e Simulação Numérica do Recrutamento de Células Natural Killer e T CD8⁺ na Viroterapia Oncolítica

O presente trabalho em nível de mestrado foi avaliado e aprovado por banca examinadora composta pelos seguintes membros:

Prof. Paulo Fernando de Arruda Mancera, Dr.
Universidade Estadual Paulista

Prof. Leonardo Silveira Borges, Dr.
Universidade Federal de Santa Catarina

Certificamos que esta é a **versão original e final** do trabalho de conclusão que foi julgado adequado para obtenção do título de mestre em Matemática Aplicada.

Coordenação do Programa de
Pós-Graduação

Prof. Vladimir Pestov, Dr.
Orientador

Florianópolis, 2022.

Aos meus pais.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais por todo o apoio, amor, compreensão e sacrifícios que fizeram por mim. Nada disso seria possível sem o esforço que fazem diariamente.

Aos meus orientadores Vladimir Pestov e Sonia Palomino por me guiarem durante todo o processo. Em especial, à Sonia Palomino por confiar no meu trabalho e por me ensinar com todo o respeito e carinho o que é ser uma pesquisadora.

Ao meu irmão Wil por acreditar no meu potencial, torcer, incentivar e estar sempre disponível para me ajudar.

Aos meus amigos Bruna Pacheco, Victor Pierri, Yuri Braga, Tainá Johnson e Carlos Caldeira por todo o apoio, dentro e fora do mestrado.

Aos professores Leonardo Borges e Paulo Mancera por fazerem parte da banca e por suas valiosas contribuições.

Ao CNPq pelo financiamento do trabalho.

RESUMO

Atualmente, os tipos mais importantes de imunoterapias são aquelas especialmente desenvolvidas para ativar respostas imunes inatas e adaptativas no microambiente tumoral (TME). Vírus oncolíticos são capazes de infectar e matar células tumorais, enquanto desencadeiam respostas imunes antitumorais sistêmicas, mostrando-se um tratamento de câncer promissor e de fácil combinação com outros tipos de terapia, como mostrado em estudos clínicos recentes. Neste contexto, esta dissertação propõe um novo modelo de equações diferenciais ordinárias não-lineares, descrevendo as interações no TME entre as células tumorais, células *natural killer* (NK), células T citotóxicas CD8⁺ e partículas de vírus oncolítico, com o objetivo de determinar como o sistema imune influencia na viroterapia e como pode ser usado para melhorar o prognóstico da terapia. A partir de simulações numéricas, mostra-se que: a eficácia da viroterapia oncolítica é maior em tumores grandes; o influxo constante de células NK no TME pode ter papel fundamental no sucesso da viroterapia; o sistema imune do hospedeiro sozinho não é suficiente para impedir a progressão do tumor; a variação da citopaticidade do vírus oncolítico influencia no resultado da terapia; a imunidade inicial do paciente pode prejudicar a eficácia da terapia.

Palavras-chave: equações diferenciais ordinárias. estabilidade. análise qualitativa. imuno-oncologia. imunologia. análise de sensibilidade.

ABSTRACT

Currently, the most important types of immunotherapies are those specially developed to activate innate and adaptive immune responses in the tumor microenvironment (TME). Oncolytic viruses are able to infect and kill tumor cells, while triggering systemic antitumor immune responses, proving to be a promising cancer treatment and easy to combine with other types of therapy, as shown in recent clinical studies. In this context, this dissertation proposes a new nonlinear ordinary differential equation model, describing the interactions in the TME between tumor cells, natural killer (NK) cells, CD8⁺ cytotoxic T cells and oncolytic virus particles, with the aim of determining how the immune system influences virotherapy and how it can be used to improve the prognosis of therapy. From numerical simulations, it is shown that: the effectiveness of oncolytic virotherapy is greater in large tumors; the constant influx of NK cells into the TME may play a key role in the success of virotherapy; the host's immune system alone is not sufficient to prevent tumor progression; the variation in the cytopathicity of the oncolytic virus influences the outcome of the therapy; the patient's initial immunity may impair the effectiveness of the therapy.

Keywords: ordinary differential equations. stability. qualitative analysis. immuno-oncology. immunology. sensitivity analysis.

LISTA DE FIGURAS

<p>Figura 1 – Diagrama esquemático das interações locais entre células tumorais, vírus oncolíticos, células NK e células T CD8⁺ no TME. Células tumorais não-infectadas (T_U) proliferam-se e sofrem morte natural. Após a injeção de vírus oncolíticos (V) no sistema, as células tumorais não-infectadas passam a ser células tumorais infectadas (T_I). Células tumorais infectadas sofrem lise e liberam novas partículas de vírus. As células NK (N) sempre estão presentes no microambiente tumoral, através do influxo constante (s_2). As células NK tornam-se ativas por meio da morte celular imunogênica sofrida por células tumorais infectadas, o que gera recrutamento de outras células NK e de células T CD8⁺ (L). Além disso, células NK e T CD8⁺ matam células tumorais, e células NK matam partículas de vírus oncolíticos. Por fim, células NK e T CD8⁺ sofrem morte natural.</p>	21
<p>Figura 2 – Resultados do PRCC. Cada gráfico de barras indica o PRCC entre o total de células tumorais e os parâmetros do submodelo.</p>	61
<p>Figura 3 – Resultados do PRCC. Cada gráfico de barras indica o PRCC entre o total de células tumorais e os parâmetros do modelo imunocompetente. Em (a) sensibilidade relativa da população de células tumorais nos dias 1, 5, 10, 15, 30 após o tratamento com vírus oncolítico; Em (b) sensibilidade relativa da população de células tumorais nos dias 50, 70, 100, 150 após o tratamento com vírus oncolíticos.</p>	63
<p>Figura 4 – População de células tumorais no caso em que: (a) $T_{U0} = 10^6$ células, $V_0 = 10^3$ PFU; (b) $T_{U0} = 5 \times 10^7$ células, $V_0 = 10^3$ PFU.</p>	67
<p>Figura 5 – Comparação do impacto de diferentes citopaticidades virais. As figuras da esquerda mostram o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico de baixa citopaticidade ($e_1 = 0,04$). Nas figuras da direita, é possível ver o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico de alta citopaticidade ($e_1 = 0,4$). Os outros parâmetros seguem os valores da Tabela 2.</p>	69
<p>Figura 5 –</p>	70

Figura 6 – Comparação do impacto de diferentes imunidades iniciais. As figuras da esquerda mostram o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico, no caso em que a imunidade inicial é fraca ($T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $T_{i0} = 0$ células, $V_0 = 10^3$ PFU, $N_0 = 10^3$ células e $L_0 = 10$ células, $s_2 = 3,2 \times 10^3$ células). Nas figuras da direita, é possível ver o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico, no caso em que a imunidade inicial é forte ($T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $T_{i0} = 0$ células, $V_0 = 10^3$ PFU, $N_0 = 10^5$ células e $L_0 = 10^2$ células, $s_2 = 3,2 \times 10^4$ células). Os outros parâmetros seguem os valores da Tabela 2. 73

Figura 6 – 74

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Descrição das expressões matemáticas.	22
Tabela 2 – Definições, valores e referências dos parâmetros presentes no modelo.	26
Tabela 3 – <i>p-values</i>	62
Tabela 4 – <i>p-values</i>	65
Tabela 5 – Parâmetros com correlação significativa com o total de células tumorais.	66

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
2	PROPOSTA DO MODELO	20
3	ANÁLISE DO MODELO	27
3.1	MODELO IMUNOCOMPETENTE	27
3.1.1	Pontos Estacionários	35
3.1.2	Análise de Estabilidade	42
3.2	SUBMODELO LIVRE DE IMUNIDADE	48
3.2.1	Número Básico de Reprodução	49
3.2.2	Análise de Estabilidade	52
4	RESULTADOS	60
4.1	ANÁLISE DE SENSIBILIDADE GLOBAL	60
4.1.1	Submodelo Livre de Imunidade	60
4.1.2	Modelo Imunocompetente	62
4.2	SIMULAÇÕES NUMÉRICAS	66
4.2.1	Viroterapia com a ausência de células imunes	66
4.2.2	Viroterapia com a presença de células imunes	68
4.2.2.1	Variando a citopaticidade do vírus	68
4.2.2.2	Variando a imunidade	72
5	CONCLUSÃO	77
	REFERÊNCIAS	79
	GLOSSÁRIO	86
	ANEXO A – FERRAMENTAS	90

1 INTRODUÇÃO

Segundo a Agência Internacional para Pesquisas em Câncer, uma em cada cinco pessoas no mundo desenvolvem câncer durante sua vida (WORLD CANCER DAY, 2022). O câncer não é uma doença única, mas um espectro amplo de condições causadas por uma falha de controle que normalmente regula a proliferação, diferenciação e a sobrevivência das células (ROITT *et al.*, 2013). Células cancerosas diferenciam-se de células normais de diversas formas, como por exemplo: células cancerosas podem crescer sem precisarem receber sinais, são capazes de ignorar sinais que dizem para as células pararem de se dividir ou fazerem **apoptose**, podem invadir áreas próximas e até se espalharem para outros locais do corpo, sinalizar o crescimento de vasos sanguíneos nos tumores, permitindo que sejam supridos com nutrientes e oxigênio, são capazes de se evadir do sistema imune e, convenientemente, manipular o sistema imune para ajudá-las a se manterem vivas e crescendo. Visto que esse tipo de célula, em muitos casos, depende de tais mecanismos para sobreviver, diversos tratamentos aproveitam-se dessas necessidades para erradicar o tumor, por exemplo, inibindo **fatores de crescimento**, impedindo o crescimento de vasos sanguíneos na região do tumor, etc. (WHAT IS CANCER?, 2021).

No que tange à resposta imunológica, os tumores sobrevivem e crescem no ambiente hostil de um sistema imunológico saudável por meio da manipulação, atenuando as respostas efetoras das células do **sistema imune inato**, limitando a exibição de **antígenos** e paralisando as células efetoras imunes **infiltrantes** (LICHTY *et al.*, 2014). Isto acontece, pois os cânceres representam o que é próprio (ou seja, o que está normalmente presente no corpo) e por isso não têm **padrões moleculares associados a patógenos** (PAMP, do inglês, *pathogen-associated molecular patterns*), que normalmente são necessários para desencadear respostas imunes eficazes (ROITT *et al.*, 2013). Além disso, normalmente, as células do sistema imune adaptativo não entram nos tecidos, a não ser que sejam recrutadas pelas células do sistema imune inato em consequência das respostas inflamatórias desencadeadas pelos PAMP. Como as **células dendríticas** que residem nos tecidos são **células imaturas**, não migram aos **linfonodos** para apresentar antígenos, a menos que sejam ativadas por um PAMP ou outra fonte de estimulação dos receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, do inglês, *pattern recognition receptors*). Por isso, um antígeno produzido pelo tumor provavelmente é ignorado pelo sistema imune (a não ser que entre em contato com uma célula dendrítica madura) e cria-se tolerância a este antígeno. Neste caso, a tolerância se dá por omissão, mas os tumores também levam as células dendríticas a tolerarem os antígenos estranhos do ambiente secretando interleucina 10 (**IL – 10**), fator de crescimento endotelial vascular (**VEGF**, do inglês, *vascular endothelial growth*

factor), fator de crescimento transformador beta (TGF- β , do inglês, *transforming growth factor beta*), que suprimem a ativação, proliferação e diferenciação das células T. Assim, pode-se dizer que grande parte do insucesso do sistema imune adaptativo em combater tumores pode ser explicada pela apatia ou tolerância das células T (ROITT *et al.*, 2013). Deste modo, o tumor cria um nicho de imunossupressão inata e adaptativa, que permite sua fuga de sistemas reguladores homeostáticos. Apesar dessa região de privilégio imunológico proteger o tumor do ataque do sistema imune, isto tem um preço: as células tumorais têm maior limitação na capacidade de responder a infecções virais do que tecidos normais e, portanto, podem ser atacadas e destruídas por vírus manipulados (LICHTY *et al.*, 2014).

Agentes infecciosos presentes no ambiente extracelular sofrem ações dos PRRs solúveis e **fagocitose** pelos **macrófagos** e **neutrófilos**. Para lidar com agentes infecciosos dentro das células do hospedeiro, o corpo possui no sistema imune células chamadas de *natural killer* (NK), **linfócito granular grande** capaz de buscar padrões anormais de expressão proteica em células infectadas por vírus e destruir células que sofreram mutações e estão transformando-se em tumores (ROITT *et al.*, 2013). As células NK compõem a terceira maior população de células linfóides presentes no sangue dos humanos (ZWIRNER, DOMAICA, FUERTES, 2020). Nos últimos 30 anos, muitos estudos foram feitos para determinar e explicar os mecanismos que permitem que células NK distingam células alvo de células saudáveis (VIVIER *et al.*, 2008). Um dos critérios utilizados é a ausência do que é próprio, isto é, células que não possuem moléculas do **Complexo Principal de Histocompatibilidade** (MHC, do inglês, *major histocompatibility complex*) - proteínas presentes na superfície de praticamente todas as células nucleadas do organismo - são reconhecidas e destruídas pelas células NK (ROITT *et al.*, 2013). A expressão das moléculas do MHC pode ser suprimida por meio da ação de **interferons** e as células NK também são capazes de reconhecer tal supressão. Além disso, as *natural killer* inspecionam as células em busca da expressão de moléculas MHC-relacionadas, proteínas que aparecem em resposta a estresse, como por exemplo, danos ao DNA, sendo este critério chamado de alteração do que é próprio (ROITT *et al.*, 2013). As células NK são citotóxicas e liberam grânulos que contém moléculas citolíticas, como por exemplo, **granzima B** e **perforina**, induzindo a morte de células infectadas ou estressadas. Ainda, são capazes de secretar citocinas, **quimiocinas** e fatores de crescimento a fim de coordenar uma resposta imune adaptativa, recrutando células dendríticas e células T (WARRIKER, KHAKOO, BLUNT, 2021).

Segundo Roitt *et al.* (2013), a partir da resposta imune inata, as respostas imunes adaptativas demoram de 4 a 5 dias para tornarem-se funcionais. Ainda, os principais agentes da resposta imune adaptativa são os chamados linfócitos T e **linfócitos**

B, células que possuem receptores específicos em suas membranas plasmáticas e podem reconhecer uma quantidade enorme de estruturas. Os linfócitos reconhecem moléculas chamadas de antígenos. Após o reconhecimento, o linfócito é estimulado a proliferar-se e diferenciar-se, o que aumenta a quantidade de linfócitos que possuem a capacidade de reconhecer o antígeno específico que desencadeou a resposta inicial. Células T são linfócitos capazes de proteger o corpo de células infectadas por **patógenos**, como bactérias e vírus, e células de câncer (BAILEY, 2019). Durante a infância, as células T desempenham papel fundamental para a construção de imunidade contra patógenos ou antígenos comuns, a partir de reservas de células T de memória, que serão utilizadas durante outras fases da vida. Na fase adulta, o encontro com patógenos e antígenos desconhecidos diminui e a função das células T passa a ser, em suma, manter a **homeostase** e imunorregulação de antígenos recorrentes. Também há foco em vigilância tumoral. Conforme o ser humano torna-se idoso, as células T diminuem sua atuação, o que desregula o sistema imune e favorece o desenvolvimento de doenças (RYDING, 2021).

Componente fundamental da imunidade adaptativa, células T originam-se na medula óssea, migram para o **timo** via sangue (o T em células T significa "derivado do timo" (BAILEY, 2019)), onde amadurecem, multiplicam-se e diferenciam-se em **células T auxiliares**, **células T reguladoras** ou citotóxicas, ou tornam-se **células de memória** (T CELL, 2022). Depois disso, migram para tecidos periféricos, circulam no sangue ou no sistema linfático e, quando estimuladas por antígenos específicos, células T auxiliares secretam **citocinas** que estimulam a produção de anti-corpos (T CELL, 2022). As células T reguladoras controlam as respostas imunes e as **células T citotóxicas**, após serem ativadas por alguma citocina, ligam-se ao antígeno específico que desencadeou a resposta imune inicial e matam células infectadas e células de câncer (RYDING, 2021; T CELL, 2022). Existem diversos tipos de células T, com funções específicas no sistema imune (BAILEY, 2019). Algumas das mais comuns são as células T auxiliares **CD4⁺** e as células T citotóxicas **CD8⁺** (RYDING, 2021). As células T CD8⁺ estão fortemente envolvidas na destruição de células de câncer. Células T citotóxicas possuem grânulos, ou seja, sacos contendo substâncias químicas - como por exemplo, perforina e granzima - utilizados para causar apoptose na célula alvo (BAILEY, 2019; DURGEAU *et al.*, 2018). A perforina forma um poro na membrana da célula alvo, que permite que as granzimas entrem na célula infectada ou tumoral. Dentro das células, elas clivam as proteínas, causando apoptose da célula alvo (WISSINGER, 2016). As células T CD8⁺ também causam indiretamente a morte das células tumorais ou virais secretando as citocinas fator de necrose tumoral alfa (TNF- α , do inglês, *tumor necrosis factor alpha*) e interferon gamma (IFN- γ) (DURGEAU *et al.*, 2018).

O microambiente tumoral, ou TME, do inglês, *tumor microenvironment*, é o ecossistema que cerca um tumor, composto por células imunes como **micróglia**, macrófagos e linfócitos, componentes da matriz extracelular, como o colágeno, **fibronectina**, **hialuronano**, **laminina**, entre outros, vasos sanguíneos e outras células como **fibroblastos** e células endoteliais (JAHANBAN-ESFAHLAN *et al.*, 2020). As interações do tumor com seu microambiente afetam seu desenvolvimento, sendo o TME usado pelo tumor para crescer mais rápido e espalhar-se, gerando novos tumores, na medida em que fornece todos os nutrientes necessários para isto (MURFIN, 2021). As células não-malignas presentes no TME promovem tumorigênese em todas as fases do desenvolvimento do câncer e na metástase. A comunicação intercelular é um subproduto de uma rede complexa de citocinas, quimiocinas, fatores de crescimento, mediadores inflamatórios, enzimas de remodelamento de matriz, células tumorais circulantes (conhecidas como CTCs, do inglês, *circulating tumor cells*), **exossomos**, DNA livre de células (cfDNA, do inglês, *cell-free DNA*), corpos apoptóticos, entre outros (JAHANBAN-ESFAHLAN *et al.*, 2020). Um estudo realizado em 2021 descobriu que a composição de uma pequena área (uma fatia de tecido) do TME pode ser muito diferente de uma área coletada a uma distância de 100 microns da primeira (aproximadamente a largura de um fio de cabelo) (MURFIN, 2021). Tal descoberta pode tornar possível determinar risco de câncer e prognóstico a partir da identificação da localização de marcadores biológicos no TME. Diferentes tipos de câncer possuem microambientes similares, podendo ser fibróticos, por exemplo, o que dificulta a penetração de algumas drogas no tumor. Outros podem ser altamente vascularizados, o que facilitaria a injeção intratumoral, mas que também promoveria o crescimento do tumor, pois o mesmo se beneficia da presença de vasos sanguíneos (MURFIN, 2021).

Os componentes do TME interagem entre si e com o tumor permitindo seu crescimento. Estudos sugerem que frequentemente, para o sucesso do tratamento contra o câncer e para determinar se a resposta imune agirá a favor ou contra ao tumor, o número de tumores é menos importante do que a localização dos mesmos e como eles interagem entre si e com os outros componentes do TME (MURFIN, 2021). A perda de integridade tecidual, carcinogênese e outros processos ocorrem como consequência de interações entre células tumorais, componentes não celulares e celulares do TME. Deste modo, as interações em células não neoplásicas reativas, células tumorais geneticamente alteradas e componentes da matriz extracelular controlam a maioria dos estágios da tumorigênese efetivamente, incluindo evolução clonal, heterogeneidade do câncer, transição epitélio-mesenquimal, migração, invasão, desenvolvimento de metástase, neovascularização, apoptose e resistência a drogas quimioterápicas. Entender as interações entre os componentes do TME se faz necessário para compreender como um tratamento funciona e como pode ser aprimorado, pois permite que

se compreenda mecanismos subjacentes acerca do crescimento tumoral e metástase (JAHANBAN-ESFAHLAN *et al.*, 2020). Portanto, para um tratamento de câncer bem sucedido é preciso utilizar drogas que atinjam o sistema vascular que alimenta o tumor, o sistema imune (que pode ajudar o tumor a crescer ou combatê-lo), e as células tumorais (MURFIN, 2021).

Usar vírus para tratamento de câncer vem sendo estudado desde o começo do século passado quando pacientes com diferentes malignidades experienciaram regressão tumoral depois da vacinação contra raiva, ou depois de contraírem algumas doenças virais (MULLEN; TANABE, 2002). Cada vírus possui um tropismo celular específico que determina qual tecido será preferencialmente infectado por ele (por exemplo, vírus da raiva prejudica neurônios, vírus da Hepatite B, hepatócitos, etc) (RUSSEL; PENG; BELL, 2014). Com os avanços em biologia tumoral, genética e virologia, tornou-se possível explorar o uso de vírus para tratamento de câncer a partir do desenvolvimento dos chamados vírus oncolíticos, que mediam a destruição das células tumorais, sem causarem danos aos tecidos normais (MULLEN; TANABE, 2002; RUSSEL; PENG; BELL, 2014). Atualmente, os tipos mais importantes de imunoterapias são aquelas especialmente desenvolvidas para ativar respostas imunes inatas e adaptativas, como por exemplo, células T e células NK, no TME (SHI *et al.*, 2020). Apesar de vírus oncolíticos terem sido desenvolvidos primariamente para causar diretamente a *lise* de células tumorais, estudos clínicos mostraram que também iniciam uma resposta imune anti-tumoral sistêmica (LICHTY *et al.*, 2014). A maioria dos vírus naturalmente possui preferência por tumores e isto pode ser explicado pela biologia do tumor, visto que tumores tem a capacidade de, não apenas evitarem as respostas imunes, como resistirem a apoptose e supressão transacional, que são mecanismos essenciais utilizados por células normais para evitarem a infecção viral (RUSSEL; PENG; BELL, 2014).

O sucesso da viroterapia requer a entrada em células tumorais e a indução de respostas imunes sistêmicas (SHI *et al.*, 2020). Células infectadas podem sofrer lise como resultado direto da replicação viral. Este ciclo se repete com a progênie viral, que infecta células tumorais adjacentes e as destrói replicando-se. Este mecanismo de replicação gera a amplificação da dose inicial de vírus oncolítico utilizada, que continua acontecendo até que os vírus sejam eliminados pelas células imunes ou até que não existam mais células suscetíveis à infecção (MULLEN; TANABE, 2002). Quando células normais são infectadas pelo vírus oncolítico, elas respondem à infecção modulando negativamente seu metabolismo e/ou sofrendo apoptose, inibindo a propagação viral (RUSSEL; PENG; BELL, 2014). Alguns vírus oncolíticos são capazes de gerar proteínas citotóxicas durante sua replicação (por exemplo, adenovírus expressam E3 11.6 kD e E4ORf4, ambas proteínas citotóxicas) (MULLEN; TANABE, 2002). Outro

mecanismo utilizado pelo vírus oncolítico para eliminar células tumorais é a indução de imunidade antitumoral específica e não-específica (MULLEN; TANABE, 2002; SHI *et al.*, 2020). A lise das células tumorais infectadas pode liberar PAMPs, tais como ácidos nucleicos virais e proteínas, e padrões moleculares associados a risco (DAMPs, do inglês, *danger-associated molecular patterns*), estimulando a resposta imune inata e recrutando células NK presentes no TME, uma vez que reconheçam PAMPs e DAMPs através de PRRs (SHI *et al.*, 2020). Após o reconhecimento, secretam citocinas inflamatórias como IFN- α , IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-12, que podem induzir respostas antivirais e antitumorais e recrutar mais células imunes inatas que estejam em linfonodos próximos (SHI *et al.*, 2020). Antígenos virais são apresentados nas superfícies das células tumorais infectadas em conjunção com a proteína do MHC de classe I, que posteriormente é reconhecido por linfócitos T citotóxicos CD8⁺ (MULLEN; TANABE, 2002). Adicionalmente, a liberação de antígenos tumor-associados (TAAs, do inglês, *tumor-associated antigens*), ou antígenos tumor-específicos (TSAs, do inglês, *tumor-specific antigens*), depois da lise das células tumorais também induz a resposta das células T CD4⁺ e T CD8⁺, que causam morte celular imunogênica (ICD, do inglês, *immunogenic cell death*) nas células tumorais, como demonstrado em estudos clínicos (SHI *et al.*, 2020).

Muitos artigos propõem modelos matemáticos que consideram a interação entre células tumorais e células imunes. Concentrando-se nas interações entre células tumorais, células NK e células T CD8⁺, em (DEPILLIS *et al.*, 2005), os autores propõem um modelo validado de equações diferenciais ordinárias (EDOs) para explorar as dinâmicas da rejeição tumoral, o papel das células NK e T CD8⁺, e o desenvolvimento de imunidade protetora a reexposição do tumor. Em (DEPILLIS *et al.*, 2013), é proposto um modelo de EDOs para estudar as interações de células NK, T CD8⁺, e T CD4⁺ reguladoras em um tratamento para câncer nos rins com *sunitinib* (fármaco). Outro modelo de EDOs para estudar interações entre células tumorais, células NK e células T CD8⁺ citotóxicas foi proposto em (MAHASA *et al.*, 2016). Apesar de não considerar a viroterapia oncolítica, o modelo forneceu informações relevantes sobre o que esperar da interação entre as células imunes e o tumor: o influxo de células NK pode possuir papel crucial em aumentar a resposta imune das NK (e, conseqüentemente, aumentar a resposta citotóxica), a imunidade do paciente não é suficiente para erradicar o tumor, ainda que seja alta. Modelos mais recentes estudando as interações entre células tumorais, células NK e T CD8⁺ podem ser encontrados em (SONG *et al.*, 2021; AWANG; MAAN; SULAIN, 2022). Em (AWANG; MAAN; SULAIN, 2022), os autores desenvolvem um modelo de equações diferenciais com retardamento para estudar as interações entre as células tumorais não-infectadas, tumorais infectadas, células NK e células T CD8⁺.

Muitos modelos para viroterapia oncolítica foram desenvolvidos nas últimas décadas (WODARZ, 2001; WEIN; WU; KIRN, 2003; WU; KIRN; WEIN, 2004; FRIEDMAN *et al.*, 2006; BAJZER *et al.*, 2008; BIESECKER *et al.*, 2009; KOMAROVA; WODARZ, 2010; EFTIMIE *et al.*, 2011; MACNAMARA; EFTIMIE, 2015; AL-TUWAIRQI; AL-JOHANI; SIMBAWA, 2020; VITHANAGE; WEI; JANG, 2021). Em (MACNAMARA; EFTIMIE, 2015), foi proposto um modelo de EDOs para viroterapia oncolítica, considerando a interação das células tumorais com células T CD8⁺ efectoras/memória, e partículas de vírus oncolíticos. O objetivo principal do estudo foi determinar como diferenças no tamanho da população inicial de células de memória T CD8⁺ poderiam impactar no controle, dormência e escape das células tumorais. Em (MAHASA *et al.*, 2017), foi proposto um modelo de EDOs para estudar as interações entre células normais suscetíveis não-infectadas, células tumorais suscetíveis não-infectadas, células normais infectadas, células tumorais infectadas, vírus oncolítico, células T CD8⁺ tumor-específicas e células T CD8⁺ vírus-específicas. Em um trabalho mais recente feito por Senekal *et al.* (2021), os autores propõem o que dizem ser o primeiro modelo de EDOs não-lineares que estuda interações entre vírus oncolíticos, células tumorais e células NK ativadas e induzidas pelo vírus oncolítico, com o objetivo de compreender melhor como funciona a dinâmica do tumor com as respostas das células NK induzidas pelo vírus no TME. De acordo com as conclusões tiradas pelos autores em (SENEKAL *et al.*, 2021), as células NK sozinhas não são capazes de controlar o crescimento tumoral a longo prazo, sendo necessário considerar outra variável, como por exemplo, células T CD8⁺. Outros trabalhos foram publicados em 2022, como por exemplo, os autores em (MAHASA *et al.*, 2022), propõem um modelo que não considera a viroterapia como monoterapia, combinando-a com doses de terapia de células T com receptor de antígeno quimérico (CAR-T cell therapy). Em (JANG; WEI, 2022), os autores consideram um modelo de EDOs para as interações entre vírus oncolítico, células tumorais não-infectadas e infectadas, células imunes inatas ativadas, células imunes adaptativas tumor-específicas e células imunes adaptativas vírus-específicas, baseado no modelo proposto em (STOREY; LAWLER; JACKSON, 2020), que considera mais uma variável: concentração de PD-1, ou seja, não é um trabalho que lida com a viroterapia como monoterapia.

Dado o panorama estabelecido, percebe-se que a interação entre as células NK, T CD8⁺ e tumorais é de suma importância para o sucesso da viroterapia. O objetivo geral desta dissertação é a proposta de um modelo de EDOs para as interações entre os vírus oncolíticos, células tumorais, células NK e células T CD8⁺ no TME. Pretende-se determinar condições para a estabilidade dos pontos estacionários do sistema, discutir sobre a influência da imunidade inicial do paciente no prognóstico da terapia, discutir

sobre diferenças no vírus oncolítico escolhido, determinar se o tamanho inicial do tumor influencia na eficácia da terapia e determinar quais parâmetros possuem maior influência na viroterapia.

O modelo proposto nesta dissertação difere-se dos trabalhos presentes na literatura, podendo fornecer novas informações quanto às interações consideradas. O modelo em (DEPILLIS *et al.*, 2005) serviu de base para o modelo aqui proposto, em suma para o equacionamento das interações entre as células NK e T CD8⁺ e para a escolha de alguns parâmetros, especialmente pelo fato de ser um modelo validado. Os modelos propostos em (MACNAMARA; EFTIMIE, 2015; SENEKAL *et al.*, 2021) forneceram ideias de como modelar as interações entre as células T e o vírus oncolítico, e entre as células NK e o vírus oncolítico. Diferentemente do feito em (MACNAMARA; EFTIMIE, 2015; SENEKAL *et al.*, 2021), opta-se por propor um modelo incluindo ambas as células natural killer e T CD8⁺ citotóxicas tumor-específicas. Ainda, diferentemente do feito em (MAHASA *et al.*, 2017; JANG; WEI, 2022), o objetivo não é estudar a ação do vírus em células normais e não se considera uma população de células T CD8⁺ vírus-específicas, utilizando as células NK para desempenharem este papel. Ademais, não se pretende estudar a viroterapia oncolítica em combinação com outras terapias, diferentemente do que foi feito em (STOREY; LAWLER; JACKSON, 2020; MAHASA *et al.*, 2022). Por fim, o modelo proposto difere-se do encontrado em (JANG; WEI, 2022), pois não considera retardamento no recrutamento das células T CD8⁺, além de suposições biológicas que fazem com que o crescimento, recrutamento e lise sejam equacionados de formas distintas das apresentadas pelos autores.

Os capítulos desta dissertação estão dispostos como a seguir. No Capítulo 2, é introduzida a proposta do modelo de equações diferenciais ordinárias não-lineares descrevendo as interações entre as células tumorais, células NK, células T CD8⁺ e vírus oncolítico. No Capítulo 3, é feita a análise qualitativa do modelo. No Capítulo 4, realiza-se uma análise de sensibilidade PRCC para os parâmetros do modelo, com a intenção de determinar quais parâmetros possuem maior impacto sobre o total de células tumorais durante o tratamento. Simulações numéricas são apresentadas, bem como comentários sobre os resultados obtidos. Por fim, no Capítulo 5, conclui-se a dissertação e expõem-se perspectivas para trabalhos futuros.

2 PROPOSTA DO MODELO

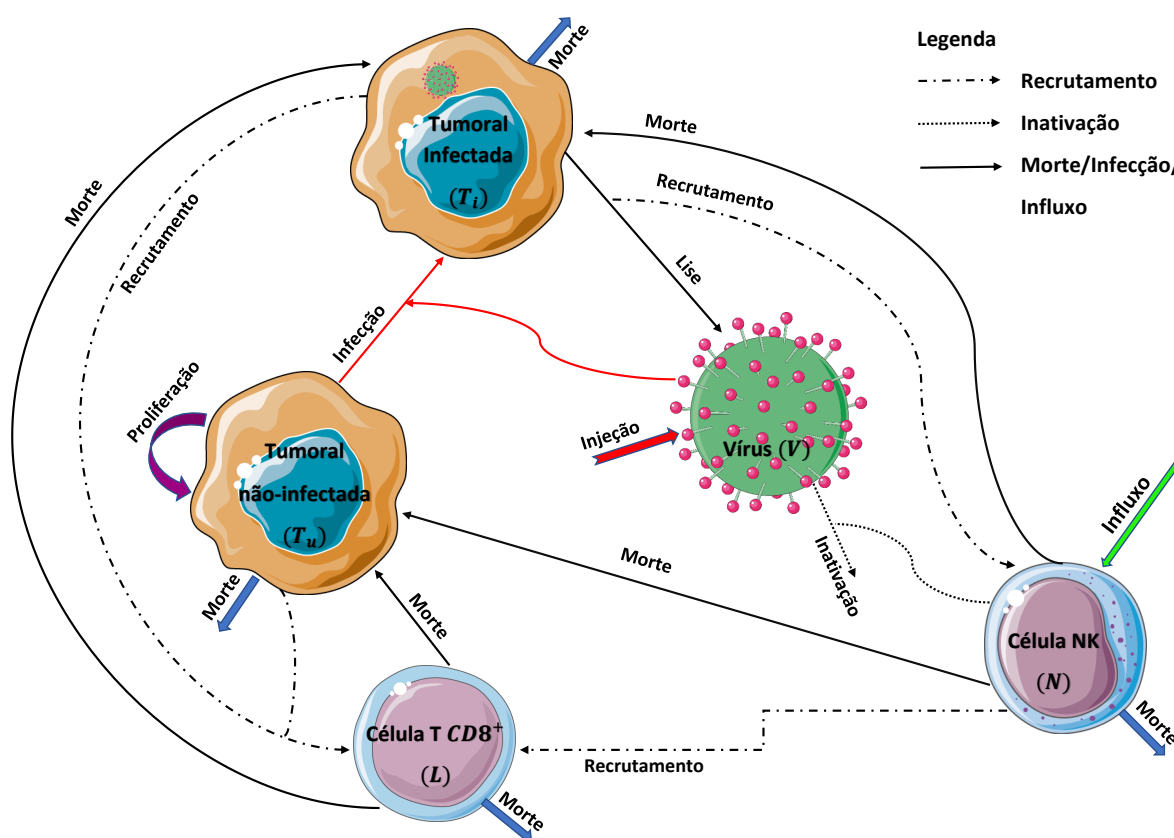
Neste capítulo, formula-se um modelo de equações diferenciais ordinárias descrevendo as interações entre células tumorais infectadas ou não, partículas de vírus oncolíticos, células NK e células T do tipo CD8⁺. São estabelecidas equações descrevendo as concentrações de células tumorais não-infectadas, T_U (células), células tumorais infectadas, T_I (células), células NK, N (células), células T CD8⁺, L (células), e vírus oncolíticos, V (PFU/cel.¹). Os parâmetros, suas descrições, valores e referências podem ser encontrados na Tabela 2.

Na Figura 1 pode-se observar um diagrama esquemático das interações no TME entre as células tumorais (não-infectadas e infectadas), partículas de vírus oncolítico, células NK e células T CD8⁺. As suposições biológicas incorporadas no modelo são as seguintes:

1. Células tumorais não-infectadas crescem segundo a lei logística na ausência de respostas imunes (DEPILLIS; RADUNSKAYA, 2003).
2. Células tumorais infectadas possuem vida útil menor do que as células não-infectadas (MAHASA *et al.*, 2017), sendo assim, neste trabalho opta-se por não utilizar crescimento logístico para modelá-las.
3. Assume-se que a lise de células tumorais infectadas dá origem a novas partículas de vírus oncolíticos, que, por sua vez, infectam células tumorais não-infectadas em sua vizinhança (MAHASA *et al.*, 2017).
4. Assume-se que células imunes tumor-específicas (no presente caso, T CD8⁺) são capazes de reconhecer e matar células tumorais infectadas ou não, visto que células tumorais são capazes de expressar antígenos tumor-associados (conhecidos na literatura por TAAs) (ZHU *et al.*, 2013).
5. Tanto as células NK, quanto as células T CD8⁺ podem matar células tumorais.
6. Considera-se que células NK estão sempre presentes e ativas ao redor do tumor, visto que fazem parte da imunidade inata. Após algumas horas da infecção, células NK são recrutadas ao microambiente tumoral e mediam a inativação viral (DEPILLIS *et al.*, 2005).
7. Cada célula NK e T CD8⁺ se tornará inativa depois de alguns encontros com células tumorais.
8. Assume-se que as células NK são capazes de reconhecer antígenos tumorais e virais, mas não o vírus dentro da célula infectada (SENEKAL *et*

¹ Célula.

Figura 1 – Diagrama esquemático das interações locais entre células tumorais, vírus oncolíticos, células NK e células T CD8⁺ no TME. Células tumorais não-infectadas (T_u) proliferam-se e sofrem morte natural. Após a injeção de vírus oncolíticos (V) no sistema, as células tumorais não-infectadas passam a ser células tumorais infectadas (T_i). Células tumorais infectadas sofrem lise e liberam novas partículas de vírus. As células NK (N) sempre estão presentes no microambiente tumoral, através do influxo constante (s_2). As células NK tornam-se ativas por meio da morte celular imunogênica sofrida por células tumorais infectadas, o que gera recrutamento de outras células NK e de células T CD8⁺ (L). Além disso, células NK e T CD8⁺ matam células tumorais, e células NK matam partículas de vírus oncolíticos. Por fim, células NK e T CD8⁺ sofrem morte natural.



Fonte: Elaboração própria, parcialmente criada usando Servier Medical Art, fornecido por Servier, licenciado sob uma licença Creative Commons Attribution 3.0 não portada.

al., 2021). Sendo assim, células NK matam células tumorais independentemente se são infectadas ou não, mas as taxas de morte por NK para cada população de tumorais são diferentes.

A Tabela 1 mostra como as suposições biológicas acima podem ser vistas como expressões matemáticas.

Tabela 1 – Descrição das expressões matemáticas.

Equação	Termo	Descrição
$\frac{dT_u}{dt}$	$aT_u \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right)$	Crescimento logístico das células tumorais não-infectadas.
	$-bT_u V$	Infecção por vírus oncolíticos das células tumorais não-infectadas.
	$-c_1 NT_u$	Morte de células tumorais não-infectadas causada pelas células NK.
	$-d_1 T_u \frac{L}{s_1 + L}$	Morte de células tumorais não-infectadas causada pelas células T CD8 ⁺ .
$\frac{dT_i}{dt}$	$bT_u V$	Infecção por vírus oncolíticos das células tumorais não-infectadas.
	$-e_1 T_i$	Morte de células tumorais infectadas ao se partirem e liberarem novas partículas de vírus.
	$-c_2 NT_i$	Morte induzida das células infectadas pela interação com as células NK.
	$-d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L}$	Morte induzida das células infectadas pela interação com as células T CD8 ⁺ .
$\frac{dV}{dt}$	gzT_i	Produção de partículas de vírus a partir da morte de células tumorais infectadas.
	$-d_2 NV$	Inativação de partículas de vírus oncolíticos livres no microambiente tumoral.
$\frac{dN}{dt}$	s_2	Influxo constante de células NK.
	$wN \left(1 - \frac{N}{r_2}\right) \left(\frac{T_i}{h_2 + T_i}\right)$	Estimulação e recrutamento de células NK.
	$-IN$ $-k(T_u + T_i)N$	Morte natural das células NK. Inativação das células NK a partir da interação com células tumorais.
$\frac{dL}{dt}$	$-mL$	Morte natural das células T CD8 ⁺ .
	$\frac{n(T_u + T_i)L}{h_3 + T_u + T_i}$	Recrutamento das células T CD8 ⁺ pelas células tumorais.
	$-qL(T_u + T_i)$	Inativação das células imunes T CD8 ⁺ pelas células tumorais.
	$pN(T_u + T_i)$	Recrutamento das células T CD8 ⁺ a partir da interação de células NK com células tumorais.

Fonte: Elaboração própria.

Propõe-se o seguinte sistema imunocompetente de equações diferenciais ordi-

nárias, baseado na Figura 1:

$$\frac{dT_U}{dt} = aT_U \left(1 - \frac{T_U + T_i}{r_1}\right) - bT_U V - c_1 NT_U - d_1 T_U \frac{L}{s_1 + L}, \quad (1)$$

$$\frac{dT_i}{dt} = bT_U V - e_1 T_i - c_2 NT_i - d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L}, \quad (2)$$

$$\frac{dV}{dt} = gzT_i - d_2 NV, \quad (3)$$

$$\frac{dN}{dt} = s_2 + wN \left(1 - \frac{N}{r_2}\right) \left(\frac{T_i}{h_2 + T_i}\right) - IN - k(T_U + T_i)N, \quad (4)$$

$$\frac{dL}{dt} = -mL + \frac{n(T_U + T_i)L}{h_3 + T_U + T_i} - qL(T_U + T_i) + pN(T_U + T_i). \quad (5)$$

Completa-se o sistema com as seguintes condições iniciais:

$$T_U(0) = T_{U_0} \text{ cel.}, T_i(0) = 0 \text{ cel.}, V(0) = V_0 \text{ virions}, N(0) = N_0 \text{ cel.}, L(0) = L_0 \text{ cel.} \quad (6)$$

Considerando a equação (1), denota-se o crescimento logístico das células tumorais não-infectadas pelo termo $aT_U \left(1 - \frac{T_U + T_i}{r_1}\right)$, em que a representa a taxa de proliferação das células tumorais não-infectadas e r_1 sua capacidade de sustentação. A população de células tumorais não-infectadas é infectada pelos vírus oncolíticos sob taxa b . Tal fenômeno está representado no modelo pelo termo $-bT_U V$, uma redução na população de tumorais causada por **oncólise viral**. Nota-se que foi usada cinética de ação das massas para modelar a interação entre vírus e células tumorais, pois, como feito por Senekal *et al.* (2021), assume-se que vírus oncolíticos interagem com células tumorais sob taxa que é proporcional ao número total de células tumorais presentes no microambiente tumoral. Senekal *et al.* (2021) explica ainda que tal termo significa que não há mais de uma infecção por uma partícula de vírus em cada célula tumoral. Denota-se a perda de células tumorais não-infectadas pela interação com células NK através do termo $-c_1 NT_U$, em que c_1 representa a taxa de morte das células tumorais não-infectadas por NK. Por fim, o termo $-d_1 T_U \frac{L}{s_1 + L}$ representa a redução de células tumorais não-infectadas causada pela resposta imune adaptativa antitumoral. Um termo do tipo Michaelis-Menten foi utilizado, pois a entrada de células imunes no tumor é limitada pela arquitetura tumoral (MAHASA *et al.*, 2017; MURFIN, 2021). O parâmetro s_1 representa a constante de meia-saturação para as **células efectoras** que suportam metade da taxa máxima de morte e d_1 , a taxa de lise das células tumorais pelas imunes tumor-específicas (no caso deste trabalho, células T CD8⁺).

Na equação (2), denota-se a parcela de célula tumorais infectadas por $bT_U V$. O segundo termo, $-e_1 T_i$, representa a morte celular das células tumorais infectadas induzida pelos vírus oncolíticos, em que e_1 é a taxa de lise das células tumorais infectadas. O termo $-c_2 N T_i$ representa a morte de células tumorais infectadas por células NK, sob taxa c_2 . Por fim, $-d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L}$ denota a morte de células tumorais infectadas a partir da interação com células T CD8⁺. Novamente, assume-se que a cinética de Michaelis-Menten representa satisfatoriamente o fato de que a arquitetura tumoral pode retardar a entrada de células imunes adaptativas no tumor (MAHASA *et al.*, 2017; MURFIN, 2021).

Na equação (3), as partículas de vírus são produzidas pelas células tumorais infectadas com taxa gz , fenômeno presente no modelo através do termo gzT_i , em que g representa o número de partículas de vírus liberadas de uma célula infectada e z é a taxa sob a qual os vírus oncolíticos matam células tumorais. O último termo da equação (3), $-d_2 NV$, denota a inativação de partículas de vírus oncolíticos livres no microambiente tumoral por células NK, com taxa d_2 .

Na equação (4), s_2 representa o influxo constante de células NK. Por fazerem parte da imunidade inata, assume-se que células NK estão sempre presentes no microambiente tumoral (SENEKAL *et al.*, 2021). Este trabalho assume que a ativação das células NK depende do contato com células tumorais infectadas (LEUNG, 2020). Assim, o segundo termo, $wN \left(1 - \frac{N}{r_2}\right) \left(\frac{T_i}{h_2 + T_i}\right)$, representa a estimulação e recrutamento das células NK. Usa-se o termo $\frac{T_i}{h_2 + T_i}$ para modelar a redução da lise das células tumorais pelas células NK (SENEKAL *et al.*, 2021), ou ainda, descrever que os efeitos efetores das células NK sobre a morte das células tumorais são limitados. Além disso, a resposta das células NK é aumentada pela lise, o que causa morte celular imunogênica (SENEKAL *et al.*, 2021). Deste modo, $wN \left(1 - \frac{N}{r_2}\right)$ representa o recrutamento de células NK via morte celular imunogênica por células infectadas, sob taxa w , até sua capacidade de sustentação r_2 . A capacidade de suporte é usada neste caso, pois o corpo suporta uma quantidade limitada de células imunes ativas. O parâmetro h_2 representa a constante de meia-saturação para células infectadas. O termo $-lN$ denota a morte natural das células NK sob taxa l e, por fim, levando em consideração que a interação com as células tumorais resulta na inativação das células NK (SENEKAL *et al.*, 2021), o último termo, $-k(T_U + T_i)N$, denota tal fenômeno, sob taxa k .

Na equação (5), o primeiro termo, $-mL$, representa a morte natural das células

T CD8⁺, com taxa de morte m . O segundo termo, $\frac{n(T_u + T_i)L}{h_3 + T_u + T_i}$, representa a resposta imune antitumoral, mediada por células T CD8⁺, sendo n a taxa de proliferação das células T CD8⁺ e h_3 a constante de meia-saturação de antígenos tumorais que induzem meia proliferação de células imunes. Como a ativação da resposta imune antitumoral, mediada por células T CD8⁺, depende da quantidade de antígenos tumorais, utiliza-se um termo Michaelis-Menten para indicar os efeitos de saturação da resposta imune tumor-específica (DEPILLIS *et al.*, 2005; MAHASA *et al.*, 2017). Além das células T CD8⁺ serem recrutadas pelas células tumorais, também são recrutadas através da interação das células NK com as células tumorais, sendo este um fato representado no modelo pelo termo $+pN(T_u + T_i)$, em que p é a taxa de geração de células T CD8⁺, induzida pela lise celular de células tumorais causada por células NK. Este termo também é relevante, pois modela o fato de que a resposta imune específica das células T CD8⁺ só é ativada após a ativação da resposta imune inata (DEPILLIS *et al.*, 2005). O termo $-qL(T_u + T_i)$ representa a inativação das células imunes T CD8⁺ pelas células tumorais, sob taxa q .

Abaixo encontra-se a Tabela 2 de definições, valores e referências dos parâmetros presentes no modelo.

Tabela 2 – Definições, valores e referências dos parâmetros presentes no modelo.

Parâmetro	Valor	Descrição e Referência
a	$0,927 \text{ dia}^{-1}$	Taxa de proliferação das células tumorais não-infectadas (MACNAMARA e EFTIMIE, 2015)
r_1	$1,47 \times 10^8 \text{ cel}$	Capacidade de suporte das células tumorais (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
b	$8,9 \times 10^{-4} (\text{PFU}^{-1})(\text{dia}^{-1})$	Taxa de infecção das células tumorais não-infectadas pelos vírus livres (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
c_1	$6,41 \times 10^{-11} (\text{cel}^{-1})(\text{dia}^{-1})$	Taxa de morte das células tumorais não-infectadas por NK (KAPOOR, Suhela <i>et al.</i> , 2013)
d_1	$2,0 \text{ dia}^{-1}$	Lise das células tumorais (infectadas ou não) pelas células imunes (MACNAMARA e EFTIMIE, 2015)
s_1	10^3 cel	Constante de meia-saturação para as células efectoras que suportam metade da taxa máxima de morte (MACNAMARA e EFTIMIE, 2015)
e_1	$1,5 \text{ dia}^{-1}$	Taxa de lise das células tumorais infectadas (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
c_2	$8,68 \times 10^{-10} (\text{cel}^{-1})(\text{dia}^{-1})$	Taxa de morte das células tumorais infectadas pelas células NK (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
g	$10^3 (\text{PFU})(\text{cel}^{-1})$	Número de partículas de vírus liberadas de uma célula infectada, capaz de formar placas (MACNAMARA e EFTIMIE, 2015)
z	$1,0 \text{ dia}^{-1}$	Taxa sob a qual os vírus oncolíticos matam células tumorais (MACNAMARA e EFTIMIE, 2015)
$d_2 = d_3$	$2,3 \text{ dia}^{-1}$	Taxa de eliminação dos vírus (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
s_2	$3,2 \times 10^3 (\text{cel})(\text{dia}^{-1})$	Influxo constante de células NK (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
w	$1 \times 10^{-5} \text{ dia}^{-1}$	Taxa de recrutamento de células NK via morte celular imunogênica por células infectadas (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
r_2	$6,63 \times 10^{10} \text{ cel}$	Capacidade de suporte para produção de NK (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
h_2	10^4 cel	Constante de meia-saturação para células infectadas (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
k	$3,42 \times 10^{-7} (\text{cel}^{-1})(\text{dia}^{-1})$	Taxa de inativação das células NK por células tumorais (KAPOOR, Suhela <i>et al.</i> , 2013)
l	$4,12 \times 10^{-2} \text{ dia}^{-1}$	Taxa de morte natural das células NK (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
m	$0,1 \text{ dia}^{-1}$	Taxa de morte das células T CD8 ⁺ (MAHASA <i>et al.</i> , 2017)
n	$0,0375 \text{ dia}^{-1}$	Taxa de proliferação das células T CD8 ⁺ (SENEKAL <i>et al.</i> , 2021)
h_3	$40,0 \text{ cel}$	Constante de meia-saturação de antígenos tumorais que induzem meia proliferação de células imunes (MAHASA <i>et al.</i> , 2017)
q	$3,42 \times 10^{-10} (\text{cel}^{-1})(\text{dia}^{-1})$	Taxa de inativação das células T CD8 ⁺ pelas células tumorais (DEPILLIS <i>et al.</i> , 2005)
p	$1,1 \times 10^{-7} (\text{cel}^{-1})(\text{dia}^{-1})$	Taxa de geração de células T CD8 ⁺ , induzida pela lise de células tumorais causada por células NK (KAPOOR, Suhela <i>et al.</i> , 2013)

Fonte: Elaboração própria.

3 ANÁLISE DO MODELO

Neste capítulo, primeiro faz-se a análise qualitativa do modelo imunocompetente (1)-(5). Prova-se a existência e unicidade, positividade e limitação de soluções, calculam-se os pontos estacionários, e então é feita a análise da estabilidade dos pontos obtidos. Por fim, realiza-se a análise qualitativa do submodelo livre de células imunes. O objetivo desta análise é determinar condições e parâmetros que possam impactar sobre a obtenção de um estado livre de tumor através da viroterapia oncolítica, na ausência das células NK e T CD8⁺.

3.1 MODELO IMUNOCOMPETENTE

O modelo proposto neste trabalho descreve a evolução no tempo de populações de células e vírus, ou seja, as concentrações devem permanecer não-negativas e limitadas. A seguir, prova-se que isto de fato ocorre.

Teorema 1. (i) *(Não-negatividade das soluções)* Dadas as condições iniciais não-negativas ($T_{u0} \geq 0, T_{i0} \geq 0, V_0 \geq 0, N_0 \geq 0, L_0 \geq 0$), as correspondentes soluções ($T_u(t), T_i(t), V(t), N(t), L(t)$) permanecerão não-negativas para todo $t \in [0, \infty)$.

(ii) *(Limitação das soluções e região invariante)* O sistema é limitado e a região invariante é dada por

$$\Omega_{\mathbf{C}} = \left\{ (T_u, T_i, V, N, L) \in \mathbb{R}_+^5 \mid 0 \leq T_u \leq r_1, 0 \leq T_i \leq r_1, 0 \leq V \leq \frac{zgr_1 I}{d_2 s_2}, \right. \\ \left. 0 \leq N \leq \frac{s_2}{I}, 0 \leq L \leq \frac{\rho s_2}{Iq} \right\}.$$

Ademais, o domínio $\Omega_{\mathbf{C}}$ é positivamente invariante.

(iii) *(Existência e unicidade)* Para quaisquer valores não-negativos das variáveis de estado do modelo, uma solução para o modelo existe e é única no domínio positivamente invariante para todo tempo $t > 0$.

Demonstração. (i) Para $T_u(t)$ dado como na equação (1), tem-se que $T_u(t) \geq 0$, para todo $t \geq 0$. De fato, suponha por absurdo que isto não aconteça, ou seja, que exista $t_1 > 0$ tal que $T_u(t_1) = 0$, $\frac{dT_u(t_1)}{dt} < 0$ e $T_u(t) \geq 0$, para todo $t \in [0, t_1)$. Observando a equação (1), tira-se que

$$\begin{aligned} \frac{dT_u(t_1)}{dt} &= aT_u(t_1) \left(1 - \frac{T_u(t_1) + T_i(t_1)}{r_1} \right) - bT_u(t_1)V(t_1) - c_1N(t_1)T_u(t_1) \\ &\quad - d_1T_u(t_1)\frac{L(t_1)}{s_1 + L(t_1)} = 0, \end{aligned}$$

que contradiz a hipótese de que $\frac{dT_u(t_1)}{dt} < 0$.

Logo, $T_u(t) \geq 0$, para todo $t \geq 0$.

Agora, seguindo o mesmo raciocínio, se $t_2 > 0$ é tal que $N(t_2) = 0$, $\frac{dN(t_2)}{dt} < 0$ e $N(t) \geq 0$, para todo $t \in [0, t_2]$, da equação (4) segue que

$$\begin{aligned} \frac{dN(t_2)}{dt} &= s_2 + wN(t_2) \left(1 - \frac{N(t_2)}{r_2} \right) \left(\frac{T_i(t_2)}{h_2 + T_i(t_2)} \right) - IN(t_2) \\ &\quad - k(T_u(t_2) + T_i(t_2))N(t_2) = s_2 > 0, \end{aligned}$$

contradição. Portanto, conclui-se que $N(t) \geq 0$, para todo $t \geq 0$.

Somando as equações (1) e (2), obtém-se que

$$\begin{aligned} \frac{d(T_u + T_i)}{dt} &= aT_u \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1} \right) - bT_uV - c_1NT_u - d_1T_u\frac{L}{s_1 + L} \\ &\quad + bT_uV - e_1T_i - c_2NT_i - d_1T_i\frac{L}{s_1 + L} \tag{7} \\ &\geq -aT_u\frac{(T_u + T_i)}{r_1} - c_1NT_u - e_1T_i - c_2NT_i - d_1(T_u + T_i)\frac{L}{s_1 + L} \\ &\geq -aT_u\frac{(T_u + T_i)}{r_1} - d_1(T_u + T_i)\frac{L}{s_1 + L} - (e_1 + c_2N)T_i - c_1NT_u \\ &\geq - \left(\frac{aT_u}{r_1} + d_1\frac{L}{s_1 + L} \right) (T_u + T_i) - \max\{c_1N, e_1 + c_2N\}(T_u + T_i), \tag{8} \end{aligned}$$

Supondo que exista $t_3 > 0$ tal que $(T_u + T_i)(t_3) = 0$, $\frac{d(T_u + T_i)(t_3)}{dt} < 0$ e $(T_u + T_i)(t) \geq 0$, para todo $t \in [0, t_3]$, de (8), conclui-se que

$$\begin{aligned} \frac{d(T_u + T_i)(t_3)}{dt} &\geq - \left(\frac{aT_u(t_3)}{r_1} + d_1\frac{L(t_3)}{s_1 + L(t_3)} \right) (T_u + T_i)(t_3) \\ &\quad - \max\{c_1N(t_3), e_1 + c_2N(t_3)\}(T_u + T_i)(t_3) = 0, \end{aligned}$$

uma contradição. Assim, não existe tal t_3 e $(T_u + T_i)(t) \geq 0$, para todo $t \geq 0$.

A partir disso, pode-se mostrar que $L(t) \geq 0$. Observando a equação (5), obtém-se que

$$\frac{dL}{dt} \geq -mL - qL(T_U + T_i) = -(m + q(T_U + T_i))L.$$

Resolvendo a inequação acima considerando o Princípio da Comparação A 3. (ver Anexo A), segue que

$$L(t) \geq L_0 \exp \left\{ -mt - q \int (T_U + T_i)(t) dt \right\} \geq 0, \forall t \geq 0,$$

pois $m, q > 0$, $(T_U + T_i)(t) \geq 0$, para todo $t \geq 0$ e $L_0 \geq 0$.

Agora, suponha por absurdo que exista $t_4 > 0$ tal que $T_i(t_4) = 0$, $\frac{dT_i(t_4)}{dt} < 0$ e $T_i(t) \geq 0$, para todo $t \in [0, t_4)$. Da equação (2), segue que

$$\begin{aligned} \frac{dT_i}{dt} &= bT_U V - e_1 T_i - c_2 N T_i - d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L} \\ &\geq -e_1 T_i - c_2 N T_i - d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L} \\ \Rightarrow \frac{dT_i(t_4)}{dt} &\geq -e_1 T_i(t_4) - c_2 N(t_4) T_i(t_4) - d_1 T_i(t_4) \frac{L(t_4)}{s_1 + L(t_4)} = 0, \end{aligned}$$

que contradiz a hipótese considerada. Conclui-se que $T_i(t) \geq 0$, para todo $t \geq 0$.

Por fim, para mostrar que $V(t) \geq 0$, da equação (3), nota-se que

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= gzT_i - d_2 NV \\ &\geq -d_2 NV. \end{aligned}$$

A partir da inequação acima e do Princípio da Comparação A 3. (ver Anexo A), obtém-se que

$$V(t) \geq V_0 \exp \left\{ -d_2 \int N(t) dt \right\} \geq 0,$$

pois $N(t) \geq 0$, para todo $t \geq 0$, $d_2 > 0$ e $V_0 \geq 0$.

(ii) Considerando a equação (1), note que

$$\begin{aligned}
\frac{dT_u}{dt} &= aT_u \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - bT_uV - c_1NT_u - d_1T_u \frac{L}{s_1 + L} \\
\frac{dT_u}{dt} &= aT_u - \frac{aT_u^2}{r_1} - \frac{aT_uT_i}{r_1} - bT_uV - c_1NT_u - d_1T_u \frac{L}{s_1 + L} \\
\frac{dT_u}{dt} &\leq aT_u - \frac{aT_u^2}{r_1} = \frac{r_1aT_u - aT_u^2}{r_1} \Rightarrow \frac{r_1}{r_1aT_u - aT_u^2} \frac{dT_u}{dt} \leq 1 \\
&\Rightarrow \frac{r_1}{aT_u(r_1 - T_u)} \frac{dT_u}{dt} \leq 1
\end{aligned} \tag{9}$$

Pretende-se integrar o lado esquerdo da inequação a partir de frações parciais. Assim,

$$\begin{aligned}
\frac{1}{T_u(r_1 - T_u)} &= \frac{A}{T_u} + \frac{B}{r_1 - T_u} = \frac{A(r_1 - T_u) + BT_u}{T_u(r_1 - T_u)} \\
&= \frac{Ar_1 - AT_u + BT_u}{T_u(r_1 - T_u)} = \frac{Ar_1 + T_u(B - A)}{T_u(r_1 - T_u)} \\
&\Rightarrow A = \frac{1}{r_1} \text{ e } B = A.
\end{aligned}$$

Então,

$$\frac{1}{T_u(r_1 - T_u)} = \frac{1}{r_1 T_u} + \frac{1}{r_1(r_1 - T_u)}.$$

Integrando o lado direito, obtém-se

$$\frac{1}{r_1} (\ln(T_u) - \ln(r_1 - T_u)).$$

Assim, de (9), segue que

$$\frac{r_1}{a} \left(\frac{\ln(T_u)}{r_1} - \frac{\ln(r_1 - T_u)}{r_1} \right) \leq t + C, \tag{10}$$

C constante qualquer.

Impondo a condição inicial, dada por $T_u(0) = T_{u0}$, tem-se

$$\frac{r_1}{a} \left(\frac{\ln(T_{u0})}{r_1} - \frac{\ln(r_1 - T_{u0})}{r_1} \right) = C,$$

de modo que, de (10),

$$\begin{aligned}
\frac{r_1}{a} \left(\frac{\ln(T_u)}{r_1} - \frac{\ln(r_1 - T_u)}{r_1} \right) &\leq t + \frac{r_1}{a} \left(\frac{\ln(T_{u0})}{r_1} - \frac{\ln(r_1 - T_{u0})}{r_1} \right) \\
\Rightarrow \ln \left(\frac{T_u}{r_1 - T_u} \right) &\leq at + \ln \left(\frac{T_{u0}}{r_1 - T_{u0}} \right) \\
\Rightarrow \ln \left(\frac{T_u(r_1 - T_{u0})}{(r_1 - T_u)T_{u0}} \right) &\leq at \\
\Rightarrow T_u(r_1 - T_{u0}) &\leq r_1 T_{u0} e^{at} - T_u T_{u0} e^{at} \\
\Rightarrow T_u(r_1 - T_{u0}) + T_u T_{u0} e^{at} &\leq r_1 T_{u0} e^{at} \\
\Rightarrow T_u(r_1 - T_{u0} + T_{u0} e^{at}) &\leq r_1 T_{u0} e^{at}.
\end{aligned}$$

Logo,

$$\begin{aligned}
\Rightarrow T_u &\leq \frac{e^{at} T_{u0} r_1}{r_1 - T_{u0} + e^{at} T_{u0}} = \frac{T_{u0} r_1}{\frac{e^{at}}{r_1 - T_{u0}} + T_{u0}} \\
\Rightarrow \limsup_{t \rightarrow \infty} T_u(t) &\leq \limsup_{t \rightarrow \infty} \frac{T_{u0} r_1}{\frac{e^{at}}{r_1 - T_{u0}} + T_{u0}} = \frac{T_{u0} r_1}{T_{u0}} = r_1,
\end{aligned}$$

que é cota superior para T_u .

Note que, somando-se as equações (1) e (2), segue que

$$\begin{aligned}
\frac{d(T_u + T_i)}{dt} &= aT_u \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1} \right) - bT_u V - c_1 N T_u - d_1 T_u \frac{L}{s_1 + L} + bT_u V - e_1 T_i - c_2 N T_i \\
&\quad - d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L} \\
&\leq ar_1 - \frac{a(T_u + T_i)r_1}{r_1} = ar_1 - a(T_u + T_i).
\end{aligned}$$

Utilizando o fator integrante

$$e^{\int a dt} = e^{at},$$

tem-se que

$$\begin{aligned}
e^{at} \frac{d(T_u + T_i)}{dt} &\leq e^{at} ar_1 - e^{at} a(T_u + T_i) \\
\Rightarrow e^{at} \frac{d(T_u + T_i)}{dt} + e^{at} a(T_u + T_i) &\leq e^{at} ar_1 \\
\Rightarrow \frac{d(e^{at}(T_u + T_i))}{dt} &\leq e^{at} ar_1 \\
\Rightarrow e^{at}(T_u + T_i) &\leq \frac{ar_1 e^{at}}{a} + C = r_1 e^{at} + C,
\end{aligned}$$

C constante qualquer.

Como $(T_u + T_j)(0) = T_u(0) = T_{u0}$, segue que

$$\begin{aligned} T_{u0} &= r_1 + C \Rightarrow C = T_{u0} - r_1, \text{ e,} \\ (T_u + T_j) &\leq r_1 + Ce^{-at} \\ \Rightarrow (T_u + T_j) &\leq r_1 + (T_{u0} - r_1)e^{-at} \\ \Rightarrow \limsup_{t \rightarrow \infty} (T_u + T_j)(t) &\leq \limsup_{t \rightarrow \infty} r_1 + (T_{u0} - r_1)e^{-at} = r_1. \end{aligned}$$

Como T_u e T_j são positivas, $T_j \leq T_u + T_j$.

Logo, $T_j(t) \leq r_1$.

Agora, da equação (4), observa-se que

$$\begin{aligned} \frac{dN}{dt} &= s_2 + wN \left(1 - \frac{N}{r_2}\right) \left(\frac{T_j}{h_2 + T_j}\right) - IN - k(T_u + T_j)N \\ &\leq s_2 - IN. \end{aligned} \tag{11}$$

Considerando o fator integrante

$$e^{\int I dt} = e^{It},$$

obtém-se que

$$\begin{aligned} e^{It} \frac{dN}{dt} + e^{It} IN &\leq e^{It} s_2 \\ \Rightarrow \frac{d(Ne^{It})}{dt} &\leq e^{It} s_2. \end{aligned}$$

Integrando ambos os lados, tem-se que

$$\begin{aligned} Ne^{It} &\leq \frac{s_2 e^{It}}{I} + C \\ N &\leq \frac{s_2}{I} + Ce^{-It}, \end{aligned}$$

C constante qualquer.

Impondo a condição inicial, dada por $N(0) = N_0$, segue que C é dada por

$$\begin{aligned} N_0 &= \frac{S_2}{I} + C, \\ C &= N_0 - \frac{S_2}{I}. \end{aligned}$$

Logo, de (11), conclui-se que

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} N(t) \leq \limsup_{t \rightarrow \infty} \frac{S_2}{I} + \left(N_0 - \frac{S_2}{I} \right) e^{-I t} = \frac{S_2}{I}.$$

Portanto, $N(t) \leq \max \left\{ N_0, \frac{S_2}{I} \right\}$.

Da equação (3), considerando $T_i(t) \leq T_i^B = r_1$ e $N(t) \leq N^B = \frac{S_2}{I}$, para todo $t \geq 0$, tem-se

$$\begin{aligned} \frac{dV}{dt} &= g z T_i - d_2 N V, \\ &\leq g z T_i^B - d_2 N^B V. \end{aligned}$$

Utilizando o fator integrante

$$e^{\int d_2 N^B dt} = e^{d_2 N^B t},$$

segue que

$$\begin{aligned} e^{d_2 N^B t} \frac{dV}{dt} &\leq e^{d_2 N^B t} g z T_i^B - e^{d_2 N^B t} d_2 N^B V \\ \Rightarrow e^{d_2 N^B t} \frac{dV}{dt} + e^{d_2 N^B t} d_2 N^B V &\leq e^{d_2 N^B t} g z T_i^B \\ \Rightarrow \frac{d(e^{d_2 N^B t} V)}{dt} &\leq e^{d_2 N^B t} g z T_i^B. \end{aligned}$$

Integrando ambos os lados da inequação acima e utilizando A 3. (ver Anexo A), segue que

$$e^{d_2 N^B t} V \leq \frac{e^{d_2 N^B t} z g T_i^B}{d_2 N^B} + C$$

$$\Rightarrow V \leq \frac{z g T_i^B}{d_2 N^B} + C e^{-d_2 N^B t}.$$

Ainda, como $V(0) = V_0$,

$$V(t) \leq \frac{z g T_i^B}{d_2 N^B} + \left(V_0 - \frac{z g T_i^B}{d_2 N^B} \right) e^{-d_2 N^B t}.$$

Tomando limites em ambos os lados da equação acima, segue que:

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} V(t) = \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{z g T_i^B}{d_2 N^B} + \left(V_0 - \frac{z g T_i^B}{d_2 N^B} \right) e^{-d_2 N^B t} = \frac{z g T_i^B}{d_2 N^B}.$$

Assim, conclui-se que $V(t) \leq \max \left\{ V_0, \frac{z g T_i^B}{d_2 N^B} \right\}$, ou ainda, $V(t) \leq \max \left\{ V_0, \frac{z g r_1 I}{d_2 s_2} \right\}$.

Por fim, note que, da equação (5), se $(T_u + T_i)(t) \leq (T_u + T_i)^B = r_1$ e $N \leq N^B = \frac{s_2}{I}$, $\forall t \geq 0$, tem-se

$$\begin{aligned} \frac{dL}{dt} &= -mL + \frac{n(T_u + T_i)L}{h_3 + T_u + T_i} - qL(T_u + T_i) + pN(T_u + T_i) \\ &\leq pN(T_u + T_i) - qL(T_u + T_i) \\ &\leq pN^B(T_u + T_i)^B - q(T_u + T_i)^B L. \end{aligned}$$

Utilizando o fator integrante e A 3. do Anexo A,

$$\exp \left\{ \int q(T_u + T_i)^B dt \right\} = \exp \left\{ q(T_u + T_i)^B t \right\},$$

segue que

$$L \leq \frac{pN^B(T_u + T_i)^B}{q(T_u + T_i)^B} + C \exp \left\{ -q(T_u + T_i)^B t \right\},$$

C constante qualquer.

Impondo a condição inicial, segue que

$$L_0 = L(0) = \frac{\rho N^B (T_u + T_j)^B}{q (T_u + T_j)^B} + C$$

$$\Rightarrow C = L_0 - \frac{\rho N^B (T_u + T_j)^B}{q (T_u + T_j)^B}.$$

Portanto,

$$L \leq \frac{\rho N^B (T_u + T_j)^B}{q (T_u + T_j)^B} + \left(L_0 - \frac{\rho N^B (T_u + T_j)^B}{q (T_u + T_j)^B} \right) \exp \left\{ -q (T_u + T_j)^B t \right\}.$$

Tomando limites em ambos os lados da equação acima, segue que:

$$\limsup_{t \rightarrow \infty} L(t) \leq \lim_{t \rightarrow \infty} \frac{\rho N^B (T_u + T_j)^B}{q (T_u + T_j)^B} + \left(L_0 - \frac{\rho N^B (T_u + T_j)^B}{q (T_u + T_j)^B} \right) \exp \left\{ -q (T_u + T_j)^B t \right\}$$

$$= \frac{\rho N^B (T_u + T_j)^B}{q (T_u + T_j)^B} = \frac{\rho s_2 r_1}{l q r_1} = \frac{\rho s_2}{l q}.$$

Deste modo, conclui-se que $L(t) \leq \max \left\{ L_0, \frac{\rho s_2}{l q} \right\}$.

(iii) Como o lado direito do sistema é de classe C^1 , satisfaz as propriedades de funções localmente Lipschitz. Desta forma, a existência e unicidade de soluções do sistema são garantidas pelo Teorema A 2. do Anexo A.

□

3.1.1 Pontos Estacionários

A seguir calculam-se os pontos estacionários referentes ao sistema (1)-(5). Por comodidade, opta-se por omitir a notação para os pontos estacionários T_u^* , T_j^* , V^* , N^* , L^* durante as contas.

Igualando o lado direito da equação (1) a zero, obtém-se:

$$\begin{aligned}
\frac{dT_U}{dt} &= aT_U \left(1 - \frac{T_U + T_i}{r_1}\right) - bT_U V - c_1 N T_U - d_1 T_U \frac{L}{s_1 + L} = 0 \\
\Rightarrow T_U &\left[a \left(1 - \frac{T_U + T_i}{r_1}\right) - bV - c_1 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} \right] = 0 \\
\Leftrightarrow T_U = 0 &\text{ ou } a \left(1 - \frac{T_U + T_i}{r_1}\right) - bV - c_1 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} = 0 \\
\Leftrightarrow T_U = 0 &\text{ ou } a - \frac{aT_U}{r_1} - \frac{aT_i}{r_1} - bV - c_1 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} = 0 \\
\Leftrightarrow T_U = 0 &\text{ ou } \frac{aT_U}{r_1} = a - \frac{aT_i}{r_1} - bV - c_1 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} \\
\Leftrightarrow T_U = 0 &\text{ ou } T_U = \left(\frac{r_1}{a}\right) \left[a - \frac{aT_i}{r_1} - bV - c_1 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} \right]
\end{aligned}$$

Considere o caso em que $T_U = 0$. Igualando o lado direito da equação (2) a zero, tem-se que

$$\begin{aligned}
\frac{dT_i}{dt} &= bT_U V - e_1 T_i - c_2 N T_i - d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L} = 0 \\
\Rightarrow T_i &\left(-e_1 - c_2 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} \right) + bT_U V = 0 \\
\Rightarrow -T_i &\left(e_1 + c_2 N + d_1 \frac{L}{s_1 + L} \right) = -bT_U V \\
\Rightarrow T_i &= \frac{bT_U V}{e_1 + c_2 N + d_1 \frac{L}{s_1 + L}} \\
\Rightarrow T_i &= 0.
\end{aligned}$$

Agora, igualando o lado direito da equação (3) a zero, segue que

$$\begin{aligned}
gzT_i - d_2 NV &= 0 \\
\Rightarrow gzT_i &= d_2 NV \\
\Rightarrow V &= \frac{gzT_i}{d_2 N},
\end{aligned}$$

e como $T_i = 0$, tira-se que $V = 0$.

Igualando o lado direito da equação (4) a zero, e considerando $T_i = 0$, $T_U = 0$,

$$\begin{aligned}
s_2 + wN \left(1 - \frac{N}{r_2}\right) \left(\frac{T_i}{h_2 + T_i}\right) - IN - k(T_U + T_i)N &= 0 \\
\Rightarrow s_2 - IN = 0 &\Rightarrow N = \frac{s_2}{I}.
\end{aligned}$$

Por fim, igualando o lado direito da equação (5) a zero, obtém-se

$$\begin{aligned} -mL + \frac{n(T_u + T_i)L}{h_3 + T_u + T_i} - qL(T_u + T_i) + pN(T_u + T_i) &= 0 \\ -mL = 0 &\Rightarrow L = 0. \end{aligned}$$

Assim, o primeiro ponto estacionário do modelo imunocompetente obtido é $P_1 = (0,0,0,N^*,0) = \left(0,0,0,\frac{S_2}{I},0\right)$. P_1 pode ser chamado de Ponto Estacionário de Erradicação do Tumor, que representa a situação de completa erradicação do tumor, ou seja, sucesso da viroterapia oncolítica. Se o vírus infectar todas as células tumorais, então estas sofrerão oncólise até que não existam mais células tumorais. De acordo com as suposições biológicas apresentadas no Cap.2, as células NK sempre estão presentes ao redor do tumor e, P_1 indica que, após um tratamento bem-sucedido, espera-se que a população de células NK estabilize-se em $\frac{S_2}{I}$ células. Ainda, a população de células T CD8⁺ (L) ao redor do tumor estingue-se, visto que (de acordo com o proposto no Cap.2) são recrutadas pelo tumor e pelo encontro de células NK e células tumorais.

Agora, considerando o caso em que $T_u \neq 0$, igualando o lado direito da equação (3) a zero, tem-se a seguinte expressão para V :

$$V = \frac{zgT_i}{d_1N}, \quad N \neq 0.$$

Igualando o lado direito da equação (2) a zero e substituindo V na mesma, tira-se que:

$$\begin{aligned} bT_uV - e_1T_i - c_2NT_i - d_1T_i\frac{L}{s_1 + L} &= 0 \\ \Rightarrow \frac{zgbT_uT_i}{d_1N} - e_1T_i - c_2NT_i - d_1T_i\frac{L}{s_1 + L} &= 0 \\ \Rightarrow T_i\left(\frac{zgbT_u}{d_1N} - e_1 - c_2N - d_1\frac{L}{s_1 + L}\right) &= 0 \\ \Rightarrow T_i = 0 \text{ ou } \frac{zgbT_u}{d_1N} - e_1 - c_2N - d_1\frac{L}{s_1 + L} &= 0. \end{aligned}$$

Se $T_i = 0$, então, igualando o lado direito da equação (1) a zero, segue que:

$$\begin{aligned}
\frac{dT_u}{dt} &= aT_u \left(1 - \frac{T_u + T_j}{r_1}\right) - bT_uV - c_1NT_u - d_1T_u \frac{L}{s_1 + L} \\
\Rightarrow T_u \left(a - \frac{aT_u}{r_1} - bV - c_1N - d_1 \frac{L}{s_1 + L}\right) &= 0 \\
\Rightarrow T_u = 0 \text{ ou } a - \frac{aT_u}{r_1} - bV - c_1N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} &= 0
\end{aligned}$$

Note que $T_u = 0$ resulta em P_1 .

Igualando do lado direito da equação (4) a zero, obtém-se:

$$\begin{aligned}
s_2 + wN \left(1 - \frac{N}{r_2}\right) \left(\frac{T_j}{h_2 + T_j}\right) - IN - k(T_u + T_j)N &= 0 \\
\Rightarrow s_2 - IN - kT_uN &= 0 \\
\Rightarrow s_2 - IN - kN \frac{a}{\frac{a}{r_1} + c_1N + d_1 \frac{L}{s_1 + L}} &= 0 \\
\Rightarrow s_2 - IN - kN \frac{a}{\frac{a(s_1 + L) + r_1c_1N(s_1 + L) + d_1Lr_1}{r_1(s_1 + L)}} &= 0 \\
\Rightarrow L(s_2a + s_2c_1r_1N + s_2d_1r_1 - INa - IN^2c_1r_1 - INd_1r_1 - kNar_1) & \\
+ s_2as_1 + s_2c_1r_1s_1 - INas_1 - IN^2c_1r_1s_1 - kNar_1s_1 &= 0 \\
\Rightarrow L = \frac{N(als_1 + kar_1s_1) + IN^2c_1r_1s_1 - s_2as_1 - s_2c_1r_1s_1}{N(s_2c_1r_1 + al - ld_1r_1 - kar_1) - IN^2c_1r_1 + s_2a + s_2d_1r_1}. &
\end{aligned}$$

Reescrevendo a expressão para L obtida acima, segue que

$$L = \frac{\alpha_1 N + \alpha_2 N^2 - \alpha_3}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6}, \quad (12)$$

em que

$$\begin{aligned}
\alpha_1 &= als_1 + kar_1s_1, \quad \alpha_2 = lc_1r_1s_1, \quad \alpha_3 = s_2as_1 + s_2c_1r_1s_1, \\
\alpha_4 &= s_2c_1r_1 + al - ld_1r_1 - kar_1, \quad \alpha_5 = lc_1r_1, \quad \alpha_6 = s_2a + s_2d_1r_1.
\end{aligned}$$

Escrevendo T_u como

$$T_u = \frac{ar_1(s_1 + L)}{a(s_1 + L) + c_1 r_1(s_1 + L)N + d_1 r_1 L},$$

e notando que

1.

$$\begin{aligned} ar_1(s_1 + L) &= ar_1 \left(s_1 + \frac{\alpha_1 N + \alpha_2 N^2 - \alpha_3}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6} \right) \\ &= \frac{(\alpha_1 + ar_1 \alpha_4)N + (\alpha_2 - ar_1 s_1 \alpha_5)N^2 + \alpha_6 ar_1 s_1 - \alpha_3}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6} \end{aligned}$$

2.

$$\begin{aligned} a(s_1 + L) + c_1 r_1(s_1 + L)N + d_1 r_1 L &= \left(s_1 + \frac{\alpha_1 N + \alpha_2 N^2 - \alpha_3}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6} \right) (a + c_1 r_1 N) \\ &\quad + \frac{d_1 r_1 (\alpha_1 N + \alpha_2 N^2 - \alpha_3)}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6} \\ &= \frac{\beta_1 N + \beta_2 N^2 + \beta_3 N^3 + \beta_4}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6}, \end{aligned}$$

em que

$$\begin{aligned} \beta_1 &= s_1 a \alpha_4 + \alpha_1 a + s_1 \alpha_6 c_1 r_1 - \alpha_3 c_1 r_1 + d_1 r_1 \alpha_1, \\ \beta_2 &= -s_1 - 1 \alpha_5 a + \alpha_2 a + c_1 r_1 s_1 \alpha_4 + \alpha_1 c_1 r_1 + d_1 r_1 \alpha_2, \\ \beta_3 &= -s_1 \alpha_5 c_1 r_1 + \alpha_2 c_1 r_1, \quad \beta_4 = s_1 \alpha_6 a + \alpha_3 a - d_1 r_1 \alpha_3. \end{aligned}$$

Pode-se reescrever T_u como:

$$T_u = \frac{(\alpha_1 + ar_1 \alpha_4)N + (\alpha_2 - ar_1 s_1 \alpha_5)N^2 + \alpha_6 ar_1 s_1 - \alpha_3}{\beta_1 N + \beta_2 N^2 + \beta_3 N^3 + \beta_4},$$

ou ainda,

$$T_u = \frac{\gamma_1 N + \gamma_2 N^2 + \gamma_3}{\beta_1 N + \beta_2 N^2 + \beta_3 N^3 + \beta_4}, \quad (13)$$

em que

$$\gamma_1 = \alpha_1 + ar_1 \alpha_4, \quad \gamma_2 = \alpha_2 - ar_1 s_1 \alpha_5, \quad \gamma_3 = \alpha_6 ar_1 s_1 - \alpha_3.$$

Agora, note que $T_u L$ fornece:

$$T_u L = \frac{\gamma_1 N + \gamma_2 N^2 + \gamma_3}{\beta_1 N + \beta_2 N^2 + \beta_3 N^3 + \beta_4} \cdot \frac{\alpha_1 N + \alpha_2 N^2 - \alpha_3}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6}$$

$$= \frac{p_4 N^4 + p_3 N^3 + p_2 N^2 + p_1 N - p_0}{q_5 N^5 + q_4 N^4 + q_3 N^3 + q_2 N^2 + q_1 N + q_0},$$

em que

$$p_0 = \gamma_3 \alpha_3, \quad p_1 = \gamma_3 \alpha_1 - \alpha_3 \gamma_1, \quad p_2 = \gamma_1 \alpha_1 + \gamma_3 \alpha_2 - \alpha_3 \gamma_2,$$

$$p_3 = \gamma_2 \alpha_1 + \gamma_1 \alpha_2, \quad p_4 = \gamma_2 \alpha_2,$$

$$q_0 = \beta_4 \alpha_6, \quad q_1 = \alpha_6 \beta_1 + \beta_4 \alpha_4, \quad q_2 = \alpha_4 \beta_1 + \alpha_6 \beta_2 - \beta_4 \alpha_5,$$

$$q_3 = \beta_2 \alpha_4 - \beta_1 \alpha_5 + \alpha_6 \beta_3, \quad q_4 = \beta_3 \alpha_4 - \alpha_5 \beta_2, \quad q_5 = -\alpha_5 \beta_3.$$

Logo,

$$\frac{T_u L}{h_3 + T_u} = \frac{\frac{p_4 N^4 + p_3 N^3 + p_2 N^2 + p_1 N - p_0}{q_5 N^5 + q_4 N^4 + q_3 N^3 + q_2 N^2 + q_1 N + q_0}}{\frac{h_3 \beta_3 N^3 + (h_3 \beta_2 + \gamma_2) N^2 + (h_3 \beta_1 + \gamma_1) N + (\beta_4 h_3 + \gamma_3)}{\beta_1 N + \beta_2 N^2 + \beta_3 N^3 + \beta_4}}$$

$$= \frac{m_7 N^7 + m_6 N^6 + m_5 N^5 + m_4 N^4 + m_3 N^3 + m_2 N^2 + m_1 N - m_0}{n_8 N^8 + n_7 N^7 + n_6 N^6 + n_5 N^5 + n_4 N^4 + n_3 N^3 + n_2 N^2 + n_1 N + n_0},$$

em que

$$m_0 = \gamma_3 \alpha_3 \beta_4, \quad m_1 = p_1 \beta_4 - \beta_1 \gamma_3 \alpha_3, \quad m_2 = \beta_1 p_1 - \beta_2 \gamma_3 \alpha_3 + \beta_4 p_2,$$

$$m_3 = p_3 \beta_4 + p_2 \beta_1 + p_1 \beta_2 - \gamma_2 \alpha_3, \quad m_4 = p_4 \beta_4 + \beta_1 p_3 + \beta_2 p_2 + \beta_3 p_1,$$

$$m_5 = \beta_1 p_4 + \beta_2 p_3 + \beta_3 p_2, \quad m_6 = \beta_2 p_4 + \beta_3 p_3, \quad m_7 = p_4 \beta_3,$$

$$n_0 = (\beta_4 h_3 + \gamma_3) \beta_4 \alpha_6, \quad n_1 = (h_3 \beta_1 + \gamma_1) \beta_4 \alpha_6 + q_1 (\beta_4 h_3 + \gamma_3),$$

$$n_2 = (h_3 \beta_2 + \gamma_2) \beta_4 \alpha_6 + q_1 (h_3 \beta_1 + \gamma_1),$$

$$n_3 = p_3 (\beta_4 h_3 + \gamma_3) + q_2 (h_3 \beta_1 + \gamma_1) + q_1 (h_3 \beta_2 + \gamma_2) + h_3 \beta_3 \beta_4 \alpha_6,$$

$$n_4 = p_4 (\beta_4 h_3 + \gamma_3) + q_3 (h_3 \beta_1 + \gamma_1) + (h_3 \beta_2 + \gamma_2) q_2 + h_3 \beta_3 q_1,$$

$$n_5 = h_3 \beta_3 q_3 + q_4 (h_3 \beta_2 + \gamma_2) + q_5 (h_3 \beta_1 + \gamma_1) + q_5 \beta_4 \gamma_3,$$

$$n_6 = q_5 (h_3 \beta_1 + \gamma_1) + q_4 (h_3 \beta_2 + \gamma_2) + q_3 h_3 \beta_3,$$

$$n_7 = h_3 \beta_3 q_4 + q_5 (h_3 \beta_2 + \gamma_2), \quad n_8 = q_5 h_3 \beta_3.$$

Assim, do lado direito da equação (5) igualada a zero, $T_i = 0$, tem-se

$$\begin{aligned}
& -mL + \frac{nT_u L}{h_3 + T_u} - qLT_u + pNT_u = 0 \\
& \Rightarrow -m \left(\frac{\alpha_1 N + \alpha_2 N^2 - \alpha_3}{\alpha_4 N - \alpha_5 N^2 + \alpha_6} \right) \\
& + n \left(\frac{m_7 N^7 + m_6 N^6 + m_5 N^5 + m_4 N^4 + m_3 N^3 + m_2 N^2 + m_1 N - m_0}{n_8 N^8 + n_7 N^7 + n_6 N^6 + n_5 N^5 + n_4 N^4 + n_3 N^3 + n_2 N^2 + n_1 N + n_0} \right) \\
& - q \left(\frac{p_4 N^4 + p_3 N^3 + p_2 N^2 + p_1 N - p_0}{q_5 N^5 + q_4 N^4 + q_3 N^3 + q_2 N^2 + q_1 N + q_0} \right) \\
& + p \left(\frac{\gamma_1 N^2 + \gamma_2 N^3 + \gamma_3 N}{\beta_1 N + \beta_2 N^2 + \beta_3 N^3 + \beta_4} \right) = 0. \tag{14}
\end{aligned}$$

Dada a complexidade da igualdade (14), conclui-se que os Pontos Estacionários de Viroterapia Ineficaz, $P_2 = (T_u^*, 0, 0, N^*, L^*)$, que indicam que a viroterapia oncolítica falhou e a população de células tumorais não-infectadas continua a crescer até T_u^* , são dados pelas soluções positivas das equações (12), (13) e (14).

Em busca de uma expressão para os Pontos Estacionários de Coexistência, considera-se

$$V = \frac{zgT_i}{d_2 N}, \quad N \neq 0, \tag{15}$$

e o caso em que

$$T_u = \left(\frac{r_1}{a} \right) \left[a - \frac{aT_i}{r_1} - bV - c_1 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L} \right]. \tag{16}$$

Igualando o lado direito da equação (2) a zero, obtém-se

$$\begin{aligned}
\frac{dT_i}{dt} &= bT_u V - e_1 T_i - c_2 NT_i - d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L} = 0 \\
\Rightarrow & br_1 V - bT_i V - \frac{b^2 r_1}{a} V^2 - \frac{br_1 c_1}{a} NV - \frac{br_1 d_1}{a} \frac{LV}{s_1 + L} - e_1 T_i - c_2 NT_i - d_1 T_i \frac{L}{s_1 + L} = 0 \\
\Rightarrow & \frac{br_1 zgT_i}{d_2 N} - \frac{br_1 T_i^3 z^2 g^2}{ad_2^2 N^2} - \frac{br_1 c_1 zgT_i N}{ad_2 N} - \frac{br_1 d_1 zgLT_i}{a(s_1 + L)d_2 N} - e_1 T_i - c_2 NT_i - d_1 \frac{T_i}{s_1 + L} = 0
\end{aligned}$$

$$\Rightarrow \left(-\frac{br_1 z^2 g^2}{ad_2^2 N^2} \right) T_i^3 + T_i \left[\frac{br_1 zg}{d_2 N} - \frac{br_1 c_1 zg}{ad_2} - c_2 N - e_1 - \frac{L}{s_1 + L} \left(d_1 + \frac{bd_1 r_1 zg}{ad_2 N} \right) \right] = 0$$

$$\Rightarrow T_i = 0 \text{ ou } T_i^2 \left(-\frac{br_1 z^2 g^2}{ad_2^2 N^2} \right) + \frac{br_1 zg}{d_2 N} - \frac{br_1 c_1 zg}{ad_2} - c_2 N - e_1 - \frac{L}{s_1 + L} \left(d_1 + \frac{bd_1 r_1 zg}{ad_2 N} \right) = 0.$$

Se $T_i = 0$, então $V = 0$ e $T_u = 1 - \frac{r_1 c_1}{a} N - \frac{r_1 d_1 L}{a(s_1 + L)}$. A partir desta expressão para T_u , pode-se obter expressões para L e N seguindo o raciocínio feito anteriormente. Deste modo, são obtidos pontos estacionários de Viroterapia Ineficaz, $P_2 = (T_u^*, 0, 0, N^*, L^*)$.

Considerando o caso em que

$$T_i^2 \left(-\frac{br_1 z^2 g^2}{ad_2^2 N^2} \right) + \frac{br_1 zg}{d_2 N} - \frac{br_1 c_1 zg}{ad_2} - c_2 N - e_1 - \frac{L}{s_1 + L} \left(d_1 + \frac{bd_1 r_1 zg}{ad_2 N} \right) = 0,$$

segue que:

$$T_i^2 = \frac{d_2^2 a N^2}{d_2 a N} \cdot \left(\frac{abr_1 gz N(s_1 + L) - br_1 c_1 zg N(s_1 + L) - cN^2(s_1 + L)a}{br_1 z^2 g^2(s_1 + L)} + \frac{-L\alpha d_2 a N + e_1(s_1 + L)ad_2 N}{br_1 z^2 g^2(s_1 + L)} \right), \quad (17)$$

em que $\alpha = d_1 + \frac{bd_1 r_1 zg}{ad_2 N}$ e consideram-se apenas as soluções positivas de (17).

3.1.2 Análise de Estabilidade

O sistema linearizado no ponto (T_u, T_i, V, N, L) é representado pela matriz jacobiana:

$$J = \begin{pmatrix} a_{11} & -\frac{a}{r_1} T_u & -b T_u & -c_1 T_u & a_{15} \\ bV & a_{22} & b T_u & -c_2 T_i & a_{25} \\ 0 & gz & -d_2 N & -d_2 V & 0 \\ -kN & a_{42} & 0 & a_{44} & 0 \\ a_{51} & a_{52} & 0 & \rho(T_u + T_i) & a_{55} \end{pmatrix},$$

em que

$$\begin{aligned}
a_{11} &= a \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1} \right) - \frac{a}{r_1} T_u - bV - c_1 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L}, \\
a_{15} &= -\frac{d_1 s_1}{(s_1 + L)^2} T_u, \\
a_{22} &= -e_1 - c_2 N - d_1 \frac{L}{s_1 + L}, \\
a_{25} &= -\frac{d_1 s_1}{(s_1 + L)^2} T_i, \\
a_{42} &= wN \left(1 - \frac{N}{r_2} \right) \frac{h_2}{(h_2 + T_i)^2} - kN, \\
a_{44} &= w \left(\frac{T_i}{h_2 + T_i} \right) \left(1 - \frac{2N}{r_2} \right) - l - k(T_u + T_i), \\
a_{51} &= \frac{nL(h_3 + T_u + T_i) - nT_u L}{(h_3 + T_u + T_i)^2} - qL + pN, \\
a_{52} &= \frac{nL(h_3 + T_u + T_i) - nT_i L}{(h_3 + T_u + T_i)^2} - ql + pN, \\
a_{55} &= -m + \frac{n}{h_3 + T_u + T_i} T_u - q(T_u + T_i).
\end{aligned}$$

Avaliando a jacobiana no ponto $P_1 = (0, 0, 0, \frac{s_2}{l}, 0)$, obtém-se

$$J(P_1) = \begin{pmatrix} -\frac{c_1 s_2}{l} & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & -e_1 - \frac{c_2 s_2}{l} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & gz & -\frac{d_2 s_2}{l} & 0 & 0 \\ -\frac{ks_2}{l} & a_{42} & 0 & -l & 0 \\ \frac{ps_2}{l} & \frac{ps_2}{l} & 0 & 0 & -m \end{pmatrix},$$

em que $a_{42} = \frac{s_2}{l} \left[\frac{w}{h_2} \left(1 - \frac{s_2}{r_2 l} \right) - k \right]$.

Como $J(P_1)$ é triangular inferior, os autovalores são exatamente os elementos da diagonal, sendo eles: $\lambda_1 = -\frac{c_1 s_2}{l}$, $\lambda_2 = -e_1 - \frac{c_2 s_2}{l}$, $\lambda_3 = -\frac{d_2 s_2}{l}$, $\lambda_4 = -l$, $\lambda_5 = -m$. Como os parâmetros são todos positivos, $\lambda_i < 0$, $i = 1, \dots, 5$ e conclui-se que P_1 , ponto estacionário de Erradicação do Tumor, é localmente assintoticamente estável.

Para investigar a estabilidade dos pontos de equilíbrio de Viroterapia Ineficaz, $P_2 = (T_u^*, 0, 0, N^*, L^*)$, avalia-se a jacobiana no ponto P_2 e obtém-se:

$$J(P_2) = \begin{pmatrix} a_{11} & -\frac{a}{r_1} T_u^* & -bT_u^* & 0 - c_1 T_u^* & -\frac{d_1 s_1 T_u^*}{(s_1 + L^*)^2} \\ 0 & -e_1 - \frac{d_1 L^*}{s_1} L^* & bT_u^* & 0 & 0 \\ 0 & gz & -d_2 N^* & 0 & 0 \\ -kN^* & \left(\frac{w}{h_2} \left(1 - \frac{N^*}{r_2} \right) - k \right) N^* & 0 & -l - kT_u^* & 0 \\ a_{51} & a_{52} & 0 & pT_u^* & a_{55} \end{pmatrix}, \quad (18)$$

em que

$$\begin{aligned} a_{11} &= a \left(1 - \frac{T_u^*}{r_1} \right) - \frac{aT_u^*}{r_1} - c_1 N^* - d_1 \frac{L^*}{s_1 + L^*}, \\ a_{51} &= -\frac{nL^*(h_3 + T_u^*) + nT_u^*L^*}{(h_3 + T_u^*)^2} - qL^* + pN^*, \\ a_{52} &= \frac{nL^*}{(h_3 + T_u^*)} - qL^* + pN^*, \\ a_{55} &= -m + \frac{nT_u^*}{h_3 + T_u^*} - qT_u^*. \end{aligned}$$

Reescrevendo (18) como

$$J(P_2) = \begin{pmatrix} A_1 & A_2 & A_3 & A_4 & A_5 \\ 0 & B_2 & B_3 & 0 & 0 \\ 0 & C_2 & C_3 & 0 & 0 \\ D_1 & D_2 & 0 & D_4 & 0 \\ E_1 & E_2 & 0 & E_4 & E_5 \end{pmatrix},$$

observa-se que os autovalores correspondentes a jacobiana avaliada em P_2 são as soluções da equação

$$\lambda^3 + \frac{H_2}{H_1} \lambda^2 + \frac{H_3}{H_1} \lambda + \frac{H_4}{H_1} = 0,$$

em que

$$H_1 = B_3 C_2 + A_4 D_1 + A_5 E_1,$$

$$H_2 = A_5 [D_1 E_4 - E_1 (B_2 + C_3 + D_4)] - B_3 C_2 (A_1 + D_4 + E_5) - A_4 D_1 (C_3 + E_5),$$

$$\begin{aligned} H_3 &= B_3 C_2 [A_1 D_4 + E_5 (A_1 + D_4) - A_4 D_1] + A_4 B_2 [E_1 (C_3 + D_4) + D_1 (C_3 + E_5)] \\ &+ D_1 [A_4 C_3 E_5 - A_5 E_4 (B_2 + C_3)] + A_5 E_1 [B_2 (C_3 + D_4) + C_3 D_4], \end{aligned}$$

$$H_4 = A_4 D_1 (-B_2 C_3 E_5 + B_3 C_2 E_5) + C_3 (A_5 D_1 E_4 B_2 - A_5 E_1 B_2 D_4) - B_3 C_2 E_5 A_1 D_4.$$

P_2 é estável, segundo o critério de Routh-Hurwitz A4, caso tenha-se $H_1 \neq 0$, $\frac{H_2}{H_1} > 0$, $\frac{H_3}{H_1} > 0$ e $H_2H_3 > H_4H_1$.

Dada a dificuldade em analisar qualitativamente a estabilidade de P_2 , resolve-se analisá-la numericamente. Da equação (14), tem-se $P(N^*)$ dado por

$$P(N^*) = \delta_{12}N^{12} + \delta_{11}N^{11} + \delta_{10}N^{10} + \delta_9N^9 + \delta_8N^8 + \delta_7N^7 + \delta_6N^6 + \delta_5N^5 + \delta_4N^4 + \delta_3N^3 + \delta_2N^2 + \delta_1N + \delta_0 = 0, \quad (19)$$

em que

$$\delta_{12} = nm_7q_5 - qp_4n_8; \quad \delta_{11} = nm_7q_4 + nm_6q_5 - qp_4n_7 - qp_3n_8 + p\gamma_2n_8;$$

$$\delta_{10} = -m\alpha_2n_8 + nm_7q_3 + nm_6q_4 + nm_5q_5 + nm_7\beta_3 - qp_4n_6 - qp_3n_7 - qp_2n_8 + p\gamma_1n_8 + p\gamma_2n_7;$$

$$\delta_9 = -m\alpha_1n_8 - m\alpha_2m_7 - nm_7\alpha_5 + nm_7q_2 + nm_6q_3 + nm_5q_4 + nm_4q_5 + nm_7\beta_2 + nm_6\beta_3 - qp_4n_5 - qp_3n_6 - qp_2n_7 - qp_1n_8 + p\gamma_1n_7 + p\gamma_2n_6 + p\gamma_3n_8;$$

$$\delta_8 = -m\alpha_1n_7 - m\alpha_2n_6 + m\alpha_3n_8 + nm_7\alpha_4 - nm_6\alpha_5 + nm_7q_1 + nm_6q_2 + nm_5q_3 + nm_3q_5 + nm_4q_4 + nm_7\beta_1 + nm_6\beta_2 + nm_5\beta_3 - qp_4n_4 - qp_3n_5 - qp_2n_6 - qp_1n_7 + qp_0n_8 + p\gamma_1n_6 + p\gamma_2n_5 + p\gamma_3n_7 + p\gamma_2q_5;$$

$$\delta_7 = -m\alpha_1n_6 - m\alpha_2n_5 + m\alpha_3n_7 - m\alpha_2q_5 + nm_7\alpha_6 + nm_6\alpha_4 - nm_5\alpha_5 + nm_7q_0 + nm_6q_1 + nm_5q_2 + nm_4q_3 + nm_3q_4 + nm_2q_5 + nm_7\beta_4 + nm_6\beta_1 + nm_5\beta_2 + nm_4\beta_3 - qp_4n_3 - qp_3n_4 - qp_2n_5 - qp_1n_6 + qp_0n_7 - qp_4\beta_3 + p\gamma_1n_5 + p\gamma_2n_4 + p\gamma_3n_6 + p\gamma_1q_5 + p\gamma_2q_4;$$

$$\delta_6 = -m\alpha_1n_5 - m\alpha_2n_4 + m\alpha_3n_6 - m\alpha_1q_5 - m\alpha_2q_4 + nm_6\alpha_6 + nm_5\alpha_4 - nm_4\alpha_5 + nm_6q_0 + nm_5q_1 + nm_4q_2 + nm_3q_3 + nm_2q_4 + nm_1q_5 + nm_6\beta_4 + nm_5\beta_1 + nm_4\beta_2 + nm_3\beta_3 + qp_4\alpha_5 - qp_4n_2 - qp_3n_3 - qp_2n_4 - qp_1n_5 + qp_0n_6 - qp_4\beta_2 - qp_3\beta_3 + p\gamma_1n_4 + p\gamma_2n_3 + p\gamma_3n_5 + p\gamma_1q_4 + p\gamma_2q_3 + p\gamma_3q_5;$$

$$\delta_5 = -m\alpha_1n_4 - m\alpha_2n_3 + m\alpha_3n_5 - m\alpha_1q_4 - m\alpha_2q_3 + m\alpha_3q_5 - m\alpha_2\beta_2 + nm_5\alpha_6 + nm_4\alpha_4 - nm_3\alpha_3 + nm_5q_0 + nm_4q_1 + nm_3q_2 + nm_2q_3 + nm_1q_4 - nm_0q_5 + nm_5\beta_4 + nm_4\beta_1 + nm_3\beta_2 + nm_2\beta_3 - qp_4\alpha_4 + qp_3\alpha_5 - qp_4n_1 - qp_3n_2 - qp_2n_3 - qp_1n_4 + qp_0n_5 - qp_4\beta_1 - qp_3\beta_2 - qp_2\beta_3 - p\gamma_2\alpha_5 + p\gamma_1n_3 + p\gamma_2n_2 + p\gamma_1q_3 + p\gamma_2q_2 + p\gamma_3q_4 + p\gamma_3n_4;$$

$$\begin{aligned} \delta_4 = & -m\alpha_1 n_3 - m\alpha_2 n_2 + m\alpha_3 n_4 - m\alpha_1 q_3 - m\alpha_2 q_2 + m\alpha_3 q_4 - m\alpha_1 \beta_3 - m\alpha_2 \beta_2 + nm_4 \alpha_6 \\ & + nm_3 \alpha_4 - nm_2 \alpha_5 + nm_4 q_0 + nm_3 q_1 + nm_1 q_3 + nm_2 q_2 - nm_0 q_4 + nm_4 \beta_4 + nm_3 \beta_1 \\ & + nm_2 \beta_2 + nm_1 \beta_3 - qp_4 \alpha_6 - qp_3 \alpha_4 + qp_2 \alpha_5 - qp_4 n_0 - qp_3 n_1 - qp_2 n_2 - qp_1 n_3 + qp_0 n_4 \\ & - qp_4 \beta_4 - qp_3 \beta_1 - qp_2 \beta_2 - qp_1 \beta_3 + p\gamma_2 \alpha_4 - p\gamma_1 \alpha_5 + p\gamma_1 n_2 + p\gamma_2 n_1 + p\gamma_3 n_3 + p\gamma_1 q_2 \\ & + p\gamma_2 q_1 + p\gamma_3 q_3; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \delta_3 = & -m\alpha_1 n_2 - m\alpha_2 n_1 + m\alpha_3 n_3 - m\alpha_1 q_2 - m\alpha_2 q_1 + m\alpha_3 q_3 - m\alpha_1 \beta_2 - m\alpha_2 \beta_1 + m\alpha_3 \beta_3 \\ & + nm_3 \alpha_6 + nm_2 \alpha_4 - nm_1 \alpha_5 + nm_3 q_0 + nm_1 q_2 + nm_2 q_1 - nm_0 q_3 + nm_3 \beta_4 + nm_2 \beta_1 \\ & + nm_1 \beta_2 - nm_0 \beta_3 - qp_3 \alpha_6 - qp_2 \alpha_4 + qp_1 \alpha_6 - qp_3 n_0 - qp_2 n_1 - qp_1 n_2 + qp_0 n_3 - qp_3 \beta_4 \\ & - qp_2 \beta_1 - qp_1 \beta_2 + qp_0 \beta_3 + p\gamma_1 \alpha_4 + p\gamma_2 \alpha_6 - p\gamma_3 \alpha_5 + p\gamma_1 n_1 + p\gamma_2 n_0 + p\gamma_3 n_2 + p\gamma_1 q_1 \\ & + p\gamma_2 q_0 + p\gamma_3 q_2; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \delta_2 = & -m\alpha_1 n_1 - m\alpha_2 n_0 + m\alpha_3 n_2 - m\alpha_1 q_1 - m\alpha_2 q_0 + m\alpha_3 q_2 - m\alpha_1 \beta_1 - m\alpha_2 \beta_4 + m\alpha_3 \beta_2 \\ & + nm_2 \alpha_6 + nm_1 \alpha_4 + nm_0 \alpha_5 + nm_1 q_1 + nm_2 q_0 - nm_0 q_2 + nm_2 \beta_4 + nm_1 \beta_1 - nm_0 \beta_2 \\ & - qp_2 \alpha_6 - qp_1 \alpha_4 - qp_0 \alpha_5 - qp_2 n_0 - qp_1 n_1 + qp_0 n_2 - qp_2 \beta_4 - qp_1 \beta_1 + qp_0 \beta_2 + p\gamma_1 \alpha_6 \\ & + p\gamma_3 \alpha_4 + p\gamma_1 n_0 + p\gamma_3 n_1 + p\gamma_1 q_0 + p\gamma_3 q_1; \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \delta_1 = & -m\alpha_1 n_0 + m\alpha_3 n_1 - m\alpha_1 q_0 + m\alpha_3 q_1 - m\alpha_1 \beta_4 + m\alpha_3 \beta_1 + nm_1 \alpha_6 - nm_0 \alpha_4 + nm_1 q_0 \\ & - nm_0 q_1 + nm_1 \beta_4 - nm_0 \beta_1 - qp_1 \alpha_6 + qp_0 \alpha_4 - qp_1 n_0 + qp_0 n_1 - qp_1 \beta_4 + qp_0 \beta_1 + p\gamma_3 \alpha_6 \\ & + p\gamma_3 n_0 + p\gamma_3 q_0; \end{aligned}$$

$$\delta_0 = m\alpha_3 n_0 + m\alpha_3 q_0 + m\alpha_3 \beta_4 - nm_0 \alpha_6 - nm_0 q_0 - nm_0 \beta_4 + qp_0 \alpha_6 + qp_0 n_0 + qp_0 \beta_4.$$

Utilizando o MATLAB e os valores para os parâmetros presentes na Tabela 2, foram obtidos os seguintes valores para N^* :

$$\begin{aligned} N_1^* &= 0,6661, \quad N_2^* = 61,4995, \quad N_3^* = 89,4547, \quad N_4^* = 1466,7697, \quad N_5^* = -2453,2449, \\ N_6^* &= 1462544,3492, \quad N_7^* = -32663793,3059, \quad N_8^* = 2189843836,5648, \\ N_9^* &= 105490363379,8766, \quad N_{10}^* = -214213668210,8882. \end{aligned}$$

Considerando apenas os valores de N^* positivos, foram calculados os respectivos valores de T_U^* e L^* , a partir da substituição dos valores de N^* nas equações (12) e (13). Foram obtidos três pontos P_2 , a saber:

$$\begin{aligned} P_{2,1} &= (153802693,2026, 0, 0, 61,4995, 6,9389 \times 10^{-8}), \\ P_{2,2} &= (105375773,3408, 0, 0, 89,4547, 1,6518 \times 10^{-6}), \\ P_{2,3} &= (6375893,1952, 0, 0, 1466,7697, 0,0027). \end{aligned}$$

Para cada ponto P_2 obtido, calculou-se a jacobiana avaliada no ponto e os respectivos autovalores. Os autovalores obtidos para o ponto $P_{2,1}$ foram:

$$\lambda_{1,1} = -54,6531 < 0, \quad \lambda_{2,1} = -0,9279 < 0, \quad \lambda_{3,1} = -0,2078 < 0,$$

$$\lambda_{4,1} = 11628,4952 > 0, \quad \lambda_{5,1} = -11771,4443 < 0.$$

Como $\lambda_{4,1} > 0$, conclui-se que $P_{2,1}$ é instável. Os autovalores obtidos para o ponto $P_{2,2}$ foram:

$$\lambda_{1,2} = -38,0763 + 0,0000i, \quad \lambda_{2,2} = -0,2704 + 0,2813i, \quad \lambda_{3,2} = -0,2704 - 0,2813i$$

$$\lambda_{4,2} = -9788,3979 + 0,0000i, \quad \lambda_{5,2} = 9581,1521 + 0,0000i.$$

Como a parte real de $\lambda_{5,2} > 0$, conclui-se que $P_{2,2}$ é instável. Por fim, os autovalores obtidos para o ponto $P_{2,3}$ foram:

$$\lambda_{1,3} = -4,0627 + 0,0000i, \quad \lambda_{2,3} = 0,2747 + 0,9628i, \quad \lambda_{3,3} = 0,2747 - 0,9628i,$$

$$\lambda_{4,3} = -4605,9696 + 0,0000i, \quad \lambda_{5,3} = 1230,8992 + 0,0000i.$$

Como a parte real de $\lambda_{2,3}, \lambda_{3,3}, \lambda_{5,3} > 0$, conclui-se que $P_{2,3}$ é instável.

Portanto, considerando os parâmetros da Tabela 2, nenhum dos pontos P_2 obtidos numericamente são estáveis.

Os pontos estacionários de Coexistência, $P_3 = (T_u^*, T_i^*, V^*, N^*, L^*)$, descrevem a situação na qual o tumor e o vírus oncolítico coexistem no TME. Dada a dificuldade em extrair informações sobre $T_u^*, T_i^*, V^*, N^*, L^*$ (observando a equação (17), e o lado direito das equações (4) e (5) igualadas a zero) e, conseqüentemente, sobre a estabilidade de P_3 , opta-se por fazer um estudo numérico, utilizando valores da Tabela 2. Para isto, utiliza-se o Matlab para resolver o lado direito das equações (1) - (5) igualado a zero. Consideram-se os casos:

- i) Tumor inicial grande ($T_{u0} = 5 \times 10^7$ células);
- ii) Tumor inicial pequeno ($T_{u0} = 10^6$ células);
- iii) Imunidade inicial baixa ($T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $N_0 = 10^3$ células, $L_0 = 10$ células, $s_2 = 3,2 \times 10^3$ células);
- iv) Imunidade inicial alta ($T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $N_0 = 10^5$ células, $L_0 = 10^2$ células, $s_2 = 3,2 \times 10^4$ células);
- v) Alta citopaticidade do vírus ($T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $e_1 = 0,4 \text{ dia}^{-1}$);
- vi) Baixa citopaticidade do vírus ($T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $e_1 = 0,04 \text{ dia}^{-1}$).

Mais informações sobre cada um destes casos serão dadas no Cap.4 - Resultados.

Cada caso forneceu um ponto estacionário. Os pontos obtidos nos casos i), iii), iv), v) e vi) possuem valores para T_i^* e V^* aproximadamente nulos, o que caracteriza P_2 . Nestes casos, P_2 - ponto estacionário de Viroterapia Ineficaz - é estável apenas para a imunidade inicial alta:

$$P_2 = (30531,3673, 3,5773 \times 10^{-13}, 1,0484 \times 10^{-14}, 15234,8906, 817,8712),$$

com autovalores

$$\lambda_1 = -0,03141 + 0,1727i, \quad \lambda_2 = -0,0314 - 0,1727i, \quad \lambda_3 = -2,1003, \\ \lambda_4 = -35041,0239, \quad \lambda_5 = -1,6243.$$

No caso do tumor inicial pequeno (ii)), o ponto estacionário de Coexistência obtido foi

$$P_3 = (6122,0331, 3359,2957, 955,4104, 1528,7287, 25,4446),$$

com autovalores

$$\lambda_1 = -3517,6260, \quad \lambda_2 = 0,0005 + 1,1500i, \quad \lambda_3 = 0,0005 - 1,1500i, \\ \lambda_4 = -2,093, \quad \lambda_5 = -0,0758,$$

e P_3 é instável.

3.2 SUBMODELO LIVRE DE IMUNIDADE

Nesta subseção, avalia-se a estabilidade dos pontos estacionários referentes ao submodelo Livre de Imunidade. O submodelo mostra-se importante para que se compreenda como o vírus oncolítico atua no combate ao tumor, permitindo que se evidencie o papel fundamental das células imunes no tratamento, a partir da comparação entre os casos com e sem células NK e células T CD8⁺.

Na ausência de populações de células NK e células T CD8⁺, o modelo (1)-(5) reduz-se para:

$$\frac{dT_U}{dt} = aT_U \left(1 - \frac{T_U + T_i}{r_1} \right) - bT_U V, \quad (20)$$

$$\frac{dT_i}{dt} = bT_U V - e_1 T_i, \quad (21)$$

$$\frac{dV}{dt} = gzT_i - d_3 V, \quad (22)$$

com condições iniciais

$$T_U(0) = T_{U0}, \quad T_i(0) = 0, \quad V(0) = V_0. \quad (23)$$

A não-negatividade e limitação das soluções do submodelo Livre de Imunidade (equações (20)-(22)) podem ser obtidas a partir da discussão feita anteriormente. A região invariante neste caso é dada por

$$\Omega_{\mathbf{R}} = \left\{ (T_U, T_i, V) \in \mathbb{R}_+^3 \mid 0 \leq T_U \leq r_1, 0 \leq T_i \leq r_1, 0 \leq V \leq \frac{zgr_1}{d_3} \right\},$$

sendo esta, positivamente invariante.

3.2.1 Número Básico de Reprodução

Para uma melhor compreensão de como a eliminação do tumor está ligada a características do vírus oncolítico, a seguir calcula-se o número básico de reprodução (\mathcal{R}_0). Pode-se definir o número básico de reprodução como a média de novas infecções de células tumorais geradas por uma célula infectada, via lise, durante a viroterapia em uma população constituída apenas de células tumorais suscetíveis à infecção (DRIESSCHE; WATMOUGH, 2002). Se $\mathcal{R}_0 < 1$, então, em média, o número de novas infecções geradas por uma célula infectada é menor do que um. Se $\mathcal{R}_0 > 1$, então, em média, o número de novas infecções geradas por uma célula é maior do que um. Neste caso, a infecção numa população de células tumorais persiste. Para calcular o \mathcal{R}_0 , utiliza-se o método da matriz de próxima geração (DRIESSCHE; WATMOUGH, 2002).

As variáveis $T_U(t)$, $T_i(t)$, $V(t)$ podem ser divididas em três grupos: o grupo não-infectado, φ , o grupo infectado, mas não infeccioso, ψ , e o grupo infeccioso, γ . Desta forma, tem-se $\varphi = (T_U)$, $\psi = (T_i)$, $\gamma = (V)$, e o modelo das equações (21)-(22) pode ser escrito como:

$$\begin{aligned}\frac{d\varphi}{dt} &= f(\varphi, \psi, \gamma), \\ \frac{d\psi}{dt} &= g(\varphi, \psi, \gamma), \\ \frac{d\gamma}{dt} &= h(\varphi, \psi, \gamma).\end{aligned}$$

Considerando que o ponto estacionário $E_0 = (r_1, 0, 0)$ pode ser escrito como $E_0 = (\varphi_0, \psi_0, \gamma_0)$, em que $\varphi_0 = (r_1)$, $\psi_0 = (0)$ e $\gamma_0 = (0)$, segue de $g(\varphi_0, \psi, \gamma) = 0$ que

$$br_1 V - eT_j = 0 \Rightarrow V = \frac{e_1 T_j}{br_1}.$$

Substituindo a expressão obtida acima em $h(\varphi_0, T_j, V)$, obtém-se

$$h(\varphi_0, T_j, V(\varphi_0, T_j)) = zgT_j - d_3 \frac{e_1 T_j}{br_1}.$$

Fazendo

$$G = \frac{d}{dT_j} h(\varphi_0, 0, V(\varphi_0, 0)) = zg - \frac{d_3 e_1}{br_1},$$

e escrevendo G como

$$G = M - D, \text{ em que } M = zg \text{ e } D = \frac{d_3 e_1}{br_1},$$

segue que o Número Básico de Reprodução (\mathcal{R}_0) é dado pelo raio espectral

$$\mathcal{R}_0 = \rho(MD^{-1}),$$

resultando em

$$\mathcal{R}_0 = zg \frac{br_1}{d_3 e_1}.$$

Teorema 2. *O modelo definido pelas equações (20)-(22) sempre possui um estado estacionário trivial, chamado de Estado Estacionário de Erradicação do Tumor, $EE_0 = (0,0,0)$, que é instável. Ademais,*

- 1 Se $\mathcal{R}_0 < 1$, então o sistema (20)-(22) possui outro estado estacionário chamado de Estado Estacionário de Viroterapia Ineficaz, $EE_1 = (r_1, 0, 0)$, que é localmente assintoticamente estável.
- 2 Se $\mathcal{R}_0 > 1$, então EE_1 torna-se instável e o sistema (20)-(22) possui outro estado estacionário chamado de Estado Estacionário de Coexistência, $EE_2 = (T_u^*, T_i^*, V^*)$, em que T_u^*, T_i^*, V^* são dados por

$$T_u^* = \frac{2r_1^2 b^2 z^2 g^2 + e_1 a d_3^2 - d_3 e_1 b r_1 z g}{a d_3 b z g + b^2 r_1 z^2 g^2},$$

$$T_i^* = \frac{-e_1 a d_3^2 + a d_3 b r_1 z g}{a d_3 b g z + b^2 r_1 z^2 g^2},$$

$$V^* = \frac{a b r_1 z g - e_1 a d_3}{a d_3 b + b^2 r_1 z g},$$

que é localmente assintoticamente estável se

$$a_{13} > \gamma, \quad a_{21} < \frac{a_{11}(a_{23} z g - e_1 d_3)}{(a_{12} d_3 + a_{13} z g)}, \quad a_{11} < e_1 + d_3,$$

em que

$$\gamma = \frac{a_{21} a_{12} e_1 + a_{11}(e_1^2 + d_3^2 + d_3 + e_1 d_3 - a_{12} a_{21}) + a_{23}(e_1 z g + d_3 z g)}{a_{21} z g} - \frac{-e_1 d_3^2 - e_1^2 d_3 - a_{11}^2(e_1 + d_3)}{a_{21} z g},$$

$$a_{11} = a \left(1 - \frac{2r_1^2 b^2 z^2 g^2 + e_1 a d_3^2 - d_3 e_1 b r_1 z g}{r_1 (a d_3 b z g + b^2 r_1 z^2 g^2)} - \frac{b r_1 z g - e_1 d_3}{a d_3 + b r_1 z g} \right),$$

$$a_{12} = \frac{-2ab^2 r_1^2 z^2 g^2 - e_1 a^2 d_3^2 + a d_3 e_1 b r_1 z g}{r_1 (a d_3 b g z + b^2 r_1 z^2 g^2)},$$

$$a_{13} = \frac{-2b^3 r_1^2 z^2 g^2 - e_1 a b d_3^2 + d_3 e_1 b^2 r_1 z g}{a d_3 z g + b r_1 z^2 g^2},$$

$$a_{21} = \frac{a b r_1 z g - e_1 a d_3}{a d_3 + b r_1 z g},$$

$$a_{23} = \frac{2b^3 r_1^2 z^2 g^2 + e_1 a b d_3^2 - d_3 e_1 b^2 r_1 z g}{a d_3 z g + b r_1 z^2 g^2}.$$

Uma maior discussão sobre a estabilidade dos estados estacionários será feita na próxima subsubseção.

3.2.2 Análise de Estabilidade

O sistema linearizado no ponto (T_u, T_i, V) é representado pela matriz jacobiana:

$$J = \begin{pmatrix} a \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - \frac{aT_u}{r_1} - bV & \frac{-aT_u}{r_1} & -bT_u \\ bV & -e_1 & bT_u \\ 0 & gz & -d_3 \end{pmatrix}.$$

A seguir calculam-se os pontos estacionários referentes ao sistema (20)-(22).

Igualando o lado direito da equação (20) a zero, obtém-se:

$$T_u \left[a \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - bV \right] = 0,$$

ou seja,

$$T_u = 0 \quad \text{ou} \quad a \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - bV = 0.$$

Se $T_u = 0$, do lado direito da equação (21) igual a zero tem-se que

$$bT_uV - e_1T_i = 0 \Rightarrow T_i = 0 \Rightarrow V = 0.$$

Assim, o primeiro ponto estacionário obtido é dado por $EE_0 = (0, 0, 0)$.

Se $a \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - bV = 0$, então pode-se escrever T_u como:

$$T_u = r_1 - T_i - \frac{br_1V}{a}. \quad (24)$$

Igualando o lado direito da equação (22) a zero, conclui-se que $V = \frac{gzT_i}{d_3}$.
Substituindo V em (24), tem-se:

$$T_u = r_1 - T_i \left(1 - \frac{br_1zg}{ad_3}\right).$$

Ao igualar o lado direito da equação (21) a zero, segue que

$$\begin{aligned}
bT_u V - e_1 T_i &= 0 \Rightarrow b \left(r_1 - T_i - \frac{br_1gz}{ad_3} T_i \right) \frac{br_1gz}{d_3} T_i - e_1 T_i = 0 \\
\Rightarrow T_i &\left[b \left(r_1 - T_i - \frac{br_1gz}{ad_3} T_i \right) \frac{gz}{d_3} - e_1 \right] = 0 \\
\Rightarrow T_i &= 0 \text{ ou } b \left(r_1 - T_i - \frac{br_1gz}{ad_3} T_i \right) \frac{gz}{d_3} - e_1 = 0.
\end{aligned}$$

Se $T_i^* = 0$, então $T_u^* = r_1$ e $V^* = 0$, que fornece o segundo ponto estacionário, $EE_1 = (r_1, 0, 0)$.

Agora, se

$$b \left(r_1 - T_i - \frac{br_1gz}{ad_3} T_i \right) \frac{gz}{d_3} - e_1 = 0,$$

então

$$\begin{aligned}
T_i \left(-\frac{bgz}{d_3} - \frac{b^2 r_1 g^2 z^2}{ad_3^2} \right) + \frac{br_1zg}{d_3} - e_1 &= 0 \\
\Rightarrow T_i &= \frac{e_1 ad_3^2 - ad_3 br_1 zg}{-ad_3 bgz - b^2 r_1 z^2 g^2}.
\end{aligned}$$

Substituindo a expressão obtida para T_i em (24), e em $V = \frac{gzT_i}{d_3}$, obtém-se que

$$\begin{aligned}
T_u^* &= \frac{2r_1^2 b^2 z^2 g^2 + e_1 ad_3^2 - d_3 e_1 br_1 zg}{ad_3 b z g + b^2 r_1 z^2 g^2}, \\
V^* &= \frac{abr_1 zg - e_1 ad_3}{ad_3 b + b^2 r_1 zg}.
\end{aligned}$$

Logo, o terceiro ponto estacionário é dado por $EE_2 = (T_u^*, T_i^*, V^*)$, em que T_u^* , T_i^* e V^* são dados como acima.

Em resumo, foram encontrados três pontos de estabilidade, a saber:

- (i) **Estado estacionário de erradicação do tumor** (EE_0): $EE_0 = (T_u^*, T_i^*, V^*) = (0, 0, 0)$, que representa a situação de total erradicação do tumor. Este estado indica que a viroterapia foi bem sucedida, com todos as variáveis iguais

a zero. Avaliando a jacobiana no ponto EE_0 , tem-se

$$J(EE_0) = \begin{pmatrix} a & 0 & 0 \\ 0 & -e & 0 \\ 0 & gz & -d_3 \end{pmatrix}.$$

Os autovalores correspondentes são $a, -e_1, -d_3$, o que indica que EE_0 é instável, visto que $a > 0$. Comparando com o ponto estacionário de Erradicação do Tumor obtido para o modelo imunocompetente, a instabilidade do ponto EE_0 indica que, sem as células imunes, o protocolo de tratamento não pode gerar eliminação permanente do tumor, enquanto que, para o modelo imunocompetente, a estabilidade do ponto de Erradicação do Tumor indica a possibilidade de sucesso na erradicação do tumor a longo prazo.

- (ii) **Estado estacionário de viroterapia ineficaz** (EE_1): $(T_U^*, T_I^*, V^*) = (r_1, 0, 0)$, que corresponde ao estado em que o tumor é constituído apenas de células tumorais não-infectadas. Este estado corresponde ao caso em que a viroterapia falha, pois a população de células tumorais continua a crescer até atingir sua capacidade de suporte, r_1 , e nenhuma partícula de vírus sobrevive. Avaliando a jacobiana no ponto EE_1 resulta em:

$$J(EE_1) = \begin{pmatrix} -1 & -a & -br_1 \\ 0 & -e_1 & br_1 \\ 0 & -gz & -d_3 \end{pmatrix}.$$

A equação característica correspondente é

$$P(\lambda) = \lambda^3 + (e_1 + d_3 + 1)\lambda^2 + (e_1 d_3 + d_3 - br_1 gz + e_1)\lambda + e_1 d_3 - br_1 gz = 0.$$

Os autovalores correspondentes são

$$\lambda_1 = -1, \lambda_{2,3} = \frac{1}{2}(-e_1 - d_3 \mp \sqrt{(e_1 + d_3)^2 - 4(-br_1 gz + e_1 d_3)}).$$

A seguir, apresentam-se teoremas sobre a estabilidade do ponto EE_1 .

Teorema 3. (*Estabilidade Local*): EE_1 é localmente assintoticamente estável se $\frac{r_1}{e_1} < \frac{d_3}{bgz}$ e instável se $\frac{r_1}{e_1} > \frac{d_3}{bgz}$.

Demonstração. Primeiro, note que $\lambda_1 = -1 < 0$.

Se $(e_1 + d_3)^2 + 4br_1gz - 4e_1d_3 > 0$, então

$$\lambda_2 = \frac{1}{2}(-e_1 - d_3 - \sqrt{(e_1 + d_3)^2 + 4br_1gz - 4e_1d_3}) < 0$$

e

$$\lambda_3 = \frac{1}{2}(-e_1 - d_3 + \sqrt{(e_1 + d_3)^2 + 4br_1gz - 4e_1d_3})$$

pode ser positivo, negativo, ou zero.

Se $-e_1 - d_3 + \sqrt{(e_1 + d_3)^2 + 4br_1gz - 4e_1d_3} < 0$, ou ainda, se $e_1 + d_3 > \sqrt{(e_1 + d_3)^2 + 4br_1gz - 4e_1d_3}$, então $\lambda_3 < 0$. Como $e_1 + d_3$ é positivo, segue que $(e_1 + d_3)^2 > (e_1 + d_3)^2 + 4br_1gz - 4e_1d_3$, ou ainda, $4e_1d_3 > 4br_1gz \Rightarrow \frac{r_1}{e_1} < \frac{d_3}{bgz}$.

Ainda, como $(e_1 + d_3)^2 + 4br_1gz - 4e_1d_3 > 0$ se $\frac{r_1}{e_1} < \frac{d_3}{bgz}$, conclui-se que no caso em que $\mathcal{R}_0 < 1$, todos os autovalores são negativos e EE_1 é localmente assintoticamente estável.

Se $\frac{r_1}{e_1} > \frac{d_3}{bgz}$, ou ainda, $\mathcal{R}_0 > 1$, então $\lambda_3 > 0$ e EE_1 é instável. \square

Teorema 4. (*Estabilidade Global*): Quando $\frac{r_1}{e_1} < \frac{d_3}{bgz}$, EE_1 é globalmente assintoticamente estável.

Demonstração. Considerando a função de Lyapunov dada por

$$L(T_u, T_i, V) = T_u - T_u^* - T_u^* \ln\left(\frac{T_u}{T_u^*}\right) + T_i + \frac{br_1}{d_3},$$

nota-se que L está bem-definida, é contínua e positiva definida, para quaisquer $T_u > 0$, $T_i > 0$, $V > 0$. Além disso, o mínimo global $L = 0$ ocorre em EE_1 .

A derivada de L com respeito a t é dada por:

$$\begin{aligned} \frac{dL}{dt} &= \frac{\partial L}{\partial T_u} \frac{dT_u}{dt} + \frac{\partial L}{\partial T_i} \frac{dT_i}{dt} + \frac{\partial L}{\partial V} \frac{dV}{dt} \\ &= \left(1 - \frac{T_u^*}{T_u}\right) \left[aT_u \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - bT_uV \right] + bT_uV - e_1T_i + \frac{br_1zg}{d_3}T_i - \frac{br_1}{d_3}d_3V \\ &= (T_u - T_u^*) \left[a \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - bT_uV \right] + bT_uV - e_1T_i + \frac{br_1zg}{d_3}T_i - br_1V \\ &= (T_u - T_u^*) \left[a \left(1 - \frac{T_u + T_i}{r_1}\right) - bT_uV \right] + bT_uV + \left(\frac{br_1zg}{d_3} - e_1\right)T_i - br_1V \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
&= aT_u - \frac{a}{r_1} T_u(T_u + T_i) - bT_uV - aT_u^* + \frac{a}{r_1} T_u^*(T_u + T_i) + bT_u^*V + bT_uV \\
&\quad + \left(\frac{br_1zg}{d_3} - e_1\right)T_i - br_1V \\
&= \left(aT_u + \frac{a}{r_1} T_u^*(T_u + T_i) + bT_u^*V + bT_uV\right) - \left(\frac{a}{r_1} T_u(T_u + T_i) + bT_uV + aT_u^* + br_1V\right) \\
&\quad + (\mathcal{R}_0 - 1)e_1T_i
\end{aligned}$$

Deste modo, $\frac{dL}{dt} = P - Q + (\mathcal{R}_0 - 1)e_1T_i$, e se $\mathcal{R}_0 < 1$, $P < Q$, então $\frac{dL}{dt} < 0$ para quaisquer $T_u, T_i, V > 0$, e $\frac{dL}{dt} = 0$ se, e somente se, $T_u = T_u^*$ e $T_i = 0$, simultaneamente.

Assim, o maior subconjunto invariante compacto do conjunto

$$M = \left\{ (T_u, T_i, V) \in \Omega_{\mathbf{R}}; \frac{dL}{dt} = 0 \right\}$$

é o conjunto $\{EE_1\}$. Pelo Princípio de Invariância de LaSalle A 1. (ver Anexo A), o ponto EE_1 é localmente assintoticamente estável se $\mathcal{R}_0 < 1$. Como já argumentado anteriormente, EE_1 é instável no caso em que $\mathcal{R}_0 > 1$.

□

Implicação Clínica: Como trata-se do ponto estacionário de viroterapia oncolítica ineficaz, este teorema implica que a viroterapia falha quando $g < \frac{d_3e_1}{bz}$, ou seja, quando o número de partículas de vírus liberadas de uma célula infectada for menor do que $\frac{d_3e_1}{bz}$. Isso significa que o tumor voltará a crescer até atingir sua capacidade de suporte, r_1 . O sucesso da viroterapia também depende de outros fatores, como por exemplo, o tamanho inicial do tumor, a habilidade de replicação do vírus, o número inicial de células tumorais infectadas, entre outros (SENEKAL *et al.*, 2021).

(iii) **Estado Estacionário de Coexistência (EE_2):** (T_u^*, T_i^*, V^*) , em que T_u^*, T_i^*, V^* são dados por:

$$\begin{aligned}
T_u^* &= \frac{2r_1^2b^2z^2g^2 + e_1ad_3^2 - d_3e_1br_1zg}{ad_3bzg + b^2r_1z^2g^2}, \\
T_i^* &= \frac{-e_1ad_3^2 + ad_3br_1zg}{ad_3bgz + b^2r_1z^2g^2}, \\
V^* &= \frac{abr_1zg - e_1ad_3}{ad_3b + b^2r_1zg},
\end{aligned}$$

que terapeuticamente descreve a coexistência de tumor e vírus oncolíticos no microambiente tumoral.

Teorema 5. (Estabilidade da coexistência) EE_2 é assintoticamente estável se

$$a_{13} > \gamma, \quad a_{21} < \frac{a_{11}(a_{23}zg - e_1 d_3)}{(a_{12}d_3 + a_{13}zg)}, \quad a_{11} < e_1 + d_3,$$

em que

$$\begin{aligned} a_{11} &= a \left(1 - \frac{2r_1^2 b^2 z^2 g^2 + e_1 a d_3^2 - d_3 e_1 b r_1 z g}{r_1 (a d_3 b z g + b^2 r_1 z^2 g^2)} - \frac{b r_1 z g - e_1 d_3}{a d_3 + b r_1 z g} \right), \\ a_{12} &= \frac{-2ab^2 r_1^2 z^2 g^2 - e_1 a^2 d_3^2 + a d_3 e_1 b r_1 z g}{r_1 (a d_3 b z g + b^2 r_1 z^2 g^2)}, \\ a_{13} &= \frac{-2b^3 r_1^2 z^2 g^2 - e_1 a b d_3^2 + d_3 e_1 b^2 r_1 z g}{a d_3 z g + b r_1 z^2 g^2}, \\ a_{21} &= \frac{a b r_1 z g - e_1 a d_3}{a d_3 + b r_1 z g}, \\ a_{23} &= \frac{2b^3 r_1^2 z^2 g^2 + e_1 a b d_3^2 - d_3 e_1 b^2 r_1 z g}{a d_3 z g + b r_1 z^2 g^2}, \\ \gamma &= \frac{a_{21} a_{12} e_1 + a_{11} (e_1^2 + d_3^2 + d_3 + e_1 d_3 - a_{12} a_{21}) + a_{23} (e_1 z g + d_3 z g)}{a_{21} z g} \\ &\quad - \frac{-e_1 d_3^2 - e_1^2 d_3 - a_{11}^2 (e_1 + d_3)}{a_{21} z g}. \end{aligned}$$

Demonstração. Avaliando a jacobiana no ponto EE_2 , segue que:

$$J(EE_2) = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & -e_1 & a_{23} \\ 0 & g z & -d_3 \end{pmatrix},$$

em que

$$\begin{aligned} a_{11} &= a \left(1 - \frac{2r_1^2 b^2 z^2 g^2 + e_1 a d_3^2 - d_3 e_1 b r_1 z g}{r_1 (a d_3 b z g + b^2 r_1 z^2 g^2)} - \frac{b r_1 z g - e_1 d_3}{a d_3 + b r_1 z g} \right), \\ a_{12} &= \frac{-2ab^2 r_1^2 z^2 g^2 - e_1 a^2 d_3^2 + a d_3 e_1 b r_1 z g}{r_1 (a d_3 b z g + b^2 r_1 z^2 g^2)}, \\ a_{13} &= \frac{-2b^3 r_1^2 z^2 g^2 - e_1 a b d_3^2 + d_3 e_1 b^2 r_1 z g}{a d_3 z g + b r_1 z^2 g^2}, \\ a_{21} &= \frac{a b r_1 z g - e_1 a d_3}{a d_3 + b r_1 z g}, \\ a_{23} &= \frac{2b^3 r_1^2 z^2 g^2 + e_1 a b d_3^2 - d_3 e_1 b^2 r_1 z g}{a d_3 z g + b r_1 z^2 g^2}. \end{aligned}$$

A equação característica em EE_2 é

$$P(\lambda) = -\lambda^3 + (a_{11} - e_1 - d_3) \lambda^2 + [a_{11}(e_1 + d_3) - e_1 d_3 + a_{23}zg + a_{12}a_{21}] \lambda + a_{11}e_1 d_3 - a_{11}a_{23}zg + a_{12}a_{21}d_3 + a_{13}a_{21}zg = 0,$$

que pode ser reescrita como

$$P(\lambda) = \lambda^3 + a_1 \lambda^2 + a_2 \lambda + a_3 = 0,$$

em que

$$a_1 = e_1 + d_3 - a_{11},$$

$$a_2 = e_1 d_3 - a_{11}(e_1 + d_3) - a_{23}zg - a_{12}a_{21},$$

$$a_3 = a_{11}a_{23}zg - a_{11}e_1 d_3 - a_{12}a_{21}d_3 - a_{13}a_{21}zg.$$

Agora, note que se $a_{11} < e_1 + d_3$ então $a_1 > 0$. Ainda,

$$a_{11}(a_{23}zg - e_1 d_3) - a_{21}(a_{12}d_3 + a_{13}zg) > 0$$

$$\Leftrightarrow a_{21} < \frac{a_{11}(a_{23}zg - e_1 d_3)}{(a_{12}d_3 + a_{13}zg)}.$$

Logo, se $a_{21} < \frac{a_{11}(a_{23}zg - e_1 d_3)}{(a_{12}d_3 + a_{13}zg)}$, então $a_3 > 0$.

Agora, note que

$$\begin{aligned} a_1 a_2 &= (e_1 + d_3 - a_{11})(e_1 d_3 - a_{11}(e_1 + d_3) - a_{23}zg - a_{12}a_{21}) \\ &= e_1^2 d_3 - a_{11}(e_1^2 + e_1 d_3) - a_{23}e_1 zg - a_{12}a_{21}e_1 + e_1 d_3^2 - a_{11}(e_1 d_3 + d_3^2) \\ &\quad - a_{23}d_3 zg - a_{12}a_{21}d_3 - e_1 d_3 a_{11} + a_{11}^2(e_1 + d_3) + a_{23}a_{11}zg + a_{12}a_{21}a_{11}. \end{aligned}$$

Para que $a_1 a_2 > a_3$, é preciso que

$$\begin{aligned} a_{11}(a_{23}zg - e_1 d_3) - a_{21}(a_{12}d_3 + a_{13}zg) &< a_{11}(a_{23}zg - e_1 d_3) - a_{21}a_{12}d_3 + a_{11}(-(e_1^2 + d_3) \\ &\quad - d_3^2 - e_1 d_3 + a_{12}a_{21}) + a_{23}(-e_1 zg - d_3 zg) - a_{12}a_{21}e_1 + e_1 d_3^2 + e_1^2 d_3 + a_{11}^2(e_1 + d_3) \\ \Leftrightarrow -a_{21}a_{13}zg &< -a_{21}a_{12}e_1 + a_{11}(-e_1^2 - d_3^2 - d_3 - e_1 d_3 + a_{12}a_{21}) - a_{23}(e_1 zg + d_3 zg) \\ &\quad + e_1 d_3^2 + e_1^2 d_3 + a_{11}^2(e_1 + d_3) \\ \Leftrightarrow a_{13} &> \frac{a_{21}a_{12}e_1 + a_{11}(e_1^2 + d_3^2 + d_3 + e_1 d_3 - a_{12}a_{21}) + a_{23}(e_1 zg + d_3 zg)}{a_{21}zg} \\ &\quad \frac{-e_1 d_3^2 - e_1^2 d_3 - a_{11}^2(e_1 + d_3)}{a_{21}zg} = \gamma. \end{aligned}$$

Deste modo, se $a_{13} > \gamma$, $a_{21} < \frac{a_{11}(a_{23}zg - e_1d_3)}{(a_{12}d_3 + a_{13}zg)}$ e $a_{11} < e_1 + d_3$, então, pelo critério de Routh-Hurwitz A 4. (ver Anexo A), o ponto estacionário de coexistência é localmente assintoticamente estável.

□

Implicação Clínica: Segundo Senekal *et al.*(2021), como este ponto é localmente assintoticamente estável, uma possível interpretação biológica seria que a viroterapia oncolítica tratada como monoterapia ainda seria capaz de erradicar o tumor, o que vai de acordo com estudos pré-clínicos que mostraram regressão tumoral completa após administração de vírus oncolítico de modo intratumoral.

4 RESULTADOS

Neste capítulo apresentam-se os resultados da análise de sensibilidade global do modelo imunocompetente e do submodelo livre de células imunes. Ainda, apresentam-se simulações numéricas do submodelo livre de células imunes e do modelo imunocompetente, e analisam-se os resultados em busca de explicações plausíveis biologicamente.

4.1 ANÁLISE DE SENSIBILIDADE GLOBAL

Nesta seção apresentam-se os resultados da análise de estabilidade global do modelo imunocompetente e do submodelo livre de imunidade. Para realizar a análise, utiliza-se o método da amostragem por hipercubo latino (LHS) e escolhe-se a análise de *Partial Rank Correlation*, que fornece os coeficientes de correlação parcial (PRCC) e os correspondentes *p-values*. Ao combinar o LHS com o PRCC, é possível avaliar razoavelmente a sensibilidade da população de células tumorais quanto as variações nos parâmetros (MARINO *et al.*, 2008). A significância estatística do PRCC de um parâmetro indica a contribuição do mesmo para a imprecisão das previsões obtidas pelo modelo. Os parâmetros com PRCC grandes, ou seja, maiores do que 0,5, ou menores do que -0,5, e correspondentes *p-values* pequenos, isto é, menores do que 0,05, possuem maior correlação significativa com o tamanho da população de células tumorais. Quanto mais próximo o valor do PRCC está de 1 ou -1, mais forte é a influência do parâmetro do LHS na população total de células tumorais. O sinal do PRCC indica se a correlação é positiva ou negativa, isto é, um sinal negativo indica que o parâmetro do LHS é inversamente proporcional ao total de células tumorais, e um sinal positivo indica que o parâmetro do LHS é diretamente proporcional ao total de células tumorais (MARINO *et al.*, 2008).

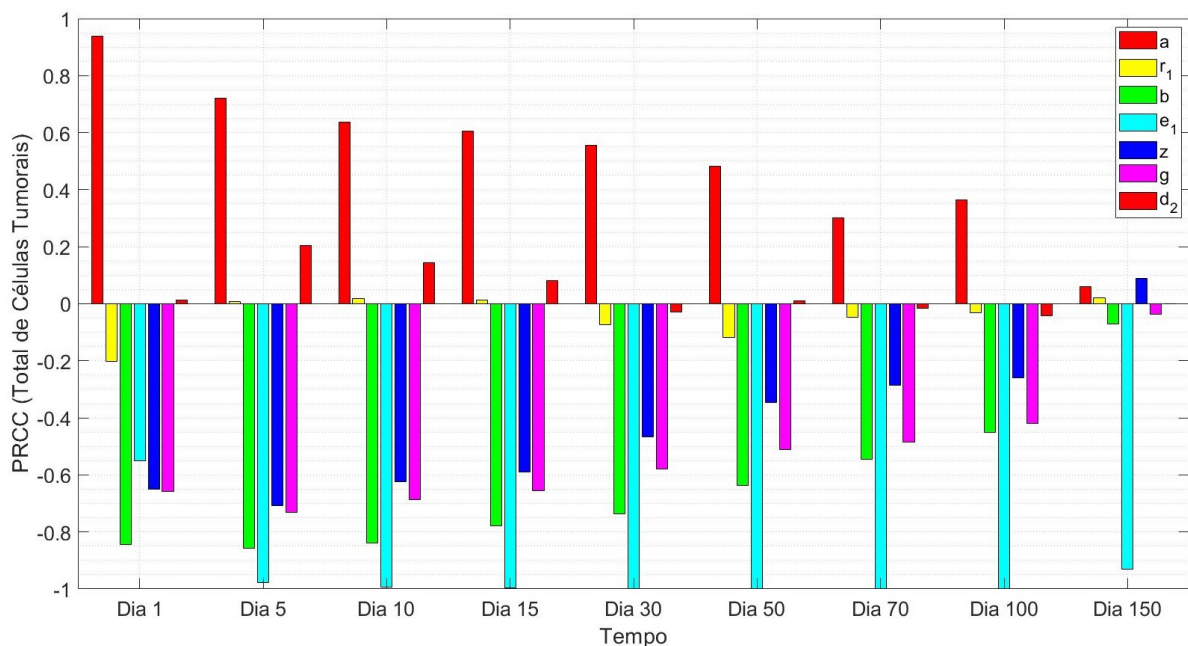
4.1.1 Submodelo Livre de Imunidade

Para o Submodelo Livre de Imunidade (20)-(22), 7 parâmetros foram utilizados no método de Hipercubo Latino (*Latin Hypercube Sampling*, ou LHS), a saber: a , r_1 , b , e_1 , z , g , e d_3 . Como o número de parâmetros no submodelo é pequeno, tomou-se a decisão de utilizar todos eles, apesar de não ser necessário, por exemplo, incluir a capacidade de suporte das células tumorais, r_1 , na análise. Foram utilizadas 100 amostras para o LHS, e um espaço de tempo de 200 dias, calculando-se o PRCC com respeito ao total de células tumorais, ou seja, $T_U(t) + T_I(t)$. Os valores base para os parâmetros podem ser vistos na Tabela 2. O valor máximo escolhido para cada parâmetro foi duas vezes seu valor base, e o valor mínimo escolhido foi metade do seu valor base, de acordo com as indicações em (MARINO *et al.*, 2008). Os pontos no espaço

de tempo considerado escolhidos foram os dias 1, 5, 10, 15, 30, 70, 100, 150 pós início do tratamento com o vírus oncolítico, para que seja possível obter informações sobre o começo, meio e fim do tratamento. As condições iniciais para o modelo utilizadas foram: $T_{U0} = 10^6$ células, $T_{I0} = 0$ células e $V_0 = 10^3$ PFU. Na Figura 2 pode-se observar o PRCC para cada parâmetro do modelo em cada t escolhido e, nas Tabelas 3a e 3b, apresentam-se os p -values correspondentes.

No primeiro dia após a infecção, a maior correlação positiva significativa com a população total de células tumorais foi da taxa de proliferação das células tumorais não-infectadas (a), e os de maior correlação negativa significativa foram: taxa de infecção das células tumorais não-infectadas pelos vírus livre, b ; lise das células tumorais infectadas, e_1 ; taxa sob a qual os vírus oncolíticos matam as células tumorais, z ; número de partículas de vírus liberadas de uma célula infectada, g . O mesmo quadro mantém-se nos dias 5, 10, 15 e 30. No dia 50, z perde sua significância. Nos dias 70, 100 e 150, nenhum dos parâmetros considerados possuem correlação positiva significativa com o total de células tumorais, e, no dia 70, b e e_1 possuem correlação negativa significativa. Nos dias 100 e 150, apenas e_1 possui correlação negativa significativa.

Figura 2 – Resultados do PRCC. Cada gráfico de barras indica o PRCC entre o total de células tumorais e os parâmetros do submodelo.



Fonte: Elaboração própria.

Percebe-se que o parâmetro e_1 , a chamada citopaticidade do vírus, possui correlação negativa significativa com a população total de vírus oncolíticos em todas

Tabela 3 – *p-values*.

(a)

Dia	<i>a</i>	<i>r</i> ₁	<i>b</i>	<i>e</i> ₁	<i>z</i>
Dia 1	$2,1644 \times 10^{-44}$	0,0507	$1,0894 \times 10^{-26}$	$8,6374 \times 10^{-9}$	$1,2315 \times 10^{-12}$
Dia 5	$2,9786 \times 10^{-16}$	0,9385	$2,0347 \times 10^{-28}$	$1,5142 \times 10^{-63}$	$1,8021 \times 10^{-15}$
Dia 10	$5,0459 \times 10^{-12}$	0,8694	$5,1197 \times 10^{-26}$	$9,3519 \times 10^{-92}$	$1,8932 \times 10^{-11}$
Dia 15	$1,1109 \times 10^{-10}$	0,8950	$2,2950 \times 10^{-20}$	$8,8825 \times 10^{-106}$	$3,5988 \times 10^{-10}$
Dia 30	$5,6921 \times 10^{-9}$	0,4875	$3,1444 \times 10^{-17}$	$2,2201 \times 10^{-131}$	$2,0905 \times 10^{-6}$
Dia 50	$8,7948 \times 10^{-7}$	0,2551	$4,7442 \times 10^{-12}$	$1,4767 \times 10^{-144}$	0,0006
Dia 70	0,0032	0,6591	$1,3910 \times 10^{-8}$	$3,3495 \times 10^{-154}$	0,0053
Dia 100	0,0003	0,7546	$4,8986 \times 10^{-6}$	$6,2682 \times 10^{-165}$	0,0116
Dia 150	0,5705	0,8429	0,5010	$9,6164 \times 10^{-42}$	0,3942

(b)

Dia	<i>g</i>	<i>d</i> ₂
Dia 1	$5,2515 \times 10^{-13}$	0,9095
Dia 5	$6,2101 \times 10^{-17}$	0,04741
Dia 10	$2,3785 \times 10^{-14}$	0,1682
Dia 15	$8,2179 \times 10^{-13}$	0,4351
Dia 30	$9,6723 \times 10^{-10}$	0,7907
Dia 50	$1,4661 \times 10^{-7}$	0,9259
Dia 70	$7,6658 \times 10^{-7}$	0,8854
Dia 100	$2,7287 \times 10^{-5}$	0,6888
Dia 150	0,7243	0,9962

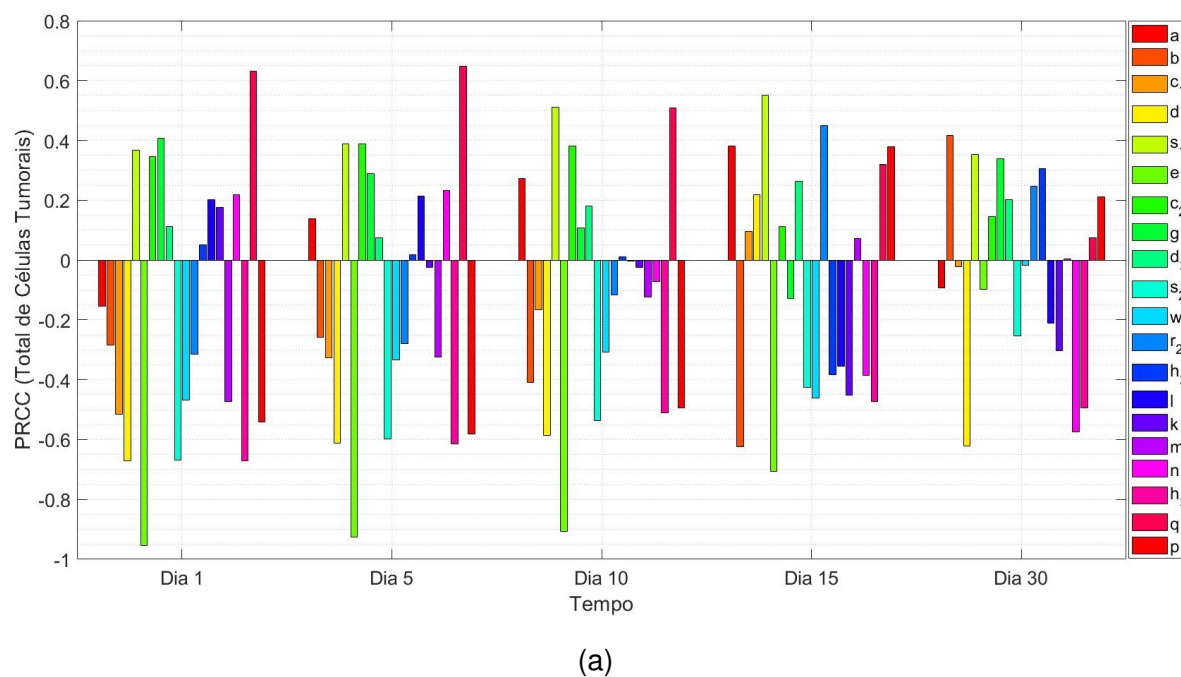
Fonte: Elaboração própria.

as fases do tratamento consideradas. Isto indica que variar a citopaticidade do vírus pode ser interessante para melhorar os resultados da viroterapia.

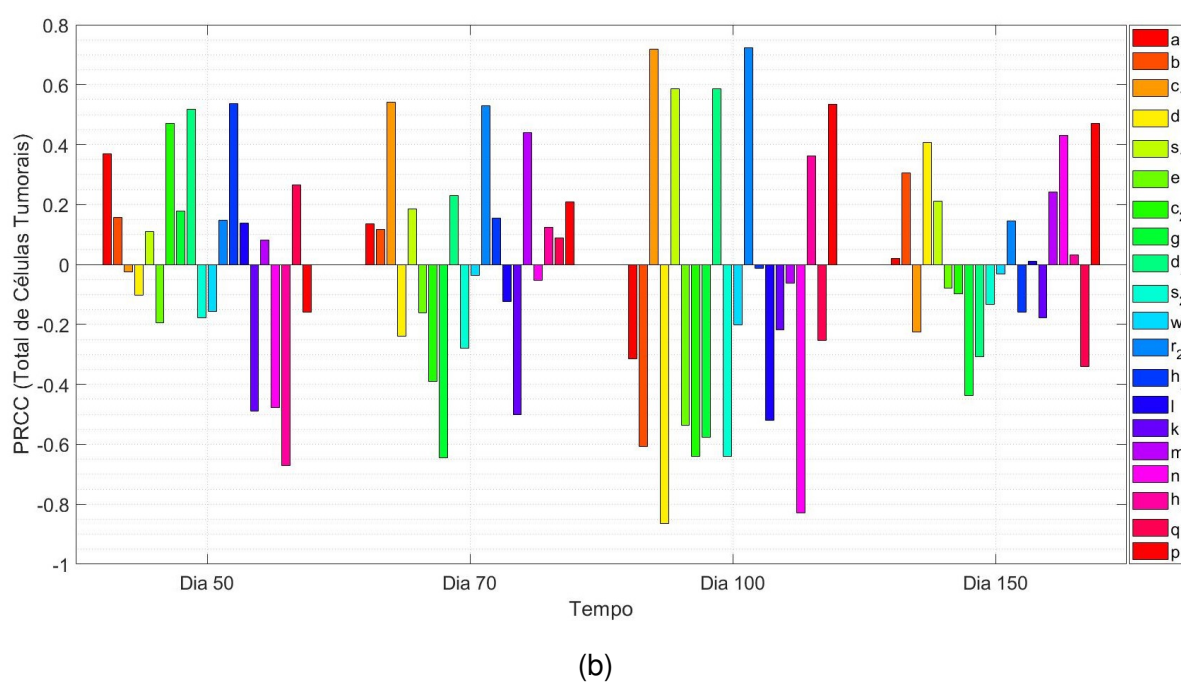
4.1.2 Modelo Imunocompetente

A seguir, faz-se uma análise de sensibilidade global para os parâmetros do modelo imunocompetente (1)-(5). Esta análise computacional é útil para identificar quais parâmetros do modelo contribuem de forma significativa para a eficácia da viroterapia oncolítica. De acordo com o discutido em Marino *et al.* (2008), utilizam-se os valores para os parâmetros encontrados na Tabela 2 como valores base, o dobro deles para os valores máximos e metade deles para os valores mínimos. Além disso, geram-se 30 amostras usando LHS para computar os PRCC e os chamados "*p-values*" associados, com respeito à população total de células tumorais, $T_{total} = T_U(t) + T_i(t)$, em diferentes dias do tratamento. Para computar o PRCC, escolhem-se os dias 1, 5, 10, 15, 30, 50, 70, 100, 150 pós tratamento com vírus oncolítico ($V_0 = 10^3$), e escolhe-se um tamanho grande para o tumor, $T_{U0} = 5 \times 10^7$. A Figura 3 mostra o PRCC para cada parâmetro do modelo e a cada ponto escolhido. Na Tabela 4 encontram-se os correspondentes *p-values*, e na Tabela 5 faz-se um resumo dos parâmetros de maior correlação significativa de acordo com os dias.

Figura 3 – Resultados do PRCC. Cada gráfico de barras indica o PRCC entre o total de células tumorais e os parâmetros do modelo imunocompetente. Em (a) sensibilidade relativa da população de células tumorais nos dias 1, 5, 10, 15, 30 após o tratamento com vírus oncolítico; Em (b) sensibilidade relativa da população de células tumorais nos dias 50, 70, 100, 150 após o tratamento com vírus oncolíticos.



(a)



(b)

Fonte: Elaboração própria.

Observando a Figura 3 e os *p-values* na Tabela 4 no dia 1, percebe-se que existe uma correlação negativa significativa entre a população de células tumorais e a taxa de lise das células tumorais pelas células T CD8⁺, d_1 , lise das tumorais infectadas, e_1 , constante de meia saturação das células tumorais em resposta aos antígenos tumorais, h_3 , e o influxo constante de células NK, s_2 . Ainda, observa-se que a taxa de inativação das células imunes pelas células tumorais, q , possui correlação positiva significativa com a população de células tumorais. Dentre os parâmetros de maior correlação negativa significativa, destacam-se e_1 e s_2 . A correlação negativa do influxo constante de células NK com a população total de células tumorais pode indicar que, antes do início do tratamento, uma mudança no número pré-existente de células NK no TME pode aumentar o efeito anti-tumoral do tratamento. A escolha de s_2 deve ser cautelosa, pois um número muito grande de células NK ativadas no TME pode impedir a propagação do vírus e prejudicar o tratamento (SENEKAL *et al.*, 2021). No dia 5, ainda existe correlação positiva significativa entre T_{total} e q , e correlação negativa significativa com d_1 , e_1 , h_3 . Já nos dias 10 e 15, observa-se correlação positiva significativa com e_1 e, no dia 15, também há correlação negativa significativa com a taxa de infecção das células tumorais não-infectadas pelos vírus, b .

No dia 30 há correlação negativa significativa com a lise das tumorais pelas células T. No dia 50, correlação negativa significativa com a constante de meia-saturação das células tumorais em resposta aos antígenos tumorais, h_3 . Após 70 dias da infecção com vírus oncolíticos, existe correlação negativa significativa entre as células tumorais e o número de partículas. No dia 100, observa-se correlação negativa significativa com a taxa de morte das células tumorais infectadas por NK, c_2 , e com a taxa de proliferação das células T, n . Ademais, correlação positiva significativa com a taxa de morte das células tumorais não-infectadas por células NK, c_1 , e com a capacidade de suporte para produção de células NK, r_2 .

Tabela 4 – *p-values*.

(a)

Dia	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i> ₁	<i>d</i> ₁	<i>s</i> ₁	<i>e</i> ₁	<i>c</i> ₂
Dia 1	0,6520	0,3989	0,1054	0,0240	0,2659	$5,0407 \times 10^7$	0,2991
Dia 5	0,6849	0,4419	0,3268	0,0452	0,2394	$4,5963 \times 10^5$	0,2388
Dia 10	0,4160	0,2125	0,6234	0,0578	0,1086	$1,1601 \times 10^4$	0,2478
Dia 15	0,2485	0,0400	0,7781	0,5171	0,0788	0,0153	0,7401
Dia 30	0,7849	0,2038	0,9471	0,0409	0,2865	0,7738	0,6683
Dia 50	0,2651	0,6453	0,9449	0,7638	0,7463	0,5659	0,1443
Dia 70	0,6896	0,7341	0,0849	0,4810	0,5865	0,6357	0,2357
Dia 100	0,3455	0,0480	0,0126	$6,0960 \times 10^4$	0,0581	0,0883	0,0343
Dia 150	0,9505	0,3612	0,5036	0,2152	0,5328	0,8174	0,7753

(b)

Dia	<i>g</i>	<i>d</i> ₂	<i>s</i> ₂	<i>w</i>	<i>r</i> ₂	<i>h</i> ₂	<i>l</i>
Dia 1	0,2133	0,7410	0,0244	0,1457	0,3443	0,8826	0,5537
Dia 5	0,3867	0,8256	0,0518	0,3165	0,4039	0,9583	0,5277
Dia 10	0,7521	0,595	0,0883	0,3561	0,7329	0,9728	0,9902
Dia 15	0,7063	0,4346	0,1907	0,1537	0,1660	0,2462	0,2850
Dia 30	0,3073	0,5518	0,4518	0,9577	0,4638	0,3587	0,5347
Dia 50	0,5994	0,1018	0,6031	0,6444	0,6659	0,0880	0,6862
Dia 70	0,0320	0,4968	0,4046	0,9134	0,0929	0,6488	0,7185
Dia 100	0,0632	0,0578	0,0338	0,5521	0,0119	0,9709	0,1006
Dia 150	0,1796	0,3582	0,6951	0,9267	0,6708	0,6424	0,9749

(c)

Dia	<i>k</i>	<i>m</i>	<i>n</i>	<i>h</i> ₃	<i>q</i>	<i>p</i>
Dia 1	0,6054	0,1421	0,5178	0,0242	0,0376	0,0852
Dia 5	0,9447	0,3322	0,4929	0,0447	0,0310	0,0601
Dia 10	0,9443	0,7185	0,8333	0,1089	0,1094	0,1223
Dia 15	0,1627	0,8319	0,2412	0,1427	0,3368	0,2509
Dia 30	0,3669	0,9890	0,0650	0,1229	0,8297	0,5339
Dia 50	0,1267	0,8109	0,1369	0,0241	0,4302	0,6409
Dia 70	0,1167	0,1766	0,8783	0,7181	0,7961	0,5370
Dia 100	0,5192	0,8550	0,0016	0,2737	0,4527	0,0907
Dia 150	0,6010	0,4738	0,1856	0,9255	0,3066	0,1427

Fonte: Elaboração própria.

Tabela 5 – Parâmetros com correlação significativa com o total de células tumorais.

Dia	Correlação positiva significativa	Correlação Negativa significativa
Dia 1	q	d_1, e_1, s_2, h_3
Dia 5	q	d_1, e_1, h_3
Dia 10	nenhum	e_1
Dia 15	nenhum	b, e_1
Dia 30	nenhum	d_1
Dia 50	nenhum	h_3
Dia 70	nenhum	g
Dia 100	c_1, r_2	b, d_1, c_2, s_2, n
Dia 150	nenhum	nenhum

Fonte: Elaboração própria.

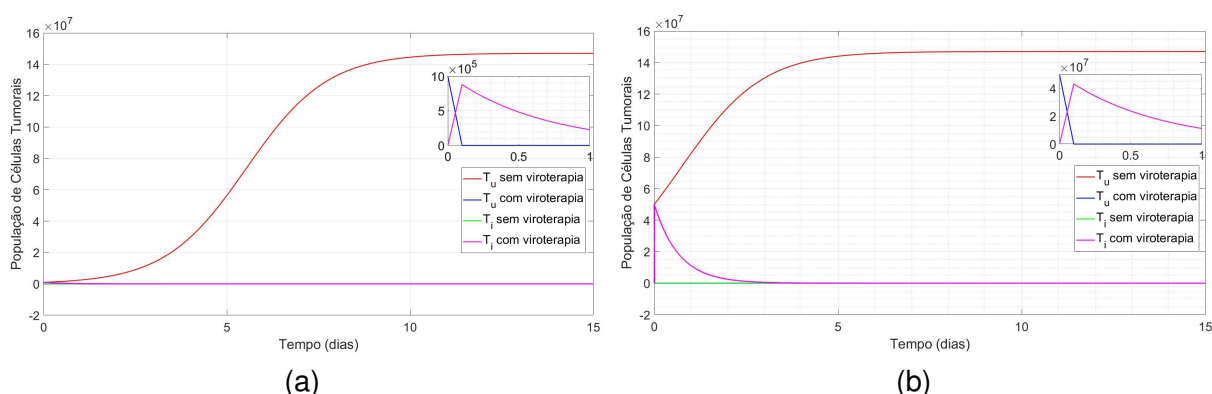
4.2 SIMULAÇÕES NUMÉRICAS

A seguir, apresentam-se as simulações numéricas feitas para o modelo imuno-competente (1)-(5) e para o submodelo livre de células imunes (20)-(22). As soluções numéricas das equações dos dois modelos foram feitas usando a rotina *ode23s* do MATLAB e os parâmetros presentes na Tabela 2, a não ser em cenários nos quais as mudanças nos parâmetros serão especificadas. Em todos os casos, utiliza-se $V_0 = 10^3$ PFU. Alguns autores definem a eficácia da viroterapia oncolítica pela rapidez com que a infecção viral se propaga para inibir o crescimento tumoral (SENEKAL *et al.*, 2021). Pretende-se determinar condições a partir das quais a viroterapia seja eficaz na eliminação do tumor.

4.2.1 Viroterapia com a ausência de células imunes

Para que se possa compreender como/se/quando a viroterapia oncolítica pode eliminar ou controlar a proliferação de células tumorais sem a influência das células imunes, são feitas duas simulações: a primeira considerando um cenário de tratamento no qual a população inicial de células tumorais não-infectadas é pequena, e a segunda considerando uma população inicial de células tumorais não-infectadas grande. A hipótese sendo testada é a de que a viroterapia oncolítica é mais eficiente em tumores maiores. Seguindo o proposto por Senekal *et al.* (2021), utiliza-se $T_{U0} = 10^6$ células para o caso em que o tumor é pequeno e $T_{U0} = 5 \times 10^7$ células para o caso em que o tumor é grande. Os autores destacam que tumores humanos que podem ser detectados variam de 10^7 a 10^9 células.

Figura 4 – População de células tumorais no caso em que: (a) $T_{U0} = 10^6$ células, $V_0 = 10^3$ PFU; (b) $T_{U0} = 5 \times 10^7$ células, $V_0 = 10^3$ PFU.



Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 4a, observa-se o comportamento das populações de células tumorais não-infectadas e infectadas do submodelo livre de imunidade, no caso em que a população inicial de células tumorais é pequena. Quanto à população de células tumorais não-infectadas, sem viroterapia, T_U estabiliza-se em $1,46 \times 10^8$ células, em aproximadamente 11 dias. Com viroterapia, a população de células tumorais não-infectadas, T_U , rapidamente atinge valor aproximadamente zero ($T_U = 1,41 \times 10^{-8}$ células) em $t = 0,1$ dia. Com relação à população de células tumorais infectadas, após infecção por vírus oncolítico, a população de células tumorais infectadas atinge o valor máximo de $8,76 \times 10^5$ células, em $t = 0,1$ dia, sofre redução, até zerar em aproximadamente 11 dias após a infecção. Na Figura 4b, mostra-se o comportamento das populações de células tumorais não-infectadas e infectadas do submodelo livre de imunidade, no caso em que a população inicial de células tumorais é grande. Considerando a população de células tumorais não-infectadas, sem viroterapia, T_U estabiliza-se em $1,46 \times 10^8$ células, em aproximadamente 7 dias. Com viroterapia, a população de T_U atinge um valor próximo de zero ($T_U = 2,15 \times 10^{-13}$ células) em $t = 0,1$ dia. Já a população de células tumorais infectadas atinge o valor máximo de $4,31 \times 10^7$ células em $t = 0,1$ dia, sofre redução, até zerar em torno de 9 dias após a infecção.

Tais resultados são consistentes com resultados obtidos em (SENEKAL *et al*, 2021) e em estudos experimentais, mostrando que se a população de células tumorais for pequena, a viroterapia oncolítica possui menos eficácia do que em um tumor maior, pois precisa de mais tempo para que as células tumorais infectadas sofram lise pelos vírus oncolíticos. Em ambas as simulações foi utilizada uma injeção viral de $V_0 = 10^3$ PFU. Deste modo, como a injeção foi a mesma, no mesmo dia, $t = 0$, e assumindo que as cinéticas de reprodução viral são as mesmas, é possível concluir que o que influenciou na redução do tumor foi o tamanho inicial do mesmo. Como

explicado na Introdução, as células infectadas sofrem lise como resultado da replicação viral e liberam novas partículas de vírus, que por sua vez infectam mais células tumorais, replicam-se e lisam as células hospedeiras. Este ciclo continua até que não existam mais células suscetíveis à infecção ou partículas de vírus. Esta pode ser uma explicação para o fenômeno observado na Figura 4, pois um número maior de células tumorais não-infectadas implica em uma maior chance de infecção viral. Uma maior chance de infecção viral implica em uma maior propagação do vírus e mais células tumorais infectadas. Por sua vez, mais células tumorais infectadas significa maior citorredução das células tumorais não-infectadas.

4.2.2 Viroterapia com a presença de células imunes

4.2.2.1 Variando a citopaticidade do vírus

Modela-se a citopaticidade do vírus oncolítico como a taxa de morte das células infectadas, sendo usada como parâmetro para dizer sobre o sucesso ou fracasso da viroterapia (SENEKAL *et al.*, 2021). De acordo com os resultados obtidos na análise de sensibilidade, o parâmetro e_1 possui grande influência no tamanho da população total de células tumorais ($T_U(t) + T_I(t)$), principalmente nos primeiros 15 dias após o início do tratamento. Após analisar como o tamanho inicial do tumor influencia na eficácia da viroterapia oncolítica, nesta subseção varia-se o valor da citopaticidade do vírus, ou seja, o valor do parâmetro e_1 , com o objetivo de determinar se a citopaticidade do vírus influencia na resposta imune das células NK e células T CD8⁺, e como isso se traduz na eficácia da viroterapia. De acordo com estudos, a utilização de vírus que possuam citopaticidade viral baixa, leva a uma maior inibição do crescimento tumoral (SENEKAL *et al.*, 2021). Assim como em (SENEKAL *et al.*, 2021), para o caso em que a citopaticidade viral é baixa, utiliza-se $e_1 = 0,04$, e para o caso em que a citopaticidade viral é alta, $e_1 = 0,4$. Em todos os casos, as condições iniciais utilizadas foram: $T_{U0} = 5 \times 10^7$ células, $T_{I0} = 0$ células, $V_0 = 10^3$ PFU/cel., $N_0 = 0$ células e $L_0 = 0$ células. Os valores dos outros parâmetros podem ser encontrados na Tabela 2.

Como pode ser observado nas Figuras 5a e 5b, a influência das células imunes, NK e linfócitos T citotóxicos CD8⁺, não é suficiente para eliminar a população de células tumorais, que, sem viroterapia, passa de uma população de 5×10^7 células para $6,51 \times 10^7$ (população máxima atingida) células em um dia. Após o pico, reduz-se à $4,1 \times 10^6$ células no dia 60, até estabilizar-se em torno de $4,5 \times 10^6$ no dia 100. Independente da citopaticidade do vírus, as células tumorais não-infectadas atingem um valor próximo de zero, 1×10^{-30} , em $t = 0,1$ dia. Destaca-se que, apesar de 5a e 5b mostrarem erradicação do tumor em ambos os casos, estudos *in vivo* mostraram que a viroterapia oncolítica utilizada como monoterapia raramente resulta em completa

regressão em tumores, se comparada com tratamentos combinados (SENEKAL *et al.*, 2021).

Figura 5 – Comparação do impacto de diferentes citopaticidades virais. As figuras da esquerda mostram o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico de baixa citopaticidade ($e_1 = 0,04$). Nas figuras da direita, é possível ver o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico de alta citopaticidade ($e_1 = 0,4$). Os outros parâmetros seguem os valores da Tabela 2.

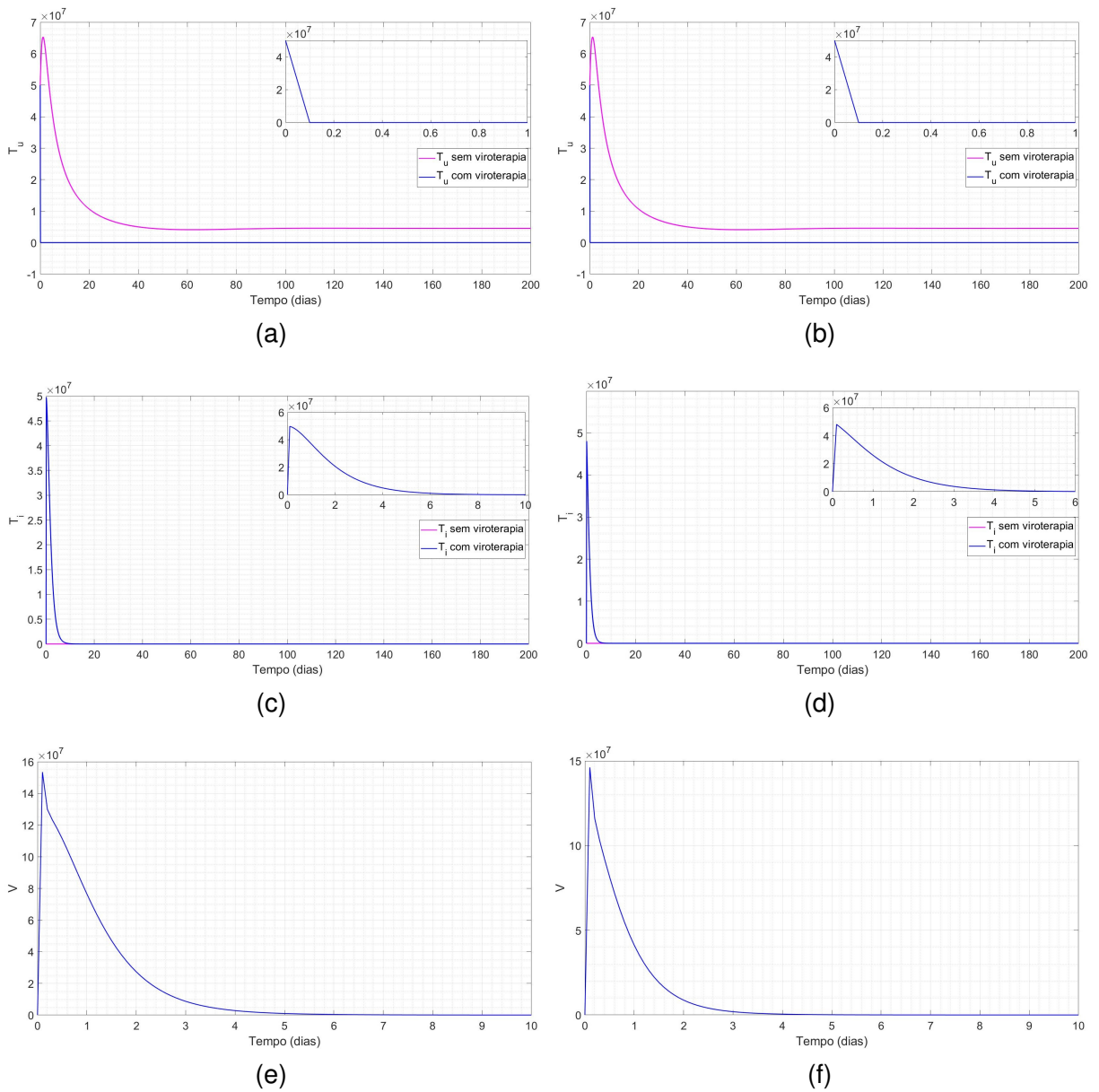
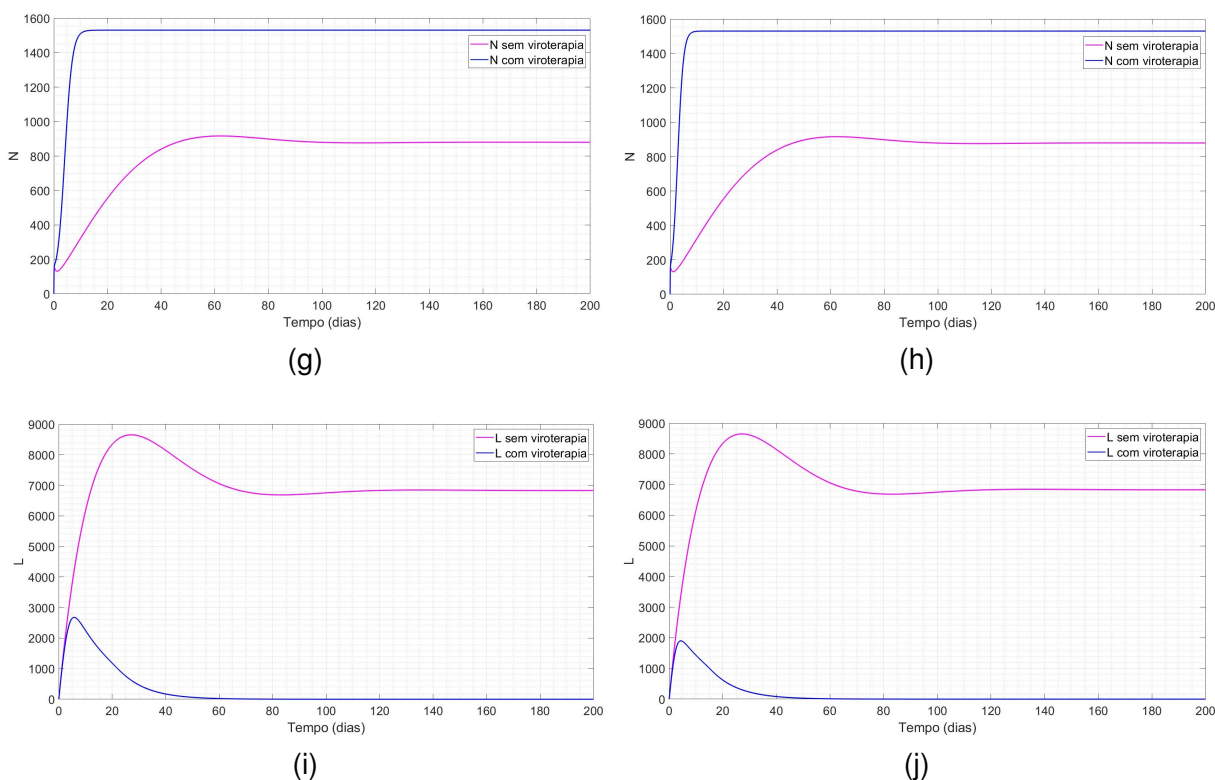


Figura 5



Fonte: Elaboração própria.

Com relação às células tumorais infectadas (T_i), na Figura 5c pode-se observar o caso em que a citopaticidade do vírus oncolítico é considerada baixa e em 5d o caso em que a citopaticidade é alta. O valor máximo atingido por T_i no caso da citopaticidade do vírus baixa é $4,97 \times 10^7$ células, em $t = 0,1$ dia. Após atingir o pico, reduz-se a $2,3 \times 10^5$ células no dia $t = 8$, até que sofra erradicação no dia $t = 35$. No caso de maior citopaticidade do vírus, T_i atinge valor máximo de $4,8 \times 10^7$ células em $t = 0,1$ dia. Após atingir o pico, reduz-se a $4,5 \times 10^5$ células no dia $t = 5$, até que sofra erradicação no dia $t = 20$. Nota-se que, de acordo com a Figura 4b, no caso em que considera-se apenas a infecção viral, a população de células tumorais infectadas atinge o máximo de $4,31 \times 10^7$ células. Já nos casos nos quais considera-se as interações locais entre as células NK, células T CD8⁺ e células tumorais infectadas por vírus oncolíticos, como nas Figuras 5c e 5d, obtém-se uma maior quantidade de células tumorais infectadas (máximo de $4,97 \times 10^7$ células para citopaticidade baixa e $4,8 \times 10^7$ células para citopaticidade alta). Tais resultados sugerem que respostas imunes de células NK e células T CD8⁺ melhoram a viroterapia oncolítica.

Observa-se nos gráficos 5e e 5f o comportamento da população de partículas de vírus oncolíticos. No caso 5e, em $t = 0,1$ dia atinge o pico de $1,53 \times 10^7$ partículas, reduz-se a $9,9 \times 10^5$ partículas no dia $t = 5$, até ser eliminado em torno do dia 25. No

caso em que a citopaticidade do vírus é alta, em 5f, em $t = 0,1$ dia, V atinge o pico de $1,4 \times 10^7$ partículas, reduz-se a $4,9 \times 10^5$ partículas no dia $t = 4$, até ser eliminado em torno do dia 17. Nas Figuras 5g e 5h pode-se observar a evolução no tempo da população de células NK nos casos de baixa e alta citopaticidade do vírus, respectivamente. Sem a viroterapia, células NK sofrem redução inicial até 132 células no dia $t = 1,5$, até começarem a aumentar, atingindo o máximo de 914 células no dia $t = 57$, sofrem redução novamente, até estabilizarem-se em torno de 880 células, em aproximadamente 100 dias. Com a viroterapia, no caso de maior citopaticidade do vírus, a população de NK atinge valores maiores do que no caso de baixa citopaticidade, por exemplo, no primeiro caso, atinge-se 1400 células no dia 7, enquanto que, no segundo caso, atinge-se o mesmo número de células em 5 dias, até estabilizar-se, em ambos os casos, em torno de 1530 células aproximadamente no dia 14, no primeiro caso, e no dia 10, no segundo caso. Nas Figuras 5i e 5j mostra-se a evolução das células T CD8⁺. Sem a viroterapia, a população cresce até atingir um máximo de 8652 células em torno do dia $t = 26$, reduz-se e estabiliza-se em torno de 6800 células no dia $t = 120$. Com a viroterapia, na Figura 5i, caso em que a citopaticidade do vírus é baixa, a população de células T CD8⁺ atinge o valor máximo de 2678 células em aproximadamente $t = 5$ dias, sofre redução, até zerar em torno do dia $t = 100$. Já na Figura 5j, caso em que a citopaticidade do vírus é alta, a população de células T CD8⁺ atinge o valor máximo de 1894 células no dia $t = 4$ e sofre redução até zerar em torno do dia 100.

Conclusões tiradas em estudos dizem que vírus com citopaticidade baixa permitem que mais células sejam infectadas antes da resposta imune das células NK (SENEKAL *et al.*, 2021), o que explicaria o maior número de células tumorais infectadas na Figura 5c. Um maior número de células infectadas aumenta as chances de ativação das células NK via contato direto com as células infectadas. Isso gera uma forte resposta das células NK, como pode ser visto na Figura 5g, que consequentemente resulta em uma maior citotoxicidade das células NK contra células infectadas, liberando mais partículas de vírus oncolítico, como pode-se observar na Figura 5e. Comparando as Figuras 5e e 5f, nota-se que o tempo de eliminação do vírus é significativamente maior no caso do vírus com citopaticidade menor (25 dias contra 17 dias do vírus de maior citopaticidade). Uma das suposições biológicas consideradas no desenvolvimento do modelo é a de que células NK são estimuladas pela morte das células tumorais infectadas. Assim, diminuir a citopaticidade do vírus implica em retardar a resposta das células NK, que explica o motivo pelo qual a população de células NK demora mais tempo para atingir o valor máximo no caso de baixa citopaticidade (Figura 5g) do que no de alta citopaticidade (Figura 5h). Além disso, uma maior população de células infectadas, aliada a forte resposta das células NK, causa o que pode ser observado na Figura 5i: uma maior quantidade de células T CD8⁺.

Agora, pensando nos resultados obtidos para o vírus de maior citopaticidade, conclui-se que aumentar e_1 gera um número menor de partículas de vírus (como pode ser observado na Figura 5f), pois a resposta imune das células NK é mais rápida neste caso (Figura 5h). Consequentemente, resulta em menos células tumorais infectadas (Figura 5d) e uma menor resposta, apesar de mais rápida, de células T CD8⁺ (Figura 5j). É importante destacar que o número menor de células tumorais infectadas também se deve ao fato de que quanto maior a citopaticidade, menor o tempo de vida das células tumorais infectadas, pois o tempo de replicação viral é menor. Como vivem menos, possuem menos chance de encontrarem com células NK, diminuindo o recrutamento e ativação das mesmas e, por consequência, das células T, prejudicando a vigilância das células imunes contra o tumor. Segundo Shi *et al.* (2020), a indução de respostas do sistema imune inato e adaptativo pelo vírus pode ser “uma faca de dois gumes”, pois uma resposta rápida demais pode bloquear a replicação do vírus e a infecção das células tumorais, exatamente o que foi obtido na Figura 5. Ainda, além de pensar sobre o vírus escolhido, é importante decidir o dia apropriado para o início do tratamento, pois a imunidade inicial pode prejudicar ou aumentar a eficácia da viroterapia (SHI *et al.*, 2020).

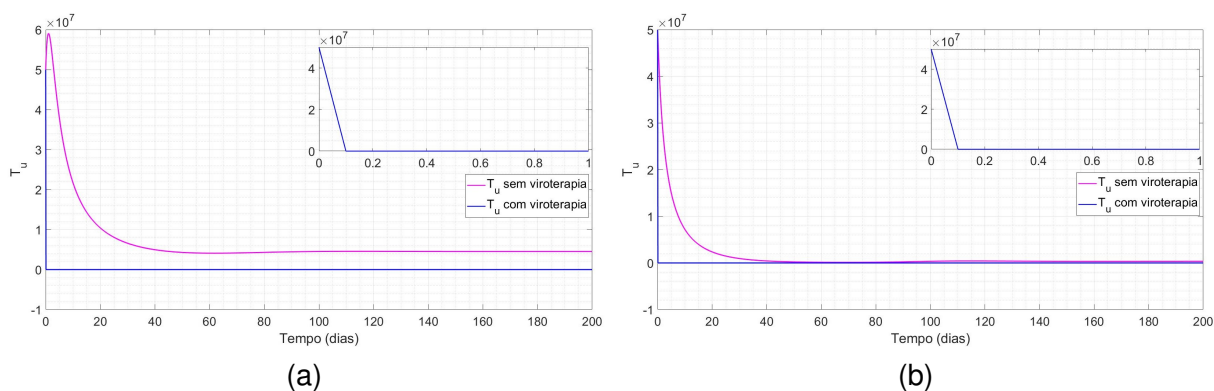
4.2.2.2 Variando a imunidade

Como visto na subsubseção anterior, a imunidade inicial pode diminuir ou aumentar a eficácia da viroterapia (SHI *et al.*, 2020). Além disso, segundo os resultados da análise de sensibilidade global feita no início do capítulo, o influxo contante de células, s_2 , possui correlação negativa significativa com o total de células tumorais, no primeiro dia após o tratamento com viroterapia oncolítica. Deste modo, nesta subsubseção pretende-se avaliar como a imunidade no início do tratamento pode influenciar na eficácia da viroterapia. Para isto, varia-se a imunidade inicial do paciente da seguinte maneira: no cenário em que a imunidade é baixa, consideram-se as populações iniciais $T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $T_{i0} = 0$ células, $V_0 = 10^3$ virions, $N_0 = 10^3$ células e $L_0 = 10$ células, e o influxo constante de células NK, $s_2 = 3,2 \times 10^3$ células; no cenário em que a imunidade inicial do paciente é alta, consideram-se as populações iniciais $T_{u0} = 5 \times 10^7$ células, $T_{i0} = 0$ células, $V_0 = 10^3$ virions, $N_0 = 10^5$ células e $L_0 = 10^2$ células, e o influxo constante de células NK, $s_2 = 3,2 \times 10^4$ células. Estes valores foram escolhidos com base em (MAHASA *et al.*, 2016). Todos os outros parâmetros podem ser encontrados na Tabela 2.

Na Figura 6a, observa-se a evolução da população de células tumorais não-infectadas, com e sem tratamento, considerando o cenário de baixa imunidade. Sem a viroterapia oncolítica, T_u atinge o valor máximo de aproximadamente $5,9 \times 10^7$ células

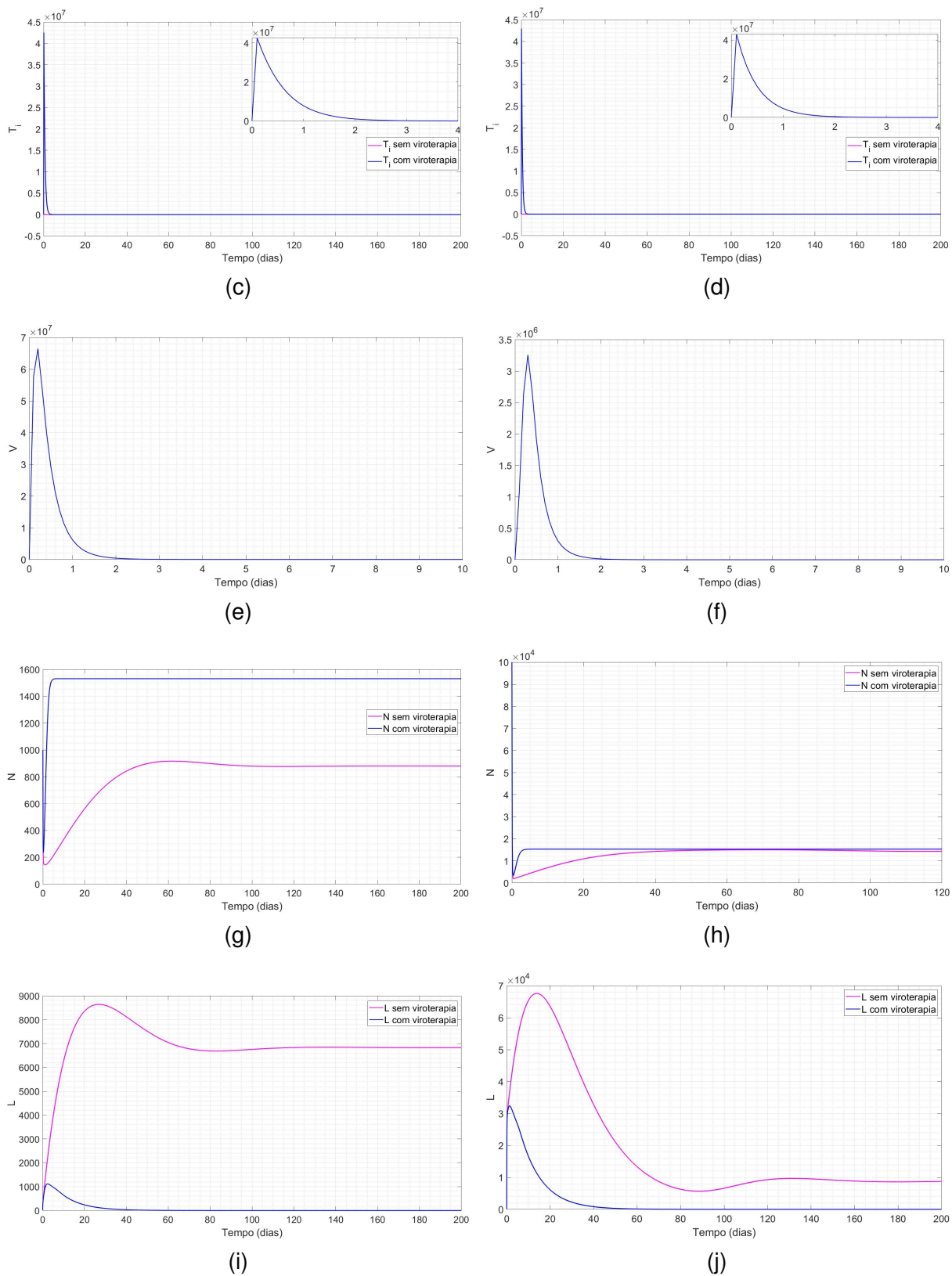
em $t = 0,9$ dia, sofre redução, até estabilizar-se em torno de $4,5 \times 10^6$ células em aproximadamente 80 dias após a infecção. Conclui-se que apenas sob a influência das células imunes, não obtém-se erradicação do tumor. Com o tratamento, a população aproxima-se de zero, assumindo o valor $6,34 \times 10^{-54}$ em $t = 0,1$ dia. No segundo cenário, apresentado na Figura 6b, observa-se a evolução da população de células tumorais não-infectadas, com e sem tratamento, desta vez considerando o cenário de imunidade alta. Sem a viroterapia oncolítica, T_U sofre redução da população inicial até atingir $4,2 \times 10^5$ células no dia $t = 40$ e estabilizar-se em torno de $3,5 \times 10^5$ células, a partir do dia $t = 100$, mostrando que, ainda que se considere imunidade alta, ela sozinha não é capaz de erradicar o tumor. Com a viroterapia oncolítica, a população de células tumorais não-infectadas é rapidamente erradicada, atingindo $2,34 \times 10^{-10}$ células em $t = 0,1$ dia.

Figura 6 – Comparação do impacto de diferentes imunidades iniciais. As figuras da esquerda mostram o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico, no caso em que a imunidade inicial é fraca ($T_{U0} = 5 \times 10^7$ células, $T_{i0} = 0$ células, $V_0 = 10^3$ PFU, $N_0 = 10^3$ células e $L_0 = 10$ células, $s_2 = 3,2 \times 10^3$ células). Nas figuras da direita, é possível ver o número de células ou partículas de vírus durante os dias sob tratamento com vírus oncolítico, no caso em que a imunidade inicial é forte ($T_{U0} = 5 \times 10^7$ células, $T_{i0} = 0$ células, $V_0 = 10^3$ PFU, $N_0 = 10^5$ células e $L_0 = 10^2$ células, $s_2 = 3,2 \times 10^4$ células). Os outros parâmetros seguem os valores da Tabela 2.



Fonte: Elaboração própria.

Figura 6



Fonte: Elaboração própria.

Na Figura 6c mostra-se a evolução da população de células tumorais infectadas

(T_i) no tempo, considerando o cenário de baixa imunidade. A população rapidamente cresce e atinge seu valor máximo de $4,25 \times 10^7$ células em $t = 0,1$ dia, sofre rápida redução, até zerar em aproximadamente $t = 10$ dias, mantendo-se em valores próximos de zero pelo resto do período considerado (200 dias). Na Figura 6d mostra-se a evolução da população de células tumorais infectadas, considerando o cenário de imunidade alta. Assim como na Figura 6c, a população rapidamente atinge o valor máximo de $4,29 \times 10^7$ células em $t = 0,1$ dia, reduz-se, até zerar em aproximadamente 10 dias. Na Figura 6e observa-se o comportamento da população de partículas de vírus oncolíticos durante os dias que sucedem a infecção, no caso em que a imunidade é baixa. Em $t = 0,2$ dia, V atinge seu valor máximo de $6,64 \times 10^7$ PFU, reduz-se a $1,59 \times 10^5$ PFU em $t = 2,5$ dias, até zerar em aproximadamente 8.5 dias. Na Figura 6f mostra-se o comportamento da população de partículas de vírus oncolíticos no caso em que a imunidade é alta. Neste caso, V atinge o valor máximo de $3,25 \times 10^6$ PFU no dia $t = 0,3$, reduz-se a $3,5 \times 10^4$ PFU no dia $t = 2,5$, até zerar em aproximadamente seis dias.

Com relação à população de células NK, na Figura 6g é possível observar o comportamento da mesma sem terapia e com viroterapia. Sem a viroterapia, N atinge o valor mínimo de 144 células em $t = 1,4$ dia e rapidamente aumenta, até estabilizar-se em aproximadamente 880 células, no dia $t = 103$. Após a infecção com o vírus oncolítico, a população de NK passa de 10^3 células em $t = 0$ para 233 células em $t = 0,2$ dia, rapidamente aumenta, até estabilizar-se em torno de 1530 células, a partir do dia $t = 10$. O caso em que a imunidade é alta pode ser visto na Figura 6h. Sem viroterapia, a população de células NK sofre uma queda brusca de 10^5 em $t = 0$ para 3503 células em $t = 0,3$ dia. Volta a crescer, até atingir equilíbrio em torno de $1,53 \times 10^4$ células, em aproximadamente cinco dias. Após infecção por vírus oncolítico, atinge valor mínimo de 1915 células em $t = 0,5$ dia, e volta a crescer, até atingir equilíbrio em torno de $1,45 \times 10^4$ células, em aproximadamente 50 dias.

Na Figura 6i mostra-se o comportamento da população de células T CD8⁺ (L), com e sem viroterapia, no cenário de baixa imunidade. Sem viroterapia, a população passa de 10 células e atinge seu máximo de 8636 células, em $t = 25$ dias. Sofre redução, até estabilizar-se em aproximadamente 6830 células, em 113 dias. Após infecção com o vírus oncolítico, L atinge o valor máximo de 1116 células no dia $t = 2,5$, reduz-se, até zerar no dia $t = 73$. Na Figura 6j é possível observar o comportamento da população de células T CD8⁺ no caso em que a imunidade é alta. Sem viroterapia, em 14 dias, a população passa de 10^2 células para $6,75 \times 10^4$ células. Reduz-se, até estabilizar-se em valores próximos de 8633 células, a partir do dia $t = 188$. Após a infecção com o vírus oncolítico, a população passa de 10^2 células em $t = 0$, para seu

máximo $3,23 \times 10^4$, em $t = 1,5$ dia. Após atingir seu máximo, sofre redução, até zerar em aproximadamente 115 dias após a infecção por vírus oncolítico.

Percebe-se que o número de células infectadas é menor quando a imunidade inicial é mais fraca (6c). Como as células NK são recrutadas pelas células infectadas, um número menor de células infectadas resulta em um número menor de células NK, o que explica a diferença entre as Figuras 6g e 6h. Ambas as populações influenciam no tamanho da população de células T CD8⁺, uma vez que as células NK coordenam o recrutamento das células T. Deste modo, faz sentido obter-se um número menor de células T no caso da imunidade fraca, como mostrado na Figura 6i. Ainda, nota-se que a quantidade de partículas de vírus é significativamente maior no caso em que a imunidade é mais fraca (6e), e que a eliminação do vírus é mais lenta neste caso. Ademais, percebe-se que o mínimo da população de células NK coincide com o pico da população de vírus, em $t = 0,2$ dia, ambos acontecendo após o pico de células tumorais infectadas (em $t=0,1$). Como discutido anteriormente, um número grande de células NK no início do tratamento reduz a eficácia do mesmo, pois as células inibem a propagação viral, o que pode explicar a maior quantidade de partículas de vírus no caso da imunidade fraca.

5 CONCLUSÃO

Nesta dissertação, foi proposto um modelo de equações diferenciais ordinárias não-lineares para descrever as interações no microambiente tumoral entre células tumorais, células *natural killer*, células T CD8⁺ e partículas de vírus oncolítico. O propósito deste estudo foi analisar a influência das células NK e das células T CD8⁺ no prognóstico do tratamento. Para isto, foi realizada a análise qualitativa do modelo, propondo-se teoremas, sobretudo sobre a estabilidade dos pontos estacionários mais relevantes biologicamente. Ainda, a mesma análise foi feita para o submodelo livre de células imunes, com o objetivo de verificar como a viroterapia funcionaria sem a influência das células imunes aqui consideradas. Depois, foram realizadas análises de sensibilidade global, tanto para o modelo imunocompetente, quanto para o submodelo livre de células imunes, de modo que fossem determinados quais parâmetros possuem mais chances de impactar significativamente nas mudanças da população total de células tumorais (soma de células tumorais não-infectadas com células tumorais infectadas) durante os dias que sucedem o início da viroterapia. Simulações numéricas foram realizadas e pretendeu-se esclarecer os seguintes questionamentos: i) sem a presença das células imunes, a viroterapia é eficaz? Existe diferença no sucesso da viroterapia de acordo com o tamanho inicial do tumor?; ii) Como a citopaticidade do vírus oncolítico influencia na viroterapia e como isto se traduz no comportamento das outras células durante as fases do tratamento?; iii) Como a imunidade inicial, ou seja, como o tamanho inicial das células NK, células T CD8⁺ e o influxo constante das células NK (s_2) influencia no sucesso da viroterapia?

A análise de sensibilidade global mostrou que, no início do tratamento, os parâmetros de maior correlação negativa significativa com a população total de células tumorais são o influxo constante de células NK, a taxa de lise das células tumorais pelas células T CD8⁺ e a taxa de lise das células tumorais infectadas, fornecendo o primeiro indicativo de que a citopaticidade do vírus oncolítico é importante para o sucesso da viroterapia, e de que a quantidade inicial de células NK presentes no TME influencia, tanto na propagação viral, quanto na força da resposta imune adaptativa, impactando na população de células tumorais. A taxa de lise das células tumorais é um parâmetro significativo, pois quanto mais células tumorais lisadas, maior é o recrutamento de células NK e maior o número de novas partículas de vírus oncolítico liberadas. Após 100 dias do início do tratamento, observou-se que os parâmetros com maior correlação negativa significativa com o total de células tumorais foram parâmetros relacionados as células imunes, sendo eles: taxa de morte de células tumorais não-infectadas pelas células NK, taxa de morte pelas células NK de células tumorais infectadas e a taxa de proliferação das células T CD8⁺.

Com relação aos resultados obtidos nas simulações numéricas, observou-se que a eficácia da viroterapia oncolítica depende do tamanho inicial do tumor, obtendo melhores resultados para tumores maiores. Além disso, concluiu-se que a citopaticidade do vírus oncolítico influencia na eficácia da viroterapia, uma vez que vírus com baixa citopaticidade permitem que mais células tumorais sejam infectadas, o que gera um maior número de células tumorais infectadas. Mais células infectadas aumentam a chance de respostas imunes, pois há uma maior probabilidade de encontro entre as células, e também aumentam o recrutamento de células NK via morte celular imunogênica. Ademais, isto também se traduz em um número maior de partículas de vírus, ampliando a capacidade antitumoral do tratamento. Também se concluiu que apenas a ação das células imunes não é suficiente para erradicar o tumor, mesmo no caso de imunidade inicial alta. Percebeu-se que se a imunidade inicial for forte, o número de partículas de vírus é significativamente menor do que no caso em que a imunidade inicial é fraca, pois uma resposta inicial forte de células NK inibe a propagação viral. Além disso, comparando as simulações feitas para o submodelo Livre de Imunidade com as simulações para o modelo imunocompetente, percebeu-se que as respostas imunes aumentam a eficácia da viroterapia.

Tendo discutido os resultados, cabe observar que os mesmos estão sujeitos às limitações do modelo, tanto com relação aos parâmetros, quanto à forma com a qual as suposições biológicas foram incorporadas no modelo. Para trabalhos futuros, diferentes modos de modelar as interações entre as células serão considerados. Como as simulações do modelo não foram validadas com nenhum dado experimental, futuramente isto será feito. Apesar de não ser um modelo validado, todos os parâmetros utilizados nas simulações foram escolhidos a partir de estudos publicados na mesma área, o que fornece certo grau de confiabilidade aos resultados. A rapidez com a qual se obtém erradicação das células tumorais não-infectadas, faz com que surja a ideia de utilizar os parâmetros em horas, facilitando o entendimento sobre o primeiro dia após o início do tratamento. Como considera-se nesta dissertação a viroterapia como monoterapia e, de acordo com os resultados obtidos, respostas imunes podem aumentar a eficácia da viroterapia e a imunidade inicial do paciente possui grande influência no sucesso da terapia, em trabalhos futuros pretende-se combinar a viroterapia com outras imunoterapias, como por exemplo, terapia com inibidores de *checkpoint* imunológico (ICB), vacinas contra câncer, *bispecific T cell engagers* (BiTEs), terapia CAR-T (que foi estudada aliada à viroterapia em (MAHASA *et al.*, 2022)), entre outras imunoterapias promissoras, para aproveitar-se da imunidade e atingir melhores resultados com a viroterapia oncolítica.

REFERÊNCIAS

AL-TUWAIRQI, Salma M.; AL-JOHANI, Najwa O.; SIMBAWA, Eman A. **Modeling dynamics of cancer virotherapy with immune response**. *Advances in Difference Equations*, v. 2020, n. 1, 2020. <http://dx.doi.org/10.1186/s13662-020-02893-6>.

AWANG, Nor Aziran; MAAN, Normah; SULAIN, Mohd Dasuki. **Tumour-natural killer and CD8⁺ T cells interaction model with delay**. *Mathematics*, v. 10, n. 13, p. 2193, 2022. <http://dx.doi.org/10.3390/math10132193>.

BAGHBAN, Roghayyeh *et al.* **Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance**. *Cell Communication and Signaling*, v. 18, n. 1, 2020. <http://dx.doi.org/10.1186/s12964-020-0530-4>.

BAILEY, Regina. **The role of T cells in the body: T cell lymphocytes**. ThoughtCo., 6 ago. 2019. Disponível em: <https://www.thoughtco.com/t-cells-meaning-373354>. Acesso em: 5 jul. 2022.

BAJZER, Željko *et al.* **Modeling of cancer virotherapy with recombinant measles viruses**. *Journal of Theoretical Biology*, v. 252, n. 1, p. 109-122, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.01.016>.

BIESECKER, Matt *et al.* **Optimization of virotherapy for cancer**. *Bulletin of Mathematical Biology*, v. 72, n. 2, p. 469-489, 2009. <http://dx.doi.org/10.1007/s11538-009-9456-0>.

BINNEWIES, Mikhail *et al.* **Understanding the tumor immune microenvironment (TIME) for effective therapy**. *Nature Medicine*, v. 24, n. 5, p. 541-550, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0014-x>.

BLAYLOCK, Russell L. **Viruses and tumor cell microenvironment: a brief summary**. *Surgical Neurology International*, v. 10, n. 160, 2019. https://doi.org/10.25259/SNI_351_2019.

DEPILLIS, Lisette G.; RADUNSKAYA, Ami. **A mathematical model of immune response to tumor invasion**. *Proceedings of the Second M.I.T. Conference on Computational Fluid and Solid Mechanics 2003*, p.1661-1668, 2003. <https://doi.org/10.1016/B978-008044046-0.50404-8>.

DEPILLIS, Lisette G. *et al.* **A validated mathematical model of cell-mediated immune response to tumor growth.** *Cancer Research*, v. 65, n. 17, p. 7950–7958, 2005. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-0564>.

DEPILLIS, Lisette G. *et al.* **Mathematical modeling of regulatory T cell effects on renal cell carcinoma treatment.** *Discrete & Continuous Dynamical Systems - B*, v. 18, n. 4, p. 915-943, 2013. American Institute of Mathematical Sciences (AIMS). <http://dx.doi.org/10.3934/dcdsb.2013.18.915>.

DRIESSCHE, P. van Den; WATMOUGH, James. **Reproduction numbers and sub-threshold endemic equilibria for compartmental models of disease transmission.** *Mathematical Biosciences*, v. 180, n. 1-2, p. 29-48, 2002. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/s0025-5564\(02\)00108-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0025-5564(02)00108-6).

DURGEAU, Aurélie *et al.* **Recent advances in targeting CD8 T-cell immunity for more effective cancer immunotherapy.** *Frontiers in Immunology*, v. 9, ed. 14, 2018. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.00014>.

EDELSTEIN-KESHET, Leah. **Mathematical models in biology.** New York: SIAM, 2005. 586 p.

EFTIMIE, Raluca *et al.* **Multi-stability and multi-instability phenomena in a mathematical model of tumor-immune-virus interactions.** *Bulletin of Mathematical Biology*, v. 73, n. 12, p. 2932-2961, 2011. <http://dx.doi.org/10.1007/s11538-011-9653-5>.

FARHOOD, Bagher; NAJAFI, Masoud; MORTEZAEE, Keywan. **CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes in cancer immunotherapy: a review.** *Journal of Cellular Physiology*, v. 234, n. 6, p. 8509-8521, 2018. <http://dx.doi.org/10.1002/jcp.27782>.

FRIEDMAN, Avner *et al.* **Glioma virotherapy: effects of innate immune suppression and increased viral replication capacity.** *Cancer Research*, v. 66, n. 4, p. 2314-2319, 2006. <http://dx.doi.org/10.1158/0008-5472.can-05-2661>.

GOMERO, Boloye. **Latin hypercube sampling and partial rank correlation coefficient analysis applied to an optimal control problem.** 2012. 59 f. Masters dissertation - Master of Science, University Of Tennessee, Knoxville, 2012.

KOMAROVA, Natalia L.; WODARZ, Dominik. **ODE models for oncolytic virus dynamics**. *Journal of Theoretical Biology*, v. 263, n. 4, p. 530-543, 2010. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2010.01.009>.

LEUNG, Elaine Y.L *et al.* **NK cells augment oncolytic adenovirus cytotoxicity in ovarian cancer**. *Molecular Therapy Oncolytics*, v.16, p.289-301, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.omto.2020.02.001>.

LICHTY, Brian D. *et al.* **Going viral with cancer immunotherapy**. *Nature Reviews Cancer*, v.14, p.559-567, 2014. <https://doi.org/10.1038/nrc3770>.

JAHANBAN-ESFAHLAN, Rana *et al.* **Tumor microenvironment complexity and therapeutic implications at a glance**. *Cell Communication and Signaling*, v. 18, n. 59, 2020. <https://doi.org/10.1186/s12964-020-0530-4>.

JANG, Sophia R-J; WEI, Hsiu-Chuan. **On a mathematical model of tumor-immune system interactions with an oncolytic virus therapy**. *Discrete And Continuous Dynamical Systems - B*, v. 27, n. 6, p. 3261, 2022. <http://dx.doi.org/10.3934/dcdsb.2021184>.

KHALIL, Hassan K. **Nonlinear Systems**. 3. ed. Michigan: Pearson, 2001. 750 p.

KAPOOR, Suhela *et al.* **A patient-specific therapeutic approach for tumour cell population extinction and drug toxicity reduction using control systems-based dose-profile design**. *Theoretical Biology & Medical Modelling*, v. 10, n. 68, 2013. <https://doi.org/10.1186/1742-4682-10-68>.

MACNAMARA, Cicely; EFTIMIE, Raluca. **Memory versus effector immune responses in oncolytic virotherapy**. *Journal of Theoretical Biology*, v. 377, p. 1-9, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2015.04.004>.

MAHASA, Khaphetsi J. *et al.* **Mathematical model of tumor-immune surveillance**. *Journal of Theoretical Biology*, v. 404, p. 312-330, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2016.06.012>.

MAHASA, Khaphetsi J. *et al.* **Oncolytic potency and reduced virus tumor-specificity in oncolytic virotherapy. A mathematical modelling approach**, PloS One, vol. 12, 2017. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184347>.

MAHASA, Khaphetsi J. *et al.* **A combination therapy of oncolytic viruses and chimeric antigen receptor T cells: a mathematical model proof-of-concept**. Mathematical Biosciences And Engineering, v. 19, n. 5, p. 4429-4457, 2022. <http://dx.doi.org/10.3934/mbe.2022205>.

MARINO, Simeone *et al.* **A methodology for performing global uncertainty and sensitivity analysis in systems biology**. Journal of Theoretical Biology, v. 254, n. 1, p. 178-196, 2008. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2008.04.011>.

MULLEN, John T.; TANABE, Kenneth K. **Viral oncolysis**. The Oncologist, v. 7, n. 2, p. 106-119, 2002. <http://dx.doi.org/10.1634/theoncologist.7-2-106>.

MURFIN, Kelley. **3 things to know about the tumor microenvironment**. The University of Texas MD Anderson Cancer Center, 6 abr. 2021. Disponível em: <https://www.mdanderson.org/cancerwise/what-is-the-tumor-microenvironment-3-things-to-know.h00-159460056.html>. Acesso em: 13 jun. 2022.

RAD, Habib Sadeghi *et al.* **Understanding the tumor microenvironment for effective immunotherapy**. Medicinal Research Reviews, v. 41, n. 3, p. 1474-1498, 2020. <http://dx.doi.org/10.1002/med.21765>.

RASKOV, Hans *et al.* **Cytotoxic CD8⁺ T cells in cancer and cancer immunotherapy**. British Journal of Cancer, v. 124, n. 2, p. 359-367, 2020. <http://dx.doi.org/10.1038/s41416-020-01048-4>.

ROITT, Ivan Maurice *et al.* **Fundamentos de imunologia**. 12. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 552 p.

RUSSELL, Stephen J; PENG, Kah-Whye; BELL, John C. **Oncolytic virotherapy**. Nature Biotechnology, v. 30, n. 7, p. 658-670, 2012. <http://dx.doi.org/10.1038/nbt.2287>.

RYDING, Sara. **What are T Cells?** News Medical, 30 mar. 2021. Disponível em: <https://www.news-medical.net/health/What-are-T-Cells.aspx>. Acesso em: 5 jun. 2022.

SENEKAL, Norma S. *et al.* **Natural killer cells recruitment in oncolytic virotherapy: a mathematical model**, Bulletin of Mathematical Biology, v. 83, n. 75, 2021. <https://doi.org/10.1007/s11538-021-00903-6>.

SERVIER. **Smart servier medical art**. Disponível em: smart.servier.com. Acesso em: 09 jul. 2022.

SHI, Tao *et al.* **Combining oncolytic viruses with cancer immunotherapy: establishing a new generation of cancer treatment**. Frontiers in Immunology, v. 11, n. 683, 2020. <http://dx.doi.org/10.3389/fimmu.2020.00683>.

SONG, Ge; TIAN, Tianhai; ZHANG, Xinan. **A mathematical model of cell-mediated immune response to tumor**. Mathematical Biosciences and Engineering, v. 18, n. 1, p. 373-385, 2021. American Institute of Mathematical Sciences (AIMS). <http://dx.doi.org/10.3934/mbe.2021020>.

STOREY, Kathleen M.; LAWLER, Sean E.; JACKSON, Trachette L. **Modeling oncolytic viral therapy, immune checkpoint inhibition, and the complex dynamics of innate and adaptive immunity in glioblastoma treatment**. Frontiers in Physiology, v. 11, p. 9-10, 2020. <http://dx.doi.org/10.3389/fphys.2020.00151>.

T CELL: cytology. **Britannica**, 2022. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/T-cell>. Acesso em: 5 jul. 2022.

TESCHEL, Gerald. **Ordinary differential equations and dynamical systems**. Vienna: American Mathematical Society, 2012. 356 p.

THIEME, Horst R. **Mathematics in population biology**. New Jersey: Princeton University Press, 2003. 568 p.

VITHANAGE, G. V. R. K.; WEI, Hsiu-Chuan; JANG, Sophia R-J. **Bistability in a model of tumor-immune system interactions with an oncolytic viral therapy**. Mathematical Biosciences and Engineering, v. 19, n. 2, p. 1559-1587, 2021. <http://dx.doi.org/10.3934/mbe.2022072>.

VIVIER, Eric *et al.* **Functions of natural killer cells.** Nature Immunology, v. 9, n. 5, p. 503-510, 2008. <https://doi.org/10.1038/ni1582>.

ZHU, Qing *et al.* **Using immunoproteomics to identify tumor-associated antigens (TAAs) as biomarkers in cancer immunodiagnosis.** Autoimmunity Reviews, v. 12, n. 12, p. 1123-1128, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2013.06.015>.

WARRICKER, Frazer; KHAKOO, Salim I.; BLUNT, Matthew D. **The role of NK cells in oncolytic viral therapy: a focus on hepatocellular carcinoma.** Journal of Translational Genetics and Genomics, v. 5, p. 304-322, 2022. <https://doi.org/10.20517/jtgg.2021.27>.

WEIN, Lawrence M.; WU, Joseph T.; KIRN, David H. **Validation and analysis of a mathematical model of a replication-competent oncolytic virus for cancer treatment.** Cancer Research, v. 63, n. 6, p. 1317-1324, 2003.

WHAT IS CANCER?. **National Cancer Institute**, 5 mai. 2021. Disponível em: <https://www.cancer.gov/about-cancer/understanding/what-is-cancer#>. Acesso em: 12 mai. 2022.

WISSINGER, Erika. **BiteSized immunology: CD8⁺ T cells.** British Society for Immunology, 17 mar. 2016. Disponível em: <https://www.immunology.org/public-information/bitesized-immunology/cells/cd8-t-cells>. Acesso em: 16 jun. 2022.

WODARZ, D. **Viruses as antitumor weapon: defining conditions for tumor remission.** Cancer Research, v.61, n.8, p. 3501-3507, 2001.

WORLD CANCER DAY 2022. **International Agency for Research on Cancer**, 2022. Disponível em: <https://www.iarc.who.int/featured-news/world-cancer-day-2022/>. Acesso em: 12 maio 2022

WU, J. T.; KIRN, D.; WEIN, L. **Analysis of a three-way race between tumor growth, a replication-competent virus and an immune response.** Bulletin of Mathematical Biology, v. 66, n. 4, p. 605-625, 2004. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bulm.2003.08.016>.

ZWIRNER, Norberto W.; DOMAICA, Carolina I.; FUERTES, Mercedes B. **Regulatory functions of NK cells during infections and cancer**. *Journal of Leukocyte Biology*, n. 109, 2020. <https://doi.org/10.1002/JLB.3MR0820-685R>.

GLOSSÁRIO

CD4⁺ Glicoproteína da superfície celular, geralmente das células T auxiliares, que reconhece moléculas MHC classe II das células apresentadoras de antígenos

CD8⁺ Glicoproteína da superfície celular, geralmente das células T citotóxicas, que reconhece moléculas MHC classe I das células-alvo

IL – 10 Tipo de citocina produzida por macrófagos ativados e por alguns linfócitos T. Reduz a inflamação bloqueando a produção de citocinas pelas células imunes.

antígeno Qualquer molécula que possa ser reconhecida por um anticorpo ou receptor de célula T

apoptose Morte celular programada, caracterizada pela digestão do DNA por endonuclease

citocina Proteína de baixo peso molecular que estimula ou inibe a diferenciação, a proliferação ou a função das células imunes

Complexo Principal de Histocompatibilidade Por definição é conhecido como um locus gênico responsável pela codificação de estruturas proteicas que fazem a apresentação de antígenos aos linfócitos T, promovendo a proliferação dessas células e consequente resposta imunológica própria

célula de memória Células T e B formadas por expansão clonal durante uma resposta imune primária e que, após novo encontro com o mesmo antígeno, estão “preparadas” para mediar uma resposta imune secundária mais rápida, intensa e duradoura que a resposta imune primária

célula dendrítica Célula imune que liga a imunidade inata e adaptativa. A principal função dessa célula inata é capturar, processar e apresentar antígenos para células imunes adaptativas e mediar sua polarização em células efetoras

célula efetora Células que desempenham função imune (por exemplo, liberação de citocinas, citotoxicidade)

célula imatura Célula que não possui a habilidade de lutar contra infecções no corpo

célula T auxiliar Subclasse de células T que prestam a ajuda necessária (na forma de citocinas e/ou interações cognatas) à expressão da função efetora por outras células do sistema imune

célula T citotóxica Célula T (geralmente CD8⁺) que destrói células-alvo depois de reconhecer moléculas de MHC-peptídeos estranhos expostos na membrana dessas células

célula T reguladora Célula T (principalmente CD4⁺) que suprime a atividade funcional dos linfócitos e das células dendríticas

exossomo Pequenas vesículas produzidas pelo sistema endocítico de diversos tipos celulares. O interesse recente nos exossomos é atribuído ao seu papel na disseminação de organismos patogênicos, bem como na sua função em promover e regular a resposta imune

fagocitose Englobamento de células e partículas, realizado por fagócitos – células, incluindo monócitos/macrófagos e neutrófilos, especializadas em englobar outras células e partículas

fator de crescimento Proteínas, formadas por polipeptídeos, que se ligam aos receptores da superfície celular, emitindo um sinal que atravessa a membrana citoplasmática e efetua um comando celular ou nuclear, desta forma desempenha uma importante função na comunicação intercelular, promovendo ativação da proliferação, diferenciação e movimentação das células, além de influenciar a síntese de proteínas e a apoptose celular

fibroblasto Célula do tecido conjuntivo que produz colágeno e tem participação importante na cicatrização de feridas

fibronectina A fibronectina é uma proteína adesiva que ajuda as células a aderirem à matriz, encontrada em todos os vertebrados. Existe uma forma solúvel que circula nos fluidos do corpo ativando a coagulação, cicatrização e fagocitose

granzima Serinoesterases encontradas nos grânulos dos linfócitos T citotóxicos e das células NK. Induzem apoptose da célula-alvo na qual penetram por meio de canais produzidos por perforinas inseridas na membrana celular pela célula citotóxica

hialuronano Também conhecido como ácido hialurônico e hialuronato, constitui um dos principais componentes da matriz extracelular (ECM), foram conduzidos numerosos estudos relativos à pele

homeostase Um estado de equilíbrio entre todos os sistemas do corpo necessários para que o corpo sobreviva e funcione corretamente. Na homeostase, os níveis corporais de ácido, pressão arterial, açúcar no sangue, eletrólitos, energia, hormônios, oxigênio, proteínas e temperatura são constantemente ajustados para responder às mudanças dentro e fora do corpo, para mantê-los em um nível normal

infiltrante Um tipo de célula imune que se move do sangue para um tumor. Linfócitos tumor-infiltrantes podem reconhecer e matar células cancerígenas. Na terapia

de câncer, os linfócitos que se infiltram no tumor são removidos do tumor de um paciente, cultivados em grande número em laboratório e depois devolvidos ao paciente para ajudar o sistema imunológico a matar as células cancerígenas. Também chamado de TIL

interferon Uma substância natural que ajuda o sistema imunológico do corpo a combater infecções e outras doenças, como o câncer. ex. IFN- α e IFN- β podem ser induzidos na maioria dos tipos celulares, enquanto IFN- γ é produzido pelos linfócitos T. Todos os três tipos induzem um estado antiviral nas células e, além disso, o IFN- γ atua na regulação das respostas imunes

laminina Glicoproteína que é formada por três cadeias polipeptídicas dispostas em cruz. Sua função é a de ancorar as células epiteliais à ECM, da qual faz parte, através de associações a outras proteínas como as integrinas, o colágeno, a elastina e a fibronectina

linfonodos Uma pequena estrutura em forma de feijão que faz parte do sistema imunológico do corpo. Os gânglios linfáticos filtram substâncias que viajam através do fluido linfático e contêm linfócitos (glóbulos brancos) que ajudam o corpo a combater infecções e doenças

linfócito B Um tipo de glóbulo branco que produz anticorpos. Os linfócitos B fazem parte do sistema imunológico e se desenvolvem a partir de células-tronco na medula óssea. Também chamado de célula B

linfócito granular grande Leucócitos (na verdade, a maioria não é de linfócitos) que contêm grânulos citoplasmáticos e atuam como células *natural killer* (NK) e *killer* (K). os linfócitos T citotóxicos CD8+ ativados (Tc) também adquirem o aspecto morfológico do linfócito granular grande

lise Processo de ruptura da membrana plasmática da célula e a liberação do material de dentro para o meio exterior da célula. A lise celular é um processo natural que ocorre na digestão ou na ação contra agentes infecciosos

macrófago Célula fagocitária grande, derivada do monócito sanguíneo. Atua como célula apresentadora de antígenos e pode mediar a ADCC (Citotoxicidade mediada por células dependente de anticorpos)

micróglia Tipo de célula do sistema nervoso central que, entre outros papéis, tem função similar à dos glóbulos brancos na corrente sanguínea. As micróglias fazem a vigilância ativa do tecido cerebral e da medula.

neutrófilo Principal granulócito polimorfonuclear fagocitário circulante. Entra nos tecidos nas fases iniciais da resposta inflamatória e também é capaz de mediar a citotoxicidade celular dependente de anticorpo.

oncólise viral Processo de infecção e destruição de células tumorais por partículas de vírus oncolíticos.

padrão molecular associado ao patógeno Moléculas (p. ex., lipopolissacarádio, peptidoglicano, ácidos lipoteicoicos e mananos) expressas em níveis altos pelos patógenos microbianos na forma de motivos repetitivos, que não existem nos tecidos do hospedeiro. Por isso, são usadas pelos receptores de reconhecimento de padrões (PRR) do sistema imune para diferenciar os patógenos dos antígenos próprios

patógeno Agente específico, causador de doença

perforina Molécula produzida por células T citotóxicas e células NK que é polimerizada e forma um poro na membrana da célula-alvo, resultando em destruição

quimiocina Família de citocinas estruturalmente relacionadas que induzem seletivamente quimiotaxia e ativação de leucócitos. Também são importantes para o desenvolvimento de órgãos linfoides, compartimentalização de células nos tecidos linfoides, desenvolvimento das células Th1/Th2, angiogênese e cicatrização de feridas

sistema imune inato Imunidade que não é intrinsecamente influenciada por contato prévio com um antígeno, ou seja, todos os componentes da imunidade que não são mediados diretamente pelos linfócitos

timo Pequena glândula no sistema linfático que produz e treina glóbulos brancos especiais chamados células T

VEGF Uma substância produzida pelas células que estimula a formação de novos vasos sanguíneos.

ANEXO A – FERRAMENTAS

Considere o sistema

$$\dot{x} = f(x), \quad (25)$$

em que $f : D \rightarrow \mathbb{R}^n$ é uma aplicação localmente Lipschitz de um domínio $D \subset \mathbb{R}^n$ em \mathbb{R}^n .

A 1. (Teorema de LaSalle) (KHALIL, 2001, pg.128, Teo. 4.4): Seja $\Omega \subset D$ um conjunto compacto positivamente invariante com respeito a (25). Seja $V : D \subset \mathbb{R}^n$ uma função continuamente diferenciável tal que $V(x) \leq 0$ em Ω . Seja E o conjunto de todos os pontos em Ω em que $\dot{V}(x) = 0$. Seja M o maior conjunto invariante em E . Então, toda solução começando em Ω se aproxima de M quando $t \rightarrow \infty$.

A 2. (THIEME, 2003, pg.423, Teo. A.4): Seja $\mathbb{R}_+^{n+1} = [0, \infty)^n$ o cone de vetores não-negativos em \mathbb{R}^n . Seja $F : \mathbb{R}_+^{n+1} \rightarrow \mathbb{R}^n$ localmente Lipschitz,

$$F(t,x) = (F_1(t,x), \dots, F_n(t,x)), \quad x = (x_1, \dots, x_n),$$

e que satisfaz

$$F_j(t,x) \geq 0 \text{ sempre que } t \geq 0, \quad x \in \mathbb{R}_+^n, \quad x_j = 0.$$

Então, para todo $x^0 \in \mathbb{R}_+^n$, existe única solução de $x' = F(t,x)$, $x(0) = x^0$, com valores em \mathbb{R}_+^n , que está definida em algum intervalo $[0,b)$, $b > 0$.

A 3. (Princípio da Comparação) (TESCHEL, 2012, pg.27, Teorema 1.3): Suponha f contínua localmente Lipschitz com respeito a x uniformemente em t . Sejam $x(t)$ e $y(t)$ duas funções diferenciáveis tais que

$$x(t_0) \leq y(t_0), \quad \dot{x}(t) - f(t,x(t)) \leq \dot{y}(t) - f(t,y(t)), \quad t \in [t_0, T) \quad (26)$$

Então, temos que $x(t) \leq y(t)$, para todo $t \in [t_0, T)$. Ademais, se $x(t) < y(t)$ para algum t , isto permanece verdadeiro para todo t .

A 4. (Critério Routh-Hurwitz) (EDELSTEIN-KESHET, 2005, pg. 233, The Routh-Hurwitz Criteria): Dada a equação característica

$$\lambda^k + a_1 \lambda^{k-1} + a_2 \lambda^{k-2} + \dots + a_k = 0,$$

defina k matrizes como a seguir:

$$\mathbf{H}_1 = (a_1), \mathbf{H}_2 = \begin{pmatrix} a_1 & 1 \\ a_3 & a_2 \end{pmatrix}, \mathbf{H}_3 = \begin{pmatrix} a_1 & 1 & 0 \\ a_3 & a_2 & a_1 \\ a_5 & a_4 & a_3 \end{pmatrix},$$

$$\mathbf{H}_j = \begin{pmatrix} a_1 & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ a_3 & a_2 & a_1 & 1 & \dots & 0 \\ a_5 & a_4 & a_3 & a_2 & \dots & 0 \\ a_{2j-1} & a_{2j-2} & a_{2j-3} & a_{2j-4} & \dots & a_j \end{pmatrix}, \dots, \mathbf{H}_k = \begin{pmatrix} a_1 & 1 & 0 & \dots & 0 \\ a_3 & a_2 & a_1 & \dots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & \dots & \dots & a_k \end{pmatrix},$$

em que o termo (l, m) na matriz \mathbf{H}_j é

$$a_{2l-m}, \text{ se } 0 < 2l - m < k,$$

$$1, \text{ se } 2l = m,$$

$$0, \text{ se } 2l < m \text{ ou } 2l > k + m.$$

Então, todos os autovalores possuem parte real negativa; isto é, o estado estacionário \bar{N} é estável se, e somente se, os determinantes de todas as matrizes Hurwitz forem positivos:

$$\det \mathbf{H}_j > 0 \quad (j = 1, 2, \dots, k).$$

Nos casos em que $k = 2, 3$, o critério pode ser resumido como

1. $k = 2$: $a_1 > 0, a_2 > 0$.
2. $k = 3$: $a_1 > 0, a_3 > 0, a_1 a_2 > a_3$.