UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

PROGRAMA DE DOUTORADO EM ONCOLOGIA CLÍNICA, CÉLULAS-TRONCO E TERAPIA CELULAR

GERSON HIROSHI YOSHINARI JÚNIOR

Um modelo de equações diferenciais ordinárias aplicado à leucemia promielocítica aguda

Ribeirão Preto
2019

GERSON HIROSHI YOSHINARI JÚNIOR

Um modelo de equações diferenciais ordinárias aplicado à leucemia promielocítica aguda

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Diferenciação Celular Normal e Neoplásica.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Magalhães Rego

Coorientador: Prof. Dr. Luis Fernando De Osório Mello

Ribeirão Preto
2019

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESE QUE CITADA A FONTE.

FICHA CATALOGRÁFICA

Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto

Yoshinari Júnior, Gerson Hiroshi

Um modelo de equações diferenciais ordinárias aplicado à leucemia promielocítica aguda. Ribeirão Preto, 2019. 84p. :il.; 30cm

Tese de Doutorado, apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Diferenciação Celular Normal e Neoplásica.
Versão Original
Orientador: Rego, Eduardo Magalhães.

1. Leucemia Promielocítica Aguda. 2. Modelo matemático. 3. Equações Diferenciais Ordinárias. 4. Ecologia.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nome: YOSHINARI JÚNIOR, Gerson Hiroshi

Título: Um modelo de equações diferenciais ordinárias aplicado à leucemia promielocítica aguda

Tese apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências.

Área de concentração: Diferenciação Celular Normal e Neoplásica.

Aprovado em: ____/____/____

Banca examinadora

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Assinatura:_____

Prof. Dr.:_____

Instituição:_____ Julgamento:_____

Assinatura:_____

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre instilaram em mim a sede insaciável pelo conhecimento.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à Deus.

À minha família, em especial à minha mãe, Izidora, eterna incentivadora da minha educação e desenvolvimento pessoal e profissional, bem como à minha esposa, Samantha, companheira nessa longa e árdua, porém recompensadora caminhada.

Aos meus orientadores, Prof. Eduardo Magalhães Rego e Prof. Luis Fernando Mello, pela confiança, paciência, orientação e a amizade no desenvolvimento deste trabalho.

À equipe do Hemocentro do HCRP e da pós-graduação, em especial à Adriana e à Dalvinha, que me salvaram várias vezes.

À secretaria do Serviço de Radioterapia do HCRP, em especial à Rita, Vininha, Rose, Luciano, José, por seu apoio imprescindível na coleta de dados.

Ao Prof. Harley e Prof. Denis, pela amizade, apoio e conselhos.

À Faculdade de Medicina de Itajubá e ao Hospital Márcio Cunha pelo suporte e compreensão durante o período de realização dessa dissertação.

Ao amigo Prof. Artur Fassoni, cujo trabalho foi inspiração e sem o qual a realização deste estudo seria impossível.

“Combati o bom combate, acabei a carreira, guardei a fé.”

2 Timóteo 4:7

RESUMO

YOSHINARI JÚNIOR, G. H. **Um modelo de equações diferenciais ordinárias aplicado à leucemia promielocítica aguda.** 2019, 84p. Tese. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

A Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) é uma condição incomum, potencialmente letal, no qual o tratamento baseado em análise de risco de recaída levou a melhores resultados terapêuticos. Devido à raridade e sobrevida global relativamente alta, ensaios clínicos prospectivos para investigar protocolos alternativos de tratamento são desafiadores. Modelos matemáticos podem oferecer informações úteis neste cenário, otimizando tempo e custos de estudo, aumento as chances de resultados positivos. Foram coletados dados clínicos e laboratoriais dos primeiros 30 dias de tratamento de todos os 39 pacientes diagnosticados com LPA tratados no Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP) sob o protocolo de tratamento do *International Consortium on Acute Leukemia* (ICAL). Foi proposto um modelo matemático baseado em Equações Diferenciais Ordinárias (EDOs) que representa a dinâmica dos leucócitos no sangue periférico e os efeitos do protocolo ICAL de tratamento na dinâmica da doença. Observou-se que a coorte do HCRP apresenta características demográficas e desfechos clínicos comparáveis aos publicados em estudos prévios em LPA. Com 41,8 meses de seguimento mediano, sobrevida livre de recaída e sobrevida global em dois anos foram ambos de 78,7%. Para um conjunto adequado de dados laboratoriais, as soluções oferecidas pelo modelo ajustam-se adequadamente. Informações derivadas do modelo podem auxiliar na prática clínica e no desenho de ensaios clínicos, sugerindo protocolos de tratamento e determinando riscos de recaída.

Palavras-chave: Leucemia Promielocítica Aguda; Modelo matemático; Equações Diferenciais Ordinárias; Ecologia.

ABSTRACT

YOSHINARI JÚNIOR, G. H. **A mathematical model on Acute Promyelocytic Leukemia based on Ordinary Differential Equations**. 2018, 84p. Thesis. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Acute Promyelocytic Leukemia (APL) is a rare condition, potentially lethal, in which risk-based therapy led to better outcomes. Due to its rarity and relatively high overall survival rate, prospective randomized trials to investigate alternative treatment schedules are challenging. Mathematical models may provide useful information in this matter. We collected clinical data from 39 patients treated for APL under the International Consortium on Acute Leukemia (ICAL) protocol and laboratory data during induction. We propose a mathematical model based on Ordinary Differential Equations (ODEs) that represents the dynamics of leucocytes in peripheral blood and the effect of ICAL treatment on the disease's dynamics. We observed that our cohort presents demographic characteristics and clinical outcomes similar to previous clinical trials on APL. With 41.8 months of follow-up, relapse-free survival and overall survival at two years were both 78.7%. For an adequate set of clinical data, the model solutions show good fit. Pieces of information derived from the model may assist in clinical practice and design of clinical trials, suggesting alternative chemotherapy protocols and determining the risk of relapse.

Keywords: Acute Promyelocytic Leukemia; Mathematical Model; Ordinary Differential Equations; Ecology.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Leucemia promielocítica aguda “clássica”, caracterizada por promielócitos intensamente granulados com bastonetes de Auer em abundância (adaptado de Wintrobe’s clinical hematology 14 Ed.)..... 19

Figura 2: Progressão morfológica durante terapia com ATRA. A: Promielócito anormal em sangue periférico anterior à terapia. Paciente portador da variante hiperbasofílica com núcleos retorcidos B: Aproximadamente após 14 dias de terapia. A célula apresenta características promielocíticas e de granulócitos maduros. C: Aproximadamente após 30 dias de terapia. Apenas pequenas alterações são observadas. (Adaptado de Wintrobe’s clinical hematology 14 Ed.)..... 21

Figura 3: Protocolo de tratamento ICAL risco adaptado. DNR: daunorrubicina; GB: contagem de glóbulos brancos em sangue periférico; MTZ: mitoxantrona..... 24

Figura 4: Retrato de fase para o **Regime I**. Observa-se que, para qualquer condição inicial das populações de células normais e leucêmicas, a população leucêmica vai à zero, caracterizando o estado de saúde do paciente. As linhas tracejadas vermelhas representam as isóclinas do retrato de fase (retirado de Fassoni, 2016). 40

Figura 5: Exemplo de órbita periódica: Retrato de fase para $r' = 12r\text{-}r3, \theta' = 1$. Observa-se a órbita periódica isolada estável (ciclo limite) e ponto de equilíbrio repulsor na região por ele definida. Retirado de Hirsch, Smale e Devaney, *Differential Equations, Dynamical Systems & An Introduction to Chaos*, 2ª Ed., 2004). 41

Figura 6: Exemplo de gráfico: Retrato de fase referente ao sistema $x' = \sin(\text{-}.1\cos x\text{-}\cos y), y' = \sin(\cos x\text{-}.1\cos y)$. O conjunto ω-limite de qualquer solução emanando da fonte em $(\pi 2, \pi 2)$ é o quadrado limitado pelos quatro equilíbrios e pelas soluções heteroclínicas. Retirado de Hirsch, Smale e Devaney, *Differential Equations, Dynamical Systems & An Introduction to Chaos*, 2ª Ed., 2004). 41

Figura 7: Exemplos e configurações de retratos de fase apresentando ciclos-limites contendo ponto de equilíbrio estável em seu interior. A esquerda, um ciclo-limite semi-estável (atrator na região externa ao ciclo e repulsor na região interna) com um ponto de equilíbrio estável em seu interior. A direita, um ciclo-limite estável contendo um ciclo-limite instável e, finalmente, um ponto de equilíbrio estável em seu interior (modificado de Sotomayor, Mello & Braga, 2007). 43

Figura 8: Retrato de fase para o **Regime III**. Observa-se que, para qualquer condição inicial não nula das populações de células normais e leucêmicas, as populações convergem para um valor estável, caracterizando o estado de doença do paciente (retirado de Fassoni, 2016). 44
Figura 9: Retrato de fase para o **Regime II**. Observa-se que condições iniciais próximas a P2 convergirão para este ponto ao passo que condições iniciais próximas a P0 convergirão para este último (retirado de Fassoni, 2016). 46
Figura 10: Uma visão ecológica do estabelecimento e tratamento de uma doença neoplásica através da alternância entre dois estados, um estado de saúde (cura) representado pela posição da bola azul, e um estado de doença, representado pela posição da bola vermelha. Perturbações nas populações por fatores pró-neoplásicos (setas pequenas vermelhas) favorecem a movimentação em direção ao estado de doença, ao passo que fatores antineoplásicos (setas pequenas azuis) favorecem a movimentação em direção a um estado de cura. Perturbações nos parâmetros do sistema (setas grandes) levam a transições entre os três diferentes regimes (I, II e III), criam ou destroem pontos de equilíbrio ou levam a mudanças na estabilidade destes pontos (retirado de Fassoni, 2016). 47
Figura 11: Separatriz e bacias de atração. A separatriz é representada pela linha sólida em vermelho e a bacia de atração de P2 hachurada em azul. A caixa ***B*** que inclui os pontos de equilíbrio está representada pelo retângulo tracejado (modificado de Fassoni, 2016). 49
Figura 12: Variação do valor da hemoglobina sérica ao longo do tempo, por paciente. 53
Figura 13: Variação do valor do hematócrito ao longo do tempo, por paciente. 54
Figura 14: Variação da contagem global de leucócitos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente. 54
Figura 15: Variação da contagem de neutrófilo em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente..... 55
Figura 16: Variação da contagem de monócitos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente..... 55
Figura 17: Variação da contagem de eosinófilos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente..... 56
Figura 18: Variação da contagem de promielócitos e blastos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente. 56
Figura 19: Variação da contagem de linfócitos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente..... 57

Figura 20: Variação da contagem de basófilos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente..... 57
Figura 21: Variação da contagem de plaquetas em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente..... 58
Figura 22: Variação da razão internacional normalizada (INR) do tempo de protrombina (TP) ao longo do tempo, por paciente..... 58
Figura 23: Variação da razão (*ratio*) do Tempo de Tromboplastina Parcialmente ativada (TTPa) ao longo do tempo, por paciente..... 59
Figura 24: Variação da concentração sérica do D-dímero (em ug/mL) ao longo do tempo, por paciente..... 59
Figura 25: Variação da concentração sérica de fibrogênio (mg/dL) ao longo do tempo, por paciente..... 60
Figura 26: Variação da concentração sérica de albumina (g/dL) ao longo do tempo, por paciente. 60
Figura 27: Variação da concentração sérica de creatinina (mg/dL) ao longo do tempo..... 61
Figura 28: Curva de K-M para sobrevida global total com dados censurados (marcação vertical), em meses, com sobrevida de 50% não atingido, sobrevida em 60 meses de 75,7%. As linhas superior e inferior representam o intervalo de confiança de 95%. 61
Figura 29: Curvas de K-M para sobrevida global com dados censurados (marcação vertical), em meses, por grupo de risco PETHEMA/GIMEMA, com teste de Log-rank apresentado o valor de p= 0,6232, mostrando a não existência de diferença estatística entre as curvas de sobrevida global entre os grupos (p<0,05)..... 62
Figura 30: Curva de K-M para sobrevida livre de recaída com dados censurados (marcação vertical), em meses, com sobrevida de 50% não atingido, sobrevida em 60 meses de 78,7%. As linhas superior e inferior representam o intervalo de confiança de 95%..... 62
Figura 31: Curvas de K-M para sobrevida livre de recaída com dados censurados (marcação vertical), em meses, por grupo de risco PETHEMA/GIMEMA, com teste de Log-rank apresentado o valor de p= 0,4984, mostrando a não existência de diferença estatística entre as curvas de sobrevida global entre os grupos (p<0,05). 63
Figura 32: As linhas representam as soluções fornecidas pelo modelo ajustado enquanto os pontos representam os dados laboratoriais dos pacientes n.º 18 (a) e n.º 22 (b). Os pacientes receberam o protocolo de indução padrão do ICAL (ATRA diário – 75mg/dia e quimioterapia – dias 2, 4, 6 e 8 – 60mg/m^2/dia)..... 65

Figura 33: Para o paciente n.º 22: (a e c) gráficos das soluções (linhas) e dados laboratoriais (pontos) e as respetivas soluções em retrato de fase (b e d) para $\beta 2 = 0{,}00317694$ e $\beta 2 = 0{,}00158847$, respectivamente..... 66
Figura 34: Remissão completa alcançada apenas com ATRA. 68
Figura 35: Protocolos alternativos P1 e P3 aplicados ao paciente n.º 22. 69
Figura 36: Relação da doença com o teste. 76

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Parâmetros fixos do modelo para fim de simulação (por mm^3 de sangue periférico). 33
Tabela 2: Dados demográficos e clínicos..... 52
Tabela 3: Dados relacionados à toxicidade cardíaca. 53
Tabela 4: Avaliação de valor de predição dos critérios de alto risco. 63
Tabela 5: Intervalo de valores para os parâmetros não fixados e valores estimados para os pacientes nº. 18 e nº. 22..... 64
Tabela 6: Avaliação da toxicidade e tempo até remissão através da simulação de diferentes protocolos para o paciente n.º 18. 67
Tabela 7: Avaliação da toxicidade e tempo até remissão através da simulação de diferentes protocolos para o paciente n.º 22. 67
Tabela 8: Comparativo entre as coortes HCRP, ICAL e LPA2005..... 72

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ARA-C	Citarabina
ASH	*American Society of Hematology*
ATO	*Arsenic trioxide* - Trióxido de arsênico
ATRA	*All-trans retnoic acid* - Ácido transretinóico total
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
DDS	Drug Delivery System
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNR	Daunorrubicina
ESMO	*European Society for Medical Oncology*
FEVE	Fração de ejeção de ventrículo esquerdo
GB	Glóbulos brancos
HCRP	Hospital das Clínicas de Ribeirão
ICAL	*International Consortium on Acute Leukemia*
IC-APL	*International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia*
K-M	Kaplan-Meier
LMA	Leucemia mielóide aguda
LPA	Leucemia promielocítica aguda
MTZ	Mitoxantrona
NCCN	*National Comprehensive Cancer Network*
ROC	*Receiver Operating Characteristic*
SAME	Serviço de Arquivo Médico
TP	Tempo de protrombina
TTPA	Tempo de tromboplastina parcial ativada
VN	Verdadeiro Negativo
VP	Verdadeiro Positivo
VPN	Valor Preditivo Negativo
VPP	Valor Preditivo Positivo

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO 18
1.1. LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA 18
1.2. BASES DA TERAPÊUTICA 20
1.3. DETERMINAÇÃO DO RISCO DE RECAÍDA NO PACIENTE COM LPA 24
1.4. MODELOS ECOLÓGICOS EM ONCOLOGIA 25
1.5. MODELOS MATEMÁTICOS EM LEUCEMIA 26
4. MÉTODO 29
4.1. DESENHO E LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO 29
4.2. ANÁLISE DO MODELO MATEMÁTICO DE CÂNCER AVASCULAR 29
4.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DE PACIENTES 29
4.4. TAMANHO DA AMOSTRA 29
4.5. OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS 30
4.6. ANÁLISE DE SOBREVIDA 32
4.7. ANÁLISE DE VALORES DE PREDIÇÃO PARA PACIENTE DE ALTO RISCO .. 32
4.8. AVALIAÇÃO DO VALOR PREDITIVO DOS CRITÉRIOS DE RISCO DE RECAÍDA E ÓBITO PRECOCE 33
4.8.1. VALORES DE PARÂMETROS DO MODELO PARA SIMULAÇÃO 33
5. RESULTADOS 35
5.1. MODELO MATEMÁTICO DE PARA A LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA 35
5.2. ESTABILIDADE LOCAL DOS PONTOS DE EQUILÍBRIO 38
5.3. INTERPRETAÇÃO BIOLÓGICA DOS PONTOS DE EQUILÍBRIO, CONCEITO DE RETRATO DE FASE E ESTABILIDADE GLOBAL 39
5.4. DINÂMICA DO SISTEMA ECOLÓGICO 46
5.5. INCORPORAÇÃO DO TRATAMENTO DA FASE DE INDUÇÃO NO MODELO 50
5.6. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA COORTE 52
5.7. ANÁLISE DE SOBREVIDA 61
5.8. ANÁLISE DE VALORES DE PREDIÇÃO DOS CRITÉRIOS DE ALTO RISCO ... 63
5.9. AJUSTE DO MODELO AOS DADOS CLÍNICOS 64
5.9.1. VALORES DE PARÂMETROS DO MODELO PARA SIMULAÇÃO 64
5.9.2. SIMULANDO PROTOCOLOS ALTERNATIVOS DE TRATAMENTO E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E TEMPO ATÉ REMISSÃO 66
6. DISCUSSÃO 70
6.1. MODELO MATEMÁTICO DE CÂNCER AVASCULAR 70
6.2. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA COORTE 71

6.3. ANÁLISE DE SOBREVIDA 73
6.4. AJUSTE DO MODELO AOS DADOS 75
6.5. ANÁLISE DE VALOR DE PREDIÇÃO 76
6.6. AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS ALTERNATIVOS DE TRATAMENTO 78
7. CONCLUSÃO 80
8. BIBLIOGRAFIA 81

1. INTRODUÇÃO

1.1. LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

A leucemia promielocítica aguda (LPA) apresenta-se como um raro subtipo das leucemias mielóides agudas (LMA), porém distingue-se em seu curso clínico e biológico de outras LMAs. Estatísticas americanas apontam para uma incidência de aproximadamente 14 mil casos de LMA em 2012. Tem uma discreta predileção pelo sexo masculino, com idade mediana de 66 anos ao diagnóstico. Em relação à LPA, esta é responsável por 7% a 8% dos casos de LMA em adultos, com uma mediana de idade menor, de 47 anos ao diagnóstico. Em populações latino-americanas, pode representar 20% de todas as LMA. É relativamente incomum em crianças e já foram descritas relações com população hispânica e obesidade, porém, tais relações necessitam de maior fundamentação. Geralmente não é precedida de doença mielodisplásica mas pode ser secundário a tratamentos realizados previamente (GREER; ARBER; RODGERS, 2014; REGO; JÁCOMO, 2011).

Uma característica morfológica da LPA é dada pela infiltração da medula óssea por promielócitos, tornando-a hipercelular. Observam-se células com núcleo retorcido, dobrado sobre si, presença de abundante granulação citoplasmática e *bastonetes de Auer*, podendo ser encontrados em sangue periférico, eventualmente associado à trombocitopenia secundária a agregados plaquetários. A detecção da mieloperoxidase produzida pelos promielócitos anormais pode auxiliar no diagnóstico. A existência de subtipos morfológicos da LPA pode dificultar o diagnóstico, podendo-se contar com a análise de imunofenotipagem na tarefa investigatória (análise da expressão de CD33, HLA-DR, CD9, CD34, CD13 e outros). A avaliação de outros parâmetros em sangue periférico auxilia na detecção de complicações associadas à leucemia, como distúrbios eletrolíticos e insuficiência renal (GREER; ARBER; RODGERS, 2014).

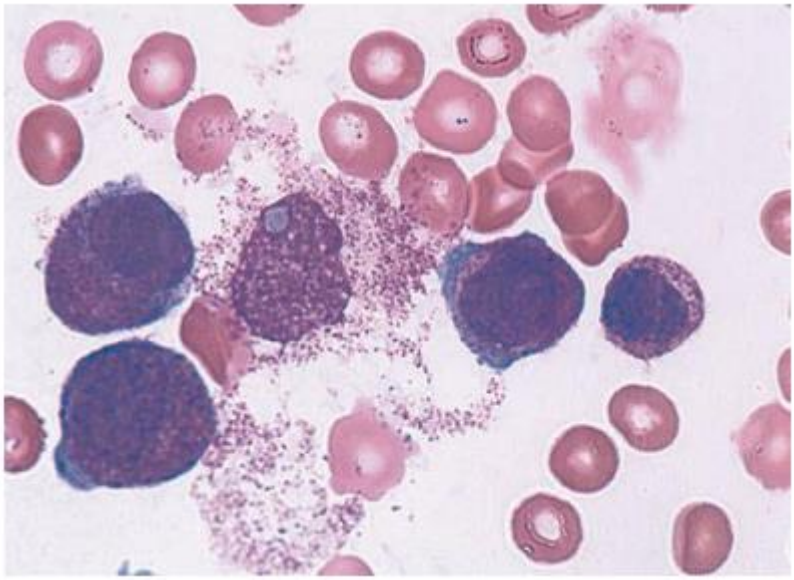

Figura 1: Leucemia promielocítica aguda “clássica”, caracterizada por promielócitos intensamente granulados com bastonetes de Auer em abundância (adaptado de Wintrobe’s clinical hematology 14 Ed.).

Apresenta como característica genotípica a translocação balanceada t(15;17)(q24.1;q21.1); PML-RARα, sendo altamente específica para a LPA, presente em 95% dos casos. Apesar do ponto de quebra do gene RAR ser invariável, a quebra no gene PML pode ocorrer em 3 pontos diferentes, gerando três possíveis isoformas do transcrito. Há correlação da isoforma mais curta com pior prognóstico. Outras aberrações cromossômicas podem ser encontradas nos portadores da LPA, como trissomia do 8, isocromossomo 17, FLT3-ITD, algumas com possíveis consequências biológicas e clínicas (GREER; ARBER; RODGERS, 2014).

A hipótese oncogenética atualmente sustentada teoriza que há uma desregulação transcricional na diferenciação mielóide causado pelo produto do gene PML-RARα. Essa desregulação é resultado de acetilações (estas moduladas, por exemplo, pelo ácido retinóico) em regiões que transcrevem genes fundamentais no citado processo de diferenciação (GREER; ARBER; RODGERS, 2014).

Pacientes portadores da LPA geralmente apresentam sintomas associados a complicações das citopenias. A patologia apresenta-se quase sempre associada a evidências clínicas ou laboratoriais de coagulação intravascular disseminada (CIVD) e fibrinólise secundários à lise dos promielócitos anormais, que podem desencadear coagulopatias ameaçadoras à vida. Assim, é imperativa a contagem de plaquetas, avaliação de tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPA), d-dímeros ou produtos da degradação da fibrina, e

fibrinogênio para o correto manejo clínico dos portadores da LPA (GREER; ARBER; RODGERS, 2014).

1.2. BASES DA TERAPÊUTICA

Sem tratamento, a LPA é a apresentação mais grave dentre as LMAs, com sobrevida média inferior a um mês. Porém, devido aos novos tratamentos, a LPA está associada com a maior proporção de pacientes curados. O correto manejo destes pacientes, através do estabelecimento de uma rede de colaboração internacional, por exemplo a *International Consortium on Acute Promyelocytic Leukemia* (IC-APL), posteriormente renomeado como ICAL (*International Consortium on Acute Leukemia*), conseguiu reduzir a mortalidade precoce em quase 50% e melhorar a sobrevida global em 30% quando comparado com controles históricos. Ainda assim há mortalidade peri-indução, fortemente relacionada às coagulopatias. Trombopatias também podem ocorrer, mas de maneira bem menos frequente. (GREER; ARBER; RODGERS, 2014; REGO et al., 2013).

Quanto ao tratamento da LPA, diferentemente da abordagem mieloaplásica utilizada em outras LMAs, este se baseia no uso do ácido transretinóico total (ATRA) e do trióxido de arsênico (ATO), agentes indutores da diferenciação celular e apoptose. O tratamento, porém, herda do manejo das outras LMAs o uso de antracíclicos para populações selecionadas (GREER; ARBER; RODGERS, 2014).

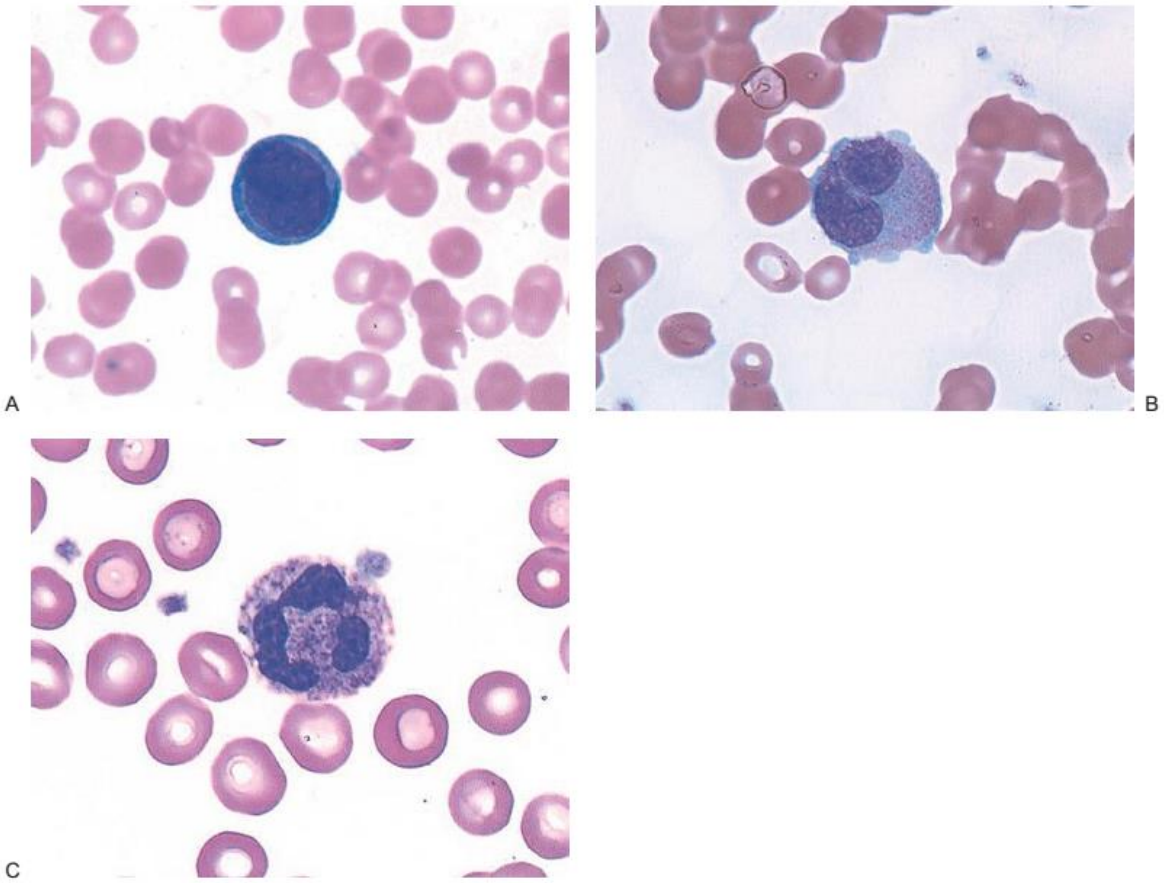

Figura 2: Progressão morfológica durante terapia com ATRA. A: Promielócito anormal em sangue periférico anterior à terapia. Paciente portador da variante hiperbasofílica com núcleos retorcidos B: Aproximadamente após 14 dias de terapia. A célula apresenta características promielocíticas e de granulócitos maduros. C: Aproximadamente após 30 dias de terapia. Apenas pequenas alterações são observadas. (Adaptado de Wintrobe's clinical hematology 14 Ed.).

Os antracíclicos, dentre os quais podemos mencionar a doxorrubicina e a daunorrubicina como pioneiros, são agentes classificados como inibidores da topoisomerase II, atuando aprisionando os complexos de clivagem topoisomerase II desta enzima. Podem ser classificados como intercaladores de DNA (ácido desoxirribonucleico) ou não intercaladores de DNA. Particularmente, os primeiros, a partir de certa concentração, bloqueiam a formação dos complexos de clivagem através da intercalação no DNA e desestabilizam sua ligação à topoisomerase II. Desta forma, essa classe de drogas leva a um mau funcionamento de mecanismos de desconcatenação e replicação do DNA, bem como em sua transcrição. Tem como característica importante a toxicidade cardíaca, que pode limitar ou desfavorecer sua utilização. Outros agentes como idarrubicina e citarabina são utilizados em alguns protocolos (JR; LAWRENCE; ROSENBERG, 2015).

O ATRA atua induzindo a maturação de promielócitos, ligando-se a um ou mais receptores nucleares no gene RAR translocado para reduzir a proliferação e induzir a diferenciação em células de LPA. Tem como principais toxicidades febre, dispneia, infiltrado pulmonar (síndrome do ácido retinóico), cefaleia, alterações neurológicas e hepáticas (GREER; ARBER; RODGERS, 2014).

O ATO tem papel importante no tratamento da LPA devido sua função de degradação de uma proteína que é produto da fusão PML-RAR, interagindo com grupos tióis nas células. Apresenta como principais toxicidades a síndrome de diferenciação da LPA, arritmia, náusea e fatiga (GREER; ARBER; RODGERS, 2014).

Ensaios clínicos desenvolvidos por grupos europeus e australianos demonstraram altas taxas de remissão completa e uma grande sobrevida livre de recaída, sendo que protocolos contendo a droga foram adotados como padrão em países desenvolvidos (ESTEY et al., 2006; ILAND et al., 2012; LO-COCO et al., 2013).

Em abordagem proposta pelo grupo PETHEMA/HOVON, induz-se a remissão da doença com terapia baseada em antracíclicos e ATRA. Após atingida a remissão segue-se a fase de consolidação, também baseada em ATRA e antracíclicos, porém as drogas e posologias utilizadas dependem do grupo de risco do paciente. Os pacientes que, ao final da fase de consolidação testam negativo para a mutação PML-RARα são conduzidos à fase de manutenção, baseado em ATRA mais mercaptopurina oral ou metotrexato oral ou intramuscular por dois anos. Nesta abordagem não foi utilizado o ATO (SANZ et al., 2015).

Apesar dos bons resultados, os custos envolvendo o ATO tornam o seu uso quase proibitivo em países em desenvolvimento. Nesse contexto surge o estudo ICAL, iniciativa do Comitê de Membros Internacionais da *American Society of Hematology* (ASH), que organizou uma rede de institutos na América Latina e desenvolveu protocolos de diagnóstico, tratamento e suporte aos pacientes, adaptados à realidade desses países (REGO et al., 2013).

Especificamente no caso dos pacientes que seguiram o protocolo ICAL, em linhas gerais, pacientes de 15 a 75 anos de idade com diagnóstico de APL foram submetidos à terapia de indução com ATRA por via oral na dose de 45mg/m^2/dia fracionada em duas doses até remissão completa ou no máximo 90 dias, associado a daunorrubicina por via endovenosa na dose de 60 mg/m^2/dia nos dias 2, 4, 6 e 8 de tratamento. Aqueles pacientes que atingirem a remissão completa seguem para a fase de consolidação, em esquema mensal, a depender da classificação

de risco de recaída para o paciente. Algumas propostas de classificação de risco de recaída são apresentadas mais a frente. Neste protocolo, pacientes de baixo risco recebem daunorrubicina na dose de 25 mg/m^2/dia em infusão endovenosa nos dias 1, 2, 3 e 4 associado a ATRA, 45 mg/m^2/dia, via oral fracionada em 2 doses do dia 1 a 15. O segundo ciclo consiste em mitoxantrona, 10 mg/m^2/dia em infusão intravenosa rápida nos dias 1, 2 e 3 associado a ATRA, 45 mg/m^2/dia via oral fracionado em 2 doses nos dias 1 a 15. O terceiro e último ciclo consiste em daunorrubicina, 60 mg/m^2/dia em infusão intravenosa em um apenas um dia, associado a ATRA, 45 mg/m^2/dia, via oral fracionada em 2 doses do dia 1 a 15. Para o paciente de risco intermediário, há incremento da dose de daunorrubicina no primeiro ciclo da consolidação (de 25 para 35 mg/m^2/dia) e no último ciclo (60 mg/m^2/dia em infusão intravenosa nos dias 1 e 2). Finalmente, para o paciente de alto risco as doses de daunorrubicina retornam aos valores dos pacientes de baixo risco, porém, no primeiro ciclo de consolidação, associa-se Ara-C (citarabina) na dose 1000 mg/m^2/dia em infusão em 6 horas nos dias 1, 2, 3 e 4. No terceiro ciclo associa-se o Ara-C na dose de 150 mg/m^2 a cada 8 horas, subcutâneo, nos dias 1, 2, 3, 4. Completando o protocolo, a fase de manutenção que se segue à consolidação consiste em 6-Mercaptopurina, 50 mg/m^2/dia, via oral, começando um mês após a recuperação hematológica do final da consolidação, associada a Metotrexato, 15 mg/m^2 semanalmente, intramuscular ou via oral, começando um mês após a recuperação hematológica da última consolidação. Este tratamento deve ser mantido por dois anos. Além disso segue-se o uso de ATRA, 45 mg/m^2/dia, via oral, por 15 dias a cada três meses até completar um período de 2 anos. O primeiro curso de manutenção deve começar três meses após completada a terceira consolidação. Ajustes com relação à idade do paciente, recuperação medular e intercorrências hematológicas também são considerados no protocolo (REGO et al., 2013).

O seguinte fluxograma resume o protocolo de tratamento ICAL:

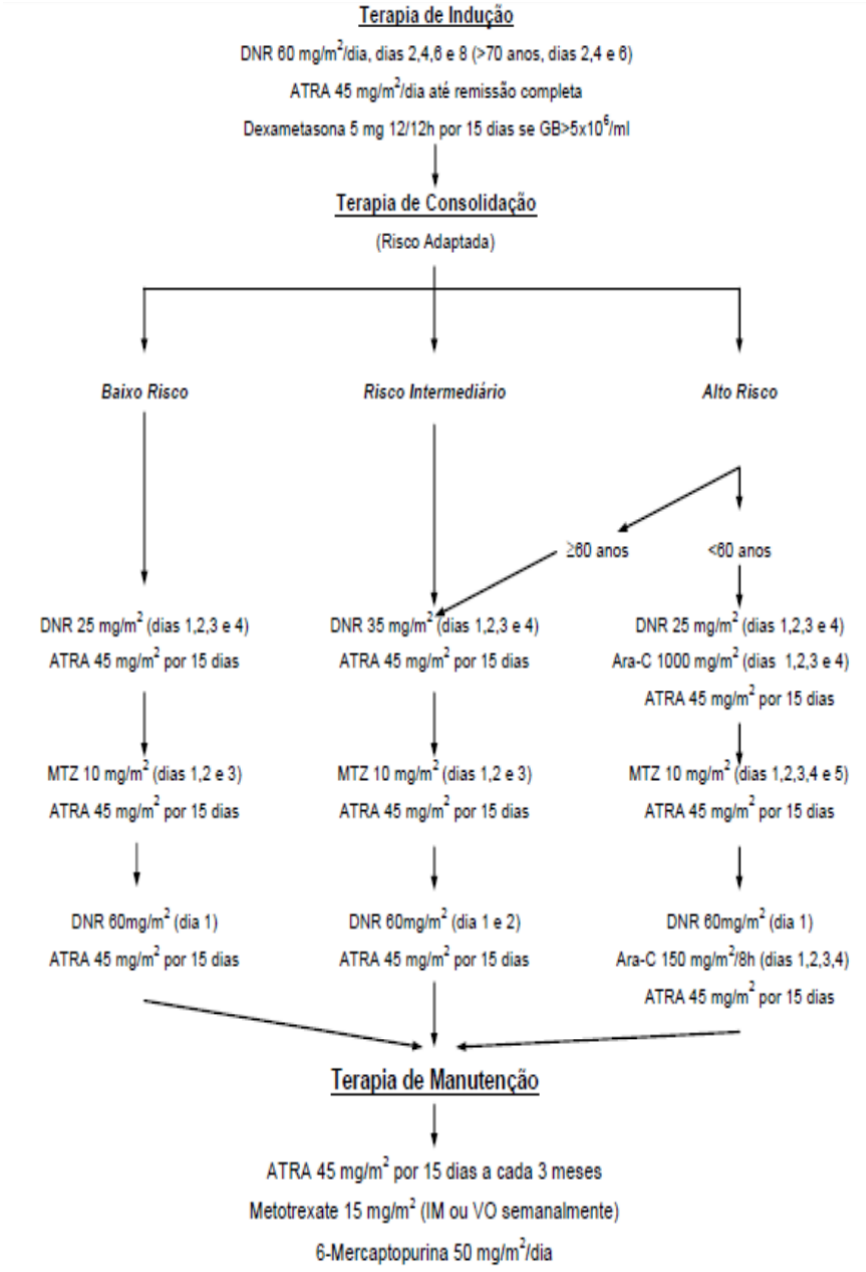

Figura 3: Protocolo de tratamento ICAL risco adaptado. DNR: daunorrubicina; GB: contagem de glóbulos brancos em sangue periférico; MTZ: mitoxantrona.

1.3. DETERMINAÇÃO DO RISCO DE RECAÍDA NO PACIENTE COM LPA

A determinação do risco de recaída na LPA tem sido objeto de vários estudos. Classicamente, utiliza-se a contagem inicial de leucócitos e plaquetas em sangue periférico, baseado em um estudo publicado pelos grupos PETHEMA e GIMEMA, onde o desfecho de 217 pacientes foi analisado. Estabeleceu-se então, com base em análise de regressão multivariável, três grupos de risco: alto, intermediário e baixo risco. Baixo risco era definido por uma contagem de leucócitos menor ou igual a $10x10^9$/L e contagem de plaquetas acima de

$40x10^9$/L. Risco intermediário, por sua vez, era determinado por uma contagem de leucócitos menor ou igual a $10x10^9$/L e contagem de plaquetas menor ou igual a $40x10^9$/L. Finalmente, alto risco era definido por uma contagem de leucócitos acima de $10x10^9$/L. Uma revisão da proposta anterior classifica os pacientes em dois grupos de risco, dependendo apenas da contagem de leucócitos: acima de 10 mil células por microlitro o paciente é considerado de alto risco, abaixo disso, considerado baixo risco (SANZ et al., 2000, 2010, 2015).

Tal estratificação é importante pois orienta a conduta terapêutica. Protocolos de tratamento sugeridos pela *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) e *European Society for Medical Oncology* (ESMO) e o próprio ICAL citado previamente são exemplos de alguns que utilizam esta estratificação para orientar qual o melhor esquema de tratamento para o paciente. Porém, a utilização do número de leucócitos como único parâmetro, bem como o valor de corte, não são consenso. *Hetch et al.* avaliaram a influência de marcadores moleculares no risco de pacientes com LPA, reconhecendo sua importância, porém reafirmando o papel fundamental do número de leucócitos bem como a sua dinâmica (HECHT et al., 2015).

Liu et al. realizaram uma análise retrospectiva dos desfechos de pacientes com LPA, identificando como fatores de pior prognóstico a presença de diminuição nos níveis de fibrinogênio, coagulopatia e uma contagem de leucócitos superior a 4 mil por microlitro. Vários outros autores propuseram outros valores limites para a contagem de leucócitos como levando a um pior prognóstico, como 5 mil e 2 mil (LIU et al., 2011).

É possível conjecturar que a contagem inicial de leucócitos em sangue periférico como único parâmetro considerado na estratificação de risco inicial não é suficiente. A dinâmica, isto é, a forma como essa contagem de leucócitos varia com o tempo, também deve ser levada em conta.

1.4. MODELOS ECOLÓGICOS EM ONCOLOGIA

A importância das análises matemáticas na pesquisa científica é inquestionável. Pode-se citar a otimização do desenho de ensaios clínicos como proposto por *Colli et al.* e a proposição de esquemas ótimos de tratamento, como proposto por *Werner et al.*, etc. (COLLI et al., 2016; WERNER et al., 2014). Porém nem sempre é simples transportar essas análises para a prática clínica.

Uma possível maneira de se abordar o comportamento de uma patologia no organismo de pacientes se dá através de modelos ecológicos. Tais modelos baseiam-se na representação de

populações celulares, possíveis interações inter e intrapopulacionais, efeitos ambientais, migratórios, entre outros, e como tais fatores interferem na dinâmica dessas populações. Modelos matemáticos podem ser utilizados para representar estes sistemas ecológicos. Particularmente, sistemas de equações diferenciais são frequentemente utilizados. Pode-se apontar como pioneiro nesta área de estudo o matemático austro-americano *Alfred James Lotka*, devido ao modelo proposto no início do século XX. Contemporaneamente, e de forma independente, a mesma abordagem foi proposta pelo matemático italiano *Vito Volterra*. Dessa forma, este conjunto de equações diferenciais ficou conhecido como Modelo de *Lotka-Volterra*, ou modelo "predador-presa". Neste modelo, a interação entre duas populações, uma de presas e outra de predadores, é descrita de tal forma que, ao se aumentar a população de presas, aumenta-se a disponibilidade de alimento para os predadores. Este fato diminui o efeito da restrição alimentar que limita o crescimento dos predadores, fazendo com que sua população aumente. Eleva-se, então, a probabilidade de que predadores capturem presas, implicando em uma diminuição de sua população. Esta diminuição tem como resultado uma menor disponibilidade alimentar para os predadores, diminuindo sua população. Por consequência, eleva-se a probabilidade de sobrevivência e procriação das presas, aumentando sua população. Observa-se um comportamento cíclico das populações, porém certas premissas e condições iniciais devem ser respeitadas e o modelo prevê comportamentos incompatíveis com a realidade (como o crescimento ilimitado da população de presas caso a de predadores vá à zero). Apesar de suas limitações, este modelo motivou o desenvolvimento de outros modelos mais complexos, sempre na tentativa de capturar de maneira cada vez mais fidedigna o comportamento biológico observado. (POMPÊO, 1999).

1.5. MODELOS MATEMÁTICOS EM LEUCEMIA

Vários autores já propuseram modelos baseados em equações diferenciais para descrever o comportamento dinâmico da leucemia. *Rubinow e Lebowitz* propuseram um modelo multicompartimental baseado em três populações celulares, obtendo resultados de simulações condizentes com observações experimentais, porém reconhecendo que seria necessário um refinamento do modelo para resultados mais fidedignos (RUBINOW; LEBOWITZ, 1976).

Entendendo que a leucemia abriga um espectro de doenças de comportamentos variados, *Afenya* propôs um modelo específico para as LMAs, baseando-se em hipóteses semelhantes às utilizadas por *Rubinow e Lebowitz*, porém valendo-se de duas populações de células: uma população de células normais e uma população de células leucêmicas, novamente obtendo

resultados interessantes, inclusive incorporando o efeito de tratamentos quimioterápicos (AFENYA, 1996).

Tais resultados motivaram a proposição de modelos mais sofisticados, considerando cada vez mais fatores intrínsecos e extrínsecos às populações, porém, ao se aumentar a complexidade do modelo aumenta-se a complexidade de sua análise, dificultando sua utilização da prática clínica (AFENYA; BENTIL, 1998; BOUIZEM et al., 2015).

No caso da LPA, por se tratar de doença rara, grandes ensaios prospectivos aleatorizados, controlados, cegados, são de muito difícil execução. Novas propostas terapêuticas precisam ser muito bem selecionadas antes de testadas. Assim, seria de extrema relevância obter, a partir de um modelo da doença, informações de relevância clínica, como risco de recaída, esquema ótimo de tratamento entre outros, possibilitando um tratamento mais adequado, maximizando resposta e minimizando toxicidades.

2. HIPÓTESE

É possível obter um modelo matemático que represente a dinâmica populacional de leucócitos normais e leucêmicos em um paciente com LPA.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GERAL

Obter um conjunto de equações diferenciais ordinárias que, ajustado a parâmetros clínico-laboratoriais, permita determinar a dinâmica dos leucócitos em sangue periférico de pacientes com leucemia promielocítica aguda.

3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Propor um modelo matemático que capture a dinâmica dos leucócitos em sangue periférico do paciente com LPA;
- Incorporar o tratamento da fase de indução ao modelo;
- Ajustar o modelo matemático aos dados recuperadas dos pacientes pesquisados;
- Propor aplicações para os resultados obtidos pelo modelo.

4. MÉTODO

4.1. DESENHO E LOCAL DE REALIZAÇÃO DO ESTUDO

Trata-se de estudo observacional, analítico e retrospectivo, realizado com dados clínico-laboratoriais de pacientes tratados no serviço de hematologia do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto (HCRP). A pesquisa aos registros médicos físicos e eletrônicos dos pacientes foi realizado no ambiente do Serviço de Arquivo Médico (SAME) do HCRP. Os estudos matemáticos e simulações computacionais foram realizados no Instituto de Matemática e Computação da Universidade Federal de Itajubá.

4.2. ANÁLISE DO MODELO MATEMÁTICO DE CÂNCER AVASCULAR

Estudou-se o modelo proposto por Fassoni, baseado em um conjunto de equações diferenciais definidas no plano, considerando a dinâmica de uma população de células não-neoplásicas (saudáveis) e uma população de células neoplásicas (leucêmicas)(FASSONI, 2016).

4.3. CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO DE PACIENTES

Os critérios de inclusão são:

- Pacientes com diagnóstico confirmado de Leucemia promielocítica aguda do HCRP incluídos na base de dados do ICAL e que possuam dados de prontuário no SAME do referido hospital;

Os critérios de exclusão são:

- Não apresentação de algum aspecto do critério de inclusão.
- Pobreza de dados clínicos ou ausência de dados referentes à condição patológica de estudo nos arquivos médicos.

4.4. TAMANHO DA AMOSTRA

Posto o fato de a doença ser rara e do evento de interesse (recaída) ser mais raro ainda após a incorporação dos novos tratamentos, levando a um tamanho amostral naturalmente pequeno, optou-se por recrutar todos os pacientes relacionados na base de dados do ICAL que realizaram o tratamento no HCRP.

4.5. OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS

Resgatou-se dados demográficos, clínicos e laboratoriais de pacientes que satisfizeram os critérios de inclusão através de pesquisa em dados de prontuário físico e eletrônico no SAME do HCRP. Incluiu-se na pesquisa desde o primeiro paciente registrado no banco de dados do ICAL (fevereiro de 2007) até a última entrada registrada (outubro de 2017). A utilização dos dados foi submetida à apreciação ética e aprovado por Comitê de Ética em Pesquisa devidamente credenciado junto ao Conselho Nacional de Ética em Pesquisa, sob Certificado de Apreciação Ética número 66129717.1.0000.5440. Dados clínicos e laboratoriais foram obtidos e registrados em formulário próprio, transcritos para uma planilha eletrônica e então analisados. A definição de quais dados laboratoriais e clínicos a serem colhidos baseou-se na análise dos estudos previamente apresentados na introdução deste trabalho e na disponibilidade de informações nos prontuários dos pacientes. A compilação de dados e relatórios descritivos foram realizados no *software* Microsoft Excel® 2016. Os cálculos estatísticos e atuariais foram realizados no *software* MedCalc® versão 12.5.0.0. A implementação das simulações do modelo foi realizada no *software* Mathematica versão 11.2®. Segue a descrição dos dados recuperados:

- Iniciais do nome;
- Registro hospitalar;
- Nome da instituição;
- Sexo;
- Idade ao diagnóstico;
- Data do diagnóstico;
- Data de nascimento;
- Risco inicial de recaída pelo critério PETHEMA/GIMEMA;
- Peso (média dos valores registrados na primeira internação, em quilogramas);
- Evento de sangramento (sim ou não) e data de ocorrência;
- Remissão hematológica confirmada em mielograma (sim ou não) e data de ocorrência;
- Remissão molecular confirmada em exame de detecção do gene PML-RARα (sim ou não) e data de ocorrência;
- Recaída – hematológica confirmada em mielograma ou molecular com detecção positiva do gene PML-RARα (sim ou não) e data de ocorrência. Considerou-se tanto recaída hematológica quanto molecular no mesmo desfecho;

- Fase do tratamento de ocorrência da recaída (indução, consolidação ou manutenção);
- Fase do tratamento de ocorrência do óbito (indução, consolidação ou manutenção);
- Evento toxicidade devido tratamento (sim ou não) e tipo de toxicidade.
- Data da última consulta;
- Hemoglobina – g/dL;
- Hematócrito – %;
- Leucócitos /mm^3;
- Neutrófilos / mm^3;
- Linfócitos / mm^3;
- Basófilos /mm^3;
- Monócitos / mm^3;
- Eosinófilos / mm^3;
- Promielócitos + Blastos / mm^3;
- Plaquetas x 1,000 / mm^3;
- INR – índice internacional normalizado;
- TTPa – razão;
- D-Dímeros – ng/mL (considerou-se o valor “10” quando resultado do exame laboratorial se apresentava como “>10”);
- Fibrinogênio – mg/dL (considerou-se o valor “50” quando resultado do exame laboratorial se apresentava como “<50”);
- Albumina – g/dL;
- Creatinina – mg/dL.

Não foi registrada a ocorrência de transfusão de hemoderivados ou uso de quaisquer terapias com intuito de correções hematimétricas.

Optou-se por uma frequência maior de coleta de dados na primeira semana (0-7 dias) após diagnóstico, e depois aumentar o intervalo de coleta (14, 21 e 28 dias), adaptando-se para dias próximos a esses marcadores que oferecem mais informações laboratoriais (por exemplo, se para um dado paciente, no 21º dia após o diagnóstico, não foram solicitados exames laboratoriais, porém foram solicitados no 22º dia, os dados do 22º foram utilizados).

Para as simulações, os valores das populações foram obtidos através de hemogramas completos realizados pelos pacientes, onde foram definidas as seguintes quantidades:

- Tempo (em horas): tempo em horas da realização do exame a partir do momento do diagnóstico;
- N (em células): quantidade total de células normais em sangue periférico, considerando-se células normais a soma das populações de neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, basófilos e monócitos, multiplicado por 4760 (considerando-se volume de sangue periférico de 4,76 litros em um adulto de 70 kg) (RUBINOW; LEBOWITZ, 1975);
- A (em células): quantidade total de células leucêmicas em sangue periférico, considerando-se células leucêmicas a subtração da população de células normais do número total de leucócitos, multiplicado por 4760. Se o valor obtido na subtração fosse negativo, adotou-se o valor ZERO para essa variável.

A necessidade desse método de estimação para os valores das populações de N e A advém do fato que o exame de hemograma completo muitas vezes é incapaz de detectar especificamente a população de células leucêmicas, logo a quantificação dessa população muitas vezes não é apresentada no resultado do exame.

Para os pacientes apresentado toxicidade cardíaca registrado em prontuário pela equipe de atendimento, foi resgatado o valor da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) em aferição bidimensional (independentemente do método) do primeiro ecocardiograma realizado após o diagnóstico e do último ecocardiograma realizado.

4.6. ANÁLISE DE SOBREVIDA

Realizou-se a análise das curvas de sobrevida global e sobrevida livre de recaída da população da amostra através da metodologia de Kaplan-Meier. Também foram ajustadas curvas contemplando os grupos de risco PETHEMA/GIMEMA.

4.7. ANÁLISE DE VALORES DE PREDIÇÃO PARA PACIENTE DE ALTO RISCO

Realizou-se análise de valor de predição para o risco de recaída. Adicionalmente, realizou-se análise de valor de predição para o risco de óbito precoce. Entende-se como recaída um resultado positivo para células leucêmicas no mielograma ou resultado positivo da detecção do gene PML-RARα após obtida a remissão hematológica do paciente. Entende-se como óbito

precoce o óbito que ocorre antes de obtida a remissão hematológica do paciente. Avaliou-se os critérios de estratificação de risco PETHEMA/GIMEMA e o critério de avaliação que utiliza apenas a contagem inicial de leucócitos, no intuito de estabelece valores preditivos positivo e negativo para o paciente de alto risco de recaída, na população da amostra.

4.8. AVALIAÇÃO DO VALOR PREDITIVO DOS CRITÉRIOS DE RISCO DE RECAÍDA E ÓBITO PRECOCE

A partir dos dados clínico-laboratoriais dos pacientes calculou-se o Valor Preditivo Negativo (VPN) para a recaída no grupo de alto risco. Adicionalmente, realizou-se análise de valor de predição para o risco de óbito precoce.

4.8.1. VALORES DE PARÂMETROS DO MODELO PARA SIMULAÇÃO

Os valores de parâmetros fixos que serão utilizados baseiam-se naqueles apresentados nos trabalhos seminais de *Rubinow* e *Lebowitz*, já utilizados por outros autores, vide tabela abaixo (RUBINOW; LEBOWITZ, 1975, 1976):

Tabela 1: Parâmetros fixos do modelo para fim de simulação (por mm^3 de sangue periférico).

Parâmetro	Descrição	Valor
μ_N	Taxa de morte das células normais (por dia)	2,88
r_A	Taxa de crescimento das células leucêmica (por dia)	3,8808
K_A	Capacidade de carga leucêmica (em células)	25000
μ_A	Taxa de morte das células leucêmicas (por dia)	0,6648
ρ_i	Dose de quimioterapia citotóxica (mg/m^2)	60
t_i	Dias de administração de dose de quimioterapia	2,4,6,8

Para cada um dos outros parâmetros, foi escolhido um intervalo de valores biologicamente razoável. O número de leucócitos normais na ausência de leucemia varia entre mil e 8 mil células por mm^3 (RUBINOW; LEBOWITZ, 1975). No modelo, o número é dado pela relação r_N/μ_N. Desta forma, permitiu-se que r_N variasse entre $[1000\mu_N, 8000\mu_N]$. Parâmetros β_1 e β_2 caracterizam o efeito negativo de uma população celular sobre a outra. São difíceis de determinar ou inferir da literatura, pois variam de indivíduo para indivíduo. O mesmo vale para β_3 e γ, que medem o resultado do efeito, respectivamente, do ATRA e da quimioterapia sobre os leucócitos. Através das análises preliminares das simulações, detectou-se valores razoáveis para cada um desses parâmetros, onde o modelo reproduzia o comportamento geral das populações leucocitárias, desde doenças mais brandas às mais agressivas (com ou sem recaída a longo prazo).

Obteve-se uma estimação de parâmetros específicos do modelo. Tal estimação baseia-se em um método de minimização de erros quadráticos para ajuste das curvas das soluções obtidas pelo modelo aos dados laboratoriais, regatando-se os valores de parâmetros que permitam um melhor ajuste entre solução e dados. Para cada paciente, gerou-se dez mil pontos de coordenadas $X = (r_n, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \gamma)$, aleatórios uniformemente distribuídos nos intervalos definidos. Para cada dos pontos *X* calculou-se o erro quadrático *E(X)* entre a solução do modelo e os dados clínicos, definido por

$$E(X) = \sum_{j=1}^{n_1} \left(N(t_j) + A(t_j) - L_j\right)^2 + \sum_{k=1}^{n_2} (A(t_k) - I_k)^2,$$

onde n_1, n_2, t_j e t_k correspondem ao número total de medições e aos dias de medições laboratoriais de leucócitos totais L_j e leucócitos imaturos I_k, respectivamente, enquanto $N(t_j) + A(t_j)$ e $A(t_k)$ correspondem aos valores destas grandezas, preditos pelo modelo, nos tempos considerados. Tomou-se então os cem pontos iniciais que forneciam os cem menores valores de *E(X)*, que foram utilizados como condições iniciais de um método otimização local de máxima descida. Assim, obteve-se cem pontos no espaço de parâmetros que seriam pontos de mínimo local para o erro *E(X)* e, dentre elas, tomou-se o que fornecia o menor erro dentro da **Regime II** (clinicamente relevante), seguindo a metodologia utilizada em (YANG et al., 2016).

5. RESULTADOS

5.1. MODELO MATEMÁTICO DE PARA A LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA

Clarkson e colaboradores propuseram uma visão ecológica da população de células leucêmicas e normais na LMA (CLARKSON, 1972). O modelo proposto baseia-se em algumas suposições previamente sugeridas, porém com algumas características de competição incorporadas (AFENYA; BENTIL, 1998; RUBINOW; LEBOWITZ, 1976). São elas:

1. A população de leucócitos normais no sangue periférico forma uma única população de células normais e promielócitos e mieloblastos formam uma única população de células leucêmicas. A dinâmica populacional no sangue periférico e na medula óssea são considerados equivalentes. Isso significa que o comportamento das células no sangue periférico representa o comportamento global das células. Esta simplificação pretende reduzir a complexidade do modelo e é plausível posto que a resposta clínica ao tratamento na LPA pode ser avaliada em sangue periférico (STONE et al., 1988).
2. No caso da LPA as células leucêmicas são interpretadas como formas imaturas dos leucócitos normais. Desta forma, sob os estímulos corretos, como sob o efeito do ATRA, as formas imaturas podem ser maturadas em leucócitos normais.
3. O crescimento das células normais segue um fluxo constante posto que a produção de novas células não depende diretamente do total de células vivas, mas sim das propriedades intrínsecas do organismo na manutenção da homeostase.
4. Células leucêmicas são programadas para se reproduzir indefinidamente, independentemente do controle homeostático. Assim, um crescimento dependente de densidade populacional é proposto (DE PILLIS; RADUNSKAYA; WISEMAN, 2005). O crescimento logístico foi escolhido por sua simplicidade.
5. Há uma influência negativa da população de células normais sobre as células leucêmicas e vice-versa, devido mecanismos de competição, expressão de citocinas inibitórias, interação imune etc.
6. Uma certa proporção de células normais e leucêmicas morre devido a interação com a população oposta e devido fatores naturais.
7. Visto trata-se de neoplasia não sólida, aspectos espaciais, angiogênese, hipóxia e difusão de medicamentos não serão considerados.

Considere o seguinte conjunto de equações diferenciais ordinárias autônomas assim definidas:

$$\frac{dN}{dt} = r_N - \mu_N N - \beta_1 NA, \qquad \text{(Eq. 1a)}$$

$$\frac{dA}{dt} = r_A A\left(1 - \frac{A}{K_A}\right) - \beta_2 NA - \mu_A A, \qquad \text{(Eq. 1b)}$$

onde as variáveis de estado representam duas populações celulares, uma denominada de células normais N e outra população de células neoplásicas A. A variável independente (temporal) será representada pela letra t. Por se tratar de um sistema dito autônomo, a variável tempo fica implícita nas equações. Apesar do número de células sempre assumirem valores inteiros não negativos, considerar-se-á que N e A sejam definidas como números reais não negativos. O parâmetro r_N representa a taxa total de reprodução constante da população de células normais, μ_N representa a taxa de mortalidade natural constante. Desta forma um fluxo constante de células normais é considerado, não dependendo da densidade populacional. Tal prerrogativa é amparada no fato da população de células normais ser controlada por mecanismos homeostáticos não necessariamente ligados a competição intraespecífica. Em contrapartida assume-se que a população de células neoplásicas de taxa de crescimento *per capita* r_A possua certa independência em relação à homeostase, mantendo um mecanismo autônomo de sustentação da sinalização de crescimento, situação na qual a demanda intraespecífica por recursos deve ser considerada. Desta forma, assume-se uma dependência do tipo logística, com elemento limitador dependente de um parâmetro K_A, com taxa de mortalidade natural μ_A.

Neste modelo não se considera o efeito angiogênico neoplásico. Porém, por se tratar de neoplasia não sólida, esta limitação do modelo não compromete a interpretação dos resultados para leucemia. O parâmetro β_2 compreende, de forma genérica, a resposta supressora (negativa) global das células normais sobre a população leucêmica, como ações anticrescimento tumoral, resposta imune, competição interpopulacional por nutrientes e outros fatores. De forma análoga, o parâmetro β_1 representa respostas supressoras da população leucêmica sobre a população de células normais (FASSONI, 2016). As populações são todas analisadas apenas

no compartimento do sangue periférico, sem prejuízo dos desfechos clínicos, mesmo que a medula óssea ainda possua células neoplásicas (STONE et al., 1988).

O ferramental matemático que será utilizado para analisar o modelo tem como seu precursor o matemático *Henri Poincaré* (Nancy, 29 de abril de 1854 — Paris, 17 de julho de 1912), que propôs uma análise qualitativa dos sistemas dinâmicos. Apesar de básico do ponto de vista matemático, a análise qualitativa do modelo proposto traz importantes informações, com significados clínicos relevantes. Nesta análise, o conjunto (sistema) de equações diferenciais ordinárias pode ser interpretado como um campo de vetores, cujas trajetórias são soluções do sistema. Com as ferramentas de análise, não é necessário a determinação explícita dessas soluções para obter informações sobre as mesmas.

Este conjunto de equações diferenciais definidas em (Eq.1a) e (Eq.1b) (**Sistema I**) pode ser entendido como um modelo ecológico que descreve a dinâmica das populações de células normais e leucêmicas em um paciente. A análise deste modelo permite a identificação de pontos de equilíbrio do sistema, que podem ser entendidos como situações estacionárias das populações em estudo. A análise permite afirmar que o **Sistema I** possui um ponto de equilíbrio P_0 dito trivial, definido pelas seguintes coordenadas

$$P_0 \quad = \quad \left(\frac{r_N}{\mu_N}, 0\right),$$

e até dois pontos de equilíbrio não triviais

$$P_i = (N_i, A_i) = \left(\frac{r_N}{\mu_N + \beta_1 A_i}, A_i\right), i = 1,2.$$

Aqui, A_1 e A_2 são as raízes da equação de segundo grau dada por

$$aA^2 + bA + c = 0,$$

com coeficientes

$$a = \frac{\beta_1 r_A}{K_A} > 0, \qquad b = l_A\left(\beta_1^{th} - \beta_1\right), \qquad c = r_N\left(\beta_2 - \beta_2^{th}\right),$$

onde

$$l_A = r_A - \mu_A, \qquad \beta_1^{th} = \frac{\mu_N r_A}{l_A K_A} \quad \text{e} \quad \beta_2^{th} = \frac{\mu_N}{r_N} l_A.$$

Quando A_1 e A_2 são reais, define-se $A_1 < A_2$. Satisfazendo-se condições para que existam pontos de equilíbrio P_1 e P_2 com coordenadas não-negativas (que possuem significado biológico) pela Regra dos Sinais de Descartes, resume-se os pontos de equilíbrio do **Sistema I** nos seguintes regimes:

I. Se $\beta_2 > \beta_2^{th}$ e $\beta_1 < \beta_{1,\Delta}^{th}$, o único ponto de equilíbrio com coordenadas não-negativas é o trivial P_0.
II. Se $\beta_2 > \beta_2^{th}$ e $\beta_1 > \beta_{1,\Delta}^{th}$, os três pontos de equilíbrio com coordenadas não-negativas são P_0, P_1 e P_2.
III. Se $\beta_2 < \beta_2^{th}$, os pontos de equilíbrio com coordenadas não-negativas são P_0 e P_2.

Tais regimes não contemplam as bifurcações dos pontos de equilíbrio.

O valor limite $\beta_{1,\Delta}^{th}$, definido para $\beta_2 > \beta_2^{th}$, é o valor de $\beta_1 > \beta_1^{th}$ para o qual o discriminante $\Delta = b^2 - 4ac$ assume o valor zero, sendo dado por

$$\beta_{1,\Delta}^{th} = \beta_1^{th} + 2\eta + 2\sqrt{\eta\left(\beta_1^{th} + \eta\right)},$$

com

$$\eta = r_A r_N\left(\beta_2 - \beta_2^{th}\right)/(K_A l_A^2).$$

5.2. ESTABILIDADE LOCAL DOS PONTOS DE EQUILÍBRIO

Sob certas hipóteses é possível avaliar a estabilidade local de pontos de equilíbrio. Esta informação, grosso modo, permite avaliar se soluções do **Sistema I** se aproximam ou se afastam deste ponto ao longo do tempo. Em termos do modelo ecológico, permite avaliar se as populações com valores próximos ao definido por um dado ponto de equilíbrio convergirão para estes valores ou se distanciarão destes. Há um interesse particular nos pontos de equilíbrio localmente assintoticamente estáveis (atratores), pois estes determinam “estados estáveis”, como, por exemplo, “estado de doença” e “estado de não doença”.

O procedimento para determinação da estabilidade local dos pontos de equilíbrio, em resumo, baseia-se na obtenção e análise dos autovalores associado à matriz Jacobiana (matriz de derivadas parciais de primeira ordem) do **Sistema I** aplicada aos pontos de equilíbrio, denominado *linearização*. Assume-se que as condições necessárias do **Teorema de Hartman–Grobman** são satisfeitas (TELLO, 1979).

O ponto de equilíbrio do **Sistema I** será localmente assintoticamente estável se possuir autovalores com partes reais negativas. Aplicando-se a metodologia acima descrita para o ponto P_0, observa-se que o mesmo é localmente assintoticamente estável para $\beta_2 > \beta_2^{th}$ e instável caso contrário. Isso se deve ao fato dos supracitados autovalores λ_1 e λ_2 serem da forma

$$\lambda_1 = -\mu_N \text{ e } \lambda_2 = \frac{r_N}{\mu_N}\left(\beta_2^{th} - \beta_2\right).$$

Para se avaliar a estabilidade dos pontos de equilíbrio $P_i, i = 1,2$ deve-se obter a matriz Jacobiana do **Sistema I** de forma genérica e então aplicá-la nesses pontos. Considerando-se o fato de que $l_A - \frac{r_A}{K_A}A_i - \beta_2 N_i = 0$, tem-se que a matriz Jacobiana para o ponto P_i é dada por:

$$J(P_i) = \begin{bmatrix} -\beta_1 A_i - \mu_N & -\dfrac{\beta_1}{\beta_2}\left(l_A - \dfrac{r_A}{K_A}A_i\right) \\ -\beta_2 A_i & -\dfrac{r_A}{K_A}A_i \end{bmatrix}.$$

Desde que os pontos P_i tenham coordenadas não negativas, o traço (soma dos elementos da diagonal principal da matriz) de $J(P_i)$ será sempre negativo. Assim, quando P_i tem coordenadas não negativas, ambos os autovalores de $J(P_i)$ terão partes reais negativas se o determinante de $J(P_i)$ for maior do que zero e terão sinais opostos caso contrário. Tal determinante para os pontos P_i é dado por

$$\det\left(J(P_i)\right) = A_i(2aA_i + b).$$

Como $A_1 < A_2$, para quaisquer $P_i, i = 1,2$ pontos de equilíbrio de coordenadas não negativas, tem-se que os determinantes são dados por

$$\det\left(J(P_1)\right) = -A_1\sqrt{\Delta} < 0 \text{ e } \det\left(J(P_2)\right) = A_2\sqrt{\Delta} > 0.$$

Conclui-se que P_1, por possuir o supracitado determinante menor do que zero, é um ponto de sela (localmente instável) e P_2, por possuir este determinante maior do que zero, é um ponto localmente assintoticamente estável.

5.3. INTERPRETAÇÃO BIOLÓGICA DOS PONTOS DE EQUILÍBRIO, CONCEITO DE RETRATO DE FASE E ESTABILIDADE GLOBAL

O ponto P_2 é de particular interesse, pois representa um estado de equilíbrio com existência de população de células leucêmicas e células normais. Por ser localmente

assintoticamente estável, valores de populações próximas aos valores deste ponto convergirão para o mesmo. Em termos biológicos, pode-se interpretar como um estado de doença (leucemia), onde mesmo que haja pequenas variações no tamanho das populações (condições inicias), há uma tendência de retorno ao estado de doença. De forma análoga, o ponto P_0, quando localmente assintoticamente estável, representa um estado de não doença, de saúde ou cura, abusando da linguagem.

Podemos prever um comportamento geral qualitativo do sistema, como uma fotografia de todos os comportamentos para qualquer condição inicial, através da avaliação do campo de vetores. A esta fotografia dá-se o nome de *retrato de fase*. Esta é uma ferramenta muito importante no entendimento da dinâmica das populações envolvidas no modelo. Para o **Regime I**, o retrato de fase do sistema apresenta-se como ilustrado na Figura 4.

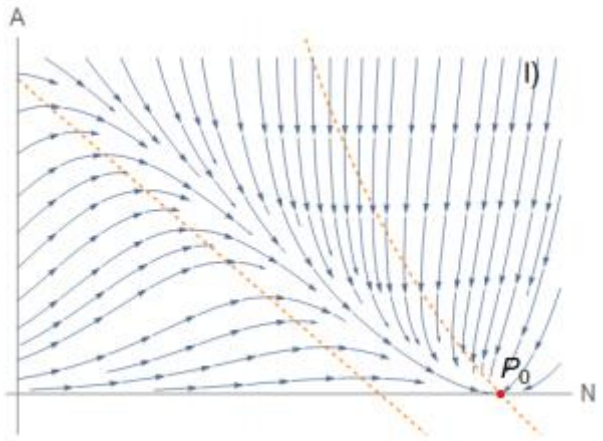

Figura 4: Retrato de fase para o **Regime I**. Observa-se que, para qualquer condição inicial das populações de células normais e leucêmicas, a população leucêmica vai à zero, caracterizando o estado de saúde do paciente. As linhas tracejadas vermelhas representam as isóclinas do retrato de fase (retirado de Fassoni, 2016).

As isóclinas representam o lugar no retrato de fase no qual o campo de vetores que representa o sistema possui uma das componentes nulas. Em outras palavras, é onde o campo é vertical ou horizontal.

É possível construir um retângulo $\boldsymbol{B}$, com dois lados contidos nos eixos coordenados, um outro lado contido na reta paralela ao eixo das abscissas, da forma (N, k_1) com $N \geq 0$ e $k_1 > 0$, com k_1 constante. O outro lado do retângulo está contido na reta paralela ao eixo das ordenadas (k_2, A) com $A \geq 0$ e $k_2 > P_{0,N}$, com k_2 constante e $P_{0,N}$ a primeira coordenada do ponto P_0. É possível mostrar que as trajetórias que entram neste retângulo não mais o deixam, tornando este retângulo (compacto) positivamente invariante. Pelo **Teorema de Poincaré-**

Bendixson, o conjunto ω-limite das trajetórias (isto é, o conjunto para onde todas as trajetórias convergirão) será um gráfico, uma órbita periódica ou um ponto de equilíbrio.

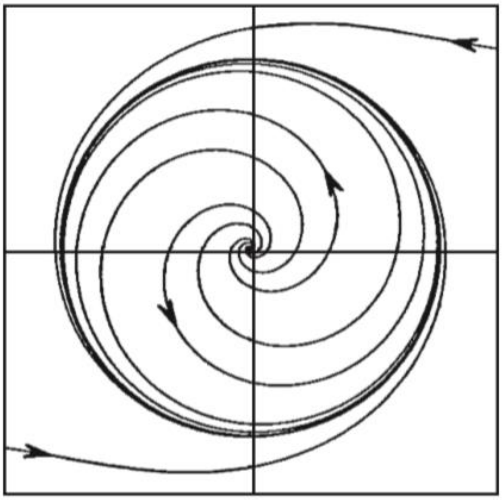

Figura 5: Exemplo de órbita periódica: Retrato de fase para $r' = \frac{1}{2}(r - r^3), \theta' = 1$. Observa-se a órbita periódica isolada estável (ciclo limite) e ponto de equilíbrio repulsor na região por ele definida. Retirado de Hirsch, Smale e Devaney, *Differential Equations, Dynamical Systems & An Introduction to Chaos*, 2ª Ed., 2004).

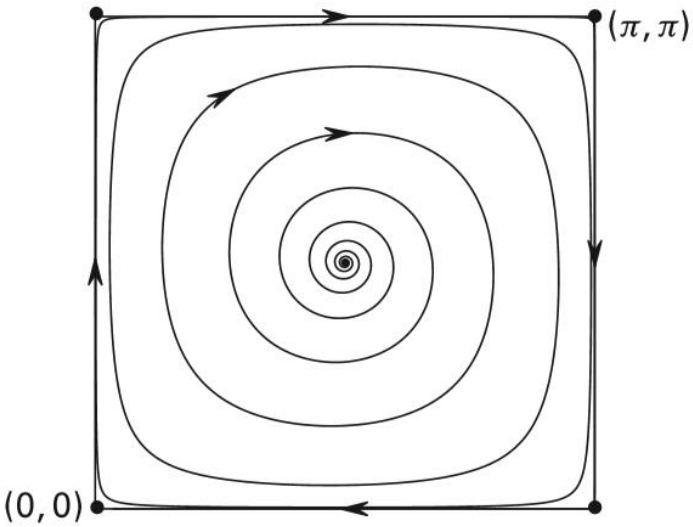

Figura 6: Exemplo de gráfico: Retrato de fase referente ao sistema $x' = \sin(-.1\cos x - \cos y), y' = \sin(\cos x - .1\cos y)$. O conjunto ω-limite de qualquer solução emanando da fonte em $(\pi/2, \pi/2)$ é o quadrado limitado pelos quatro equilíbrios e pelas soluções heteroclínicas. Retirado de Hirsch, Smale e Devaney, *Differential Equations, Dynamical Systems & An Introduction to Chaos*, 2ª Ed., 2004).

Como já foi mostrado, o **Regime I** apresenta apenas um ponto de equilíbrio (P_0). Também não possui órbitas periódicas, pois estas necessariamente precisam conter um ponto de equilíbrio na região limitada por elas. Posto que P_0 pertence a um eixo invariante (eixo das abscissas), uma órbita periódica não é possível. Isto nos permite concluir que qualquer trajetória que entre no retângulo $\boldsymbol{B}$ convergirá para o ponto de equilíbrio P_0. Como o vértice do retângulo $\boldsymbol{B}$ não pertencente aos eixos coordenados pode ser tomado arbitrário nas condições acima, poderíamos incluir todo o primeiro quadrante. Desta forma, podemos dizer que o ponto P_0 é *globalmente assintoticamente estável* no primeiro quadrante para o **Regime I**. Isso tem implicações importantes, devido ao fato do ponto de equilíbrio P_0 representar um estado de saúde. Isso pode ser interpretado como um paciente portador de mecanismos antineoplásicos competentes e uma doença pouco agressiva. Mesmo que existam processos de iniciação neoplásica, o paciente é competente em compelir a progressão da doença e a população leucêmica vai à zero, independente das condições iniciais (globalmente assintoticamente estável) (HIRSCH; SMALE; DEVANEY, 2004).

Para os **Regimes II** e **III** apresentados, o **Sistema I** permite a existência mais de um ponto de equilíbrio. Nomeemos o ponto P_2 "estado de doença" e o ponto P_0 "estado de saúde". Iniciando pelo **Regime III**, o ponto de doença P_2 é *"quase" globalmente assintoticamente estável*, exceto para um conjunto de medida nula de condições iniciais. Tomemos o mesmo procedimento utilizado no regime anterior: construamos retângulo $\boldsymbol{B}$, com dois lados contidos nos eixos coordenados. O lado paralelo ao eixo das abscissas é da forma (N, k_1) com $N \geq 0$ e $P_{2,A} < k_1$, com k_1 constante e $P_{2,A}$ a segunda coordenada do ponto P_2. O último lado do retângulo está contido na reta paralela ao eixo das ordenadas (k_2, A) com $A \geq 0$ e $k_2 > P_{0,N}$, com k_2 constante e $P_{0,N}$ a primeira coordenada do ponto P_0. É possível mostrar que as trajetórias que entram neste retângulo não mais o deixam, tornando este retângulo (compacto) positivamente invariante. De modo análogo, é possível mostrar que cada uma das regiões determinadas pelas isóclinas são positivamente ou negativamente invariantes. Novamente, pelo **Teorema de Poincaré-Bendixson**, o conjunto ω-limite das trajetórias será um ponto de equilíbrio, uma órbita periódica ou um gráfico. Neste regime, o ponto P_0 não pode pertencer ao conjunto ω-limite de condições iniciais no primeiro quadrante fora do eixo das abcissas, posto que é instável (ponto de sela). Assim, resta analisar o ponto P_2. Já sabemos que as trajetórias que entrarem no retângulo $\boldsymbol{B}$ por condições iniciais próximas a ele convergirão para ele (localmente assintoticamente estável), porém outras poderiam encontrar pelo caminho um

ciclo-limite semi-estável, no qual trajetórias se aproximam pela região externa ao ciclo e "circundam" o ponto de equilíbrio sem nunca convergir para ele. Entretanto, trajetórias internas ao ciclo-limite, tão próximo do ciclo quanto se queira, afastam-se do ciclo e migram para o ponto de equilíbrio estável. Uma outra possibilidade seria a existência de um ciclo-limite estável (trajetórias próximas aproximam-se dele) com um ciclo-limite instável em seu interior, podendo esta configuração repetir-se um número finito de vezes, finalmente contendo um ponto de equilíbrio estável em seu interior. Outros sistemas físicos podem apresentar este tipo de comportamento, portanto é importante garantir a não existência do ciclo-limite (SOTOMAYOR; MELLO; BRAGA, 2007).

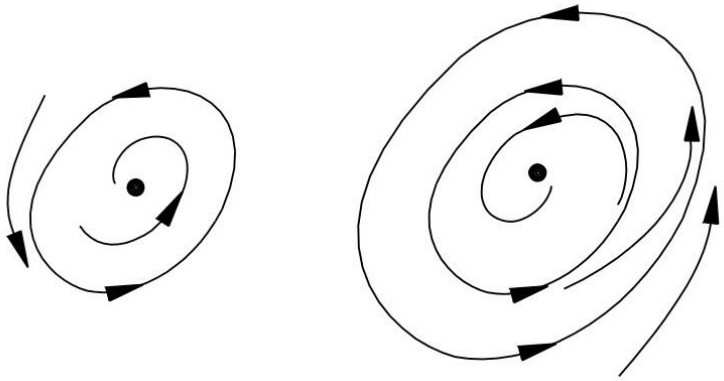

Figura 7: Exemplos e configurações de retratos de fase apresentando ciclos-limites contendo ponto de equilíbrio estável em seu interior. A esquerda, um ciclo-limite semi-estável (atrator na região externa ao ciclo e repulsor na região interna) com um ponto de equilíbrio estável em seu interior. A direita, um ciclo-limite estável contendo um ciclo-limite instável e, finalmente, um ponto de equilíbrio estável em seu interior (modificado de Sotomayor, Mello & Braga, 2007).

É possível provar a inexistência de ciclos-limites ou gráficos (pontos de equilíbrio conectados por soluções heteroclínicas) no **Regime III**, pois, se existissem, deveriam estar contidos nas regiões delimitadas pelas isóclinas, visto que essas regiões são positivamente ou negativamente invariantes (uma órbita que circunda P_2 não é possível, visto que a trajetória da órbita deveria entrar e sair de uma região para circundar o ponto de equilíbrio). Porém as trajetórias dentro destas regiões são monótonas (apontam sempre em uma direção colateral, nordeste, sudeste, sudoeste ou noroeste), impedindo a existência de órbita periódica. Assim, dentro do retângulo $\boldsymbol{B}$, o único candidato a conjunto ω-limite é o ponto P_2. Novamente, como os vértices de $\boldsymbol{B}$ não pertencentes aos eixos coordenados podem ser tomados arbitrários nas condições acima, poderíamos incluir todo o primeiro quadrante. Desta forma, podemos dizer que o ponto P_2 é *"quase" globalmente assintoticamente estável* no primeiro quadrante para o

Regime III (exceto pelo eixo das abscissas, que é a separatriz estável do ponto de sela P_0). Maiores detalhes desta demonstração podem ser obtidos na referência (HIRSCH; SMALE; DEVANEY, 2004).

Exemplo clínico seria de um paciente com mecanismos antineoplásicos ineficientes e doença agressiva: qualquer condição inicial de populações leucêmicas (diferente de zero) convergirá para uma situação de população leucêmica estável. O retrato de fase apresenta-se como na Figura 8.

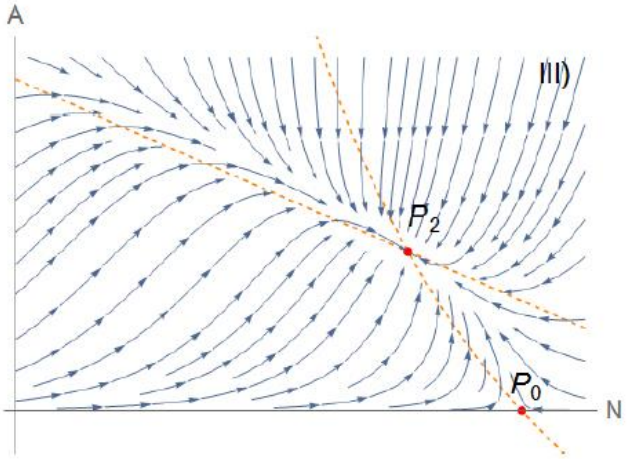

Figura 8: Retrato de fase para o **Regime III**. Observa-se que, para qualquer condição inicial não nula das populações de células normais e leucêmicas, as populações convergem para um valor estável, caracterizando o estado de doença do paciente (retirado de Fassoni, 2016).

É importante garantir que o comportamento das isóclinas representado na Figura 8 é sempre o mesmo, independentemente dos valores dos parâmetros escolhidos. Dessa forma, mostramos que este comportamento é geral, e não apenas representativo de um caso particular.

Tomemos a isóclina que representa onde o campo de vetores é vertical. O campo de vetores que representa o **Sistema I** pode ser escrito da forma $F = (F_1, F_2)$, onde F_1 representa a primeira componente do campo (Eq. 1a) e F_2 representa a segunda componente do campo (Eq. 1b). Dessa forma, para que tenhamos um campo vertical, a primeira componente do campo deve ser nula:

$$F(F_1 = 0, F_2) \Rightarrow r_N - \mu_N N - \beta_1 NA = 0 \Leftrightarrow A = (r_N - \mu_N N)/\beta_1 N.$$

Observa-se que o $\lim_{N \to 0} A = +\infty$, $A = 0 \Leftrightarrow N = r_N/\mu_N$, $dA/dN = -r_N/(N^2\beta_1)$, negativo para quaisquer valores de parâmetros não-negativos. Dessa forma, podemos concluir que a isóclina que representa onde o campo é vertical **é sempre** um gráfico da forma $A = (r_N - \mu_N N)/\beta_1 N$ que tende para o infinito quando N tende para zero, encontra o eixo das abscissas no ponto $(r_N/\mu_N\,, 0)$ e é monótona decrescente.

De forma análoga, a isóclina que representa onde o campo de vetores é horizontal (excluindo-se o eixo das abscissas) pode ser escrita da forma

$$F(F_1, F_2 = 0) \Rightarrow r_A A\left(1 - \frac{A}{K_A}\right) - \beta_2 N A - \mu_A A = 0 \Leftrightarrow A = \frac{K_A(r_A - K_A\mu_A - N\beta_2)}{r_A}.$$

Observa-se que $A = 0 \Leftrightarrow N = (r_A - \mu_A)/\beta_2$, $N = 0 \Leftrightarrow A = K_A(r_A - \mu_A)/r_A$, $dA/dN = -K_A\beta_2/r_A$, negativo para quaisquer valores de parâmetros não-negativos. Dessa forma, podemos concluir que a isóclina que representa onde o campo é horizontal **é sempre** o gráfico de uma reta da forma $A = \frac{K_A(r_A - K_A\mu_A - N\beta_2)}{r_A}$, que encontra o eixo das abscissas no ponto $((r_A - \mu_A)/\beta_2\,, 0)$, encontra o eixo das ordenadas no ponto $(0, K_A(r_A - \mu_A)/r_A)$ e tem inclinação $-K_A\beta_2/r_A$.

Desta forma, podemos garantir que a análise realizada para o **Regime III** é como descrita na Figura 8 independentemente dos valores dos parâmetros.

No **Regime II** observamos a existência de dois pontos de equilíbrio localmente assintoticamente estáveis (P_0 e P_2). Condições iniciais suficientemente próximas do estado de saúde convergirão para o ponto P_0 ao passo que condições iniciais suficientemente próximas do estado de doença convergirão para o ponto P_2. Surge um terceiro ponto P_1, de sela (instável). Pode-se interpretar este retrato de fase como uma situação onde há um equilíbrio entre os mecanismos antineoplásicos e a agressividade da doença, sendo possível que, a depender das condições inicias, o paciente possa evoluir para a cura (estado de saúde) ou para a leucemia instalada (estado de doença), vide Figura 9.

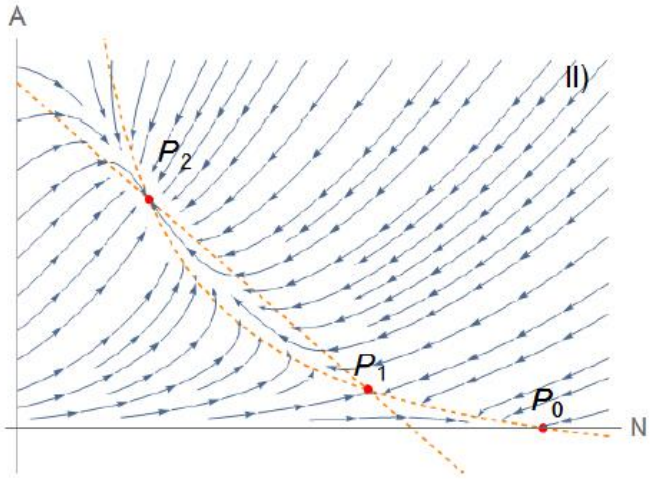

Figura 9: Retrato de fase para o **Regime II**. Observa-se que condições iniciais próximas a P_2 convergirão para este ponto ao passo que condições iniciais próximas a P_0 convergirão para este último (retirado de Fassoni, 2016).

Uma pergunta natural seria: o quão suficientemente próximo estas condições iniciais devem estar de um dado ponto de equilíbrio para que suas populações convirjam para ele? Em outras palavras, o quanto se pode se afastar do ponto de equilíbrio e ainda sim ser atraído por ele? Qual a região determinada pelas variáveis na qual condições iniciais que estejam nessa região serão atraídas para um dado ponto de equilíbrio? Eventualmente é possível determinar essa região de atração do ponto de equilíbrio assintoticamente estável, sendo esta denominada *bacia de atração* do ponto de equilíbrio assintoticamente estável. Localmente, cada ponto terá a sua bacia de atração individual. Observa-se que no **Regime II**, existe um terceiro ponto de equilíbrio P_1, instável, no qual, exceto por duas trajetórias específicas, todas as condições inicias divergem deste. Por este ponto passa a separatriz de bacias de atração, limite entre as bacias de P_0 e P_2.

5.4. DINÂMICA DO SISTEMA ECOLÓGICO

O comportamento do **Sistema I**, considerado nos três regimes apresentados, pode ser mutável, alternando-se entre os diversos regimes por perturbações nos parâmetros que modelam o sistema. Logo, é possível definir uma nova dinâmica, não apenas dos valores assumidos pelas populações ao longo do tempo, mas da própria forma como essas populações variam. Em outras palavras, é possível avaliar como o sistema varia entre os diversos regimes com a variação dos parâmetros, levando à criação, destruição e mudança de estabilidade dos pontos de equilíbrio. É possível que uma neoplasia se inicie de forma indolente **(Regime I**) porém, alterando-se os parâmetros de agressividade, se torne autossuficiente e progrida para um estado de doença. Esta

pode ser menos agressiva, que ainda permita cura (**Regime II**) ou mais agressiva, que evoluirá inexoravelmente para um estado de doença estabelecida (**Regime III**). Eventualmente, a doença indolente pode evoluir para uma doença extremamente agressiva, porém com uma menor probabilidade. É possível também que uma doença estabelecida no **Regime III**, devido a perturbações no sistema, migre para o **Regime II**, onde uma situação de cura é possível. Alterar os parâmetros de interação populacional "forçando" o sistema a um regime desejado pode ser uma intervenção terapêutica.

Uma analogia interessante para se entender a estabilidade dos pontos de equilíbrio e a dinâmica do sistema ecológico utiliza a representação do estado atual da população por pequenas bolas e o retrato de fase através de bacias e picos. Classicamente essa representação é utilizada para modelos de sistemas discretos, porém é possível extrapolar para sistemas dinâmicos contínuos. Nesta analogia, um ponto de equilíbrio assintoticamente estável estaria no fundo de uma bacia: pequenas perturbações na condição de equilíbrio (movimentação na bola) evoluirão com a bola retornando à sua posição inicial. Já um ponto de equilíbrio instável estaria localizado em um pico: pequenas perturbações na condição inicial farão com que a bola migre para uma posição mais estável (fundo de uma bacia), graficamente apresentado na Figura 10.

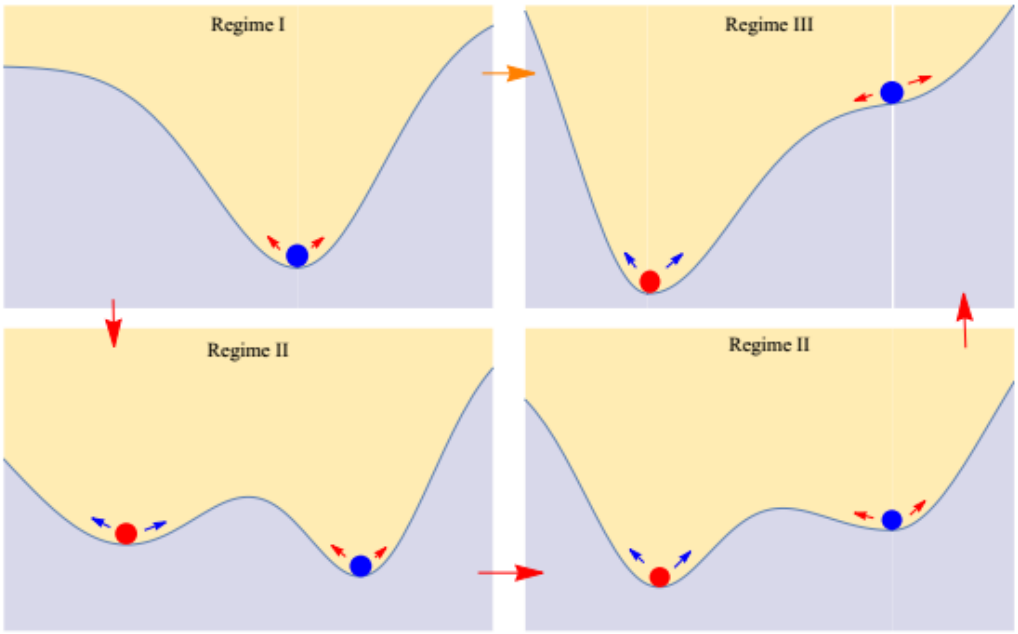

Figura 10: Uma visão ecológica do estabelecimento e tratamento de uma doença neoplásica através da alternância entre dois estados, um estado de saúde (cura) representado pela posição da bola azul, e um estado de doença, representado pela posição da bola vermelha. Perturbações nas populações por fatores pró-neoplásicos (setas pequenas vermelhas) favorecem a movimentação em direção ao estado de doença, ao passo que fatores

antineoplásicos (setas pequenas azuis) favorecem a movimentação em direção a um estado de cura. Perturbações nos parâmetros do sistema (setas grandes) levam a transições entre os três diferentes regimes (I, II e III), criam ou destroem pontos de equilíbrio ou levam a mudanças na estabilidade destes pontos (retirado de Fassoni, 2016).

Mudanças nos valores dos parâmetros do **Sistema I** podem implicar em alterações no tamanho e no formato das bacias de atração.

Pode-se entender o **Regime I** ($\beta_2 > \beta_2^{th}$ e $\beta_1 < \beta_{1,\Delta}^{th}$) como o paciente que, apesar de possuir a doença, não a manifesta clinicamente, posto que qualquer condição inicial (qualquer quantidade de células neoplásicas que deixe o compartimento medular para o sangue periférico) evoluirá para a "cura" espontaneamente. Este regime não precisa ser considerado no modelo de risco.

No **Regime II** ($\beta_2 > \beta_2^{th}$ e $\beta_1 > \beta_{1,\Delta}^{th}$), há a necessidade de determinar se a condição inicial se encontra na bacia de atração de P_2 (doença) ou P_0 (cura). No primeiro caso, este paciente pode ser entendido como risco intermediário de recaída, pois evoluirá eventualmente para o estado estável de doença. Entretanto, perturbações nas condições iniciais (pequena quantidade de quimioterapia, por exemplo) podem leva-lo à bacia de atração de P_0. Pacientes que migram da bacia de atração de P_2 para bacia de atração de P_0 ou aqueles que já se encontram nesta bacia, podem ser entendidos como pacientes de baixo risco, pois evoluirão para o estado de cura, necessitando, eventualmente, de mínimas intervenções para acelerar este processo.

O primeiro quadrante do plano real pode ser subdivido em dois subconjuntos abertos, separados por uma curva determinada pela trajetória invariante estável de P_1 (separatriz). A bacia de atração de P_2 é determinada pelo subconjunto que contém P_2.

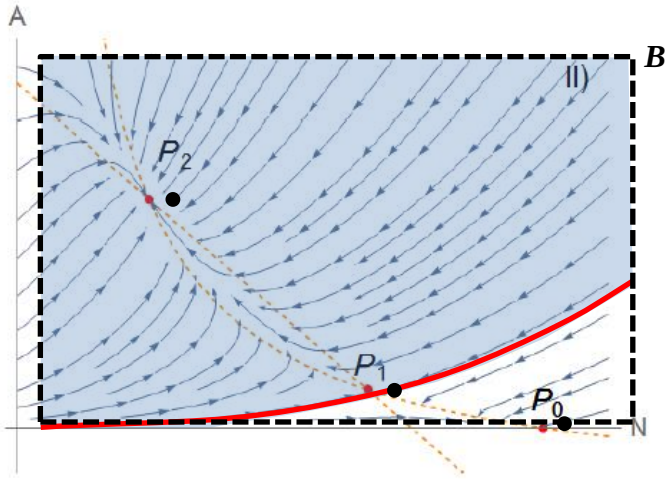

Figura 11: Separatriz e bacias de atração. A separatriz é representada pela linha sólida em vermelho e a bacia de atração de P_2 hachurada em azul. A caixa ***B*** que inclui os pontos de equilíbrio está representada pelo retângulo tracejado (modificado de Fassoni, 2016).

Na Figura 11 observa-se que a bacia de atração de P_2 encontra-se acima da separatriz. Dessa forma, para que uma dada condição inicial esteja na bacia de atração de P_2 basta que se encontre acima da separatriz. A separatriz pode ser entendida como sendo a trajetória que tem como origem ou destino o ponto de sela para um dado retrato de fase. No nosso caso particular, a separatriz estável de P_1 separa as duas bacias de atração. Dado um retângulo B que contenha os pontos de equilíbrio, a área da bacia de atração de P_2 variará com a variação da posição do ponto P_1 (mais ou menos próximo de P_2), que depende dos valores dos parâmetros.

O **Regime III** ($\beta_2 < \beta_2^{th}$) pode ser entendido como paciente com alto risco de recaída da doença, posto que o paciente evoluirá para um estado de doença independente da condição inicial. Para este paciente, seria necessário modificar qualitativamente o retrato de fase do sistema para que ele possa evoluir para um possível estado de cura.

A partir deste comportamento qualitativos dos retratos de fase dos diferentes regimes, uma interpretação clínica dos diferentes regimes pode ser sugerida:

i. Alto risco de recaída: par de parâmetros encontra-se no **Regime III** ($\beta_2 < \beta_2^{th}$);
ii. Risco intermediário de recaída: par de parâmetros encontra-se no **Regime II** ($\beta_2 > \beta_2^{th}$ e $\beta_1 > \beta_{1,\Delta}^{th}$) e na bacia de atração de P_2.
iii. Baixo risco de recaída: par de parâmetros encontra-se no **Regime II** ($\beta_2 > \beta_2^{th}$ e $\beta_1 > \beta_{1,\Delta}^{th}$) e na bacia de atração de P_0.

5.5. INCORPORAÇÃO DO TRATAMENTO DA FASE DE INDUÇÃO NO MODELO

Como mencionado anteriormente, no protocolo ICAL, a fase de indução é baseada na utilização do ATRA e da antraciclina Daunorrubicina. A função do ATRA é promover a maturação do promielócitos em leucócitos funcionais. Um estudo *in vitro* evidenciou que acima de uma dada concentração mais de 90% dos promielócitos eram convertidos em formas maduras dentro de cinco dias. Estes resultados foram posteriormente verificados *in vivo* (BREITMAN; SELONICK; COLLINS, 1980; CASTAIGNE et al., 1990; HUANG et al., 1988). Já a Daunorrubicina constitui um agente citotóxico utilizado no manejo da LPA. Sua farmacocinética depende do sistema de entrega da droga (DDS, do inglês *drug delivery system*). Há, por exemplo, a possibilidade da utilização de encapsulamento por emulsão em lipoproteínas de baixa densidade, que altera a biodisponibilidade da droga no organismo (DORLHIAC-LLACER et al., 2001). Como não há especificação sobre o uso ou não de DDS no protocolo ICAL, optamos por uma forma simplificada da ação citotóxica da droga, que age indiscriminadamente sobre a população de células normais e leucêmicas.

Desta forma, podemos implementar o efeito do tratamento ao modelo da dinâmica de populações leucocitárias. O efeito do ATRA leva uma porção da população de células leucêmicas para a população de células normais a uma taxa constante β_3. Durante o período de 30 dias da terapia de indução consideraremos a administração contínua do ATRA do dia y $t = 0$ ao dia $t = t_F = 30$, o que se aproxima à administração diária do ATRA. Com relação à quimioterapia citotóxica, o efeito considerado da Daunorrubicina é de morte instantânea da mesma proporção de células leucêmicas e normais, mantendo parte de suas propriedades citotóxicas durante o tempo de meia-vida da droga (aproximadamente 26,7 horas), descrito como uma taxa de decaimento da droga no organismo τ (PUBCHEM, [s.d.]). Quatro doses de Daunorrubicina são administradas durante a terapia de indução, com intensidade (dose) $\rho = 60$ mg/m^2 dadas nos dias $t_i = 2$, 4, 6 e 8. Assumimos uma superfície corpórea de 1,82 m^2.

Assim o modelo da LPA considerando a fase de indução pode ser representado da seguinte forma:

$$\frac{dN}{dt} = r_N - \mu_N N - \beta_1 NA + \beta_3 A\big(1 - u(t - t_F)\big) - \gamma DN, \qquad \text{(Eq.2a)}$$

$$\frac{dD}{dt} = \sum_{i=1}^{N} \rho_i \, \delta(t - t_i) - \tau D, \qquad \text{(Eq.2b)}$$

$$\frac{dA}{dt} = r_A A\left(1 - \frac{A}{K_A}\right) - \beta_2 NA - \mu_A A - \beta_3 A\big(1 - u(t - t_F)\big) - \gamma DA, \qquad \text{(Eq.2c)}$$

onde o chaveamento ligado/desligado do tratamento com ATRA é descrito como uma função degrau unitário $u(t - t_F) = 0$ se $0 < t < t_F$ e $u(t - t_F) = 1$ se $t > t_F$. As administrações das doses de quimioterapia citotóxica (ρ_i miligramas no tempo t_i) são descritos como funções Delta de Dirac $\delta(t - t_i)$.

O protocolo de indução não afeta o comportamento assintótico das soluções, posto que $\beta_3\big(1 - u(t - t_F)\big) = 0$ e $D(t) \to 0$ após o fim da terapia de indução ($t > t_F$), portanto as soluções do Sistema (Eq. 2) se aproximam das soluções do sistema (Eq.1). O papel do tratamento de indução neste contexto é mover a condição inicial das variáveis de estado $N(t)$ e $A(t)$ para regiões mais favoráveis do retrato de fase, resultando em queda do número de leucócitos leucêmicos e aumento dos leucócitos normais.

Na **Regime II**, um tratamento efetivo moveria o estado inicial do sistema de uma bacia de atração de P_2 para a bacia de atração de P_0. A intepretação clínica é de que é possível levar um paciente sob a terapia de indução com uma doença menos agressiva para um cenário de remissão sustentada da doença. Entretanto, é preciso ter em mente que o tamanho da bacia de atração de P_2 depende dos parâmetros. Assim, para cada paciente, é possível determinar a dificuldade de se deixar a bacia de atração de P_2 e migrar para a bacia de atração de P_0. Há métodos de estimação dessa dificuldade, porém tal assunto foge do propósito deste trabalho (FASSONI; YANG, [s.d.]). Por outro lado, na **Regime III**, a recaída é inevitável, a não ser que algum tipo de tratamento instaurado (por exemplo, transplante de medula óssea) seja capaz de modificar qualitativamente o retrato de fase. Tal cenário também foge do propósito deste trabalho e não será abordado.

5.6. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA COORTE

Ao total, 39 pacientes foram identificados na base de dados ICAL atendidos no serviço de Hematologia do HCRP no período estabelecido. Desses, um paciente foi excluído do estudo posto que não preenchia os critérios de inclusão (apenas realizou exames de seguimento no serviço).

A mediana do tempo de seguimento dos pacientes foi de 41,8 meses. A seguir, a tabela com a consolidação dos dados demográficos e clínicos:

Tabela 2: Dados demográficos e clínicos

Variável	Valor	Porcentagem
Idade média (em anos)	38,4±15,2	NA
Peso (em quilogramas)	73,2±12,3	NA
Sexo masculino	20	52,6%
Sexo feminino	18	47,4%
Eventos de sangramento	14	36,8%
Toxicidade relacionada ao tratamento	10	26,3%
Toxicidade cardíaca	4	10,5%
Neutropenia febril	4	10,5%
Outros	2	5,3%
Óbitos	9	23,7%
Óbitos pré-remissão	5	13,1%
Recaída hematológica ou molecular	6	15,7%
Recaída na fase de manutenção	4	10,5%
Risco inicial – critério PETHEMA/GIMEMA		
Alto Risco	9	23,7%
Risco Intermediário	26	68,4%
Baixo Risco	3	7,9%

NA: Não se aplica.

Quatro pacientes apresentaram toxicidade cardíaca registrada em prontuário. Destes, dois pacientes apresentaram cardiotoxicidade transitória, sendo que os valores de fração de ejeção de ventrículo esquerdo (FEVE) retornaram aos valores de basais ou acima do valor de referência (FEVE acima de 59%) durante o seguimento dos pacientes. Três pacientes apresentavam-se assintomáticos em sua última avaliação cardiológica e um único paciente apresentava dispneia ao repouso. Este paciente apresentava FEVE de 39% em seu último ecocardiograma. O único paciente sintomático foi classificado como baixo risco pelo critério PETHEMA/GIMENA. O quadro a seguir sumariza os dados relacionados à toxicidade cardíaca.

Tabela 3: Dados relacionados à toxicidade cardíaca.

FEVE primeiro ecocardiograma (%)	FEVE último ecocardiograma (%)	Clínica apresentada	Risco inicial PETHEMA/GIMEMA
38	39	Dispneia ao repouso	Baixo
73	18	Assintomático	Alto
73	61	Assintomático	Intermediário
70	51	Assintomático	Intermediário

A seguir, apresentamos os gráficos evolutivos referentes aos valores das variáveis laboratoriais recuperadas.

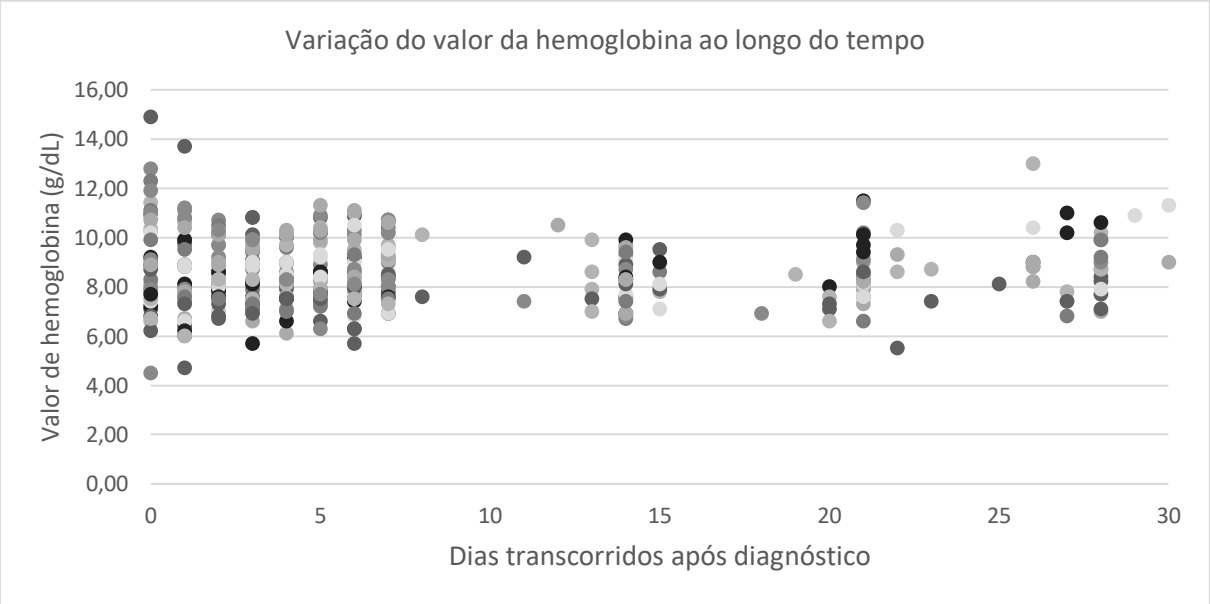

Figura 12: Variação do valor da hemoglobina sérica ao longo do tempo, por paciente.

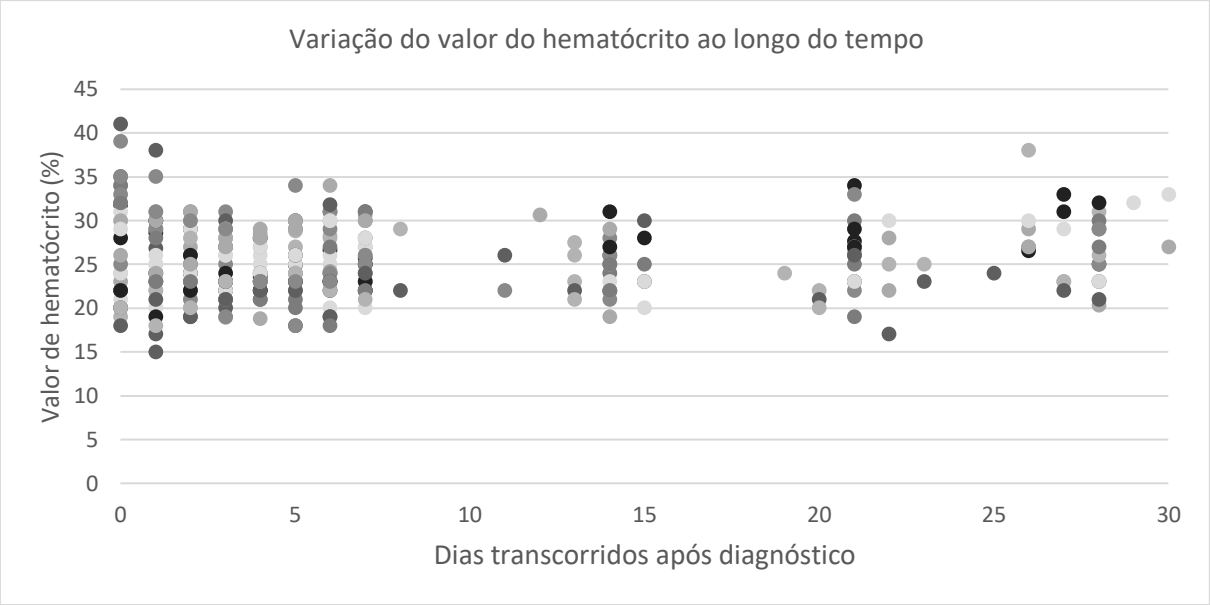

Figura 13: Variação do valor do hematócrito ao longo do tempo, por paciente.

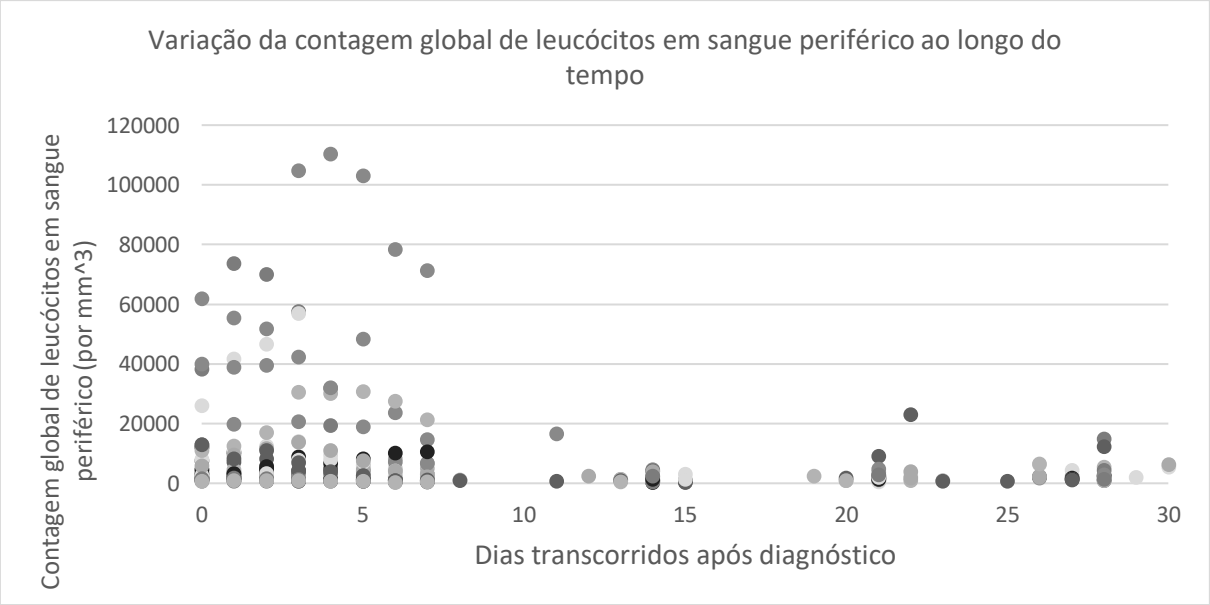

Figura 14: Variação da contagem global de leucócitos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

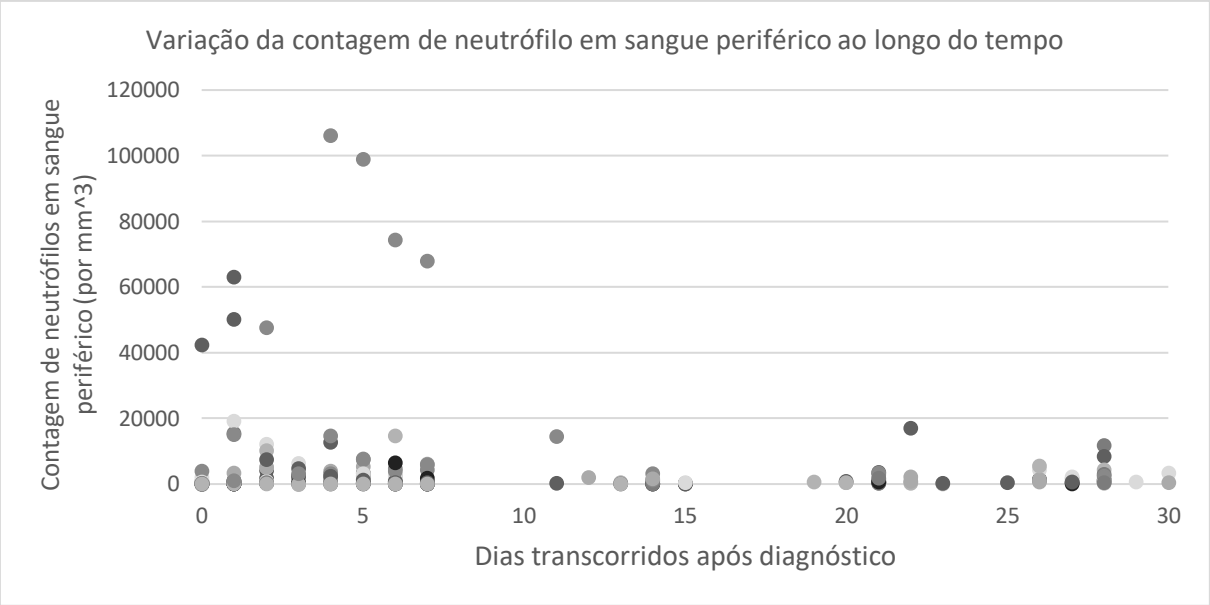

Figura 15: Variação da contagem de neutrófilo em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

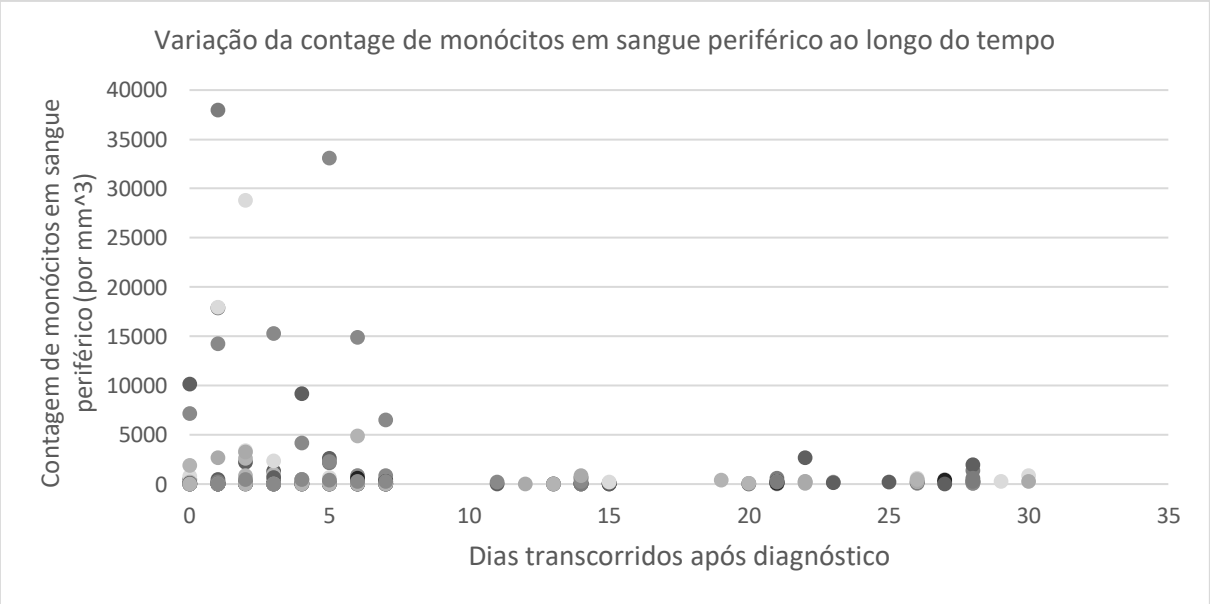

Figura 16: Variação da contagem de monócitos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

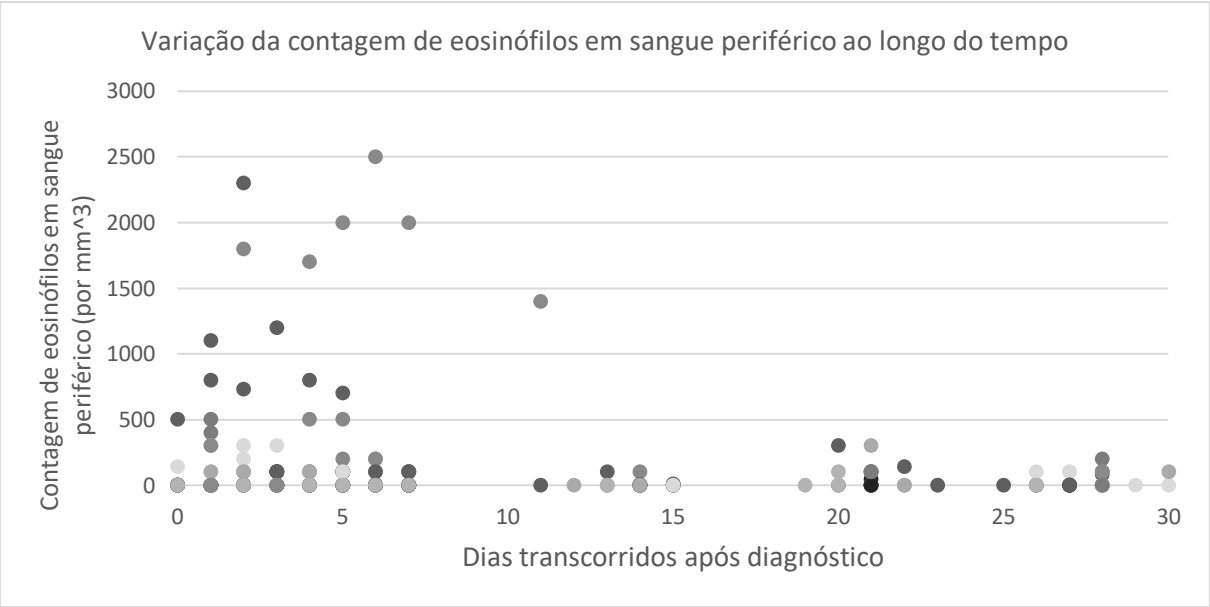

Figura 17: Variação da contagem de eosinófilos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

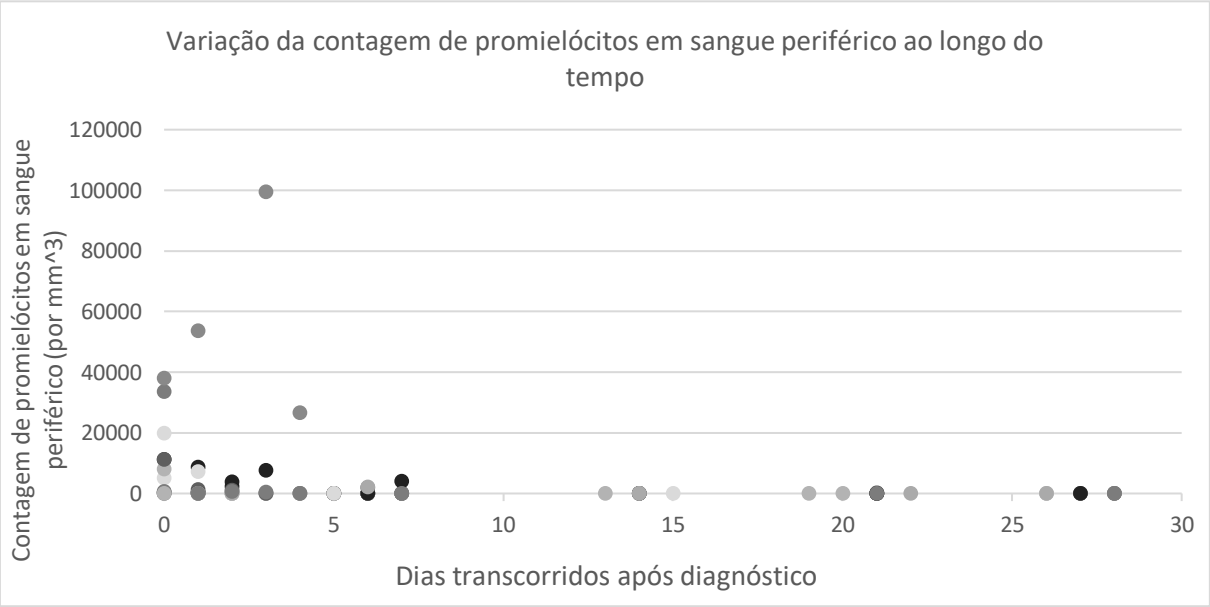

Figura 18: Variação da contagem de promielócitos e blastos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

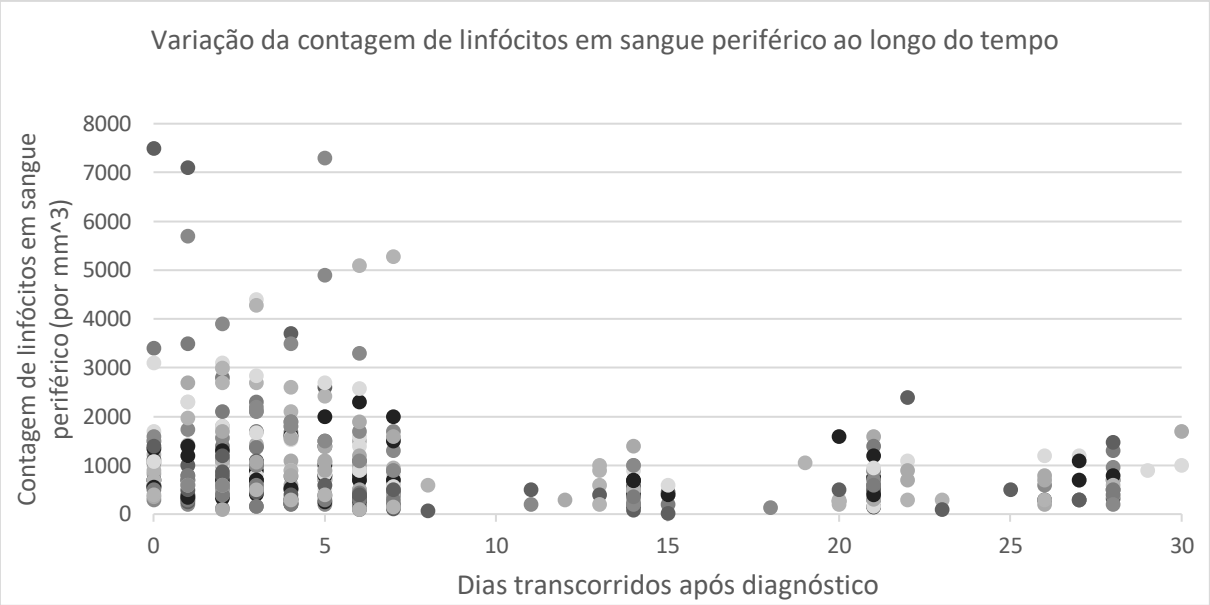

Figura 19: Variação da contagem de linfócitos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

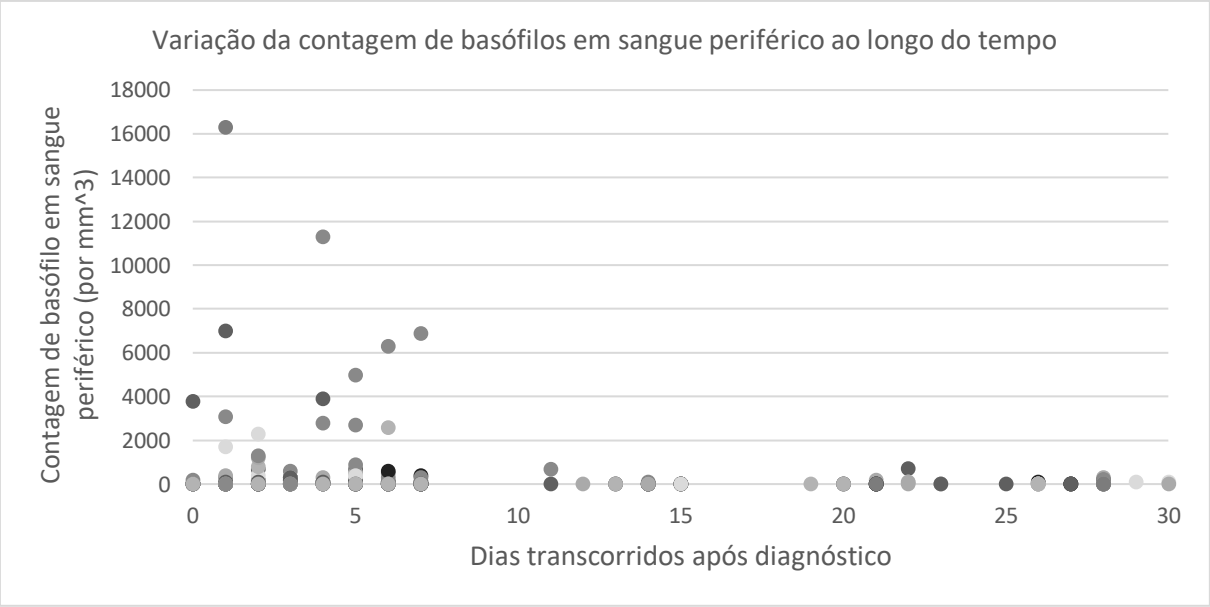

Figura 20: Variação da contagem de basófilos em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

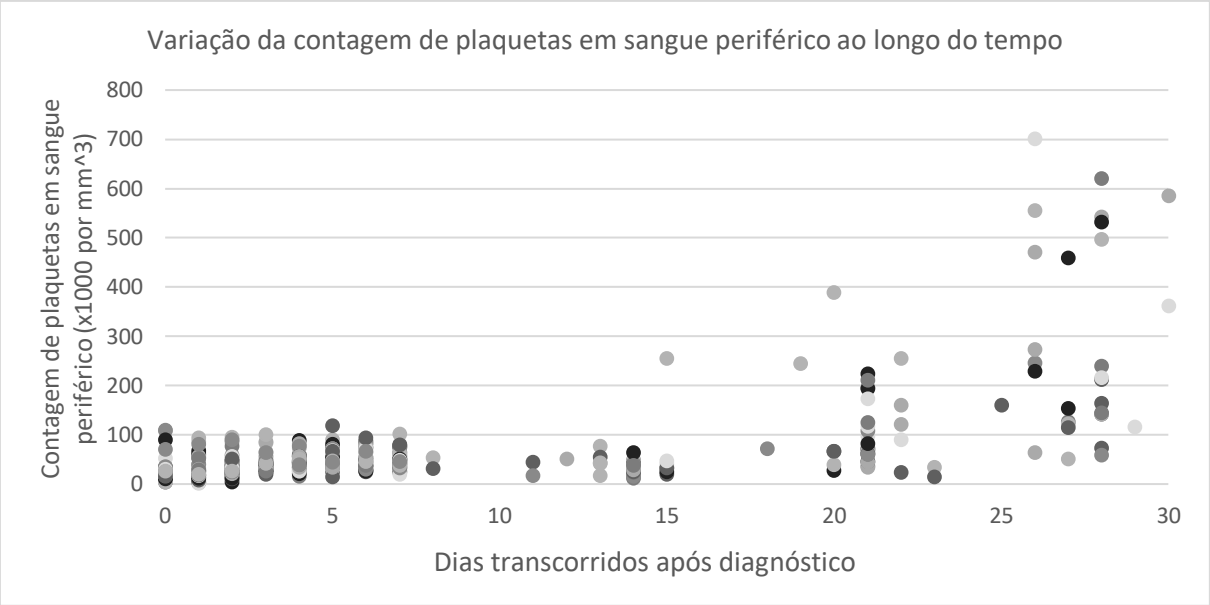

Figura 21: Variação da contagem de plaquetas em sangue periférico ao longo do tempo, por paciente.

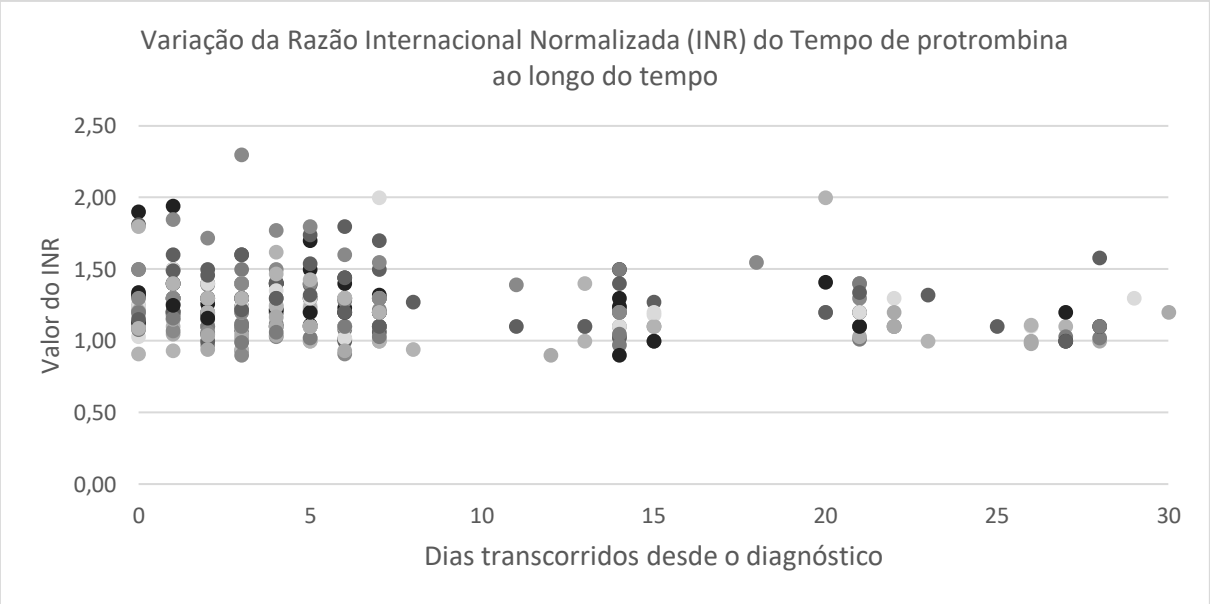

Figura 22: Variação da razão internacional normalizada (INR) do tempo de protrombina (TP) ao longo do tempo, por paciente.

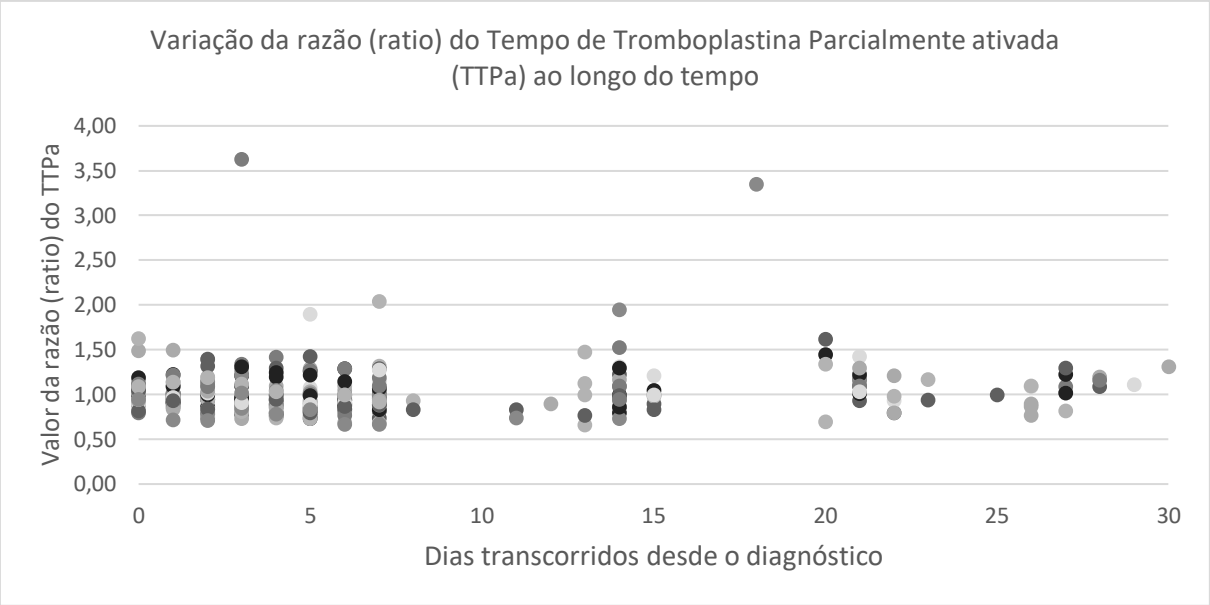

Figura 23: Variação da razão (*ratio*) do Tempo de Tromboplastina Parcialmente ativada (TTPa) ao longo do tempo, por paciente.

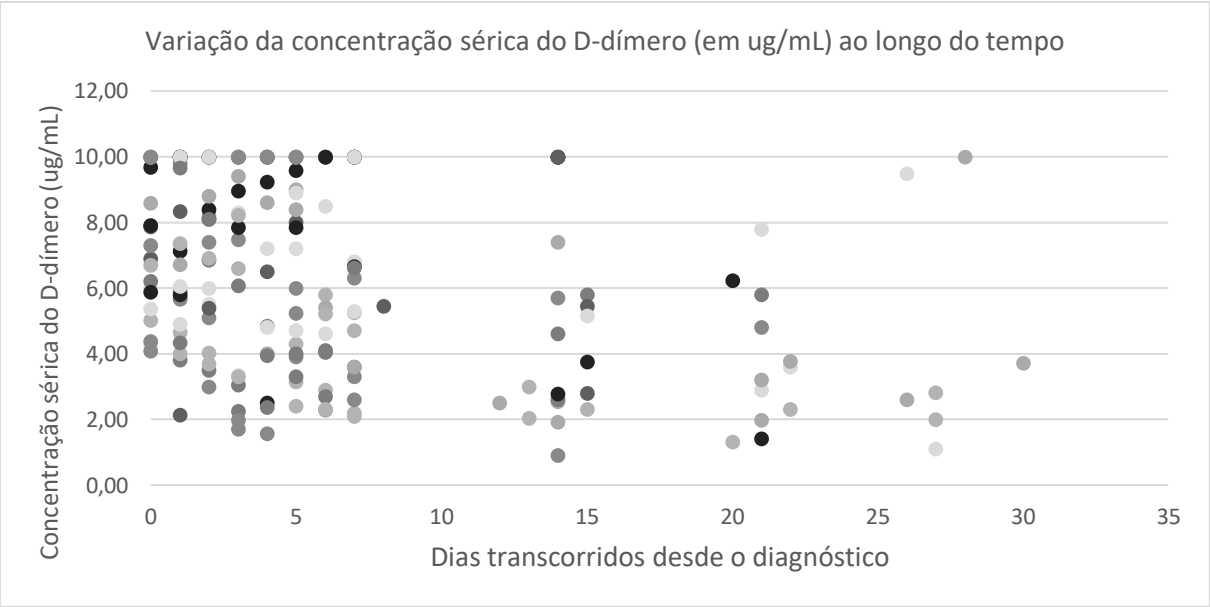

Figura 24: Variação da concentração sérica do D-dímero (em ug/mL) ao longo do tempo, por paciente.

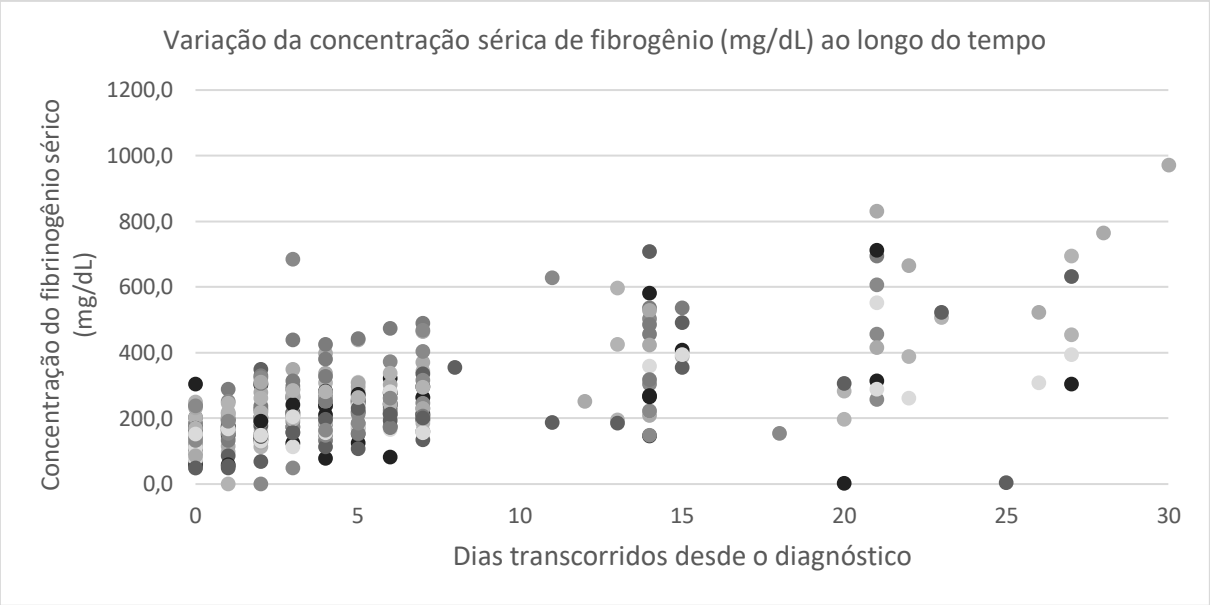

Figura 25: Variação da concentração sérica de fibrogênio (mg/dL) ao longo do tempo, por paciente.

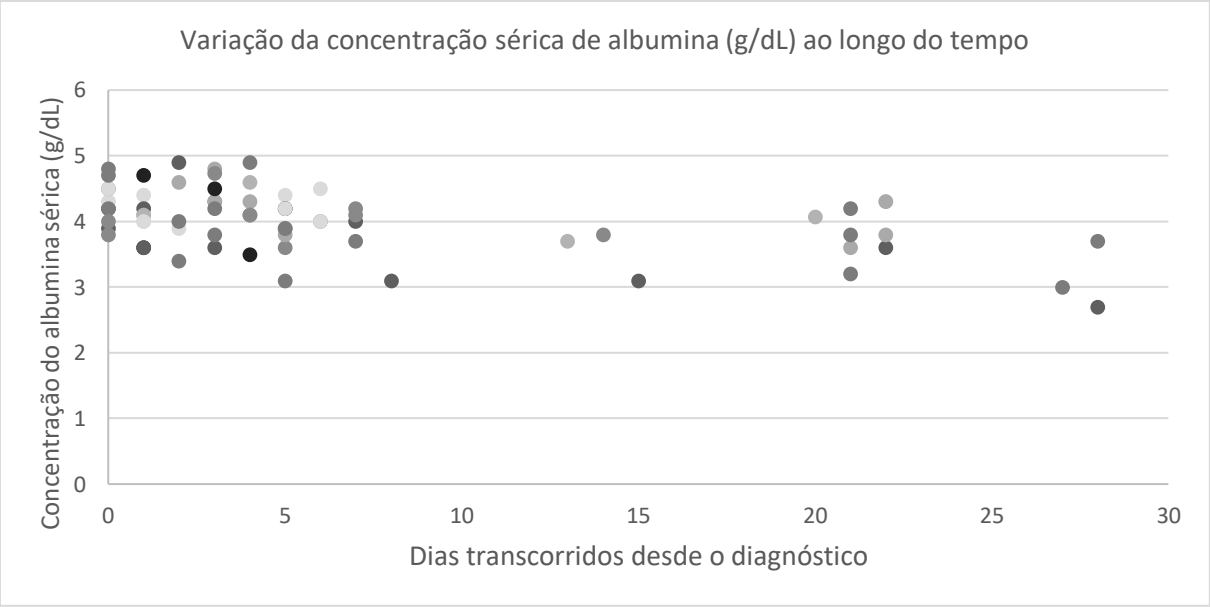

Figura 26: Variação da concentração sérica de albumina (g/dL) ao longo do tempo, por paciente.

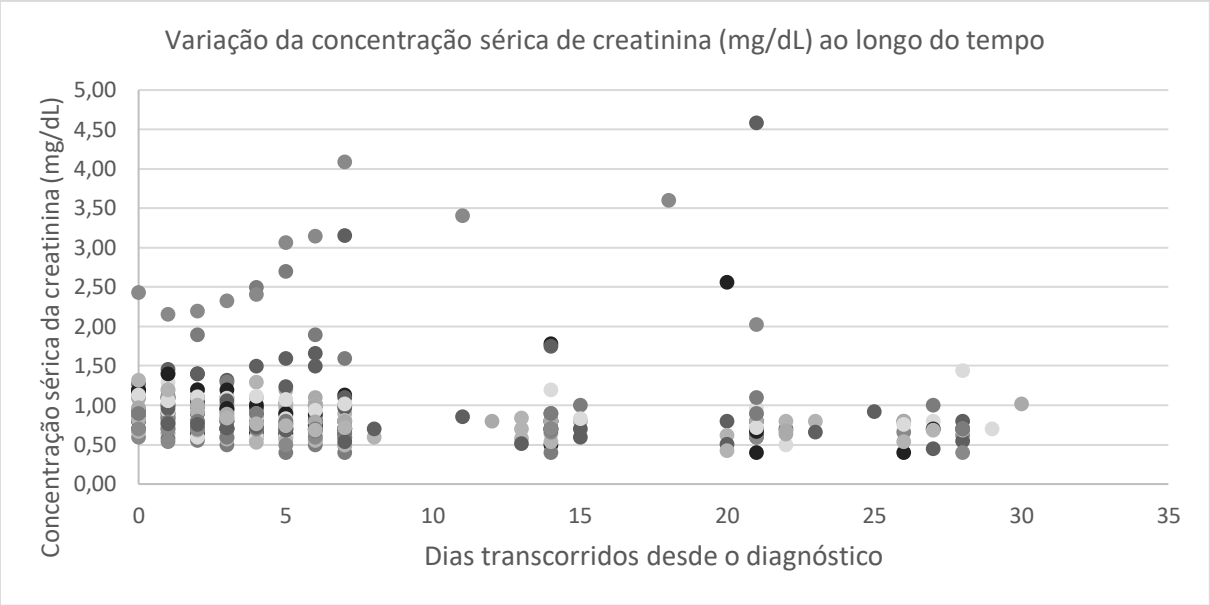

Figura 27: Variação da concentração sérica de creatinina (mg/dL) ao longo do tempo.

5.7. ANÁLISE DE SOBREVIDA

Seguem as curvas de Kaplan-Meier (K-M) para sobrevida global e sobrevida global por grupo de risco PETHEMA/GIMEMA.

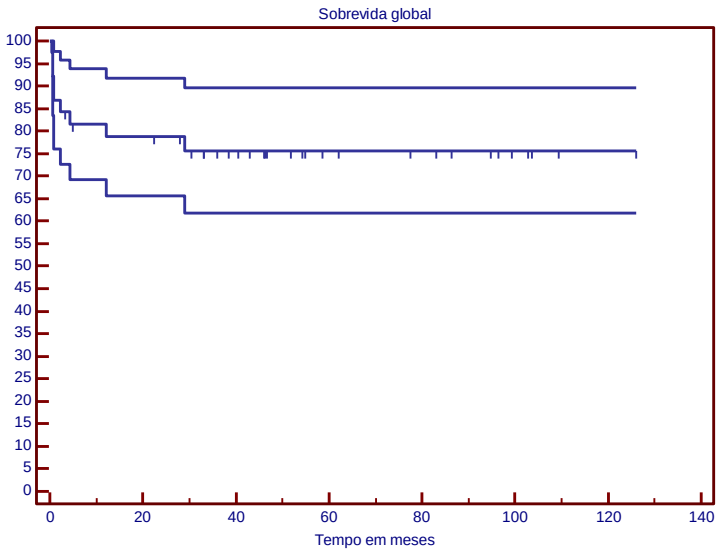

Figura 28: Curva de K-M para sobrevida global total com dados censurados (marcação vertical), em meses, com sobrevida de 50% não atingido, sobrevida em 60 meses de 75,7%. As linhas superior e inferior representam o intervalo de confiança de 95%.

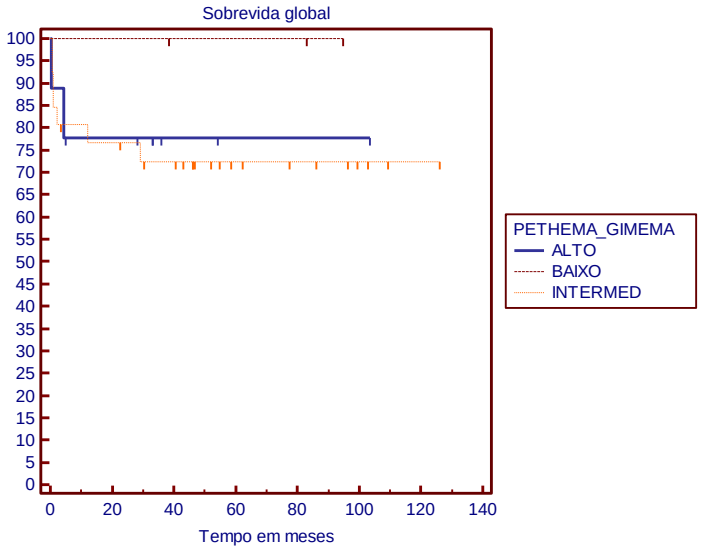

Figura 29: Curvas de K-M para sobrevida global com dados censurados (marcação vertical), em meses, por grupo de risco PETHEMA/GIMEMA, com teste de Log-rank apresentado o valor de p= 0,6232, mostrando a não existência de diferença estatística entre as curvas de sobrevida global entre os grupos (p<0,05).

Na sequência, seguem as curvas de K-M para sobrevida livre de recaída e sobrevida livre de recaída por grupo de risco PETHEMA/GIMEMA:

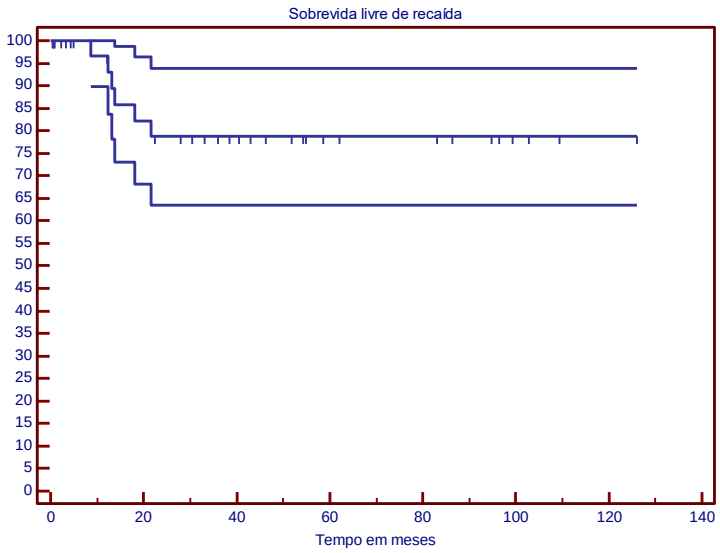

Figura 30: Curva de K-M para sobrevida livre de recaída com dados censurados (marcação vertical), em meses, com sobrevida de 50% não atingido, sobrevida em 60 meses de 78,7%. As linhas superior e inferior representam o intervalo de confiança de 95%.

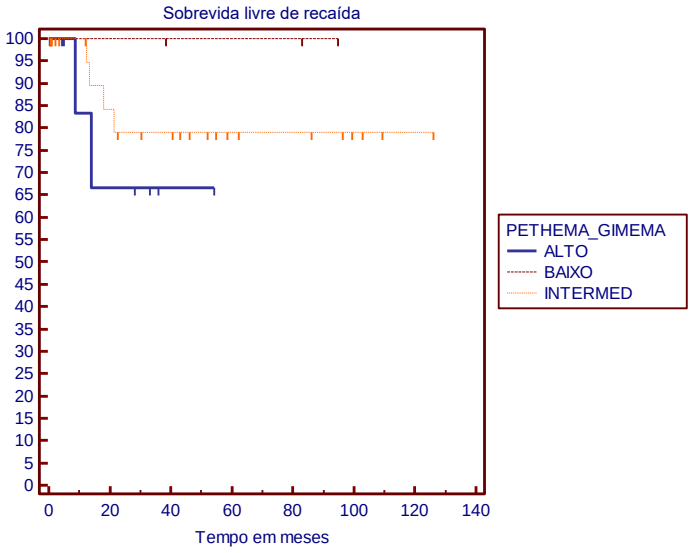

Figura 31: Curvas de K-M para sobrevida livre de recaída com dados censurados (marcação vertical), em meses, por grupo de risco PETHEMA/GIMEMA, com teste de Log-rank apresentado o valor de p= 0,4984, mostrando a não existência de diferença estatística entre as curvas de sobrevida global entre os grupos (p<0,05).

5.8. ANÁLISE DE VALORES DE PREDIÇÃO DOS CRITÉRIOS DE ALTO RISCO

Realizou-se a avaliação de Valor de Predição (Valor Preditivo Positivo e Negativo, VPP e VPN, respectivamente) dos critérios de alto risco PETHEMA/GIMEMA e contagem inicial de leucócitos, para o desfecho recaída. Adicionalmente, realizou-se a mesma avaliação para os desfechos "óbito" e "óbito precoce". As avaliações de valores de predição são apresentadas na tabela a seguir.

Tabela 4: Avaliação de valor de predição dos critérios de alto risco.

Desfecho	Critério de avaliação de alto risco	Valor Preditivo Positivo (VPP)	Valor Preditivo Negativo (VPN)
Recaída	PETHEMA/GIMEMA	22,2%	82,8%
	Leucócitos inicial>10 mil/mm^3	12,5%	80%
Óbito	PETHEMA/GIMEMA	22,2%	75,7%
	Leucócitos inicial>10 mil/mm^3	25%	76,7%
Óbito precoce	PETHEMA/GIMEMA	11,1%	86,2%
	Leucócitos inicial>10 mil/mm^3	12,5%	86,7%

5.9. AJUSTE DO MODELO AOS DADOS CLÍNICOS

5.9.1. VALORES DE PARÂMETROS DO MODELO PARA SIMULAÇÃO

Os intervalos utilizados para o ajuste do modelo são apresentados na Tabela 5, assim como os valores ajustados para os pacientes nº. 18 e nº. 22. O comportamento geral do ajuste das soluções aos dados dos pacientes foi semelhante, portanto serão apresentados os resultados para esses dois casos.

Tabela 5: Intervalo de valores para os parâmetros não fixados e valores estimados para os pacientes nº. 18 e nº. 22.

Parâmetro	Interpretação Biológica	Intervalo	Valor para o paciente nº. 18	Valor para o paciente nº. 22
r_N	Taxa de reprodução das células normais (células x $mm^{-3}dia^{-1}$))	[2880; 23040]	2193,2	1071,7
β_1	Taxa de competição das células leucêmicas ((células/mm^3)$^{-1}dia^{-1}$)	[0; 0.03]	0,001511	0,006588
β_2	Taxa de competição das células normais ((células/mm^3)$^{-1}dia^{-1}$)	[0; 0.005]	0,003569	0,003259
β_3	Taxa de maturação das células leucêmicas pelo ATRA (dia^{-1})	[0; 1]	0,289005	0,173926
γ	Efeito da quimioterapia sobre os leucócitos ($mg^{-1}dia^{-1}$)	[0; 0,2]	0,093906	0,034529

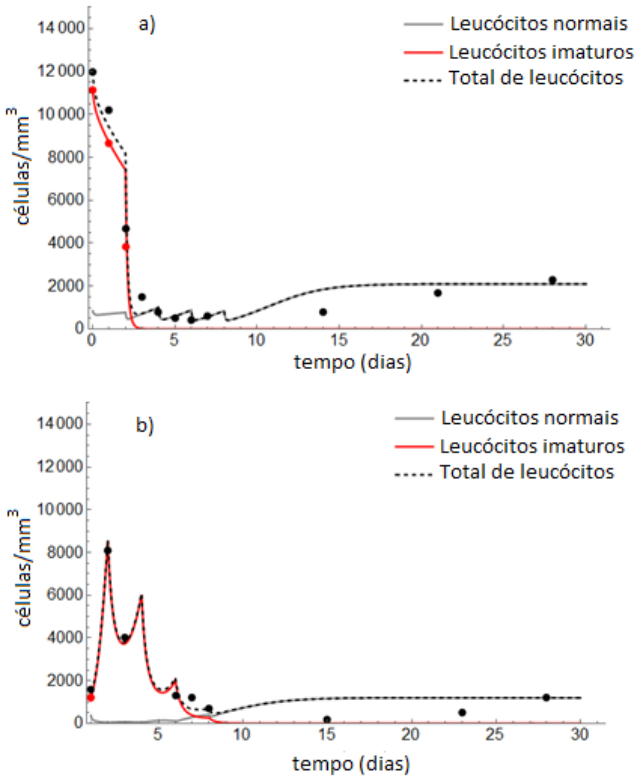

Figura 32: As linhas representam as soluções fornecidas pelo modelo ajustado enquanto os pontos representam os dados laboratoriais dos pacientes n.º 18 (a) e n.º 22 (b). Os pacientes receberam o protocolo de indução padrão do ICAL (ATRA diário – 75mg/dia e quimioterapia – dias 2, 4, 6 e 8 – 60mg/m^2/dia).

Observa-se um bom ajuste entre as soluções fornecidas pelo modelo e os dados dos pacientes da coorte. Apesar disso, é possível a obtenção de dois desfechos diferentes a longo prazo (com e sem recaída) com uma escolha de parâmetros β_1 e β_2 que ainda apresenta um bom ajuste inicial aos dados laboratoriais.

Tome, por exemplo, o paciente n.º 22. Definindo-se um valor de $r_n/\mu_n = 1200$ e valores de β_2 próximos, mas tais que estejam um acima e um abaixo do valor calculado de $\beta_2^{th} = 0{,}00268$ para os dados parâmetros do paciente. Os gráficos do das soluções em relação aos dados e os respectivos retratos de fase são apresentados a seguir. Para efeito de simplificação computacional, outras soluções não serão representadas nos retratos de fase.

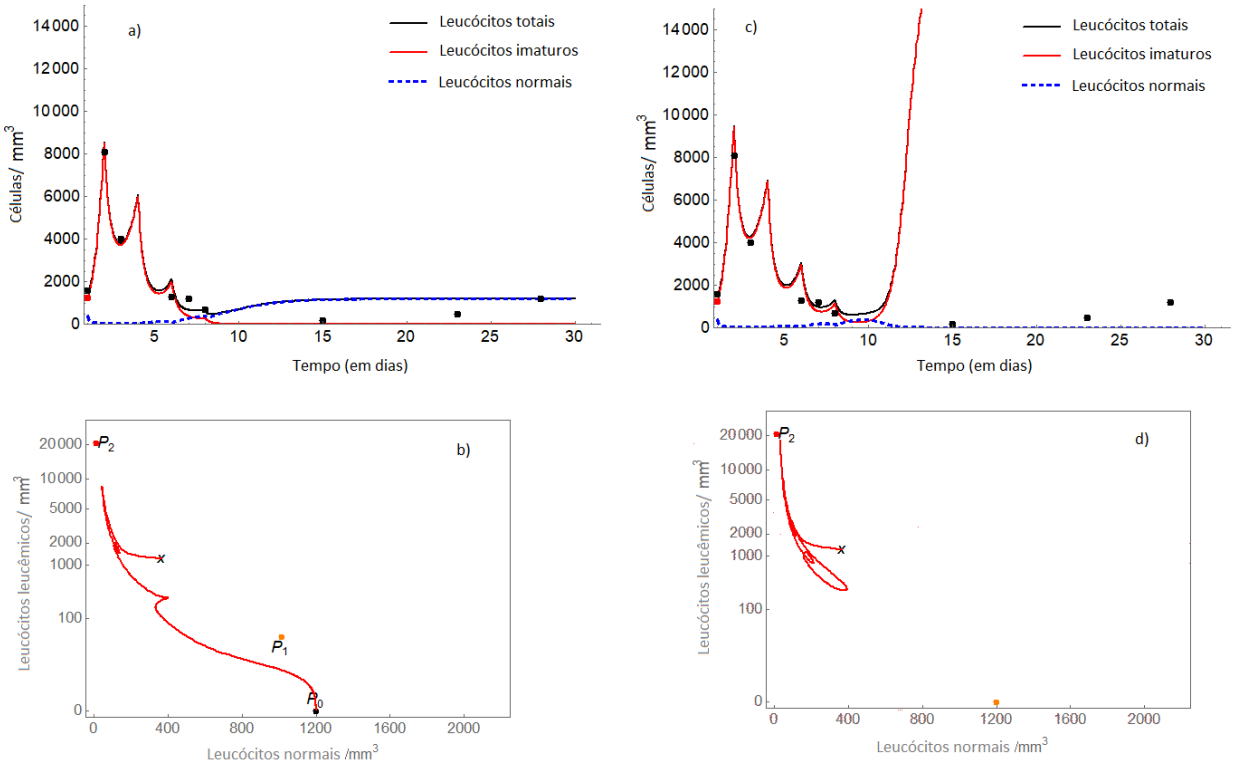

Figura 33: Para o paciente n.º 22: (a e c) gráficos das soluções (linhas) e dados laboratoriais (pontos) e as respetivas soluções em retrato de fase (b e d) para $\beta_2 = 0{,}00317694$ e $\beta_2 = 0{,}00158847$, respectivamente.

A despeito do bom ajuste das soluções aos dados clínicos nos primeiros dez dias, observa-se que, para o primeiro caso ($\beta_2 = 0{,}00317694$), o paciente encontra-se no **Regime III**, com a solução convergindo para o ponto P_0 ao longo do tempo. No segundo caso ($\beta_2 = 0{,}00158847$), o paciente encontra-se no **Regime II**, sendo a recaída inevitável.

5.9.2. SIMULANDO PROTOCOLOS ALTERNATIVOS DE TRATAMENTO E AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE E TEMPO ATÉ REMISSÃO

Simulou-se protocolos alternativos ao ICAL na fase de indução, constituído de quimioterapia nos dias 2, 4, 6 e 8, com dose de 60 mg por metro quadrado por dia. O ATRA foi administrado do dia 0 ao dia 30, continuamente, com dose de 45mg por metro quadrado por dia e eficácia β_3. Avaliou-se, então, a plausibilidade da utilização de esquemas menos citotóxicos e/ou mais convenientes ao paciente.

Para medir a citotoxicidade de um dado protocolo foi definido *Nmin* como o menor valor aceitável estimado pelo modelo para os leucócitos normais em sangue periférico (células/mm2) durante dos 30 primeiros dias de indução. Desta forma, $Nmin = \min\{N(t), 0 \leq$

$t \leq 30\}$. Quanto menor o valor de *Nmin*, mais tóxico para o organismo será o protocolo. Desta forma, objetiva-se maximizar *Nmin*.

Para avaliar o tempo até remissão, definiu-se para cada protocolo testado a quantidade t_{REM}, representando o tempo até que a quantidade de leucócitos imaturos tendesse a zero (assumiu-se abaixo de 10 células/mm3). Quanto menor t_{REM}, menor o tempo até a remissão.

Nas tabelas a seguir são apresentadas as simulações para os pacientes n.º 18 e 22, respectivamente.

Tabela 6: Avaliação da toxicidade e tempo até remissão através da simulação de diferentes protocolos para o paciente n.º 18.

Protocolo de quimioterapia (QT) (mais ATRA do dia 0 ao dia 30)	*Nmin* (células/mm^3)	t_{REM} (dias)
P0: QT 60mg/m^2 nos dias 2, 4, 6, 8 (ICAL)	420	2,87
P1: QT 30mg/m^2 nos dias 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	510	3,34
P2: QT 60mg/m^2 nos dias 2, 6	468	2,87
P3: QT 60mg/m^2 nos dias 2, 4	525	2,87
P4: QT 30mg/m^2 nos dias 2, 3, 4, 5	525	3,34
P5: QT 30mg/m^2 nos dias 2, 4, 6, 8	525	3,67
P6: QT 60mg/m^2 no dia 2	525	2,87
P7: QT 30mg/m^2 no dia 2	525	3,67
P8: Sem QT (apenas ATRA)	525	4,94

Tabela 7: Avaliação da toxicidade e tempo até remissão através da simulação de diferentes protocolos para o paciente n.º 22.

Protocolo de quimioterapia (QT) (mais ATRA do dia 0 ao dia 30)	*Nmin* (células/mm^3)	t_{REM} (dias)
P0: QT 60mg/m^2 nos dias 2, 4, 6, 8 (ICAL)	78	9,00
P1: QT 30mg/m^2 nos dias 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9	72	10,21
P2: QT 60mg/m^2 nos dias 2, 6	50	∞
P3: QT 60mg/m^2 nos dias 2, 4	50	∞
P4: QT 30mg/m^2 nos dias 2, 3, 4, 5	50	∞
P5: QT 30mg/m^2 nos dias 2, 4, 6, 8	50	∞
P6: QT 60mg/m^2 no dia 2	50	∞
P7: QT 30mg/m^2 no dia 2	50	∞
P8: Sem QT (apenas ATRA)	50	∞

Particularmente com relação ao paciente n.º 18, todos os protocolos alternativos levam à remissão. Mantendo-se uma dose acumulada total, com o aumento do intervalo entre as doses,

a toxicidade hematológica às células normais diminui. O mesmo comportamento é observado quando o número de doses aumenta, desde que quantidade de medicamento por dose diminua.

Indo além, para o paciente n.º 18 é possível atingir a remissão sem o uso da quimioterapia citotóxica. O valor estimado de $\beta_3 = 0{,}289005$ é alto o suficiente para garantir a remissão, apesar de aumentar o tempo até a mesma, em comparação com protocolos com quimioterapia.

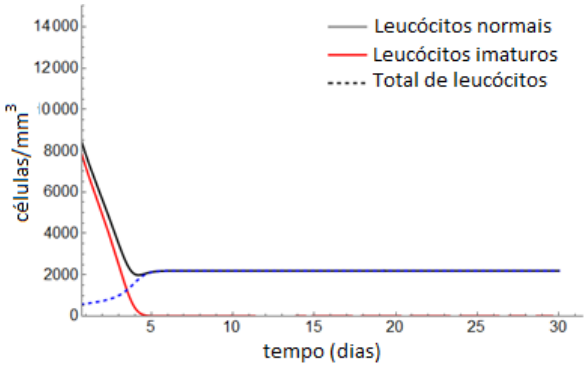

Figura 34: Remissão completa alcançada apenas com ATRA.

Calculou-se o valor limite de β_3 para o qual a remissão em trinta dias com o ATRA como único agente terapêutico fosse possível: $\beta_3 = 0{,}1658$. Quando o parâmetro assume valores superiores a este limite, o ATRA como único agente leva as soluções a migrarem de uma bacia de atração para outra.

Para o paciente n.º 22, com exceção do protocolo alternativo P1, todas as outras alternativas não se mostraram capazes de induzir a remissão, sendo a recaída observada nos primeiros 30 dias de tratamento.

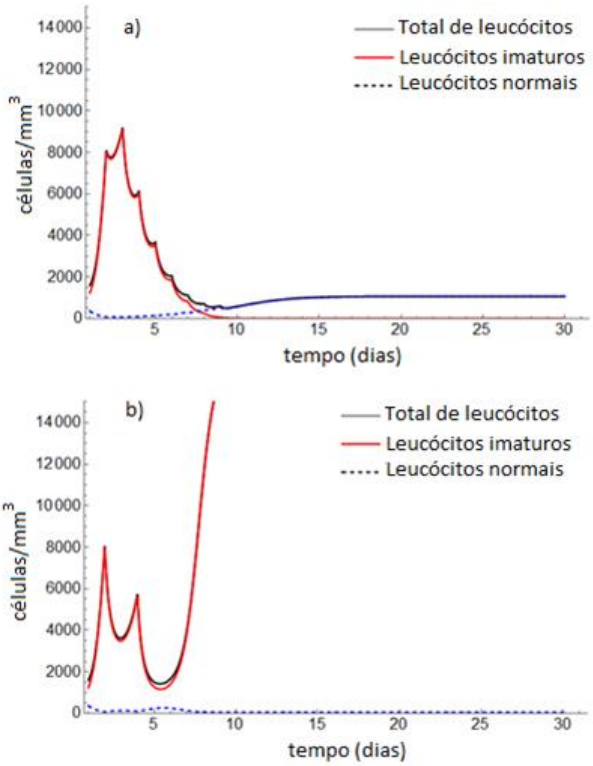

Figura 35: Protocolos alternativos P1 e P3 aplicados ao paciente n.º 22.

6. DISCUSSÃO

6.1. MODELO MATEMÁTICO DE CÂNCER AVASCULAR

A estratégia do modelo utilizado neste trabalho, proposto por Fassoni, já foi utilizada por outros autores para abordar o problema. Afenya e colaboradores, por exemplo, exploraram modelos considerando também duas populações de células, uma de leucócitos normais e outra de células leucêmicas. Entretanto, nos modelos propostos, a dinâmica de crescimento da população de células leucêmicas independe da população de leucócitos normais (AFENYA, 1996; AFENYA; BENTIL, 1998). Werner e colaboradores também consideraram duas populações em um modelo de LPA, porém os conjuntos de equações se alterando a depender de valores de determinados parâmetros, o que torna estudos analíticos e os processos de estimação mais complexos (WERNER et al., 2014). Rubinow e Lebowitz consideram três populações de células leucêmicas em seus modelos, cada equação definindo a dinâmica dessas populações dentro de determinados compartimentos, a saber: um compartimento intramedular ativo do ponto de vista proliferativo, um compartimento intramedular de repouso e um compartimento de sangue periférico (RUBINOW; LEBOWITZ, 1976).

Apesar de poder ser considerado simples se comparado aos outros modelos apresentados, o modelo que utilizamos nesse trabalho tem suas virtudes. Consegue reproduzir, durante as simulações realizadas com diversas condições iniciais de populações e valores de parâmetros, comportamentos observados clinicamente, como a não remissão, a recaída a longo prazo e a cura a longo prazo, sendo cada um desses comportamentos representados pelos regimes de retrato de fase apresentados nos resultados. As limitações que dificultam a aplicação do modelo em tumores sólidos são muito menos relevantes no cenário de doença hematológica. O fato do modelo não considerar o efeito da vascularização na dinâmica das populações é irrelevante no cenário da LPA. O fato do sistema dinâmico ser autônomo, isto é, os valores dos parâmetros não variarem com a variável independente (no caso, não variarem com o tempo), não tem grande relevância para a aplicação que se propõe, posto o fato que o que se objetiva é uma avaliação de risco inicial (*à priori*). É muito provável que os valores dos parâmetros e, eventualmente, até as equações que regem as relações entre as populações se alterem com o decorrer do tempo, sendo necessário incorporar mudanças fisiológicas nas respostas de agressividade da doença e do doente, efeito dos tratamentos etc. Porém, assume-se que essas alterações não sejam tão significativas nos primeiros dias da doença, o que permite interpretar

os resultados derivados do estudo do modelo como um “risco inicial” do paciente, naquelas condições das do diagnóstico.

Obviamente, há limitações na utilização de um modelo simplificado para uma doença tão complexa. Há outras populações celulares envolvidas na resposta imune do paciente contra a doença, como linfócitos T, fatores de agressividade moleculares das células leucêmicas e outros tantos fatores de resposta doença-doente e vice-versa (GALLAGHER et al., 1997; TEAGUE; KLINE, 2013). Em nosso modelo, esses fatores são simplificadamente considerados nos parâmetros β_1 e β_2. Recuperando os comentários realizados anteriormente, é preciso entender a limitação da utilização de um modelo autônomo. Considerações sobre a dinâmica das populações realizadas no momento do diagnóstico serão diferentes com o passar do tempo.

Outra limitação de ordem prática da aplicação do modelo no cenário da LPA reside no fato das informações sobre as populações serem obtidas em sangue periférico. As proporções entre as populações celulares seriam melhor avaliadas através do mielograma. Porém a grandeza temporal é medida em horas, dada as taxas de crescimento e morte celular. Assim, a obtenção de dados para a estimação dos parâmetros demandaria mielogramas seriados, o que é de difícil exequibilidade, além de aumentar o desconforto do paciente.

6.2. DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA COORTE

Os resultados obtidos a partir dos dados da coorte estudada são condizentes aqueles apresentados por Rego e colaboradores em 2013, onde são apresentados os dados consolidados da IC-ALP (REGO et al., 2013). Neste relatório, 183 pacientes foram avaliados. A idade mediana dos pacientes ao diagnóstico, para a coorte ICAL e para nossa coorte (HCRP), foi de 36 e 38 anos, respectivamente. O tempo de seguimento mediano foi de 28 e 41 meses, respectivamente. Nosso maior tempo de seguimento é justificado pela data de publicação do relatório ICAL.

Outra coorte que traz dados de desfechos sobre a doença é a LPA2005, cujos resultados atualizados foram publicados por Sanz e colaboradores em 2010. Nesta coorte, 402 pacientes foram avaliados. A idade mediana ao diagnóstico foi de 42 anos, com tempo de seguimento mediano de 28 meses.

Apresentamos a seguir uma tabela comparativa com os resultados das três coortes.

Tabela 8: Comparativo entre as coortes HCRP, ICAL e LPA2005.

Variável	HCRP – n (%)	ICAL – n (%)	LPA2005 – n (%)
Sexo masculino	20 (53)	88 (48)	209 (52)
Sexo feminino	18 (47)	95 (52)	193 (48)
Eventos de sangramento	14 (37)	114 (62)	-
Remissão	33 (87)	153 (80) *	372 (93)
Óbitos	9 (24)	37 (20)	34 (9)
Óbitos na indução	4 (11)	27 (15)	30 (7)
Recaída	6 (16)	9 (5)	21 (5)
Risco inicial – critério PETHEMA/GIMEMA			
Alto Risco	9 (24)	58 (32)	118 (19)
Risco Intermediário	26 (68)	95 (52)	200 (50)
Baixo Risco	3 (8)	30 (16)	84 (21)

*:180 pacientes avaliados.

Observa-se uma concordância em quase todos as variáveis comparadas. Destaca-se o fato da coorte HCRP apresentar uma maior taxa de recaída em relação às outras coortes. Tal fato pode ser explicado pelo maior tempo de seguimento da primeira. A taxa de óbito geral foi menor para os pacientes da coorte LPA2005. A única diferença entre os protocolos de tratamento dos estudos ICAL e LPA2005 reside na terapia de indução, onde a Idarrubicina foi substituída por Daunorrubicina (mais acessível e menor custo) (REGO et al., 2013).

As toxicidades relacionadas ao tratamento foram neutropenia e cardiopatia em todas as três coortes, porém a cardiotoxicidade mostra-se como a mais impactante na qualidade de vida a longo prazo. No momento, a forma mais consensual de determinação da toxicidade por antracíclicos ainda é através da fração de ejeção de ventrículo esquerdo (VEFE). Sabe-se que essa toxicidade é dependente da dose acumulada ministrada, sendo o risco maior para doses acima de 240-300mg/m^2 de doxorrubicina. Não houve, até o momento, medida cardioprotetora que se mostrasse eficaz em relação à cardiotoxicidade quimioinduzida (CARDINALE et al., 2015; LEVIS; BINKLEY; SHAPIRO, 2017).

Na coorte LPA2005, a cardiotoxicidade chegou a modificar o protocolo de tratamento em três pacientes, com dois óbitos por infarto agudo do miocárdio, um por miocardite e um por insuficiência cardíaca. Na coorte ICAL, um paciente apresentou diminuição da FEVE durante a indução e recebeu tratamento de consolidação modificado. Não foram registradas outras toxicidades cardíacas no relatório. Na coorte HCRP observou-se quatro reduções em FEVE, com dois destes retomando FEVE>50% no seguimento, sendo apenas um paciente sintomático.

Vale ressaltar que o paciente sintomático foi classificado como baixo risco PETHEMA/GIMEMA, recebendo o tratamento menos intensivo.

Os resultados trazidos por Sanz e colaboradores fazem um comparativo entre duas coortes, a LPA99 e a LPA2005. Neste estudo pretendeu-se comparar os desfechos relacionados ao tratamento adaptado ao risco inicial do paciente, pelos critérios PETHEMA/GIMEMA e o protocolo prévio, padronizado para todos os pacientes. Do ponto de vista de toxicidade, observou-se uma diminuição nas toxicidades hematológicas com a desintensificação do tratamento em pacientes de baixo risco, porém não foi reportado impacto em cardiotoxicidade (SANZ et al., 2010).

6.3. ANÁLISE DE SOBREVIDA

Na comparação realizada por Sanz e colaboradores, entre as coortes LPA99 e LPA2005, em uma comparação histórica, mostrou-se uma melhora nos desfechos com a estratégia de tratamento risco-adaptada. A coorte LPA99 apresentou sobrevida global e na sobrevida livre de recaída de 85% e 87%, respectivamente, avaliados em três anos (SANZ et al., 2010).

A probabilidade de sobrevida global e sobrevida livre de recaída da coorte HCRP, em dois anos de seguimento, foi de 76% e 79%, respectivamente. Na coorte ICAL os mesmos desfechos analisados aos dois anos de seguimento apresentam probabilidades de 80% e 91%. Para a coorte LPA2005, os dados foram analisados em três anos, com sobrevida global e sobrevida livre de recaída de 89% e 92%, respectivamente. Apesar dos valores inferiores para os desfechos em dois anos para a coorte HCRP em relação aos estudos prévios, a diferença não foi estatisticamente significante.

Diferentemente dos resultados apresentados no relatório ICAL, onde as classificações de risco PETHEMA/GIMEMA produziram desfechos estatisticamente distintos (análise *Log-rank*) para incidência acumulativa em dois anos de mortalidade sem recaída, sobrevida livre de evento e sobrevida global, na coorte HCRP a classificação não gerou curvas estatisticamente distintas. O mesmo comportamento se repete para as análises uni e multivariável de contagem inicial de leucócitos, valor sérico de creatinina e albumina, presença ou ausência de coagulopatia e seu impacto na remissão completa. Do ponto de vista de impacto de variáveis clínico-laboratoriais no desfecho recidiva ou mortalidade, na coorte HCRP, nenhuma se mostrou estatisticamente significante (REGO et al., 2013).

Tal comportamento destoante com relação à coorte ICAL pode ser explicado pelo baixo número de eventos e pelo reduzido tamanho amostral. Trata-se de uma doença rara e que a evolução do tratamento fez com que o número de eventos de interesse (óbito e recaída) caíssem drasticamente. No ajuste de modelos de predição (modelo de Cox, por exemplo), o pequeno número de eventos por variável impede um adequado ajuste por introduzir vieses de regressão. Habitualmente são necessários dez eventos por variável para um ajuste adequado, porém, para preditores menos prevalentes, mais eventos por variável podem ser necessários (OGUNDIMU; ALTMAN; COLLINS, 2016).

A determinação das variáveis que interferem no risco da ocorrência do evento de interesse está longe de ser consensual. Liu e colaboradores, ao estudarem uma coorte de 340 pacientes com diagnóstico de LPA provenientes de uma única instituição, estabeleceram que as seguintes condições impactavam negativamente a sobrevida livre de recaída em cinco anos: contagem inicial de leucócitos acima de 10^9/litro, data do diagnóstico entre 1988 e 2000 (em relação a diagnóstico realizado entre 2001 e 2009), presença de outras alterações citogenéticas além da t(15;17) e RT-PCR para PML/RARα persistentemente positivo ou com alternância positivo/negativo (LIU et al., 2011). Hecht e colaboradores procuraram estabelecer um critério de risco molecular, posto que a variabilidade dos resultados laboratoriais de contagem de leucócitos e plaquetas traria um grau de incerteza demasiadamente elevado no estabelecimento do risco de óbito e de recaída do paciente. Definiram então como variáveis de seu critério a expressão do gene BAALC (*Brain and Acute Leukemia, Cytoplasmic*) acima do primeiro quartil, expressão do ERG (*Ets' Related Gene*) acima do terceiro quartil e expressão do WT1 (*Wilms' Tumor 1*) abaixo do primeiro quartil ou acima do terceiro. A determinação das quantidades foi realizada através da técnica de reação em cadeia de polimerase – transcriptase reversa quantitativa em tempo real. Um total de 79 pacientes com diagnóstico de LPA foram submetidos à avaliação de desfechos pelo critério PETHEMA/GIMEMA e pelo novo critério (BAALC, ERG e WT1), além de idade, sexo, tipo do transcrito, contagem inicial de leucócitos e plaquetas, nível de lactato desidrogenase. Sob o novo critério, não houve recaída entre os pacientes de baixo risco enquanto 13% dos pacientes que obtiveram remissão completa no grupo de alto risco teve recaída. Do ponto de vista de sobrevida global avaliado com 5,9 anos de seguimento, o grupo de alto risco teve desfecho inferior ao grupo de baixo risco (53% versus 85%, respectivamente). Quanto à sobrevida livre de recaída em 6,1 anos de seguimento, as probabilidades foram de 49% e 93% para os grupos de alto e baixo risco. Neste estudo, os

critérios de risco PETHEMA/GIMEMA não se mostrou capaz de gerar grupos estatisticamente distintos (HECHT et al., 2015).

A heterogeneidade entre as coortes relacionadas ao grupo PETHEMA/HOVON (LPA2005, ICAL e HCRP) e as coortes apresentadas por Liu e Hecht pode explicar os diferentes desfechos e variáveis influenciadoras dos mesmos. Em uma doença rara essa heterogeneidade é comum e implica em uma dificuldade de generalização de resultados. Isto pois esses resultados dependem exclusivamente de análise estatística baseado em teste de hipóteses, extremamente sensível ao tamanho amostral. Um critério de estratificação de risco que não seja tão susceptível a características amostrais, no cenário de doença de baixa prevalência, mostra-se interessante. Neste cenário que o critério baseado no modelo ecológico ganha importância.

6.4. AJUSTE DO MODELO AOS DADOS

Observou-se um adequado ajuste das soluções das equações aos dados recuperados dos pacientes. Entretanto é importante destacar que poucos pacientes apresentavam uma quantidade satisfatória de dados referentes às formas imaturas em sangue periférico. A escolha dos pacientes nº.18 e nº. 22 não foi aleatória. Eles representam pacientes com mais e menos dados sobre promielócitos em sangue periférico (três e um dado ao longo dos trinta dias de indução, respectivamente). Muitos pacientes eram seguidos exames diários mais simples durante a internação inicial da fase de indução (avaliando-se, por exemplo, apenas níveis de hemoglobina, hematócrito, glóbulos brancos e plaquetas). Dos trinta e oito pacientes avaliados, todos apresentavam pelo menos um dado sobre o número total de leucócitos nos primeiros 30 dias da fase de indução. A mediana foi de onze dados por paciente para essa informação. Porém quando se trata de informação sobre os promielócitos, apenas 26 (68%) apresentavam pelo menos um dado, sendo a mediana de número de dados por paciente igual a um com máximo de três. Como mostrado nos Resultados, tal situação dificulta a implementação do ajuste e a predição de risco, pois pequenas variações dos parâmetros β_1 e β_2 nas proximidades dos valores-limites levam as soluções a longo prazo para a recaída ou não. Mais dados trariam predições mais confiáveis. Uma sugestão seria realizar exames laboratoriais mais completos na fase de indução para que a qualidade dos dados aumente, porém ainda não está claro se apenas o aumento da densidade (mais dados durante os primeiros 30 dias) é suficiente, ou se o tempo de seguimento maior (coleta de dados por um período mais longo) também é necessário.

6.5. ANÁLISE DE VALOR DE PREDIÇÃO

A análise de valor de predição é importante quando deseja-se determinar a eficiência de um teste. Em temos gerais, um teste possui uma capacidade intrínsecas de detectar pacientes "positivos", isto é, que possuem a característica estudada (doença) em relação ao padrão-ouro de detecção. A esta capacidade dá-se o nome de "sensibilidade". De modo análogo, à capacidade intrínseca do teste de detectar pacientes "negativos", isto é, que não possuam a característica estudada (doença) em relação ao padrão-ouro de detecção, é dado o nome de "especificidade". Quando o teste é aplicado à uma população, deseja-se saber qual é a confiabilidade (ou eficiência) do teste em detectar os verdadeiros positivos (VP) e os verdadeiros negativos (VN). A essa eficiência dá-se o nome de valor preditivo positivo (VPP) e valor preditivo negativo (VPN). Tal eficiência depende das características intrínsecas do teste (sensibilidade e especificidade) e da prevalência da característica estudada na população (valor preditivo pré-teste) (KAWAMURA, 2002).

Observando-se a figura a seguir, apresentamos e definimos alguns elementos:

		Doença	
		Positivo	Negativo
Teste	Positivo	Verdadeiro Positivo (VP)	Falso Positivo (FP)
	Negativo	Falso Negativo (FP)	Verdadeiro Negativo (VN)

Figura 36: Relação da doença com o teste.

Desta forma, VPP e VPN são dados por:

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \text{ e } VPN = \frac{VN}{VN + FN}.$$

Sanz e colaboradores propuseram a avaliação das variáveis "contagem de leucócitos" e "contagem de plaquetas" em sangue periférico no momento do diagnóstico como preditores de desfecho para a coorte PETHEMA/GIMEMA, posto que as curvas de sobrevida se mostraram estatisticamente distintas (SANZ et al., 2000). Em uma atualização dos resultados, mostraram que, de fato, o tratamento risco-adaptado por esses critérios leva a melhores desfechos com menores toxicidades (SANZ et al., 2010). Porém, em tais estudos, não foi realizado a análise

de valores de predição para esses critérios. Essa análise faz-se interesse por estabelecer o poder de predição de um determinado critério para um determinado desfecho. É possível, por exemplo, que seja identificada, em um conjunto de variáveis, uma como sendo impactante em um dado desfecho (análise uni ou multivariável). Vários valores dessa variável resultariam em curvas de sobrevida distintas pela análise *Log-rank*, porém com diferentes valores de sensibilidade e especificidade, consequentemente, com diferentes valores preditivos positivos e negativos. Em nenhum dos estudos citados nesta discussão de valor de predição para os diversos critérios de risco citados foi realizado análise de valor de predição do critério proposto.

A análise do valor de predição para recaída do paciente de alto risco, tanto pelo critério PETHEMA/GIMEMA quanto pelo critério de contagem inicial de leucócitos, aplicados à coorte HCRP, apresentou os seguintes valores preditivos negativos: 82,8% e 80%. Isto significa que, quando tais critérios classificam os pacientes como não sendo de alto risco, os mesmos recaem em 17,2% e 20% das vezes. Aplicando-se a mesma análise para a predição de óbito precoce do paciente, tem-se 86,2% e 86,7%, mantendo-se a mesma ordem de apresentação dos critérios. Mais uma vez, quando tais critérios classificam os pacientes como não sendo de alto risco, os mesmos vão a óbito precocemente em 13,8% e 13,3% das vezes.

Particularmente, a avalição do VPN para o critério de alto risco é relevante. Sua interpretação pode ser entendida como a probabilidade de o paciente de fato não ser alto risco quando o critério assim afirma. Um critério com alto VPN é desejável, pois resulta em uma baixa probabilidade de falso negativo. Em outras palavras, um critério com alto VPN garante que a probabilidade de um paciente não classificado como alto risco ter uma recaída é baixa. Isso garante uma maior segurança em propor esquemas de tratamento menos intensos, levando a menor toxicidade, sem risco de comprometimento do desfecho. Existem métodos para a determinação do valor da variável para otimização da relação sensibilidade/especificidade (consequentemente a relação VPP/VPN), como análise de curva ROC (*Receiver Operating Characteristic*). Grosso modo, traça-se uma curva do valor da sensibilidade e um menos o valor da especificidade em função do valor de corte da variável estudada. A partir desta curva é possível estabelecer critérios de relação dessas quantidades que atendam aos propósitos do instrumento, como, por exemplo, maximizar o VPN, posto que este pode ser escrito em função da sensibilidade, especificidade, número de doentes e tamanho da população. Porém, por ser um método estatístico, também é sensível ao tamanho amostral (influência no número de pontos da curva ROC) para sua estimação (MARTINEZ; LOUZADA; PEREIRA, 2003).

A avaliação de parâmetros do modelo ajustados ao dado de um paciente como preditor de risco de recaída é possível em teoria, determinando-se em qual configuração de retrato de fase e em qual bacia de atração as condições iniciais do paciente se encontrariam. A avaliação do parâmetro β_2 é particularmente interessante, pois como demonstrado, o limiar entre o **Regime III** (onde a recaída é inevitável) e os outros regimes é determinado unicamente pelo valor de β_2^{th}. A avaliação da resposta do paciente ao tratamento durante o período de indução poderia fornecer dados para estimação dos parâmetros e determinação do risco de recaída, e então adaptar o tratamento de consolidação. Porém, como exposto anteriormente, a pouca quantidade de dados limita essa avaliação em nossa coorte e impede, neste momento, uma maior exploração deste conceito.

6.6. AVALIAÇÃO DE PROTOCOLOS ALTERNATIVOS DE TRATAMENTO

Uma das potencialidades do modelo matemático proposto é a possibilidade da simulação de protocolos alternativos ao protocolo atual. Como experimento *in silico*, fornece dados estimados do comportamento clínico de tais alternativas, otimizando tempo e custos, descartando os protocolos menos interessantes dentro de parâmetros estabelecidos pelo pesquisador (KOBOROVA et al., 2009). Bach fez um levantamento dos custos relacionados com o lançamento de novas drogas oncológicas, mostrando um aumento cinco vezes maior desses custos em relação com outras classes de drogas, intensificado nos últimos 30 anos. A maioria desses custos estão relacionados à pesquisa e desenvolvimento desses medicamentos (BACH, 2009). Assim, a utilização de pesquisas *in silico* assume papel fundamental neste cenário, como avaliado em (TERSTAPPEN; REGGIANI, 2001).

O paciente n.º 18 tem, claramente, uma doença menos agressiva do que a apresentada pelo paciente n.º 22. Do ponto de vista do modelo matemático, isso pode ser evidenciado através dos valores dos parâmetros ajustados, vide Tabela 5. Observa-se que o parâmetro de agressividade da doença (β_1) é menor em comparação ao outro paciente, e com uma doença mais "sensível" aos tratamentos (β_3 e γ maiores). Mesmo com doença com uma maior taxa de replicação (r_N), os outros parâmetros fazem com que a mesma tenha uma resposta mais adequada ao tratamento, permitindo, inclusive, a desintensificação do tratamento e ainda assim atingindo a remissão.

Para o paciente n.º 18, a remissão seria possível apenas com o uso do ATRA. De fato, Warrell e colaboradores demonstraram ser possível tal remissão em um conjunto de pacientes

com LPA não tratada, pós-recaída ou resistente ao tratamento (WARRELL et al., 1991). Apesar de possível, o tratamento combinado com quimioterapia adjuvante é preferível, posto que assim se reduz a possibilidade da síndrome de diferenciação (FRANKEL et al., 1992).

Não há ensaios clínicos randomizados com ATRA como agente único, porém sua efetividade na indução da remissão é comparável à quimioterapia citotóxica (TALLMAN et al., 1997; WANG; CHEN, 2008). A dose de ATRA e a sensibilidade do paciente à droga influenciam o valor do parâmetro β_3. Dependendo deste parâmetro, a posologia do ATRA também pode ser otimizada para atingir a remissão, com menor toxicidade, associado ou não à quimioterapia.

É possível também tentar otimizar os protocolos alternativos, definindo funções de custo, envolvendo a tempo até remissão e a toxicidade hematológica e então minimizar essa função, buscando a melhor relação entre as duas grandezas. Tal otimização constitui campo fértil de pesquisa.

7. CONCLUSÃO

A coorte de pacientes com LPA tratados no HCRP pelo protocolo ICAL tem características semelhantes àquelas de outros ensaios clínicos já publicados, apresentando um maior tempo de seguimento. O modelo matemático proposto, de fato, captura de forma adequada a dinâmica das células leucêmicas e normais em sangue periférico, através de dados provenientes de simples exames laboratoriais, porém a qualidade do ajuste depende da quantidade e qualidade dos dados laboratoriais. A informação produzida por este modelo pode ser útil na determinação do risco de recaída e no desenvolvimento de novos protocolos personalizados de tratamento, haja visto que ensaios clínicos randomizados são desafiadores posto o frequente baixo recrutamento de pacientes.

8. BIBLIOGRAFIA

AFENYA, E. Acute leukemia and chemotherapy: a modeling viewpoint. **Mathematical Biosciences**, v. 138, n. 2, p. 79–100, dez. 1996.

AFENYA, E. K.; BENTIL, D. E. Some perspectives on modeling leukemia. **Mathematical Biosciences**, v. 150, n. 2, p. 113–130, 15 jun. 1998.

BACH, P. B. Limits on Medicare's ability to control rising spending on cancer drugs. **The New England Journal of Medicine**, v. 360, n. 6, p. 626–633, 5 fev. 2009.

BOUIZEM, N. et al. Leukemia mathematical model. **ITM Web of Conferences**, v. 4, p. 1006, 2015.

BREITMAN, T. R.; SELONICK, S. E.; COLLINS, S. J. Induction of differentiation of the human promyelocytic leukemia cell line (HL-60) by retinoic acid. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 77, n. 5, p. 2936–2940, 1 maio 1980.

CARDINALE, D. et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. **Circulation**, v. 131, n. 22, p. 1981–1988, 2 jun. 2015.

CASTAIGNE, S. et al. All-trans retinoic acid as a differentiation therapy for acute promyelocytic leukemia. I. Clinical results [see comments]. **Blood**, v. 76, n. 9, p. 1704–1709, 1 nov. 1990.

CLARKSON, B. D. Acute myelocytic leukemia in adults. **Cancer**, v. 30, n. 6, p. 1572–1582, 1 dez. 1972.

COLLI, L. M. M. et al. Burden of non-synonymous mutations among TCGA cancers and candidate immune checkpoint inhibitor responses. **Cancer Research**, p. canres.0170.2016, 18 maio 2016.

DE PILLIS, L. G.; RADUNSKAYA, A. E.; WISEMAN, C. L. A validated mathematical model of cell-mediated immune response to tumor growth. **Cancer Research**, v. 65, n. 17, p. 7950–7958, 1 set. 2005.

DORLHIAC-LLACER, P. E. et al. In vitro cytotoxicity of the LDE: daunorubicin complex in acute myelogenous leukemia blast cells. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research = Revista Brasileira De Pesquisas Medicas E Biologicas**, v. 34, n. 10, p. 1257–1263, out. 2001.

ESTEY, E. et al. Use of all-trans retinoic acid plus arsenic trioxide as an alternative to chemotherapy in untreated acute promyelocytic leukemia. **Blood**, v. 107, n. 9, p. 3469–3473, 1 maio 2006.

FASSONI, A. C. **Modelos matemáticos em câncer abordando fase inicial e tratamento de tumor avascular**. Tese de Doutorado—Campinas - SP: Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP, 2016.

FASSONI, A. C.; YANG, H. M. Modeling dynamics for oncogenesis encompassing mutations and genetic instability. **Mathematical Medicine and Biology: A Journal of the IMA**, [s.d.].

FRANKEL, S. R. et al. The “retinoic acid syndrome” in acute promyelocytic leukemia. **Annals of Internal Medicine**, v. 117, n. 4, p. 292–296, 15 ago. 1992.

GALLAGHER, R. E. et al. Association of PML-RAR alpha fusion mRNA type with pretreatment hematologic characteristics but not treatment outcome in acute promyelocytic leukemia: an intergroup molecular study. **Blood**, v. 90, n. 4, p. 1656–1663, 15 ago. 1997.

GREER, J. P.; ARBER, D. A.; RODGERS, G. M. **Wintrobe’s Clinical Hematology**. [s.l.] Wolters Kluwer / Lippincott Williams [et] Wilkins, 2014.

HECHT, A. et al. A molecular risk score integrating BAALC, ERG and WT1 expression levels for risk stratification in acute promyelocytic leukemia. **Leukemia Research**, 20 ago. 2015.

HIRSCH, M. W.; SMALE, S.; DEVANEY, R. L. **Differential Equations, Dynamical Systems, and an Introduction to Chaos**. [s.l.] Academic Press, 2004.

HUANG, M. E. et al. Use of all-trans retinoic acid in the treatment of acute promyelocytic leukemia. **Blood**, v. 72, n. 2, p. 567–572, 1 ago. 1988.

ILAND, H. J. et al. All-trans-retinoic acid, idarubicin, and IV arsenic trioxide as initial therapy in acute promyelocytic leukemia (APML4). **Blood**, v. 120, n. 8, p. 1570–1580; quiz 1752, 23 ago. 2012.

JR, V. T. D.; LAWRENCE, T. S.; ROSENBERG, S. A. **DeVita, Hellman, and Rosenberg’s Cancer: Principles & Practice of Oncology**. [s.l.] Wolters Kluwer Health, 2015.

KAWAMURA, T. Interpretação de um teste sob a visão epidemiológica: eficiência de um teste. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 79, n. 4, p. 437–441, out. 2002.

KOBOROVA, O. N. et al. In silico method for identification of promising anticancer drug targets. **SAR and QSAR in environmental research**, v. 20, n. 7–8, p. 755–766, out. 2009.

LEVIS, B. E.; BINKLEY, P. F.; SHAPIRO, C. L. Cardiotoxic effects of anthracycline-based therapy: what is the evidence and what are the potential harms? **The Lancet Oncology**, v. 18, n. 8, p. e445–e456, 1 ago. 2017.

LIU, Y.-J. et al. Long-term survey of outcome in acute promyelocytic leukemia: a single center experience in 340 patients. **Medical Oncology (Northwood, London, England)**, v. 28 Suppl 1, p. S513-521, dez. 2011.

LO-COCO, F. et al. Retinoic acid and arsenic trioxide for acute promyelocytic leukemia. **The New England Journal of Medicine**, v. 369, n. 2, p. 111–121, 11 jul. 2013.

MARTINEZ, E. Z.; LOUZADA, F.; PEREIRA, B. A curva ROC para testes diagnósticos. **Cad Saúde Coletiva**, v. 11, p. 7–31, 1 jan. 2003.

OGUNDIMU, E. O.; ALTMAN, D. G.; COLLINS, G. S. Adequate sample size for developing prediction models is not simply related to events per variable. **Journal of Clinical Epidemiology**, v. 76, p. 175–182, ago. 2016.

POMPÊO, M. L. M. **Perspectivas da limnologia no Brasil**. [s.l.] Universidade Federal do Maranhão/Departamento de Oceanografia e Limnologia, 1999.

PUBCHEM. **Daunorubicin**. Disponível em: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/30323>. Acesso em: 3 jun. 2018.

REGO, E. M. et al. Improving acute promyelocytic leukemia (APL) outcome in developing countries through networking, results of the International Consortium on APL. **Blood**, v. 121, n. 11, p. 1935–1943, 14 mar. 2013.

REGO, E. M.; JÁCOMO, R. H. Epidemiology and Treatment of Acute Promyelocytic Leukemia in Latin America. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 3, n. 1, 24 out. 2011.

RUBINOW, S. I.; LEBOWITZ, J. L. A mathematical model of neutrophil production and control in normal man. **Journal of Mathematical Biology**, v. 1, n. 3, p. 187–225, 1975.

RUBINOW, S. I.; LEBOWITZ, J. L. A mathematical model of the acute myeloblastic leukemic state in man. **Biophysical Journal**, v. 16, n. 8, p. 897–910, ago. 1976.

SANZ, M. A. et al. Definition of relapse risk and role of nonanthracycline drugs for consolidation in patients with acute promyelocytic leukemia: a joint study of the PETHEMA and GIMEMA cooperative groups. **Blood**, v. 96, n. 4, p. 1247–1253, 15 ago. 2000.

SANZ, M. A. et al. Risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukemia based on all-trans retinoic acid and anthracycline with addition of cytarabine in consolidation therapy for high-risk patients: further improvements in treatment outcome. **Blood**, v. 115, n. 25, p. 5137–5146, 24 jun. 2010.

SANZ, M. A. et al. All-trans retinoic acid with daunorubicin or idarubicin for risk-adapted treatment of acute promyelocytic leukaemia: a matched-pair analysis of the PETHEMA LPA-2005 and IC-APL studies. **Annals of Hematology**, v. 94, n. 8, p. 1347–1356, 1 ago. 2015.

SOTOMAYOR, J.; MELLO, L. F.; BRAGA, D. DE C. Bifurcation analysis of the Watt governor system. **Computational & Applied Mathematics**, v. 26, n. 1, p. 19–44, 2007.

STONE, R. M. et al. Complete remission in acute promyelocytic leukemia despite persistence of abnormal bone marrow promyelocytes during induction therapy: experience in 34 patients. **Blood**, v. 71, n. 3, p. 690–696, 1 mar. 1988.

TALLMAN, M. S. et al. All-trans-Retinoic Acid in Acute Promyelocytic Leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 337, n. 15, p. 1021–1028, 9 out. 1997.

TEAGUE, R. M.; KLINE, J. Immune evasion in acute myeloid leukemia: current concepts and future directions. **Journal for Immunotherapy of Cancer**, v. 1, p. 13, 27 ago. 2013.

TELLO, J. M. S. **Lições de equações diferenciais ordinárias**. [s.l.] Inst. de matemática pura e aplicada, 1979.

TERSTAPPEN, G. C.; REGGIANI, A. In silico research in drug discovery. **Trends in Pharmacological Sciences**, v. 22, n. 1, p. 23–26, 1 jan. 2001.

WANG, Z.-Y.; CHEN, Z. Acute promyelocytic leukemia: from highly fatal to highly curable. **Blood**, v. 111, n. 5, p. 2505–2515, 1 mar. 2008.

WARRELL, R. P. et al. Differentiation Therapy of Acute Promyelocytic Leukemia with Tretinoin (All-trans-Retinoic Acid). **New England Journal of Medicine**, v. 324, n. 20, p. 1385–1393, 16 maio 1991.

WERNER, B. et al. Dynamics of leukemia stem-like cell extinction in acute promyelocytic leukemia. **Cancer Research**, v. 74, n. 19, p. 5386–5396, 1 out. 2014.

YANG, H. M. et al. Fitting the Incidence Data from the City of Campinas, Brazil, Based on Dengue Transmission Modellings Considering Time-Dependent Entomological Parameters. **PloS One**, v. 11, n. 3, p. e0152186, 2016.