

**MODELAMIENTO MATEMÁTICO PARA EL
ESTUDIO DE CRECIMIENTO TUMORAL Y LA
RESISTENCIA A LOS FARMACOS ANTI
NEOPLÁSICOS**

MARDUCK MONTOYA HENAO

**Universidad del Tolima
Facultad de Ciencias
Departamento de Matemáticas
Ibagué Tolima**

2014

**MODELAMIENTO MATEMÁTICO PARA EL
ESTUDIO DE CRECIMIENTO TUMORAL Y LA
RESISTENCIA A LOS FARMACOS ANTI
NEOPLÁSICOS**

MARLUCK MONTOYA HENAO

Monografía presentada al curso
Proyecto Supervisionado MS777 de la
Universidad estadual de Campinas
(UNICAMP), en el Area de Biomatemática.

Prof. Dr. Laercio luis Vendite
Orientador

Universidad del Tolima
Facultad de Ciencias
Departamento de Matemáticas
Ibagué Tolima

2014

Ibagué Tolima, Diciembre 20 de 2014

A mis padres Sandra Milena y Octavio y mis hermanas Dayana y Caren, son mi
felicidad.

Acknowledgments

Le doy gracias a mi gran Dios y salvador Jesucristo por sus misericordias y por sus grandes bendiciones.

Agradezco a mis padres por todo su amor, apoyo y paciencia. Sin su compañía y aliento no hubiese sido posible terminar mis estudios de pregrado.

Agradezco a mis padres y hermanas, siempre me animaron y apoyaron en mis momentos más difíciles del pregrado.

Agradezco a mi director de tesis, profesor Laércio Luis Vendite por proponerme este trabajo de investigación. Especialmente le agradezco su incondicional apoyo, acertada dirección y esmerada dedicación.

Agradezco al comité de evaluación conformado por los profesores Pedro Isaza y Juan Carlos Muñoz, por su gran disposición para revisar de manera rigurosa este trabajo. Les agradezco sus valiosas correcciones, observaciones y sugerencias que permitieron mejorar este documento.

Agradezco a los profesores del Departamento de Matemáticas de la Universidad de Campinas(Brasil) y de la Universidad del Tolima(Colombia). Todos de una u otra forma contribuyeron a mi formación académica y personal. En especial agradezco a aquellos con los que tuve la oportunidad de compartir un poco más de cerca por medio de los cursos, como el profesor João Frederico C. A. Meyer de Biomatemática I.

Agradezco a todos mis compañeros del pregrado que me brindaron su amistad, especialmente a mi compañero y amigo Dairo A. Cuellar, quien fué de mucha ayuda durante la tesis.

Agradezco a la Universidad del Tolima por otorgarme la comisión de estudios y de igual manera a todos mis compañeros y profesores del Departamento de Matemáticas de la Universidad del Tolima.

Contents

Introduction	viii
1 MODELAMIENTO MATEMÁTICO PARA EL ESTUDIO DE CRECIMIENTO TUMORAL Y LA RESISTENCIA A LOS FARMACOS ANTI NEOPLÁSICOS	1
1.1 PRELIMINARES	1
1.2 Fundamentos en Dinamica Poblacional	1
1.2.1 Modelo Malthusiano	2
1.2.2 Modelo Verhulstiano	2
2 MODELO MATEMÁTICO PARA EL CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTI-BLÁSTICOS	4
2.1 El problema de la resistencia celular a los farmacos Anti-Blasticos . . .	4
2.1.1 Resistencia Temporaria	4
2.1.2 Resistencia Permanente	5
2.2 Modelo Matemático Para Una Población Tumoral Sobre el Efecto De Un Fármaco	5
2.2.1 Destrucción Celular Debido al Empleo de Quimioterápicos: La Hipótesis de "Cell-Kill"	8
2.2.2 Modelo Matemático Para Una Población Tumoral Sobre el Efecto de Una Terapia alternada con la Acción de Dos Fármacos "Non Cross Resistent"	11
2.3 Aplicación	22
2.3.1 Estimativas para los Parametros r y F	22
2.4 Conclusiones	28
Bibliography	29

Introduction

Este trabajo tiene como objetivo principal estudiar algunos modelos matemáticos determinísticos con la intención de interpretar el fenómeno de fármaco-resistencia. En los años 70, Goldie e Coldman retomaron una conjetura de Luria y Delbruck sobre la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos y crearon la hipótesis de la posibilidad de que la resistencia a los fármacos antiblasticos era un factor fenotípico intrínseco de mutaciones espontáneas ocurridas en los tumores humanos. A partir de esas consideraciones se implementaron nuevos factores para la interpretación de la resistencia celular y fue posible construir algunos modelos matemáticos que consideran estos factores. teniendo en cuenta que la fármaco resistencia causada por la mutación espontánea de las células es un fenómeno inevitable y que este hecho influencia de una forma determinística en la respuesta al tratamiento antiblastico, podemos entender la importancia de estudiar las características que envuelven una población tumoral después de la aplicación de los fármacos.

A finales del siglo XVIII, se comenzo a usar la matemática para describir el crecimiento de una población. Uno de los modelos más familiares fue propuesto por el economista T.R.Malthus, su hipótesis básica era que la tasa de crecimiento de una población humana crecería exponencialmente, sin ningún obstáculo, como hambre, guerra,etc y que todos los humanos seriamos iguales y tendrían el mismo comportamiento. Otro modelo es del psicólogo P.F. Verhulst en 1838. él propone que la población humana está siempre predispuesta a una serie de obstáculos para su crecimiento y su cantidad tiende asintóticamente a una constante a medida de que el tiempo crece.

Chapter 1

MODELAMIENTO MATEMÁTICO PARA EL ESTUDIO DE CRECIMIENTO TUMORAL Y LA RESISTENCIA A LOS FARMACOS ANTI NEOPLÁSICOS

1.1 PRELIMINARES

1.2 Fundamentos en Dinamica Poblacional

La tentativa de usar matemática para describir el crecimiento de una población humana viene desde el siglo XVIII.

Los dos modelos mas familiares son el propuesto por el economista T.R. Malthus y el propuesto por el sociologo belga P.F. Verhulst.

Actualmente existen varios modelos, algunos llevado a ecuaciones diferenciales funcionales y a problemas matemáticos sofisticados e interesantes. Un punto importante es que podemos determinar un fenómeno como determinístico o estocástico.

Ahora veremos dos modelos básicos continuos y deterministas: modelo de Malthus y de Verhulst.

1.2.1 Modelo Malthusiano

En 1798 fue formulado este modelo por T.R. Malthus, su hipótesis básica es que la tasa instantánea de crecimiento de una población es proporcional al tamaño de la población misma. Malthus supone que la tasa de crecimiento n y de muerte m por unidad de población son constantes. Sea $X(t)$ el tamaño de una población en el instante t . El modelo es:

$$X(t + \Delta t) = X(t) + nX(t)\Delta t - mX(t)\Delta t, \quad t \geq 0.$$

De donde

$$\frac{X(t + \Delta t) - X(t)}{\Delta t} = (n - m)X(t).$$

Sí suponemos que la función $X(t)$ es diferenciable en $t \geq 0$, entonces podemos suponer la ecuación diferencial:

$$\frac{dX(t)}{dt} = (n - m)X(t).$$

Resolviendo la anterior ecuación diferencial tenemos que:

$$X(t) = X(0)\exp(\alpha t) \quad \text{con } \alpha = n - m$$

donde α es llamado el parametro Malthusiano y $x(0)$ es el tamaño de la población en el instante $t = 0$. El comportamiento de $X(t)$ depende de α .

1.2.2 Modelo Verhulstiano

Paul Verhulst en 1838 sabía que el "feed-back negativo" en una tasa de crecimiento poblacional, debido al desequilibrio entre el crecimiento geométrico de una población humana y el crecimiento aritmético de los recursos alimenticios. Él asumía que la tasa de natalidad decrece y que la tasa de mortalidad crece linealmente con el tamaño de la población. Sea la tasa de natalidad $n(t)$ dada por la ecuación $n(t) = n_0 - n_1X(t)$ y la tasa de mortalidad $m(t)$ dada por la ecuación $m(t) = m_0 + m_1X(t)$ con $n_0, n_1, m_0, m_1 > 0$ y $n_0 > m_0$. El modelo es :

$$\frac{dX(t)}{dt} = (n(t) - m(t))X(t)$$

Esto es,

$$\frac{dX(t)}{dt} = (m_1 + n_1)\left[\frac{n_0 - m_0}{n_1 + m_1} - X(t)\right]X(t).$$

Si $r = m_1 + n_1$ y $a = \frac{n_0 - m_0}{n_1 + m_1}$ entonces la ecuación anterior se reduce a

$$\frac{dX}{dt} = r(a - X)X$$

denominada ecuación de Verhulst. En este caso el termino $rax(t)$ es la diferencia entre la tasa de nacimiento y la tasa de mortalidad; $-rx(t)^2$ puede ser visto como el factor limitante del crecimiento poblacional. En este caso podemos observar simplemente que cuando $x(t) > a$ la población decrece, pues con esa condición, la derivada de $x(t)$ es negativa.

Resolviendo la ecuación $\frac{dx}{dt} = rax - rx^2$ con $x_0 = x(0)$ (tamaño de la población en $t=0$), tenemos que:

$$x(t) = \frac{ax_0}{x_0 + (a - x_0)e^{-art}} \tag{1.1}$$

Esta formula es denominada lei logistica de crecimiento.

Observaciones:

1. sí $x_0 < a \Rightarrow x_0 < x_0 + (a - x_0)e^{-art}$, entonces tenemos que $x(t) < a$, así x_t nunca se excedera cuando el tiempo crezca indefinidamente.
2. sí $a \gg x_0$, entonces para valores pequeños de t , $e^{-rat} \gg x_0$ y el termino $e^{-rat} \approx x_0 + (a - x_0)e^{-art}$ y por tanto $x(t) = \frac{ax_0}{ae^{-rat}} \rightarrow x(t) = x_0e^{rat}$, (Ecuación de Malthus). Podemos entonces afirmar que en el inicio tenemos poca interferencia al crecimiento exponencial.
3. sí $x_0 > a$ entonces $x(t) > a$ y se aproxima cuando el tiempo crece indefinidamente.

Chapter 2

MODELO MATEMÁTICO PARA EL CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTI-BLÁSTICOS

2.1 El problema de la resistencia celular a los fármacos Anti-Blasticos

podemos distinguir dos tipos de resistencia celular a los fármacos anti-blasticos: temporaria y permanente.

2.1.1 Resistencia Temporaria

Algunas células pueden mostrar resistencia a un determinado tipo de tratamiento farmacológico debido a que están situadas en lugares privilegiados llamados "santuarios anatómicos", de difícil acceso para los fármacos como los testículos, ojos y el sistema nervioso central, donde la barrera vascular impide la difusión de los fármacos. Este fenómeno también se da al interior de un tumor de masa muy grande, donde las células que se encuentran en el núcleo son privilegiadas ya que no son alcanzadas por los fármacos. A esta región la podemos denominar como "santuario tumoral".

También tenemos que la variación de la cinética tumoral puede determinar una resistencia temporaria a los fármacos, pues un fármaco que destruye una fracción constante de células puede parecer ineficaz si el tumor tiene una fracción más baja de crecimiento,

o sí el número de células fuera excesivo. Son observados también innumerables posibilidades de mecanismos biofísicos y bioquímicos, individuados a nivel celular, responsables por la resistencia temporaria a los fármacos.

Existen situaciones en que la concentración intra-celular del fármaco es suficiente, pero resulta igualmente ineficaz por la excesiva actividad de enzimas (ejemplo: resistencia del metabolismo), o por la utilización de una vía metabólica alternativa (ej. resistencia a los anti-metabolizantes), o por una rápida regeneración de una lesión citotóxica (ej. resistencia a los agentes alquilantes).

2.1.2 Resistencia Permanente

Luria y Delbrück en 1943 realizaron una importante observación en bacteriología. Ellos observaron que las bacterias se volvían resistentes a los bactericidas, sin un precedente contacto. Existe entonces una capacidad intrínseca de las bacterias para adquirir resistencia debida a una mutación espontánea que consiste en cambios genéticos permanentes. Esta observación también es válida en los tumores, los cuales desenvuelven resistencia fenotípica a los fármacos anti-blasticos.

La resistencia fenotípica se divide en: intrínseca y extrínseca.

La resistencia extrínseca se trata de una selección ambiental que opera sobre una población genéticamente heterogénea debido a las mutaciones naturales. Las mutaciones espontáneas es un proceso natural de las células tumorales las cuales son genéticamente inestables, las células normales no desenvuelven resistencia debido a que son genéticamente estables.

Las mutaciones en dirección al fármaco-resistencia constituye un obstáculo para el tratamiento quimioterápico, sin embargo este problema puede ser superado con la aplicación de una asociación de fármacos alternando a cada ciclo.

En la realidad la situación no es tan simple, pues en el interior de un tumor existen subpoblaciones resistentes a dos o más fármacos, independientes una de la otra, y por eso si un fármaco empleado en el programa poliquimioterápico, no, este tipo de estrategia terapéutica también resultara ineficaz.

2.2 Modelo Matemático Para Una Población Tumoral Sobre el Efecto De Un Fármaco

Principalmente se estudia el comportamiento clínico sin la presencia de otro fármaco para conocer el grado de resistencia celular del fármaco, ya presente en el tumor, esto antes de iniciar la terapia. Sea $N(t)$ la medida de la masa tumoral en el instante

t, expresado en número de células. S es la población sensible y R es la población resistente del tumor. R y S son especies en competición en N, es decir que la presencia de una de ellas influye en el crecimiento de la otra. Supongamos que S tiene tendencia a mutar espontáneamente adquiriendo resistencia fenotípica al fármaco de ($0 < \alpha < 1$). Luego el sistema será:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = rS(1 - K(S + R)) - \alpha rS(1 - K(S + R)) \\ \frac{dR}{dt} = rR(1 - K(S + R)) + \alpha rS(1 - K(S + R)) \end{cases} \quad (2.1)$$

con las condiciones iniciales: $S(t_0) = S_0 > 0$ y $R(t_0) = R_0 \geq 0$, donde $\alpha rS(1 - K(S + R))$ es la cantidad debida a la mutación, r es la tasa de crecimiento Malthusiana del tumor, α es la probabilidad de que una célula presente mutación en dirección a la farmacoresistencia, y $\frac{1}{K}$ es la máxima medida que el tumor puede alcanzar. Supongamos que $N = S + R$, entonces sumando las ecuaciones del sistema tenemos

$$\frac{dS}{dt} + \frac{dR}{dt} = \frac{dN}{dt}.$$

Luego la ecuación que describe el crecimiento tumoral es dado por

$$\frac{dN}{dt} = rN(1 - KN). \quad (2.2)$$

Esta es la ecuación logística de Verhulst de crecimiento para el tumor. Ahora, si colocamos las condiciones iniciales $t=0$ y $N(0)=1$ entonces haciendo los calculos tenemos:

$$\begin{aligned} \frac{dN}{rN(1 - KN)} &= dt \\ \frac{1}{r} \left(\frac{1}{N} + \frac{1}{\frac{1}{K} - N} \right) dN &= dt \\ \frac{1}{r} \int \left(\frac{1}{N} + \frac{1}{\frac{1}{K} - N} \right) dN &= t + c \\ \frac{1}{r} (\ln N - \ln(1 - KN)) &= t + c \\ \frac{1}{r} \left(\ln \left(\frac{N}{1 - KN} \right) \right) &= t + c \\ \ln \left(\frac{N}{1 - KN} \right) &= r(t + c) \\ \frac{N}{(1 - KN)} &= e^{r(t+c)} \\ \frac{N}{(1 - KN)} &= e^{rt} e^{rc} \\ N &= \frac{e^{rc} K}{e^{rc} + e^{-rt}}. \end{aligned}$$

Sí colocamos $t = 0$ y $n(0) = 1$, obtenemos

$$N(t) = \frac{1}{K - (k - 1)e^{-rt}} \quad (2.3)$$

cuando $t \rightarrow \infty$ consecuentemente $N(t) = \frac{1}{k}$.

En el caso en que $N(0) = N_0$ la solución para la ecuación del desenvolvimiento tumoral es

$$N(t) = \frac{N_0}{N_0 K + (1 - kN_0)e^{-rt}} \quad (2.4)$$

luego reescribiendo el sistema en función de N y R utilizando la ecuación (8) obtenemos:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = rN(1 - KN) \\ \frac{dR}{dt} = rR(1 - KN) + \alpha r(N - R)(1 - KN) \end{cases} \quad (2.5)$$

con $N(0) = N_0 > 0$ y $R(0) = R_0 \geq 0$.

De este sistema se puede encontrar una relación entre R y N es decir que dado un tumor de medida N es posible encontrar la masa resistente R . Sea:

$$\frac{\frac{dR}{dt}}{\frac{dN}{dt}} = \frac{R}{N} + \alpha \left(1 - \frac{R}{N}\right) \quad (2.6)$$

y como

$$\frac{d\left(\frac{R}{N}\right)}{dt} = \frac{\frac{dR}{dt}N - R\frac{dN}{dt}}{N^2} = \frac{\frac{dR}{dt}}{N} - R\frac{\frac{dN}{dt}}{N^2} \quad (2.7)$$

Despejando

$$(2.8)$$

$$\frac{\frac{dR}{dt}}{\frac{dN}{dt}} = \frac{R}{N} + \frac{Nd\left(\frac{R}{N}\right)}{\left(\frac{dN}{dt}\right)dt} \quad (2.9)$$

luego, igualando obtenemos

$$(2.10)$$

$$\frac{R}{N} + \alpha \left(1 - \frac{R}{N}\right) = \frac{R}{N} + \frac{Nd\left(\frac{R}{N}\right)}{\left(\frac{dN}{dt}\right)dt} \quad (2.11)$$

$$\frac{\frac{d\left(\frac{R}{N}\right)}{dt}}{1 - \frac{R}{N}} = \frac{\alpha \left(\frac{dN}{dt}\right)}{N} \quad (2.12)$$

ahora, resolviendo queda que :

(2.13)

$$\ln\left(1 - \frac{R}{N}\right) = -\alpha \ln(N + C) \quad (2.14)$$

luego, si $R=0$ cuando $N=1$, entonces $R = N(1 - N^{-\alpha})$ y cuando $t \rightarrow \infty$ acontece que:

$$N(t) \rightarrow \frac{1}{K} \quad (2.15)$$

y

$$R(t) \rightarrow \frac{1}{K}(1 - K^\alpha) \quad (2.16)$$

por tanto una solución estacionaria para el sistema (13) es

$$\psi(t) = \left(\begin{array}{c} \frac{1}{K} \\ \frac{1}{K}(1 - K^\alpha) \end{array} \right) \quad (2.17)$$

y una solución estacionaria para el sistema (7) es

$$\psi_1(t) = \left(\begin{array}{c} K^{-(1-\alpha)} \\ \frac{1}{K}(1 - K^\alpha) \end{array} \right) \quad (2.18)$$

2.2.1 Destrucción Célular Debido al Empleo de Quimioterápicos: La Hipótesis de "Cell-Kill"

La capacidad de los fármacos antiblasticos de destruir las células tumorales fueron estudiados por H.E. Skipper y F.M. Schbell, tomado como base la hipótesis de "Cell-Kill" que consiste en que las acciones de los fármacos siguen cinética de primer orden es decir una dosis dada mata a una proporción constante de una población de células tumorales (en lugar de un número constante de células). En la literatura médica los tratamientos son clasificados tomando como base un número llamado "Log-Kill", esto es, un fármaco tiene Log-Kill igual n si este reduce una población de N células a $\frac{N}{10^n}$ células.

En nuestros modelos a ser construidos consideraremos dos hipótesis exclusivas de destrucción:

1. Un cierto fármaco destruye una fracción constante de la población sensible de forma instantánea.

2. Un cierto fármaco destruye una fracción constante de la población sensible en un intervalo de tiempo.

Para la hipótesis 1. , supongamos que el fármaco es administrado a cada intervalo de un periodo T fijo y que destruye una fracción F de la población tumoral sensible, por tanto tenemos un sistema lineal sujeto a impulsos a tiempo fijo, es decir:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = r(1 - \alpha)S(1 - K(S + R)) \\ \frac{dR}{dt} = r(R - \alpha S)(1 - K(S + R)) \end{cases} \quad (2.19)$$

con $S(0) = S_0 > 0$ y $R(0) = R_0 \geq 0$.

A cada intervalo de período T fijo el fármaco reduce la población $S(KT)$ a $(1 - F)S(KT)$, $K = 1, 2, 3, \dots$. Por tanto tomando el sistema en torno al punto (0,0) para verificar la posibilidad de extinguir totalmente el tumor. luego tenemos:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = r(1 - \alpha)S \\ \frac{dR}{dt} = r\alpha S + rR \end{cases} \quad (2.20)$$

con $S(0) = S_0$ y $R(0) = R_0$.

luego:

$$A = \begin{bmatrix} r(1 - \alpha) & 0 \\ r\alpha & r \end{bmatrix} \quad (2.21)$$

y

$$B = \begin{bmatrix} -F & 0 \\ 0 & 0 \end{bmatrix} \quad (2.22)$$

y

$$X(t) = \begin{bmatrix} S(t) \\ R(t) \end{bmatrix}, X(0) = \begin{bmatrix} S_0 \\ R_0 \end{bmatrix} \quad (2.23)$$

luego la solución para t entre KT y $(K + 1)T$:

$$X(T) = e^{(t-KT)A}((I + B)e^{TA})^K X(0) \quad (2.24)$$

Así analizaremos el comportamiento de los autovalores de la matriz

$X(T) = (I + B)e^{TA}$ para conocer el comportamiento de las soluciones.

$$X(t) = (I + B)e^{tA} = \begin{bmatrix} (1 - F)e^{r(1-\alpha)t} & 0 \\ e^{rt} - e^{r(1-\alpha)t} & e^{rt} \end{bmatrix}, \quad (2.25)$$

ahora sea:

$$\det(X(T) - \alpha I) = 0$$

, resolviendo tenemos que:

$$\alpha_1 = (1 - F)e^{r(1-\alpha)T}\alpha_2 = e^{rT} \quad (2.26)$$

Entonces para $F > 1 - e^{-r(1-\alpha)T}$ tenemos $\alpha_1 < 1$ es decir las células sensibles tienden a extenderse. Luego como $\alpha_2 = e^{rT}$ y $r > 0$, tenemos que α_2 es siempre mayor que 1, entonces existe solución ilimitada lo que es un caso de inestabilidad, es decir que el tumor sera todo resistente.

Ahora utilizando la hipotesis 2. el sistema (13) sera modificado así:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = rN(1 - KN) - F(N - R) \\ \frac{dR}{dt} = rR(1 - KN) + \alpha r(N - R)(1 - KN) \end{cases} \quad (2.27)$$

Donde $F(N-R)$ es la parte debida a la destrucción del fármaco. Podemos suponer que la terapia inicia en $t = 0$ es que $N(0) = N_0$ y por tanto $R(0) = R_0 = N_0(1 - N_0^{-\alpha})$. Ahora para estudiar el comportamiento asintotico de las soluciones, primero encontramos los puntos de equilibrio o puntos criticos del sistema (36) igualando a cero el sistema así:

$$rN(1 - KN) - F(N - R) = 0 \quad (2.28)$$

$$rR(1 - KN) + \alpha r(N - R)(1 - KN) = 0 \quad (2.29)$$

luego igualamos

$$rN(1 - KN) - F(N - R) = rR(1 - KN) + \alpha r(N - R)(1 - KN) \quad (2.30)$$

y resolviendo las ecuaciones algebraicas conseguimos decir que los puntos de equilibrio son $P_1 = (0, 0)$ y $(\frac{1}{K}, \frac{1}{K})$. Luego haciendo el comportamiento asintótico alrededor de estos puntos de equilibrio ,tenemos que en relación a $P_1 = (0, 0)$ el sistema lineal asociado será:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = rN - F(N - R) \\ \frac{dR}{dt} = rR + \alpha r(N - R) \end{cases} \quad (2.31)$$

Logo para encontrar los autovalores resolvemos:

$$\begin{bmatrix} (r - F) - \alpha & F \\ r\alpha & r(1 - \alpha) - \alpha \end{bmatrix} = 0 \quad (2.32)$$

luego resolviendo el determinante, obtenemos:

$$\alpha^2 - (2r - F - r\alpha)\alpha + r(r(1 - \alpha) - F) = 0 \quad (2.33)$$

entonces los autovalores son:

$$\alpha_1 = r(1 - \alpha) - F \quad (2.34)$$

$$\alpha_2 = r \quad (2.35)$$

$$(2.36)$$

Si $F > r(1 - \alpha)$, entonces $\alpha_1 < 0$ y $\alpha_2 > 0$ por eso el punto P_1 es un punto crítico inestable.

Ahora para el punto $P_2 = (\frac{1}{k}, \frac{1}{k})$ el sistema lineal asociado, usando las siguientes transformaciones $N = x + \frac{1}{k}$ y $R = y + \frac{1}{k}$ será:

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = -(r + F)x + Fy \\ \frac{dy}{dt} = rx \end{cases} \quad (2.37)$$

La ecuación característica asociado es: $\alpha^2 + (r + F)\alpha + Fr = 0$, resolviendo obtenemos que las raíces son $\alpha_1 = -F$ y $\alpha_2 = -r$ luego α_1 y α_2 son menores que cero, de esa manera P_2 es un punto crítico asintóticamente estable. es decir que al rededor de este punto todas las trayectorias tienden a $(\frac{1}{k}, \frac{1}{k})$ con lo que se puede afirmar que todo el tumor será resistente. Podemos afirmar que después de un tratamiento eficaz, si la masa tumoral fuera reducida a un número muy pequeño, menor de 10^5 células, la defensa inmunológica del organismo puede completar la acción de los fármacos, destruyendo las células restantes. Por eso, la eficacia de la monoquimioterapia reduce la masa tumoral en el orden de 10^5 . y en ciertos casos como los tumores en "stadío" avanzados podemos preveer que la quimioterapia será un fracaso.

2.2.2 Modelo Matemático Para Una Población Tumoral Sobre el Efecto de Una Terapia alternada con la Acción de Dos Fármacos "Non Cross Resistent"

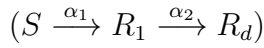
En el caso de un solo fármaco podemos determinar el momento en el que las células resistentes no responden más al tratamiento y el tumor termina por ser todo resistente. Por tanto es claro que se debe adicionar a la terapia un nuevo fármaco que sea capaz de destruir el residuo resistente dejado por el primer fármaco, resolviendo así el problema. Nuestro objetivo es extender el modelo precedente, considerando el crecimiento en el interior del tumor, independiente una de la otra, de dos subpoblaciones R_1 y R_2 que son resistentes al primero y segundo fármaco, respectivamente. Supongamos que en el tratamiento no fueron empleados los dos fármacos simultáneamente, y que el primer

fármaco tiene efecto en la población sensible S y en R_2 ; análogamente con el segundo fármaco que tiene efecto sobre S y sobre R_1 .

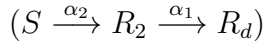
Además de eso dentro de R_1 y R_2 resistentes, habrá una segunda mutación, donde podemos encontrar un fenotipo doblemente resistente R_d .

Para que se produzca una doble resistencia, son necesarias dos etapas, es decir, dos mutaciones:

1. A Partir de una célula sensible S , se pasa a una célula resistente R_1 al primer fármaco con una tasa de mutación α_1 , y después a una célula doblemente resistente R_d con una tasa de mutación α_2 .



2. A Partir de una célula sensible S , se pasa a una célula resistente R_2 al segundo fármaco con una tasa de mutación α_2 , y luego a una célula duplamente resistente R_d con una masa de mutación α_1 .



Con N :Células Tumorales, S :Células Sensibles, R_1 =Células Resistentes al Primer Fármaco, R_2 =Células Resistentes al Segundo Fármaco. Podemos ver que R_d es compuesta de la parte resistente R_1 el cual es sensible al segundo fármaco que se muta, y por una parte resistente R_2 el cual es sensible al primer fármaco que se muta.

Ahora construimos un modelo determinístico continuo para estudiar el comportamiento de S, R_1, R_2 y R_d . Por tanto podemos escribir el siguiente sistema:

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{ds}{dt} = rS(1 - kN) - \alpha_1 rS(1 - kN) - \alpha_2 rS(1 - kN) \\ \frac{dR_1}{dt} = rR_1(1 - kN) + \alpha_1 rS(1 - kN) - \alpha_2 rR_1(1 - kN) \\ \frac{dR_2}{dt} = rR_2(1 - kN) + \alpha_2 rS(1 - kN) - \alpha_1 rR_2(1 - kN) \\ \frac{dR_d}{dt} = rR_d(1 - kN) + \alpha_2 rR_1(1 - kN) + \alpha_1 rR_2(1 - kN) \end{array} \right. \quad (2.38)$$

Sea $N = S + R_1 + R_2 + R_d$ y $rS(1 - kN), rR_1(1 - kN), rR_2(1 - kN), rR_d(1 - kN)$ las partes debidas al crecimiento *Verhulstiano* de cada población; el término $\alpha_1 rS(1 - kN)$ es debida a la primera mutación ($S \xrightarrow{\alpha_1} R_1$) con la tasa de mutación α_1 .

El término $\alpha_2 rS(1 - kN)$ es debida a la primera mutación ($S \xrightarrow{\alpha_2} R_2$).

El término $\alpha_2 rR_1(1 - kN)$ es debida a la primera mutación ($R_1 \xrightarrow{\alpha_2} R_d$).

El término $\alpha_1 rR_2(1 - kN)$ es debida a la primera mutación ($R_2 \xrightarrow{\alpha_1} R_d$).

r = tasa de crecimiento exponencial (Malthus)($r_i 0$).

$\frac{1}{k}$ es el límite del crecimiento tumoral (se considera $K \approx 10^{12}$, dato tomado de libros de Oncología).

$\alpha_1, \alpha_2 =$ son las tasas de mutaciones $0 < \alpha_1, \alpha_2 < 1$.

Reescribiendo el sistema (46) usando la relación $N = S + R_1 + R_2 + R_d$ para que todo en función de N, S, R_1, R_2, R_d , obtendremos:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = rN(1 - kN) \\ \frac{dR_1}{dt} = r(1 - kN)(R_1 + \alpha_1(N - R_1 - R_2 - R_d) - \alpha_2R_1) \\ \frac{dR_2}{dt} = r(1 - kN)(R_2 + \alpha_2(N - R_1 - R_2 - R_d) - \alpha_1R_2) \\ \frac{dR_d}{dt} = r(1 - kN)(\alpha_2R_1 + \alpha_1R_2 + R_d) \end{cases} \quad (2.39)$$

Luego es posible encontrarse una relación, tal que dado un tumor de medida N , sea posible encontrar las masas resistentes R_1, R_2 y R_d .

Sea $x = R_1 + R_2 + R_d$, del sistema (47) tenemos que:

$$\frac{dx}{dt} = r(1 - kN)(x + (\alpha_1 + \alpha_2)(N - x)) \quad (2.40)$$

Por tanto,

$$\frac{\frac{dx}{dt}}{\alpha dNdt} = \frac{x + (\alpha_1 + \alpha_2)(N - x)}{N} \quad (2.41)$$

entonces

$$\frac{dx}{dN} = \frac{x}{N} + (\alpha_1 + \alpha_2)(1 - \frac{x}{N}) \quad (2.42)$$

y como

$$\frac{dx}{dN} = \frac{x}{N} + N \frac{d(\frac{x}{N})}{dN} \quad (2.43)$$

luego

$$\frac{N}{dN} d(\frac{x}{N}) = (\alpha_1 + \alpha_2)(1 - \frac{x}{N}) \quad (2.44)$$

$$\frac{d(\frac{x}{N})}{1 - \frac{x}{N}} = (\alpha_1 + \alpha_2) \frac{dN}{N} \quad (2.45)$$

resolviendo, obtenemos:

$$-\ln\left(1 - \frac{x}{N}\right) = (\alpha_1 + \alpha_2) \ln(N + C) \quad (2.46)$$

si $x = 0$ cuando $N = 1$ entonces $R_1 + R_2 + R_d = 0$, luego:

$$-\ln\left(1 - \frac{x}{N}\right) = (\alpha_1 + \alpha_2) \ln(N) \quad (2.47)$$

$$1 - \frac{x}{N} = N^{-(\alpha_1 + \alpha_2)} \quad (2.48)$$

$$\frac{x}{N} = 1 - N^{-(\alpha_1 + \alpha_2)} \quad (2.49)$$

haciendo $y = R_1 + R_d$ en (47), obtenemos:

$$\frac{dy}{dt} = r((1 - kN)(y + \alpha_1(N - y))) \quad (2.50)$$

$$\frac{dy}{dt} \frac{1}{r(1 - kN)} = (y + \alpha_1(N - y)) \quad (2.51)$$

de (47) tenemos que $\frac{dN}{dt} = rN(1 - kN)$, reemplazando y dividiendo por N , tenemos:

$$\frac{\frac{dy}{dt}}{\frac{dN}{dt}} = \frac{y}{N} + \alpha_1\left(1 - \frac{y}{N}\right) \quad (2.52)$$

$$\frac{dy}{dN} = \frac{y}{N} + \alpha_1\left(1 - \frac{y}{N}\right) \quad (2.53)$$

por tanto

$$\frac{N}{dN} d\left(\frac{y}{N}\right) = \alpha_1\left(1 - \frac{y}{N}\right) \quad (2.54)$$

$$\frac{d\left(\frac{y}{N}\right)}{1 - \frac{y}{N}} = \alpha_1\left(\frac{dN}{N}\right) \quad (2.55)$$

resolviendo, obtenemos:

$$-\ln\left(1 - \frac{y}{N}\right) = \alpha_1(\ln(N + C)) \quad (2.56)$$

si cuando $N = 1$, $y = 0$, entonces $R_1 + R_d = 0$; luego:

$$\ln\left(1 - \frac{y}{N}\right) = \ln(N^{-\alpha_1}) \quad (2.57)$$

aplicamos exponencial así: $\frac{1}{2}$:

$$1 - \frac{y}{N} = N^{-\alpha_1} \quad (2.58)$$

$$\frac{y}{N} = 1 - N^{-\alpha_1} \quad (2.59)$$

haciendo ahora $z = R_2 + R_d$, de (47) obtenemos:

$$\frac{z}{N} = 1 - N^{-\alpha_2} \quad (2.60)$$

ahora sumamos $\frac{y}{N}$, $\frac{z}{N}$ y $\frac{x}{N}$

$$\frac{y}{N} + \frac{z}{N} + \frac{x}{N} = \frac{R_1 + R_d}{N} + \frac{R_2 + R_d}{N} + \frac{R_1 + R_2 + R_d}{N} \quad (2.61)$$

$$= \frac{R_1 + R_d + R_2 + R_d - R_1 - R_2 - R_d}{N} = \frac{R_d}{N} \quad (2.62)$$

es decir:

$$\frac{R_d}{N} = 1 - N^{-\alpha_1} + 1 - N^{-\alpha_2} - 1 + N^{-(\alpha_1 + \alpha_2)} \quad (2.63)$$

$$\frac{R_d}{N} = 1 - N^{-\alpha_1} - N^{-\alpha_2} + N^{-(\alpha_1 + \alpha_2)} \quad (2.64)$$

De esta forma, si conocemos α_1 y α_2 y N entonces podemos calcular la fracción de dupla resistencia $\frac{R_d}{N}$. Sustituyendo este resultado en (67) y (69), podemos encontrar los valores para R_1 y R_2 o sea:

$$\frac{R_1}{N} = N^{-\alpha_2} - N^{-(\alpha_1 + \alpha_2)} \quad (2.65)$$

$$\frac{R_2}{N} = N^{-\alpha_1} - N^{-(\alpha_1 + \alpha_2)} \quad (2.66)$$

supongamos que $\alpha = \alpha_1 = \alpha_2$, entonces

$$R_d = N(1 - N^{-\alpha})^2 \quad (2.67)$$

$$R_1 = R_2 = N^{1-\alpha}(1 - N^{-\alpha}) \quad (2.68)$$

Estas relaciones representan las cantidades resistentes cuando se conoce la masa tumoral N y la tasa de mutación α . Podemos observar por esas expresiones que el fenómeno de la resistencia es bien caracterizado en los tumores de masa muy grande, o en los casos donde la tasa de mutación es alta.

En el problema de la doble resistencia, podemos observar, que solo es eminente en

los casos donde la cantidad de masa es muy grande. Soluciones estacionarias del sistema (2.39): Consideremos que el sistema (2.39) que $\alpha = \alpha_1 = \alpha_2$; entonces podemos reescribir nuestro modelo de la siguiente manera:

$$\begin{cases} \frac{dN}{dt} = rN(1 - KN) \\ \frac{dR_1}{dt} = r(1 - KN)((1 - 2\alpha)R_1) - \alpha R_2 - \alpha R_d + \alpha N \\ \frac{dR_2}{dt} = r(1 - KN)((1 - 2\alpha)R_2) - \alpha_1 R_1 - \alpha R_d + \alpha N \\ \frac{dR_d}{dt} = r(1 - KN)((1 - KN)(\alpha R_1 + \alpha R_2 + R_d)) \end{cases} \quad (2.69)$$

Con las ecuaciones (2.65) y (2.66), analogamente a (2.3) e (2.4) tenemos:

$$\psi(t) = \begin{bmatrix} \frac{1}{K} \\ K^{1-\alpha}(1 - K^{-\alpha}) \\ K^{1-\alpha}(1 - K^{-\alpha}) \\ K(1 - K^{-\alpha})^2 \end{bmatrix} \quad (2.70)$$

es la solución estacionaria para (2.39).

Despues del estudio del grado de resistencia celular existente en un tumor antes del inicio de la terapia, ahora estudiaremos el comportamiento de las poblaciones sensibles y resistentes con la aplicacion de los farmacos. Inicialmente consideraremos un programa terapeutico alternado compuesto de dos terapias A y B, donde se aplicaran dos farmacos, de la siguiente manera:

- i Los farmacos poseen efecto instantaneo en cada periodo de tiempo fijo T, ó
- ii Los farmacos poseen efecto en un intervalo de periodo T el cual es fijo.

desarrollaremos el caso (ii), el cual necesitaremos para nuestro problema:

La hipotesis en el caso (ii) es que la acción del farmaco se realiza en un intervalo de periodo T fijo e nuestro programa terapeutico se realiza con dos farmacos es decir "*non-cross resistant*".

Supongamos que la terapia A es donde actua el primer farmaco en un intervalo de tiempo T fijo, y la terapia B es donde actua el segundo farmaco en el intervalo de tiempo T el cual es fijo. Entonces podemos considerar las siguientes funciones:

$$F(t) = \begin{cases} F_1 \text{ para } t \in [2nT, (2n+1)T] \\ F_2 \text{ para } t \in [(2n+1)T, 2(n+1)T], \quad n = 1, 2, 3, \dots \end{cases}$$

$$F_A(t) = \begin{cases} F_1 \text{ para } t \in [2nT, (2n+1)T] \\ 0 \text{ para } t \in [(2n+1)T, 2(n+1)T], \quad n = 1, 2, 3, \dots \end{cases}$$

$$F_B(t) = \begin{cases} 0 & \text{para } t \in [2nT, (2n+1)T] \\ F_2 & \text{para } t \in [(2n+1)T, 2(n+1)T], \quad n = 1, 2, 3, \dots \end{cases}$$

Donde F_1 es la tasa de destrucción celular debida al primer farmaco y F_2 es la tasa de destrucción celular del segundo farmaco. Ahora podremos escribir el modelo (2.38) de la siguiente manera:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = rS(1 - KN) - \alpha_1 rS(1 - KN) - \alpha_2 rS(1 - KN) - F(t)S \\ \frac{dR_1}{dt} = rR_1(1 - KN) + \alpha_1 rS(1 - KN) - \alpha_2 rR_1(1 - KN) - F_B(t)R_1 \\ \frac{dR_2}{dt} = rR_2(1 - KN) + \alpha_2 rS(1 - KN) - \alpha_1 rR_2(1 - KN) - F_A(t)R_2 \\ \frac{dR_d}{dt} = r(1 - KN)(R_d + \alpha_2 R_1 + \alpha_1 R_2) \end{cases} \quad (2.71)$$

donde $-F(t)S$ es la parte debida a la destrucción de las células sensibles. $-F_B(t)R_1$ es la parte debida a la destrucción de las células resistentes al primer farmaco por la acción del segundo farmaco. $F_A(t)R_2$ es la parte debida a la destrucción de las células resistentes al segundo farmaco por la acción del primer farmaco. Luego, si consideramos en el sistema (2.38) que $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha$ y además que los dos farmacos son igualmente activos $F = F_1 = F_2$, entonces:

$$\begin{cases} \frac{dS}{dt} = r(1 - 2\alpha)S(1 - KN) - FS \\ \frac{dR_1}{dt} = r(1 - \alpha)R_1(1 - KN) + \alpha rS(1 - KN) - F_B(t)R_1 \\ \frac{dR_2}{dt} = r(1 - \alpha)R_2(1 - KN) + \alpha rS(1 - KN) - F_A(t)R_2 \\ \frac{dR_d}{dt} = rR_d(1 - KN) + \alpha r(R_1 + R_2)(1 - KN) \end{cases} \quad (2.72)$$

El sistema lineal asociado de (2.71) de la forma $\frac{dx}{dt} = A(t)x$, sera:

$$x(t) = \begin{bmatrix} S(t) \\ R_1(t) \\ R_2(t) \\ R_d(t) \end{bmatrix}. \quad (2.73)$$

Sea

$$A(t) = \begin{cases} A_1 & \text{los que } \in [2nT, (2n+1)T] \\ A_2 & \text{los que } \in [(2n+1)T, 2(n+1)T], \quad n = 1, 2, 3, \dots \end{cases} \quad (2.74)$$

$$A_1 = \begin{bmatrix} r(1 - 2\alpha) - F & 0 & 0 & 0 \\ r & r(1 - \alpha) & 0 & 0 \\ r & 0 & r(1 - \alpha) - F & 0 \\ 0 & \alpha r & \alpha r & r \end{bmatrix} \quad (2.75)$$

$$A_2 = \begin{bmatrix} r(1-2\alpha) - F & 0 & 0 & 0 \\ r & r(1-\alpha) - F & 0 & 0 \\ r & 0 & r(1-\alpha) & 0 \\ 0 & \alpha r & \alpha r & r \end{bmatrix} \quad (2.76)$$

ahora, la solución entre $0 < t < T$, sera dada por la expresión, $x(t) = e^{tA_1x_0}$; donde

$$x_0 = \begin{bmatrix} S(0) \\ R_1(0) \\ R_2(0) \\ R_d(0) \end{bmatrix}. \text{ Entre } T < t < 2T \text{ la solución sera dada por: } x(t) = e^{(t-T)A_2}e^{TA_1}x_0.$$

Por tanto para, $2nT < t < (2n+1)T$, entonces: $x(t) = e^{t-2nT}A_1(e^{TA_2}e^{TA_1})^n x_0$; por eso $x(2nT) = (e^{TA_2}e^{TA_1})^n x_0$. Para analizar el comportamiento de las soluciones, necesitamos analizar los autovalores de la matriz $x(2T) = e^{TA_2}e^{TA_1}$ (Teorema 4, capitulo I), sabemos que A es periodico, entonces $X(t+2T) = X(t)X(2T)$ y así $X(2nT) = (X(2T))^n$. Ahora, procederemos a calcular la matriz $X(2T) = e^{TA_2}e^{TA_1}$, para obtener e^{TA_1} es suficiente calcular los autovalores de A_1 , entonces, resolveremos $\det(A_1 - \alpha I) = 0$, con esto obtenemos:

$$\begin{aligned} \alpha_1 &= r(1-2\alpha) - F \\ \alpha_2 &= r(1-\alpha) \\ \alpha_3 &= r(1-\alpha) - F \\ \alpha_4 &= r, \end{aligned}$$

luego aplicando el metodo de Putzer, obtenemos:

$$e^{TA_1} = \frac{e^{\alpha_1 T} M_1(A_1)}{(\alpha_1 - \alpha_2)(\alpha_1 - \alpha_3)(\alpha_1 - \alpha_4)} + \frac{e^{\alpha_2 T} M_2(A_1)}{(\alpha_2 - \alpha_1)(\alpha_2 - \alpha_3)(\alpha_2 - \alpha_4)} \\ + \frac{e^{\alpha_3 T} M_3(A_1)}{(\alpha_3 - \alpha_1)(\alpha_3 - \alpha_2)(\alpha_3 - \alpha_4)} + \frac{e^{\alpha_4 T} M_4(A_1)}{(\alpha_4 - \alpha_1)(\alpha_4 - \alpha_2)(\alpha_4 - \alpha_3)}$$

donde:

$$\begin{cases} M_1(A_1) = (A_1 - \alpha_2 I)(A_1 - \alpha_3 I)(A_1 - \alpha_4 I) \\ M_2(A_1) = (A_1 - \alpha_1 I)(A_1 - \alpha_3 I)(A_1 - \alpha_4 I) \\ M_3(A_1) = (A_1 - \alpha_1 I)(A_1 - \alpha_2 I)(A_1 - \alpha_4 I) \\ M_4(A_1) = (A_1 - \alpha_1 I)(A_1 - \alpha_2 I)(A_1 - \alpha_3 I) \end{cases}$$

con $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$ y α_4 los autovalores de A_1 . con esto, finalmente obtenemos:

$$e^{TA_1} = \begin{bmatrix} e^{\alpha_1 T} & 0 & 0 & 0 \\ \frac{r\alpha}{F+r\alpha}(e^{\alpha_2 T} - e^{\alpha_1 T}) & e^{\alpha_2 T} & 0 & 0 \\ e^{\alpha_3 T} - e^{\alpha_1 T} & 0 & e^{\alpha_3 T} & 0 \\ \frac{r\alpha}{F+r\alpha}(e^{\alpha_4 T} + e^{\alpha_1 T} - e^{\alpha_2 T} - e^{\alpha_3 T}) & (e^{\alpha_4 T} - e^{\alpha_2 T}) & \frac{r\alpha}{F+r\alpha}(e^{\alpha_4 T} - e^{\alpha_3 T}) & e^{\alpha_4 T} \end{bmatrix}$$

Con esto, podemos garantizar la existencia de e^{-TA_1} , ya que el $\det(e^{TA_1}) = e^{(\alpha_1+\alpha_2+\alpha_3+\alpha_4)T} \neq 0$. Análogamente para e^{TA_2} , tendremos que calcular los autovalores de A_2 los cuales son : $\varphi_1 = r(1 - 2\alpha) - F$, $\varphi_2 = r(1 - \alpha) - F$, $\varphi_3 = r(1 - \alpha)$ y $\varphi_4 = r$, luego aplicamos nuevamente el metodo de Putzer y obtenemos:

$$e^{TA_2} = \begin{bmatrix} e^{\varphi_1 T} & 0 & 0 & 0 \\ (e^{\varphi_2 T} - e^{\varphi_1 T}) & e^{\varphi_2 T} & 0 & 0 \\ \frac{r\alpha}{F+r\alpha}(e^{\varphi_3 T} - e^{\varphi_1 T}) & 0 & e^{\varphi_3 T} & 0 \\ \frac{r\alpha}{F+r\alpha}(e^{\varphi_4 T} + e^{\varphi_1 T} - e^{\varphi_2 T} - e^{\varphi_3 T}) & \frac{r\alpha}{F+r\alpha}(e^{\varphi_4 T} - e^{\varphi_2 T}) & (e^{\varphi_4 T} - e^{\varphi_3 T}) & e^{\varphi_4 T} \end{bmatrix}$$

Usandose el hecho de que $\varphi_1 = \alpha_1$, $\varphi_2 = \alpha_3$, $\varphi_3 = \alpha_2$ y $\varphi_4 = \alpha_4$, entonces:

$$e^{TA_2} e^{TA_1} = \begin{bmatrix} e^{2\alpha_1 T} & 0 & 0 & 0 \\ a_{21} & e^{(\alpha_2+\alpha_3)T} & 0 & 0 \\ a_{31} & 0 & e^{(\alpha_3+\alpha_2)T} & 0 \\ a_{41} & a_{42} & a_{43} & e^{\alpha_4 T} \end{bmatrix}$$

con:

$$\begin{cases} a_{21} = F e^{(\alpha_1+\alpha_3)T} + \frac{r\alpha}{F+r\alpha} e^{(\alpha_2+\alpha_3)T} - e^{2\alpha_1 T} \\ a_{31} = \frac{-r\alpha}{F+r\alpha} e^{2\alpha_1 T} - \frac{F}{F+r\alpha} e^{(\alpha_1+\alpha_2)T} + e^{(\alpha_2+\alpha_3)T} \\ a_{41} = \frac{r\alpha}{F+r\alpha} (e^{2\alpha_1 T} + e^{2\alpha_4 T}) - \frac{(F^2+r^2\alpha^2+(F+r\alpha)^2)e^{(\alpha_2+\alpha_3)T}}{(F+r\alpha)^2} \\ \quad + \frac{F}{F+r\alpha} (e^{(\alpha_1+\alpha_2)T} + e^{(\alpha_3+\alpha_4)T}) - \frac{Fr\alpha}{(F+r\alpha)^2} (e^{(\alpha_1+\alpha_3)T} + e^{(\alpha_2+\alpha_4)T}) \\ a_{42} = \frac{F}{F+r\alpha} e^{(\alpha_4+\alpha_3)T} + \frac{r\alpha}{F+r\alpha} e^{2\alpha_4 T} - e^{(\alpha_2+\alpha_3)T} \end{cases}$$

Para calcular los autovalores de $e^{TA_2} e^{TA_1}$, basta resolver la ecuación:

$\det(e^{TA_2} e^{TA_1} - \gamma I) = 0$, resolviendola obtenemos:

$$\begin{cases} \gamma_1 = e^{2(r(1-2\alpha)-F)T} \\ \gamma_2 = \gamma_3 = e^{(2r(1-\alpha)-F)T} \\ \gamma_4 = e^{2rT} \end{cases}$$

para analizar el comportamiento asintotico de la solución que pasa por (t_0, x_0) , tendremos que verificar los valores de $|\gamma_i|$. Para que las soluciones sean asintóticas estables, es necesario que $|\gamma_i| < 1$ para todo i .

$$|\gamma_1| < 1 \text{ si } \alpha_1 < 0 \Rightarrow F > r(1 - 2\alpha)$$

$$|\gamma_3| = |\gamma_2| < 1 \text{ si } \alpha_3 + \alpha_2 < 0 \Rightarrow F > 2r(1 - \alpha) \text{ y } |\gamma_4| < 1 \text{ si } \alpha_4 < 0.$$

Pero esto último no puede ocurrir, pues $\alpha_4 = r > 0$ y de esa manera para cualquier valor de F, r, α y T , la solución sera siempre inestable.

Estimativo para S, R_1, R_2 y R_d

Para obtener información sobre el estado del tumor despues del n -ésimo cambio de farmaco, debemos calcular $x(2nT)$, donde:

$$x(2nT) = \begin{bmatrix} S(2nT) \\ R_1(2nT) \\ R_2(2nT) \\ R_d(2nT) \end{bmatrix}$$

Inicialmente tenemos que:

$$x(2nT) = (e^{TA_2} e^{TA_1})^n x_0$$

Si pudieramos encontrar una matriz B tal que:

$$e^{TA_2} e^{TA_1} = B(e^{TA_2} e^{TA_1})_{diag} B^{-1},$$

donde $(e^{TA_2} e^{TA_1})_{diag}$ es la matriz diagonalizada de $e^{TA_2} e^{TA_1}$, entonces:

$$(e^{TA_2} e^{TA_1})^n = B(e^{TA_2} e^{TA_1})_{diag}^n B^{-1}$$

y la expresión $x(2nT)$ será mas facilmente computada. Ahora, sea $B = (B_{ij})_{4 \times 4}$, tal que:

$$e^{TA_2} e^{TA_1} B = B(e^{TA_2} e^{TA_1})_{diag}, \quad (2.77)$$

donde

$$e^{TA_2} e^{TA_1} = \begin{bmatrix} e^{2\alpha_1 T} & 0 & 0 & 0 \\ a_{21} & e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T} & 0 & 0 \\ a_{31} & 0 & e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T} & 0 \\ a_{41} & a_{42} & a_{43} & e^{\alpha_4 T} \end{bmatrix}$$

con:

$$\begin{cases} a_{21} = F e^{(\alpha_1 + \alpha_3)T} + \frac{r\alpha}{F+r\alpha} e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T} - e^{2\alpha_1 T} \\ a_{31} = \frac{-r\alpha}{F+r\alpha} e^{2\alpha_1 T} - \frac{F}{F+r\alpha} e^{(\alpha_1 + \alpha_2)T} + e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T} \\ a_{41} = \frac{r\alpha}{F+r\alpha} (e^{2\alpha_1 T} + e^{2\alpha_4 T}) - \frac{(F^2 + r^2\alpha^2 + (F+r\alpha)^2) e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T}}{(F+r\alpha)^2} \\ \quad + \frac{F}{F+r\alpha} (e^{(\alpha_1 + \alpha_2)T} + e^{(\alpha_3 + \alpha_4)T}) - \frac{Fr\alpha}{(F+r\alpha)^2} (e^{(\alpha_1 + \alpha_3)T} + e^{(\alpha_2 + \alpha_4)T}) \\ a_{42} = \frac{F}{F+r\alpha} e^{(\alpha_4 + \alpha_3)T} + \frac{r\alpha}{F+r\alpha} e^{2\alpha_4 T} - e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T} \end{cases}$$

Con $\alpha_1 = r(1 - 2\alpha) - F$, $\alpha_2 = r(1 - \alpha)$, $\alpha_3 = r(1 - \alpha) - F$ y $\alpha_4 = r$ y;

$$(e^{TA_2} e^{TA_1})_{diag} = \begin{bmatrix} e^{2\alpha_1 T} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & e^{(\alpha_2 + \alpha_3)T} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & e^{\alpha_4 T} \end{bmatrix}$$

Resolviendo la igualdad (2.78), encontramos que:

$$B = \begin{bmatrix} (\gamma_1 - \gamma_2)(\gamma_2 - \gamma_4) & 0 & 0 & 0 \\ a_{21}(\gamma_1 - \gamma_4) & (\gamma_2 - \gamma_4) & 0 & 0 \\ a_{31}(\gamma_1 - \gamma_4) & 0 & (\gamma_2 - \gamma_4) & 0 \\ (\gamma_1 - \gamma_2)a_{41} + a_{21}a_{42} + a_{43}a_{31} & a_{42} & a_{43} & 1 \end{bmatrix}$$

y:

$$B^{-1} = \begin{bmatrix} \frac{1}{(\gamma_1 - \gamma_2)(\gamma_1 - \gamma_4)} & 0 & 0 & 0 \\ \frac{-a_{21}}{(\gamma_1 - \gamma_2)(\gamma_2 - \gamma_4)} & \frac{1}{\gamma_2 - \gamma_4} & 0 & 0 \\ \frac{-a_{31}}{(\gamma_1 - \gamma_2)(\gamma_2 - \gamma_4)} & 0 & \frac{1}{(\gamma_2 - \gamma_4)} & 0 \\ \frac{(\gamma_2 - \gamma_4)a_{41} + (\gamma_1 - \gamma_2)(a_{21}a_{42} + a_{43}a_{31})}{(\gamma_1 - \gamma_2)(\gamma_2 - \gamma_4)(\gamma_1 - \gamma_4)} & \frac{-a_{42}}{(\gamma_2 - \gamma_4)} & \frac{-a_{43}}{(\gamma_2 - \gamma_4)} & 1 \end{bmatrix}$$

Asi, para calcular $(e^{TA_2}e^{TA_1})^n$, basta resolver el producto $B((e^{TA_2}e^{TA_1})^n)_{diag}.B^{-1}$, por tanto:

$$(e^{TA_2}e^{TA_1})^n = D_{4 \times 4} \text{ donde } d_{11} = (\gamma^n)_1, d_{12} = 0, d_{13} = 0, d_{14} = 0.$$

$$d_{21} = \frac{a_{21}((\gamma^n)_1 - (\gamma^n)_2)}{(\gamma_1 - \gamma_2)},$$

$$d_{22} = (\gamma^n)_2,$$

$$d_{23} = 0,$$

$$d_{24} = 0$$

$$d_{31} = \frac{a_{31}((\gamma^n)_1 - (\gamma^n)_2)}{(\gamma_1 - \gamma_2)},$$

$$d_{32} = 0,$$

$$d_{33} = (\gamma^n)_2,$$

$$d_{34} = 0$$

$$d_{41} = a_{41} \frac{((\gamma^n)_1 - (\gamma^n)_4)}{(\gamma_1 - \gamma_4)} + \frac{(a_{21}a_{42} + a_{31}a_{43})((\gamma^n)_1(\gamma_2 - \gamma_4) - (\gamma^n)_2(\gamma_1 - \gamma_4))}{(\gamma_1 - \gamma_2)(\gamma_1 - \gamma_4)(\gamma_2 - \gamma_4)} + \frac{(\gamma^n)_4}{(\gamma_1 - \gamma_4)(\gamma_2 - \gamma_4)},$$

$$d_{42} = a_{42} \frac{((\gamma^n)_2 - (\gamma^n)_4)}{((\gamma^n)_2 - (\gamma^n)_4)},$$

$$d_{43} = a_{43} \frac{((\gamma^n)_2 - (\gamma^n)_4)}{(\gamma_2 - \gamma_4)},$$

$$d_{44} = (\gamma^n)_4$$

Por eso, siendo $x(2nT) = (e^{TA_2}e^{TA_1})^n x(0)$, entonces

$$\begin{aligned} s(2nT) &= (\gamma^n)_1 s(0) \\ r_1(2nT) &= a_{21} \frac{((\gamma^n)_1 - (\gamma^n)_2)}{(\gamma_1 - \gamma_2)} s(0) + (\gamma^n)_2 r_1(0) \\ r_2(2nT) &= a_{31} \frac{((\gamma^n)_1 - (\gamma^n)_2)}{(\gamma_1 - \gamma_2)} s(0) + (\gamma^n)_2 r_2(0) \\ r_d(2nT) &= d_{41} s(0) + (d_{42} + d_{43}) r_1(0) + d_{44} r_d \end{aligned}$$

Entonces, sí:

1. $|\gamma_1| < 1 \Rightarrow$ cuando, $n \rightarrow \infty$, $|(\gamma^n)_1| \rightarrow 0 \Rightarrow s(2nT) \rightarrow 0$, o sea que las células sensibles tienden a la extinción.
2. $|\gamma_1| < 1$ y $|\gamma_2| < 1 \Rightarrow$ cuando, $n \rightarrow \infty$, $r_1(2nT)$ y $r_2(2nT) \rightarrow 0$, o sea que las células resistentes 1 y 2 tienden a la extinción.

Como $|\gamma_4| > 1 \Rightarrow r_d$ no va a extinguirse. Por eso como esa población solamente aparece en poblaciones tumorales con dimensiones muy grandes, entonces eso significa que el residuo duplamente resistente puede ser controlado teniendo en cuenta que el margen de defensa inmunológica requiere una masa menor que aproximadamente 10^5 células.

2.3 Aplicación

2.3.1 Estimativas para los Parametros r y F

- a Estimativa para la tasa de crecimiento r . Consideremos la formula (2.4) del cap II.

$$N(t) = \frac{N_0}{N_0 K + (1 - k N_0) e^{-rt}}$$

donde N_0 es la masa tumoral presente. td es el tiempo de duplicación de la masa N_0 y denotemos por $N_d = 2N_0$. Estos valores pueden ser medidos experimentalmente, así,

$$e^{-rtd} = \frac{1 - 2e^{KN_0}}{2(1 - KN_0)}$$

y tenemos

$$r = \frac{1}{td} \ln\left(\frac{2(1 - KN_0)}{1 - 2KN_0}\right) \quad (2.78)$$

El valor de K ($\approx 10^{-12}$) puede ser obtenido en la literatura médica.

b Estimativa para la tasa de destrucción F . Consideremos el sistema de ecuaciones (2.1) para las células sensibles tumorales.

$$\frac{dS}{dt} = r(1 - \alpha)S(1 - KN) - FS.$$

Sobre ciertas condiciones podemos suponer a (2.1) linealizada así,

$$\frac{dS}{dt} = (r(1 - \alpha) - F)S$$

y entonces

$$S(t) = S_0 e^{(r(1-\alpha)-F)t}, \tag{2.79}$$

donde S_0 es la masa tumoral sensible en el inicio de la terapia que podemos suponer en $t = 0$, y $S(t)$ es la masa tumoral sensible en $t = T$. Luego $1 - \frac{S(t)}{S_0}$ representa la fracción de células que fueron eliminados si $F > r(1 - \alpha)$. Por tanto,

$$F = r(1 - \alpha) - \frac{1}{T} \ln\left(\frac{S(T)}{S_0}\right), \tag{2.80}$$

donde r es determinado en (a) y α es simulado.

Consideremos una neoplasia con masa inicial $N_0 = 10^8$ células que tienen un tiempo de duplicación de $td = 30$ días en el momento del inicio de la terapia. Vamos a utilizar un fármaco en dos situaciones: en la primera situación el fármaco tiene un poder de destrucción de "1log - kill" (esto es, el fármaco elimina una fracción constante de células sensibles a cada aplicación, de un logaritmo equivalente a 90% de las células presentes), en la segunda situación el grado de destrucción es de "2log - kill". Vamos a considerar que la frecuencia de mutación es de $\alpha = 10^{-5}$ y que tomamos por hipótesis que el fármaco es administrado con dosis máxima a cada 10 días.

Usando las fórmulas (2.65) y (2.66), tenemos que $R = 1.8 * 10^4$ células. Como $td = 30$ entonces, $r = 0.023$ y $F = 0.253$ (1log - kill) y $F = 0.483$ (2log - kill). Vamos a presentar una terapia alternada con dos fármacos (*noncrossresistant*). Supongamos que el tamaño del tumor es de $N = 10^{10}$ células teniendo un tiempo de duplicación de $td = 30$ días en el momento de inicio de la terapia. Utilizaremos dos fármacos igualmente activos con poder de destrucción de 2log - kill, y las tasas de mutación por hipótesis son iguales, esto es, $\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha = 10^{-6}$. Supongamos que estos fármacos son aplicados en un periodo de $T = 21$ días.

Usando las formulas (2.65) y 2.66, tenemos: $R_1 = R_2 = 2.2 * 10^5$ células y $R_d = 5$ células. Con tiempo de duplicación de 30 días entonces $r = 0.023$.

Esquemas de terapias:

1. Aplicaciones de 10 ciclos del tipo AAAAAAAAAA

2. Aplicaciones de 3 ciclos alternados del tipo *AAABBB*

3. Aplicaciones de 1 ciclo alternado del tipo *ABAB*

Inicialmente consideraremos que la hipótesis de destrucción del fármaco utilizado es de acción instantánea con potencia igual a $2\log - kill$.

Para el primer esquema tenemos la siguiente tabla:

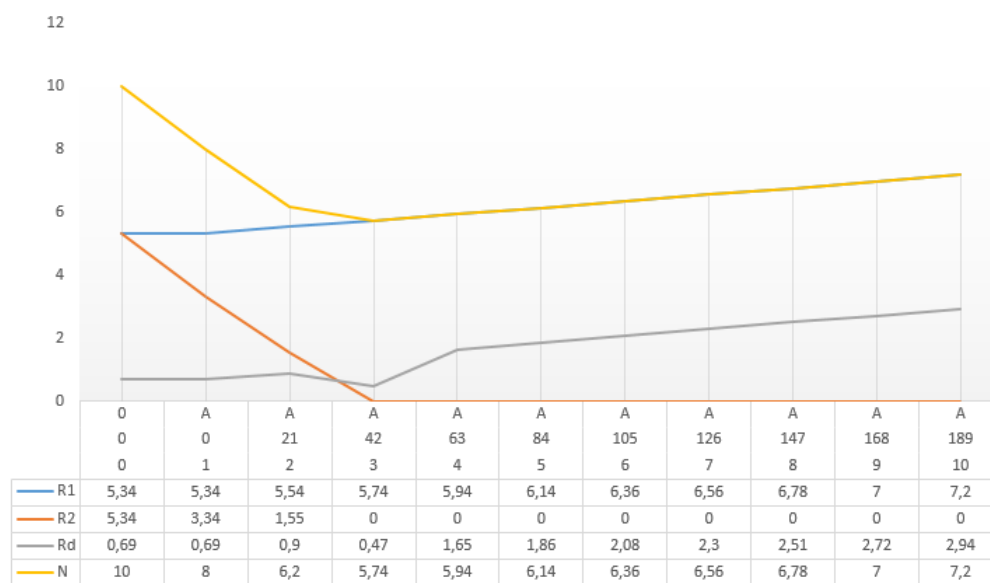
APLICACIONES	TIEMPO(días)	TRATAMIENTO	R1	R2	Rd	N
0	0	0	2.2×10^5	2.2×10^5	5	10^{10}
1	0	A	2.2×10^5	2.2×10^3	5	10^8
2	21	A	3.5×10^5	3.6×10^1	8	1.6×10^6
3	42	A	5.6×10^5	0	13	5.6×10^5
4	63	A	8.9×10^5	0	45	8.9×10^5
5	84	A	1.4×10^6	0	74	1.4×10^6
6	105	A	2.3×10^6	0	122	2.3×10^6
7	126	A	3.7×10^6	0	201	3.7×10^6
8	147	A	6.1×10^6	0	328	6.1×10^6
9	168	A	10^7	0	536	10^7
10	189	A	1.6×10^7	0	877	1.6×10^7

Aplicando logaritmo a la tabla, tenemos:

APLICACIONES	TIEMPO(días)	TRATAMIENTO	R1	R2	Rd	N
0	0	0	5,34	5,34	0,69	10
1	0	A	5,34	3,34	0,69	8
2	21	A	5,54	1,55	0,9	6,2
3	42	A	5,74	0	0,47	5,74
4	63	A	5,94	0	1,65	5,94
5	84	A	6,14	0	1,86	6,14
6	105	A	6,36	0	2,08	6,36
7	126	A	6,56	0	2,3	6,56
8	147	A	6,78	0	2,51	6,78
9	168	A	7	0	2,72	7
10	189	A	7,2	0	2,94	7,2

2. MODELO MATEMÁTICO PARA EL CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTI-BLÁSTICOS

Grafica del desenvolvimiento tumoral sometido a una terapia de tipo AAAAAAAAAA:



En esta figura se puede ver un programa ineficaz, donde despues de 40 días la incidencia con la terapia A, lleva el tumor a volver a crecer.

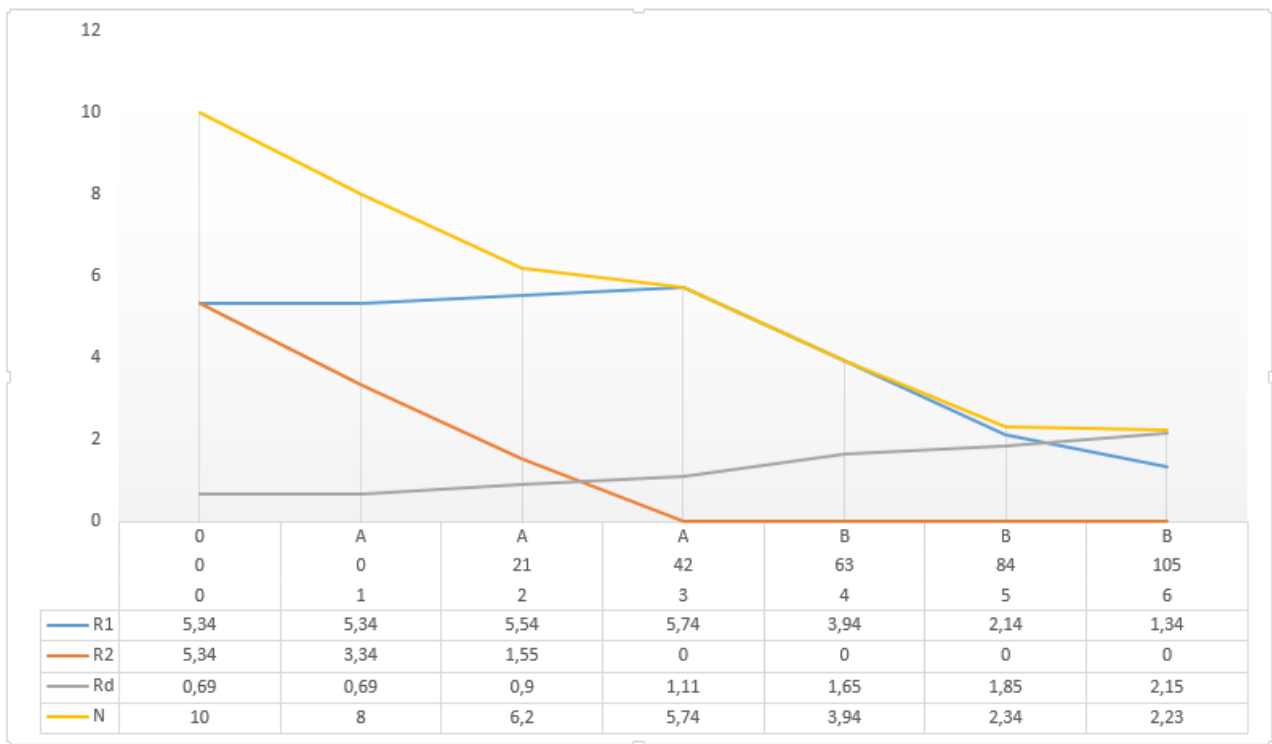
Para el segundo esquema tenemos la siguiente tabla:

APLICACIONES	TIEMPO(días)	TRATAMIENTO	R1	R2	Rd	N
0	0	0	2.2×10^5	2.2×10^5	5	10^{10}
1	0	A	2.2×10^5	2.2×10^3	5	10^8
2	21	A	3.5×10^5	3.6×10^1	8	1.6×10^6
3	42	A	5.6×10^5	0	13	5.6×10^5
4	63	B	8.9×10^3	0	45	8.9×10^3
5	84	B	1.4×10^2	0	72	2.2×10^2
6	105	B	22	0	144	1.7×10^2

Aplicando logaritmo a toda la tabla, queda:

APLICACIONES	TIEMPO(días)	TRATAMIENTO	R1	R2	Rd	N
0	0	0	5,34	5,34	0,69	10
1	0	A	5,34	3,34	0,69	8
2	21	A	5,54	1,55	0,9	6,2
3	42	A	5,74	0	1,11	5,74
4	63	B	3,94	0	1,65	3,94
5	84	B	2,14	0	1,85	2,34
6	105	B	1,34	0	2,15	2,23

Gráfica del desenvolvimiento tumoral sometido a una terapia de tipo *AAABBB*:



2. MODELO MATEMÁTICO PARA EL CONTROL DE LA RESISTENCIA A LOS FÁRMACOS ANTI-BLÁSTICOS

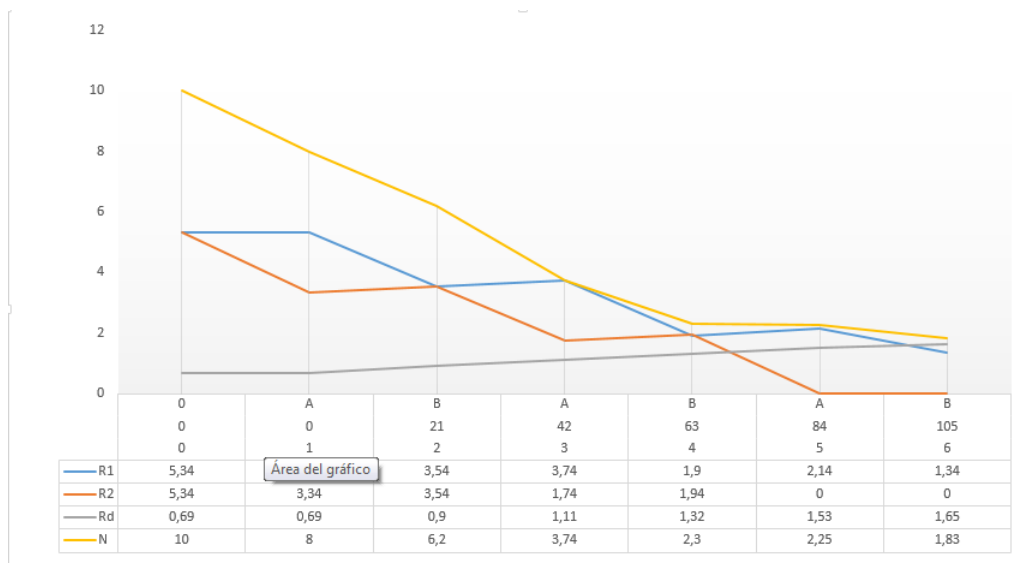
Para el tercer esquema tenemos la siguiente tabla:

APLICACIONES	TIEMPO(días)	TRATAMIENTO	R1	R2	Rd	N
0	0	0	2.2×10^5	2.2×10^5	5	10^{10}
1	0	A	2.2×10^5	2.2×10^3	5	10^8
2	21	B	3.5×10^3	3.5×10^3	8	1.6×10^6
3	42	A	5.6×10^3	5.6×10^1	13	5.6×10^3
4	63	B	8.5×10^1	8.9×10^1	21	2×10^2
5	84	A	1.4×10^2	0	34	1.8×10^2
6	105	B	22	0	45	68

Pasando la tabla a logaritmo, queda:

APLICACIONES	TIEMPO(días)	TRATAMIENTO	R1	R2	Rd	N
0	0	0	5,34	5,34	0,69	10
1	0	A	5,34	3,34	0,69	8
2	21	B	3,54	3,54	0,9	6,2
3	42	A	3,74	1,74	1,11	3,74
4	63	B	1,9	1,94	1,32	2,3
5	84	A	2,14	0	1,53	2,25
6	105	B	1,34	0	1,65	1,83

Grafica del desenvolvimiento tumoral sometido a una terapia de tipo *ABAB*:



Este gráfico muestra un esquema muy eficaz, pues reduce rápidamente la masa del tumor con un efecto mejor sobre las células resistentes 1 ($R1$) y las células resistentes 2 ($R2$).

2.4 Conclusiones

En este trabajo mostramos la importancia de estudiar la farmaco-resistencia proveniente de mutaciones espontaneas y mostramos modelos matematicos que indican diversos factores que pueden influenciar en la eficacia de una quimioterapia, como: el tamaño del tumor, el grado de resistencia celular en el inicio de la terapia, el programa terapeutico que se va a utilizar, la frecuencia de mutaciones, la cinetica tumoral, entre otras.

Los resultados teoricos obtenidos en este trabajo, sugieren de una dirección para que el terapeuta pueda orientarse en la escogencia de un programa terapeutico, pero hasta llegar a ese momento todo es empirico, es decir que no se tiene control sobre el inicio de la terapia o su desenvolvimiento.

Uno de los resultados relevantes de este trabajo es con los primeros modelos propuestos, ya que se tiene la posibilidad de calcular el numero de células resistentes presentes en el inicio de la terapia en función del numero de células tumorales y de la frecuencia de mutación. Normalmente no se conoce la frecuencia de mutación excepto en algunos casos, como en la radioterapia. Los modelos indican los casos en que la monoquimioterapia es indicada, y en que casos ella puede hablar en función de tasas de destrucción celular debida a los farmacos y a las tasas de crecimiento y mutación de las células tumorales. En pocas palabras, mostramos que un tratamiento es eficaz si la cantidad de células tumorales fuece reducida a un numero pequeño ($< 10^5$) células, pues en estos casos la defensa inmunologica del individuo puede completar la acción del fármaco, destruyendo las células restantes. Por eso la eficacia de la monoquimioterapia, puede ser resumida a la reducción de masa tumoral en el orden de 10^5 . En el caso de que el estado del tumor es avanzado podemos preveer el insuceso de la quimioterapia, pues la masa resistente en el inicio de la terapia supera el limite de la eficacia inmunologica.

Se demostro matemáticamente, atravez del analisis asintotico de las soluciones, un resultado empirico de cierta relevancia, es decir, un tumor sometido a una quimioterapia despues de diversas aplicaciones del fármaco pierde toda su sensibilidad, existiendo un tiempo critico de aplicación. Clínicamente, la posibilidad de conocer ese tiempo critico tiene una implicación practica importante, pues permite suspender un tratamiento inu-

til por otro, es decir, *noncrossresistant* o a una radioterapia. También se demostró la ventaja del uso de una terapia alternada *noncrossresistant* sobre un programa de un solo fármaco, los resultados no se alteran cuando usamos las hipótesis exclusivas de utilización del fármaco de acción instantánea o fármacos de acción continua. En ciertos casos, dependen del tamaño de la masa tumoral, el uso indevido de cambio frecuente de fármacos puede conllevar un insuceso terapéutico.

A partir de las aplicaciones realizadas podemos concluir que los resultados teóricos propuestos por los modelos son relativamente válidos. Tuvimos que adaptar los modelos a diferentes situaciones y los resultados determinísticos sugieren que sean hechos los experimentos con el objetivo de estimar el valor de la frecuencia de mutación, dado que existe la posibilidad de inducción de resistencia celular en el laboratorio.

Finalmente, podemos asegurar que los resultados teóricos obtenidos tienen una gran relevancia en la farmacología anti-blastica, hasta los modelos construidos con dependencia de la medida de las células. El estudio de estos modelos matemáticos abrió la posibilidad de nuevas inquisiciones y nuestro objetivo futuro es continuar perfeccionando estos modelos, para estudiar otros problemas importantes, como: optimización para dosis de fármacos, estructuras de medida y edad de las células, etc. -

Bibliography

- [1] Bassanezi R. C. y Ferreira W.C. -Ecuaciones diferenciales con aplicaciones. Ed. Harbra (1988).
- [2] Boyle William E. y Di Prima R.C. - Ecuaciones diferenciales lineales elementales y problemas de valores de contorno. Ed. Guanabara (1979).
- [3] De Vita V.T.- Cancer.-the relationship between tumor mass and resistance to chemotherapy: implications for surgical adjuvant treatment of cancer -pag 1209/1220 (1993).
- [4] De Vita V.T. y Hellman S. . Cancer-principles and practice of oncology. Ed. Publishers-Philadelphia-New York (1985).
- [5] Goldie J.H. , Coldman J.H. Y Gudauska G.A. -Cancer treatment reports. Rationali for tre use of alternating non cross resistant chemotherapy- pag 439/455 (1982).
- [6] Samoilenko A.M. y Perestyuk N.A. -Differential'nye Uravneya. -the instability of solutions of differential equations wiyh instantaneous variations-pag. 1981/1992 (1997).
- [7] Skipper H.E. -Anv. Cancer Res. -The forty year old mutation theory of Luria and Delbruck and it's pertinence to cancer chemotherapy- pag. 331/363 (1983).
- [8] Skipper H.E. e Schabel F.M., Jr. -Cancer chemotherapy Rep.Experimental evaluation of potential anti-cancer agent XIII. on the criteria a kinects associated with curability of experimental leukemia- pag. I/III (1964).
- [9] Vendite L.L. -Atas do III encontro multidisciplinar -Pillola y Mammella (Firenze). -Um modelo matemático per lo studio della resistenza tumorale ai farmaci anti-neoplastici. I-trattamento com un solo fármaco- pag.314/319, Ed. II Sedicésimo (1986).

- [10] Vendite L.L. y Bonazza M. -Atas do III encontro multicliplinar -Pillola y Mammella (Firenze). -Um modelo matemático per lo studio della resistenza tumorale ai farmaci anti-neoplastici. II-Trattamento com l'associazione dei due farmaci ugualmente attivi- pag. 320/328, Ed. II Sedicésimo (1986).
- [11] Vendite L.L., Bonazza M. y Mini E. -Atas do LXIV congresso Nazionale della Società Italiana di Ginecologia y Ostetricia (Roma). -Valuzatione della resistenza tumorale ai farmaci anti-blastici attraverso l'elaborazione di um programa al calcolatore- pag. 1539/1546, Ed. Monduzzi (1987).