

Alexandre Bittencourt Pigozzo

**Implementação computacional de um modelo matemático do sistema imune
inato**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Modelagem Computacional.

Orientador: Prof. D.Sc. Marcelo Lobosco

Coorientador: Prof. D.Sc. Rodrigo Weber dos Santos

Coorientador: Prof. D.Sc. Gilson Costa Macedo

Juiz de Fora

2011

Pigozzo, Alexandre Bittencourt

Implementação computacional de um modelo matemático do sistema imune inato/Alexandre Bittencourt

Pigozzo. – Juiz de Fora: UFJF/MMC, 2011.

XIII, 100 p.: il.; 29,7cm.

Orientador: Marcelo Lobosco

Coorientador: Rodrigo Weber dos Santos

Coorientador: Gilson Costa Macedo

Dissertação (mestrado) – UFJF/MMC/Programa de Modelagem Computacional, 2011.

Referências Bibliográficas: p. 88 – 97.

1. Sistema inato. 2. Inflamação aguda. 3. Equações diferenciais parciais. 4. Método das diferenças finitas. I. Lobosco, Marcelo *et al.* II. Universidade Federal de Juiz de Fora, MMC, Programa de Modelagem Computacional.

Alexandre Bittencourt Pigozzo

**Implementação computacional de um modelo matemático do sistema imune
inato**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Modelagem Computacional.

Aprovada em 28 de Fevereiro de 2011.

BANCA EXAMINADORA

Prof. D.Sc. Marcelo Lobosco - Orientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. D.Sc. Rodrigo Weber dos Santos - Coorientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. D.Sc. Gilson Costa Macedo - Coorientador
Universidade Federal de Juiz de Fora

Profa. D.Sc. Gizelle Kupac Vianna
Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

Prof. D.Sc. Carlos Cristiano Hasenclever Borges
Universidade Federal de Juiz de Fora

*Dedico este trabalho a toda a
minha família e aos meus
amigos.*

AGRADECIMENTOS

Ter a quem agradecer é uma graça divina, pois isto significa que ao longo dessa caminhada não estive sozinho e que comigo estiveram todos aqueles que de alguma forma desejaram esta vitória. A meus avós que sempre pediram a Deus para que os obstáculos a minha frente não fossem maiores do que a minha disposição ou força. Aos demais integrantes da minha família pessoas que sempre acreditaram que eu iria conseguir. Todos grandes amigos que eu conquistei durante esse período e com os quais eu aprendi muito. Agradeço de forma especial aos meus pais e meu irmão pelo apoio e por estarem ao meu lado nos momentos mais difíceis.

RESUMO

O sistema imunológico humano (SIH) é composto por uma rede complexa de células, tecidos e órgãos especializados em defender o organismo contra doenças. Para atingir tal objetivo, o SIH identifica e extermina uma ampla gama de agentes patogênicos externos, como vírus e bactérias, além de células do próprio organismo que podem estar se comportando de forma anormal, e que poderiam dar origem a tumores, caso não fossem eliminadas. O SIH é ainda responsável pelo processo de eliminação de células mortas e renovação de algumas estruturas do organismo. A compreensão do SIH é, portanto, essencial. Entretanto a sua complexidade e a interação entre seus muitos componentes, nos mais diversos níveis, torna a tarefa extremamente complexa. Alguns de seus aspectos, no entanto, podem ser melhor compreendidos se modelados computacionalmente, permitindo a pesquisadores da área realizar um grande volume de experimentos e testar um grande número de hipóteses em um curto período de tempo. A longo prazo, pode-se vislumbrar um quadro onde todo o SIH poderá ser simulado, permitindo aos cientistas desenvolverem e testarem vacinas e medicamentos contra várias doenças, bem como contra a rejeição de órgãos e tecidos transplantados, diminuindo o uso de animais experimentais.

Neste contexto, o presente trabalho visa implementar e simular computacionalmente um modelo matemático do SIH, sendo o objetivo principal reproduzir a dinâmica de uma resposta imune ao lipopolissacarídeo (LPS) em uma pequena seção de um tecido. O modelo matemático é composto de um sistema de equações diferenciais parciais (EDPs) que incorpora a dinâmica de alguns tipos de células e moléculas do SIH durante uma resposta imune ao LPS no tecido.

Palavras-chave: Sistema inato. Inflamação aguda. Equações diferenciais parciais. Método das diferenças finitas.

ABSTRACT

The Human Immune System (HIS) consists of a complex network of cells, tissues and organs. The HIS plays an crucial role in defending the body against diseases. To achieve this goal, the immune system identifies and kills a wide range of external pathogens such as viruses and bacteria, and the body's own cells which are behaving abnormally. If these cells were not eliminated, they could give rise to tumors. The HIS is also responsible for removing dead cells and replacing some of the structures of the body. The understanding of the HIS is therefore essential. However, its complexity and the intense interaction among several components, in various levels, make this task extremely complex. Some of its aspects, however, may be better understood if a computational model is used, which allows researchers to test a large number of hypotheses in a short period of time. In the future we can envision a computer program that can simulate the entire HIS. This computer program will allow scientists to develop and test new drugs against various diseases, as well as to treat organ or tissue transplant rejection, without requiring animals experiments.

In this scenario, our work aims to implement and simulate a mathematical model of the HIS. Its main objective is to reproduce the dynamics of a immune response to lipopoly-saccharides (LPS) in a microscopic section of a tissue. The mathematical model is composed of a system of partial differential equations (PDEs) that defines the dynamics of some tissues and molecules of the HIS during the immune response to the LPS.

Keywords: Innate Immune system. Acute Inflammation. Partial Differential Equations. Finite Difference Method.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	Motivação	14
1.2	Objetivo	15
1.3	Metodologia	16
1.4	Organização	16
2	SISTEMA IMUNOLÓGICO INATO	17
2.1	Visão geral do SIH	17
2.2	Defesas não-específicas	18
2.3	Discriminação entre o próprio e não-próprio	18
2.4	Células do SIH inato	19
2.5	Resposta inflamatória	21
2.5.1	<i>LPS</i>	22
2.6	Resposta imune durante a infecção	22
2.6.1	<i>Recrutamento, ativação e extravasamento de neutrófilos</i>	23
2.6.2	<i>O extravasamento de neutrófilos precede uma segunda onda de monócitos</i>	23
2.6.3	<i>Apoptose e resolução da resposta inflamatória</i>	25
3	MODELAGEM DO SISTEMA IMUNOLÓGICO	27
3.1	Equações diferenciais	27
3.2	Autômato celular	28
3.3	Agentes	29
4	TRABALHOS CORRELATOS	31
4.1	Modelos que utilizam EDOs	31
4.2	Modelos que utilizam EDPs	34
5	MODELO MATEMÁTICO	36
5.1	Equações do Modelo Reduzido	37
5.2	Equações do Modelo Estendido	39

5.3	Modelo Computacional	46
5.4	Implementação computacional	48
6	RESULTADOS	50
6.1	Simulações com o modelo reduzido	50
6.1.1	<i>Comparação entre os casos</i>	59
6.2	Simulações com o modelo estendido	62
6.2.1	<i>Comparação entre os casos</i>	80
7	CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS.....	85
	REFERÊNCIAS	88
	APÊNDICES	97

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

2.1	As várias etapas no processo de migração dos neutrófilos da corrente sanguínea para os tecidos [1].	24
5.1	Relações entre os componentes do modelo reduzido.	37
5.2	Relações entre os componentes do modelo estendido.	41
6.1	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	51
6.2	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	52
6.3	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.	52
6.4	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	54
6.5	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.	54
6.6	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	56
6.7	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.	57
6.8	Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias. . .	57
6.9	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	58
6.10	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.	59
6.11	Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias. . .	59
6.12	Evolução temporal da quantidade média de antígenos.	60
6.13	Evolução temporal da quantidade média de neutrófilos.	60
6.14	Evolução temporal da quantidade média de citocinas pró-inflamatórias.	61
6.15	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	63
6.16	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos <i>resting</i>	64
6.17	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.	64
6.18	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	65
6.19	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos <i>resting</i>	66
6.20	Evolução temporal da distribuição espacial de macrófagos ativados.	66
6.21	Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias. . .	67
6.22	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	69
6.23	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos <i>resting</i>	69
6.24	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.	70

6.25	Evolução temporal da distribuição espacial das citocina pró-inflamatórias. . . .	70
6.26	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.	71
6.27	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos apoptóticos.	71
6.28	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	73
6.29	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos <i>resting</i>	73
6.30	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.	74
6.31	Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias. . .	74
6.32	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.	75
6.33	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos apoptóticos.	75
6.34	Evolução temporal da distribuição espacial dos grânulos protéicos.	75
6.35	Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.	77
6.36	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos <i>resting</i>	77
6.37	Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.	78
6.38	Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias. . .	78
6.39	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.	79
6.40	Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos apoptóticos.	79
6.41	Evolução temporal da distribuição espacial dos grânulos protéicos.	80
6.42	Evolução temporal da distribuição espacial da citocina anti-inflamatória. . . .	80
6.43	Evolução temporal da quantidade média de antígenos.	81
6.44	Evolução temporal da quantidade média de macrófagos <i>resting</i>	81
6.45	Evolução temporal da quantidade média de macrófagos ativados.	82
6.46	Evolução temporal da quantidade média de citocinas pró-inflamatórias.	82
6.47	Evolução temporal da quantidade média de neutrófilos.	83
6.48	Evolução temporal da quantidade média de neutrófilos apoptóticos.	83
6.49	Evolução temporal da quantidade média de grânulos protéicos.	84
6.50	Evolução temporal da quantidade média de citocinas anti-inflamatórias.	84

LISTA DE TABELAS

A.1	Condições iniciais e parâmetros do modelo reduzido	98
B.1	Condições iniciais do modelo estendido	99
B.2	Parâmetros do modelo estendido	100

1 INTRODUÇÃO

1.1 Motivação

Um dos sistemas mais importantes presentes nas mais diversas e distintas formas de vida é o sistema imunológico (ou sistema imune). Seu papel primário é o de identificar e exterminar uma ampla gama de agentes patogênicos externos, que tentam invadir os organismos vivos, causando-lhes danos que podem ser irreversíveis, levando-os à morte. Em mamíferos, o sistema imunológico é composto por uma vasta e complexa rede de células, tecidos e órgãos especializados em defender o organismo contra doenças. Para atingir tal objetivo, o sistema imunológico, após identificar um patógeno externo, como vírus e bactérias, cria uma rede de defesa com o objetivo de exterminar este patógeno. Cabe também ao sistema imunológico eliminar as células do próprio organismo que podem estar se comportando de forma anormal, e que poderiam dar origem a tumores, caso não fossem eliminadas. O sistema imunológico é ainda responsável pelo processo de eliminação de células mortas e renovação de algumas das estruturas do organismo.

Uma ampla compreensão do sistema imunológico é, portanto, essencial. Entretanto, a sua grande complexidade e a interação entre seus muitos componentes, nos mais diversos níveis, tornam esta tarefa extremamente complexa. Uma ferramenta que pode ser de grande auxílio para o entendimento do funcionamento deste sistema é a modelagem matemática-computacional. Através do uso deste ferramental, pesquisadores da área de imunologia podem realizar um grande volume de experimentos e testar um grande número de hipóteses em um curto período de tempo, sem que sejam necessários estudos *in vivo*. Pode-se vislumbrar, a longo prazo, um quadro onde todo o sistema imunológico humano poderá ser simulado, permitindo aos cientistas desenvolverem e testarem medicamentos contra a rejeição de órgãos/tecidos transplantados e contra doenças auto-imunes, bem como vacinas contra diversos agentes patogênicos com segurança, *in silico*, sem que sejam necessários testes com organismos vivos. Um longo caminho deve ser percorrido até que possamos desenvolver um sistema com tamanho grau de sofisticação. A complexidade de tais sistemas é alta e por isso foi listada pela Sociedade Brasileira de Computação como um dos Grandes Desafios da Computação para o período 2006/2016 No Reino Unido, o

Comitê de Pesquisa em Computação e a Sociedade Britânica de Computação definiram em 2004 [2] a personificação computacional de plantas, animais e organismos unicelulares (chamado In Vivo-In Silico, iViS) como um dos Grandes Desafios da Computação para os próximos anos. Entretanto, para que este longo caminho possa ser percorrido, os primeiros passos precisam ser dados.

Neste contexto, a principal motivação da modelagem computacional do sistema imunológico é o seu espectro amplo de aplicação [3]:

- Possibilidade de estudos *in silico* para testar a eficácia de candidatos a vacinas, acelerando assim seu desenvolvimento;
- Estudo e desenvolvimento de medicamentos para doenças ocasionadas pelo mal funcionamento do sistema imune, como alergias, diabetes e artrite reumatóide;
- Estudo de medicamentos contra rejeição de órgãos transplantados;
- Estudo de cânceres pelo estímulo das respostas imunes.

1.2 Objetivo

A modelagem completa do sistema imunológico humano é uma tarefa extremamente árdua, englobando um amplo espectro de ações a serem realizadas por um grande grupo multidisciplinar de cientistas durante algumas décadas. Se assim não o fosse, o tema certamente não seria classificado como um dos Grandes Desafios da Computação. Diante deste cenário, o objetivo deste trabalho é mais restrito, porém não menos importante na busca do desenvolvimento de um sistema imunológico artificial: a modelagem computacional da dinâmica de alguns tipos de células e moléculas do sistema imunológico humano durante uma resposta imune ao lipopolissacarídeo (LPS) em uma pequena seção de um tecido. O LPS é um constituinte da parede celular de bactérias Gram–negativas, sendo uma molécula altamente conservada e altamente imunogênica, isto é, tem uma grande capacidade de causar imunidade.

1.3 Metodologia

Com o intuito de atingir o objetivo deste trabalho, em um primeiro momento desenvolveu-se um modelo matemático das principais interações que ocorrem durante a resposta imune entre o LPS e as células e moléculas do sistema imunológico. Equações diferenciais parciais (EDPs) foram empregadas para este propósito. A implementação computacional utiliza o método das diferenças finitas para realizar a discretização espacial e um método explícito para a evolução temporal.

Espera-se que o modelo computacional desenvolvido possa ser a base para um sistema que possa, no futuro, ser utilizado por pesquisadores da área biomédica, constituindo-se em uma ferramenta adicional para a melhor compreensão de diversas patologias.

1.4 Organização

Esta dissertação foi organizada da seguinte forma. Os dois próximos capítulos apresentam uma revisão dos temas necessários para a compreensão deste trabalho. O Capítulo 2 apresenta uma visão breve do funcionamento do sistema imunológico inato, enquanto o Capítulo 3 apresenta uma visão geral das principais ferramentas que podem ser utilizadas para realizar a modelagem de fenômenos da natureza. O Capítulo 4 apresenta os principais trabalhos correlatos da área de modelagem de sistemas imunológicos, e, em especial, do sistema imunológico inato. No Capítulo 5 são apresentadas as equações que modelam o funcionamento do sistema imunológico inato. Os resultados das simulações computacionais realizadas são apresentadas e analisadas no Capítulo 6. Por fim, o Capítulo 7 traz as considerações finais e perspectivas futuras.

2 SISTEMA IMUNOLÓGICO

INATO

Este capítulo apresenta o sistema imunológico inato. As principais células e compostos químicos que compõe esse sistema serão objeto do modelo matemático apresentado no Capítulo 5. Portanto, é essencial a compreensão do papel desempenhado por cada um destes componentes de modo individual, bem como suas interações. O texto deste capítulo foi escrito baseado em referências clássicas da área de imunologia [4, 1, 5].

2.1 Visão geral do SIH

As superfícies corporais do corpo humano são protegidas por epitélios, que proporcionam uma barreira física entre o meio interno e o externo. Os epitélios compreendem a pele e os revestimentos das estruturas tubulares do corpo: trato gastrointestinal, respiratório e geniturinário. Os epitélios formam um bloqueio efetivo contra o ambiente externo, mas eventualmente podem ser atravessados ou colonizados por patógenos, causando as chamadas infecções. Após atravessar o epitélio, os patógenos encontram células e moléculas do SIH inato que imediatamente desenvolvem uma resposta.

Reforçando a resposta imune inata mas levando dias ao invés de horas para se desenvolver, o SIH adaptativo é capaz de eliminar a infecção mais eficientemente do que o SIH inato. O SIH adaptativo está presente apenas em vertebrados e depende primariamente do reconhecimento executado pelos linfócitos, que possuem a habilidade de distinguir um determinado patógeno e direcionar para ele a resposta imune mais fortemente. Os linfócitos podem reconhecer e responder a antígenos individuais por meio de receptores de antígenos altamente especializados em sua superfície. Os bilhões de linfócitos presentes coletivamente no corpo possuem um grande repertório de receptores antigênicos, o que permite que o SIH reconheça e responda virtualmente a qualquer antígeno a que possa ser exposto.

2.2 Defesas não-específicas

As barreiras fisiológicas que contribuem para a imunidade não-específica incluem a temperatura, pH, e várias moléculas solúveis e associadas com as células. Uma variedade de fatores solúveis contribuem para a imunidade inata, entre eles estão as proteínas do sistema complemento.

O sistema complemento é um grupo de proteínas do soro que circulam em um estado inativo. Uma variedade de mecanismos imunológicos não-específicos e específicos pode converter estas formas inativas em uma forma ativa com a habilidade de danificar as membranas dos patógenos. O complemento pode funcionar como um sistema efetor que é disparado a partir da ligação de anticorpos com certas células ou este pode ser ativado por reações entre as moléculas do complemento e certos componentes da parede celular de micróbios. As reações entre as moléculas do complemento e receptores nas células do SIH disparam a ativação destas células.

Muitas moléculas envolvidas na imunidade inata tem a habilidade de reconhecer classes de moléculas, ou seja, tem a propriedade de reconhecimento de padrões. Visto que existem certos tipos de moléculas que são únicas aos micróbios e nunca são encontradas em organismos multicelulares, a habilidade de imediatamente reconhecer e combater esses invasores que exibem tais moléculas é uma característica importante do SIH inato. As moléculas com habilidade para reconhecer padrões podem ser solúveis, como o complemento, ou podem estar associadas às células como receptores.

2.3 Discriminação entre o próprio e não-próprio

Os sistemas de defesa da imunidade inata são efetivos contra muitos patógenos. Eles são obrigados a contar com um repertório limitado e invariável de receptores que reconhecem os microorganismos. Os receptores de reconhecimento de patógenos de macrófagos, neutrófilos e das células dendríticas reconhecem moléculas simples e padrões regulares de estruturas celulares conhecidas como padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs, *pathogen-associated molecular pattern*), que estão presentes em muitos microorganismos, mas não nas próprias células do hospedeiro. Estes receptores são geralmente conhecidos como receptores de reconhecimento de padrões (PRRs, *pattern recognition receptors*), e reconhecem estruturas como oligossacarídeos ricos em manose,

peptidoglicanos, lipopolissacarídeos e DNA CpG não-metilado que são comuns a muitos patógenos e têm sido conservados durante a evolução. Assim, o SIH inato está apto a distinguir o próprio do não-próprio e montar um ataque contra os invasores.

2.4 Células do SIH inato

Há três tipos de fagócitos do SIH: os macrófagos, os granulócitos (termo coletivo para as células sanguíneas brancas conhecidas como neutrófilos, basófilos e eosinófilos) e as células dendríticas. Os macrófagos residem na maioria dos tecidos corporais e são a forma madura dos monócitos, que circulam no sangue e migram continuamente para os tecidos, onde se diferenciam. Os macrófagos são células de vida relativamente longa e realizam muitas funções diferentes nas respostas imune inata e adaptativa subsequente. Uma de suas funções é a de engolfar e matar microorganismos invasores. Eles auxiliam a indução da inflamação e secretam proteínas de sinalização que ativam outras células do SIH, por exemplo os neutrófilos, e as recrutam para participar da resposta imune. Além do seu importante papel no SIH, os macrófagos também atuam "limpando" o organismo, eliminando células mortas e restos celulares.

Os macrófagos são encontrados debaixo da pele, nos pulmões, onde defendem o corpo de micróbios inalados, e nos intestinos. Eles são chamados de células sentinelas porque podem ser encontrados abaixo da superfície de todas as áreas do corpo que estão expostas ao mundo exterior. Eles podem existir em três estados diferentes. No estado *resting* funcionam como coletores de lixo. Quando o macrófago no estado *resting* recebe um sinal (por exemplo, a presença de uma determinada citocina) que induz sua ativação, ele passa para um estado onde é capaz de fagocitar substâncias maiores, atuar como uma célula apresentadora de antígenos (APCs) e produzir citocinas e quimiocinas que iniciam o processo de inflamação [6, 7]. As APCs são células que podem apresentar antígenos para ativar os linfócitos T pela primeira vez. Estas células formam uma ligação entre a resposta imune inata e a adaptativa.

Citocina é o nome geral dado a qualquer proteína que é secretada por células e afeta o comportamento das células portadoras de receptores adequados. As quimiocinas, um subconjunto de citocinas, são proteínas que atraem células portadoras de receptores de quimiocinas, como os monócitos e neutrófilos, isto é, o reconhecimento de uma quimiocina

induz um conjunto de mudanças na célula que vão permitir que esta célula se movimente na direção da quimiocina.

Há ainda um outro estado de prontidão, conhecido como hiperativado, também referido como ativado neste trabalho, que é consequência de uma sinal recebido diretamente de um microrganismo invasor, como o LPS. Quando receptores na superfície do macrófago se ligam ao LPS, ele para de proliferar e foca sua atenção em eliminar os antígenos. Neste estado se tornam maiores, aumentam sua taxa de fagocitose e produzem TNF- α [8]. O TNF- α é uma citocina produzida por vários tipos de células, especialmente por macrófagos. O TNF- α inicia uma cascata de produção de citocinas e aumenta a permeabilidade vascular, sendo importante no recrutamento de macrófagos e neutrófilos para o local da infecção.

Os neutrófilos polimorfonucleares (PMNs, *polimorphonucleated neutrophils*) são as células mais numerosas e importantes na resposta imune inata. É um componente essencial do SIH inato; sem os neutrófilos um organismo iria sucumbir a infecção e morrer em questão de dias. Eles capturam uma variedade de microorganismos por fagocitose e os destroem eficientemente em vesículas intracelulares usando enzimas de degradação e outras substâncias antimicrobianas armazenadas em seus grânulos citoplasmáticos.

A ingestão de microorganismos pelos neutrófilos dispara a produção de espécies reativas do oxigênio e a fusão de grânulos citoplasmáticos com fagossomos que estão se formando. A capacidade dos neutrófilos serem ativados por citocinas após a liberação de substâncias derivadas de bactérias tem sido ilustrada em modelos *in vivo* de depleção de neutrófilos [9, 10]. Muitas substâncias, incluindo o LPS e citocinas como IL-1, IL-2 e TNF- α , são capazes de ativar os neutrófilos, conduzindo a uma notável produção de IL-8 [11, 12]. A IL-8 é uma quimiocina produzida pelos neutrófilos, macrófagos e outros tipos celulares como as células epiteliais [13].

A presença de IL-8 *in vivo* tem sido claramente associada com o recrutamento de neutrófilos [12] e a severidade da patologia. Além disso, experimentos usando anticorpos anti IL-8 tem claramente demonstrado a contribuição dessa citocina no processo inflamatório [14, 15, 16]. Algumas pesquisas sugerem que os neutrófilos são reguladores específicos da imunidade, e que formam uma rede de citocinas que exerce efeitos importantes na imunidade e mobilidade de células [17, 18, 19, 20, 21, 22].

As funções de proteção dos eosinófilos e basófilos são menos entendidas. Seus grânulos

contêm uma variedade de proteínas e enzimas tóxicas, que são liberadas quando a célula é ativada. Acredita-se que os eosinófilos e basófilos são importantes principalmente na defesa contra parasitas, os quais são muito grandes para serem ingeridos por macrófagos ou neutrófilos, mas sua principal importância clínica é o envolvimento nas reações inflamatórias alérgicas, em que seus efeitos são mais prejudiciais do que protetores [23].

O terceiro grupo de células são as chamadas células dendríticas. Estas células possuem longas projeções semelhantes a dedos, como os dendritos das células nervosas, o que dá a elas o nome. As células dendríticas imaturas migram da medula óssea para a corrente sanguínea para entrar nos tecidos. Elas capturam substâncias particuladas por fagocitose e ingerem continuamente grandes quantidades de fluido extracelular, em um processo conhecido como macropinocitose. Assim como os macrófagos e neutrófilos, elas degradam os patógenos que capturaram, mas sua principal função no SIH não é a eliminação de microorganismos. As células dendríticas que encontram microorganismos invasores maturam-se em APCs capazes de ativar os linfócitos T. Essa ativação ocorre através da apresentação de antígenos em sua superfície, de modo que eles possam ser reconhecidos e tratados pelos linfócitos T.

2.5 Resposta inflamatória

Todo dano ao tecido causado por um ferimento ou por uma substância estranha induz uma complexa sequência de eventos coletivamente conhecidos como resposta inflamatória [1]. Como descrito acima, um componente molecular da parede celular do micróbio, como o LPS, pode disparar uma resposta inflamatória via interação com receptores na superfície de algumas células. Por exemplo, os macrófagos que residem nos tecidos reconhecem uma bactéria por meio da ligação do TLR4 com o LPS. O comprometimento desses receptores ativa o macrófago para fagocitar a bactéria, degradá-la internamente e a secretar proteínas conhecidas como **citocinas** e **quimiocinas**, assim como outras moléculas biologicamente ativas.

A inflamação de um tecido infectado tem vários efeitos benéficos no combate à infecção. Além de recrutar células e moléculas da imunidade inata da circulação para os tecidos, aumenta o fluxo de linfa contendo microorganismos e as células portadoras de antígenos para os tecidos linfoides vizinhos, onde ativarão os linfócitos e iniciarão a

resposta adaptativa. Uma vez que a resposta adaptativa foi ativada, a inflamação também recruta as células efetoras do SIH adaptativo para os locais de infecção. A inflamação local e a fagocitose das bactérias podem ser iniciadas como resultado da ativação do complemento. Os micróbios revestidos pelo complemento são reconhecidos e se ligam aos receptores do complemento específicos em macrófagos, levando à fagocitose e eliminação dos micróbios.

A inflamação é, tradicionalmente, definida por quatro palavras do latim: *calor*, *dolor*, *rubor* e *tumor*, significando calor, dor, rubor e inchaço, o que reflete o efeito das citocinas e de outros mediadores inflamatórios nos vasos sanguíneos locais. A dilatação e o aumento da permeabilidade dos vasos sanguíneos durante a inflamação leva a um aumento do fluxo sanguíneo local e ao extravasamento de fluido para os tecidos, causando calor, rubor e inchaço. As citocinas e os fragmentos do complemento têm efeitos importantes no endotélio que reveste os vasos sanguíneos. As citocinas inflamatórias produzem mudanças nas propriedades de adesão das células endoteliais, contribuindo para a adesão dos leucócitos circulantes nas células endoteliais e sua migração para o local de infecção, para onde são atraídos por quimiocinas. A migração das células para dentro dos tecidos e suas ações locais causam a dor.

2.5.1 LPS

A resposta inicial do corpo a um estresse biológico agudo, como uma infecção bacteriana, é uma resposta inflamatória aguda. A endotoxina LPS é um potente imunestimulante que pode induzir uma resposta inflamatória aguda comparável a uma infecção bacteriana. Quando ocorre a lise de uma bactéria devido a ação de células do sistema imune, o LPS pode ser liberado no hospedeiro, intensificando a resposta inflamatória e ativando algumas células do sistema inato, como neutrófilos e macrófagos. A administração de antibióticos pode conduzir a liberação de LPS, confirmando a importância clínica deste assunto [24].

2.6 Resposta imune durante a infecção

O SIH tem uma estratégia de defesa na qual os macrófagos residentes ficam de sentinela nos tecidos procurando por algum sinal de infecção ou inflamação. Quando encontram este sinal, os macrófagos alertam os "soldados", os neutrófilos, de que a ajuda deles

é necessária. A cooperação entre macrófagos e neutrófilos é essencial para montar uma defesa efetiva. Sem os macrófagos para recrutá-los para o local da "batalha", os neutrófilos iriam circular indefinidamente pela corrente sanguínea, prejudicando o controle das infecções de grande porte.

2.6.1 Recrutamento, ativação e extravasamento de neutrófilos

Na maioria das infecções bacterianas, o macrófago será uma das primeiras células a perceber a invasão através de uma ligação direta com a bactéria ou uma ligação mediada pelo complemento. Ao perceber a invasão, o macrófago passa para um estado ativo e produz várias citocinas pró-inflamatórias. Dentre estas, a IL-1 e o TNF- α induzem a expressão da proteína selectina nas células endoteliais. Os neutrófilos que estão circulando a uma grande velocidade na corrente sanguínea expressam em sua superfície o ligante da selectina (região sialil-Lewis) e quando ocorre uma interação entre a selectina e seu ligante, o neutrófilo diminui sua velocidade e fica preso brevemente à célula endotelial. Mas a força de cisalhamento da circulação sanguínea logo desprende o neutrófilo. O neutrófilo é carregado mais um pouco pelo sangue até que a selectina de outra célula endotelial "prenda" o neutrófilo novamente. Este processo se repete até que o neutrófilo reconheça algum quimioatraente, como por exemplo a IL-8 ou a MIP-1 β (*macrophage inflammatory protein 1 beta*), e seja ativado por este. A ligação desses quimioatraentes com receptores na membrana do neutrófilo dispara um sinal de ativação que induz uma mudança conformacional nas moléculas de integrina da membrana do neutrófilo. Essa mudança resulta no aumento da afinidade da integrina aos ICAMS (*immunoglobulin cell adhesion molecule superfamily*) expressos pelas células endoteliais. Essa interação entre integrina e ICAM permite uma adesão firme e posteriormente a transmigração através das células endoteliais para os tecidos. Este processo de extravasamento dos neutrófilos é mostrado na Figura 2.1.

2.6.2 O extravasamento de neutrófilos precede uma segunda onda de monócitos

Em muitas condições inflamatórias, os neutrófilos dominam o influxo inicial de leucócitos no tecido inflamado. A primeira onda de neutrófilos que extravasaram é logo substituída

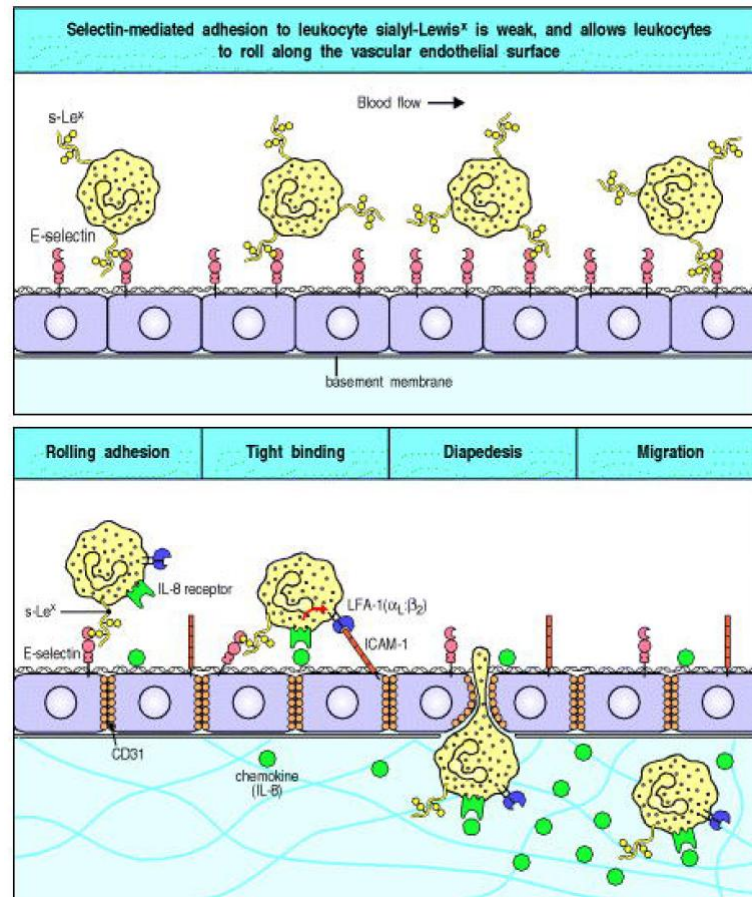


Figura 2.1: As várias etapas no processo de migração dos neutrófilos da corrente sanguínea para os tecidos [1].

por uma segunda onda de monócitos. Um estudo apresentou provas iniciais para a existência desta sequência de eventos. Em um estudo preliminar, os neutrófilos dominaram o extravasamento de leucócitos 3 horas depois do início da inflamação e tempos depois as células que extravasaram eram predominantemente monócitos [25].

Nos anos subsequentes, foi demonstrado que o lisado de neutrófilos atraía eficientemente monócitos, esse processo de atração também é chamado de efeito quimiotático [26]. Em um lisado de neutrófilos as células dos neutrófilos são "quebradas" e depois preparadas de forma a fornecer uma imunização.

Em 1982, descobriu-se quais componentes do neutrófilo são responsáveis pelo efeito quimiotático em monócitos: o lisado de neutrófilos de pacientes que sofriam de uma deficiência específica de grânulos (SGD) não apresentava efeito quimiotático em monócitos [27].

A confirmação para a relevância dos grânulos protéicos do neutrófilo veio de estudos que identificaram um efeito quimiotático direto de alguns grânulos [28, 29, 30]. Os

grânulos protéicos estão no centro da comunicação dos neutrófilos com o ambiente. São pré-formados e estão armazenados em vesículas, estando disponíveis durante a resposta inflamatória.

Durante sua jornada da corrente sanguínea para os locais de inflamação, os neutrófilos liberam uma grande quantidade de grânulos protéicos. Pouco tempo após a efluência dos neutrófilos, o extravasamento de monócitos ocorre. Pesquisas recentes fornecem evidência de que a liberação de grânulos protéicos pelos neutrófilos e o extravasamento de monócitos estão inter-relacionados [31, 32]. Esses grânulos depositados no endotélio permitem direta ativação e subsequente adesão de monócitos. Além disso, os grânulos aumentam a expressão de moléculas de adesão no endotélio, contribuindo eficientemente para a apreensão de monócitos nas veias inflamadas [32].

2.6.3 Apoptose e resolução da resposta inflamatória

A resolução da resposta inflamatória é um processo complexo e inclui a produção de mediadores anti-inflamatórios e a apoptose (ou morte programada) de células efetoras do SIH, como os neutrófilos.

As citocinas anti-inflamatórias são uma série de moléculas imunoreguladoras que controlam a resposta pró-inflamatória. As citocinas atuam em conjunto com inibidores específicos e receptores solúveis de citocinas para regular a resposta imune. A participação das citocinas nos estados de inflamação e inflamação sistêmica foi demonstrada [33]. As principais citocinas anti-inflamatórias incluem o receptor antagonista de IL-1, e as citocinas IL-4, IL-6, IL-10, IL-11 e IL-13 [33]. A IL-10 é um inibidor forte da produção de várias citocinas pró-inflamatórias [34], dentre elas a IL-8 e TNF- α , por monócitos [35] e forte inibidor da produção induzida pelo LPS de IL-8 pelos neutrófilos [36, 37].

As células apoptóticas mantêm a integridade da membrana por um período de tempo fixo e precisam ser removidas rapidamente para prevenir uma necrose secundária e, conseqüentemente, a liberação de moléculas citotóxicas que causam inflamação e dano ao tecido [38]. Como consequência da fagocitose de células apoptóticas por macrófagos ou células dendríticas, ocorre produção de citocinas anti-inflamatórias por estes tipos celulares. Por exemplo, macrófagos secretam TGF- β que impede a liberação de citocinas pró-inflamatórias induzida por LPS [39]. Além disso a ligação de células apoptóticas no receptor CD36 de macrófagos inibe a produção de citocinas pró-inflamatórias como

TNF- α , IL-1 β e IL-12 e aumenta a secreção de TGF- β e IL-10 [40].

3 MODELAGEM DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Sistemas biológicos compreendem muitas escalas: as interações atômicas de baixo nível formam a base das estruturas moleculares da vida (DNA e RNA), que fazem parte de células e interações celulares, e as células, por sua vez, constituem sistemas biológicos de alto nível, variando de organismos unicelulares para formas de vida multicelular altamente complexas. O nível de abstração de um modelo biológico depende da escala e nível de granularidade adotado. O grande desafio ao desenvolver um modelo é achar um balanço entre escala, granularidade e viabilidade computacional [41].

Sistemas biológicos podem também trabalhar sem várias partes. Eles são robustos, tendo características redundantes e componentes com funções que se sobrepõem [41]. Desta forma, se um modelo captura os principais componentes de um sistema biológico, não há razão pela qual ele não possa ser usado em simulações realísticas [42].

Várias abordagens têm sido usadas para modelar sistemas biológicos complexos. A seguir serão discutidas três abordagens padrões para entender a dinâmica de sistemas complexos (não só de sistemas biológicos): equações diferenciais, autômato celular e modelagem baseada em agentes.

3.1 Equações diferenciais

Equações diferenciais e metodologias relacionadas são uma forma de expressar quantitativamente e com precisão matemática as interações do sistema à medida que evoluem no tempo. Intrínseco nas equações diferenciais é a suavidade e continuidade da análise. Diferenças individuais entre elementos discretos são neutralizadas; o poder das equações diferenciais está na suposição de que a média local incorpora mais verdade do que o coletivo das diferenças microscópicas individuais, que são sempre suscetíveis a erros de amostragem.

Modelos de EDOs (Equações Diferenciais Ordinárias) [43] são frequentemente usados como ponto de partida para descrever sistemas do tipo hospedeiro-patógeno. Uma das

vantagens de usar EDOs é que muito é conhecido sobre seu comportamento. Modelos de EDOs são simples e elegantes e requerem menos parâmetros do que sua contraparte espacial (EDPs - Equações Diferenciais Parciais). Esta é uma importante consideração quando dados experimentais são obtidos de um compartimento bem homogêneo, como o sangue, ou de alguma parte homogeneizada de um tecido, onde a informação espacial está em falta. Quando suficientemente simples, as EDOs tem o benefício adicional de serem tratadas analiticamente e técnicas como teoria da bifurcação podem ser usadas para prever, por exemplo, valores dos parâmetros que alteram os estados do sistema.

Há, porém, limitações nestes modelos. Eles assumem que as populações são homogêneas e uniformemente distribuídas sobre o espaço de simulação por todo o tempo. Esta é uma suposição que pode não ser realista e pode influenciar a dinâmica resultante. Uma opção para resolver esta limitação é usar EDPs, que capturam mudanças no tempo e espaço.

Os modelos matemáticos podem servir para vários propósitos distintos. Eles podem ser usados para analisar resultados de experimentos e fornecer previsões e sugestões para experimentos que seguirão, ou podem tentar sintetizar conhecimento existente e fornecer um *framework* teórico para interpretação de paradigmas existentes. Ambos os tipos de modelos (EDOs e EDPs) são úteis para a imunologia experimental, e o mérito desses modelos depende das questões específicas para os quais eles foram projetados para responder. Contudo, quanto mais suposições são postas no modelo, mais difícil torna-se a interpretação dos resultados, e conseqüentemente, a confiança nas conclusões a partir dele obtidas. Por outro lado, um modelo bem projetado pode testar diferentes suposições e fornecer novas direções importantes em questões que não podem ser prontamente respondidas experimentalmente.

3.2 Autômato celular

O autômato celular (AC) [44] foi originalmente introduzido por John Von Neuman e Stanislas Ulam sob o nome de espaços celulares. Este modelo surgiu como uma possível idealização de sistemas biológicos.

A idéia por trás dos ACs é relativamente simples. Células formam uma grade regular, onde cada célula por estar em um número finito de estados. As dimensões da grade podem

variar entre uma e várias dimensões. O estado de cada célula é avaliado a cada instante de tempo discreto t . Para o cálculo do estado, podem ser levados em consideração o próprio estado da célula e o estado das células a ela vizinhas no instante de tempo anterior ($t - 1$). Essa vizinhança corresponde a uma determinada seleção de células que estejam localizadas em posições próximas a ela.

O estudo dos AC atraiu um grande interesse nos últimos anos [45, 46, 47, 48] devido a sua capacidade de gerar um amplo espectro de padrões comportamentais complexos a partir de conjuntos de regras relativamente simples. Além disso, eles parecem capturar a essência de comportamentos complexos e auto-organizados observados em sistemas naturais [49].

O AC difundiu-se devido a sua capacidade de gerar simulações e resultados, muitas vezes não conseguidos utilizando outros métodos que envolvem equações matemáticas, como por exemplo, as equações diferenciais.

A simplicidade e facilidade de implementação desse modelo têm influenciado várias áreas do conhecimento [49].

A falta de mobilidade das células e a falta de separação entre os elementos do modelo e o ambiente no qual estão inseridos são algumas das desvantagens do AC. Seu custo computacional também pode representar um impedimento para o seu uso, principalmente quando um grande número de células precisam ser avaliadas a cada passo de tempo.

3.3 Agentes

Um modelo baseado em agentes (ABM, *agent-based modelling*) tem muitas aplicações na simulação de sistemas humanos e sociais, assim como na biologia e na ecologia. Neste modelo, cada entidade é unicamente representada como um agente independente tomador de decisão. Quando solicitado a agir, cada agente analisa sua situação corrente e atua de acordo, baseando-se em um conjunto de regras. As regras incorporam conhecimento ou teorias sobre os respectivos componentes de baixo nível, podendo assumir distintas formas, como testes lógicos (se-então), equações diferenciais, redes neurais, e algoritmos genéticos, dentre outros. O comportamento global do sistema emerge de relações locais simples e auto-organizáveis entre os agentes.

Em um modelo baseado em agentes, ao contrário de outros modelos teóricos da

imunologia, as entidades são representadas explicitamente. Cada agente representa uma única célula, molécula ou patógeno e tem um código com seu comportamento e com as regras que deve seguir para interagir com outros agentes.

Este modelo é apropriado para estudar imunologia [50, 51, 52, 53, 41, 54] por diversas razões, dentre as quais:

- os agentes podem incorporar conhecimento biológico ou hipóteses sobre componentes de baixo nível, mesmo que esses conhecimentos não possam ser expressos matematicamente.
- informações de muitos experimentos podem ser combinadas em uma única simulação para testar a consistência entre esses experimentos ou identificar "espaços" no conhecimento existente.

Uma abordagem híbrida [55, 56, 57] juntando AC e agentes também é muito comum. Por exemplo, no caso da modelagem do SIH, o AC poderia ser responsável por modelar a difusão, a reação e a evaporação de substâncias no ambiente, sendo este portanto representado pela grade do AC. Já os agentes seriam responsáveis por modelar as células e moléculas do SIH que se movimentam e realizam ações nessa grade. A comunicação entre esses dois elementos ocorre quando os agentes produzem ou consomem substâncias, ou quando a ação de um agente depende de substâncias presentes na grade [41]. Neste caso, o estado de um agente no instante t depende de vários estados no instante $t-1$: o seu próprio estado, os estados das posições vizinhas na grade e de sua própria posição, e também das interações com agentes vizinhos seguindo um conjunto de regras de atualização.

4 TRABALHOS CORRELATOS

Este capítulo tem por objetivo apresentar os principais modelos encontrados na literatura para modelar o funcionamento de parte do sistema imunológico humano inato. Basicamente duas abordagens distintas são usadas nos trabalhos: uso de EDOs e de EDPs.

4.1 Modelos que utilizam EDOs

Em [58] foi desenvolvido um modelo da inflamação composto por EDOs em um domínio tri-dimensional consistindo de 3 tipos celulares/moleculares: o patógeno e dois mediadores inflamatórios. O modelo reproduz várias saídas dependendo das condições iniciais e dos parâmetros. Os autores fizeram uma análise de várias bifurcações a partir da variação nos parâmetros chave e várias estratégias terapêuticas são sugeridas a partir desta análise.

O modelo captura os seguintes cenários clinicamente relevantes:

- uma resposta bem-sucedida, onde o patógeno é eliminado e o corpo retorna para a homeostase;
- uma infecção recorrente, onde a inflamação é inadequada e o patógeno não foi completamente eliminado;
- uma inflamação persistente e infecciosa, onde os níveis do patógeno e da inflamação são altos;
- uma inflamação persistente e não infecciosa, onde o patógeno é eliminado porém a inflamação persiste;
- uma imuno-deficiência severa, onde a concentração de patógeno está saturada mas a intensidade da resposta inflamatória é muito baixa.

O modelo consiste de 3 variáveis:

- o patógeno p ;
- um mediador inflamatório inicial m , que pode ser considerado um representante dos efeitos combinados de células do SIH, como macrófagos e neutrófilos, e de citocinas, como $\text{TNF-}\alpha$ e IL-1 ;

- um mediador pró-inflamatório tardio l , que representa um *feedback* pró-inflamatório tardio, representando o efeito de citocinas como IL-6, HMGB-1 (*High Motility Group Box 1*) e efeitos estimulatórios consequentes do dano ao tecido e disfunções nos órgãos.

O modelo mostrou que para ter uma resposta imune adequada: a) a virulência do patógeno não pode ser muito forte nem muito fraca, b) a resposta pró-inflamatória inicial não pode ser muito fraca e c) a resposta pró-inflamatória tardia não pode ser muito forte nem muito fraca.

O trabalho anterior foi estendido[59] para investigar as vantagens de uma resposta anti-inflamatória dependente do tempo. Nesta extensão, o modelo matemático foi construído a partir de modelos mais simples, chamados de modelos reduzidos. Uma abordagem semelhante foi utilizada no escopo deste trabalho, e é apresentada no Capítulo 5.

O modelo matemático propriamente dito consiste de um sistema de EDOs com 4 equações para modelar os a) patógenos, b) fagócitos ativados, c) dano ao tecido e d) mediadores anti-inflamatórios. O termo fonte dos fagócitos, ou seja, o termo que modela a inserção de novos fagócitos no modelo, é uma função que depende a) da própria concentração de fagócitos atual, b) da concentração do patógeno e c) do dano ao tecido. Este termo modela as várias interações que os fagócitos podem realizar durante uma resposta imune, sejam elas diretas ou mediadas por citocinas. Na interação mediada por citocinas considera-se a participação implícita das citocinas, dado que elas não são representadas explicitamente no modelo. Por exemplo, em uma resposta imune a interação do fagócito com o tecido é mediada pela citocina pró-inflamatória produzida pelas células epiteliais infectadas do tecido e esta relação é representada diretamente no termo de fonte dos fagócitos como uma taxa versus o dano atual ao tecido. Já no modelo proposto nesta dissertação as citocinas e todas as interações em que ela participa estão explicitamente representadas.

O mesmo trabalho ainda avalia o impacto de uma anti-inflamação dinâmica através de simulações e estudos de bifurcação. Os resultados obtidos ilustram a vantagem de uma resposta anti-inflamatória dinâmica e destacam também os riscos associados com a manipulação dos níveis do mediador anti-inflamatório antes de uma infecção inicial ou após uma infecção inicial que ainda não terminou.

Uma nova adaptação do primeiro modelo apresentado nesta seção simula vários

cenários envolvendo repetidas doses de endotoxina [60]. Neste trabalho resultados obtidos através de experimentos com camundongos são utilizados para guiar os experimentos *in silico* que procuram recriar estes resultados qualitativamente.

O modelo matemático emprega os aspectos chaves de uma resposta imune para examinar a administração repetida de endotoxina no contexto da resposta inflamatória aguda. O modelo substitui a equação do patógeno proposta no trabalho anterior dos mesmos autores [59] por uma equação que modela a endotoxina. O modelo é composto por equações diferenciais ordinárias em um domínio tri-dimensional e consiste de um patógeno, dois mediadores pró-inflamatórios e um mediador anti-inflamatório. Os mediadores pró-inflamatórios representam respectivamente os fagócitos ativados e o dano ao tecido. A variável que representa o dano ao tecido não só quantifica esse dano mas também serve como um *feedback* positivo para as vias pró- e anti-inflamatórias, portanto do mesmo modo que um tecido danificado realmente faria [61]. O mediador anti-inflamatório atua em uma escala de tempo mais lenta do que os fagócitos ativados, se comportando mais como a citocina TGF- β do que IL-10, que foi modelada e incluída no modelo matemático estendido deste trabalho. Em suas simulações [60] foi observado que o tempo e a magnitude das doses de endotoxina, bem como a dinâmica entre mediadores pró- e anti-inflamatórios, são as chaves para distinguir os fenômenos da potenciação e tolerância ao LPS. Foi ainda demonstrado que o modelo computacional proposto, apesar de reduzido, incorpora uma dinâmica suficientemente complexa que reproduz qualitativamente um conjunto de resultados experimentais associados com variadas administrações de endotoxina em camundongos.

Todos os modelos citados nesta seção foram calibrados para serem consistentes com a literatura experimental. Entretanto, não existem garantias de que os modelos serão válidos para uma grande variedade de espécies, especialmente no que se refere as diferenças na sensibilidade a endotoxina [60]. No caso do último modelo [60], nem todos os intervalos e estimativas de parâmetros foram obtidos de uma única espécie, enquanto que nesta dissertação, sempre que disponíveis, foram utilizados valores de uma única espécie, a humana. Ainda em relação ao último modelo, os parâmetros foram selecionados de forma que as evoluções no tempo de algumas variáveis fossem qualitativamente similares às sugeridas por dados experimentais, sendo esta uma abordagem que não foi bem sucedida para os modelos descritos nesta dissertação e apresentados no Capítulo 5. Isto

ocorreu porque o tipo de antígeno e sua concentração possuem grande influência sobre os parâmetros utilizados na simulação.

As limitações dos modelos anteriores e dos modelos que serão apresentados neste trabalho são:

- as simplificações feitas tornam difícil fazer uma correspondência entre algumas variáveis e mediadores biológicos específicos, e
- não reproduzem o comportamento quantitativo.

Por fim, um último trabalho [62] desenvolveu um sistema de EDOs mais completo da inflamação aguda, incluindo macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, células T_H1 , a pressão do sangue, o trauma no tecido, elementos efetores como iNOS, NO_2^- e NO_3^- , citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, e elementos que participam da coagulação. Neste modelo, assim como no modelo implementado nesta dissertação, os neutrófilos e macrófagos são diretamente ativados pelo LPS. Além disso, neste último trabalho a ativação também ocorre indiretamente por vários estímulos elicitados sistematicamente após um trauma ou hemorragia. Contudo, seu modelo não incluí explicitamente os acontecimentos iniciais de uma inflamação, como degranulação dos mastócitos e ativação do complemento, mas estes foram incorporados implicitamente na dinâmica da endotoxina e citocinas. Uma vez ativados, neutrófilos e macrófagos produzem moléculas efetoras que ativam outras células, como as células endoteliais. O modelo também inclui citocinas anti-inflamatorias, como IL-10 e $TGF\beta$, além de receptores solúveis para citocinas pró-inflamatórias. O modelo demonstrou utilidade em simular a resposta inflamatória induzida em camundongos pela endotoxina, trauma cirúrgico e cirurgia ou hemorragia, sendo capaz de prever até certo ponto os níveis de TNF, IL-10, IL-6 e os produtos reativos do NO (NO_2^- e NO_3^-). Porém, em algumas combinações de injeções de endotoxina e em alguns instantes de tempo, a predição não se aproximou dos resultados obtidos experimentalmente.

4.2 Modelos que utilizam EDPs

O modelo proposto por Su *et alli* [63] utiliza um sistema de equações diferenciais parciais (EDPs) para modelar não apenas o funcionamento do sistema imunológico inato, como

também o sistema imunológico adaptativo. O modelo considera a forma mais simples de antígeno, que são os padrões moleculares constituintes dos patógenos, levando em consideração todos os fatores básicos de uma resposta imune: antígeno, células do SIH, citocinas e quimiocinas. Este modelo captura os seguintes estágios da resposta imune: reconhecimento, iniciação, resposta efetora e resolução da infecção ou mudança para um novo estado de equilíbrio (*steady state*). Entre suas principais características, temos:

- Células se movem para o local de infecção numa ordem temporal de formação do granuloma bem estabelecida;
- Para representar o movimento através da microvasculatura, é usado o conceito de homogeneização e, por simplicidade, é assumido que os tubos microvasculares formam uma estrutura reticulada;
- A fronteira da área simulada atua como um nodo linfático, cuja a tarefa principal neste caso é fornecer células T efetoras para o combate aos antígenos.

O modelo consegue reproduzir fenômenos importantes como: ordem temporal de chegada das células no local da infecção, apresentação de antígenos pelas células dendríticas, a participação de macrófagos e células T regulatórias (Treg) na resolução da resposta imune, a produção de citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias e o fenômeno da quimiotaxia. Este modelo serviu de base para o desenvolvimento do presente trabalho de dissertação.

5 MODELO MATEMÁTICO

A modelagem completa do SIH demanda uma grande quantidade de trabalho a ser realizado por um grande time multidisciplinar. Neste trabalho é focada uma tarefa específica: o desenvolvimento e a implementação computacional de um modelo matemático da resposta imune inata ao LPS em uma seção do tecido. Uma das razões para desenvolver um modelo deste tipo é o fato de existirem poucos modelos para o sistema imune inato; a grande maioria dos sistemas existentes modela o funcionamento do sistema imune adaptativo. Outra razão é o fato de que muitas doenças são consequências do mau-funcionamento do sistema imune inato e neste caso o modelo poderia contribuir na definição de estratégias terapêuticas. Além disso, uma melhor compreensão de como todas as partes do sistema imune inato funcionam é fundamental para entender como a resposta imune como um todo funciona, dado que o sistema imune inato é responsável pelo início da resposta imune e por disparar o sistema imune adaptativo.

Com o intuito de desenvolver um modelo matemático da resposta do SIH inato ao LPS, foi realizado um estudo sobre o funcionamento do SIH inato através da consulta a livros de referência na área de Imunologia [4, 1, 5] e de consulta a vários artigos. A partir deste estudo formulou-se um modelo inicial para descrever as interações entre antígenos, neutrófilos e citocinas. Este modelo reduzido é apresentado na Seção 5.1, e baseia-se em um trabalho anterior [63]. A idéia básica é descrever a dinâmica desses elementos no tecido durante o tempo. Os processos de difusão e quimiotaxia são importantes para descrever tais dinâmicas.

Na sequência, o modelo reduzido foi estendendo, acrescentando-se a ele os macrófagos. Analisando-se as interações dos neutrófilos com os macrófagos durante a resposta imune, pode-se verificar que os neutrófilos dominavam o influxo inicial de células e que os macrófagos ativados eram importantes na regulação da resposta imune através da fagocitose dos neutrófilos apoptóticos. Mas este novo modelo ainda não conseguia capturar características relevantes da resposta imune, como o recrutamento de monócitos para o local de infecção, devido a ação dos neutrófilos e uma regulação mais efetiva da resposta imune. A partir destas observações derivou-se o modelo mais completo, apresentado na Seção 5.2, acrescentando uma equação que modela a produção de grânulos protéicos pelos

neutrófilos e uma resposta anti-inflamatória dinâmica.

5.1 Equações do Modelo Reduzido

O modelo reduzido simula o comportamento temporal e espacial de antígenos, neutrófilos e citocinas pró-inflamatórias (dentre elas a quimiocina IL-8) em um tecido infectado pelo LPS. As principais características do modelo são:

- Neutrófilos interagem com as citocinas pró-inflamatórias e antígenos para montar uma resposta imune;
- No local de infecção os neutrófilos se movimentam em direção ao gradiente das citocinas pró-inflamatórias;
- As citocinas pró-inflamatórias atraem os neutrófilos para o local onde a concentração de antígenos é maior.

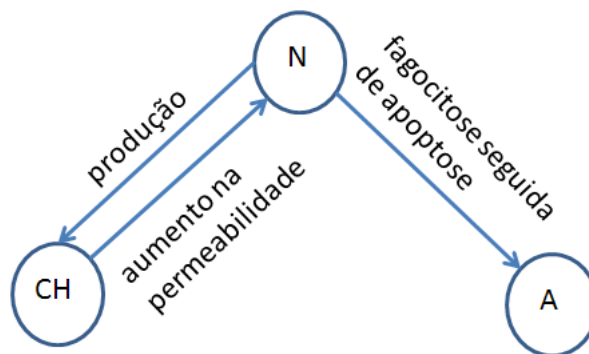


Figura 5.1: Relações entre os componentes do modelo reduzido.

A Figura 5.1 apresenta esquematicamente as relações entre neutrófilos, citocinas pró-inflamatórias e antígenos.

Os antígenos (moléculas de LPS) se difundem e provocam uma resposta nos neutrófilos, que reconhecem esses antígenos e fagocitam-o. O processo de fagocitose induz de forma rápida a apoptose dos neutrófilos. Essa indução está associada com a geração das espécies reativas do oxigênio (ROS). ROS são compostos químicos resultantes da ativação ou redução do oxigênio molecular [64].

As citocinas pró-inflamatórias são produzidas pelos neutrófilos assim que seus receptores de membrana são ativados pelo LPS. Essas citocinas pró-inflamatórias vão

induzir um aumento na permeabilidade do endotélio e vão atrair os neutrófilos para o local da infecção.

As equações do modelo reduzido são dadas a seguir.

A equação do antígeno (A) é dada em 5.1.

$$\begin{cases} \frac{\partial A}{\partial t} = -\mu_A A - \lambda_{N|A} A \cdot N + D_A \Delta A \\ A(x, 0) = A_0 \quad | \quad 0 \leq x < 1, \frac{\partial A(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.1)$$

O termo $\mu_A A$ modela o decaimento dos antígenos, sendo μ_A a taxa de decaimento dos antígenos. O termo $\lambda_{N|A} A \cdot N$ modela a fagocitose dos antígenos realizada pelos neutrófilos, onde $\lambda_{N|A}$ é a taxa de fagocitose. O termo $D_A \Delta A$ modela a difusão dos antígenos, onde D_A é a taxa de difusão dos antígenos.

A equação do neutrófilo (N) é dada em 5.2.

$$\begin{cases} permeability = ((Pmax - Pmin) \cdot CH / (CH + Keqch) + Pmin) \\ sourceN = permeability \cdot (NmaxTissue - N) \\ \frac{\partial N}{\partial t} = -\mu_N N - \lambda_{A|N} A \cdot N + D_N \Delta N + sourceN - \nabla \cdot (\chi_N N \nabla CH) \\ N(x, 0) = N_0, \frac{\partial N(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.2)$$

O termo $((Pmax - Pmin) \cdot CH / (CH + Keqch) + Pmin)$ modela a permeabilidade do endotélio dos vasos sanguíneos através de uma equação de Hill ([65]). A equação de Hill é usada, por exemplo, para modelar a relação entre concentração de uma droga e seus efeitos [66].

A idéia é modelar o aumento na permeabilidade do endotélio em função da concentração das citocinas pró-inflamatórias depositadas no endotélio. Na equação de Hill, $Pmax$ representa a taxa máxima de aumento da permeabilidade do endotélio aos neutrófilos induzido pelas citocinas pró-inflamatórias, $Pmin$ é a taxa mínima de aumento da permeabilidade do endotélio aos neutrófilos induzido pelas citocinas pró-inflamatórias e $keqch$ é a concentração de citocina pró-inflamatória que exerce 50% do efeito máximo no aumento da permeabilidade.

O termo $\mu_N N$ modela a apoptose de neutrófilos, onde μ_N é a taxa de apoptose dos neutrófilos. O termo $\lambda_{A|N} A \cdot N$ modela a apoptose de neutrófilos induzida pela fagocitose,

onde $\lambda_{A|N}$ representa essa taxa de apoptose. É importante destacar que $\lambda_{A|N}$ é igual a $\lambda_{N|A}$ porque toda vez que um neutrófilo realiza a fagocitose ele sofre apoptose também.

O termo $D_N \Delta N$ modela a difusão dos neutrófilos, onde D_N é a taxa de difusão dos neutrófilos. O termo $source N$ representa o termo fonte de neutrófilos, isto é, o número de neutrófilos que vão entrar nos tecidos a partir dos vasos sanguíneos. Esse número depende da permeabilidade do endotélio (*permeability*) e da capacidade do tecido de suportar a entrada de mais neutrófilos ($N_{maxTissue}$). O termo $\nabla \cdot (\chi_N N \nabla CH)$ modela o processo de quimiotaxia dos neutrófilos, onde χ_N é a taxa de quimiotaxia dos neutrófilos.

E a equação da citocina pró-inflamatória (CH) é dada em 5.3.

$$\begin{cases} \frac{\partial CH}{\partial t} = -\mu_{CH} CH + \beta_{CH|N} \cdot N \cdot A + D_{CH} \Delta CH \\ CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.3)$$

O termo $\mu_{CH} CH$ modela o decaimento das citocinas pró-inflamatórias, onde μ_{CH} é a taxa de decaimento das citocinas pró-inflamatórias. O termo $\beta_{CH|N} \cdot N \cdot A$ modela a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos, onde $\beta_{CH|N}$ é a taxa de produção das citocinas pró-inflamatórias. O termo $D_{CH} \Delta CH$ modela a difusão das citocinas pró-inflamatórias, onde D_{CH} é a taxa de difusão das citocinas pró-inflamatórias.

Este conjunto de equações tenta modelar o papel da quimiotaxia na migração de células para os locais de inflamação e infecção. Um melhor entendimento destes processos é essencial devido ao fato de que disparam uma cascata de eventos que ativam e coordenam a resposta global do SIH [67]. O entendimento do papel dos neutrófilos também é importante por causa de suas diversas ações, dentre elas: recrutam células T e as quimiocinas liberadas por eles apresentam atividade quimiotática para macrófagos, células dendríticas, células NK e células T [68].

5.2 Equações do Modelo Estendido

O modelo estendido simula o comportamento temporal e espacial de antígenos (A), macrófagos, neutrófilos (N), neutrófilos apoptóticos (ND), citocinas pró-inflamatórias (CH), citocina anti-inflamatória (CA) e grânulos protéicos (G). Neste modelo, os macrófagos estão presentes em dois estados: *resting* (MR) e *hiperativado* (MA). As citocinas pró-inflamatórias, modeladas por uma única equação no modelo, são TNF- α

e IL-8. A citocina anti-inflamatória modelada é a IL-10. A IL-10 inibe a ativação e funções efetoras das células T, monócitos e macrófagos [69]. Os diferentes subconjuntos de grânulos protéicos [70] liberados pelos neutrófilos durante sua transmigração da corrente sanguínea para os tecidos são representados por uma única equação.

As principais diferenças entre este modelo e o modelo no qual este trabalho se baseou [63] são: a) neste trabalho não consideramos a dinâmica das células T efetoras, T regulatórias, células dendríticas e as citocinas produzidas por elas, e b) as condições de contorno são distintas para neutrófilos, macrófagos e antígeno. No caso de neutrófilos e macrófagos, é utilizada uma equação que tenta modelar a permeabilidade do endotélio e o cálculo dessa permeabilidade depende da concentração de citocinas pró-inflamatórias e grânulos protéicos. O resultado deste cálculo é usado para determinar quantos neutrófilos ou macrófagos vão extravasar para o tecido e esse influxo de células ocorre não somente nas bordas do domínio, mas também em todos os outros pontos. No modelo usado como base, os neutrófilos e macrófagos são inseridos apenas pelas bordas com valores constantes (condição de Dirichlet). No caso do antígeno, neste trabalho modifica-se a condição de contorno de Dirichlet, proposta originalmente [63], para Neumann.

As principais características do modelo são:

- Os macrófagos e neutrófilos cooperam para montar uma resposta mais efetiva e intensa contra o LPS;
- A permeabilidade do endotélio variável dependente da concentração de citocina pró-inflamatória e da concentração dos grânulos protéicos;
- Os macrófagos ativados regulam a resposta imune através da produção da citocina anti-inflamatória e da fagocitose de neutrófilos apoptóticos;
- O papel da citocina anti-inflamatória é crucial no controle da resposta inflamatória, evitando um estado de inflamação persistente mesmo após a eliminação completa dos antígenos.

Na Figura 5.2 observam-se várias interações. Os neutrófilos, macrófagos *resting* e macrófagos ativados fazem a fagocitose dos antígenos. Os neutrófilos sofrem apoptose podendo ser induzida ou não pelo processo de fagocitose e passam para um estado onde não possuem mais suas funções efetoras, como a fagocitose e produção de citocinas pró-inflamatórias. Neste estado, os neutrófilos apoptóticos são eliminados do corpo após serem

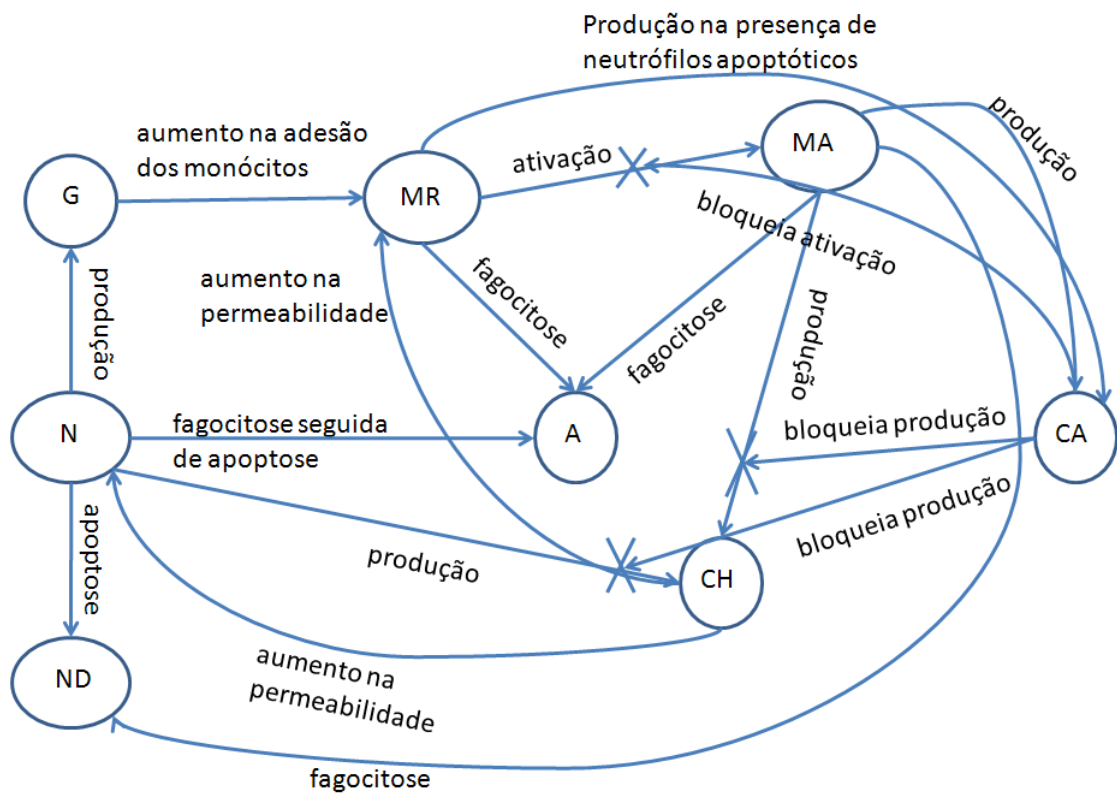


Figura 5.2: Relações entre os componentes do modelo estendido.

fagocitados pelos macrófagos ativados. O número de neutrófilos apoptóticos no meio é uma indicação indireta da probabilidade da resposta causar dano ao tecido. Isto porque os neutrófilos sofrem necrose depois de um certo tempo no estado de apoptose. Se estes não forem fagocitados pelos macrófagos ativados, essa necrose liberará os grânulos citotóxicos e as enzimas de degradação no meio, o que pode causar grandes danos ao tecido.

Os neutrófilos produzem as citocinas pró-inflamatórias, como $\text{TNF-}\alpha$ e IL-8 , e os grânulos protéicos. Os grânulos protéicos permitem direta ativação e adesão dos monócitos no endotélio dos vasos sanguíneos, facilitando dessa forma a migração dos monócitos para os tecidos. Os macrófagos *resting* se tornam ativados assim que reconhecem o LPS.

As citocinas pró-inflamatórias produzidas pelos neutrófilos e macrófagos ativados aumentam a permeabilidade dos vasos sanguíneos, permitindo a entrada de mais neutrófilos e monócitos. Estes últimos se maturam em macrófagos. Além disso, as citocinas pró-inflamatórias atuam como substância quimioatraente para os macrófagos *resting*, macrófagos ativados e neutrófilos. Essa produção das citocinas pró-inflamatórias é bloqueada quando um macrófago ativado ou neutrófilo entra em contato com a citocina anti-inflamatória. A ativação dos macrófagos também é bloqueada pela ação da citocina

anti-inflamatória. A citocina anti-inflamatória é produzida pelos macrófagos ativados e pelos macrófagos *resting* na presença de neutrófilos apoptóticos.

As equações do modelo estendido são dadas a seguir.

A equação do antígeno (A) é dada em 5.4.

$$\begin{cases} maActivation = maActivationRate.MR.A/(1 + \theta_{CA}.CA) \\ \frac{\partial A}{\partial t} = -\mu_A A - maActivation - (\lambda_{N|A}N + \lambda_{MA|A}MA).A + D_A \Delta A \\ A(x, 0) = 100 \quad | \quad 0 \leq x < 1, \frac{\partial A(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.4)$$

O termo $\mu_A A$ modela o decaimento dos antígenos, sendo μ_A a taxa de decaimento dos antígenos. O termo $maActivation$ modela a ativação dos macrófagos *resting*. Essa ativação ocorre quando os macrófagos *resting* reconhecem algum antígeno e após esse reconhecimento é realizada a fagocitose desse antígeno, por isso o sinal negativo na frente do termo $maActivation$ na equação do antígeno. O termo $\lambda_{N|A}N$ modela a fagocitose dos antígenos realizada pelos neutrófilos, onde $\lambda_{N|A}$ é a taxa de fagocitose dos neutrófilos. O termo $\lambda_{MA|A}MA$ modela a fagocitose dos antígenos realizada pelos macrófagos ativados, onde $\lambda_{MA|A}$ é a taxa de fagocitose dos macrófagos ativados. O termo $D_A \Delta A$ modela a difusão dos antígenos, onde D_A é a taxa de difusão dos antígenos.

A equação do macrófago *resting* (MR) é dada em 5.5.

$$\begin{cases} Mrpermeability1 = (MrPmax - MrPmin).CH/(CH + keqch) + MrPmin \\ Mrpermeability2 = (MrPmax_g - MrPmin_g).G/(G + keq_g) + MrPmin_g \\ sourceMR = (Mrpermeability1 + Mrpermeability2).(MrmaxTissue - (MR + MA)) \\ \frac{\partial MR}{\partial t} = -\mu_{MR}MR - maActivation + D_{MR}\Delta MR + sourceMR - \nabla \cdot (\chi_{MR}MR \nabla CH) \\ MR(x, 0) = 1, \frac{\partial MR(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.5)$$

O termo $Mrpermeability1$ modela o aumento na permeabilidade do endotélio aos macrófagos *resting* induzido pelas citocinas pró-inflamatórias. O cálculo deste termo envolve os seguintes parâmetros: a) $MrPmax$ é a taxa máxima de aumento da permeabilidade do endotélio aos macrófagos *resting* induzido pelas citocinas pró-inflamatórias, b) $MrPmin$ é a taxa mínima de aumento da permeabilidade do endotélio aos macrófagos *resting* induzido pelas citocinas pró-inflamatórias e c) $keqch$ é a

concentração de citocina pró-inflamatória que exerce 50% do efeito máximo no aumento da permeabilidade.

O termo $Mrpermeability2$ modela o aumento na permeabilidade do endotélio aos macrófagos *resting* induzido pelos grânulos proteicos. O termo $sourceMR$ representa o termo fonte de macrófagos *resting*, isto é, o número de macrófagos *resting* que vão entrar nos tecidos a partir dos vasos sanguíneos. Esse número depende da permeabilidade do endotélio ($Mrpermeability1 + Mrpermeability2$), que é influenciada por várias substâncias (CH e G), e da capacidade do tecido de suportar a entrada de mais macrófagos *resting* ($MrmaxTissue$). O termo $\mu_{MR}MR$ modela a apoptose dos macrófagos *resting*, onde μ_{MR} é a taxa de apoptose. O termo $maActivation$, como explicado anteriormente, modela a ativação dos macrófagos *resting*, ou seja, o número de macrófagos *resting* que estão passando para o estado ativo. O termo $D_{MR}\Delta MR$ modela a difusão dos macrófagos *resting*, onde D_{MR} é a taxa de difusão. O termo $\nabla \cdot (\chi_{MR}MR\nabla CH)$ modela a quimiotaxia dos macrófagos *resting*, onde χ_{MR} é a taxa de quimiotaxia.

A equação do macrófago ativado (MA) é dada em 5.6.

$$\begin{cases} \frac{\partial MA}{\partial t} = -\mu_{MA}MA + maActivation + D_{MA}\Delta MA - \nabla \cdot (\chi_{MA}MA\nabla CH) \\ MA(x, 0) = 0, \frac{\partial MA(.,t)}{\partial n}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.6)$$

O termo $\mu_{MA}MA$ modela a apoptose dos macrófagos ativados, onde μ_{MA} é a taxa de apoptose. O termo $D_{MA}\Delta MA$ modela a difusão dos macrófagos ativados, onde D_{MA} é a taxa de difusão. O termo $\nabla \cdot (\chi_{MA}MA\nabla CH)$ modela a quimiotaxia dos macrófagos ativados, onde χ_{MA} é a taxa de quimiotaxia.

A equação da citocina pró-inflamatória (CH) é dada em 5.7.

$$\begin{cases} \frac{\partial CH}{\partial t} = -\mu_{CH}CH + (\beta_{CH|N} \cdot N + \beta_{CH|MA} \cdot MA) \cdot A \cdot (1 - CH/chInf)/(1 + \theta_{CA} \cdot CA) + \\ + D_{CH}\Delta CH \\ CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(.,t)}{\partial n}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.7)$$

O termo $\mu_{CH}CH$ modela o decaimento das citocinas pró-inflamatórias, onde μ_{CH} é a taxa de decaimento. O termo $\beta_{CH|N} \cdot N$ modela a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos, onde $\beta_{CH|N}$ é a taxa produzida por dia pelos neutrófilos. O termo

$\beta_{CH|MA} \cdot MA$ modela a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos ativadas, onde $\beta_{CH|MA}$ é a taxa produzida por dia pelos macrófagos ativados. Essa produção possui uma saturação que é calculada pela equação $(1 - CH/chInf)$, onde $chInf$ é a concentração máxima de citocinas pró-inflamatórias suportada pelo tecido. E essa produção diminui com a presença da citocina anti-inflamatória, sendo esta influência da citocina anti-inflamatória modelada pelo termo $1/(1 + \theta_{CA} \cdot CA)$. O termo $D_{CH} \Delta CH$ modela a difusão das citocinas pró-inflamatórias, onde D_{CH} é a taxa de difusão.

A equação do neutrófilo (N) é dada em 5.8.

$$\begin{cases} permeability = (Pmax - Pmin) \cdot CH / (CH + keqch) + Pmin \\ sourceN = permeability \cdot (NmaxTissue - N) \\ \frac{\partial N}{\partial t} = -\mu_N N - \lambda_{A|N} A \cdot N + D_N \Delta N + sourceN - \nabla \cdot (\chi_N N \nabla CH) \\ N(x, 0) = 0, \frac{\partial N(.,t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.8)$$

O termo *permeability* modela o aumento na permeabilidade do endotélio aos neutrófilos induzido pelas citocinas pró-inflamatórias. O cálculo deste termo envolve os seguintes parâmetros: a) $Pmax$ é a taxa máxima de aumento da permeabilidade do endotélio aos neutrófilos induzido pelas citocinas pró-inflamatórias, b) $Pmin$ é a taxa mínima de aumento da permeabilidade do endotélio aos neutrófilos induzido pelas citocinas pró-inflamatórias e c) $keqch$ é a concentração de citocina pró-inflamatória que exerce 50% do efeito máximo no aumento da permeabilidade.

O termo $\mu_N N$ modela a apoptose dos neutrófilos, onde μ_N é a taxa de apoptose. O termo $\lambda_{A|N} A \cdot N$ modela a apoptose dos neutrófilos induzida pela fagocitose dos antígenos, onde $\lambda_{A|N}$ é a taxa dessa apoptose induzida. O termo $D_N \Delta N$ modela a difusão dos neutrófilos, onde D_N é a taxa de difusão. O termo *sourceN* representa o termo fonte de neutrófilos, isto é, o número de neutrófilos que vão entrar nos tecidos a partir dos vasos sanguíneos. Esse número depende da permeabilidade do endotélio (*permeability*), que é aumentada pela citocina pró-inflamatória CH , e da capacidade do tecido de suportar a entrada de mais neutrófilos ($NmaxTissue$). O termo $\nabla \cdot (\chi_N N \nabla CH)$ modela o processo de quimiotaxia dos neutrófilos, onde χ_N é a taxa de quimiotaxia.

A equação do neutrófilo apoptótico (ND) é dada em 5.9.

$$\begin{cases} \frac{\partial ND}{\partial t} = \mu_N N + \lambda_{A|N} A \cdot N - \lambda_{ND|MA} ND \cdot MA + D_{ND} \Delta ND \\ ND(x, 0) = 0, \frac{\partial ND(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.9)$$

O termo $\lambda_{ND|MA} ND \cdot MA$ modela a fagocitose dos neutrófilos apoptóticos pelos macrófagos ativados. O termo $D_{ND} \Delta ND$ modela a difusão dos neutrófilos apoptóticos.

A equação do grânulo proteico (G) é dada em 5.10.

$$\begin{cases} \frac{\partial G}{\partial t} = -\mu_G G + \beta_{G|N} \cdot source N \cdot (1 - G/gInf) + D_G \Delta G \\ G(x, 0) = 0, \frac{\partial G(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.10)$$

O termo $\mu_G G$ modela o decaimento dos grânulos proteicos, onde μ_G é a taxa de decaimento. O termo $\beta_{G|N} \cdot source N$ modela a produção de grânulos proteicos pelos neutrófilos que estão migrando para o tecido inflamado, onde $\beta_{G|N}$ é a taxa de produção. A produção de grânulos proteicos possui uma saturação que é calculada pela equação $(1 - G/gInf)$, onde $gInf$ é a concentração máxima de grânulos proteicos suportada pelo tecido. O termo $D_G \Delta G$ modela a difusão dos grânulos proteicos, onde D_G é a taxa de difusão.

A equação da citocina anti-inflamatória (CA) é dada em 5.11.

$$\begin{cases} \frac{\partial CA}{\partial t} = -\mu_{CA} CA + (\beta_{CA|MR} \cdot MR \cdot ND + \beta_{CA|MA} \cdot MA) \cdot (1 - CA/caInf) + D_{CA} \Delta CA \\ CA(x, 0) = 0, \frac{\partial CA(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.11)$$

O termo $\mu_{CA} CA$ modela o decaimento da citocina anti-inflamatória, onde μ_{CA} é a taxa de decaimento. O termo $\beta_{CA|MR} \cdot MR \cdot ND$ modela a produção da citocina anti-inflamatória pelos macrófagos *resting* na presença dos neutrófilos apoptóticos, onde $\beta_{CA|MR}$ é a taxa de produção. O termo $\beta_{CA|MA} \cdot MA$ modela a produção da citocina anti-inflamatória pelos macrófagos ativados, onde $\beta_{CA|MA}$ é a taxa de produção. Essa produção possui uma saturação que é calculada pelo termo $(1 - CA/caInf)$, onde $caInf$ é a concentração máxima da citocina anti-inflamatória no tecido. O termo $D_{CA} \Delta CA$ modela a difusão da citocina anti-inflamatória, onde D_{CA} é a taxa de difusão.

5.3 Modelo Computacional

O método numérico escolhido na implementação do modelo foi o método das diferenças finitas [71] muito usado na discretização numérica de EDPs. O método das diferenças finitas é um método de resolução de equações diferenciais que se baseia na aproximação de derivadas por diferenças finitas. O operador de diferenças finitas para derivada pode ser obtido a partir da série de Taylor para a função:

$$f(x+h) = f(x) + f'(x).h + O(h^2) \quad (5.12)$$

Portanto a derivada pode ser escrita como uma diferença mais um termo de erro:

$$f'(x) = (f(x+h) - f(x))/h + O(h) \quad (5.13)$$

Ignorando-se o termo de erro tem-se o operador de diferenças finitas para a primeira derivada de f , neste caso conhecida também como derivada *forward* de f :

$$Df(x) = (f(x+h) - f(x))/h \quad (5.14)$$

Abaixo temos um exemplo de operador de diferenças finitas usado na discretização do operador Laplaciano que simula o fenômeno da difusão:

$$D_N \frac{\partial^2 N(x)}{\partial x^2} \approx D_N * ((n[x + \text{delta}X] - 2 * n[x] + n[x - \text{delta}X]) / \text{delta}X^2) \quad (5.15)$$

Na Equação 5.15 n representa a discretização da população de neutrófilos, D_N é a taxa de difusão dos neutrófilos, x é a posição e $\text{delta}X$ é a discretização no espaço.

O desenvolvimento de métodos numéricos para aproximar termos convectivos (em geral não lineares), o termo de quimiotaxia do modelo matemático deste trabalho, em EDP de caráter predominantemente convectivo tem sido assunto de intensas pesquisas nos últimos anos [72, 73, 74, 75]. No processo de solução numérica dessas equações, a precisão dos resultados é significativamente afetada pela escolha do esquema de convecção (*upwind*). Por exemplo, esquemas de primeira ordem, tais como FOU (*First Order Upwind*), são estáveis incondicionalmente, mas produzem um caráter difusivo que, em geral, suaviza a solução. Aproximações *upwind* clássicas de alta ordem, tais como QUICK,

SOU (*Second Order Upwind*) e CENTRAL, são boas estratégias para melhorar a precisão do método numérico, porém, estas introduzem oscilações não físicas que comprometem a convergência.

Os métodos *upwind* discretizam EDPs hiperbólicas através do uso de diferenças com *bias* na direção determinada pelo sinal das velocidades características. Os métodos *upwind* usam um *stencil* adaptativo ou sensível a solução para numericamente simular mais precisamente a direção da propagação da informação.

Para a discretização do termo de quimiotaxia várias abordagens numéricas foram propostas [76, 77]. Foi escolhida uma abordagem baseada na separação de operadores (*operator splitting*) com o emprego do método *upwind* na solução numérica do termo convectivo. Neste caso, para a discretização do termo de quimiotaxia $-\nabla \cdot (\chi_N N \nabla CH)$ primeiro foi aplicada a regra da derivada do produto no operador divergente resultando na seguinte equação:

$$\nabla N \cdot \nabla CH + N \cdot \Delta CH \quad (5.16)$$

A discretização do termo de quimiotaxia ($\nabla N \cdot \nabla CH$) usa um esquema *upwind* de 1ª ordem chamado FOU (*First-Order Upwind scheme*) [78]. Em uma dimensão, o esquema *upwind* aproxima o fluxo da quimiotaxia no ponto $x + \frac{\text{delta}X}{2}$ da seguinte forma:

```

if ( ch [x+deltaX] - ch [x-deltaX] > 0 ) {
    flux1 = ((n [x] - n [x-deltaX]) / deltaX) * (ch [x+deltaX] - ch [x-deltaX]) / (2 *
        deltaX);
}
else {
5   flux1 = ((n [x+deltaX] - n [x]) / deltaX) * (ch [x+deltaX] - ch [x-deltaX]) / (2 *
        deltaX);
}

```

Neste código, *ch* representa a discretização da citocina pró-inflamatória, *n* representa a discretização do neutrófilo, *x* é a posição do espaço e *deltaX* é a discretização no espaço.

O teste realizado acima define qual o sinal da velocidade característica, onde a velocidade do movimento de $N(x)$ é dada pelo termo ∇CH . Este valor é depois usado para escolher entre dois esquemas de diferenças finitas: *forward* ou *backward*.

O cálculo do segundo termo da equação ($N \cdot \Delta CH$) 5.16 é realizado da seguinte forma:

$$\text{flux2} = (n [x] * ((ch [x+deltaX] - 2 * ch [x] + ch [x-deltaX]) / \text{pow}(\text{deltaX}, 2)));$$

Neste código, ch representa a discretização da citocina pró-inflamatória, n representa a discretização do neutrófilo, x é a posição do espaço e $deltaX$ é a discretização no espaço.

O resultado final do cálculo de quimiotaxia é dado por:

$$-\nabla \cdot (\chi_N N \nabla CH) \approx -(flux1 + flux2) \quad (5.17)$$

Outra característica importante da implementação foi a escolha de um método *one-step*, ou seja, a derivada no tempo foi discretizada utilizando a derivada para frente (*forward*) tal que a população no instante de tempo $t + 1$ só depende da população no instante de tempo t . Esta escolha permitiu diminuir consideravelmente a demanda por memória devido ao fato de que só precisamos utilizar uma posição de memória para cada posição discretizado do espaço simulado, sendo que esta posição guarda o valor da população no instante de tempo atual e é reutilizada para armazenar o próximo instante de tempo.

5.4 Implementação computacional

O código sequencial foi implementado em C. Para que pudessemos simular uma escala de tempo muito maior paralelizamos o código utilizando OpenMP, MPI e uma abordagem híbrida [79].

Na paralelização com OpenMP foi necessária a identificação de seções do código que demandavam grandes quantidades de processamento e que poderiam ser executadas em paralelo. A instrumentação da versão sequencial mostrou que o código associado com a resolução temporal das EDPs consumia quase 99% do tempo de execução total. O passo que seguiu a identificação do *hotspot* foi sua paralelização.

O código é composto por dois laços distintos. O primeiro laço implementa a evolução temporal do sistema de EDPs. Para cada iteração no tempo, um segundo laço itera sobre a variável espacial. Esse segundo laço resolve a discretização das EDPs para uma posição do domínio. O primeiro laço não pode ser paralelizado devido a dependência de dados entre cada passo no tempo: o resultado do passo de tempo anterior é necessário para calcular o passo de tempo corrente. O segundo laço foi escolhido para ser paralelizado devido a completa independência de dados dentro de qualquer iteração.

A paralelização do laço espacial foi implementada com a diretiva *#pragma omp for* com a cláusula *schedule(static)*. A cláusula *schedule(static)* foi utilizada para dividir as iterações do laço estaticamente entre as *threads* no início da execução do laço.

No processo de paralelização foram evitados *overheads* associados com a criação e sincronização de *threads*, de forma que em nossa implementação as *threads* são criadas apenas uma vez no início do laço temporal. A sincronização das *threads* ocorre implicitamente somente no final do laço espacial.

Na versão MPI o cálculo das EDPs foi dividido entre os processos de forma que cada processo é responsável por computar parte do domínio. Essa divisão tenta minimizar o número de mensagens trocadas entre todos os processos.

Na versão híbrida (MPI+OpenMP) o domínio espacial é dividido em sub-domínios e cada sub-domínio é manipulado por um processo MPI. A cada passo de tempo os processos MPI resolvem o sistema de EDPs para todos os pontos do sub-domínio cujo o cálculo está sob sua responsabilidade. O cálculo do laço espacial em cada processo MPI foi paralelizado com OpenMP: a diretiva *#pragma omp for* com a cláusula *schedule(static)* foi usada para este propósito. A troca de mensagens entre os processos MPI só ocorre no final de cada passo de tempo, onde os processos MPI trocam apenas os dados que estão nas bordas de seus sub-domínios.

6 RESULTADOS

Nas próximas seções serão apresentados os resultados de algumas simulações com os modelos reduzidos 6.1 e estendido 6.2.

6.1 Simulações com o modelo reduzido

Com o intuito de mostrar a importância de algumas células, moléculas e processos na dinâmica da resposta imune inata, um conjunto de simulações foram realizadas sob diferentes cenários. As simulações começam com um caso mais simples (caso 1) onde as células e moléculas do sistema imune não são consideradas. Cenários mais complexos são depois considerados: em cada cenário, um novo conjunto de equações e termos são acrescentados ao anterior, até o cenário completo ser atingido no último caso (caso 5).

A descrição de cada caso é dada abaixo:

- caso 1: só antígenos são considerados, isto é, células e moléculas do sistema imune não são consideradas. Os antígenos simplesmente difundem através do tecido.
- caso 2: os neutrófilos são acrescentados no modelo. Neste caso, os antígenos são fagocitados pelos neutrófilos que sofrem apoptose em seguida. E neste caso não é considerada a produção de citocinas quando os neutrófilos reconhecem os antígenos.
- caso 3: um termo fonte é acrescentado a equação do neutrófilo. Os neutrófilos entram no tecido considerando uma permeabilidade do endotélio constante *permeability*: $sourceN = permeability.(NmaxTissue - N)$.
- caso 4: a equação da citocina é acrescentada no modelo. Neste caso, os neutrófilos produzem citocinas quando reconhecem os antígenos. Além disso, o termo de permeabilidade passa a depender da concentração de citocina ($((Pmax - Pmin).CH / (CH + Keqch) + Pmin)$).
- caso 5: o processo de quimiotaxia é acrescentado à equação do neutrófilo. Os neutrófilos se movem na direção do gradiente da citocina, sendo atraídos para as regiões onde as concentrações de antígenos são maiores.

Em todos os casos consideramos um domínio uni-dimensional com $5mm$ e o número de passos de tempo usados representam um intervalo de aproximadamente 1 dia.

CASO 1: Só antígenos com difusão.

$$\begin{cases} \frac{\partial A}{\partial t} = D_A \Delta A \\ A(x, 0) = 50 \quad | \quad 0 \leq x \leq 1, \frac{\partial A(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \end{cases} \quad (6.1)$$

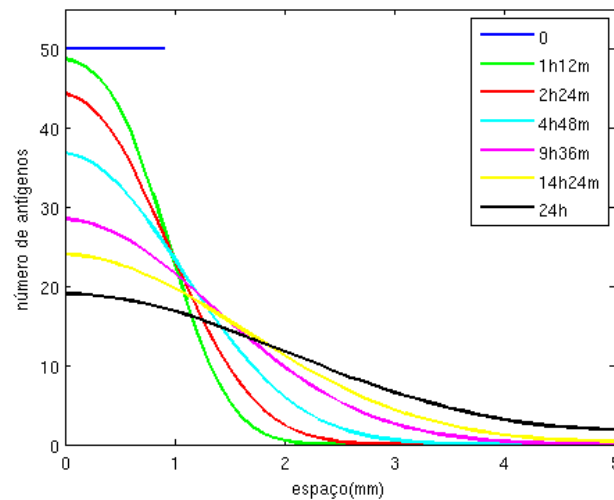


Figura 6.1: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

Neste cenário, sem a ação do sistema imune, os antígenos (Fig.6.1) simplesmente difundem por todo o domínio. Neste caso os antígenos não atingem uma distribuição homogênea por todo o tecido porque o tempo simulado foi muito curto para que isto acontecesse.

CASO 2: Antígenos e neutrófilos com fagocitose e difusão.

$$\begin{cases} \frac{\partial A}{\partial t} = -\lambda_{N|A}A.N + D_A\Delta A \\ A(x, 0) = 50 \quad | \quad 0 \leq x \leq 1, \frac{\partial A(\cdot, t)}{\partial n} \Big|_{\partial\Omega} = 0 \\ \frac{\partial N}{\partial t} = -\lambda_{A|N}A.N + D_N\Delta N \\ N(x, 0) = 2.5, \frac{\partial N(\cdot, t)}{\partial n} \Big|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (6.2)$$

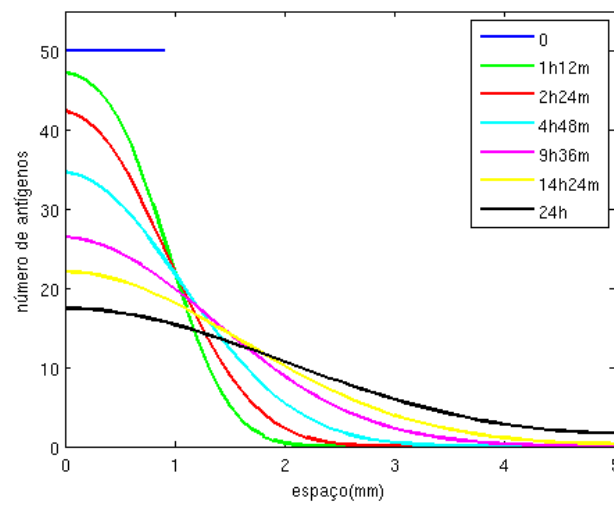


Figura 6.2: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

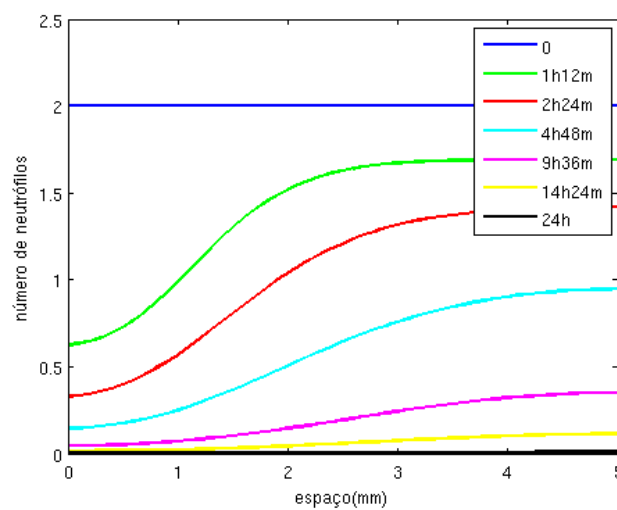


Figura 6.3: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.

Os neutrófilos difundem através do domínio procurando por qualquer sinal de inflamação ou infecção. Quando um neutrófilo encontra um antígeno e ocorre uma ligação

bem-sucedida, o neutrófilo fagocita o antígeno (Fig.6.2) e depois disso sofre apoptose.

A população de neutrófilos (Fig.6.3) decresce até zero porque os neutrófilos entram em apoptose, que pode ser induzida ou não pela fagocitose, e não há um termo fonte de neutrófilos para repor a população.

CASO 3: Antígenos e neutrófilos com fagocitose, difusão e uma fonte com permeabilidade fixa.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial A}{\partial t} = -\lambda_{N|A} A.N + D_A \Delta A \\ A(x, 0) = 50 \quad | \quad 0 \leq x \leq 1, \frac{\partial A(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \\ sourceN = Pmin.(NmaxTissue - N) \\ \frac{\partial N}{\partial t} = -\lambda_{A|N} A.N + D_N \Delta N + sourceN \\ N(x, 0) = 2.5, \frac{\partial N(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \end{array} \right. \quad (6.3)$$

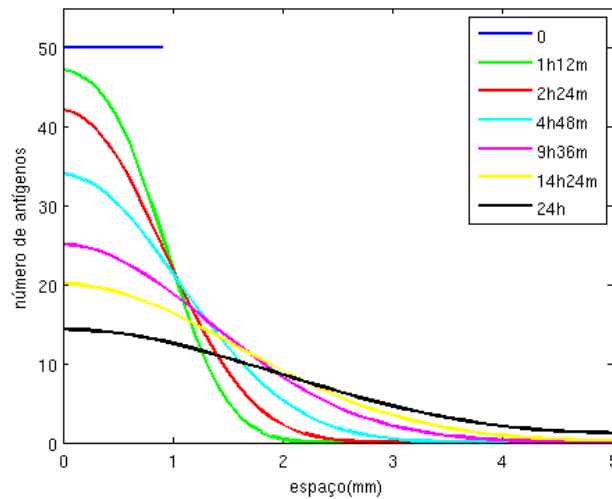


Figura 6.4: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

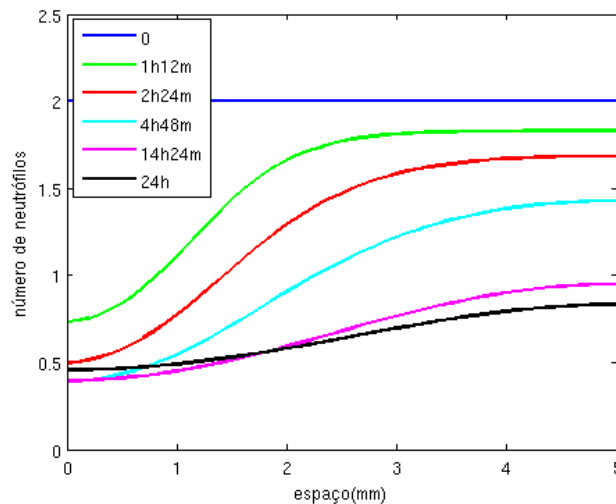


Figura 6.5: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.

Em um primeiro momento, os neutrófilos começam a decrescer (Fig.6.5) devido a apoptose induzida pela fagocitose. Entretanto, depois de um certo tempo a população de neutrófilos começa a crescer porque o número de neutrófilos que estão entrando nos tecidos se torna maior do que o número de neutrófilos que morrem devido ao uso de um novo termo usado para expressar a permeabilidade do endotélio. A população de neutrófilos não se aproxima de zero e mantêm uma concentração mínima que é capaz de lidar infecções mais eficientemente do que no caso anterior porque o influxo de neutrófilos ocorre em todo o domínio e não somente nas bordas.

Devido a todos os fatos previamente mencionados a população de antígeno (Fig.6.4) decresce mais neste caso do que no anterior.

CASO 4: Antígenos, neutrófilos e citocinas com fagocitose, difusão e uma fonte com permeabilidade variável.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial A}{\partial t} = -\lambda_{N|A}A.N + D_A\Delta A \\ A(x, 0) = 50 \quad | \quad 0 \leq x \leq 1, \frac{\partial A(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\ sourceN = ((Pmax - Pmin).CH / (CH + Keqch) + Pmin).(NmaxTissue - N) \\ \frac{\partial N}{\partial t} = -\lambda_{A|N}A.N + D_N\Delta N + sourceN \\ N(x, 0) = 2.5, \frac{\partial N(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\ \frac{\partial CH}{\partial t} = \beta_{CH|N}.N.A + D_{CH}\Delta CH \\ CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(\cdot, t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \end{array} \right. \quad (6.4)$$

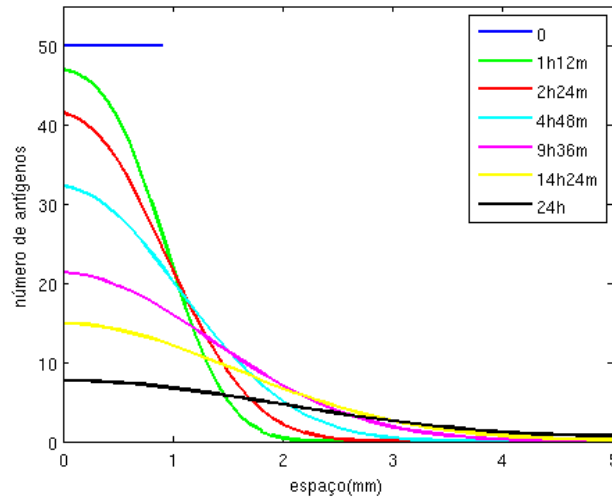


Figura 6.6: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

Assim como no caso anterior observa-se que a população de neutrófilos começa a decrescer mas depois de algum tempo começa a crescer rapidamente (Fig.6.7). A inserção do termo que modela a produção de citocina pró-inflamatória e do termo que modela a permeabilidade variável permite um grande influxo de neutrófilos nas regiões com maiores concentrações de antígenos. Estas são as regiões onde os neutrófilos produzem mais citocinas (Fig.6.8). Como resultado deste grande influxo de neutrófilos, a resposta imune é mais eficiente no controle da infecção: os antígenos quase foram eliminados (Fig.6.6).

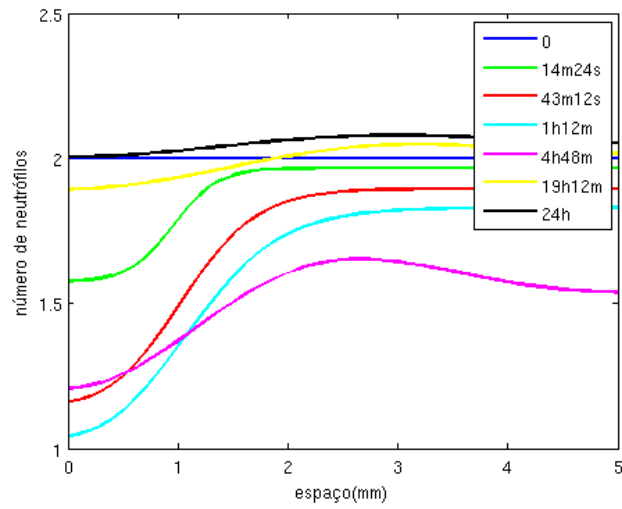


Figura 6.7: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.

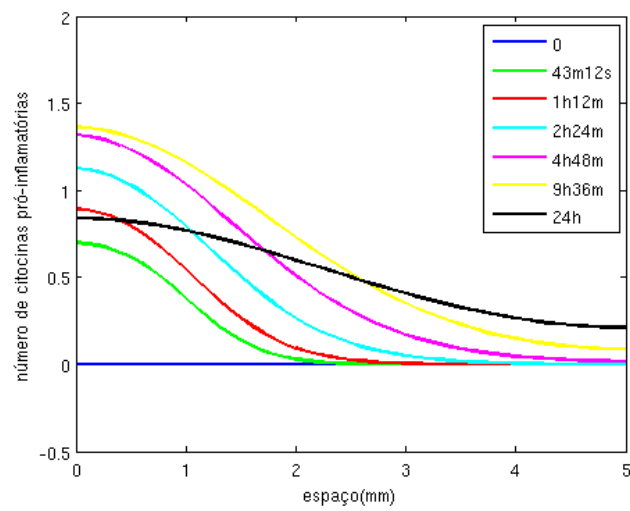


Figura 6.8: Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias.

CASO 5: O modelo completo com antígenos, neutrófilos e citocinas pró-inflamatórias com os processos de fagocitose, difusão, uma fonte com permeabilidade variável e o

processo de quimiotaxia.

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial A}{\partial t} = -\lambda_{N|A}A.N + D_A\Delta A \\ A(x, 0) = 50 \quad | \quad 0 \leq x \leq 1, \frac{\partial A(\cdot, t)}{\partial n} \Big|_{\partial\Omega} = 0 \\ sourceN = ((Pmax - Pmin).CH / (CH + K_{eqch}) + Pmin).(NmaxTissue - N) \\ \frac{\partial N}{\partial t} = -\lambda_{A|N}A.N + D_N\Delta N + sourceN - \nabla \cdot (\chi_N N \nabla CH) \\ N(x, 0) = 2.5, \frac{\partial N(\cdot, t)}{\partial n} \Big|_{\partial\Omega} = 0 \\ \frac{\partial CH}{\partial t} = \beta_{CH|N}.N.A + D_{CH}\Delta CH \\ CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(\cdot, t)}{\partial n} \Big|_{\partial\Omega} = 0 \end{array} \right. \quad (6.5)$$

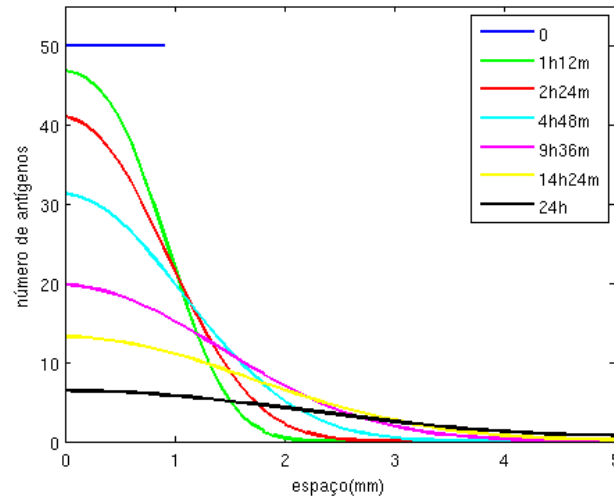


Figura 6.9: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

Neste caso, a inclusão do processo de quimiotaxia resulta em um movimento de neutrófilos na direção do gradiente das citocinas pró-inflamatórias. Como consequência deste movimento, a distribuição espacial dos neutrófilos muda significativamente (Fig.6.10). Estes neutrófilos que são atraídos contribuem para uma produção ainda maior de citocinas (Fig.6.11) nos locais do tecido onde a concentração de antígenos é maior (Fig.6.9), resultando em uma resposta imune mais rápida e vigorosa.

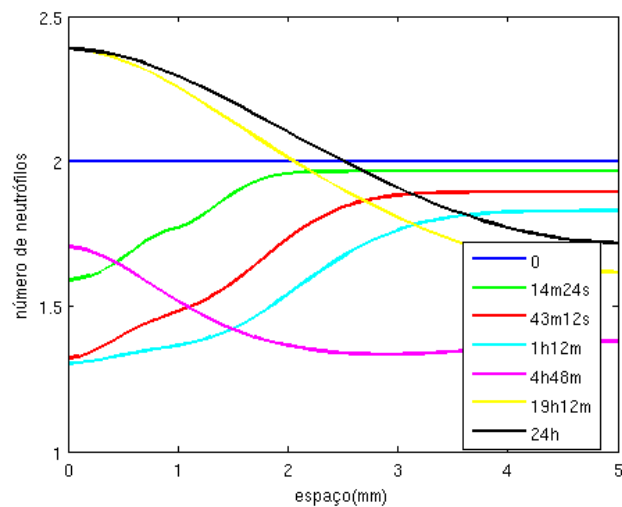


Figura 6.10: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.

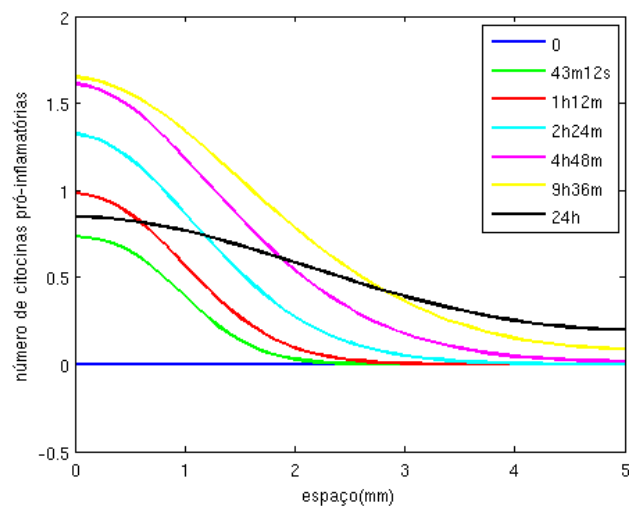


Figura 6.11: Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias.

6.1.1 Comparação entre os casos

Os gráficos a seguir mostram a evolução no tempo das células/moléculas do modelo reduzido.

A Figura 6.12 compara a evolução temporal no número médio de antígenos para todos os casos. No caso 1 o número de antígenos permanece constante pois não há nenhuma célula do sistema imune para combatê-lo. No caso 2 os antígenos decrescem, mas de forma bem mais lenta quando comparado com os outros casos. No caso 3 o decrescimento é maior do que o caso 2, mas ainda lento. E nos casos 4 e 5 o decrescimento é bem maior e mais rápido. Nesses casos os antígenos quase foram eliminados completamente. O caso 5 foi o melhor de todos no que se refere ao controle da infecção, enfatizando a contribuição

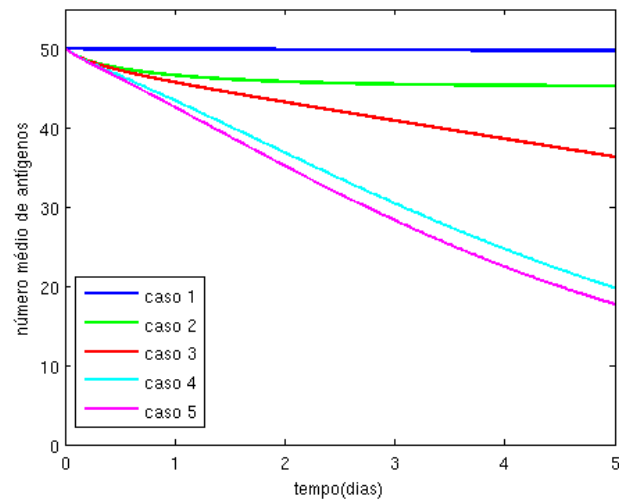


Figura 6.12: Evolução temporal da quantidade média de antígenos.

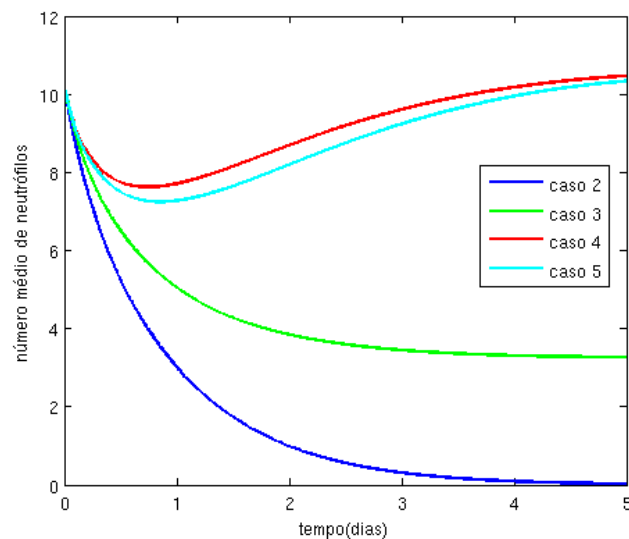


Figura 6.13: Evolução temporal da quantidade média de neutrófilos.

na resposta imune de cada elemento do modelo que foi adicionado de um caso para o outro, começando-se do caso 2 até o 5.

A Figura 6.13 compara a evolução temporal no número médio de neutrófilos para todos os casos onde os neutrófilos estão presentes. No caso 2 a quantidade de neutrófilos tende a zero. Neste caso não há reposição no número de neutrófilos do tecido. No caso 3, com a inserção de uma fonte constante de neutrófilos, o decréscimo é bem menor em relação ao caso 2. No caso 4 a presença das citocinas pró-inflamatórias e do termo que modela uma permeabilidade dinâmica dependente da concentração das citocinas pró-inflamatórias provoca um aumento significativo na quantidade de neutrófilos que está entrando no

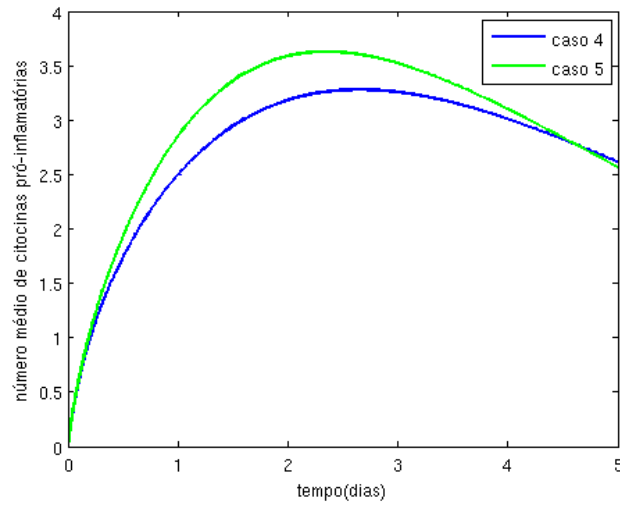


Figura 6.14: Evolução temporal da quantidade média de citocinas pró-inflamatórias.

tecido. E no caso 5 verifica-se que o crescimento no número de neutrófilos não é tão grande quando comparado ao caso 4. Isto ocorre porque, com o processo de quimiotaxia, os neutrófilos chegam mais rápido no local da infecção e, com isso, o decréscimo na quantidade de antígenos é mais rápido. Consequentemente com a eliminação mais rápida dos antígenos, menos células serão recrutadas para "combater" a infecção.

A Figura 6.14 compara a evolução temporal da quantidade média de citocinas pró-inflamatórias para os casos 4 e 5. Verifica-se um maior crescimento no caso 5 porque o processo de quimiotaxia permite que os neutrófilos se movimentem na direção do gradiente da citocina pró-inflamatória. Esse movimento permite que os neutrófilos cheguem mais rápido, na região com maior número de antígenos, do que os neutrófilos do caso 4 que só se movimentam através do processo de difusão.

6.2 Simulações com o modelo estendido

Nas simulações com o modelo estendido seguiu-se a mesma abordagem do modelo reduzido. Novamente foram feitas simulações com diferentes modelos matemáticos, começando de um modelo mais simples (caso 1) até um modelo mais completo (caso 5), o modelo chamado de estendido. Nestas simulações foi considerado um domínio unidimensional com dimensão $5mm$ e o tempo de simulação igual a aproximadamente 3 dias.

A descrição de cada caso é dada abaixo:

- caso 1: considera-se apenas os macrófagos participando da resposta imune, sendo responsáveis pelo combate inicial ao antígeno que é dado pelos macrófagos no estado *resting* residentes nos tecidos.
- caso 2: passa a ser considerada a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos no estado ativado e todos os efeitos das citocinas pró-inflamatórias como aumento da permeabilidade, quimiotaxia passam a ser considerados também.
- caso 3: os neutrófilos são incluídos no modelo. Os neutrófilos participam da resposta imune combatendo os antígenos e produzindo citocinas pró-inflamatórias.
- caso 4: os grânulos proteicos são incluídos no modelo. Os grânulos proteicos são produzidos pelos neutrófilos e contribuem para o aumento da permeabilidade do endotélio, fazendo com que mais monócitos entrem nos tecidos e se diferenciem em macrófagos *resting*.
- caso 5: a citocina anti-inflamatória é incluída no modelo. Neste caso a citocina anti-inflamatória bloqueia a produção da citocina pró-inflamatória pelos neutrófilos e macrófagos ativados, além de bloquear a ativação do macrófagos *resting*.

Abaixo são apresentadas as equações e os resultados das simulações para cada caso.

CASO 1: Antígenos, macrófagos *resting* e macrófagos ativados com difusão e fagocitose.

$$\left\{ \begin{array}{l}
 maActivation = maActivationRate.MR.A \\
 \frac{\partial A}{\partial t} = -\mu_A A - maActivation - (\lambda_{N|A}N + \lambda_{MA|A}MA).A + D_A \Delta A \\
 A(x, 0) = 100 \quad | \quad 0 \leq x < 1, \quad \frac{\partial A(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 sourceMR = (MrPmin).(MrmaxTissue - (MR + MA)) \\
 \frac{\partial MR}{\partial t} = -\mu_{MR}MR - maActivation + D_{MR}\Delta MR + sourceMR \\
 MR(x, 0) = 1, \quad \frac{\partial MR(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial MA}{\partial t} = -\mu_{MA}MA + maActivation + D_{MA}\Delta MA \\
 MA(x, 0) = 0, \quad \frac{\partial MA(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0
 \end{array} \right. \quad (6.6)$$

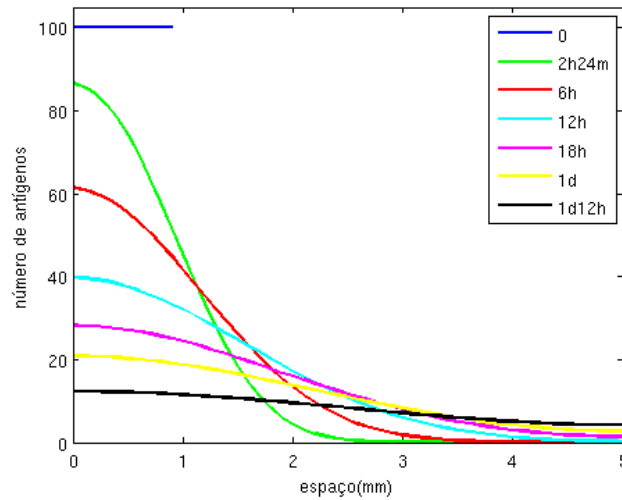


Figura 6.15: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

Na Figura 6.15 observa-se uma diminuição na quantidade de antígenos devido a ação dos macrófagos *resting* e dos macrófagos ativados.

Nas Figuras 6.16 e 6.17 observa-se uma distribuição homogênea dos macrófagos *resting* e dos macrófagos ativados, respectivamente. Isto se deve ao fato de que, no modelo proposto neste trabalho, considera-se uma taxa de ativação dos macrófagos *resting* constante, igual a 0.5.

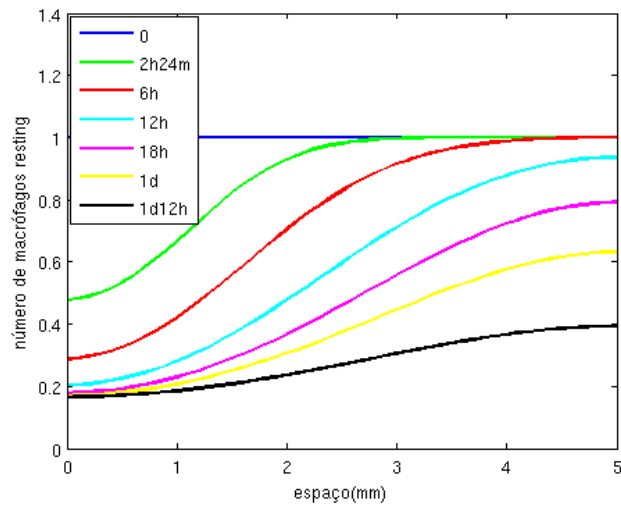


Figura 6.16: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos *resting*.

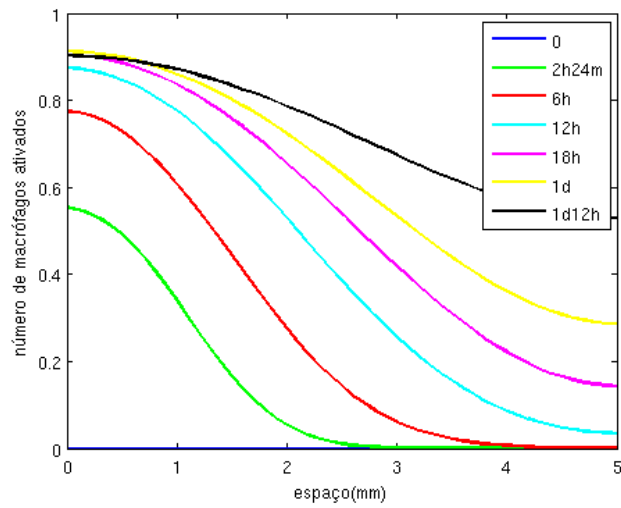


Figura 6.17: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.

CASO 2: Antígenos, macrófagos *resting*, macrófagos ativados e citocinas pró-

inflamatórias com difusão, fagocitose, quimiotaxia e permeabilidade variável.

$$\left\{ \begin{array}{l}
 maActivation = maActivationRate.MR.A \\
 \frac{\partial A}{\partial t} = -\mu_A A - maActivation - (\lambda_{N|A}N + \lambda_{MA|A}MA).A + D_A \Delta A \\
 A(x, 0) = 100 \quad | \quad 0 \leq x < 1, \frac{\partial A(.,t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \\
 Mrpermeability1 = (MrPmax - MrPmin).CH/(CH + keqch) + MrPmin \\
 sourceMR = (Mrpermeability1).(MrmaxTissue - (MR + MA)) \\
 \frac{\partial MR}{\partial t} = -\mu_{MR}MR - maActivation + D_{MR}\Delta MR + sourceMR - \nabla.(\chi_{MR}MR\nabla CH) \\
 MR(x, 0) = 1, \frac{\partial MR(.,t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \\
 \frac{\partial MA}{\partial t} = -\mu_{MA}MA + maActivation + D_{MA}\Delta MA - \nabla.(\chi_{MA}MA\nabla CH) \\
 MA(x, 0) = 0, \frac{\partial MA(.,t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0 \\
 \frac{\partial CH}{\partial t} = -\mu_{CH}CH + (\beta_{CH|N}.N + \beta_{CH|MA}.MA).A.(1 - CH/chInf) + D_{CH}\Delta CH \\
 CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(.,t)}{\partial n} |_{\partial \Omega} = 0
 \end{array} \right. \quad (6.7)$$

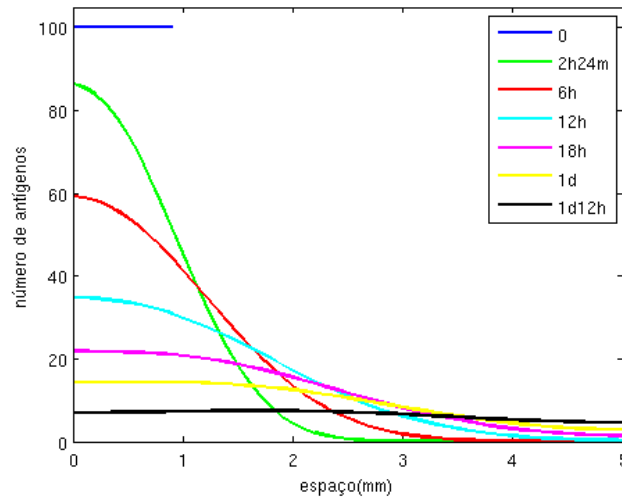


Figura 6.18: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

Observa-se que no caso 2 os macrófagos *resting* e ativados conseguem montar uma resposta imune mais potente quando se considera no modelo as citocinas pró-inflamatórias produzidas pelos macrófagos ativados. O aumento na permeabilidade e o efeito quimiotático das citocinas pró-inflamatórias nos macrófagos são os fatores

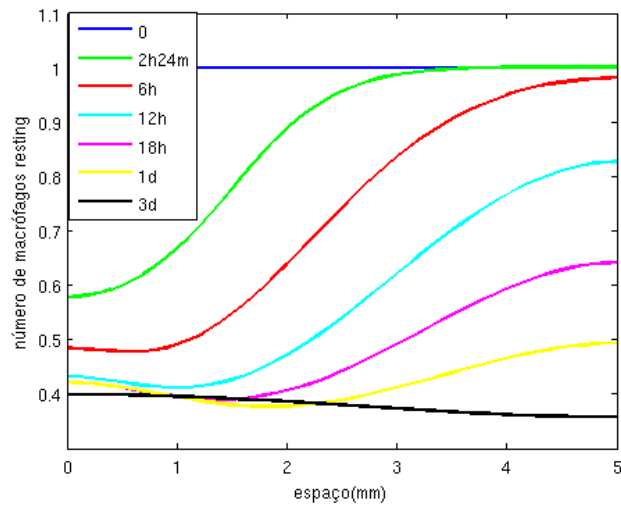


Figura 6.19: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos *resting*.

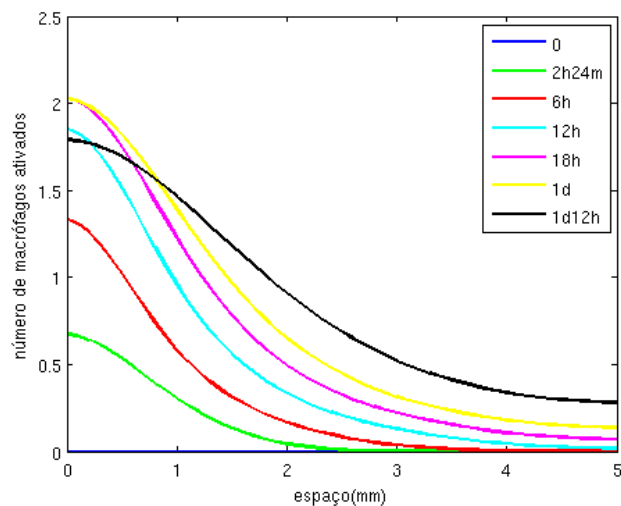


Figura 6.20: Evolução temporal da distribuição espacial de macrófagos ativados.

responsáveis pela eliminação mais rápida dos antígenos no caso 2 6.18 em relação ao caso 1 6.15.

Na Figura 6.19 observa-se que inicialmente os macrófagos *resting* crescem de forma mais lenta mas, a medida que a quantidade de citocinas pró-inflamatórias disponível no meio aumenta, o número de monócitos que entram nos tecidos e se diferenciam em macrófagos *resting* também aumenta.

Como consequência do maior número de macrófagos *resting* nos tecidos no caso 2 (ilustrado na Figura 6.19) o número de macrófagos ativados aumenta também, pois o número de macrófagos que se ativam é diretamente proporcional ao número de macrófagos *resting* (termo de ativação na Equação 5.4), principalmente na região onde há mais

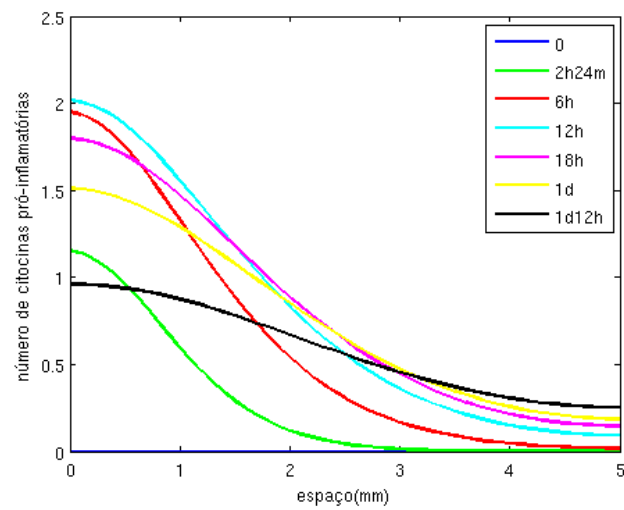


Figura 6.21: Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias.

macrófagos *resting* (Figura 6.20).

Na Figura 6.21 observa-se que a produção da citocina pró-inflamatória é maior na região com mais antígenos, sendo isto consequência do fato de que quanto maior é a concentração de antígeno em um local do espaço maior é a quantidade de antígenos disponível para que um macrófago ativado reconheça e produza citocinas pró-inflamatórias enquanto estiver sendo estimulado.

CASO 3: Antígenos, macrófagos *resting*, macrófagos ativados, citocinas pró-inflamatórias e neutrófilos com difusão, fagocitose, quimiotaxia e permeabilidade variável.

$$\left\{ \begin{array}{l}
 maActivation = maActivationRate.MR.A \\
 \frac{\partial A}{\partial t} = -\mu_A A - maActivation - (\lambda_{N|A}N + \lambda_{MA|A}MA).A + D_A \Delta A \\
 A(x, 0) = 100 \quad | \quad 0 \leq x < 1, \frac{\partial A(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 Mrpermeability1 = (MrPmax - MrPmin).CH/(CH + keqch) + MrPmin \\
 sourceMR = (Mrpermeability1).(MrmaxTissue - (MR + MA)) \\
 \frac{\partial MR}{\partial t} = -\mu_{MR}MR - maActivation + D_{MR}\Delta MR + sourceMR - \nabla.(\chi_{MR}MR\nabla CH) \\
 MR(x, 0) = 1, \frac{\partial MR(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial MA}{\partial t} = -\mu_{MA}MA + maActivation + D_{MA}\Delta MA - \nabla.(\chi_{MA}MA\nabla CH) \\
 MA(x, 0) = 0, \frac{\partial MA(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial CH}{\partial t} = -\mu_{CH}CH + (\beta_{CH|N}.N + \beta_{CH|MA}.MA).A.(1 - CH/chInf) + D_{CH}\Delta CH \\
 CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 permeability = (Pmax - Pmin).CH/(CH + keqch) + Pmin \\
 sourceN = permeability.(NmaxTissue - N) \\
 \frac{\partial N}{\partial t} = -\mu_N N - \lambda_{A|N}A.N + D_N \Delta N + sourceN - \nabla.(\chi_N N \nabla CH) \\
 N(x, 0) = 0, \frac{\partial N(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial ND}{\partial t} = \mu_N N + \lambda_{A|N}A.N - \lambda_{ND|MA}ND.MA + D_{ND}\Delta ND \\
 ND(x, 0) = 0, \frac{\partial ND(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0
 \end{array} \right. \tag{6.8}$$

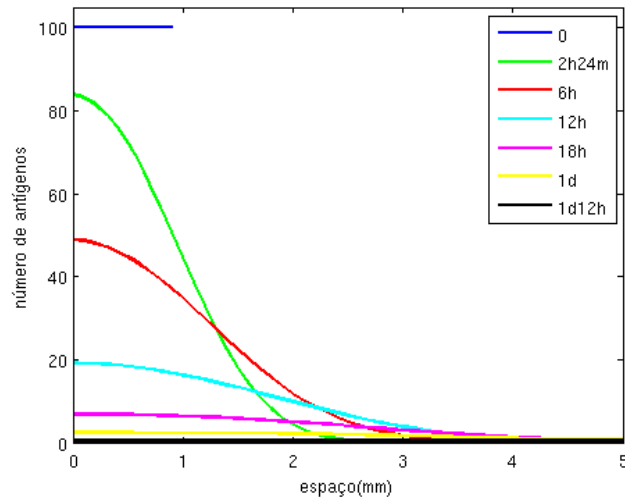


Figura 6.22: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

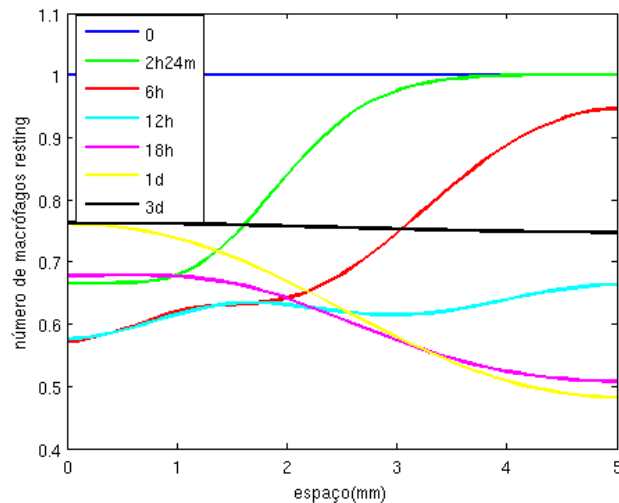


Figura 6.23: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos *resting*.

Na Figura 6.22 observa-se no caso 3 que a introdução dos neutrófilos na resposta imune representa um grande "reforço" no combate aos antígenos, os neutrófilos contribuem através de suas funções efetoras como a fagocitose e uma grande produção de citocinas pró-inflamatórias.

Com essa grande produção de citocinas pró-inflamatórias a permeabilidade aumenta e com isso mais monócitos entram nos tecidos e se diferenciam em macrófagos *resting* resultando em um crescimento maior do número de macrófagos *resting* (Figura 6.23) em relação ao caso anterior (Figura 6.19). Como consequência desse crescimento no número de macrófagos *resting* o número de macrófagos ativados também aumenta (Figura 6.24).

A produção das citocinas pró-inflamatórias no caso 3 (Figura 6.25) é maior do que no

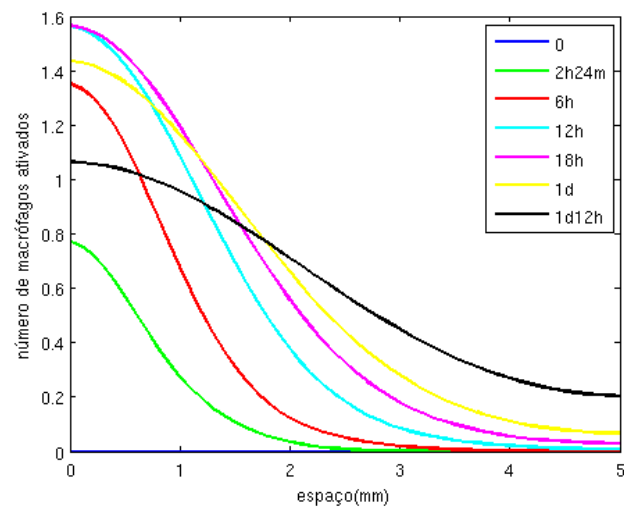


Figura 6.24: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.

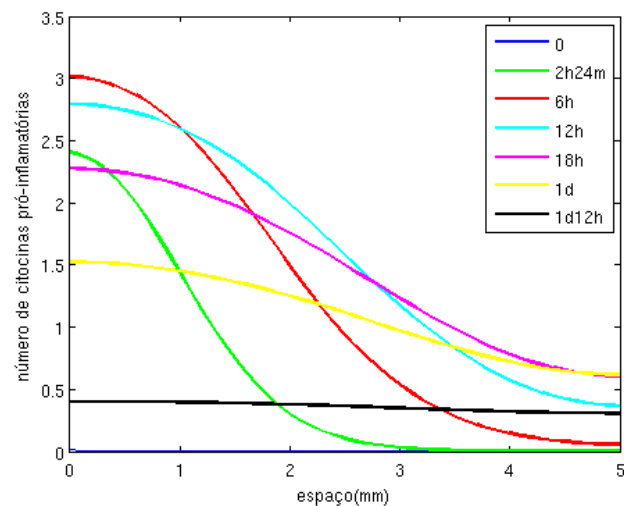


Figura 6.25: Evolução temporal da distribuição espacial das citocina pró-inflamatórias.

caso anterior (Figura 6.21), sendo isto consequência direta de uma grande produção de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos.

O número de neutrófilos inicialmente cresce mais nas regiões com menor concentração de antígenos, porque nessas regiões os neutrófilos sofrem menos apoptose induzida pela fagocitose. Mas a medida que a permeabilidade do endotélio aumenta e o número de antígenos diminui, o número de neutrófilos passa a ser maior nas regiões com maior concentração de antígeno (Figura 6.26).

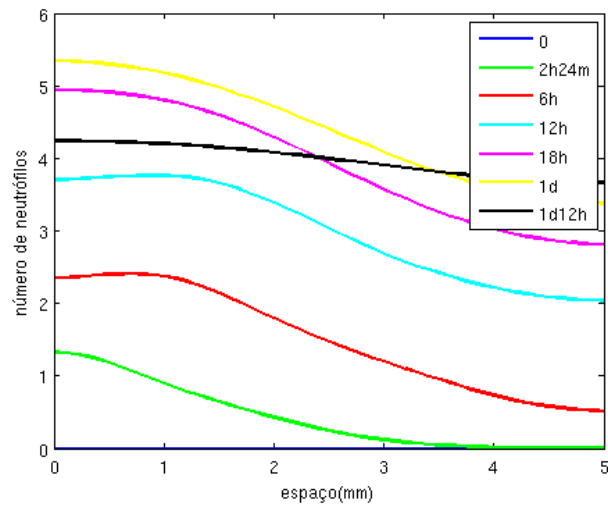


Figura 6.26: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.

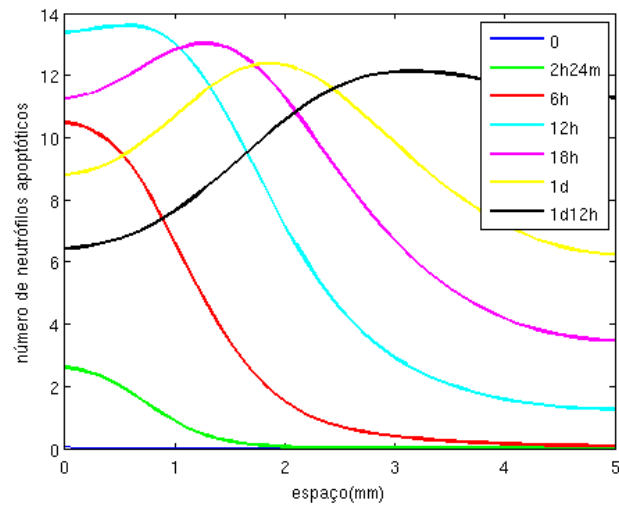


Figura 6.27: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos apoptóticos.

CASO 4: Antígenos, macrófagos *resting*, macrófagos ativados, citocinas pró-inflamatórias e neutrófilos com difusão, fagocitose, quimiotaxia, permeabilidade variável

e produção de grânulos protéicos.

$$\left\{ \begin{array}{l}
 maActivation = maActivationRate.MR.A \\
 \frac{\partial A}{\partial t} = -\mu_A A - maActivation - (\lambda_{N|A}N + \lambda_{MA|A}MA).A + D_A \Delta A \\
 A(x, 0) = 100 \quad | \quad 0 \leq x < 1, \frac{\partial A(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 Mrpermeability1 = (MrPmax - MrPmin).CH/(CH + keqch) + MrPmin \\
 Mrpermeability2 = (MrPmax_g - MrPmin_g).G/(G + keq_g) + MrPmin_g \\
 sourceMR = (Mrpermeability1).(MrmaxTissue - (MR + MA)) \\
 \frac{\partial MR}{\partial t} = -\mu_{MR}MR - maActivation + D_{MR}\Delta MR + sourceMR - \nabla.(\chi_{MR}MR\nabla CH) \\
 MR(x, 0) = 1, \frac{\partial MR(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial MA}{\partial t} = -\mu_{MA}MA + maActivation + D_{MA}\Delta MA - \nabla.(\chi_{MA}MA\nabla CH) \\
 MA(x, 0) = 0, \frac{\partial MA(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial CH}{\partial t} = -\mu_{CH}CH + (\beta_{CH|N}.N + \beta_{CH|MA}.MA).A.(1 - CH/chInf) + D_{CH}\Delta CH \\
 CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 permeability = (Pmax - Pmin).CH/(CH + keqch) + Pmin \\
 sourceN = permeability.(NmaxTissue - N) \\
 \frac{\partial N}{\partial t} = -\mu_N N - \lambda_{A|N}A.N + D_N \Delta N + sourceN - \nabla.(\chi_N N \nabla CH) \\
 N(x, 0) = 0, \frac{\partial N(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial ND}{\partial t} = \mu_N N + \lambda_{A|N}A.N - \lambda_{ND|MA}ND.MA + D_{ND}\Delta ND \\
 ND(x, 0) = 0, \frac{\partial ND(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial G}{\partial t} = -\mu_G G + \beta_{G|N}.sourceN.(1 - G/gInf) + D_G \Delta G \\
 G(x, 0) = 0, \frac{\partial G(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0
 \end{array} \right. \tag{6.9}$$

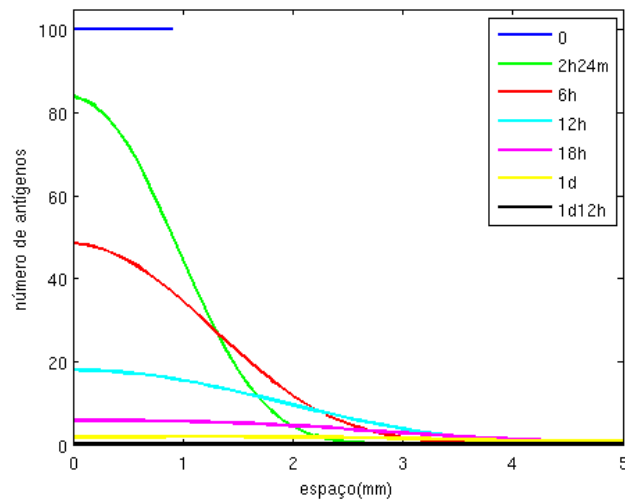


Figura 6.28: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

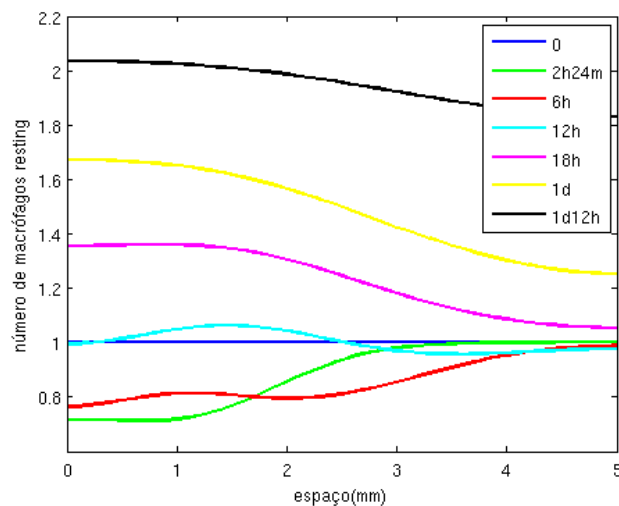


Figura 6.29: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos *resting*.

Observa-se que não há nenhuma diferença visível entre os casos 4 6.28 e 3 6.22. Apesar dos grânulos proteicos terem um papel marcante na entrada de mais macrófagos nos tecidos (Figura 6.44) o recrutamento de mais monócitos para o local da infecção ocorreu em um momento em que a infecção estava praticamente controlada, portanto não teve efeito na eliminação do antígeno que já estava a cargo principalmente dos neutrófilos. Devido ao recrutamento de mais monócitos o número de macrófagos *resting* nos tecidos aumenta (Figura 6.29), conseqüentemente o número de macrófagos ativados também (Figura 6.30).

No caso dos neutrófilos os grânulos proteicos não provocaram nenhuma mudança visível no comportamento dos neutrófilos como pode ser visto nas figuras do caso 3 (Figura 6.26)

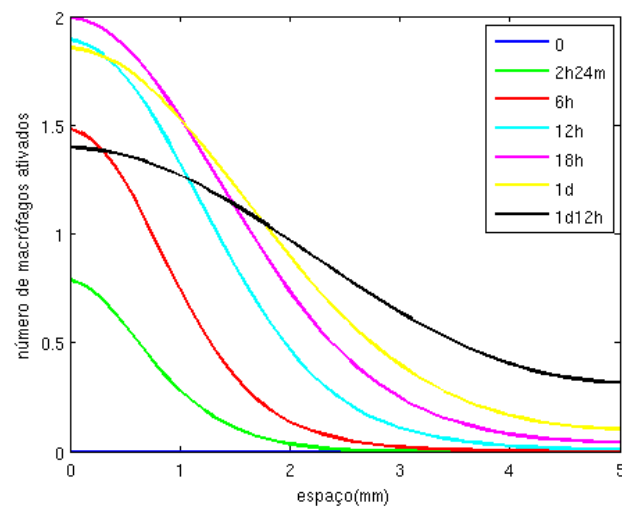


Figura 6.30: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.

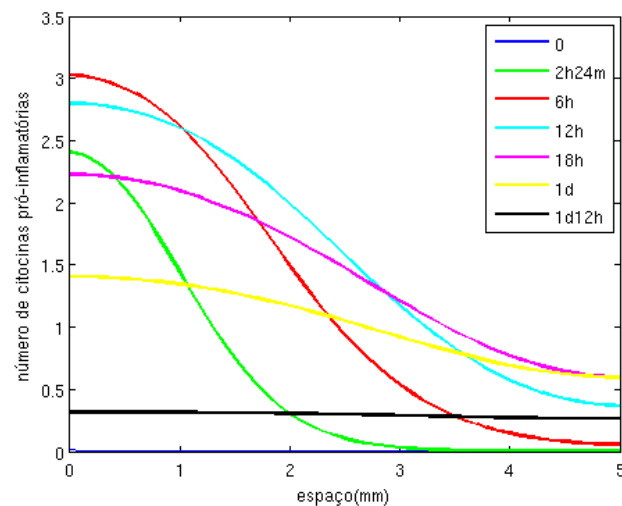


Figura 6.31: Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias.

e do caso 4 (Figura 6.32). O mesmo ocorre para os neutrófilos apoptóticos como pode ser visto comparando-se as figuras do caso 3 (Figura 6.27) e do caso 4 (Figura 6.33) e para as citocinas pró-inflamatórias, ver casos 3 (Figura 6.25) e 4 (Figura 6.31).

Na Figura 6.34 observa-se que inicialmente a produção dos grânulos protéicos é maior nas regiões com maiores concentrações de antígenos, como consequência da migração de um maior número de neutrófilos para essas regiões. E verifica-se que com o término da resposta se aproximando o crescimento no número de grânulos passa a ser maior nas regiões com menores concentrações de antígenos. Isso se deve a continuação da migração dos neutrófilos dado que os níveis de citocina ainda estão altos (Figura 6.46).

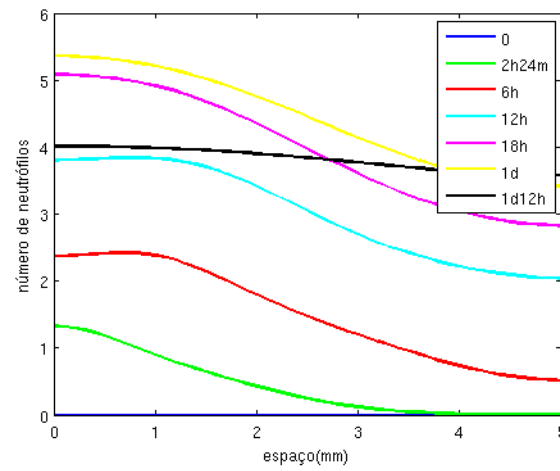


Figura 6.32: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.

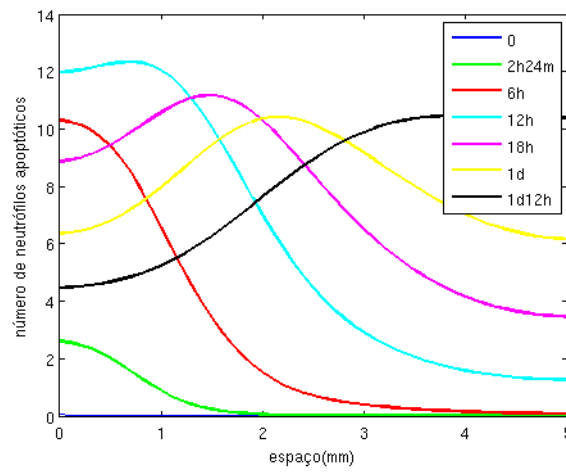


Figura 6.33: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos apoptóticos.

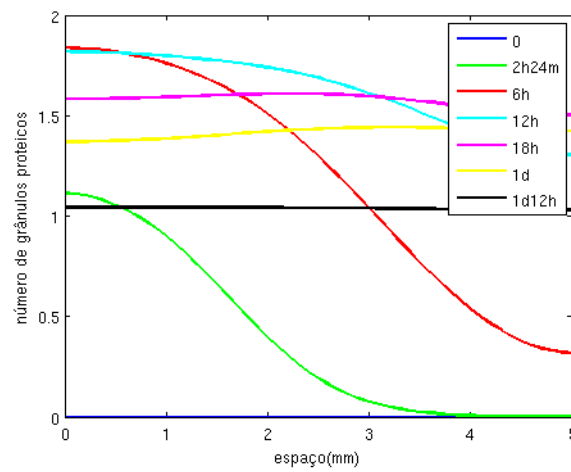


Figura 6.34: Evolução temporal da distribuição espacial dos grânulos protéicos.

CASO 5: Antígenos, macrófagos *resting*, macrófagos ativados, citocinas pró-inflamatórias e neutrófilos com difusão, fagocitose, quimiotaxia, permeabilidade variável, produção de grânulos protéicos e produção da citocina anti-inflamatória.

$$\left\{ \begin{array}{l}
 maActivation = maActivationRate.MR.A/(1 + \theta_{CA}.CA) \\
 \frac{\partial A}{\partial t} = -\mu_A A - maActivation - (\lambda_{N|A}N + \lambda_{MA|A}MA).A + D_A \Delta A \\
 A(x, 0) = 100 \quad | \quad 0 \leq x < 1, \frac{\partial A(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 Mrpermeability1 = (MrPmax - MrPmin).CH/(CH + keqch) + MrPmin \\
 Mrpermeability2 = (MrPmax_g - MrPmin_g).G/(G + keq_g) + MrPmin_g \\
 sourceMR = (Mrpermeability1 + Mrpermeability2).(MrmaxTissue - (MR + MA)) \\
 \frac{\partial MR}{\partial t} = -\mu_{MR}MR - maActivation + D_{MR}\Delta MR + sourceMR - \nabla.(\chi_{MR}MR\nabla CH) \\
 MR(x, 0) = 1, \frac{\partial MR(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial MA}{\partial t} = -\mu_{MA}MA + maActivation + D_{MA}\Delta MA - \nabla.(\chi_{MA}MA\nabla CH) \\
 MA(x, 0) = 0, \frac{\partial MA(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial CH}{\partial t} = -\mu_{CH}CH + (\beta_{CH|N}.N + \beta_{CH|MA}.MA).A.(1 - CH/chInf)/(1 + \theta_{CA}.CA) + D_{CH}\Delta CH \\
 CH(x, 0) = 0, \frac{\partial CH(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 permeability = (Pmax - Pmin).CH/(CH + keqch) + Pmin \\
 sourceN = permeability.(NmaxTissue - N) \\
 \frac{\partial N}{\partial t} = -\mu_N N - \lambda_{A|N}A.N + D_N\Delta N + sourceN - \nabla.(\chi_N N\nabla CH) \\
 N(x, 0) = 0, \frac{\partial N(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial ND}{\partial t} = \mu_N N + \lambda_{A|N}A.N - \lambda_{ND|MA}ND.MA + D_{ND}\Delta ND \\
 ND(x, 0) = 0, \frac{\partial ND(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial G}{\partial t} = -\mu_G G + \beta_{G|N}.sourceN.(1 - G/gInf) + D_G\Delta G \\
 G(x, 0) = 0, \frac{\partial G(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0 \\
 \frac{\partial CA}{\partial t} = -\mu_{CA}CA + (\beta_{CA|MR}.MR.ND + \beta_{CA|MA}.MA).(1 - CA/caInf) + D_{CA}\Delta CA \\
 CA(x, 0) = 0, \frac{\partial CA(.,t)}{\partial n} |_{\partial\Omega} = 0
 \end{array} \right. \tag{6.10}$$

Um fato interessante ocorre no caso 5 (Figura 6.35). Com a introdução da citocina anti-

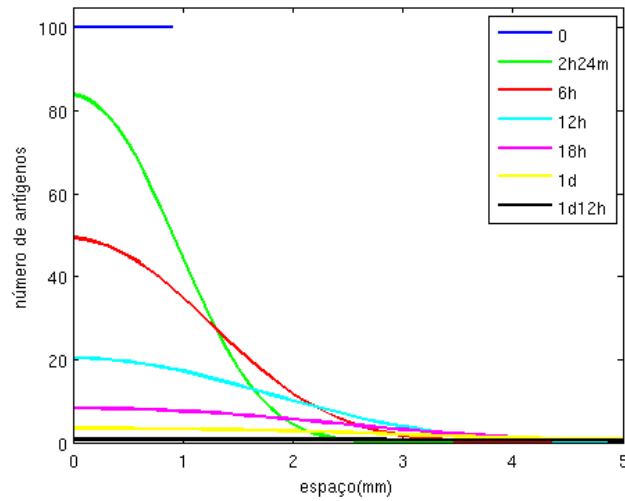


Figura 6.35: Evolução temporal da distribuição espacial dos antígenos.

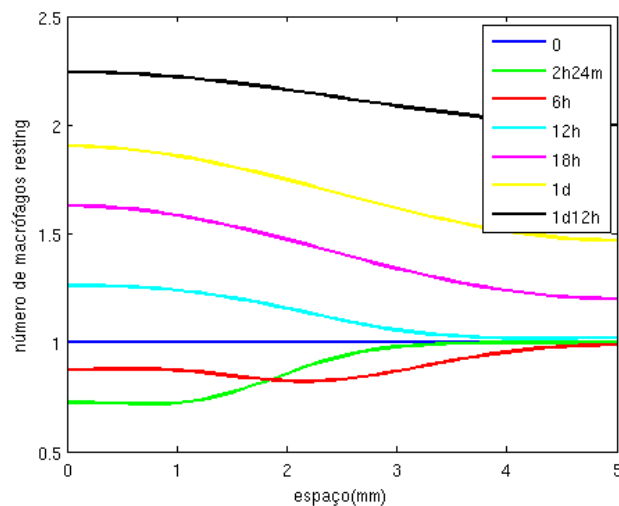


Figura 6.36: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos *resting*.

inflamatória a diminuição na concentração de antígenos após 1 dia do início da infecção para o caso 5 foi menor em relação ao caso 4 (Figura 6.28), ou seja, a citocina anti-inflamatória diminuiu a potência da resposta imune, mas no caso em questão não atrapalhou o sistema imune a atingir "seu objetivo" que é o controle da infecção através da eliminação completa dos antígenos.

Além disso, com a citocina anti-inflamatória bloqueando a ativação dos macrófagos *resting*, diminuindo consideravelmente seu crescimento (comparar as figuras do caso 5 6.37 e do caso 4 6.30), o crescimento no número dos macrófagos *resting* é maior no caso 5 (Figura 6.36) do que no caso anterior (Figura 6.29).

No caso das citocinas pró-inflamatórias (Figura 6.38) a presença da citocina anti-

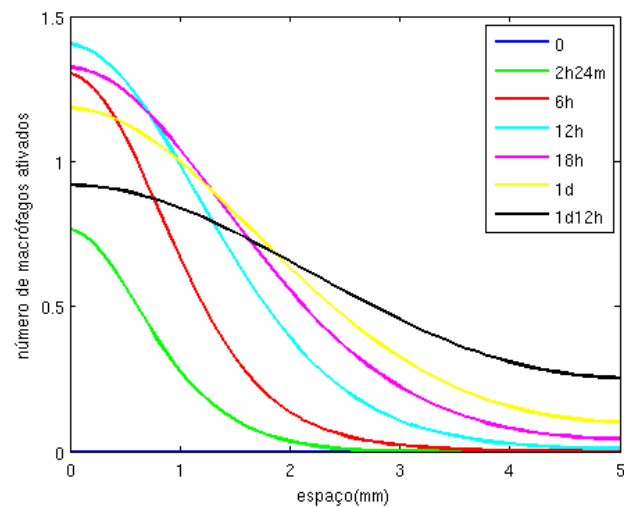


Figura 6.37: Evolução temporal da distribuição espacial dos macrófagos ativados.

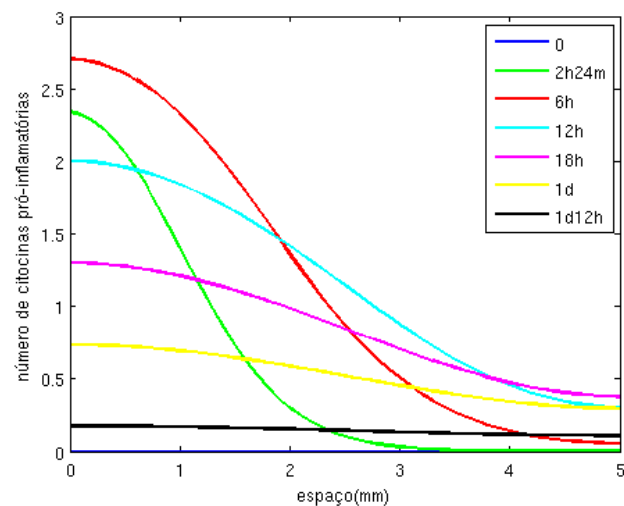


Figura 6.38: Evolução temporal da distribuição espacial das citocinas pró-inflamatórias.

inflamatória bloqueou a produção das citocinas pró-inflamatórias por vários neutrófilos e macrófagos ativados contribuindo para uma redução no número de citocinas pró-inflamatórias no meio.

Na Figura 6.39 observa-se uma pequena redução no número de neutrófilos em relação ao caso anterior (Figura 6.32) devido ao fato de que na presença da citocina anti-inflamatória a migração dos neutrófilos para o tecido é prejudicada dado que a citocina anti-inflamatória bloqueia a produção da citocina pró-inflamatória por várias células.

No caso dos neutrófilos apoptóticos observa-se um crescimento no caso 5 (Figura 6.40) em relação ao caso anterior (Figura 6.33) porque com a ativação dos macrófagos sendo bloqueada pela citocina anti-inflamatória, um menor número de macrófagos ativados

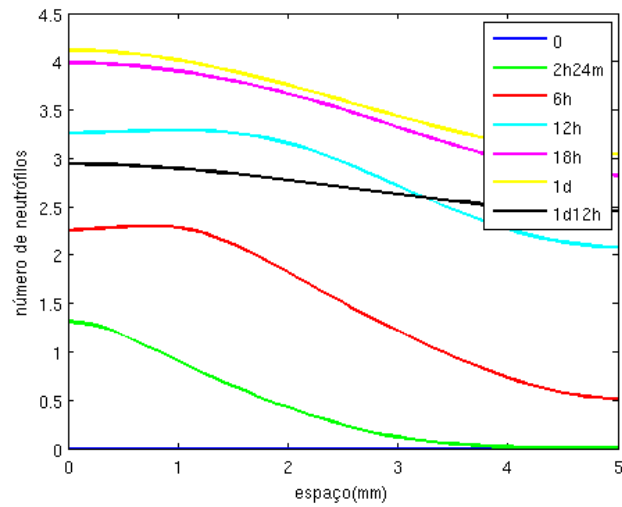


Figura 6.39: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos.

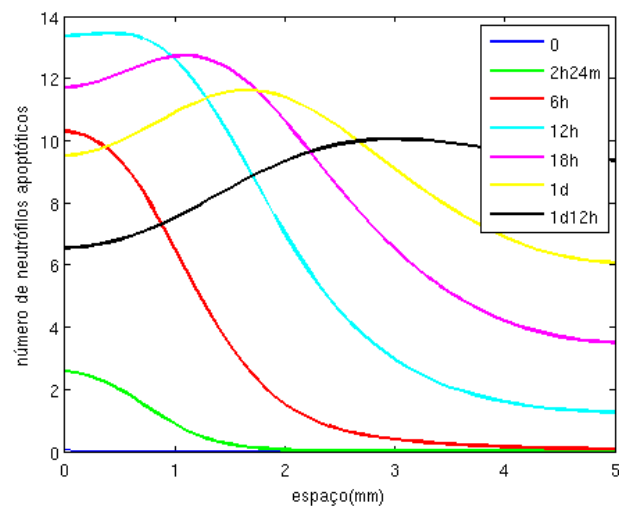


Figura 6.40: Evolução temporal da distribuição espacial dos neutrófilos apoptóticos.

estarão presentes no meio e conseqüentemente os neutrófilos apoptóticos serão fagocitados em menor quantidade.

A produção dos grânulos proteicos no caso 5 (Figura 6.41) permanece quase idêntica a do caso 4 (Figura 6.34), com exceção de que a do produção no caso 5 atinge uma distribuição homogênea mais rápido.

E a produção da citocina anti-inflamatória é maior nas regiões com mais macrófagos e células apoptóticas (Figura 6.42).

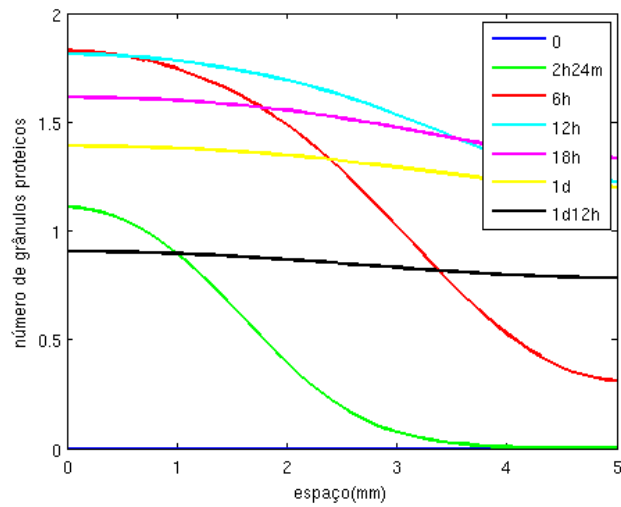


Figura 6.41: Evolução temporal da distribuição espacial dos grânulos protéicos.

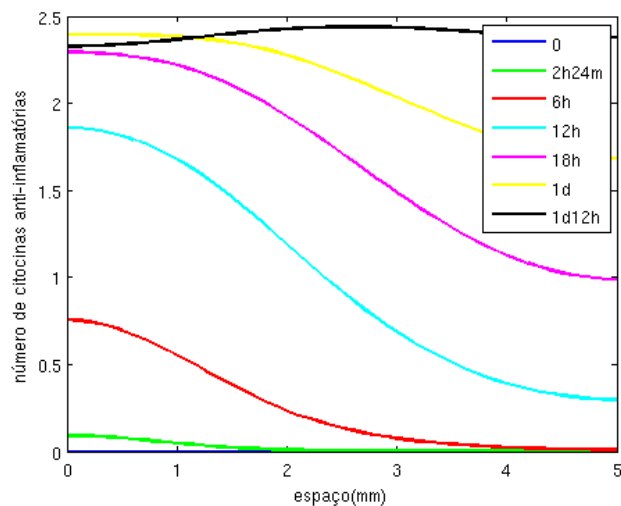


Figura 6.42: Evolução temporal da distribuição espacial da citocina anti-inflamatória.

6.2.1 Comparação entre os casos

Os gráficos a seguir mostram a evolução no tempo das células/moléculas do modelo estendido.

Na Figura 6.43 observa-se que a introdução das citocinas pró-inflamatórias no caso 2 causou um pequeno decréscimo dos antígenos em relação ao caso anterior. Isso ocorre porque neste modelo foi considerado que as citocinas pró-inflamatórias possuem uma pequena influência na migração dos monócitos, contribuindo muito pouco para a entrada de mais monócitos. E no caso 3 o decréscimo é bem mais rápido devido a presença dos neutrófilos que conseguem migrar para os tecidos em grandes quantidades atingindo altas concentrações que são suficientes para controlar essa infecção. Como os

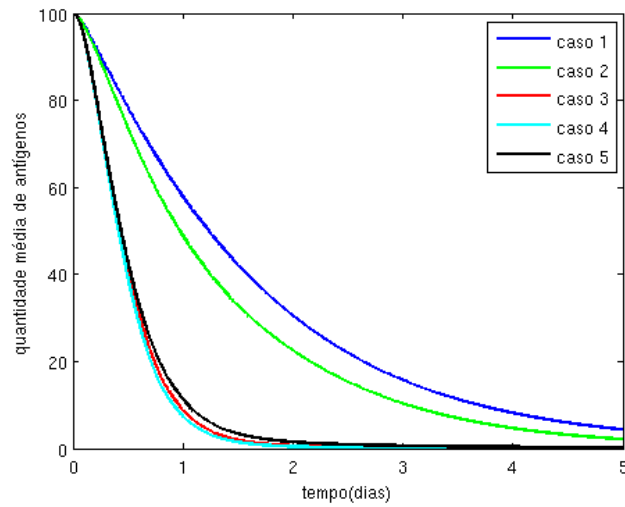


Figura 6.43: Evolução temporal da quantidade média de antígenos.

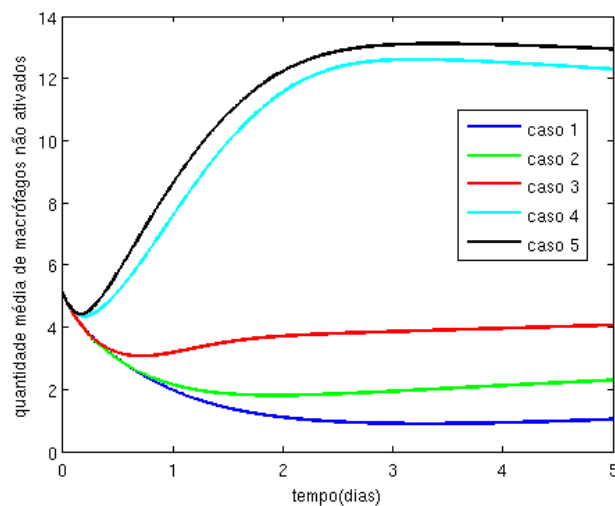


Figura 6.44: Evolução temporal da quantidade média de macrófagos *resting*.

neutrófilos deram "conta do recado", realizaram a maior parte do trabalho de eliminação dos antígenos, com a ajuda dos poucos macrófagos residentes e que migraram durante o primeiro dia da resposta, no caso 4 o extravasamento de uma segunda onda de monócitos no momento em que os antígenos estavam quase eliminados não teve impacto nenhum na potenciação da resposta imune.

Na Figura 6.44 observa-se que a introdução de citocinas pró-inflamatórias, neutrófilos e grânulos proteicos contribuíram para um aumento cada vez maior da permeabilidade do endotélio, permitindo desta forma a entrada de mais monócitos aumentando desta forma o número de macrófagos *resting*. Nota-se que do caso 4 para o caso 5 esse aumento foi ainda maior dado que a ativação dos macrófagos é bloqueada na presença da citocina

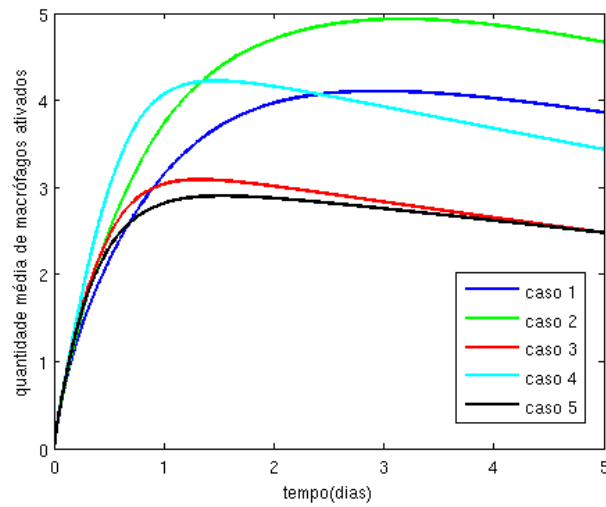


Figura 6.45: Evolução temporal da quantidade média de macrófagos ativados.

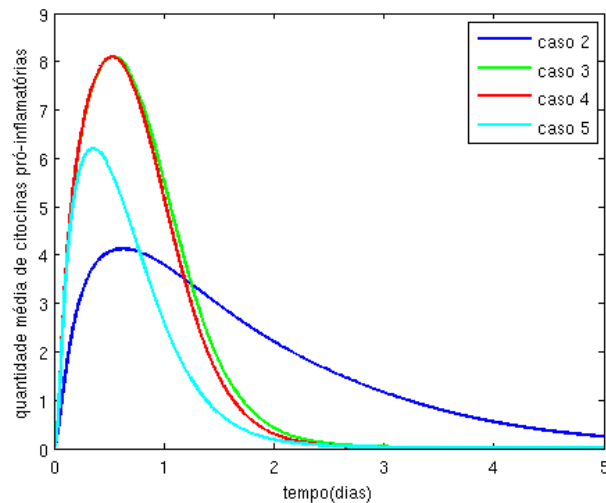


Figura 6.46: Evolução temporal da quantidade média de citocinas pró-inflamatórias.

anti-inflamatória.

Na Figura 6.45 observa-se um crescimento cada vez maior e mais rápido do caso 1 para o caso 4. Isso é consequência direta de uma entrada maior de monócitos nos tecidos devido à ação das células/moléculas que foram sendo acrescentadas do caso 1 para o caso 4. E no caso 5 ocorre uma diminuição significativa na velocidade e intensidade deste crescimento devido à ação direta da citocina anti-inflamatória bloqueando a ativação de macrófagos e indireta através do bloqueio na produção de citocinas pró-inflamatórias.

Na Figura 6.46 observa-se um aumento significativo na concentração da citocina pró-inflamatória do caso 2 para o caso 3 devido à presença de neutrófilos que produzem grandes quantidades dessa citocina. Do caso 3 para o caso 4 nenhuma mudança significativa porque

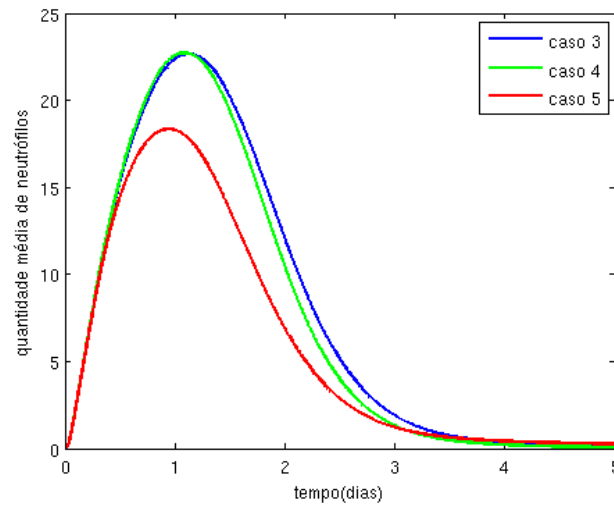


Figura 6.47: Evolução temporal da quantidade média de neutrófilos.

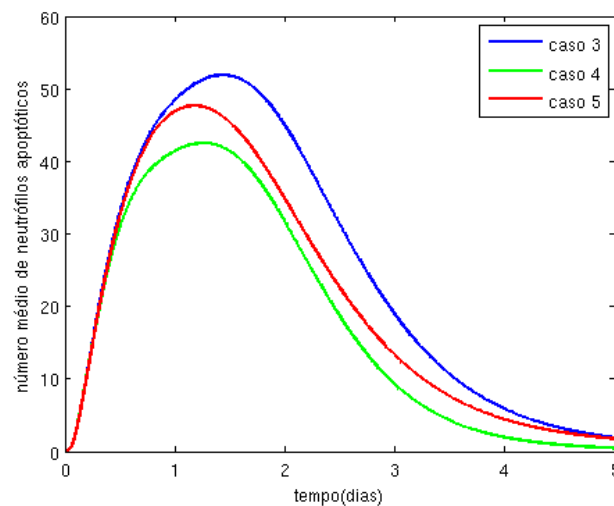


Figura 6.48: Evolução temporal da quantidade média de neutrófilos apoptóticos.

a entrada de mais monócitos ocorre no período de término da resposta, onde o número de antígenos disponível para ativação desses monócitos é pequeno. E no caso 5, observa-se uma redução na produção das citocinas pró-inflamatórias devido a ação da citocina anti-inflamatória.

Na Figura 6.47 o crescimento dos neutrófilos é bem semelhante nos casos 3 e 4 devido a vários fatores explicados anteriormente. E no caso 5 a presença de uma concentração menor de citocinas pró-inflamatórias no meio resulta em uma diminuição da migração dos neutrófilos.

Na Figura 6.48 observa-se um pequeno decréscimo no número de neutrófilos apoptóticos do caso 3 para o caso 4 devido a maior quantidade de macrófagos ativados

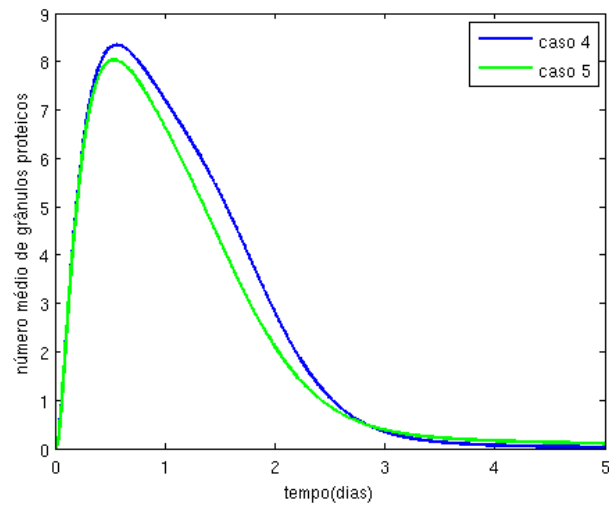


Figura 6.49: Evolução temporal da quantidade média de grânulos proteicos.

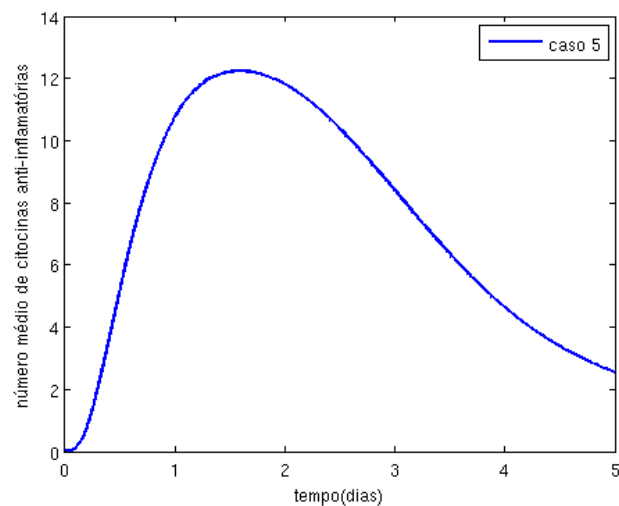


Figura 6.50: Evolução temporal da quantidade média de citocinas anti-inflamatórias.

no caso 4 que fazem fagocitose dos neutrófilos apoptóticos. E no caso 5 com menos macrófagos ativados no meio os neutrófilos apoptóticos morrem menos.

Na Figura 6.49 ocorre um crescimento maior no caso 4 em relação ao caso 5. No caso 4 o número de neutrófilos que migraram foi maior consequentemente foi maior a produção dos grânulos.

Na figura 6.50 observa-se que a citocina anti-inflamatória apresenta um crescimento maior a partir do término da infecção (Figura 6.43).

7 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS FUTURAS

Neste trabalho desenvolvemos a modelagem computacional da dinâmica de alguns tipos de células e moléculas do sistema imunológico humano durante uma resposta imune ao lipopolissacarídeo (LPS) em uma pequena seção de um tecido. Atingimos nosso objetivo através do desenvolvimento de um modelo matemático que incorpora as principais interações que ocorrem durante a resposta imune entre o LPS e algumas células e moléculas do sistema imunológico inato.

Uma das maiores contribuições do modelo foi ajudar a entender melhor a dinâmica do processo modelado, mais especificamente a interação entre neutrófilos e macrófagos no estabelecimento de uma resposta imune mais vigorosa contra os antígenos. O modelo também contribuiu no melhor entendimento de alguns mecanismos pelos quais as citocinas anti-inflamatórias regulam a resposta imune, sem contudo prejudicar a resposta ao antígeno, considerando o caso em que são produzidas de forma controlada.

O modelo proposto neste trabalho conseguiu reproduzir várias características presentes nas respostas imunes, como:

- A ordem de chegada das células ao local da infecção;
- A interação entre macrófagos e neutrófilos para montar uma resposta mais efetiva e intensa contra o LPS;
- A permeabilidade do endotélio variável dependente da concentração de citocina pró-inflamatória e da concentração dos grânulos proteicos;
- O importante papel dos grânulos proteicos durante todo o processo de migração dos monócitos;
- A regulação da resposta imune pelos macrófagos através da produção da citocina anti-inflamatória e da fagocitose de neutrófilos apoptóticos;
- O papel crucial da citocina anti-inflamatória no controle da resposta inflamatória,

evitando um estado de inflamação persistente mesmo após a eliminação completa dos antígenos.

Em suma, o modelo foi capaz de reproduzir alguns fenômenos envolvidos na estimulação e supressão da resposta imune.

O modelo proposto neste trabalho introduziu uma nova forma de modelar a permeabilidade, inserindo uma permeabilidade dinâmica dependente da concentração de substâncias que alteram essa permeabilidade. Além disso, incluiu a modelagem dos grânulos proteicos e mostrou a importância da resposta anti-inflamatória na regulação imune.

Como trabalhos futuros destaca-se as muitas possibilidades de estender o modelo, acrescentando novas células (células NK, células dendríticas ou sistema complemento), outras citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, moléculas e outros processos presentes nas respostas imunes. O modelo poderia ser estendido, por exemplo, acrescentando os seguintes elementos/mecanismos:

- Acrescentar a dinâmica das células endoteliais no modelo: considerando a interação das células endoteliais com o LPS e com algumas citocinas, como IL-1 β e TNF- α [80];
- Considerar que o LPS induz o aumento na permeabilidade quando está presente em altas concentrações [80];
- Considerar o processo de dessensibilização de macrófagos, onde o LPS em altas concentrações inibe a produção de TNF- α por macrófagos [81];
- Considerar que o TNF- α produzido pelos macrófagos induz a produção de mais TNF- α por eles [4];
- Considerar que o TNF- α tem efeitos pró-apoptóticos e anti-apoptóticos nos macrófagos e neutrófilos: em baixas concentrações, o TNF- α atrasa a apoptose de macrófagos/neutrófilos e induz a produção de citocinas pró-inflamatórias, enquanto que em altas concentrações o TNF- α induz a apoptose [81];

Outro trabalho futuro seria implementar outros modelos como, por exemplo, o proposto por Day *et al.* [60] e realizar simulações com o intuito de verificar quais

características são relevantes para modelar a resposta imune ao LPS e que não foram incorporadas no modelo proposto neste trabalho.

Uma outra possibilidade seria utilizar uma outra abordagem, como modelagem baseada em agentes, para modelar o problema e comparar os resultados com os resultados obtidos utilizando modelos de equações diferenciais. Essa comparação teria o intuito de verificar se essa outra abordagem conseguirá resultados mais próximos da realidade e/ou resultados que não foram possíveis de se obter com equações diferenciais.

REFERÊNCIAS

- [1] JANEWAY, C., MURPHY, K. P., TRAVERS, P., WALPORT, M., JANEWAY, C.,
Immunobiology. 5th ed. Garland Science, New York and London, 2001.
- [2] HOARE, T., MILNER, R., *Grand Challenges in Computing – Research*, Tech. Rep. Report from the Conference on Grand Challenges in Computing Research, held in Newcastle from 29 to 31 March 2004., The British Computer Society, March 2004.
- [3] FORREST, S., BEAUCHEMIN, C., “Computer immunology”, *Immunological Reviews*, v. 216, n. 1, pp. 176–197, 2007.
- [4] SOMPAYRAC, L. M., *How the Immune System Works*. Wiley, John & Sons, Incorporated, 2008.
- [5] KINDT, T. J., OSBORNE, B. A., GOLDSBY, R. A., *Kuby Immunology*. W. H. Freeman, July 2006.
- [6] MCCORMICK, T. S., STEVENS, S. R., KANG, K., “Macrophages and cutaneous inflammation”, *Nat Biotech*, v. 18, n. 1, pp. 25–26, Jan. 2000.
- [7] N, F., K., K., “Macrophages in inflammation”, *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy*, v. 4, n. 3, pp. 281–286(6), June 2005.
- [8] LJ., O., “Tumor necrosis factor”, *Scientific American*, v. 258, 1988.
- [9] MALLICK, A., ISHIZAKA, A., STEPHENS, K., HATHERILL, J., TAZELAAR, H., RAFFIN, T., “Multiple organ damage caused by tumor necrosis factor and prevented by prior neutrophil depletion”, *Chest*, v. 95, 1989.
- [10] HORGAN, M. J., PALACE, G. P., EVERITT, J. E., MALIK, A. B., “TNF-alpha release in endotoxemia contributes to neutrophil-dependent pulmonary edema”, *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, v. 264, n. 4, pp. H1161–H1165, April 1993.
- [11] BAZZONI, F., CASSATELLA, M. A., ROSSI, F., CESKA, M., DEWALD, B., BAGGIOLINI, M., “Phagocytosing neutrophils produce and release high

- amounts of the neutrophil-activating peptide 1/interleukin 8.” *The Journal of Experimental Medicine*, v. 173, n. 3, pp. 771–774, March 1991.
- [12] STRIETER., R. M., KASAHARA., K., ALLEN., R. M., STANDIFORD., T. J., ROLFE., M. W., BECKER., F. S., CHENSUE., S. W., KUNKEL, S. L., “Cytokine-induced neutrophil-derived interleukin-8”, *Am J Pathol*, v. 141, pp. 397–407, 1992.
- [13] M, B., B, D., B, M., “Human chemokines: an update”, *Annu Rev Immunol*, v. 15, pp. 675–705, 1997.
- [14] MULLIGAN, M., JONES, M., BOLANOWSKI, M., BAGANOFF, M., DEPPELER, C., MEYERS, D., RYAN, U., WARD, P., “Inhibition of lung inflammatory reactions in rats by an anti-human IL-8 antibody”, *The Journal of Immunology*, v. 150, n. 12, pp. 5585–5595, June 1993.
- [15] SEKIDO, N., MUKAIDA, N., HARADA, A., NAKANISHI, I., WATANABE, Y., MATSUSHIMA, K., “Prevention of lung reperfusion injury in rabbits by a monoclonal antibody against interleukin-8”, *Nature*, v. 365, n. 6447, pp. 654–657, Oct. 1993.
- [16] BROADDUS, V., BOYLAN, A., HOEFFEL, J., KIM, K., SADICK, M., CHUNTHARAPAI, A., HEBERT, C., “Neutralization of IL-8 inhibits neutrophil influx in a rabbit model of endotoxin-induced pleurisy”, *The Journal of Immunology*, v. 152, n. 6, pp. 2960–2967, March 1994.
- [17] GABRILOVICH, D., *New Outlook for Old Cells*. Imperial College Press, 1999.
- [18] CASSATELLA, M. A., “Neutrophil-Derived Proteins: Selling Cytokines by the Pound”, v. 73, pp. 369–509, *Advances in Immunology*, Academic Press, 1999.
- [19] SCAPINI, P., LAPINET-VERA, J. A., GASPERINI, S., CALZETTI, F., BAZZONI, F., CASSATELLA, M. A., “The neutrophil as a cellular source of chemokines”, *Immunological Reviews*, v. 177, n. 1, pp. 195–203, 2000.
- [20] MATSUKAWA, A., HOGABOAM, C., LUKACS, N., KUNKEL, S., “Chemokines and innate immunity”, *Rev Immunogenet*, v. 2, 2000.

- [21] MARCINKIEWICZ, J., NOWAK, B., GRABOWSKA, A., BOBEK, M., PETROVSKA, L., CHAIN, B., “Regulation of murine dendritic cell functions in vitro by taurine chloramine, a major product of the neutrophil myeloperoxidase-halide system.” *Immunology*, v. 98, n. 3, pp. 371–8–, Nov. 1999.
- [22] CHERTOV, O., YANG, D., HOWARD, O. M. Z., OPPENHEIM, J. J., “Leukocyte granule proteins mobilize innate host defenses and adaptive immune responses”, *Immunological Reviews*, v. 177, n. 1, pp. 68–78, 2000.
- [23] GONZALO, J. A., LLOYD, C. M., KREMER, L., FINGER, E., MARTINEZ-A, C., SIEGELMAN, M. H., CYBULSKY, M., GUTIERREZ-RAMOS, J. C., “Eosinophil recruitment to the lung in a murine model of allergic inflammation. The role of T cells, chemokines, and adhesion receptors.” *The Journal of Clinical Investigation*, v. 98, n. 10, pp. 2332–2345, 11 1996.
- [24] ENG, R. H., SMITH, S. M., FAN-HAVARD, P., OGBARA, T., “Effect of antibiotics on endotoxin release from gram-negative bacteria”, *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, v. 16, n. 3, pp. 185–189, 1993.
- [25] REBUCK, J. W., CROWLEY, J. H., “A method of studying leukocytic functions in vivo”, *Annals of the New York Academy of Sciences*, v. 59, n. 5, pp. 757–805, 1955.
- [26] WARD, P., “Chemotaxis of mononuclear cells.” *J Exp Med*, v. 128, n. 5, pp. 1201–21–, Nov. 1968.
- [27] GALLIN, J., FLETCHER, M., SELIGMANN, B., HOFFSTEIN, S., CEHRS, K., MOUNESSA, N., “Human neutrophil-specific granule deficiency: a model to assess the role of neutrophil-specific granules in the evolution of the inflammatory response”, *Blood*, v. 59, 1982.
- [28] CHERTOV, O., UEDA, H., XU, L., TANI, K., MURPHY, W., WANG, J., HOWARD, O., SAYERS, T., OPPENHEIM, J., “Identification of human neutrophil-derived cathepsin G and azurocidin/CAP37 as chemoattractants for mononuclear cells and neutrophils.” *J Exp Med*, v. 186, n. 5, pp. 739–47–, Aug. 1997.

- [29] CHERTOV, O., MICHEL, D., XU, L., WANG, J., TANI, K., MURPHY, W., LONGO, D., TAUB, D., OPPENHEIM, J., “Identification of defensin-1, defensin-2, and CAP37/azurocidin as T-cell chemoattractant proteins released from interleukin-8-stimulated neutrophils”, *The Journal of biological chemistry*, v. 271, 1996.
- [30] YANG, D., CHEN, Q., SCHMIDT, A. P., ANDERSON, G. M., WANG, J. M., WOOTERS, J., OPPENHEIM, J. J., CHERTOV, O., “LI-37, the Neutrophil Granule- and Epithelial Cell-Derived Cathelicidin, Utilizes Formyl Peptide Receptor-Like 1 (Fpr1) as a Receptor to Chemoattract Human Peripheral Blood Neutrophils, Monocytes, and T Cells”, *The Journal of Experimental Medicine*, v. 192, n. 7, pp. 1069–1074, Oct. 2000.
- [31] SOEHNLEIN, O., WEBER, C., LINDBOM, L., “Neutrophil granule proteins tune monocytic cell function”, *Trends in Immunology*, v. 30, n. 11, pp. 538 – 546, 2009.
- [32] SOEHNLEIN, O., ZERNECKE, A., WEBER, C., “Neutrophils launch monocyte extravasation by release of granule proteins”, *Thrombosis and Haemostasis*, 2009.
- [33] OPAL, S. M., DEPALO, V. A., “Anti-Inflammatory Cytokines”, *Chest*, v. 117, n. 4, pp. 1162–1172, April 2000.
- [34] FIORENTINO, D., ZLOTNIK, A., MOSMANN, T., HOWARD, M., O’GARRA, A., “IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages”, *The Journal of Immunology*, v. 147, n. 11, pp. 3815–3822, Dec. 1991.
- [35] DE WAAL MALEFYT, R., ABRAMS, J., BENNETT, B., FIGDOR, C., DE VRIES, J., “Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes.” *J Exp Med*, v. 174, n. 5, pp. 1209–20–, Nov. 1991.
- [36] CASSATELLA, M. A., MEDA, L., BONORA, S., CESKA, M., CONSTANTIN, G., “Interleukin 10 (IL-10) inhibits the release of proinflammatory cytokines from human polymorphonuclear leukocytes. Evidence for an autocrine role of tumor

necrosis factor and IL-1 beta in mediating the production of IL-8 triggered by lipopolysaccharide.” *The Journal of Experimental Medicine*, v. 178, n. 6, pp. 2207–2211, Dec. 1993.

- [37] MARIE, C., PITTON, C., FITTING, C., CAVAILLON, J.-M., “Regulation by anti-inflammatory cytokines (IL-4, IL-10, IL-13, TGF) of interleukin-8 production by LPS and/or TNF-activated human polymorphonuclear cells”, *Mediators of Inflammation*, v. 5, pp. 334–340, 1996.
- [38] KENNEDY, A., DELEO, F., “Neutrophil apoptosis and the resolution of infection”, *Immunologic Research*, v. 43, pp. 25–61, 2009, 10.1007/s12026-008-8049-6.
- [39] LUCAS, M., STUART, L., ZHANG, A., HODIVALA-DILKE, K., FEBBRAIO, M., SILVERSTEIN, R., SAVILL, J., LACY-HULBERT, A., “Requirements for apoptotic cell contact in regulation of macrophage responses.” *J Immunol*, v. 177, n. 6, pp. 4047–54–, Sept. 2006.
- [40] VOLL, R. E., HERRMANN, M., ROTH, E. A., STACH, C., KALDEN, J. R., GIRKONTAITE, I., “Immunosuppressive effects of apoptotic cells”, *Nature*, v. 390, n. 6658, pp. 350–351, Nov. 1997.
- [41] FACHADA, N., *Agent-based Simulation of the Immune System*, Master’s Thesis, Instituto Superior Técnico de Lisboa, 2008.
- [42] COHEN, I. R., “Modeling immune behavior for experimentalists”, *Immunological Reviews*, v. 216, n. 1, pp. 232–236, 2007.
- [43] GRUBER, J., “Mathematical Models Immune Response”, Disponível em: <http://www.lymenet.de/literatur/immunsys.htm>. Acesso em: 11 de fevereiro de 2011., 2011.
- [44] WOLFRAM, S., *A New Kind of Science*. Wolfram Media, 2002.
- [45] BOER, R. J. D., HOGEWEG, P., “Growth and recruitment in the immune network”. In: *Theoretical and Experimental Insights into Immunology*, v. 66, n. 223-247, 1992.

- [46] BEZZI, M., CELADA, F., RUFFO, S., SEIDEN, P. E., “The transition between immune and disease states in a cellular automaton model of clonal immune response”, *Physica A: Statistical and Theoretical Physics*, v. 245, n. 1-2, pp. 145 – 163, 1997.
- [47] ZORZENON DOS SANTOS, R., COUTINHO, S., “Dynamics of HIV infection: a cellular automata approach.” *Phys Rev Lett*, v. 87, n. 16, pp. 168102–, Oct. 2001.
- [48] MOREIRA, J., DEUTSCH, A., “Cellular automaton models of the tumor development: a critical review”, *Advances in Complex Systems (ACS)*, v. 05, n. 02, pp. 247–267, 2002.
- [49] GREMONINI, L., VICENTINI, E., “Autômatos celulares: revisão bibliográfica e exemplos de implementações”, *Revista Eletrônica Lato Sensu UNICENTRO*, v. 6, 2008.
- [50] GRILO, A., CAETANO, A., ROSA, A., “Immune System Simulation through a Complex Adaptive System Model”. In: *System Model, CiteSeer Scientific Literature Digital Library*, pp. 681–704, 2000.
- [51] JACOB, C., LITORCO, J., LEE, L., “Immunity Through Swarms: Agent-Based Simulations of the Human Immune System”, In: NICOSIA, G., CUTELLO, V., BENTLEY, P. J., TIMMIS, J. (eds), *Artificial Immune Systems*, v. 3239, pp. 400–412, *Lecture Notes in Computer Science*, Springer Berlin / Heidelberg, 2004.
- [52] TAY, J. C., JHAVAR, A., “CAFISS: a complex adaptive framework for immune system simulation”. In: *Proceedings of the 2005 ACM symposium on Applied computing, SAC '05*, pp. 158–164, ACM: New York, NY, USA, 2005.
- [53] KALITA, J. K., CHANDRASHEKAR, K., HANS, R., SELVAM, P., NEWELL, M. K., “Computational modelling and simulation of the immune system”, *Int. J. Bioinformatics Res. Appl.*, v. 2, pp. 63–88, March 2006.

- [54] XU, T., F. P., E., C. S., F., L. S., DONG, A. I. P., “Agent-Based Modeling of Endotoxin-Induced Acute Inflammatory Response in Human Blood Leukocytes”, *PLoS ONE*, v. 5, n. 2, pp. e9249, 02 2010.
- [55] CELADA, F., SEIDEN, P. E., “A computer model of cellular interactions in the immune system”, *Immunology Today*, v. 13, n. 2, pp. 56 – 62, 1992.
- [56] BERNASCHI, M., CASTIGLIONE, F., “Design and implementation of an immune system simulator”, *Computers in Biology and Medicine*, v. 31, n. 5, pp. 303 – 331, 2001.
- [57] BALDAZZI, V., CASTIGLIONE, F., BERNASCHI, M., “An enhanced agent based model of the immune system response”, *Cellular Immunology*, v. 244, n. 2, pp. 77 – 79, 2006.
- [58] KUMAR, R., CLERMONT, G., VODOVOTZ, Y., CHOW, C. C., “The dynamics of acute inflammation”, *Journal of Theoretical Biology*, v. 230, n. 2, pp. 145–155, 2004.
- [59] REYNOLDS, A., RUBIN, J., CLERMONT, G., DAY, J., VODOVOTZ, Y., ERMENTROUT, G. B., “A reduced mathematical model of the acute inflammatory response: I. Derivation of model and analysis of anti-inflammation”, *Journal of Theoretical Biology*, v. 242, n. 1, pp. 220–236, 2006.
- [60] DAY, J., RUBIN, J., VODOVOTZ, Y., CHOW, C. C., REYNOLDS, A., CLERMONT, G., “A reduced mathematical model of the acute inflammatory response II. Capturing scenarios of repeated endotoxin administration.” *J Theor Biol*, v. 242, n. 1, pp. 237–256, September 2006.
- [61] MATZINGER, P., “The danger model: A renewed sense of self”, *Science*, v. 296, pp. 301–305, 2002.
- [62] VODOVOTZ, Y., CHOW, C. C., BARTELS, J., LAGOA, C., PRINCE, J. M., LEVY, R. M., KUMAR, R., DAY, J., RUBIN, J., CONSTANTINE, G., BILLIAR, T. R., FINK, M. P., K, G. C., “Review Article IN SILICO MODELS OF ACUTE INFLAMMATION IN ANIMALS”, 2006.

- [63] SU, B., ZHOU, W., DORMAN, K. S., JONES, D. E., “Mathematical modelling of immune response in tissues”, *Computational and Mathematical Methods in Medicine: An Interdisciplinary Journal of Mathematical, Theoretical and Clinical Aspects of Medicine*, v. 10, pp. 1748–6718, 2009.
- [64] ZHANG, B., HIRAHASHI, J., CULLERE, X., MAYADAS, T. N., “Elucidation of Molecular Events Leading to Neutrophil Apoptosis following Phagocytosis”, *The Journal of biological chemistry*, v. 278, pp. 28443â28454, 2003.
- [65] GOUTELLE, S., MAURIN, M., ROUGIER, F., BARBAUT, X., BOURGUIGNON, L., DUCHER, M., MAIRE, P., “The Hill equation: a review of its capabilities in pharmacological modelling”, *Fundamental & clinical pharmacology*, v. 22, n. 6, pp. 633–648, December 2008.
- [66] WAGNER, J. G., “Kinetics of pharmacologic response I. Proposed relationships between response and drug concentration in the intact animal and man”, *Journal of Theoretical Biology*, v. 20, n. 2, pp. 173 – 201, 1968.
- [67] BYRNE, H. M., CAVE, G., MCELWAIN, D. L. S., “The effect of chemotaxis and chemokinesis on leukocyte locomotion: A new interpretation of experimental results”, *Mathematical Medicine and Biology*, v. 15, n. 3, pp. 235–256, 1998.
- [68] DI CARLO, E., IEZZI, M., PANNELLINI, T., ZACCARDI, F., MODESTI, A., FORNI, G., MUSIANI, P., “Neutrophils in anti-cancer immunological strategies: old players in new games”, *J Hematother Stem Cell Res*, v. 10, 2001.
- [69] MOORE, K. W., DE WAAL MALEFYT, R., COFFMAN, R. L., O’GARRA, A., “Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor”, *Annual Review of Immunology*, v. 19, n. 1, pp. 683–765, 2001.
- [70] BORREGAARD, N., COWLAND, J. B., “Granules of the Human Neutrophilic Polymorphonuclear Leukocyte”, *Blood*, v. 10, pp. 3503–3521, 1997.
- [71] LEVEQUE, R. J., *Finite Difference Methods for Ordinary and Partial Differential Equations*. Society for Industrial and Applied Mathematics, 2007.

- [72] HARTEN, A., “High resolution schemes for hyperbolic conservation laws”, *J. Comput. Phys.*, v. 135, pp. 260–278, August 1997.
- [73] LEONARD, B. P., “Simple high-accuracy resolution program for convective modelling of discontinuities”, *International Journal for Numerical Methods in Fluids*, v. 8, n. 10, pp. 1291–1318, 1988.
- [74] SHU, C.-W., OSHER, S., “Efficient implementation of essentially non-oscillatory shock-capturing schemes,II”, *J. Comput. Phys.*, v. 83, pp. 32–78, July 1989.
- [75] SOD, G. A., “A survey of several finite difference methods for systems of nonlinear hyperbolic conservation laws”, *Journal of Computational Physics*, v. 27, n. 1, pp. 1 – 31, 1978.
- [76] MARROCCO, A., “Numerical simulation of chemotactic bacteria aggregation via mixed finite elements”, *Math. Mod. Num. Analysis*, v. 37, pp. 617–630, 2003.
- [77] FILBET, F., “A finite volume scheme for the Patlak–Keller–Segel chemotaxis model”, *Numerische Mathematik*, v. 104, pp. 457–488, 2006.
- [78] HAFEZ, M. M., CHATTOT, J. J., *Innovative Methods for Numerical Solution of Partial Differential Equations*. World Scientific Publishing Company, 2002.
- [79] PIGOZZO, A. B., LOBOSCO, M., DOS SANTOS, R. W., “Parallel Implementation of a Computational Model of the HIS Using OpenMP and MPI”, *Computer Architecture and High Performance Computing Workshops, International Symposium on*, v. 0, pp. 67–72, 2010.
- [80] NOOTEBOOM, A., VAN DER LINDEN, C. J., HENDRIKS, T., “Whole blood-mediated endothelial permeability and adhesion molecule expression: a model study into the effects of bacteria and antibiotics”, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, v. 55, n. 2, pp. 150–156, February 2005.
- [81] VAN DEN BERG, J. M., WEYER, S., WEENING, J. J., ROOS, D., KUIJPERS, T. W., “Divergent effects of tumor necrosis factor alpha on apoptosis of human neutrophils”, *Journal of Leukocyte Biology*, v. 69, n. 3, pp. 467–473, March 2001.

- [82] PRICE, T., OCHS, H., GERSHONI-BARUCH, R., HARLAN, J., ETZIONI, A., “In vivo neutrophil and lymphocyte function studies in a patient with leukocyte adhesion deficiency type II”, *Blood*, v. 84, n. 5, pp. 1635–1639, Sept. 1994.
- [83] FELDER, S., KAM, Z., “Human neutrophil motility: Time-dependent three-dimensional shape and granule diffusion”, *Cell Motility and the Cytoskeleton*, v. 28, n. 4, pp. 285–302, 1994.
- [84] CHETTIBI, S., LAWRENCE, A., YOUNG, J., LAWRENCE, P., STEVENSON, R., “Dispersive locomotion of human neutrophils in response to a steroid-induced factor from monocytes”, *J Cell Sci*, v. 107, n. 11, pp. 3173–3181, Nov. 1994.

APÊNDICE A - Condições iniciais e parâmetros do modelo reduzido

Tabela A.1: Condições iniciais e parâmetros do modelo reduzido

Parâmetro	Valor	Unidade	Referência
N_0	$2, 0 < x < 5$	célula	estimado
CH_0	$0, 0 < x < 5$	célula	estimado
A_0	$50, 0 < x < 1$	célula	estimado
$Pmax$	10	1/dia	estimado baseado em [82]
$Pmin$	1	1/dia	estimado baseado em [82]
$NmaxTissue$	5	célula	estimado
$keqch$	1	célula	estimado
μ_A	0.005	1/dia	[63]
$\lambda_{N A}$	0.55	1/célula.dia	[63]
D_A	2000	μm^2 /dia	estimado
μ_N	3.43	1/dia	[63]
$\lambda_{A N}$	0.55	1/célula.dia	[63]
X_N	14400	μm^2 /dia	[83]
D_N	12096	μm^2 /dia	[84]
μ_{CH}	7	1/dia	estimado
$\beta_{CH N}$	0.4	1/célula.dia	[63]
D_{CH}	9216	μm^2 /dia	[63]

APÊNDICE B - Condições iniciais e parâmetros do modelo estendido

Tabela B.1: Condições iniciais do modelo estendido

Parâmetro	Valor	Unidade	Referência
A_0	$100, 0 < x < 1$	célula	estimado
MR_0	$1, 0 < x < 5$	célula	estimado
MA_0	$0, 0 < x < 5$	célula	estimado
N_0	$0, 0 < x < 5$	célula	estimado
ND_0	$0, 0 < x < 5$	célula	estimado
CH_0	$0, 0 < x < 5$	célula	estimado
G_0	$0, 0 < x < 5$	célula	estimado
CA_0	$0, 0 < x < 5$	célula	estimado

Tabela B.2: Parâmetros do modelo estendido

Parâmetro	Valor	Unidade	Referência
$keqch$	1	célula	estimado
θ_{CA}	1	1/célula	estimado
keq_g	1	célula	estimado
$Pmax$	11.4	1/dia	estimado baseado em [82]
$Pmin$	0.0001	1/dia	estimado
$NmaxTissue$	8	célula	estimado
$MrPmax$	0.1	1/dia	estimado
$MrPmin$	0.01	1/dia	estimado
$MrPmax_g$	0.5	1/dia	estimado
$MrPmin_g$	0	1/dia	estimado
$MrmaxTissue$	6	célula	estimado
$maActivationRate$	0.1	1/célula.dia	estimado
μ_A	0	1/dia	[63]
$\lambda_{N A}$	0.55	1/célula.dia	[63]
$\lambda_{MA A}$	0.8	1/célula.dia	[63]
D_A	2000	$\mu m^2/dia$	estimado
μ_{MR}	0.033	1/dia	[63]
D_{MR}	4320	$\mu m^2/dia$	estimado
X_{MR}	3600	$\mu m^2/dia$	estimado
μ_{MA}	0.07	1/dia	[63]
D_{MA}	3000	$\mu m^2/dia$	estimado
X_{MA}	4320	$\mu m^2/dia$	estimado
μ_N	3.43	1/dia	estimado
$\lambda_{A N}$	0.55	1/célula.dia	[63]
D_N	12096	$\mu m^2/dia$	[83]
X_N	14400	$\mu m^2/dia$	[84]
$\lambda_{ND MA}$	2.6	1/célula.dia	[63]
D_{ND}	0.144	$\mu m^2/dia$	[63]
μ_{CH}	7	1/dia	estimado
$\beta_{CH N}$	1	1/célula.dia	estimado
$\beta_{CH MA}$	0.8	1/célula.dia	estimado
D_{CH}	9216	$\mu m^2/dia$	[63]
μ_G	5	1/dia	estimado
$\beta_{G N}$	0.6	1/dia	estimado
D_G	9216	$\mu m^2/dia$	estimado
μ_{CA}	4	1/dia	estimado
$\beta_{CA MR}$	1.5	1/célula.dia	estimado
$\beta_{CA MA}$	1.5	1/dia	estimado
D_{CA}	9216	$\mu m^2/dia$	estimado
$caInf$	3.6	célula	estimado baseado em [35]
$gInf$	3.1	célula	estimado
$chInf$	3.6	célula	estimado baseado em [35]