



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO**



Estudo de simuladores do sistema imunológico humano

Alexandre Bittencourt Pigozzo

**Orientador
Marcelo Lobosco**

Juiz de Fora, dezembro de 2008

Alexandre Bittencourt Pigozzo

**Estudo de simuladores
do sistema imunológico humano**

**Universidade Federal de Juiz de Fora
Instituto de Ciências Exatas
Departamento de Ciência da Computação
Bacharel em Ciência da Computação
Orientador: Marcelo Lobosco**

**Juiz de Fora
Universidade Federal de Juiz de Fora
2008**

Estudo de simuladores do sistema imunológico humano

Alexandre Bittencourt Pigozzo

MONOGRAFIA SUBMETIDADA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO DE
CIÊNCIAS EXATAS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA COMO PARTE
INTEGRANTE DOS REQUISITOS NECESSÁRIOS PARA OBTENÇÃO DO GRAU DE
BACHAREL EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO.

Aprovado por em 5 de dezembro de 2008.

BANCA EXAMINADORA

Ilaim Costa Junior
Dr. em Engenharia de Produção e Sistemas

Rodrigo Weber dos Santos
Dr. em Matemática

Marcelo Lobosco
Dr. em Engenharia de Sistemas e Computação

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 que estiveram ao meu lado nos momentos mais difíceis.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	i
LISTA DE FIGURAS.....	ii
RESUMO.....	iii
1 Introdução.....	01
2 Sistema imunológico humano.....	02
2.1 Mecanismos básicos de defesa do sistema imunológico humano	05
2.2 Anatomia do sistema imunológico.....	06
2.3 Sistema imunológico adaptativo.....	09
2.4 Reconhecimento de padrões.....	10
2.5 A molécula de anticorpo e a diversidade imunológica	11
2.6 Princípio da seleção clonal	12
2.7 Aprendizagem por reforço e memória imunológica.....	14
2.8 Teoria da rede imunológica.....	15
2.9 O sistema imunológico e a AIDS.....	15
2.10 O sistema imunológico e o câncer.....	18
2.10.1 Drogas quimioterápicas.....	19
2.10.2 Estímulos contra o câncer.....	19
3 Modelagem do sistema imunológico humano.....	21
3.1 Equações diferenciais.....	22
3.1.1 Modelando o sistema imunológico com equações diferenciais.....	23
3.1.2 Modelando a dinâmica do HIV com equações diferenciais.....	27
3.2 Autômato celular.....	29
3.2.1 Autômato celular orientado a objetos.....	30
3.3 Modelagem baseada em agentes.....	30
4 Simuladores do sistema imunológico humano.....	33
4.1 ImmSim.....	33
4.2 C-ImmSim.....	36
4.3 CAFISS (A complex adaptative framework for Immune System Simulation)	41
4.4 AbAIS.....	42
4.5 SIMMUNE.....	45
4.6 Imunidade através de <i>Swarm</i>	46
4.7 SIMISYS.....	47
4.8 CyCells.....	49
4.9 Simullm.....	52
4.10 LAIS.....	55
4.11 CancerSim.....	56
5 Considerações finais e trabalhos futuros.....	59
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	62

LISTA DE ABREVIATURAS

SI *Sistema Imunológico*

AIDS *Acquired Immunodeficiency Syndrome*

Tc *T Citotoxic*

Th *T Helper*

NK *Natural Killers*

APC *Antigen Presenting Cell*

SIA *Sistema Imunológico Artificial*

EDO *Equação Diferencial Ordinária*

EDP *Equação Diferencial Parcial*

ABM *Agent Based Modelling*

CAS *Complex Adaptative Systems*

CA *Cellular Automata*

OCCA *Object Oriented Cellular Automata*

MHC *Major Histocompatibility Complex*

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 – Mecanismos de defesa e seus principais mediadores.....	4
Figura 2.2 – Esquema simplificado dos mecanismos de reconhecimento e ativação do sistema imunológico.....	6
Figura 2.3 – Anatomia do sistema imunológico	7
Figura 2.4.a -Célula B com destaque para a molécula de anticorpo.	11
Figura 2.4.b- Epítipo é a região do antígeno reconhecida por um anticorpo.....	12
Figura 2.5 – Molécula imunoglobina	13
Figura 2.6 - Esquema do princípio da seleção clonal.	17
Figura 2.7 – Gráfico da evolução típica da infecção por HIV.....	24
Figura 3.1 – Esquema da diferenciação de linfócitos B.....	25
Figura 3.2 – Modelo de Bell.....	26
Figura 3.3 – Modelo de Perelson, Mirmirani e Oster para a dinâmica das células B	27
Figura 3.4 – Integral do problema de controle.....	28
Figura 3.6 – Equação diferencial da dinâmica do HIV e das drogas antiretrovirais. Onde ϵ_{RT} e ϵ_{PI} são as eficácias de RT e PI ($\epsilon = 1$ sendo uma droga perfeita).	28
Figura 3.7 - Vizinhanças de Von Neumann (à esquerda) e Moore (à direita)	30
Figura 4.1 - Visão geral do modelo ImmSim.....	33
Figura 4.2 - Uma representação esquemática de algumas células e antígenos.	34
Figura 4.3 - Propriedades das células e moléculas do modelo. Propriedades marcadas com * são representadas por cadeias de bit.	34
Figura 4.4 - Um passo da simulação no ImmSim.....	36
Figura 4.5 - Entidades do modelo e suas interações.....	37
Figura 4.6 - Função de afinidade.	38
Figura 4.7 - Equação da difusão, onde $c = c(x)$ é a concentração de quimiocinas, D é o coeficiente de difusão e λ é a meia-vida.....	39
Figura 4.8 - Representação dos genes e operadores de algumas células do modelo. Onde Rep significa reprodução, Sub significa secreção de substância, Rec significa receptor e Mov significa movimento.	44
Figura 4.9 - Processo de infecção do macrófago pelo vírus HIV-1.	44
Figura 4.10 - Agentes do SI representados como esferas de diferentes tamanhos e cores	46
Figura 4.11 - Visão do sistema imunológico representada no sistema.....	48
Figura 4.12 - Arquitetura do sistema SIMISYS.....	48
Figura 4.13 - Arquivo de definição do modelo.....	51
Figura 4.14 - Arquivo de inicialização.....	52
Figura 4.15 - Esquema simplificado dos pacotes existentes no Simulim.....	54
Figura 4.16 - Principais características do LAIS.....	56

Resumo

O SI é um sistema complexo, efetivo e poderoso, capaz de proteger o corpo de patógenos, ou seja, de agentes biológicos capazes de causar doença. A parte inata, também chamada de não-específica, destrói a maioria dos patógenos, e quando ela não é bem sucedida anuncia o perigo e ativa a parte adaptativa indicando como e onde lutar com os patógenos. A parte adaptativa, também chamada de sistema específico, depois tem um papel determinante não só na destruição dos patógenos, mas também na manutenção de uma memória que montará uma resposta mais rápida no próximo encontro com o mesmo patógeno.

Para um melhor entendimento de cada um dos mecanismos do SI é necessário conhecer todas as partes desses mecanismos e como elas interagem. Para auxiliar os imunologistas nesta tarefa os simuladores do SI têm ganhado cada vez mais importância, pois permitem que os “buracos” no conhecimento dos imunologistas sejam preenchidos através de hipóteses sobre aquilo que é desconhecido. Essas hipóteses são implementadas em um simulador do SI e testadas realizando-se experimentos *in silico* com dados reais e comparando-se os resultados com aqueles existentes *in vitro* e *in vivo*. Caso os resultados sejam considerados bons então há uma chance das hipóteses serem verdadeiras. Para isso ser comprovado as hipóteses devem ser testadas *in vitro* e *in vivo*.

Dada a importância de um simulador do SI, este trabalho tem como objetivo descrever as principais características dos simuladores mais relevantes do SI.

Palavras-chave: sistema imunológico inato, sistema imunológico adaptativo, resposta imune inata, resposta imune adaptativa, célula T, célula B, célula Tc, célula Th, macrófagos, célula dendríticas, modelagem computacional

Capítulo1

Introdução

O sistema imunológico (SI) é composto por uma rede complexa de células, tecidos e órgãos especializados em defender o organismo contra doenças. Para atingir tal objetivo, o SI identifica e extermina uma ampla gama de patógenos externos, como vírus e bactérias, além de células do próprio organismo que podem estar se comportando de forma anormal e é ainda responsável pelo processo de eliminação de células mortas e renovação de algumas estruturas do organismo.

A compreensão desse sistema é, portanto, essencial. Entretanto a sua complexidade e a interação entre seus muitos componentes, nos mais diversos níveis, tornam a tarefa extremamente complexa. Alguns de seus aspectos, no entanto podem ser mais bem compreendidos se modelados computacionalmente.

Desta forma este trabalho se propõe a fazer um estudo dos modelos mais relevantes do SI e para isso o restante do trabalho é dividido da forma descrita a seguir.

No capítulo 2 são apresentadas as principais teorias e os principais mecanismos do SI. No capítulo 3 são descritas três abordagens relevantes na modelagem desse sistema, destacando as principais características de cada abordagem. No capítulo 4 são apresentados diversos simuladores do SI, destacando-se as características principais de cada um. E o capítulo 5 finaliza a discussão sobre sistemas imunológicos apresentando algumas considerações finais e alguns possíveis trabalhos futuros.

Capítulo 2

Sistema imunológico humano

Atualmente, existe um grande interesse pelo estudo dos SI [7]. Imunologistas e profissionais da área médica estão tentando compreender melhor o SI para que eles possam combater doenças infecciosas como a *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS), doenças auto-imunes como esclerose múltipla, e outros problemas de saúde.

Biólogos e imunologistas teóricos estão interessados em modelar o SI visando reproduzir fenômenos observados em laboratório e/ou prever comportamentos ainda não obtidos experimentalmente. Outros pesquisadores que começam a se interessar pela imunologia são os engenheiros e cientistas da computação, que tentam simular mecanismos imunológicos particulares com o objetivo de criar sistemas artificiais para a solução de problemas de engenharia. Por exemplo, podem ser traçados fortes paralelos entre o reconhecimento de padrões do SI e o reconhecimento de padrões em computação. Uma metáfora ainda mais abrangente, poderia relacionar as características de imunovigilância e resposta imune com os procedimentos de segurança computacional, que podem incluir detecção e eliminação de vírus, intrusos de rede, e assim por diante.

A terminologia computação natural [8] vem sendo empregada na literatura para descrever todos os sistemas computacionais desenvolvidos com inspiração ou utilização de algum mecanismo natural ou biológico de processamento de informação.

Dentre os vários objetivos da computação natural, destacam-se:

- Desenvolver ferramentas matemáticas e computacionais para a solução de problemas complexos em diversas áreas do conhecimento (Sistemas imunológicos artificiais);
- Modelar sistemas e fenômenos naturais (modelagem computacional);
- Sintetizar novas formas de vida, denominadas de vida artificial; e
- Utilizar mecanismos naturais, como cadeias de DNA e técnicas de engenharia genética, como novos paradigmas de computação. Estes novos paradigmas vêm complementar e/ou complementar os computadores atuais baseados em tecnologia de silício e arquitetura de Von Neumann.

Existem vários exemplos de objetos (artefatos) desenvolvidos com inspiração na natureza, tais como velcro (plantas), coletes a prova de bala (teias de aranha), sonares (morcegos), aviões (pássaros), entre outros.

A computação natural também está fortemente ligada à natureza sob diversas perspectivas e com abordagens distintas. Por exemplo, o funcionamento do cérebro

humano inspirou o desenvolvimento das redes neurais artificiais e o funcionamento do SI dos vertebrados inspirou os sistemas imunológicos artificiais.

Nas áreas de engenharia e computação, tem surgido um forte interesse pelo estudo dos sistemas imunológicos (SI) devido, principalmente, à sua capacidade de processamento de informação. Sob uma perspectiva de engenharia, existem diversas características do SI que podem ser destacadas:

- Unicidade: cada animal possui seu próprio sistema imunológico, com suas capacidades e vulnerabilidades particulares;
- Reconhecimento de padrões internos e externos ao sistema: as células e moléculas que não pertencem ao organismo são reconhecidas e eliminadas pelo SI;
- Detecção de anomalia: o SI pode detectar e reagir a agentes patogênicos (causadores de anomalias) que nunca haviam sido expostos anteriormente;
- Detecção imperfeita (tolerância a ruídos): um reconhecimento perfeito não é necessário para que o SI reaja contra um patógeno;
- Diversidade: existe uma quantidade limitada de células e moléculas no SI que são utilizadas para se obter o reconhecimento de um número praticamente infinito de elementos, incluindo aqueles sintetizados em laboratório;
- Aprendizagem por reforço: a cada encontro com o mesmo patógeno, o SI melhora a qualidade de sua resposta; e
- Memória: os componentes do SI bem sucedidos no reconhecimento e combate às patologias são armazenados para uma resposta futura mais intensa e efetiva.

O SI é fundamental para a sobrevivência do animal e, por isso, precisa atuar de forma eficiente. Existe uma grande quantidade de componentes e mecanismos distintos atuando no sistema imunológico. Alguns destes elementos são otimizados para defender contra um único invasor enquanto outros são direcionados contra uma grande variedade de agentes infecciosos.

Existe uma redundância considerável no sistema imunológico, de forma que vários mecanismos de defesa sejam ativados contra um único invasor. Sob o ponto de vista tanto biológico quanto de engenharia, a presença de mecanismos de aprendizagem e memória são características fundamentais do sistema imunológico. Ele possui a

capacidade de extrair informações dos agentes infecciosos e disponibilizá-las para uso futuro em casos de novas infecções pelos mesmos agentes ou agentes similares.

O SI representa a principal barreira do hospedeiro contra as infecções, e tem a capacidade de realizar uma resposta rápida e efetiva contra os patógenos invasores. Além disso, pode elaborar um outro tipo de resposta igualmente eficaz, porém mais lenta e duradoura. Estes dois tipos de respostas são efetuadas pelos sistemas imune inato e adaptativo, respectivamente.

Ambos os sistemas (inato e adaptativo) dependem da atividade das células brancas, ou leucócitos. A imunidade inata é mediada principalmente pelos macrófagos e granulócitos, enquanto a imunidade adaptativa é mediada pelos linfócitos, como ilustrado na Figura 2.1.



Figura 2.1 – Mecanismos de defesa e seus principais mediadores

Há duas classes principais de linfócitos: células B, que estão envolvidas na resposta humoral, e células T, que estão envolvidas na resposta mediada por células. Linfócitos, como todas as células do sangue, se originam de células tronco pluripotentes que se localizam na medula óssea. Inicialmente, todos os linfócitos são semelhantes mas eventualmente se diferenciam em células B e T. Linfócitos que atingem a maturidade na medula óssea se tornam células B e aqueles que atingem a maturidade no timo se tornam células T. Células B e T maduras se concentram nos nodos linfáticos, baço e outros órgãos linfáticos onde os linfócitos são mais prováveis de encontrar antígenos. Ambas as células B e T são equipadas com receptores de antígenos em suas membranas. Quando há uma ligação bem-sucedida com o antígeno os linfócitos começam a se dividir e diferenciar. Isto dá origem à células efetoras que são células que matam ou neutralizam antígenos.

Na resposta mediada por células, as células efectoras são as T *citotoxic* (Tc) que secretam perforinas, que são proteínas citolíticas existentes nos grânulos de células Tc e *natural killers* (NK) que formam poros na membrana da célula alvo, com o objetivo de destruir a membrana do antígeno, sendo importantes no combate às células infectadas e cancerígenas. As células T *helper* (Th) atuam como reguladoras da resposta humoral mediada pelas células B e da resposta celular que tem como uma das células mais importantes a célula Tc.

As células do SI inato estão imediatamente disponíveis para o combate contra uma ampla variedade de patógenos, sem exigir prévia exposição aos mesmos, e atuam do mesmo modo em todos os indivíduos normais. Os macrófagos e neutrófilos possuem a capacidade de ingerir e digerir vários microorganismos e partículas antigênicas. O macrófago também possui a habilidade de apresentar antígenos a outras células, sendo portanto denominado de célula *antigen presenting cell* (APC). Os granulócitos, ou leucócitos polimorfonucleares, constituem um grupo de células com núcleos multilobulados contendo grânulos citoplasmáticos preenchidos com elementos químicos (enzimas).

Os neutrófilos são os elementos celulares mais numerosos e importantes da resposta imune inata, e também têm a capacidade de ingerir patógenos. Os eosinófilos são importantes principalmente na defesa contra infecções por parasitas, e a função dos basófilos ainda não é bem conhecida.

Uma resposta imune específica, como a produção de anticorpos a um determinado agente infeccioso, é conhecida como uma resposta imune adaptativa. Os anticorpos são produzidos pelos linfócitos B (ou células B) em resposta a infecções, e sua presença em um indivíduo reflete as infecções às quais o mesmo já foi exposto. Os linfócitos são capazes de desenvolver uma memória imunológica, ou seja, reconhecer o mesmo estímulo antigênico caso ele entre novamente em contato com o organismo, evitando assim o restabelecimento da doença. Assim, a resposta imune adaptativa aperfeiçoa-se a cada encontro com um antígeno.

A grande maioria dos linfócitos encontra-se em estado inativo, e possuem atividade quando houver algum tipo de interação com um estímulo antigênico, necessário para a ativação e proliferação linfocitária. Existem dois tipos principais de linfócitos: linfócitos B (ou células B) e linfócitos T (ou células T), como ilustrado na Figura 2.1. As células B e T expressam, em suas superfícies, receptores de antígeno altamente

específicos para um dado determinante antigênico, ou seja, são receptores altamente específicos para uma característica específica da membrana de antígenos.

2.1 Mecanismos básicos de defesa do sistema imunológico

Nosso corpo é protegido por uma grande variedade de células e moléculas que operam em harmonia, sendo que o alvo principal de uma resposta imunológica é o antígeno (Ag). A Figura 2.2 apresenta um esquema simplificado dos principais mecanismos de reconhecimento e ativação do sistema imunológico.

Células APCs especializadas, como macrófagos, células B, T helper (Th), dendríticas, circulam pelo corpo ingerindo e digerindo os patógenos encontrados, fragmentando-os em peptídeos antigênicos(I). Partes destes peptídeos se ligam a moléculas do *Major Histocompatibility Complex* (MHC) e são apresentados na superfície celular (II) sob a forma de um complexo MHC/peptídeo. As células T possuem receptores de superfície que têm a função de reconhecer diferentes complexos MHC/peptídeo (III). Uma vez ativados pelo reconhecimento MHC/peptídeo, as células T se dividem e secretam linfocinas (sinais químicos) que mobilizam outros componentes do SI(IV). Diferente dos receptores das células T, entretanto, os receptores das células B são capazes de reconhecer partes livres solúveis dos antígenos, sem as moléculas do MHC (V). As células B, que também possuem moléculas receptoras de especificidade única em suas superfícies, respondem a estes sinais.

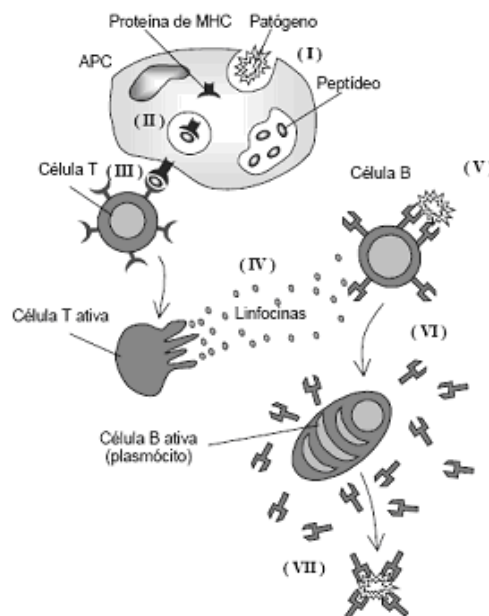


Figura 2.2 – Esquema simplificado dos mecanismos de reconhecimento e ativação do sistema imunológico.

Quando ativadas, as células B se dividem e se diferenciam em plasmócitos, secretando anticorpos em altas taxas, que são formas solúveis dos seus receptores (VI). A ligação dos anticorpos aos antígenos encontrados faz com que o patógeno seja neutralizado (VII), levando à sua destruição pelas enzimas do sistema complemento ou por fagócitos. Algumas células B e T se transformam em células de memória, as quais permanecem na circulação garantindo uma resposta rápida e eficaz contra uma futura exposição ao mesmo antígeno.

2.2 Anatomia do sistema imunológico

Os tecidos e órgãos que compõem o SI estão distribuídos por todo o nosso corpo. São conhecidos como órgãos linfáticos, uma vez que estão relacionados com a produção, crescimento e desenvolvimento dos linfócitos. Nos órgãos linfáticos, os linfócitos interagem com diversos tipos de células, seja durante seu processo de maturação, seja durante o início de uma resposta imune adaptativa. Os órgãos linfáticos podem ser divididos em primários (ou centrais), responsáveis pela produção e maturação de linfócitos, e secundários (ou periféricos) nos quais os linfócitos encontram os estímulos antigênicos, iniciando as respostas adaptativas.

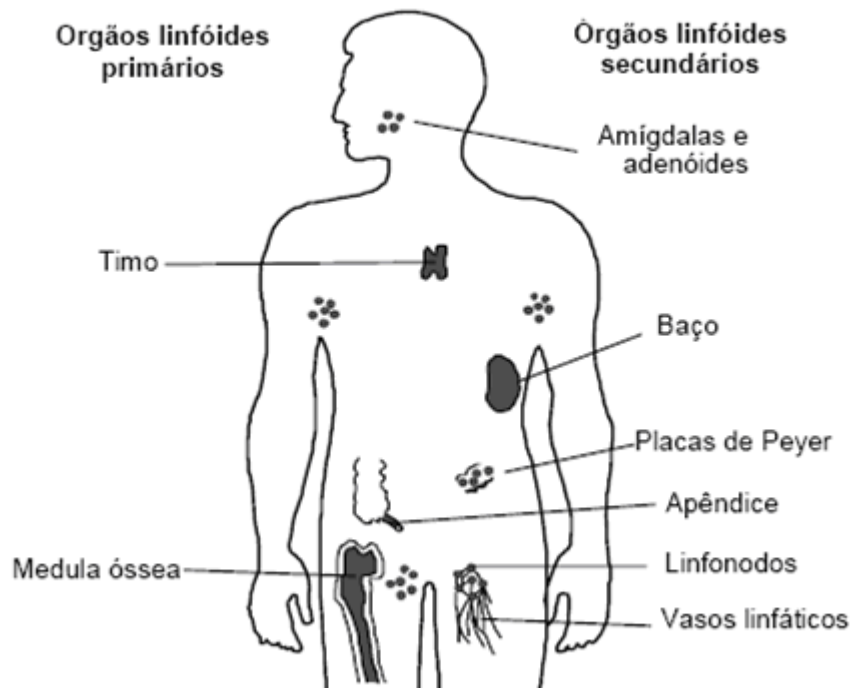


Figura 2.3 – Anatomia do sistema imunológico

Os órgãos linfáticos (Figura 2.3) e suas principais funções incluem:

1. Órgãos linfáticos primários:

- Medula óssea: é o local da hematopoese, ou seja, a geração dos elementos celulares do sangue, incluindo as hemácias, os monócitos, os leucócitos polimorfonucleares (granulócitos), os linfócitos B e as plaquetas. Nos mamíferos, a medula óssea é também o sítio de desenvolvimento das células B e a fonte de células-tronco que dão origem aos linfócitos T após a migração para o timo;
- Timo: órgão localizado na porção superior do tórax onde ocorre o desenvolvimento das células T. Algumas células migram para o timo a partir da medula óssea, e lá se multiplicam e amadurecem, transformando-se em células T.

2. Órgãos linfáticos secundários:

- Amígdalas e Adenóides: constituem grandes agregados de células linfóides organizadas como parte do SI associado a mucosas ou ao intestino;
- Linfonodos: atuam como regiões de convergência de um extenso sistema de vasos que coletam o fluido extracelular dos tecidos, fazendo-o retornar para o sangue. Este fluido celular é produzido continuamente por filtração do sangue e é denominado de linfa. É também o ambiente onde ocorre a resposta imune adaptativa;
- Apêndice e Placas de Peyer: linfonodos especializados contendo células imunológicas destinadas a proteção do sistema gastrointestinal;
- Baço: é o maior órgão linfóide secundário. É também o único órgão linfóide entreposto na corrente sangüínea constituindo-se, portanto, no local onde os linfócitos combatem os organismos que invadem a corrente sangüínea. Contém uma polpa vermelha responsável pela remoção de células sangüíneas envelhecidas, e uma polpa branca de células linfóides que responde aos antígenos levados ao baço pelo sangue;
- Vasos linfáticos: rede de canais que transporta a linfa para o sangue e órgãos linfáticos. Os vasos aferentes drenam o líquido dos tecidos e carregam as células portadoras dos antígenos dos locais de infecção para os órgãos linfáticos (linfonodos). Nos linfonodos, as células apresentam o antígeno aos linfócitos que estão recirculando, os quais elas ajudam a

ativar. Uma vez que estes linfócitos específicos passaram por um processo de proliferação e diferenciação, eles deixam os linfonodos como células eferentes através dos vasos linfáticos eferentes.

O SI possui uma arquitetura de múltiplas camadas, com mecanismos de regulação e defesa espalhados em vários níveis. As camadas de proteção podem ser divididas como a seguir:

- Barreiras físicas: a pele funciona como uma espécie de escudo protetor contra os invasores sejam estes maléficos ou não. O sistema respiratório também ajuda na manutenção dos antígenos distantes. Seus mecanismos de defesa incluem a apreensão de pequenas partículas nos pêlos e mucosas nasais e a remoção de elementos via tosse e espirros. A pele e as membranas que fazem parte do sistema respiratório e digestivo também contêm macrófagos e anticorpos;
- Barreiras bioquímicas: fluidos como a saliva, o suor e as lágrimas contêm enzimas como a lisozima. Os ácidos estomacais eliminam grande parte dos microorganismos ingeridos junto com a comida e a água. O pH e a temperatura corporais podem apresentar condições de vida desfavoráveis para alguns microorganismos invasores;
- SI inato: é a primeira linha de defesa contra muitos microorganismos comuns. Ele é formado por células fagocitárias, como os macrófagos e os neutrófilos (Figura 2.1), além de fatores solúveis como o complemento e algumas enzimas. As células do SI inato desempenham um papel crucial na iniciação e posterior direcionamento das respostas imunes adaptativas, principalmente devido ao fato de que as respostas adaptativas demoram um certo período de tempo (da ordem de dias) para exercer seus efeitos. Portanto, a resposta inata apresenta um papel muito importante no controle das infecções durante esse tempo;
- SI adaptativo: Devido à grande importância deste sistema, ele será discutido separadamente a seguir.

2.3 – Sistema imunológico adaptativo

Todos os organismos vivos são capazes de apresentar algum tipo de resistência a patógenos, mas a natureza desta resistência difere basicamente de acordo com o tipo de organismo. Tradicionalmente, a imunologia aborda, quase exclusivamente, as reações

de defesa dos vertebrados (animais contendo ossos) e, em particular, dos mamíferos exemplificados pelos camundongos e humanos. Os animais vertebrados desenvolveram um sistema de defesa com a característica principal de ser preventivo, ou seja, o SI dos vertebrados é capaz de se prevenir contra qualquer tipo de antígeno que pode ser encontrado (ou sintetizado).

Os linfócitos são as principais células do SI adaptativo, presentes apenas nos animais vertebrados, evoluíram para proporcionar meios de defesa mais versáteis e um maior nível de proteção face às novas infecções pelo mesmo agente, do que os apresentados pelo SI inato. Entretanto, as células do SI inato desempenham um papel crucial no desencadeamento e posterior regulação das respostas imunes adaptativas.

Cada linfócito virgem que penetra na corrente circulatória é portador de receptores de antígeno com uma única especificidade. A especificidade destes receptores, contudo, é determinada por um mecanismo de rearranjo gênico especial que atua durante o desenvolvimento linfocitário na medula óssea e no timo, a fim de gerar centenas de diferentes variantes dos genes codificadores das moléculas receptoras. Assim, embora um linfócito individual seja portador de um receptor de especificidade única, a especificidade de cada linfócito é diferente, e os milhões de linfócitos do organismo podem apresentar milhões de especificidades distintas. Os linfócitos sofrem, então, um processo parecido com a seleção natural durante a vida do indivíduo: somente aqueles que encontram um antígeno com o qual seu receptor pode interagir serão ativados para proliferar e se diferenciar em células efetoras. O mecanismo seletivo atualmente aceito foi proposto por McFarlane Burnet (1959) para explicar por que os anticorpos, que podem ser produzidos em resposta a virtualmente qualquer antígeno, são produzidos em cada indivíduo apenas contra aqueles antígenos aos quais ele foi exposto.

O autor postulou a existência, no hospedeiro, de muitas células potencialmente produtoras de anticorpos diferentes, cada uma tendo a capacidade de sintetizar um anticorpo de especificidade distinta e exibindo, em sua superfície, o mesmo tipo de anticorpo ligado à membrana e atuando como receptor de antígeno. Após a ligação do anticorpo de superfície ao antígeno, a célula é ativada para proliferar e produzir uma numerosa prole, conhecida como clone. Essas células secretam anticorpos com uma especificidade idêntica à do receptor de sua superfície. Este princípio recebeu o nome de teoria da seleção clonal, e constitui a parte central da imunidade adaptativa.

2.4 - Reconhecimento de padrões

Do ponto de vista de reconhecimento de padrões no sistema imunológico, a característica mais importante das células B e T é que ambas possuem moléculas receptoras (reconhecedoras) em suas superfícies capazes de reconhecer antígenos. Os receptores das células B e T reconhecem antígenos com características distintas. O receptor da célula B pode interagir com moléculas antigênicas livres em solução, enquanto o receptor das células T reconhece antígenos processados e ligados à uma molécula de superfície denominada de MHC.

O receptor de antígeno da célula B (BCR – receptor da célula B) é o anticorpo ligado à membrana, e que será secretado quando a célula for ativada. As principais funções da célula B, cujo nome provém do fato de que sua maturação ocorre na medula óssea, incluem a produção e secreção de anticorpos como resposta aos agentes patogênicos. Cada célula B produz um tipo específico de anticorpo, capaz de reconhecer e se ligar a uma determinada proteína. A secreção e ligação de anticorpos a antígenos constituem formas de sinalizar outras células para que estas façam a ingestão, processamento e/ou remoção da substância ligada.

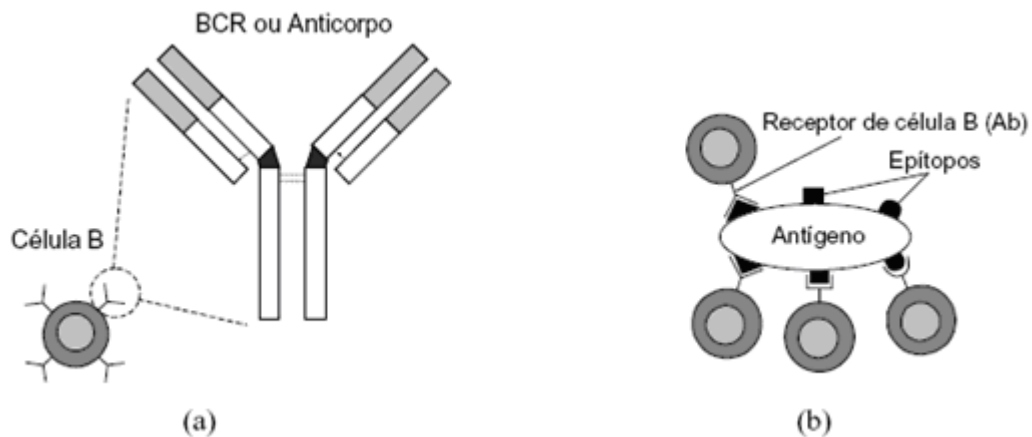


Figura 2-4 – (a) Célula B com destaque para a molécula de anticorpo.

(b) Epítipo é a região do antígeno reconhecida por um anticorpo

O reconhecimento imunológico ocorre em nível molecular e é baseado na complementaridade entre a região de ligação do receptor e uma porção do antígeno chamada epítipo. Enquanto os anticorpos possuem um único tipo de receptor, os antígenos podem possuir múltiplos epítopos, significando que um único antígeno pode ser reconhecido por diferentes moléculas de anticorpo, como ilustrado na Figura 2.4(b).

A célula T é assim chamada devido ao fato de que sua maturação ocorre no timo. Suas funções incluem a regulação das ações de outras células e o ataque direto às células infectadas do organismo hospedeiro. Os linfócitos T podem ser divididos em dois grandes subgrupos: células T auxiliares (TH – T ajudante) e células T citotóxicas (TK – T citotóxica). O receptor de antígeno da célula T (TCR – receptor da célula T) possui algumas diferenças estruturais em relação aos receptores das células B. Enquanto o BCR é capaz de reconhecer antígenos livres, o TCR reconhece apenas antígenos processados (fragmentados sob a forma de peptídeos) e ligados ao MHC.

2.5 A molécula de anticorpo e a diversidade imunológica

O anticorpo, ou imunoglobulina, é uma glicoproteína composta por quatro cadeias polipeptídicas: duas cadeias leves (L) idênticas e duas cadeias pesadas (H) também idênticas como ilustrado na Figura 2.5. Extensivas análises de cadeias polipeptídicas das moléculas de imunoglobulina revelaram que elas são compostas por uma região altamente variável (*região variável*) e uma região (*região constante*) com poucos tipos distintos. A região variável, ou região-V, é responsável pelo reconhecimento antigênico. Estas sub-regiões são usualmente chamadas de *regiões determinadas por complementaridade* (CDR – *complementarity-determining regions*). A região constante, ou região-C, é responsável por uma variedade de funções efetoras, como fixação do complemento e ligação a outros receptores celulares do SI.

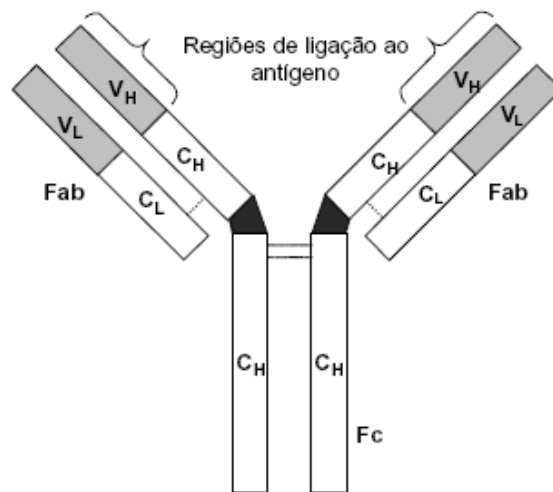


Figura 2.5 – Molécula imunoglobulina

A molécula é simétrica possuindo dois sítios idênticos de ligação ao antígeno (Fab) e um sítio (Fc) que se liga aos receptores em células efetoras, ou interagem com as

proteínas do complemento. Os subíndices L e H referem-se as cadeias leves e pesadas, respectivamente.

2.6. Princípio da seleção clonal

Uma vez que cada célula apresenta um padrão (forma) distinto de receptor antigênico, o número de linfócitos que pode se ligar a um determinado antígeno é restrito. A fim de produzir células efetoras específicas em quantidade suficiente para combater uma infecção, um linfócito ativado deve se proliferar antes que sua prole se diferencie em células efetoras.

O *princípio* (ou *teoria*) da *seleção* (ou *expansão*) *clonal* está associado às características básicas de uma resposta imune adaptativa a um estímulo antigênico. Ele estabelece que apenas aquela célula capaz de reconhecer um determinado estímulo antigênico irá se proliferar, sendo, portanto, selecionada em detrimento das outras.

Quando um animal é exposto a um antígeno, uma subpopulação de linfócitos (células B) responde através da produção de anticorpos. Cada célula secreta um único tipo de anticorpo, que é relativamente específico para o antígeno. Através da ligação do antígeno com o receptor da célula B e, dado um *segundo sinal* (ou *sinal co-estimulatório*) de células TH, um antígeno estimula a célula B a se proliferar (dividir) e transformar-se em uma célula terminal capaz de secretar anticorpos em altas taxas. Estas células são chamadas de *plasmócitos*.

As células B, além de se proliferar e diferenciar em plasmócitos, também podem se diferenciar em células B de memória, caracterizadas por longos períodos de vida. As células de memória circulam pelo sangue, vasos linfáticos e tecidos, provavelmente não produzem anticorpos, mas quando re-expostas ao mesmo estímulo antigênico começam a se diferenciar em plasmócitos capazes de produzir anticorpos pré-selecionados pelo antígeno específico que estimulou a *resposta primária*. Além disso, linfócitos em desenvolvimento e que se apresentam como potencialmente auto-reativos são removidos do repertório antes de seu amadurecimento. A Figura 2.6 ilustra o princípio da seleção clonal. A seleção clonal ocorre tanto no caso dos linfócitos B quanto no caso das células T. As células T não secretam anticorpos, mas são muito importantes na *regulação* da resposta das células B, sendo preeminentes nas respostas imunes mediadas por células (Figura 2.2).

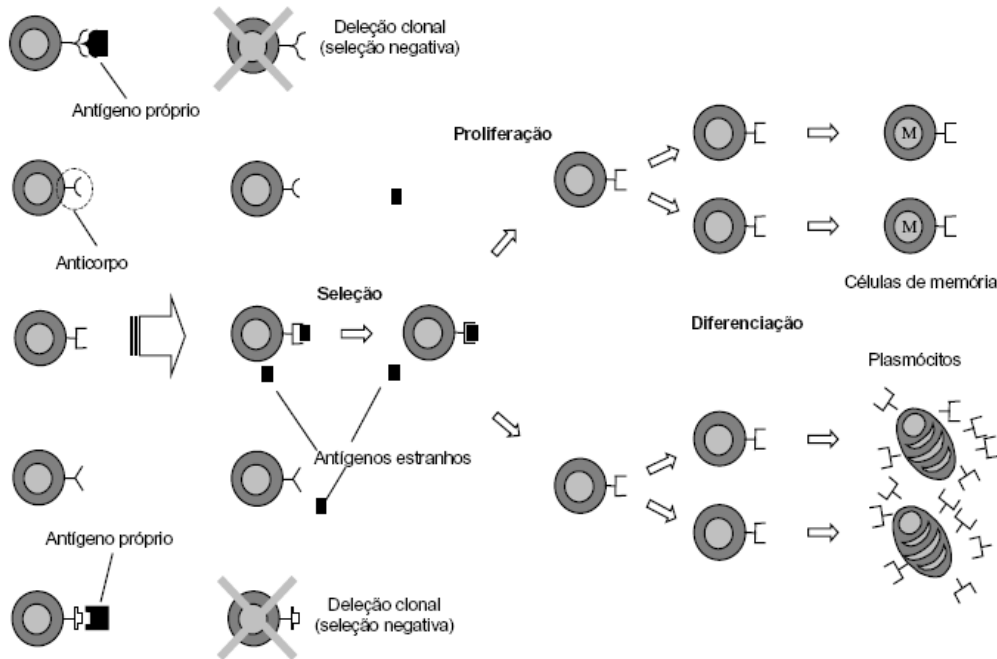


Figura 2.6 - Esquema do princípio da seleção clonal.

Os formatos distintos dos receptores celulares (anticorpos) correspondem a representações pictóricas distintas. Durante o processo de geração do repertório linfocitário, algumas células são portadoras de receptores que se ligam a antígenos próprios sendo, portanto, eliminadas precocemente no desenvolvimento, antes que sejam capazes de responder, assegurando uma tolerância aos antígenos próprios. Quando o antígeno interage como receptor num linfócito maduro, tal célula é ativada e começa a se dividir. Origina-se um clone de progênie idêntica, que irá se diferenciar em células efetoras (plasmócitos) e de memória.

2.7 Aprendizagem por reforço e memória imunológica

Para que o SI seja capaz de proteger nosso organismo, o reconhecimento antigênico não é suficiente: também é preciso que haja recursos suficientes para montar uma resposta imunológica efetiva contra os agentes patogênicos. Como em situações predador-presas típicas, o tamanho da subpopulação de linfócitos, ou seja, o *tamanho do clone* específico para o antígeno, em relação ao tamanho da população de antígenos, é crucial na determinação do resultado da infecção. A *aprendizagem imunológica* envolve o aumento do tamanho da população e afinidade Ag-Ab (antígeno-anticorpo) de linfócitos que reconheceram determinado antígeno. Como o número total de linfócitos do sistema imunológico é regulado, um aumento no tamanho de alguns clones específicos resulta na

redução do tamanho de outros clones. Entretanto, o número total de linfócitos não permanece absolutamente constante. Se o SI aprendesse apenas pelo crescimento populacional de alguns clones específicos, ele deveria esquecer alguns antígenos aprendidos previamente, aumentar o tamanho global do sistema ou constantemente reduzir a quantidade de células geradas aleatoriamente e responsáveis pela introdução e manutenção da diversidade populacional

Durante a evolução do sistema imunológico, um organismo encontra um dado antígeno repetidas vezes. Uma resposta imune adaptativa à exposição inicial de um dado antígeno é composta por um conjunto pequeno de clones de células B, cada um produzindo anticorpos de diferentes especificidades (*afinidades*). A eficiência da resposta adaptativa a encontros secundários poderia ser consideravelmente aumentada através do armazenamento de células produtoras de anticorpos com alta afinidade àquele antígeno, denominadas de células de memória, de forma que se tenha um grande clone inicial nos encontros subsequentes. Ao invés de “partir do começo” toda vez que um dado estímulo antigênico é apresentado, essa estratégia garante que a velocidade e eficácia da resposta imunológica se aperfeiçoe após cada infecção.

Além da teoria da seleção clonal, a teoria da rede idiotípica (ou teoria da rede imunológica), a ser discutida na Seção 2.8, apresenta uma abordagem conceitualmente diferente para explicar fenômenos como aprendizagem e memória imunológica.

2.8 Teoria da rede imunológica

Ao invés de explicar os processos de sinalização celular e a interação de anticorpos, células e seus mecanismos efetores, a teoria de rede inicialmente proposta por Jerne (1974) apresentava um novo ponto de vista sobre a atividade linfocitária, a produção de anticorpos, a seleção do repertório pré-imune, a distinção próprio/não-próprio e a tolerância imunológica, a memória e a evolução do SI.

Foi sugerido que o SI é composto por uma rede regulada de células e moléculas que se reconhecem mesmo na ausência de antígenos. Este ponto de vista estava em conflito com a teoria da seleção clonal (Seção 2.6) já existente naquela época, que assumia que o SI era composto por um conjunto discreto de clones celulares originalmente em repouso, sendo que a atividade apenas existiria quando um estímulo externo se apresentasse ao organismo

Na nova proposta da rede imunológica, o termo região de ligação do anticorpo (região-V) foi mudado para *paratopo*, e determinante antigênico substituído por *epítopo*.

Os epítomos e os paratopos são considerados então como as duas características essenciais para o reconhecimento imunológico.

De acordo com Jerne:

“O SI é constituído por uma rede enorme e complexa de paratopos que reconhecem conjuntos de idiotopos, e de idiotopos que são reconhecidos por conjuntos de paratopos, assim, cada elemento pode reconhecer e ser reconhecido”

2.9 O sistema imunológico e a AIDS

A AIDS é causada pelo vírus HIV (há dois tipos HIV-1 e HIV-2, sendo o primeiro muito mais comum). Algumas características que fazem o HIV ser bastante efetivo contra o ser humano:

- sua alta taxa de replicação.
- sua alta taxa de mutação.
- habilidade para se ligar às células Th.

Isto significa que o HIV infecta o componente do SI que é responsável pela ativação de ambas as respostas humoral e mediada por células. Com o SI comprometido as doenças oportunistas aparecem.

Não há ainda nenhuma vacina ou profilaxia que pode garantir imunidade ao HIV.

Uma das razões é que o processo fundamental de redução das células T CD4⁺ (T ajudante) não é completamente entendido. A redução é provável de ser causada por uma combinação de destruição de células T CD4⁺ maduras e algum prejuízo na produção de novas células T.

Estudos biológicos (*in vivo* e *in vitro*) identificaram mecanismos específicos como destruição acelerada de células Th maduras, ativação crônica levando à apoptose ou anergia, produção prejudicada de novas células T, danos aos órgãos linfáticos onde essas células chegam à maturidade. Até o presente momento a contribuição relativa de cada um desses mecanismos para a depleção das células T não está clara.

Evidências experimentais COHEN(?) suportam que os nodos linfáticos são os maiores reservatórios de HIV *in vivo*. Um panorama da distribuição de células entre diferentes compartimentos do SI irá mostrar uma pequena fração (2% a 4%) das células do HIV circulando no sangue e linfa. Paradoxicamente o processo de mobilização e ativação de células do SI contra o vírus que ocorre no micro-ambiente dos nodos linfáticos, no caso do HIV, fornece um ambiente que contribui para a proliferação do vírus.

Uma típica evolução da infecção é a seguinte:

i) o primeiro contato com o vírus induz uma resposta primária muito semelhante com outras infecções, que dura não mais do que 2 meses.

ii) esta fase aguda é seguida por uma fase crônica, um longo período de latência (2 a 8 anos) durante na qual o HIV fica “escapando” do SI. Rajadas de vírus livres são contra-atacadas por respostas humoral e citotóxica.

iii) quando a contagem de células T CD4⁺ cai abaixo de 20% do valor normal, há o estabelecimento de uma alta imunodeficiência. Neste momento o SI fica incapaz de defender contra doenças oportunistas e o paciente morre dentro de 2 a 3 anos.

Um gráfico (figura 2.7) desta evolução é mostrado abaixo:

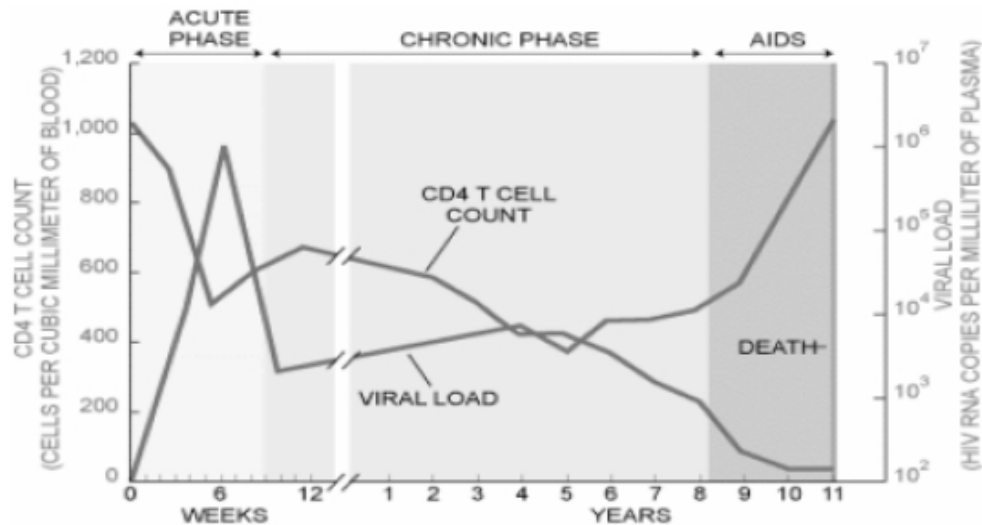


Figura 2.7 – Gráfico da evolução típica da infecção por HIV

O prospecto a médio prazo para uma vacina é pobre devido a erros que ocorrem durante a transcrição do HIV. Portanto, para o futuro imediato, muitos cientistas estão concentrando em melhorar as terapias existentes.

Atualmente, há 15 drogas licenciadas para tratamento de indivíduos infectados com HIV. Estas drogas pertencem a duas classes, uma que inibe a enzima viral *transcriptase* reversa e outra que inibe a *protease* viral. Estas drogas são usadas em combinação para maximizar a inibição à replicação viral e diminuir a concentração de RNA do HIV para níveis abaixo dos detectáveis (atualmente definido como abaixo de 50 cópias por ml) no sangue.

Em uma classe os análogos do nucleosídeo relembram as substâncias naturais que se tornam parte dos blocos básicos do DNA do HIV; e quando a transcriptase reversa tenta adicionar a droga à cadeia de DNA do HIV que está sendo formada, a droga evita

que a cadeia se complete. O outro agente nessa classe, inibidores da transcriptase reversa não nucleosídeos, composto de outros tipos de substâncias, constitui a segunda classe de anti-retrovirais. A outra classe, os inibidores de protease, bloqueiam o local ativo e catalítico da HIV protease, portanto prevenindo esta de partir as novas proteínas do HIV.

A terapia do HIV é classificada em 3 classes: mono-terapia, terapia combinada e terapia tripla. Mono-terapia (baseada em inibidor da transcriptase reversa) ou terapia combinada (inibidores de transcriptase e protease) impedem a multiplicação viral. Por causa do bloqueio incompleto do caminho de replicação e ocasionalmente criação de uma linhagem de vírus mais resistente, a contagem de células Th irá retornar para o valor do pré-tratamento dentro de muitas semanas.

O problema da resistência à droga no tratamento tem se tornado uma barreira significativa na efetividade dos tratamentos para AIDS. Atualmente, não há nenhuma classe de droga que pode prevenir completamente o HIV de se replicar. Tratamento com combinações de drogas só é bem-sucedido em inibir a replicação viral para níveis indetectáveis em 50% dos casos. Nos 50% restantes vírus podem ser detectados com uma sensibilidade reduzida a uma ou mais drogas do regime do paciente. Teoria e experimentos clínicos indicam que o melhor caminho para atingir máxima supressão viral é através de terapia retroviral altamente ativa (highly active anti-retroviral therapy, HAART), que consiste de terapia tripla incluindo dois análogos do nucleosídeo e um inibidor de protease.

2.10 – O sistema imunológico e o câncer

Um tumor começa a se formar quando uma única célula sofre mutação de tal forma que conduz a crescimento incontrolado [32]. Muitos diferentes fatores podem causar tais mutações, incluindo excesso de luz do sol incidindo sobre a pele, carcinógenos como nicotina, e até mesmo vírus como o vírus papiloma humano. Enquanto que um grande número de pessoas são expostas a tais fatores todo o dia, poucas desenvolvem tumores. Uma possível razão para isto é que as mutações são cumulativas. Muitas mutações pequenas, complexas podem ser necessárias antes de uma célula normal se tornar uma célula cancerígena. Outra razão é que sistemas imunes saudáveis podem matar muitas dessas células de tumor iniciais antes delas terem uma chance de se dividir ou espalhar.

Tumores podem ser vascular ou avascular, isto é, ligados a um vaso sanguíneo ou não. Geralmente um tumor começará avascular, suprindo nutrientes que difundem de vasos sanguíneos que estão perto. Tumores avasculares, com pouco acesso ao sistema circulatório, são menos prováveis de metástase. Em adição aos seus rápidos crescimentos, células do tumor enviam um sinal químico encorajando o vaso sanguíneo a crescer. Este processo, chamado angiogênese, permite os tumores terem mais acesso a nutrientes.

A segunda fase do crescimento do tumor ocorre quando os vasos sanguíneos são incorporados na massa do tumor. O tumor tem agora uma constante fonte de nutrientes, assim como uma forma de entrar na corrente sanguínea e criar mais metástases. Próximo a fonte de infecção, as células que revestem o vaso sanguíneo terão mudado de tal forma a atrair células Tc. As células imunes então são empurradas para fora da corrente sanguínea entrando no tecido em volta. Lá o processo é menos compreendido. Um possível mecanismo é um gradiente químico no qual células Tc viajam em sua direção para chegar às células anormais.

2.10.1 – Drogas quimioterápicas

Drogas quimioterápicas podem ser divididas em dois tipos, específicas ao ciclo da célula e não específicas ao ciclo da célula. Drogas específicas só podem matar células em certas fases do ciclo destas, enquanto não específicas podem matar em qualquer fase.

A distinção entre drogas quimioterápicas específicas e não específicas é importante na hora de analisar como uma população de tumores responde às drogas. A resposta de uma população para doses variadas da droga é usualmente encontrada no contexto de uma curva dose-resposta, onde dose é plotada contra a fração de células mortas. Se a droga é não específica sua curva dose-resposta é tipicamente linear. Drogas que são específicas só podem matar células que estão no processo de divisão. Porém, nem todas as células de um tumor típico estarão se dividindo ao mesmo tempo. Isto significa que em algum ponto, todas as células que podem ser mortas pela droga serão mortas, mas algumas irão permanecer. Uma curva de dose-resposta linear talvez sugira que o melhor tratamento para o câncer é simplesmente dar para o paciente muita droga para que todas as células do tumor morram. Isto infelizmente não funciona na prática. Há duas maiores complicações para essa medida. Primeira, quimioterapia mata células no processo de divisão incluindo células normais. Embora células cancerígenas se dividam

mais rapidamente, células que crescem rápido como as da medula óssea, cabelo e revestimento do estômago são também mortas pela quimioterapia.

2.10.2 – Estímulos contra o câncer

Há várias formas na qual o SI pode ser estimulado, incluindo vacino terapia (1), injeções de fator de crescimento IL-2 (2) (com o objetivo de aumentar a produção de células do SI), ou a injeção direta de células específicas do SI altamente ativas, como Tc, na corrente sanguínea (3).

1) Vacinas contra os tumores têm emergido como uma importante forma de imunoterapia. Há diferenças fundamentais entre o uso e efeitos da vacina antiviral e vacinas contra o câncer. Enquanto muitas vacinas para doenças infecciosas são preventivas, vacinas contra o câncer tratam a doença depois que ela já começou, e impedem a doença de ocorrer periodicamente. Há outra diferença significativa: quando um paciente recebe uma vacina antiviral, contra sarampo, por exemplo, os níveis de anticorpos permanecem elevados por anos. Já em pacientes com câncer os níveis de anticorpos permanecem altos por meses, ou até mesmo semanas. O propósito das vacinas contra o câncer é alertar o corpo da existência do tumor. A vacina aumenta a efetividade do corpo na ação de matar células do tumor, assim como estimular a produção e/ou ativação de células do SI específicas para o câncer.

2) O fator de crescimento IL-2 é um fator de crescimento naturalmente secretado por células Th, causando proliferação de células Tc. A idéia principal por trás de usar IL-2 na imunoterapia é impulsionar o número de células T citotóxicas. IL-2 tem habilidade de ativar e induzir produção de células T *in culture*. Este tipo de terapia é também efetiva *in vivo* como mostrado em experimentos clínicos com humanos e ratos no início dos anos 80.

3) A idéia de injetar células do SI diretamente é cultivar fora do corpo um grande número de células Tc ativadas por células de um tumor, e depois injetá-las na corrente sanguínea. Este crescimento artificial na força da resposta imune pode dar ao paciente a ajuda necessária para erradicar o câncer. A capacidade de sobrevivência de células Tc ativadas depende da resistência à morte e resposta à citocinas, como IL-2. As células precisam de um estímulo forte para permanecerem vivas e ativas uma vez que estiverem no corpo. Muitos experimentos clínicos usam uma combinação de quimioterapia e imunoterapia em pacientes com câncer, incluindo transferência de células T e altas doses de IL-2.

Capítulo 3

Modelagem do Sistema imunológico humano

A modelagem do SI pode ser considerada parte de uma ampla disciplina, sistema imunológico artificial (SIA). Apesar de um SIA, no geral, não ter como objetivo reproduzir o SI, este sistema e suas poderosas capacidades de processamento de informação (como extração de característica, reconhecimento de padrões, memória e aprendizado) são usados como inspiração para desenvolver métodos e ferramentas computacionais para resolver problemas de engenharia e ciência. Segurança de computadores, detecção de fraudes, aprendizado de máquina, análise de dados e algoritmos de otimização são alguns exemplos de aplicação do SIA. SIA pode ser visto como um ramo da inteligência computacional onde as propriedades computacionais do SI são investigadas.

A grande complexidade do comportamento do SI é devido ao grande número de diferentes tipos de células, moléculas que podem interagir umas com as outras de várias formas. Derivar o comportamento do sistema das interações entre seus principais constituintes é um dos objetivos da imunologia teórica. Abstraindo detalhes específicos das interações entre as entidades do SI pode ser fornecido um sistema de equações diferenciais descrevendo como a evolução no tempo da concentração de uma entidade depende das outras entidades.

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, 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. Modelos com granularidade mais grossa são mais interessantes, porque o comportamento de alto nível emerge da suposição de hipóteses de baixo nível. Isto ajuda cientistas a reduzir o “buraco” no conhecimento entre descrições microscópicas e comportamentos macroscópicos. No entanto, um modelo que leva em consideração um nível muito baixo, talvez não seja viável devido a “buracos” no conhecimento do fenômeno de baixo nível, dados incompletos ou inconsistentes, complexidade crescente e fortes requisitos computacionais.

Assim, o grande desafio ao desenvolver um modelo é achar um balanço entre escala, granularidade e viabilidade computacional. Características incluídas no modelo podem não ser teoricamente e experimentalmente relevantes, mas relevantes para o

sistema em questão. “Buracos” no conhecimento, dados incompletos e características excluídas do sistema implica que os modelos são incompletos, sempre abstratos até certo ponto. Sistemas biológicos podem também trabalhar sem várias partes. Eles são robustos, tendo características redundantes e componentes com funções que se sobrepõem. 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.

Nas próximas seções serão explicadas 3 abordagens relevantes na modelagem de sistemas biológicos, e depois serão mostrados alguns modelos do SI.

3.1 Equações diferenciais:

Física e Química têm progredido nas asas do cálculo inventado por Newton e Leibniz.

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 por elas estarem amontoadas em características de interesse médias. 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. Equações diferenciais têm revelado seu poder na física e química, e também a biologia têm visto adequado o uso da linguagem de equações diferenciais para tentar entender as complexidades dos sistemas vivos.

Modelos de EDO são freqüentemente usados como ponto de partida para descrever sistemas do tipo hospedeiro-patógeno. Uma das vantagens de usar EDO é que muito é conhecido sobre seu comportamento. Modelos EDO são simples e elegantes e requerem menos parâmetros do que sua contraparte espacial (exemplos, modelos baseados em agentes ou equações diferenciais parciais, EDP). Esta é uma importante consideração quando dados experimentais são obtidos de um compartimento bem “misturado”, como sangue, ou de alguma parte homogeneizada de um tecido, onde a informação espacial está em falta. Quando suficientemente simples, a EDO tem o benefício adicional de ser tratada analiticamente e técnicas como teoria da bifurcação podem ser usadas para predizer, por exemplo, valores dos parâmetros que trocam o sistema de estados. 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 EDP que capturam mudanças no tempo e espaço, mas, em geral, como estas equações são mais complicadas, e conseqüentemente mais desafiadoras computacionalmente, as vantagens de usar EDP diminuem. Em ambos os modelos EDO e EDP é preciso considerar que as soluções para estas equações só fornecem uma descrição média do comportamento do sistema com pouca ou nenhuma informação sobre as possíveis variações deste comportamento agregado.

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 são úteis para a imunologia experimental, e o mérito desses modelos depende das questões específicas para os quais eles foram projetados para responder. Quanto mais suposições são postas no modelo mais difícil é ser confiante sobre as conclusões. 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.

3.1.1 Modelando o sistema imunológico com equações diferenciais

Uma questão central em imunologia é a regulação da resposta imune. O que determina quais clones estão envolvidos, o quanto os clones crescem, e como a resposta é desligada uma vez que o antígeno é eliminado?

A idéia, baseada na seleção clonal, é que subconjuntos particulares de células B e T são selecionados para crescimento e diferenciação por antígenos, e são desligados quando a concentração de antígeno cai abaixo de algum limite.

Com uma realimentação (feedback) dos anticorpos e ajuda específica do antígeno, células T podem regular a magnitude da resposta.

Bell [20] desenvolveu o primeiro modelo da seleção clonal. Era muito completo para seu tempo, e incluía a dinâmica do antígeno se ligando aos receptores da célula B e os vários estágios da diferenciação da célula B.

No modelo, baseado no esquema mostrado na figura 3.1, um conjunto de pequenas células B em estado de descanso ou virgens estão presentes antes da introdução do antígeno.

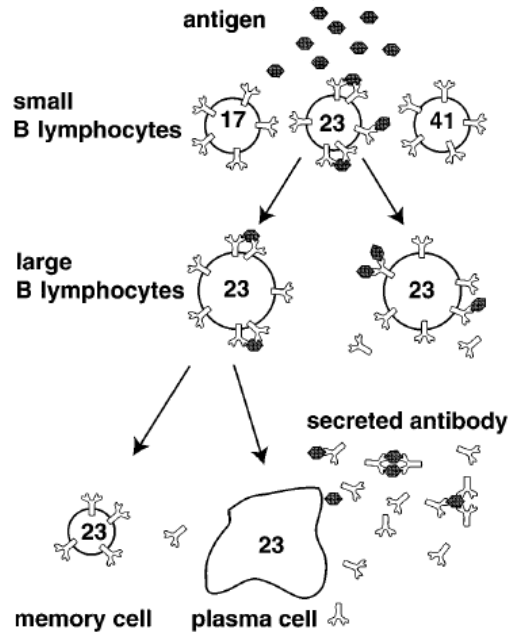


Figura 3.1 – Esquema da diferenciação de linfócitos B

O modelo assume que na presença de antígeno suficiente as células que estão proliferando continuam a multiplicar e produzir anticorpos, que podem se ligar aos antígenos e acelerar sua eliminação. Quando a concentração de antígeno cai para um nível baixo é assumido que as células param de proliferar e começam a se dividir assimetricamente para se tornarem plasmócitos ou de memória. Plasmócitos são células terminalmente diferenciadas que produzem grandes quantidades de anticorpo, mas são incapazes de se dividir. Células de memória são similares às células virgens, pois não produzem anticorpos e são capazes de serem estimuladas por antígenos. Elas podem ser mais facilmente estimuladas do que células virgens, mas isto foi ignorado no modelo.

O sistema de equações diferenciais proposto por Bell está representando na figura 3.2.

$$\begin{aligned}\frac{dS}{dt} &= m(t) - F(R')S/T_1, \\ \frac{dL}{dt} &= G(R')S/T_1 + H(R')L/T_2 - L/T_2', \\ \frac{dP}{dt} &= \left(\frac{1-H(R')}{2}\right)L/T_2 - P/T_3, \\ \frac{dM}{dt} &= \left(\frac{1-H(R')}{2}\right)L/T_2 - M/T_4,\end{aligned}$$

Figura 3.2 – Modelo de Bell

Onde S , L , P e M são o número por unidade de volume de linfócitos pequenos (virgens), grandes linfócitos que se proliferam, plasmócitos, e células de memória, respectivamente.

Pequenos linfócitos são criados na medula óssea e, portanto tem uma fonte, $m(t)$. Os parâmetros são T_1 , que é o tempo médio para uma célula virgem estimulada otimamente se torne um linfócito grande que se prolifera; T_2 , o tempo médio para uma célula que está se proliferando se dividir; T_2' o tempo médio para a morte de uma célula que está se proliferando; T_3 , o tempo médio para a morte de um plasmócito; T_4 o tempo médio para a morte de uma célula de memória. O modelo também inclui um número de funções de R' , que é o número médio de receptores ocupados por célula. F e G são funções que controlam o estímulo de pequenos linfócitos. A idéia é que assim que locais do receptor se ligam, um pequeno linfócito tem uma chance maior de se tornar ativado. Assim F é escolhida para ser uma função de crescimento monótona de R' . Bell usou $F(R')=R'/(1 + R')$. A função G é igual à F , sendo multiplicada pela fração de células virgens induzidas a se proliferar. Bell assumiu que quando uma grande fração dos receptores de uma célula estava ocupada a célula tendia a morrer mais do que se proliferar. Isto foi modelado escolhendo $G(R')=(1 - r')F(R')$, onde r' é a fração dos receptores ocupados, isto é, $r' = R'/R_t$, onde R_t é o número total de receptores por célula.

Bell assumiu que a fração de grande linfócitos que continuam a se proliferar seguindo a divisão é $[1 + H(R')]/2$; a fração que se torna plasmócito ou célula de memória é $[1 - H(R')]/2$. Assim, quando uma célula que está se proliferando se divide, resulta em média em $1 + H(R')$ células proliferantes. Bell escolheu $H=(R' - 1)/(R' + 1)$ para que quando muitos locais fossem ocupados H fica próximo de 1 e com isso a maioria das divisões conduzem à células proliferantes e se poucos locais forem ocupados (R' muito

menor do que 1) H se aproxima de -1 e assim a maioria das divisões conduzem à plasmócitos ou células de memória.

Com o objetivo de computar R' , Bell também modelou a produção de anticorpos por grandes linfócitos e plasmócitos e também modelou a perda de anticorpos por decaimento natural e por ligação com antígenos. Uma equação diferencial foi incluída para a quantidade total de antígeno no sistema e as equações de equilíbrio químico escritas para as frações de antígeno ligadas às células e aos anticorpos.

Uma versão mais elaborada do modelo foi depois formulada contendo um grande número de clones diferentes, cada clone caracterizado por ter um receptor com afinidade diferente para um antígeno e secreta anticorpos com aquela afinidade. A 1ª equação acima também foi modificada para adicionar um termo correspondente a uma fração de células de memória que voltam a ser pequenos linfócitos para que posteriormente possam ser ativadas novamente. Este modelo exibiu um fenômeno chamado maturação da resposta imune, no qual a afinidade média dos anticorpos cresceu com o tempo. Isto foi devido ao fato de que células com maior afinidade iriam se proliferar mais e iriam preferencialmente se ligar ao antígeno quando este estivesse em concentração reduzida. Assim para células com baixa afinidade R' seria pequeno e, portanto haveria pouca estimulação e proliferação, enquanto para que células com alta afinidade R' seria grande e a proliferação iria expandir a quantidade de células com alta afinidade.

Perelson, Mirmirani e Oster em 1976 [20] examinaram com mais detalhes as escolhas que uma célula B estimulada tinha em termos de ou se proliferar ou secretar anticorpos ou desistir da habilidade de dividir e decidir se diferenciar em um plasmócito que rapidamente secreta anticorpos, mas cujo o tempo de vida é curto. Desenvolveram um modelo baseado no trabalho de Bell, mas incluíram somente três populações:

$$\begin{aligned}\frac{dL}{dt} &= pu(t)L - d[1 - u(t)]L - \mu_L L, \\ \frac{dP}{dt} &= d[1 - u(t)]L - \mu_P P, \\ \frac{dA}{dt} &= k(L + \gamma P),\end{aligned}$$

Figura 3.3 – Modelo de Perelson, Mirmirani e Oster para a dinâmica das células B

Onde p é a taxa de proliferação média de grandes linfócitos e d é a taxa de diferenciação média em plasmócitos.

Foi assumido que em um dado tempo uma fração $u(t)$ de linfócitos proliferavam e o restante $(1 - u(t))$ se diferenciavam em plasmócitos. Linfócitos e plasmócitos tinham taxas de morte μ_L e μ_P , respectivamente, onde plasmócitos secretavam anticorpos a uma taxa γ vezes maior do que linfócitos. Questionavam como $u(t)$ deveria ser escolhido com o objetivo de minimizar o tempo necessário para secretar uma quantidade de anticorpos A^* requerida para neutralizar uma dada dose de antígeno. Então o problema de controle era:

$$\min \int_0^T dt$$

Figura 3.4 – Integral do problema de controle

Onde a integração era realizada sobre todas as funções u e o tempo final T era definido por $A(T) = A^*$.

Usando o princípio máximo de Pontryagin, eles descobriram que havia um número de possíveis estratégias para $u^*(t)$ para obter uma resposta primária ótima.

Perelson, Mirmirani e Oster em 1978 [20] estenderam o modelo de controle para que eles pudessem considerar as possíveis conseqüências de repetidas exposições ao mesmo antígeno. Para este caso eles permitiram que células de memória ao serem estimuladas em um subseqüente encontro com o antígeno se diferenciavam em grandes linfócitos. Assim em um segundo encontro com o antígeno o número inicial de grandes linfócitos era a soma de células virgens estimuladas mais o número de células de memória que foram criadas no final da resposta primária que sobreviveram até o segundo encontro com o antígeno. Com o objetivo de gerarem células de memória eles tinham que modificar o critério de otimização para que incluísse o tempo para completar ambas as respostas (primária e secundária). Já que células de memória não contribuía para a resposta primária, mas somente para as condições iniciais da resposta secundária, eles descobriram não surpreendentemente que a estratégia ótima era criar células de memória no final da resposta primária.

3.1.2 Modelando a dinâmica do HIV com equações diferenciais

As idéias básicas que dirigem a análise da dinâmica da infecção do HIV, e que conduzem ao desenvolvimento do campo chamado dinâmica viral, são simples. Primeiro, em pacientes com doença viral crônica, o nível de vírus freqüentemente chega a um nível constante, e depois permanece aproximadamente naquele nível por anos. Para manter este nível constante o corpo deve produzir e limpar vírus a mesma taxa. Se este não

fosse o caso, e por exemplo, mais vírus fosse produzido a cada dia, então a quantidade de vírus iria lentamente crescer. Matematicamente, se P é a taxa total de produção de vírus e c é a taxa de limpeza por vírion, então para manter um nível constante, P deve ser igual à cV , onde V é a carga de vírus. Uma forma de ganhar sobre as taxas de produção e limpeza de vírus é perturbar o sistema. Por exemplo, se a produção é totalmente bloqueada, a quantidade de vírus irá declinar dependendo não só da taxa de limpeza, mas também da taxa de morte das células infectadas produtoras de vírus e da eficácia da droga sendo usada para bloquear a produção viral. Além disso, modelar a dinâmica do decaimento viral com modelos matemáticos pode elucidar os parâmetros da dinâmica que governem a infecção viral, morte da célula, e alguns casos a eficácia da terapia antiviral.

Um modelo [21] que tem sido usado para estudar HIV, HCV (vírus da hepatite C) e HBV (vírus da hepatite B) é mostrado na figura 3.5. O modelo considera um conjunto de células suscetíveis à infecção, isto é, células alvo T , que através de interações com o vírus V acabam infectadas. É assumido que células infectadas I produzem novos vírus a uma taxa constante p e morrem a uma taxa δ . O tempo de vida médio de uma célula infectada é $1/\delta$ e se uma célula infectada produz um total de N vírions durante sua vida, a taxa média de produção de vírus por célula é $p=N\delta$. Novas partículas de vírus pode infectar novas células ou serem eliminadas do corpo a uma taxa c por vírus.

$$dT/dt = \lambda - dT - kVT$$

$$dI/dt = kVT - \delta I$$

$$dV/dt = pI - cV$$

Figura 3.5 – Equações diferenciais da dinâmica do HIV

Para analisar os efeitos de uma droga antiretroviral, equações acima são modificadas. Inibidores da transcriptase (RT) reversa bloqueiam a habilidade de infectar novas células. Inibidores de protease (PI) causam a produção pelas células infectadas de partículas virais não infecciosas, V_{NI} . As novas equações (figura 3.6) [21] são dadas abaixo.

$$dT/dt = \lambda - dT - (1 - \epsilon_{RT})kV_1T$$

$$dI/dt = (1 - \epsilon_{RT})kV_1T - \delta I$$

$$dV_1/dt = (1 - \epsilon_{PI})pI - cV_1$$

$$dV_{NI}/dt = \epsilon_{PI}pI - cV_{NI}$$

Figura 3.6 – Equações diferenciais da dinâmica do HIV e das drogas antiretrovirais

Onde ϵ_{RT} e ϵ_{PI} são as eficácias de RT e PI ($\epsilon = 1$ sendo uma droga perfeita).

O modelo básico (figura 3.5) e uma variante contendo células latentemente infectadas têm sido usados para modelar o crescimento abrupto, subsequente queda e depois o estabelecimento de um nível na carga do vírus que caracteriza a infecção do HIV. De acordo com Perelson é remarcável que estes modelos não incluem uma resposta imune explícita e ainda considerem a dinâmica viral como visto anteriormente. Para ser mais específico, no modelo básico a taxa de morte de células infectadas é δ e a taxa de eliminação de vírus c são constantes. Então se uma resposta imune tivesse um papel nesses processos sua contribuição seria pequena ou constante. Por exemplo, a taxa de morte δ pode ser modelada como se tivesse dois componentes, um devido a efeitos citopáticos (doenças nas células) virais (δ_0) e um devido a resposta mediada por células; por exemplo, $\delta = \delta_0 + \delta_x X$, onde X denota células citotóxicas e δ_x seria a taxa de células infectadas mortas por CTLs. Se a taxa total δ é aproximadamente constante, então ou δ_x é pequeno quando comparado com δ_0 ou é constante. Na infecção crônica é fácil prever que a resposta imune é constante, mas durante a infecção primária uma resposta específica para o HIV é gerada e correlaciona temporariamente com o decline na viremia. Portanto o fato que modelos com a taxa δ constante podem reproduzir a dinâmica do HIV é surpreendente. Isso se deve ao fato de que o declínio do vírus é devido à limitação na quantidade de células alvo.

3.2 Autômato celular

O autômato celular [28] foi originalmente introduzido por John Von Neuman e Stanislas Ulam sob o nome de espaços celulares como uma possível idealização de sistemas biológicos. Eles buscaram mostrar que processos biológicos como a reprodução e evolução de formas organizadas poderia ser modelado por simples células seguindo regras locais para mudar um parâmetro da célula com o tempo.

Um *cellular automata* (CA) tradicional usualmente consiste de uma grade regular uniforme de dimensão N qualquer que pode ser finita ou infinita. A grade contém uma variável discreta (ou célula) em cada local que pode assumir n valores, onde n é arbitrário.

O estado de um CA é completamente especificado pelos valores de todas as suas variáveis. O CA evolui em um espaço discreto com passos discretos de tempo com o valor de uma variável em um dado local sendo afetado pelo seu valor anterior e pelos valores das variáveis da vizinhança do passo anterior.

A vizinhança pode ser definida de várias formas (figura 3.7) e pode ser estendida como desejar.

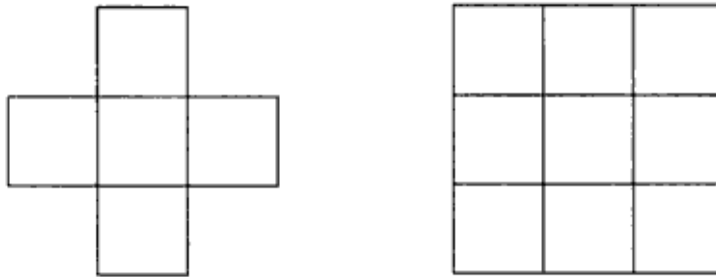


Figura 3.7 - Vizinhanças de Von Neumann (à esquerda) e Moore (à direita)

3.2.1 Autômato celular orientado a objeto (OOCA)

Usa um CA como sua camada mais baixa. Entidades são modeladas e implementadas como classes. Objetos podem interagir com o sistema e também com outros objetos. Dentro de cada objeto há mecanismos requeridos para expressar seu comportamento interno e responder ao *feedback* do sistema. Comunicação com outros objetos pode ser ou o resultado da interação direta ou indireta usando o ambiente subjacente.

3.3 Modelagem baseada em agentes

Agent-based modelling (ABM) é uma abordagem de modelagem *bottom-up* com muitas aplicações na simulação de sistemas humanos e sociais. Essa abordagem também tem sido adotada com sucesso nas ciências da vida como biologia e ecologia. Na ABM, 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 baseado em um conjunto de regras (se-então, equações diferenciais, redes neurais, algoritmos genéticos, etc). Essas regras incorporam conhecimento ou teorias

sobre os respectivos componentes de baixo nível. 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 célula individual ou cada tipo diferente de célula pode ser representado. Outra habilidade deste tipo de modelo é a capacidade de se estender para diferentes escalas espaciais e temporais.

Em uma ABM cada entidade (agente) representa uma única célula, molécula ou agente patogênico. E cada agente tem um código com seu comportamento e com as regras que deve seguir para interagir com outros agentes.

Observa-se que o comportamento de um agente é pré-definido, logo o objetivo de uma simulação é observar o comportamento global dos agentes, para determinar por exemplo uma epidemia.

Destaca-se que este modelo é apropriado para estudar imunologia por diversas razões, dentre elas temos:

- os agentes podem incorporar conhecimento biológico ou hipóteses sobre componentes de baixo nível, mesmo que esses novos 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.

- o SI é um sistema biológico complexo com muitos diferentes mecanismos de interações e muitos valores biologicamente relevantes não podem ser medidos diretamente, pois são resultados da dinâmica comportamental dos agentes inseridos num ambiente configurado em uma forma particular.

Além disso, em uma ABM é relativamente simples desabilitar mecanismos, ajustar contribuições executar teste de parâmetros.

Uma ABM pode ajudar a preencher o espaço entre descrições intra-celular e dinâmicas de infecções multicelular.

Alguns simuladores se baseiam também nos princípios dos *Complex Adaptive Systems* (CAS) propostos por John Holland. Alguns princípios dos CAS são:

- Interações não-lineares: um grande número de indivíduos participam de interações não-lineares simultâneas onde o comportamento emergente é mais do que a soma das partes.

- Comportamento agregado: O impacto do sistema é seu comportamento agregado, que é o comportamento do sistema como um todo, que é freqüentemente retornado (feedback) para as partes que modificam esse comportamento.

- Mudança: Interação entre as partes evolui com o tempo e as partes podem encarar novidades. Esses sistemas tipicamente operam longe do ótimo global e longe do equilíbrio.

- Antecipação: Em se adaptar às mudanças de circunstância, as partes antecipam as conseqüências de suas respostas. A antecipação do agregado afeta o comportamento do sistema e isto é a propriedade menos entendida de tais sistemas.

Capítulo 4

Simuladores do sistema imunológico humano

4.1 ImmSim

Um dos modelos (figura 4.1) mais ricos do SI [5,9]. Provou ser capaz de reproduzir fenômenos reais da resposta imune. Implementa os seguintes mecanismos: memória imunológica, maturação da afinidade, efeitos da hipermutação, resposta auto-imune, entre outros, além de um modelo do timo que realiza as funções de seleção positiva e negativa. Outras características são: permite entrada de parâmetros, e não permite a adição de novas células, moléculas e regras.

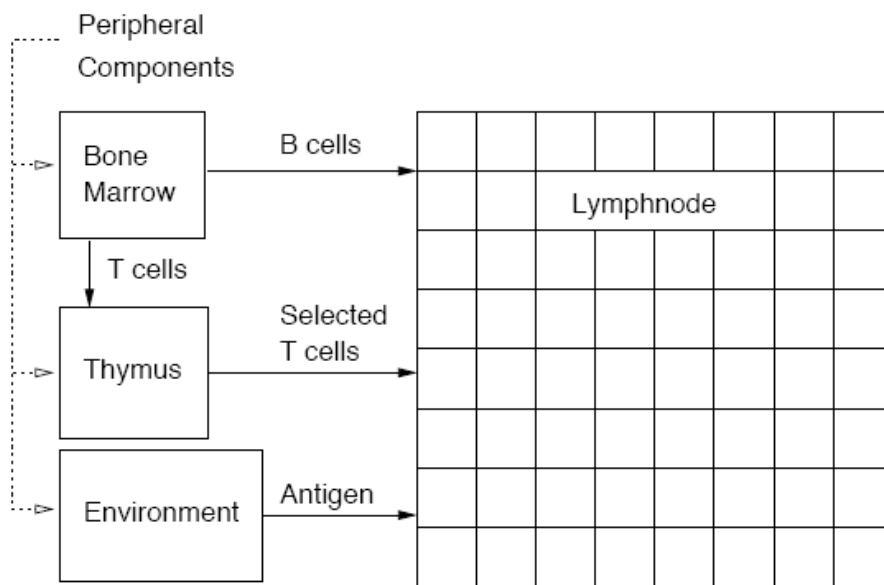


Figura 4.1 - Visão geral do modelo ImmSim

É baseado em *lattice gas automata* que é uma extensão de CA e recebe este nome por causa de seu uso original em modelar fluidos como partículas que estão restritas a se mover entre posições discretas na *lattice*. Sua *lattice* é regular e hexagonal com 2 dimensões, onde cada local pode ser populado com um número distintos de entidades. Algumas entidades do modelo são mostradas na figura 4.2 e as propriedades de todas as células e moléculas do modelo são mostradas na figura 4.3.

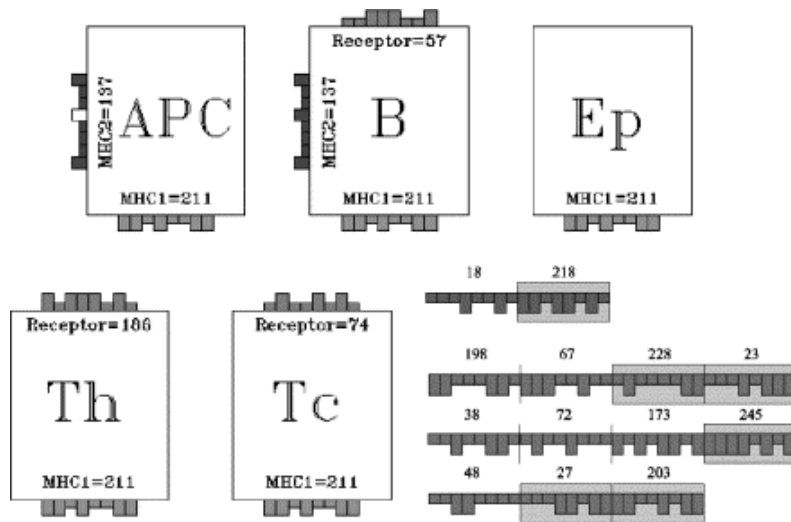


Figura 4.2 - Uma representação esquemática de algumas células e antígenos.

Entity	Properties
B-cell	Receptor*, bound antigen*, MHC-peptide complex*, activity indicator: free or bound, state: virgin or memory, age
plasma cell	Receptor*, age
T-cell	Receptor*, state: virgin or memory, age
APC	MHC-peptide complex*, activity: free or bound
antigen	One or more epitopes*, one or more peptides*
antibody	Paratope (variable)*, peptide (fixed)*
Ag-Ab complex	One or more antigen peptides*, antibody peptide*

Figura 4.3 - Propriedades das células e moléculas do modelo. Propriedades marcadas com * são representadas por cadeias de bit.

Simula interação entre as células dentro de uma seção de um órgão linfático. Cada célula é uma máquina de estados estocástica finita.

Define regras de interação de 2 tipos:

- interações específicas: entidades fazem ligação através de seus receptores
- interações não específicas: ocorrem quando duas entidades interagem sem nenhum processo de reconhecimento.

As interações são programadas seguindo o modelo abaixo:

INTERACTION:<involved entities>

SPECIFIC:YES|NO

MATCH:<involved molecule>

CONDITION:<allowed state for <involved entities>>

ACTION : <final state for <involved entities>>

A afinidade é determinada pelo cálculo da distância de Hamming, ou seja, pelo cálculo do número de posições em que os bits das duas cadeias se diferem. A afinidade é maior quanto maior for a distância de Hamming.

O antígeno é representado por um conjunto de cadeias de bits algumas representando epítopos (a menor parte da superfície de um antígeno capaz de estimular uma resposta imune) e outras representando peptídeos. Para simular a ligação entre o MHC e o peptídeo de um antígeno, a cadeia de bits que representa o MHC é dividida pela metade. A parte esquerda representa a parte na qual o receptor da célula Tc se ligará. E a parte direita se ligará ao peptídeo. A parte direita ou esquerda do peptídeo pode se ligar ao MHC, sendo que a parte que não estiver ligada ao MHC será apresentada na superfície da célula junto com a parte esquerda do MHC.

Caso a célula APC seja uma célula B se a ligação com a célula Tc for bem-sucedida ambas as células começam a se proliferar. A célula Tc se divide 3 vezes resultando em 8 células, sendo metade delas de memória. E a célula B se divide 4 vezes resultando em 16 com metade se tornando células de memória e a outra metade células plasma produtoras de anticorpos. Durante a proliferação células B sofrem hipermutação através da escolha randomicamente de bits de seu receptor que serão modificados, ou seja, que sofrerão mutação.

Células B ingênuas (que não estão ativas) saídas da medula óssea são escolhidas randomicamente. Células T também são geradas dinamicamente, mas sua diversidade é alterada pelo processo de maturação no timo.

Na seleção negativa, células T são expostas a complexos MHC/peptídeo sendo os peptídeos próprios, ou seja, pertencentes ao organismo que está sendo simulado e se ocorrer uma ligação bem sucedida a célula é eliminada do modelo.

Na seleção positiva só podem sair do timo células T que podem potencialmente se ligar a um complexo MHC/peptídeo. Das células que sobrevivem à seleção negativa apenas aquelas que casarem 3 ou 4 bits da parte esquerda, que tem 4 bits, de seu receptor com alguma molécula MHC será selecionada positivamente.

A simulação começa preenchendo-se com a quantidade desejada de células B, T e APC locais da *lattice* escolhidos de forma randômica. A cada passo da simulação (figura 4.4), células e moléculas que estão no mesmo local da CA podem interagir e se difundir. As regras de interação são aplicadas para cada célula e molécula, sendo que todas as possíveis interações são consideradas. Qualquer interação tem resultado discreto (exemplos, morre ou não e interage ou não) sendo esse resultado decidido com base em

probabilidades. Decisões estocásticas também são tomadas na difusão, ordem das interações e seleção dos indivíduos interagindo.

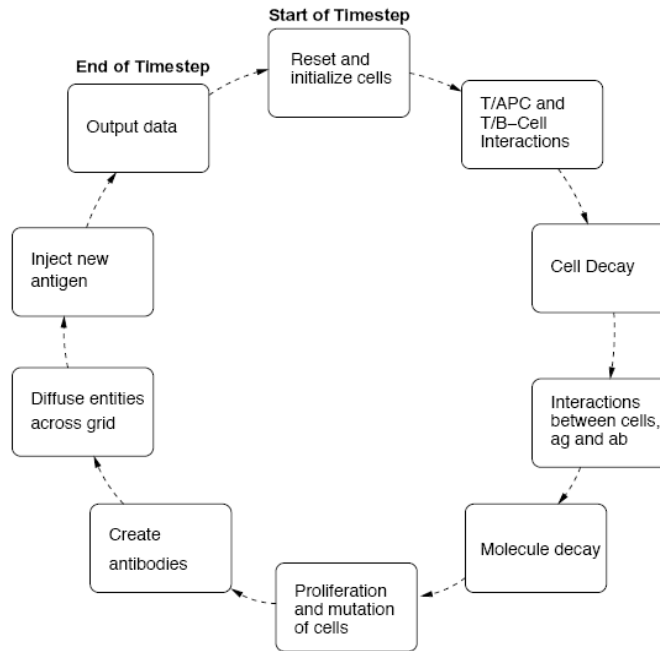


Figura 4.4 - Um passo da simulação no ImmSim

4.2 C-ImmSim:

O simulador baseado em agentes, chamado C-ImmSim [2,3,30] é um sistema dinâmico que estende as capacidades do autômato celular implementado no simulador ImmSim. Entre suas principais características temos: código paralelo escrito em uma linguagem altamente eficiente, compilável (e portátil), a linguagem C; consiste de agentes vivendo em uma *lattice* tri-dimensional que aproxima 1 milímetro cúbico de um órgão linfático periférico, sendo que mudando um parâmetro na simulação o sistema pode escalar em múltiplos de 1 milímetro cúbico.

Enquanto em um modelo baseado em autômato celular, tempo é discreto e o estado de um ponto da *lattice* no tempo t é uma função de um número finito de pontos (a vizinhança) no tempo $t-1$, nesse modelo baseado em agentes as interações ocorrem em um único local da *lattice* devido ao fato de que é permitido um grande número de entidades em cada local da *lattice*.

Agentes são células e moléculas (figura 4.5) com características específicas (receptores moleculares, tempo de meia-vida, etc). Em qualquer tempo cada agente pode

estar em um estado de um conjunto de possíveis estados (ingênuo, ativo, descansando, duplicado, etc). Os agentes mudam o estado interno deles quando interagem com outros agentes. Por esta razão o modelo também é chamado estocástico estruturado por estágios. Outra característica desse modelo é que todos os locais de ligação (receptores e ligantes) das moléculas e células são modelados como cadeias binárias de comprimento finito. Modelos desse tipo são chamados modelo cadeia-binária no campo da imunologia computacional.

<i>Entity</i>	<i>Function</i>	<i>Interacts with</i>
Lymphocyte B	Phagocytoses antigen upon recognition of one of its epitopes by means of the receptor (BCR); processes antigen peptides and presents peptides together with class II MHC molecule to TH; differentiates in plasma B cell upon stimulation by TH	Antigen, CD4 T
Lymphocyte plasma B (PLB)	Produce antibodies of the IgG idiotype	None
Lymphocyte T helper (CD4 T)	Induces B cell clone expansion upon recognition of the MHC II peptide complex on the B cell surface by one of its receptors (TCR); induces CTL clone expansion by secretion of interleukin-2	B, TC
Lymphocyte T cytotoxic (TC, CD8, T, CTL)	Kills infected cells upon recognition of the MHC I peptide complex on the infected cell surface by one of its receptors (TCR)	TH, MA, DC
Dendritic cell (DC)	Presents viral peptides to TC cells	TC
Macrophage (MA)	Phagocytoses antigen aspecifically; processes antigen peptides and presents peptides together with class II MHC molecule to TH	TH
HIV-1	Infects TH, MA, and DC; reproduces inside actively infected cells and causes rupture of the cell membrane with release of its viral contents	TH, MA, DC

Figura 4.5 - Entidades do modelo e suas interações

Cada tipo de interação exige que os agentes estejam em um estado específico. Uma vez que essa condição é preenchida, a probabilidade de interação depende da ligação efetiva (afinidade) entre o receptor e o ligante.

O potencial de afinidade (figura 4.6) é calculado no intervalo de 0 a 1, onde l é o comprimento da cadeia de bits, j é a distância de Hamming entre as duas cadeias, $\alpha \in (0;1)$ é um parâmetro livre que determina a inclinação da função e m_c ($l/2 < m_c \leq l$) é um limite abaixo do qual nenhuma ligação é permitida.

$$v(j) = \begin{cases} \alpha^{(j-l)/(m_c-l)}, & j \geq m_c \\ 0, & j < m_c \end{cases}$$

Figura 4.6 - Função de afinidade.

Além de representar ambas as respostas humoral e mediada por células, o modelo leva em consideração o conceito de clones ou repertório de linfócitos. O modelo

permite representar um vasto número de diferentes receptores. Um casamento não perfeito de cadeias de bits permite reatividade cruzada entre antígenos reconhecidos e suas linhagens mutantes.

Da perspectiva de modelagem é importante destacar que o modelo considera de forma diferente moléculas pequenas e simples como interleucinas e quimiocinas (carregadores moleculares de sinais fisiológicos usados pelas células para reconhecer a ocorrência de certos eventos) e moléculas mais complexas como imunoglobulinas. Para moléculas pequenas (exemplo, com peso molecular pequeno) só foi levado em consideração a concentração em cada ponto da *lattice* e assim equações diferenciais parciais podem ser usadas (partial differential equations, PDE) para descrever a dinâmica. Para moléculas mais complexas que carregam especificidade é preciso usar uma estrutura de dados mais complexa. Portanto são representadas como agentes.

Na formulação original do C-ImmSim a difusão de todas as entidades em cada passo de tempo foi descrita com um coeficiente de difusão igual e sem nenhuma direção preferencial, isto é, não havia descrição do fenômeno da quimiotaxia (fenômeno no qual a direção do movimento de células e moléculas é afetada pelo gradiente de alguma substância difundível). Assim entidades celulares e moleculares se moviam aleatoriamente dentro do volume da *lattice* fazendo com que os encontros das células fossem ineficientes.

Realmente, a mobilidade dos linfócitos tem um papel central em determinar a eficiência de uma resposta imune. Células brancas do sangue continuamente recirculam entre os vasos sanguíneos e linfáticos, monitorando e detectando antígenos dentro dos tecidos do corpo. Recentemente, foi adicionado ao C-ImmSim uma descrição simplificada do fenômeno de quimiotaxia. De acordo com ela, linfócitos se movem seguindo o gradiente de suas quimiocinas específicas. Assim como para interleucinas, o movimento das quimiocinas é modelado por uma PDE para cada espécie de molécula em particular. A equação descrevendo a difusão é do tipo parabólica e é dada abaixo (figura 4.7).

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D\nabla^2 c - \lambda c$$

Figura 4.7 - Equação da difusão, onde $c = c(x)$ é a concentração de quimiocinas, D é o coeficiente de difusão e λ é a meia-vida

No modelo da resposta imune [4,6] as células Th, as células dendríticas e macrófagos são alvos dos antígenos.

A infecção de cada tipo de célula tem conseqüências diferentes e específicas. A infecção é um evento estocástico, ou seja, há uma probabilidade fixa do HIV infectar uma célula alvo. O vírus é representado por duas cadeias binárias uma corresponde ao epítipo e outra ao peptídeo. O código do simulador permite a especificação de qualquer número de epítipos.

Para levar em consideração erros de transcrição do vírus as 2 cadeias sofrem troca de bits de acordo com o seguinte esquema: selecionar com igual probabilidade qual cadeia poderá sofrer mutação. Depois de escolhida a cadeia é trocado o valor de um bit escolhido aleatoriamente de acordo com uma determinada probabilidade. A transcrição do DNA viral é ativada com uma determinada probabilidade que é chamada taxa de ativação.

Durante a fase assintomática a resposta imune causa uma seleção de forma que só as variantes (do HIV inicialmente injetado) que tiverem um valor adequado da taxa de ativação vão ter boas chances de sobreviver e proliferar. Então mutantes com uma baixa taxa de transcrição devem ser selecionados durante a fase assintomática porque a emergência de uma taxa alta resultaria em uma rápida progressão da doença e morte sem um curso silencioso.

Por outro lado uma taxa muito baixa geraria uma fase assintomática permanente, como presente em uma minoria de pacientes com HIV.

O valor ótimo dessa taxa é selecionado automaticamente como é provável de ser na realidade onde o atraso na duração da fase silenciosa depende do genoma do vírus e da atividade metabólica da célula infectada.

A emergência da fase latente aparece como resultado da seleção de linhagens virais codificadas com uma baixa taxa de transcrição, estendendo assim o tempo entre a infecção das células e a ativação dessas linhagens. Há duas escalas de tempo no estabelecimento da AIDS: a fase aguda da infecção causada pelo tipo mais amplo de linhagem que é seguida pela fase assintomática na qual novas linhagens do vírus permanecem silenciosas dentro das células infectadas. A ativação estocástica do processo de transcrição do genoma viral dispara proliferações localizadas que usualmente não chegam a altos níveis. Porém essas infecções limitadas mantêm o SI ocupado na produção de anticorpos anti-HIV e também prejudicam a eficiência do mecanismo de produção de células T ajudantes.

Na fase aguda a resposta primária desenvolvida destrói vírus solúveis e vírions que começaram a se duplicar dentro de uma célula infectada em torno de 7 semanas. Só vírus que silenciosamente infectaram células alvo permanecem indetectáveis. Em

princípio células infectadas podem expor os peptídeos do vírus, combinados com a molécula MHC classe 1. Porém, moléculas MHC classe 1 se ligam aos peptídeos seguindo um procedimento de casamento de cadeias de bits. Um casamento não perfeito acarreta uma probabilidade muito menor de ligação e conseqüentemente há uma chance dos peptídeos dos vírus não serem apresentados para as celular citotóxicas. Quando a contagem de vírions chega a 100 cópias, o código do C-ImmSim simula a ruptura da membrana da célula e a conseqüente liberação do conteúdo viral no plasma.

É altamente aceito que, em pessoas infectadas com HIV, há uma degradação dos órgãos linfáticos secundários. Do ponto de vista do estabelecimento da AIDS pode ser visto como uma conseqüência da diminuição da eficiência dos compartimentos produtivos. Isto significaria que a derrota do SI não é devido à morte de células Th mas principalmente pela falha do sistema em manter a homeostase.

Realmente, tem sido recentemente mostrado, por meio de um simples formalismo matemático, que nenhum mecanismo direto ou indireto de destruição das células Th pode explicar o decréscimo de longo prazo na concentração dessa célula conduzindo à AIDS. O decréscimo de longo prazo na concentração de células T ajudantes só por algum mecanismo de realimentação (*feedback*) do mecanismo de destruição de células Th. As simulações realizadas com este simulador confirmam esta previsão teórica: se nenhum prejuízo na produção de células Th é levado em consideração então este tipo de célula nunca chegará ao limite crítico de 20% do valor inicial. Isto é, ou o HIV é eliminado (e a quantidade de Th retorna ao nível normal) ou cresce muito rápido. Neste caso, as células Th alcançam um nível menor do que o normal mas nunca se aproximam de 20%.

No status de imunodeficiência, a capacidade do SI para gerar diversidade cai dramaticamente. No começo da simulação há uma distribuição uniforme de diferentes receptores dentro da população Th. Em um pequeno período, células que possuem receptores com melhor afinidade com o vírus são estimuladas e uma memória é construída. Receptores que não são selecionados por qualquer linhagem do vírus lentamente desaparecem, porque o timo, que teve sua eficiência reduzida, não substitui estes receptores (pelo menos não completamente). Dessa forma o SI se torna mais vulnerável a novas linhagens do vírus HIV e a outros antígenos.

Reservatórios de HIV-1 são muitos importantes em entender a dinâmica do HIV-1, especialmente em correlação com a habilidade de sobreviver à terapia antiretroviral altamente ativa. Nesse modelo são levados em consideração os reservatórios fornecidos

por células de memória Th ignorando outros potenciais reservatórios anatômicos (como, cérebro ou olhos). Para levar em consideração o prejuízo na produção de células Th pela medula óssea foi implementado um simples mecanismo no qual a probabilidade de decrescer o número de células Th produzidas por um fator de uma célula a cada dia é $p = x^2/(C^2 + x^2)$, onde x é o número de células Th infectadas e C é uma constante escolhida proporcionalmente à contagem original de células Th no espaço de simulação.

Vale a pena mencionar que o crescimento de clones de linfócitos é limitado estocasticamente, dado que a probabilidade para uma célula que está no ciclo mitótico para criar uma cópia de si mesma é multiplicada por um fator que decresce exponencialmente com o total de linfócitos presentes na vizinhança.

4.3 CAFISS (A Complex Adaptive Framework for Immune System Simulation)

É um framework [23] baseado nos princípios dos sistemas complexos adaptativos propostos por John Holland e que incorpora características de autômato celular, algoritmos genéticos e sistemas classificadores de Holland. A simulação dá ênfase ao ataque do HIV. Os resultados comparados com dados reais foram bons.

Algumas características:

- Utilizaram uma abordagem de modelagem baseada em agentes. Cada agente é um sistema classificador de Holland melhorado.
- O espaço é uma *lattice* retangular, onde cada local pode ter qualquer número de células.
- A atualização da simulação é multithreaded e assíncrona, onde cada instância de uma célula roda em sua própria thread comunicando com outras usando eventos.
- Células virais são inseridas em locais aleatórios.
- Cadeias de bits atuam como entradas sensoriais. Determinadas subcadeias podem representar receptores de antígenos ou de sinais. Essas subcadeias são ativadas com força variável dependendo do número de bits casados.
- Cada subcadeia está associada com a ativação de uma regra, que por sua vez está associada a uma ação ou outra regra, permitindo uma cadeia de regras.

- Permite que os parâmetros sejam configuráveis e os resultados obtidos podem ser visualizados graficamente.
- Novas regras e novos tipos de células podem ser incorporados facilmente.

4.4 AbAIS

No artigo [14] os autores construíram um sistema imunológico artificial no qual uma abordagem genética é usada para modelar os agentes do sistema enquanto que a camada subjacente é suportada por um autômato celular orientado a objeto.

Entre as principais características do simulador temos interface para entrada de parâmetros, interface para exibição da simulação, adição de novas células e substâncias e utilização de gráficos para exibição dos resultados.

O genótipo de um agente é um conjunto de regras rotuladas que expressam o comportamento dele. Essas regras (do tipo se-então ou outro) são codificadas dentro de cada gene do cromossomo do agente. O comportamento depende de um conjunto de operadores que decodifica informação genética específica e atua de acordo.

Assim, o comportamento global é obtido através da avaliação de cada operador local de um agente. Além do mais, cada agente pode apresentar um conjunto de características externas ao ambiente e aos outros agentes, características que podem estar codificadas no código genético.

O número de genes e operadores não é fixado permitindo dinâmica durante a evolução do agente. Os agentes patogênicos possuem o operador de infecção que pode adicionar operadores extras à célula infectada.

A figura 4.8 mostra o genótipo inicial e o conjunto de operadores de vários agentes.

O fenótipo das células é a interpretação do genótipo usando o conjunto de operadores dessas células. Os tipos de genes considerados são:

1- Genes de reprodução ou divisão: contém o código de condição, probabilidade de disparo e dados sobre a nova célula.

2- Genes de secreção de substância: mantém o código de condição junto com a probabilidade de liberação para uma substância em específico.

3- Genes de apresentação do receptor: contém o código de condição e o fator de apresentação de um receptor em específico.

E os tipos de operadores considerados são:

1- Operador de reprodução: cria novos agentes usando a informação dos genes de reprodução.

2- Operador de secreção de substância: este operador libera substâncias expressas nos genes de secreção de substância.

3- Operador do receptor: apresenta proteínas expressas nos genes de apresentação do receptor.

4- Operador de movimento: modela o movimento da célula não precisa de operador genético para obter informações.

No modelo do HIV-1 quando o vírus HIV-1 infecta uma célula do tipo macrófago (figura 4.9), por exemplo, ele insere um operador chamado *Latent* no conjunto de operadores do macrófago. Este operador permanece em espera até sua ativação que ocorre quando há uma resposta imune. Uma vez ativado esse operador modifica o genótipo do macrófago infectado através da adição de 2 regras que são secreção de vírus HIV-1 e replicação de vírus HIV-1.

A população de agentes é distribuída sobre um conjunto de locais compreendidos na *lattice*, sendo que cada um destes junto com relações espaciais correspondentes, podem ser expressos através de um autômato celular orientado a objeto.

Muitos agentes podem co-habitar o mesmo local e, desde que cada local tenha um grau de atividade, este pode interagir com os agentes que correntemente compreende.

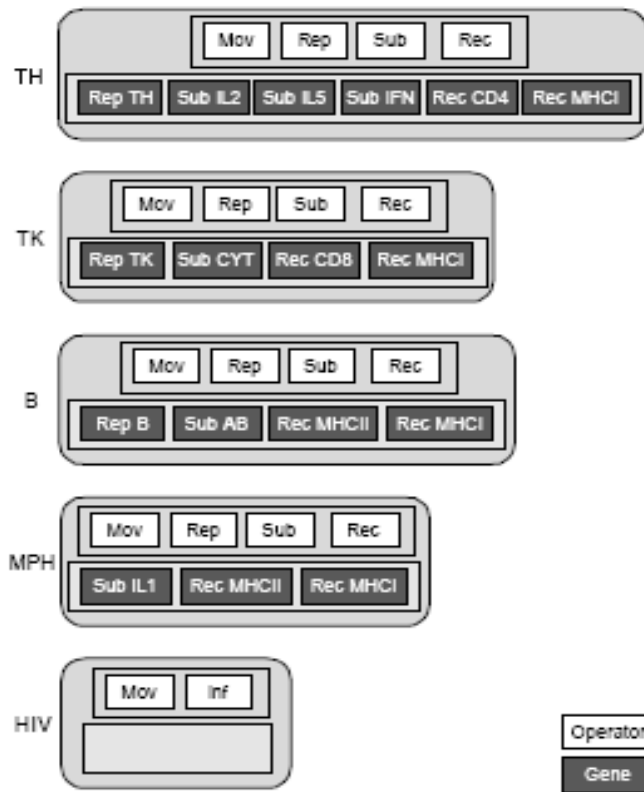


Figura 4.8 - Representação dos genes e operadores de algumas células do modelo. Onde Rep significa reprodução, Sub significa secreção de substância, Rec significa receptor e Mov significa movimento.

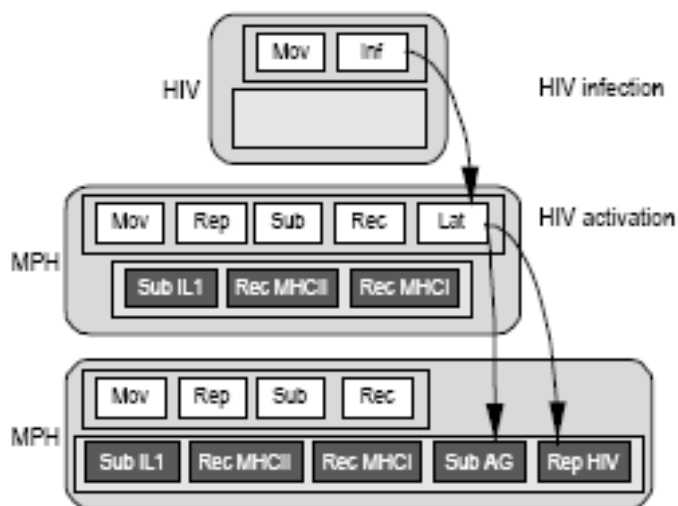


Figura 4.9 - Processo de infecção do macrófago pelo vírus HIV-1.

4.5 SIMMUNE

SIMMUNE [19] é um simulador que foi projetado para facilitar a forma de se lidar com algumas questões. Como o processamento de informação no SI atinge reconhecimento de contexto? Qual é a natureza do contexto que faz com que o SI responda de forma nociva? Como o SI é fornecido com um contexto específico que ativaria uma resposta imune a alguma doença?

Para ser capaz de começar a responder essas questões o SIMMUNE foi desenvolvido para investigar como os agentes do SI trocam informação, como influenciam seus estados, como as reações a sinais combinados diferem das reações a esses sinais ocorrendo em tempos diferentes. Além disso, qual é o escopo espacial de sinais específicos, exemplo, eles influenciam seus vizinhos diretos ou se espalham por grandes áreas do organismo?

Utiliza um mecanismo de resposta à estímulos que consiste em uma descrição de um conjunto de estímulos uma célula precisa antes de executar certas ações, e a descrição destas ações. A célula checa se certas condições estão satisfeitas e se estiverem, ações são executadas.

A parte das condições de um mecanismo pode ter um número arbitrário de condições combinadas com AND ou ANDNOT. E a parte das ações consiste de uma ou mais ações.

O ambiente da simulação é de 3 dimensões.

Cada célula do modelo pertence a certo tipo que é definido por um conjunto de mecanismos. No SIMMUNE as células são unidades básicas de processamento de sinal e informação. Os sinais recebidos pelas células são constituídos de moléculas do ambiente extracelular que se ligam às moléculas receptoras da superfície dessas células.

Moléculas também podem realizar processamento de sinal e informação através da formação de agregados. Cada molécula tem um conjunto de possibilidades de ligações com outras moléculas. Outras propriedades incluem o tempo de vida antes da molécula se desintegrar e os tipos de fragmentos produzidos.

O SI usa diferentes compartimentos para fornecer os ambientes específicos para as diferentes tarefas que deve completar.

Uma idéia simplificada é a de que compartimentos no SIMMUNE juntam certos tipos de entidades excluindo outras. Uma simulação pode compreender diferentes compartimentos.

Outras características desse simulador são:

- interface gráfica para entrada dos parâmetros
- interface gráfica para visualizar a simulação
- o usuário pode definir propriedades das células, moléculas e compartimentos.

4.6 Imunidade através de *Swarm*:

Os autores do artigo [16] desenvolveram modelos baseados em agentes, simulações e visualizações que introduzem algoritmos populacionais (ou de enxame) inteligentes em sistemas biomoleculares e celulares. Foi desenvolvido também ferramentas de pesquisa altamente visuais, adaptativas e de fácil utilização, que na opinião dos autores desse simulador irão ganhar uma aceitação muito maior nas comunidades de pesquisa das ciências biológicas e da vida e também complementando a maior parte dos atuais modelos computacionais e matemáticos que são mais abstratos e mais desafiadores computacionalmente.

Cada elemento na simulação é representado por um agente independente governado por regras de interação simples. Estes agentes executam ações específicas quando colidem ou chegam perto de outros agentes e movimentam-se randomicamente em um espaço de 3 dimensões contínuo (figura 4.10).

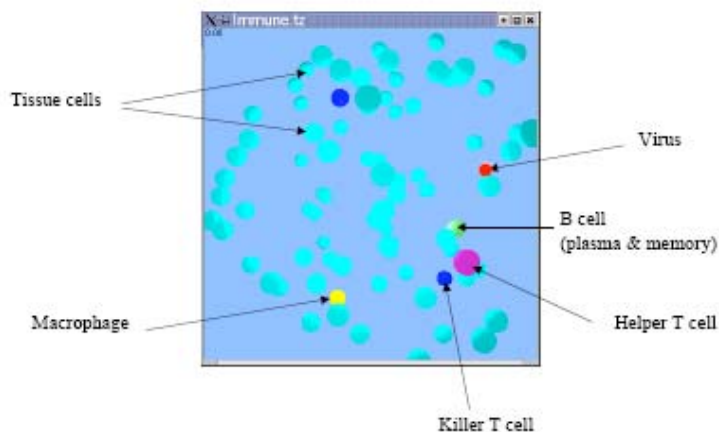


Figura 4.10 - Agentes do SI representados como esferas de diferentes tamanhos e cores

Cada agente se mantém informado sobre os agentes de sua vizinhança, sendo a vizinhança definida como uma esfera com um raio específico. A próxima ação de cada agente é disparada dependendo do tipo e número de agentes que estão no seu espaço de interação local. O sistema fornece a cada agente serviços básicos como habilidade para mover, rotacionar e determinar a presença e posição de outros agentes. Um

escalonador implementa divisão do tempo (*time slice*) invocando o método *Iterate* de cada agente, que executa uma ação específica dependente do contexto. Os agentes trabalham de forma descentralizada sem nenhuma unidade de controle central para governar suas interações.

Nesse simulador foi incorporado três locais interconectados:

- **Nodos linfáticos:** dentro de uma seção do nodo linfático foi incorporado processos adaptativos do SI durante a seleção clonal em resposta à antígenos virais que entram nos nodos.
- **Tecido:** dentro de uma pequena seção do tecido foram modelados processos que ocorrem durante as respostas primária e secundária considerando reações entre vírus, células do tecido, células dendríticas, células T ajudantes e T citotóxicas, plasmócitos (e seus anticorpos) e células B de memória, e macrófagos.
- **Interfaces tecido e vaso sanguíneo:** foi simulado células do sangue vermelhas se movendo dentro de uma seção de um vaso sanguíneo, revestido por células do endotélio que podem produzir selectinas e moléculas de adesão intercelular (ICAMs, sigla em inglês).

4.7 SIMISYS

SIMISYS [17] é um simulador desenvolvido em conjunto pelos departamentos de Biologia, Matemática e Ciência da Computação da Universidade de Colorado.

Modela as características do sistema inato e adaptativo fazendo várias simplificações para poder focar em questões que acha relevante representando-as com muito mais detalhes.

Feito na linguagem C++, onde cada célula do sistema é implementada por uma classe em C++. Foi paralelizado utilizando a biblioteca *Pthreads*.

Utiliza como abordagem de modelagem um autômato celular.

Uma interface gráfica é fornecida para que o usuário possa variar os parâmetros da simulação e também há interfaces para exibição das simulações e também dos resultados destas.

A figura abaixo dá uma visão de alto nível do SI de acordo com o modelo do SIMISYS.

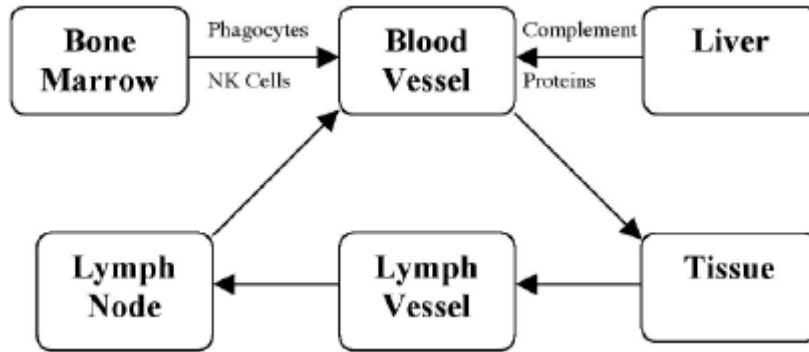


Figura 4.11 - Visão do sistema imunológico representada no sistema

Células como macrófagos, dendríticas, neutrófilos, fagócitos e NK são criadas na medula óssea. Neutrófilos, a mais abundante de todas as células brancas, são recrutadas para a região do ataque do patógeno em um tecido infectado baseado na concentração de atraentes químicos. Os requisitos para a ativação de linfócitos específicos, B ou T, são o reconhecimento do antígeno e outro co-estímulo, incluindo citocinas. Células NK precisam de certas citocinas para serem ativadas e matarem células alvo. Elas têm sido implementadas como sendo atraídas para a região da infecção como uma função da quantidade de lipopolissacarídeo produzido pelo antígeno.

O vaso sanguíneo é a principal porta de entrada de células do SI no tecido. Essas células procuram um local adequado para saírem dos vasos sanguíneos para que possam entrar nos nodos linfáticos. Há um fluxo de qualquer local do tecido para o vaso linfático para que as células do SI respondendo aos invasores possam se mover para um nodo linfático onde há uma concentração maior de linfócitos que podem responder aos antígenos. Para manter um movimento contínuo de células imunes no tecido os vasos sanguíneos transportam as células do SI de volta para o tecido. Coordenação entre os vasos sanguíneos e o vaso linfático definida na simulação tem um papel principal em manter o fluxo. Por exemplo, anticorpos, secretados por células B ativadas, são criados no nodo linfático e transportadas para o tecido, onde opsonizam bactérias. As proteínas do complemento perfuram essas bactérias “marcadas” no tecido. Movimentos de substâncias químicas como a citocina no sangue e tecidos são modelados usando difusão. Uma substância química é carregada nas posições da *lattice* no local onde a célula secretou esta. Elas são difundidas por toda a *lattice*, dependendo de suas respectivas constantes de difusão. Isto configura um gradiente de substâncias químicas

no tecido, permitindo o movimento de células do SI no tecido baseado em atraentes químicos.

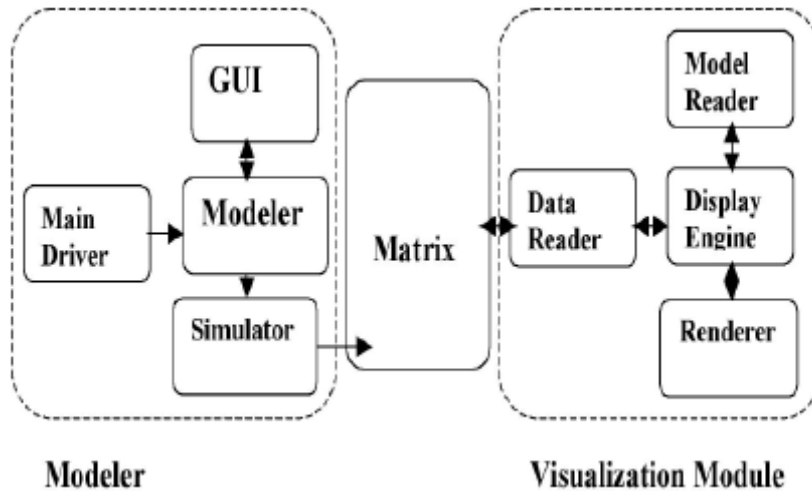


Figura 4.12 - Arquitetura do sistema SIMISYS

Resumidamente, o *Main Driver* carrega a interface gráfica para que o usuário configure os parâmetros de entrada. Uma vez que os parâmetros foram determinados o controle do sistema passa para o *Modeler*, que inicia a simulação. O simulador tem a função de inicializar todas as células e patógenos, inicializar a matriz que será preenchida com todas essas células e patógenos, e inicializa também os vasos sanguíneos e linfáticos, controlando todas as interações entre esses componentes. A matriz representa o espaço físico das células consistindo em uma *lattice* de 3 dimensões, onde cada local é preenchido com uma célula ou substância química.

O módulo de visualização funciona da seguinte forma: o usuário especifica as imagens que serão usadas para cada tipo de entidade. Baseado nas teclas que o usuário apertar o módulo de visualização decide a área da simulação a ser exibida. Há seis direções possíveis de movimento, permitindo o usuário aumentar ou diminuir a imagem, movimentar para esquerda ou direita e para cima ou para baixo.

4.8 CyCells

O CyCells [11,32] foi projetado para estudar relações intercelulares, permitindo definir comportamentos das células e propriedades moleculares, e também tem características para representar infecção intra-celular. A abordagem baseada em comportamento é similar a do SIMMUNE. O autor diz que CyCells não é um framework de

propósito geral, mas afirma que ele poderia ser usado para modelar uma variedade de sistemas multicelulares.

No CyCells, o ambiente molecular e a maioria dos componentes do estado da célula são representados como variáveis contínuas atualizadas a cada passo de tempo. No entanto mudanças no estado da célula não são sempre contínuas. As exceções mais óbvias são eventos discretos como morte da célula ou divisão; células podem também se diferenciar o que pode afetar muitos aspectos do comportamento da célula. Estes eventos podem ser disparados ou estocasticamente ou por uma variável contínua passando por um limite.

Um caso especial de estado interno da célula é a infecção intracelular. Uma variável discreta guarda o número de patógenos dentro de uma célula e mudanças a essa variável pode refletir replicação intracelular ou morte de patógenos individuais.

Funções de sensoriamento gerenciam as interações da célula com suas células vizinhas ou com o ambiente molecular local.

A separação no CyCells das funções de sensoriamento e processamento, permite um tipo de pleiotropia vista em sistemas intercelulares, cada citocina pode afetar múltiplas ações de uma célula, e múltiplas citocinas podem afetar uma única ação.

Um exemplo do uso de CyCells é na modelagem da inflamação de um tecido. Essa modelagem requer algum mecanismo para permitir que novas células sejam adicionadas em vários locais no espaço de simulação. No CyCells, isto é sob controle de células que já estão no tecido simulado. Uma das ações que pode ser definida para um tipo de célula é a habilidade para admitir novas células na simulação. Isto permite células atuar como *gateways* controlando a migração de outras células, imitando uma das ações de células endoteliais e epiteliais. A probabilidade com a qual uma célula *gateway* admite uma nova célula depende do ambiente de citocinas.

No CyCells, as posições das células são coordenadas contínuas e as células podem se sobrepor até um certo grau. Células ajustam suas posições para balancear a pressão de outras células e sua própria força.

Há uma flexibilidade significativa na forma como tipos de células podem ser definidos e diferentes tipos de células e moléculas podem ser combinados em um dado modelo. Como resultado temos uma variedade de modelos conceituais que podem ser implementados e executados com o simulador. Executar uma simulação requer três passos: definição do modelo, inicialização do modelo e execução.

Definição do modelo: um arquivo de definição de modelo (figura 4.13) especifica o comportamento de cada tipo de célula e molécula da simulação. O arquivo consiste de uma lista de nomes de tipos de células seguido por um bloco para cada tipo de molécula e um bloco também para cada tipo de célula. Os tipos de moléculas são definidos por um nome e pelas taxas de decaimento e difusão.

Inicialização do modelo: um arquivo de inicialização como o mostrado na figura 4.14 especifica a geometria da simulação, a concentração inicial dos tipos de moléculas e a quantidade inicial dos tipos de células. Posições das células podem ser especificadas se desejado. Caso não forem especificadas, serão geradas aleatoriamente.

```

cell_names { macrophage cycling tissue }

molecule_type CSF {
decay_rate 1e-4
}

cell_type macrophage {
attribute cmax lognormal 3.58 0.4 lognormal 3.58 0.4
attribute b fixed 0 fixed 0
attribute S fixed 0 uniform 0 700000
attribute sr gaussian 700000 50000 gaussian 700000 50000
attribute time fixed 0 fixed 0
attribute tc gaussian 43200 1800 gaussian 43200 1800
sense b consume-indiv CSF cmax 1.3E-13
process S update linear b 1 0
action change cycling gte_var S sr
action die calc_prob inhibiting b 1e-5 0.37
}

cell_type cycling {
attribute cmax lognormal 3.58 0.4 lognormal 3.58 0.4
attribute b fixed 0 fixed 0
attribute S fixed 0 uniform 0 700000
attribute sr gaussian 700000 50000 gaussian 700000 50000
attribute time fixed 0 uniform 0 43200
attribute tc gaussian 43200 1800 gaussian 43200 1800
sense b consume-indiv CSF cmax 1.3E-13
process time update fixed 1
action divide macrophage gte_var age tc
}

cell_type tissue {
action secrete CSF fixed 2 always
}

```

Figura 4.13 - Arquivo de definição do modelo

```
geometry
1000x1000x1000 microns; mol_res: 0 cell_res: 0

molecule_uniform: CSF 6E-15 0

cell_count: tissue 1000
cell_count: cycling 30
cell_count: macrophage 970
```

Figura 4.14 - Arquivo de inicialização

Em sistemas biológicos reais, interações moleculares, ações celulares e interações entre células e moléculas acontecem em paralelo. Impor uma ordem nessas atividades para execução em um computador pode introduzir artefatos que não refletem o comportamento real. Para minimizar esses efeitos cumulativos dessa serialização, a ordem de visita das células é aleatória a cada passo de tempo. Efeitos de ordem podem ser reduzidos atribuindo um tempo pequeno a cada iteração. Porém o tempo de execução é inversamente proporcional ao tempo de cada iteração, então há um limite em quão pequeno é o tempo de cada iteração. A escolha de um tempo apropriado para cada iteração depende das taxas do sistema modelado, então este tempo é escolhido em tempo de execução.

As posições de cada célula são representadas por variáveis contínuas. O volume simulado é conceitualmente dividido em um vetor de 3 dimensões de parte de um cubo. Para cada parte a lista de células localizadas naquela parte é mantida para tornar a pesquisa por vizinhos mais eficiente. Alguns processos do SI dependem da distância entre células. Essa distância só é calculada para células que estão na mesma parte ou em partes adjacentes.

A maioria das ações das células são eventos discretos que são disparados por alguma condição, então uma definição de ação consiste em especificar um par condição-ação. Há três tipos de condições. A primeira é probabilística, no caso em que um número aleatório é comparado com alguma probabilidade; e a segunda é um limite em alguma variável da célula; e a terceira é a condição *always*, ou seja, é uma condição cujo resultado de sua avaliação é sempre verdadeiro. Isto quer dizer que qualquer ação que tiver uma condição *always* será executada sempre.

4.9 Simullm

A aplicação Simullm [24] foi inicialmente planejada como uma ferramenta de modelagem e simulação exclusivamente para o sistema imune. Depois da arquitetura

básica ser definida, até mesmo com algumas idéias claramente baseadas nos pré-requisitos do sistema imune, ficou óbvio para o autor da aplicação a ser desenvolvida que ela poderia ter um potencial maior. Assim, a decisão foi desenvolver Simullm como um simulador genérico de sistemas complexos e simultaneamente desenvolver o pacote específico da simulação do SI (chamado AIS).

Alguns aspectos do Simullm são claramente baseados no sistema imune. O ambiente de um SI com células, substâncias, órgãos e interações facilmente se encaixa no Simullm, que tem a premissa básica de ser um simulador baseado em agentes sobre um autômato celular: células do SI e patógenos são modelados como agentes; fluídos do corpo e substâncias que influenciam eles são modelados como substâncias; nodos linfáticos, órgãos linfáticos, vasos endoteliais e vasos sanguíneos podem ser modelados usando a noção de permeabilidade.

Simullm é genérico, permitindo a modelagem de uma variedade de sistemas; é modular, permitindo o desenvolver construir partes específicas onde necessário; é distribuído, independentemente do pacote específico usado, permite a simulação de grandes modelos sobre vários computadores; tem grau variável de complexidade, permitindo o usuário simplesmente usar módulos em pacotes pré-definidos, construir novos módulos, ou criar um pacote completo.

O pacote de simulação específico contém os módulos definidos pelo usuário, que podem ser carregados dinamicamente no Simullm; as classes que constituem este pacote devem obedecer as interfaces do pacote de ambiente; se não obedecerem, Simullm irá exibir uma mensagem de aviso e não irá carregar o pacote especificado.

O pacote de distribuição é também diferenciado dos outros. Isto é devido ao fato de que embora Simullm esteja pronto para executar simulações distribuídas, as classes necessárias para isso ainda não foram implementadas.

O usuário inicia a aplicação usando o pacote principal (*main*), a interação entre o usuário e o Simullm é responsabilidade do pacote GUI, que exibe e controla a interface do usuário.

O pacote principal contém as classes responsáveis por iniciar a aplicação e controlar a execução de simulações. Mais especificamente, as classes neste pacote são responsáveis por:

- Sincronização de várias threads do Simullm
- Carregar e salvar arquivos de simulação
- Importar e exportar objetos da simulação

- Carregar dinamicamente as classes da simulação

Em cada passo da simulação a classe *Simulator* (pacote *Main*) solicita a interface *SimCanvas* (pacote *enviroment*) a executar um passo da simulação em cada uma de suas células. A interface *SimCanvas* é uma representação de alto nível do CA – ela representas as verdadeiras classes de implementação (que estão no pacote específico da simulação), dessa forma os detalhes de implementação não são conhecidos pela classe *Simulator*. Os locais do CA também podem ser diretamente acessadas por *Simulator*, porque *SimCanvas* estende a interface *Iterable* do Java, isto significa que *Simulator* pode obter todas os locais do CA de forma seqüencial, independente da forma como são organizadas (lista encadeado, matriz, etc) dentro da classe que implementa *SimCanvas*. A interface *Cell* permite que a classe *Simulator* lide com os locais do CA de forma independente de implementação.

Caso o pacote de distribuição seja implementado ele será responsável por controlar os clientes da simulação, enviar locais do CA para execução remota, receber resultados e balancear a carga da rede e da simulação em cada um dos clientes.

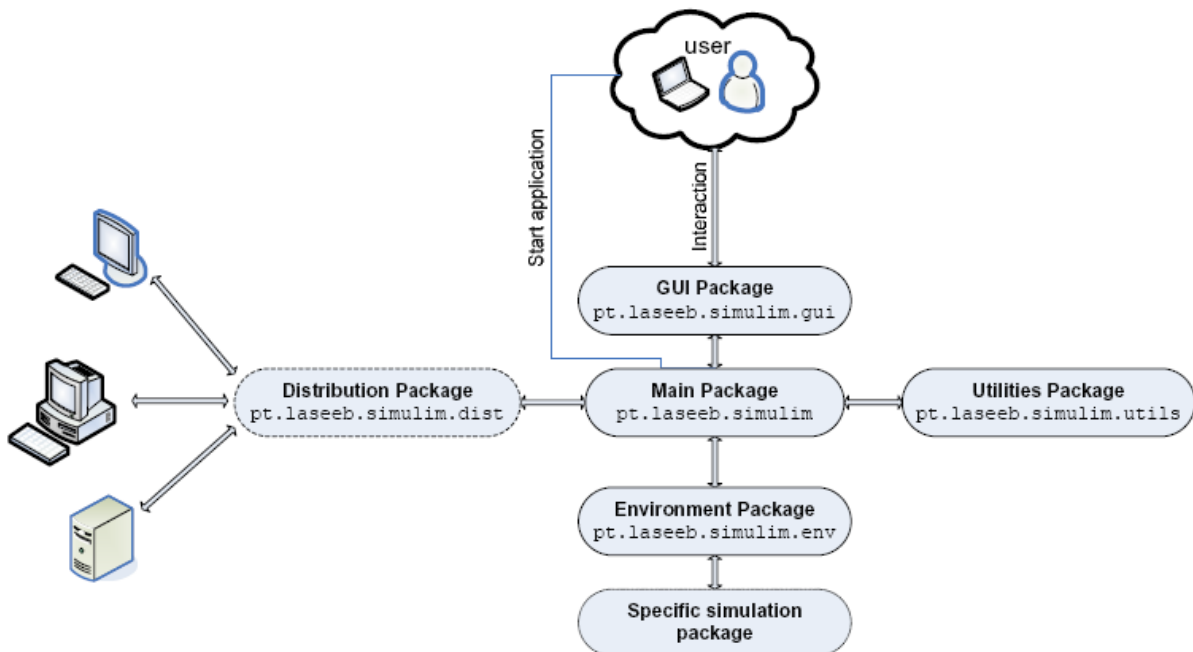


Figura 4.15 - Esquema simplificado dos pacotes existentes no Simulim.

Quando um passo da simulação é executado, cada local da CA deve executar um conjunto de ações, garantindo consistência de estados antes e depois da execução. Isto significa que mudanças efetivas nas entidades de um local da *lattice* e no local em si

devem acontecer simultaneamente – e só depois de todas as ações serem executadas, será fornecido um ambiente estático para agentes (as células do sistema imune) durante a tomada de decisão.

O conjunto de ações que um local da *lattice* pode executar é:

- Difusão/degradação/reação de substâncias
- Preparar agentes para agir
- Executar regras locais para produção/consumo de agentes.

Para que um local execute um passo da simulação deve manter uma lista dos agentes correntemente residindo nele e uma lista das substâncias locais e suas concentrações. Também deve saber as concentrações de substâncias de seus vizinhos para propósitos de difusão. Desta forma um local pode executar um passo da simulação independente do que ocorre no resto do CA.

4.10 LAIS

É um framework [12] cujos os principais objetivos é oferecer:

- uma abordagem de modelagem flexível, acessível e modular.
- uma plataforma de simulação baseada em agentes multithreaded.
- um conjunto de ferramentas para modelar sistemas biológicos no geral, e o sistema imunológico em particular.

O autor de LAIS em sua dissertação “*Agent-based Simulation of the Immune System*” propôs, executou e discutiu vários modelos e simulações do SI para o framework LAIS, destacando a versatilidade da plataforma e o foco nas interações moleculares de baixo nível.

Modelos desenvolvidos em LAIS são discretos no espaço e tempo. O espaço de simulação consiste de uma *lattice* 2D e é dividido em 2 camadas. A camada mais de baixo é um CA modificado, responsável pela difusão, reação e evaporação de substâncias, enquanto que a camada mais acima representa o espaço onde os agentes se movem e atuam. Comunicação entre as duas camadas ocorre quando agentes produzem ou consomem substâncias, ou quando a ação de um agente depende das substâncias do ambiente. Esta abordagem segue um caminho similar aos dos modelos IMMSIM e AbAIS, com algumas diferenças.

A concentração de substâncias é dada por valores reais e podem estar presentes da camada mais baixa do modelo ou na superfície dos agentes. Antígeno é considerado uma substância, sendo diferenciado de patógenos que são agentes (e podem produzir

antígeno ou apresentar em sua superfície). Substâncias são definidas por cadeias de bits, então o repertório de agentes é definido por substâncias superficiais que são apresentadas ao ambiente ou a outros agentes. Agentes comunicam e atuam dependendo da interação das substâncias em sua superfície ou no ambiente.

Property	Implementation
Prog. lang.	Java (w/ RepastJ API)
Model lang.	XML
Param. setup	XML
Space	2D discrete
Time	Discrete

Figura 4.16 - Principais características do LAIS

A arquitetura do LAIS pode ser dividida em 3 componentes principais: *Simulation Model*, *Scripting and Event Model* e *Data Output Model*. O primeiro é o elemento principal, determinando o comportamento e propriedades de cada componente da simulação. O segundo é responsável por executar os eventos definidos pelo usuário, determinando como e quando eles ocorrem. E o terceiro define quais dados da simulação serão gravados, como eles serão gravados, apresentados e exportados.

4.11 CancerSim

É um modelo [1] criado para explorar as características distintas ou notáveis (os hallmarks) do câncer definidas no artigo [15]. O programa chamado CancerSim permite o usuário explorar o câncer simulando e visualizando o crescimento da célula e alteração fenotípica. Usuários podem ver como as características interagem e podem afetar a simulação mudando os parâmetros do modelo.

CancerSim não simula toda nuance de toda forma de câncer. Ao invés disso, seu objetivo é determinar o quanto as características colocadas por Hanahan and Weinberg são relevantes para aparência e comportamento do câncer.

O foco é na dinâmica de alto nível da gênese do tumor. No CancerSim não há distinção entre genótipo e fenótipo; o genótipo de uma célula é simplesmente um vetor booleano cujos os valores habilitam ou desabilitam certos comportamentos.

CancerSim varia do autômato celular clássico de várias formas. Primeiro o programa atribui probabilidade para que cada ação ocorra, então não é um mapeamento

dos estados do elemento e de seus vizinhos para um estado sucessor. Segundo a maioria dos elementos não mudam a cada passo de tempo. Há duas razões para isso. A primeira é que a maior parte da *lattice* representa espaços vazios a maior parte do tempo. Por exemplo, com uma *lattice* de tamanho 125.000, não mais do que 16.000 elementos estarão ocupados. A segunda razão é que as únicas mudanças observáveis em uma célula são apoptose e substituição (devido à mitose de uma célula vizinha que ignora a inibição de crescimento). O programa evita atualizações desnecessárias usando um modelo de eventos discreto. Isto significa que cada atualização futura é representada por uma estrutura de dados. O conjunto de todas as atualizações futuras é guardado em uma fila de prioridades, ordenada pelo tempo do evento. Só atualizações observáveis são executadas.

A simulação começa inicializando todos os elementos que representam espaço vazio. Depois o elemento no centro da *lattice* é mudado para representar uma célula sem mutações. Mitose é planejada para essa célula para ocorrer no próximo passo de tempo. Depois das células filhas serem criadas, mitose é planejada para o futuro para cada uma delas. A mitose é executada copiando-se informação genética de uma célula para um espaço desocupado adjacente na *lattice*. Erros aleatórios ocorrem nesse processo de cópia para simular mutação. No CancerSim, esses erros sempre adicionam novas mutações e nunca corrigem mutações anteriores. Frequentemente, células ficam incapazes de proliferar por causa de alguma limitação. Por exemplo, não deve haver nenhum espaço livre adjacente à célula ou o sinal de crescimento é insuficiente. Células superam essas limitações através de mutação.

O sistema vascular do CancerSim desenvolve de acordo com sinais enviados pelas células. Cada elemento na *lattice* pode estar ocupado por um segmento capilar. Nutrientes difundem e cada elemento capilar para os elementos vizinhos. O nutriente disponível para cada célula é a soma das contribuições de todos os segmentos capilares, sendo que as contribuições de capilares distantes são pequenas. O segmento capilar inicial é co-aloado com a célula inicial. Quando uma célula recém-criada tem nutrientes insuficientes, um novo segmento capilar é criado no elemento candidato mais próximo. Um elemento candidato é qualquer elemento adjacente a um segmento capilar existente; isto garante que os capilares sejam contínuos. Porém, se a nova célula era fora de um limite pré-definido, nenhuma angiogênese irá ocorrer a menos que o fenótipo da célula inclua *Cause Angiogenesis*.

A simulação pode concluir de 3 formas diferentes. Primeira, todas as células morrem por causa da idade. Segunda, um número arbitrário de iterações é alcançado. Sem esse limite de tempo CancerSim poderia continuar para sempre devido a mutação existente denominada *Evade Apoptosis* que se ocorrer em uma célula faz com que esta não esteja mais sujeita à apoptose. Terceira, a simulação termina quando o câncer desenvolve. O critério para o estabelecimento de câncer é a ocupação de 90% da *lattice*.

Capítulo 5

Considerações finais e trabalhos futuros

Desde a descoberta dos anticorpos até os dias presentes as idéias sobre o que constitui o SI têm mudado radicalmente. Inicialmente o foco era na defesa contra a infecção e a tarefa dos anticorpos naquela função. O SI era considerado um conjunto de componentes que produziam anticorpos em resposta a certos estímulos externos. Subseqüentemente, observações do fenômeno imune não mediado por anticorpos conduziu a idéia de imunidade mediada por célula. A ênfase se deslocou para a natureza desses dois subsistemas (ou módulos) e a relação entre eles. Se tornou aparente que módulos adicionais (subconjunto indutor e subconjunto supressor) eram necessários e depois outros sistemas, como os sistemas reticuloendotelial e hematopoiético, também tinham impactos no SI. A importância dessa revisão é mostrar como durante a evolução do modelo do SI novas influências de outros sistemas dentro do corpo são inicialmente percebidas como fora do SI existente mas que interagem com este sistema. Depois quando mais informações se tornam disponíveis sobre a extensão e natureza da relação, esses outros sistemas gradualmente se condensam em módulos do SI.

Ultimamente, uma grande quantidade de trabalhos está documentando associações significativas entre variáveis psicológicas (como padrões de comportamento, perfis de personalidades, humor, e estados afetivos) e várias medidas na imunologia. Exemplos dessa associação variam do bem conhecido efeito “placebo”, através do qual mudanças na resposta imune e ocorrência de doenças infecciosas associadas com nível de *stress* perceptível até extraordinárias observações de pessoas com desordem de múltipla personalidade que exibem alergias em uma personalidade mas não em outra. Então um outro trabalho futuro muito interessante seria revisar o modelo do SI para que ele não só explique interações psiconeuroimunes mas também ser capaz de fazer afirmativas sobre a natureza de fenômenos prováveis dentro do domínio psiconeuroimune.

- O estudo dos simuladores do sistema imunológico foi importante para saber quais mecanismos foram escolhidos para serem implementados, como estes mecanismos foram implementados, quais as tecnologias usadas, as diferentes arquiteturas, etc.

Dada a necessidade de melhoria contínua dos modelos do SI e, conseqüentemente dos simuladores que o implementam é importante compreender como

são implementados os simuladores atuais para que se possa pensar em melhorias, extensões. Além disso é importante saber quais mecanismos foram escolhidos para serem implementados, como estes mecanismos foram implementados, quais as tecnologias usadas e quais as arquiteturas dos simuladores. E depois de compreender como funcionam vários simuladores do sistema imunológico uma questão que surge é: Qual deve ser melhorado, estendido?

O melhor por exemplo.

Outras questões que surgem a partir dessa resposta: Qual é o melhor?

A resposta à essa pergunta é difícil de ser dada devido ao fato de que os simuladores foram desenvolvidos com propósitos diferentes. A resposta à essa pergunta poderia ser respondida se fosse definido com qual propósito o simulador será utilizado ou em qual cenário ele será utilizado.

Para ser feita uma comparação e conseqüentemente uma classificação com o objetivo de se determinar o melhor deve ser definido um conjunto de eixos de classificação, ou seja, é definido um conjunto de características que serão analisadas em cada um dos simuladores e o resultado dessa análise é um valor que junto com os outros valores de outras características do mesmo simulador poderão ser usadas no cálculo de um único valor, que será usado na classificação.

Qual deve ser escolhido para experiências *in silico*?

A resposta depende obviamente das características das experiências. É importante saber com que propósito o simulador foi projetado, quais seus principais objetivos, quais as células e moléculas implementadas, se todas as interações entre células e moléculas necessárias para se realizar a experiência foram implementadas, se todos os mecanismos e teorias necessários foram implementados, entre outras questões. Por exemplo, para escolher um simulador você pode definir um conjunto de requisitos que ele deve atender, por exemplo, o nível de abstração do modelo, o nível de granularidade, a estrutura espacial, a dinâmica das difusões, das reações, entre muitos outros. Você pode, por exemplo, definir um peso diferente para cada requisito e um conjunto de valores que este requisito pode assumir como implementado, parcialmente implementado e não implementado. Então depois de definido os requisitos e a forma de avaliá-los é só verificar se cada simulador que está sendo comparado atende a cada um dos requisitos escolhidos.

Qual o modelo mais fiel?

O modelo mais fiel poderia ser aquele que implementa a maior quantidade de teorias, que reproduz os princípios do SI.

O problema em adotar essa medida pode estar no fato de que algumas teorias ainda não foram comprovadas experimentalmente e devido a isso muitas vezes não são consensuais na comunidade científica. E quanto aos princípios como, por exemplo, auto-organização, aprendizado, adaptação, memória, redundância, robustez, entre outros, não há ainda para alguns deles um método único para implementá-los. Desta forma as possíveis alternativas devem ser analisadas e comparadas se possível para determinar a que mais se aproxima do comportamento desejado.

Um trabalho futuro seria realizar uma comparação detalhada, utilizando a maior quantidade de eixos de comparação e se possível realizando experiências *in silico* com dados reais com cada um deles. Para realmente poder determinar para um determinado mecanismo do sistema imunológico qual simulador se aproximou mais dos resultados *in vitro* e/ou *in vivo*.

Neste presente trabalho analisando algumas características de cada simulador observou-se que muitas dessas são comuns entre os simuladores:

- Receptores, peptídeos, epítomos são representados como cadeias de bits.
- parâmetros configuráveis, visualização da simulação e dos resultados.
- A afinidade é dada pelo número de bits complementares.
- A maioria utiliza um modelo semelhante a:

Para cada agente do modelo a cada iteração faça: interaja com todas as células e moléculas da vizinhança, execute as regras cujas as condições são satisfeitas e realiza as ações definidas nessas regras.

- Uso de probabilidades da escolha das ações que serão executadas.
- Implementação da seleção clonal

E também observou-se que todos os simuladores ou a maioria deles não implementou as seguintes características:

- Seleção positiva, negativa.
- Rede idiotípica
- Mecanismo de supressão
- Mecanismo de feedback
- Arquitetura para execução distribuída (execução com código paralelo)

- O comportamento dos agentes não é adaptativo, ou seja, não evoluiu com o tempo.
- Não permite definir propriedades (atributos) para as células
- Não permite a adição de novas células, regras
- Não implementa o fenômeno da quimiotaxia
- Não implementa interações entre células do sistema reticuloendotelial e células do sistema imune
- Não implementa a difusão de substâncias químicas

Um outro trabalho que seria fundamental mas que levaria muito tempo para ser realizado seria desenvolver um simulador distribuído do sistema imunológico de 3 dimensões, incorporando equações de movimento que devem reproduzir de forma mais próxima possível o movimento observado *in vivo* para todos os tipos de células e moléculas do SI. Além de desenvolver métodos de visualização cada vez mais sofisticados, simplificando a tarefa de entender e especificar os modelos. E incorporando a maior quantidade de mecanismos, teorias conhecidos da forma mais eficiente e otimizada possível.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABBOTT, Robert. **A Computer-Based Simulation of Hanahan and Weinberg's Hallmarks of Cancer.** Disponível em: <www.cs.unm.edu/~forrest/software/cancersim/thesis.pdf>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [2] BALDAZZI, V. CASTIGLIONE, F. BERNASCHI, M. **An enhanced agent based model of the immune system response.** Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WCF-4NFR5P6-2&_user=686369&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_view=c&_acct=C000037520&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686369&_md5=978b3a71521372754e5b713c91313833>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [3] BERNASCHI, M. CASTIGLIONE, F. SUCCI, S. **A high performance simulator of the immune response.** Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V06-3XWYWG5-N&_user=686369&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_view=c&_acct=C000037520&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686369&_md5=d5bd8572db24397675839cdf51123358>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [4] BERNASCHI, M. CASTIGLIONE, F. **Selection of escape mutants from immune recognition during HIV infection.** Disponível em: <www.iac.rm.cnr.it/~massimo/papers/icb1.pdf>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [5] BEZZI, Michele, et al. **The Transition between Immune and Disease States in a Cellular Automaton Model of Clonal Immune Response.** Disponível em: <<http://www.engg.upd.edu.ph/~compbio/slides/Bezzi%20et%20al%20Cellular%20Automaton%20Model.pdf>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [6] CASTIGLIONE, Filippo, et al. **Mutation, Fitness, Viral Diversity, and Predictive Markers of Disease Progression in a Computational Model of HIV Type 1 Infection.** Disponível em: <<http://www.liebertonline.com/doi/abs/10.1089/aid.2004.20.1314>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [7] CASTRO, Leandro Nunes de. **Engenharia Imunológica: Desenvolvimento e Aplicação de Ferramentas Computacionais Inspiradas em Sistemas Imunológicos Artificiais.** Disponível em <www.dca.fee.unicamp.br/~vonzuben/research/lnunes_dout/index.html>. Acesso em: 22 novembro 2007.
- [8] CASTRO, Leandro Nunes de. et al. **Computação Natural: Uma Breve Visão Geral.** Disponível em: <www.eletrica.ufsj.edu.br/~nepomuceno/ensino/complex/castro_nanobio.pdf>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [9] CELADA, F. SEIDEN, P. E. **A computer model of cellular interactions in the immune system.** Disponível em: <<http://staff.science.uva.nl/~mdekkers/articles/Modelling%20Progression/Celada%20F%201992.pdf>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [10] COHEN, Oren J. *et al.* **Studies on lymphoid tissue from HIV-infected individuals: implications for the design of therapeutic strategies.** Disponível em: <<http://www.springerlink.com/content/j230418787ut0651/fulltext.pdf>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [11] ELIZABETHWARRENDER, Christina. **Modeling intercellular interactions in the peripheral immune system.** Disponível em: <www.cs.unm.edu/~christy/dissertation.pdf>. Acesso em: 30 novembro 2008.

- [12]FACHADA, Nuno Maria Carvalho Pereira Fernandes. **Agent-based Simulation of the Immune System**. Disponível em: <<https://fenix.ist.utl.pt/homepage/ist145239/publicacoes>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [13]FACHADA, Nuno. LOPES, Vitor V. ROSA, Agostinho. **Agent Based Modelling and Simulation of the Immune System: a Review**. Disponível em: <https://dspace.ist.utl.pt/bitstream/2295/128229/2/article_cut.pdf>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [14]GRILO, António. CAETANO, Artur. ROSA, Agostinho. **Immune System Simulation through a Complex Adaptive System Model**. Disponível em: <<laseeb.isr.ist.utl.pt/people/acrosa/agva99/agva99fm.ps>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [15]HANAHAN, Douglas. WEINBERG, Robert A. **The Hallmarks of Cancer**. Disponível em: http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6WSN-4195FC1-5&_user=686369&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_view=c&_acct=C000037520&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686369&md5=7ae6d0a7cbd6a8cccd7f47a0bd2e7f88. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [16]JACOB, Christian. LITORCO, Julius. LEE, Leo. **Immunity through Swarms: Agent-based Simulations of the Human Immune System**. Disponível em: <<http://pages.cpsc.ucalgary.ca/~jacob/Publications/2004/Jacobetal2004.pdf>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [17]KALITA, J.K. *et al.* **Computational modelling and simulation of the immune system**. Disponível em: <http://inderscience.metapress.com/app/home/contribution.asp?referrer=parent&backto=issue,5,6;journal,12,16;linkingpublicationresults,1:113293,1>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [18]KLEINSTEIN, S.H.; SEIDEN, P.E. **Simulating the immune system**. Disponível em: <<http://ieeexplore.ieee.org/iel5/5992/1851/00852392.pdf?tp=&isnumber=&arnumber=852392>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [19]MACK, G. MEIER-SHELLERSHEIM, M. **SIMMUNE, a tool for simulating and analyzing Immune System behavior**. Disponível em: <<http://arxiv.org/abs/cs/9903017>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [20]PERELSON, Alan S. WEISBUCH, Gerard. **Immunology for physicists**. Disponível em: <http://prola.aps.org/pdf/RMP/v69/i4/p1219_1>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [21]PERELSON, Alan S. **Modelling viral and immune system dynamics**. Disponível em: <www.tb.ethz.ch/education/model/HIV_module_1/hivreview.pdf>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [22]PUZONE, R. *et al.* **IMMSIM, a flexible model for in machina experiments on immune system responses**. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6V06-460M7DH-1&_user=686369&_rdoc=1&_fmt=&_orig=search&_sort=d&_view=c&_acct=C000037520&_version=1&_urlVersion=0&_userid=686369&md5=9f3ffd3d15421366b1f5216fd28ca56e>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [23]TAY, Joc Cing. JHAVAR, Atul. **CAFISS: A Complex Adaptive Framework for Immune System Simulation**. Disponível em: <<http://delivery.acm.org/10.1145/1070000/1066716/p158-tay.pdf?key1=1066716&key2=2825908221&coll=GUIDE&dl=GUIDE&CFID=13336156&CFTOKEN=10277071>>. Acesso em: 30 novembro 2008.

- [24]FACHADA, Nuno Maria Carvalho Pereira Fernandes. **Simulim: an application for the modelling and Simulation of complex systems, using the immune System as an example.** Disponível em: <<https://fenix.ist.utl.pt/homepage/ist145239/publicacoes>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [25]DAIGLE, John. **Human Immune System Simulation: A Survey of Current Approaches.** Disponível em: <<http://student.johnpdaigle.com/immune.html>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [26]LIU, Furong. WANG, Qiaoling. GAO, Xiaozhi. **Survey of Artificial Immune System.** Disponível em: <http://ieeexplore.ieee.org/xpl/freeabs_all.jsp?arnumber=1627489>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [27]FORREST, Stephanie. BEAUCHEMIN, Catherine. **Computer immunology.** Disponível em: <<http://www3.interscience.wiley.com/journal/118503685/abstract>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [28]CATHERINE, Beauchemin. **Modelling the Immune System.** Disponível em: <<http://phymbie.physics.ryerson.ca/~cbeau/docs/immuno.pdf>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [29]HANEGRRAFF, Wouter. **Simulating the Immune System.** Disponível em: <<http://www.lymenet.de/literatur/hanegraaff.pdf>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [30]CASTIGLIONE, Filippo e BERNASCHI, Massimo. **Design and implementation of an immune system simulator.** Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/els/00104825/2001/00000031/00000005/art00011>>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [31]CHANG, William. **Analyzing Immunotherapy and Chemotherapy of Tumors through Mathematical Modeling.** Disponível em: <www.math.utah.edu/~crowl/research/tumor.pdf>. Acesso em: 30 novembro 2008.
- [32]CHRISTY. **CyCells.** Disponível em: <<http://www.cs.unm.edu/~christy/simcode/cycells.html>>. Acesso em: 6 dezembro 2008.
- [33]MACAL, Charles M. NORTH, Michael J. **Tutorial on agent-based modeling and simulation part 2: how to model with agents.** Disponível em: <www.informs-sim.org/wsc06papers/008.pdf>. Acesso em: 6 dezembro 2008.