

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MODELAGEM COMPUTACIONAL

Carla Rezende Barbosa Bonin

Modelagem Computacional da Resposta Imune à Vacina Contra Febre Amarela

Juiz de Fora

2019

Carla Rezende Barbosa Bonin

Modelagem computacional da resposta imune à vacina contra febre amarela

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

Orientador: Prof. D.Sc. Marcelo Lobosco

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

Coorientador: Prof. D.Sc. Guilherme Côrtes Fernandes

Juiz de Fora

2019

Ficha catalográfica elaborada através do programa de geração automática da Biblioteca Universitária da UFJF, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Bonin, Carla Rezende Barbosa.

Modelagem computacional da resposta imune à vacina contra febre amarela / Carla Rezende Barbosa Bonin. -- 2019.
136 f.

Orientador: Marcelo Lobosco

Coorientadores: Rodrigo Weber dos Santos, Guilherme Côrtes Fernandes

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Juiz de Fora, ICE/Engenharia. Programa de Pós-Graduação em Modelagem Computacional, 2019.

1. Modelagem Computacional. 2. Modelagem Matemática. 3. Sistema imune. 4. Febre amarela. 5. Equações diferenciais ordinárias. I. Lobosco, Marcelo, orient. II. dos Santos, Rodrigo Weber, coorient. III. Fernandes, Guilherme Côrtes, coorient. IV. Título.

Carla Rezende Barbosa Bonin

Modelagem computacional da resposta imune à vacina contra febre amarela

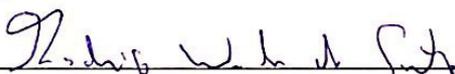
Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional, da Universidade Federal de Juiz de Fora como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Modelagem Computacional.

Aprovada em 24 de junho de 2019.

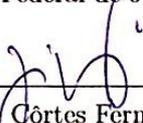
BANCA EXAMINADORA



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



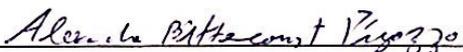
Prof. D.Sc. Rodrigo Weber dos Santos - Coorientador
Universidade Federal de Juiz de Fora



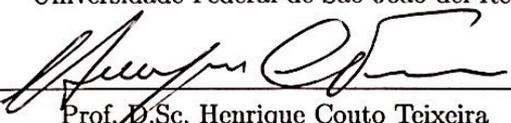
Prof. D.Sc. Guilherme Côrtes Fernandes - Coorientador
Universidade Presidente Antônio Carlos



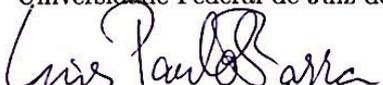
Prof. Ph.D. Luiz Antonio Bastos Camacho
Fundação Oswaldo Cruz



Prof. D.Sc. Alexandre Bittencourt Pigozzo
Universidade Federal de São João del-Rei



Prof. D.Sc. Henrique Couto Teixeira
Universidade Federal de Juiz de Fora



Prof. D.Sc. Luis Paulo da Silva Barra
Universidade Federal de Juiz de Fora

AGRADECIMENTOS

Eu poderia escrever dezenas de páginas apenas para agradecer a todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização de mais esse sonho. Como não é possível, uso este espaço para ressaltar alguns dos pilares que me sustentaram por todos esses anos.

Em primeiro lugar, Ele, que em momento algum me faltou. Aos meus pais, pela criação, pelos valores e pelo incentivo. Em especial à minha mãe, uma educadora por vocação, que sempre me ensinou o poder transformador da educação e se esforçou desde sempre para que eu pudesse ter educação de qualidade. E hoje, no fim desse ciclo, dedico essa vitória à ela, que sempre quis, sempre se esforçou e sempre acreditou que seria possível.

Não posso deixar de agradecer àqueles que, de forma muito generosa, compartilharam um pouco do seu vasto conhecimento comigo, me ajudando nessa tarefa árdua de ser pesquisador no Brasil. Meus orientadores, Marcelo Lobosco, Rodrigo Weber dos Santos e Guilherme Cortes Fernandes, que por muitas vezes me atenderam aos finais de semana, feriados e até mesmo nas férias, sempre me ensinando, me apoiando e por vezes me acalmando.

Um agradecimento muito especial aos parceiros que se juntaram ao projeto. Ao professor Luiz Antônio Bastos Camacho, que sempre esteve disposto a compartilhar seu amplo conhecimento na área de Febre Amarela e que participou de todos os meus exames de avaliação, desde a defesa de mestrado. Além disso, me apresentou aos pesquisadores do Instituto René Rachou, FioCruz Minas, em especial ao Dr. Olindo Assis Martins Filho e à Dra. Ana Carolina Campi-Azevedo, que me receberam muito bem e sempre se mostraram dispostos a me ajudar e esclarecer minhas dúvidas. Gostaria também de deixar registrado aqui minha eterna gratidão ao Dr. Reinaldo de Menezes Martins por todo seu legado e pelos minutos preciosos da sua atenção e do seu conhecimento.

Gostaria de agradecer também aos amigos do PGMC. Por último, meu maior agradecimento ao meu marido. Aquele que viu de perto os momentos mais difíceis e me deu os melhores abraços nos momentos de comemoração. Aquele que sempre me acalmou, me ajudou, me incentivou e me fez acreditar que eu era capaz. Ao meu parceiro de vida, meu amor eterno e minha gratidão!

A todos, meu muito obrigado!

*"Tudo o que é seu encontrará uma
maneira de chegar até você."*

(Chico Xavier)

RESUMO

Desde 1937 está disponível uma vacina eficaz contra febre amarela. Ainda assim, questões relativas a seu uso permanecem pouco entendidas, como, por exemplo, a dose ideal capaz de conferir imunidade contra a doença, a necessidade de dose reforço, o esquema ideal de vacinação para indivíduos imunocompetentes, imunossuprimidos, e crianças, dentre outras questões. O objetivo deste trabalho é demonstrar que ferramentas computacionais podem ser utilizadas para simular diferentes cenários referentes à vacinação contra a febre amarela e à resposta imune dos indivíduos a esta vacina, auxiliando assim na busca pelas respostas de algumas destas questões em aberto. Neste contexto, este trabalho apresenta um modelo computacional da resposta imune humana à vacinação contra a febre amarela. O modelo leva em conta importantes células e moléculas do sistema imune humano como células apresentadoras de antígeno, linfócitos B e T, células de memória e anticorpos. O modelo foi capaz de reproduzir os níveis de anticorpos obtidos experimentalmente em diferentes cenários relativos à vacinação, permitindo uma validação quantitativa com dados experimentais. Adicionalmente foram reproduzidos qualitativamente alguns comportamentos da resposta imune descritos na literatura. Foram simuladas as respostas imunes de indivíduos adultos primovacinados, revacinados e portadores de doenças autoimunes sob uso de terapia imunomoduladora. Além disso, reproduziu-se o comportamento observado na primovacinação de crianças e os níveis de anticorpos produzidos pela administração de doses menores de vacinas, comparados aos obtidos pela dose referência.

Palavras-chave: Vacina. Febre amarela. Modelagem matemática. Modelagem Computacional. Sistema imune. Equações diferenciais ordinárias.

ABSTRACT

An effective yellow fever vaccine has been available since 1937. Nevertheless, questions regarding its use remain poorly understood, such as the ideal dose to confer immunity against the disease, the need for booster dose, the optimal immunization schedule for immunocompetent, immunosuppressed, and children, among other issues. The objective of this work is to demonstrate that computational tools can be used to simulate different scenarios regarding yellow fever vaccination and the immune response of the individuals to this vaccine, thus assisting the response of some of these open questions. In this context, this work presents a computational model of the human immune response to vaccination against yellow fever. The model takes into account important cells and molecules of the human immune system such as antigen presenting cells, B and T lymphocytes, memory cells and antibodies. The model was able to replicate the levels of antibodies obtained experimentally in different vaccination scenarios, allowing a quantitative validation with experimental data. In addition, some behaviors of the immune response described in the literature were reproduced qualitatively. The immune responses of primovaccinated, revaccinated adult individuals with autoimmune diseases under immunomodulatory therapy were simulated. In addition, the behavior observed in the primary vaccination of children and the levels of antibodies produced by the administration of smaller doses of vaccines were reproduced, compared to those obtained by the reference dose.

Keywords: Vaccine. Yellow fever. Mathematical modeling. Computational modeling. Immune system. Ordinary Differential Equations.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	21
1.1	Revisão Bibliográfica	26
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	31
2.1	Sistema imune humano	31
2.1.1	<i>Principais células do SIH</i>	34
2.2	Casos especiais	40
2.2.1	<i>Indivíduos que fazem uso de terapias imunomoduladoras</i>	40
2.2.2	<i>Crianças</i>	41
2.3	Febre Amarela	42
2.3.1	<i>Aspectos Clínicos</i>	43
2.3.2	<i>Aspectos epidemiológicos</i>	44
2.3.3	<i>Vacina contra FA</i>	46
3	MÉTODOS	50
3.1	Modelo matemático	50
3.1.1	<i>Detalhamento do modelo</i>	54
3.1.2	<i>Modelo completo</i>	58
3.2	Histórico do modelo	59
3.3	Implementação computacional	61
3.3.1	<i>Métodos BDF</i>	62
3.3.2	<i>Métodos de Adams</i>	63
3.4	Dados experimentais	64
4	RESULTADOS	69
4.1	Experimentos computacionais realizados	70
4.2	Primeira vacinação	73
4.3	Dose Reforço	75
4.4	Crianças	78
4.5	Resposta imune em indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora	83

4.6	Dose Resposta	97
4.7	Variação da quantidade inicial de células T CD4+ <i>naive</i>	101
4.8	Variação da quantidade inicial de células T CD8+ <i>naive</i>	104
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	108
	APÊNDICES	124

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

1.1	Série histórica do número de casos humanos confirmados para FA no Brasil e a letalidade, de 1980 a junho de 2018. Extraído de Ministério da Saúde (2018a).	22
1.2	Distribuição por sexo e faixa etária dos casos confirmados de FA de julho de 2017 a junho de 2018. Extraído de Ministério da Saúde (2018b).	23
1.3	Distribuição dos municípios segundo a recomendação de vacinação para controle de surto e prevenção de FA, Brasil, 2017. Extraído de Ministério da Saúde (2017).	24
1.4	Áreas Com Recomendação de Vacinação (ACRV), Áreas Sem Recomendação de Vacinação (ASRV), áreas afetadas e ampliadas. Extraído de Ministério da Saúde (2018a).	25
2.1	Órgãos do SIH. Adaptado de Murphy <i>et al.</i> (2010).	32
2.2	Ícones usados no texto para representar as principais células e moléculas do SIH e o vírus. Autoria própria.	34
2.3	Processo de fagocitose. Adaptado de Murphy e Weaver (2008).	35
2.4	Processo de ativação dos linfócitos B dependente da assistência dos linfócitos T CD4+. Além do reconhecimento direto do antígeno pelos receptores dos linfócitos B, é necessária também a ligação de um linfócito T CD4+ ativado para que este libere citocinas que funcionam como um sinal complementar para a ativação dos linfócitos B. Autoria própria.	36
2.5	Representação simplificada de uma molécula de anticorpo. Autoria própria. . .	38
2.6	Representação simplificada de uma célula infectada por vírus. Autoria própria.	39
2.7	Esquema da resposta imune à infecção por um micro-organismo. Extraído de Murphy <i>et al.</i> (2010).	39
2.8	Ciclos de manutenção da FA. Autoria própria.	45
2.9	Áreas com recomendação de vacinação contra FA nos países da África. Extraído de Centers for Disease Control and Prevention (2018a)	45
2.10	Áreas com recomendação de vacinação contra FA nos países das Américas. Extraído de Centers for Disease Control and Prevention (2018a)	46

3.1	Esquema da interação entre as populações consideradas no modelo.	53
3.2	Esquema de ativação e diferenciação das células B. Adaptado de Sompayrac (2008).	54
4.1	Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação. “GMT Dados” (♦) refere-se à média geométrica dos dados experimentais e “GMT Modelo” (●) à média geométrica dos resultados computacionais.	74
4.2	Comparação entre a curva de anticorpos (–) gerada pelo modelo para 5.000 dias de simulação e os dados experimentais (●) obtidos de indivíduos primovacinados nesse período.	76
4.3	Comparação entre a curva de anticorpos (–) gerada pelo modelo para os 100 primeiros dias de simulação e os dados experimentais (●) obtidos de indivíduos primovacinados nesse período.	77
4.4	Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, primeira dose e dose reforço. “GMT Dados” (♦) refere-se à média geométrica dos dados e “GMT Modelo” (●) à média geométrica dos resultados computacionais.	78
4.5	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{pl} no intervalo de 0 a 100 dias. O objetivo de diminuir esse parâmetro é representar a diminuição da indução dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.	79
4.6	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{pl} no intervalo de 100 a 4.000 dias. O objetivo de diminuir esse parâmetro é representar a diminuição da indução dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.	80

4.7	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro δ_{pl} no intervalo de 0 a 100 dias. O objetivo de aumentar esse parâmetro é representar a limitação na persistência dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.	81
4.8	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro δ_{pl} no intervalo de 100 a 4.000 dias. O objetivo de aumentar esse parâmetro é representar a limitação na persistência dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.	82
4.9	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores dos parâmetros β_{pl} e δ_{pl} no intervalo de 0 a 100 dias. O objetivo de alterar esses parâmetros simultaneamente é representar tanto a indução quanto a limitação na persistência dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.	83
4.10	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores dos parâmetros β_{pl} e δ_{pl} no intervalo de 100 a 4.000 dias. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.	84
4.11	Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo após a vacinação em crianças. “GMT Dados Experimentais” (◆) refere-se à média geométrica dos dados de crianças e “GMT Modelo Crianças” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo com os parâmetros ajustados para representar a resposta imune de crianças.	85

4.12	Níveis de anticorpos gerados pelo modelo (para adultos e crianças) e dados experimentais de adultos e crianças. “GMT Dados Crianças” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de crianças e “GMT Modelo Crianças” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo com os parâmetros ajustados para representar a resposta imune de crianças. “GMT Dados Adultos” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de adultos e “GMT Modelo Adultos” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo usando os valores padrão definidos para adultos.	86
4.13	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro α_b para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.	87
4.14	Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, para indivíduos controle e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. “GMT Dados Controle” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos controle e “GMT Modelo Controle” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo sem ajuste. “GMT Dados Imunomoduladores” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos sob uso de terapia e “GMT Modelo Imunomoduladores” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo ajustado para representar indivíduos sob uso de terapia.	88
4.15	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{ps} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.	89
4.16	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{ps} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada nos 100 primeiros dias de simulação.	90
4.17	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{pl} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.	91

4.18	Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{bm} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.	92
4.19	Curvas de variação simultânea dos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.	93
4.20	Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, para indivíduos controle e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. “GMT Dados Controle” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos controle e “GMT Modelo Controle” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo sem ajuste. “GMT Dados Imunomoduladores” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos sob uso de terapia e “GMT Modelo Imunomoduladores” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo ajustado para representar indivíduos sob uso de terapia.	94
4.21	Curvas de variação da quantidade inicial de células B (B_0) para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.	95
4.22	Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, para indivíduos controle e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. “GMT Dados Controle” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos controle e “GMT Modelo Controle” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo sem ajuste. “GMT Dados Imunomoduladores” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos sob uso de terapia e “GMT Modelo Imunomoduladores” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo ajustado para representar indivíduos sob uso de terapia.	96

4.23	Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha vermelha), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo as diferentes doses da vacina no intervalo de 30 a 45 dias após a vacinação. “GMT Dados” (◆) refere-se à média geométrica dos dados experimentais e “GMT Modelo” (●) à média geométrica dos resultados computacionais, ambos obtidos para cada dose.	98
4.24	Curvas dos níveis de anticorpos obtidos após 100 dias de simulação do modelo para diferentes doses da vacina.	100
4.25	Curvas dos níveis de anticorpos obtidos após 1.000 dias de simulação do modelo para diferentes doses da vacina.	101
4.26	Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de vírus.	102
4.27	Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de vírus.	103
4.28	Curvas dos níveis de anticorpos geradas pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD4+. A linha tracejada (- -) representa o nível mínimo de anticorpos considerado protetor.	104
4.29	Curvas dos níveis de anticorpos obtidas pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD4+. A linha tracejada (- -) representa o nível mínimo de anticorpos considerado protetor.	105
4.30	Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de células T CD4+.	106
4.31	Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de células T CD8+.	106
4.32	Curvas dos níveis de anticorpos obtidos pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD8+.	107
4.33	Curvas dos níveis de anticorpos obtidos pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD8+.	107
5.1	Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia no intervalo de 0 a 15 dias pós-vacinação.	112

5.2	Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia nos 15 primeiros dias de simulação. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.	113
5.3	Curvas dos níveis de viremia obtidas pela combinação de diferentes valores para os parâmetros escolhidos. As curvas em cinza (—) representam todas as curvas geradas pelas 2.380 combinações e a curva em vermelho (—) representa a média delas.	114
5.4	Curvas dos níveis de anticorpos obtidas pela combinação de diferentes valores para os parâmetros escolhidos. As curvas em cinza (—) representam todas as curvas geradas pelas 2.380 combinações e a curva em vermelho (—) representa a média delas.	115
A.1	Curva de viremia gerada pela simulação do modelo nos primeiros 20 dias após a vacinação.	125
A.2	Curvas de células apresentadoras de antígeno <i>naive</i> geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.	126
A.3	Curva de células apresentadoras de antígeno maduras gerada pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.	126
A.4	Curvas de células T CD4+ <i>naive</i> e efetoras, respectivamente, geradas pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.	127
A.5	Curvas de células T CD8+ <i>naive</i> e efetoras, respectivamente, geradas pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.	127
A.6	Curvas de células B geradas pela simulação do modelo nos primeiros 50 e 4.000 dias após a vacinação.	128
A.7	Curva de plasmócitos de vida curta gerada pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.	128
A.8	Curvas de plasmócitos de vida longa geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.	129
A.9	Curvas de células B de memória geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.	129
A.10	Curvas de anticorpos geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.	130

B.1	Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia no intervalo de 15 a 30 dias pós-vacinação.	131
B.2	Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia no intervalo de 15 a 30 dias. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.	132
B.3	Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 0 a 10 dias pós-vacinação.	133
B.4	Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 0 a 10 dias. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.	134
B.5	Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 10 a 50 dias pós-vacinação.	135
B.6	Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 10 a 50 dias. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.	136

LISTA DE TABELAS

2.1	DMARDs utilizadas pelos pacientes do estudo feito por Ferreira <i>et al.</i> (2019)	41
3.1	Variáveis do modelo e valores iniciais	51
3.2	Parâmetros do modelo	52
3.3	Principais diferenças entre os modelos	60
3.4	Principais diferenças entre os modelos	61
3.5	Uma dose adultos - Anticorpos (\log_{10} mUI/ml) - por intervalo de tempo	65
3.6	Uma dose adultos - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo	65
3.7	Revacinados - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo	66
3.8	Crianças - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo	66
3.9	Uso de terapia imunomoduladora - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo	66
3.10	Dose Resposta - Anticorpos (\log_{10} mUI/ml) - por intervalo de tempo	66
4.1	Erro do modelo para cada intervalo de tempo pós-vacinação	75
4.2	Valores dos parâmetros β_{pl} e δ_{pl} usados no modelo para simular indivíduos adultos e crianças e valores intermediários usados nos testes.	81
4.3	Valores do parâmetro α_b usados no modelo para simular indivíduos controle e sob uso de terapia imunomoduladora combinada e valores intermediários usados nos testes.	88
4.4	Valores dos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} usados no modelo para simular indivíduos controle e cs + bDMARD e valores intermediários usados nos testes.	93
4.5	Valores usados como condição inicial do modelo para a população de células B (B_0) a fim de simular indivíduos controle e cs + bDMARD e valores intermediários.	95
4.6	Erro do modelo para cada dose no intervalo entre 30 e 45 pós vacinação	98
4.7	Detecção viral em indivíduos vacinados com diferentes doses da vacina contra FA	100

LISTA DE ABREVIACOES E SIGLAS

FA	Febre Amarela
RDC	República Democrática do Congo
PNH	Primatas Não Humanos
HIV	<i>Human Immunodeficiency Virus</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
EYE	<i>Eliminate Yellow fever Epidemics</i>
SIH	Sistema Imune Humano
APCs	<i>Antigen Presenting Cells</i>
EDOs	Equações Diferenciais Ordinrias
HB	Hepatite B
JEV	<i>Japanese Encephalitis Virus</i>
MBA	Modelos Baseados em Agentes
EDPs	Equações Diferenciais Parciais
Ig	Imunoglobulina
BCR	Receptor de Células B
ALC	América Latina e Caribe
UNICEF	<i>United Nations International Children's Emergency Fund</i>
AR	Artrite Reumatoide
DMARDs	<i>Disease Modifying Anti-rheumatic Drugs</i>
PRNT	<i>Plaque-Reduction Neutralization Test</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
UI	Unidades Internacionais
PFU	<i>Plaque-Forming Units</i>
GMT	<i>Geometric Mean Titers</i>
BDF	<i>Backward Differentiation Formula</i>
RAM	<i>Random Access Memory</i>
QI	Quantificação de Incertezas

1 INTRODUÇÃO

Desde 1937 está disponível uma vacina eficaz contra a Febre Amarela (FA) (Theiler e Smith, 1937). Apesar disso, ainda ocorrem grandes surtos em países da África e das Américas Central e do Sul. Um desses surtos foi registrado entre 2015 e 2016 em Angola. De 5 de dezembro de 2015 a 4 de agosto de 2016, foram notificados 3.867 casos suspeitos, dos quais 879 foram laboratorialmente confirmados (WHO, 2016). O número total de óbitos notificados foi de 369, dos quais 119 ocorreram entre os casos confirmados (WHO, 2016). Outro importante surto aconteceu na República Democrática do Congo (RDC), também em 2016. Foram reportados ao sistema de vigilância nacional um total de 2.987 casos suspeitos, com 81 casos confirmados laboratorialmente e 16 mortes (WHO, 2017b).

Nas últimas décadas, a FA tem sido registrada no Brasil além dos limites da área considerada endêmica (região amazônica). A ocorrência de casos de FA em humanos geralmente é precedida da transmissão entre macacos e mosquitos vetores silvestres (*Haemagogus* e *Sabethes*). A morte de Primatas Não Humanos (PNH), macacos, sem motivo aparente, é denominada como epizootia ¹ e trata-se de um evento sentinela para uma possível ocorrência de circulação do vírus da FA silvestre.

Casos humanos e epizootias em PNH foram recentemente registrados em uma ampla área do território nacional. Inicialmente, entre 2014 e 2015, a transmissão se deu na região Norte, com posterior expansão no sentido leste e sul do país, onde afetou principalmente a região Centro-Oeste entre 2015 e 2016. Entre 2017 e 2018 foi registrado o surto mais expressivo de FA no Brasil, que afetou principalmente os estados da região Sudeste, quando foram registrados 1.376 casos humanos e 483 óbitos (Ministério da Saúde, 2018a).

A Figura 1.1 apresenta uma série histórica do número de casos humanos confirmados para FA no Brasil e a letalidade, de 1980 a junho de 2018.

Todos os casos de FA registrados no Brasil desde 1942 são considerados silvestres, inclusive os atuais, não tendo sido evidenciada a transmissão por *Aedes aegypti*, apesar da

¹ Conceito utilizado na saúde pública veterinária para qualificar a ocorrência de um determinado evento em um número de animais ao mesmo tempo e na mesma região, podendo levar ou não a morte.

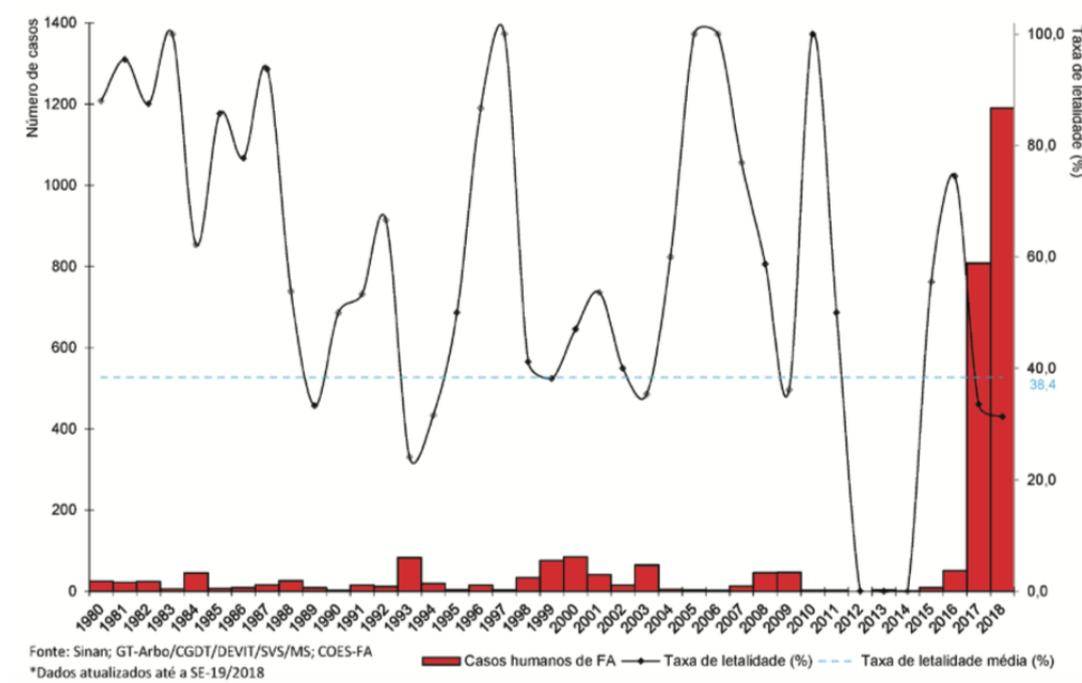


Figura 1.1: Série histórica do número de casos humanos confirmados para FA no Brasil e a letalidade, de 1980 a junho de 2018. Extraído de Ministério da Saúde (2018a).

ocorrência de casos próximos às áreas urbanas. A doença atinge, principalmente, homens em idade economicamente ativa pois se expõem mais às áreas de risco, muitas vezes para exercer suas atividades de trabalho. A Figura 1.2 mostra a distribuição por sexo e faixa etária dos casos confirmados de FA de julho de 2017 a junho de 2018. A maioria dos casos foram observados em indivíduos do sexo masculino em idade economicamente ativa.

A partir de dezembro de 2017 foi registrado o maior surto de FA observado nas últimas décadas. Em virtude desse surto, percebeu-se a expansão da área de circulação do vírus amarelo em municípios que não eram considerados áreas de risco, principalmente nas proximidades das grandes capitais metropolitanas das regiões Sul e Sudeste do Brasil. Por esse motivo, 940 novos municípios foram acrescentados à lista de 3.529 municípios pertencentes à área com recomendação de vacinação (ACRV), totalizando 4.469 municípios.

As Figuras 1.3 e 1.4 mostram os mapas com as áreas de recomendação de vacinação divulgados pelo Ministério da Saúde em Março de 2017 e Dezembro de 2018, respectivamente. É possível perceber que a área com recomendação de vacinação foi ampliada.

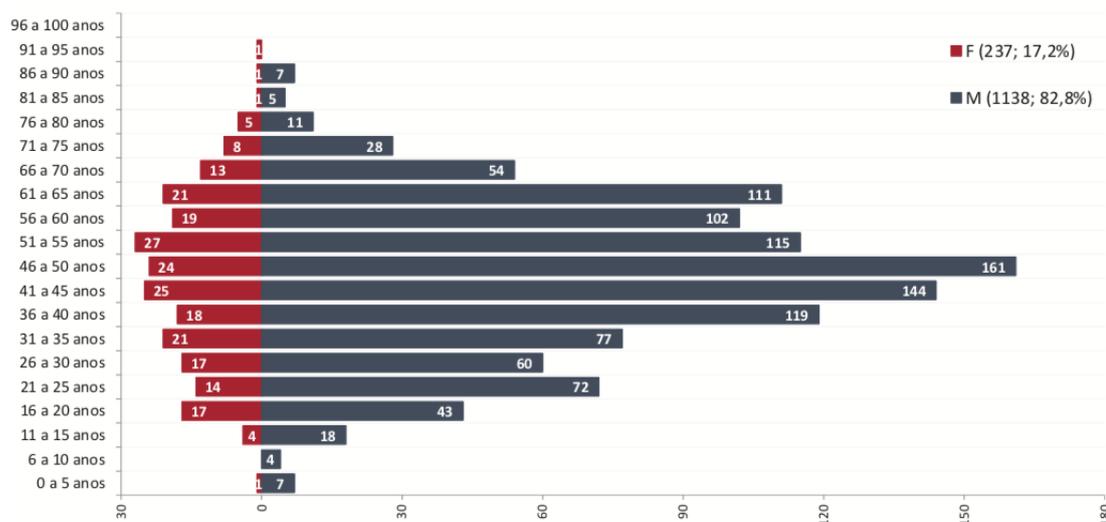


Figura 1.2: Distribuição por sexo e faixa etária dos casos confirmados de FA de julho de 2017 a junho de 2018. Extraído de Ministério da Saúde (2018b).

O controle dos surtos em Angola e na RDC exigiu esforços consideráveis por parte desses países e da comunidade internacional e incluiu a vacinação de mais de 30 milhões de pessoas em campanhas de emergência (WHO, 2017a). Os estoques mundiais de vacina contra FA não estão preparados para suprir a necessidade nessas ocasiões. Dessa forma, em Kinshasa, capital da RDC, foram administradas doses fracionadas da vacina contra FA (WHO, 2017a). Estudos apontam que as doses fracionadas apresentam a mesma imunogenicidade das doses padrão, pelo menos a curto e médio prazos. Estudos realizados durante a campanha vacinal na RDC obtiveram resultados semelhantes de imunogenicidade da dose fracionada da vacina contra FA, corroborando sobre a efetividade da utilização de doses fracionadas para controle da doença (Ahuka-Mundeke *et al.*, 2018; Vannice *et al.*, 2018). O mais recente deles foi elaborado por Martins *et al.* (2018) e aponta a presença de anticorpos contra FA, após 8 anos, semelhante ao observado com a dose padrão neste mesmo período. Essa estratégia ainda é indicada apenas para o controle de surtos nos casos em que o estoque disponível não é suficiente.

No Brasil, uma campanha de vacinação utilizando doses fracionadas foi realizada em 2018 com o objetivo de vacinar 95% de 19,7 milhões de pessoas nos estados de São Paulo, Rio de Janeiro e Bahia. A dose padrão também foi utilizada, mas apenas em alguns grupos por falta de estudos específicos. É o caso de crianças de 9 meses a menores

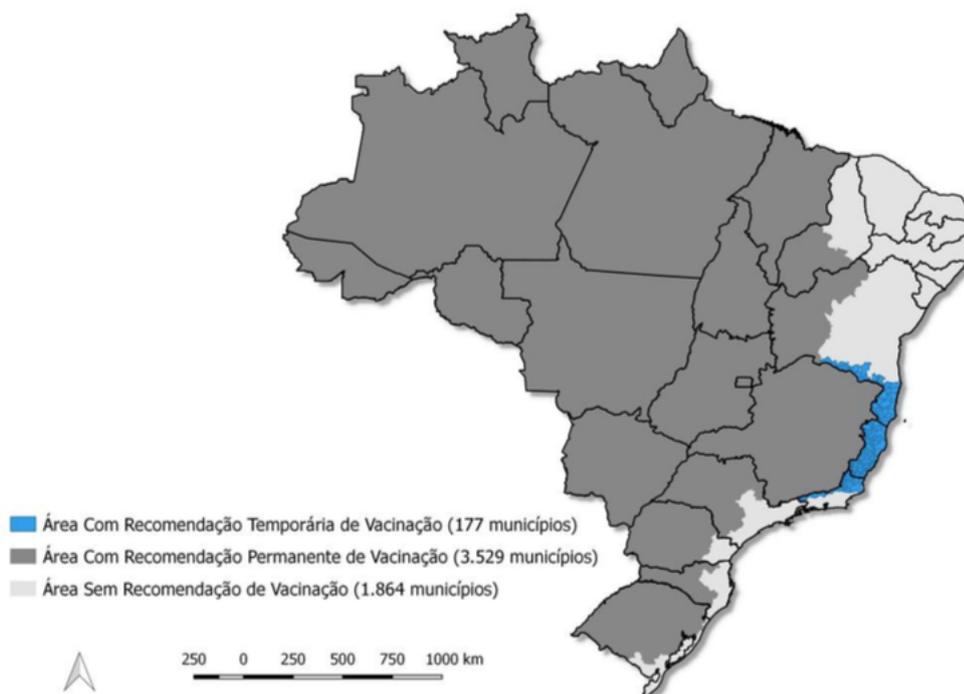


Figura 1.3: Distribuição dos municípios segundo a recomendação de vacinação para controle de surto e prevenção de FA, Brasil, 2017. Extraído de Ministério da Saúde (2017).

de 2 anos de idade, pessoas com condições clínicas especiais, como os portadores do HIV (*Human Immunodeficiency Virus*), gestantes e viajantes internacionais (com apresentação do comprovante de viagem no ato da vacinação).

Pensando nos surtos recentes, na insuficiência dos estoques mundiais de vacina e nas medidas emergenciais tomadas em Kinshasa, por exemplo, a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou em abril de 2017 uma estratégia chamada *Eliminate Yellow fever Epidemics* (EYE), que visa eliminar as epidemias de FA no mundo até 2026 (WHO, 2017a). Como os seres humanos não são o único reservatório do vírus da FA e não é factível a imunização de 100% da população, sabe-se que ocorrerão casos isolados da doença, mas deseja-se eliminar os surtos e dessa forma reduzir o risco de expansão global da FA.

A EYE auxilia os países em risco na prevenção dos surtos de FA e na preparação para aqueles que podem ocorrer. Através da detecção precoce e da resposta rápida e apropriada, é possível minimizar o sofrimento, os danos e a propagação (WHO, 2017a). Essa estratégia possui três objetivos bem definidos:

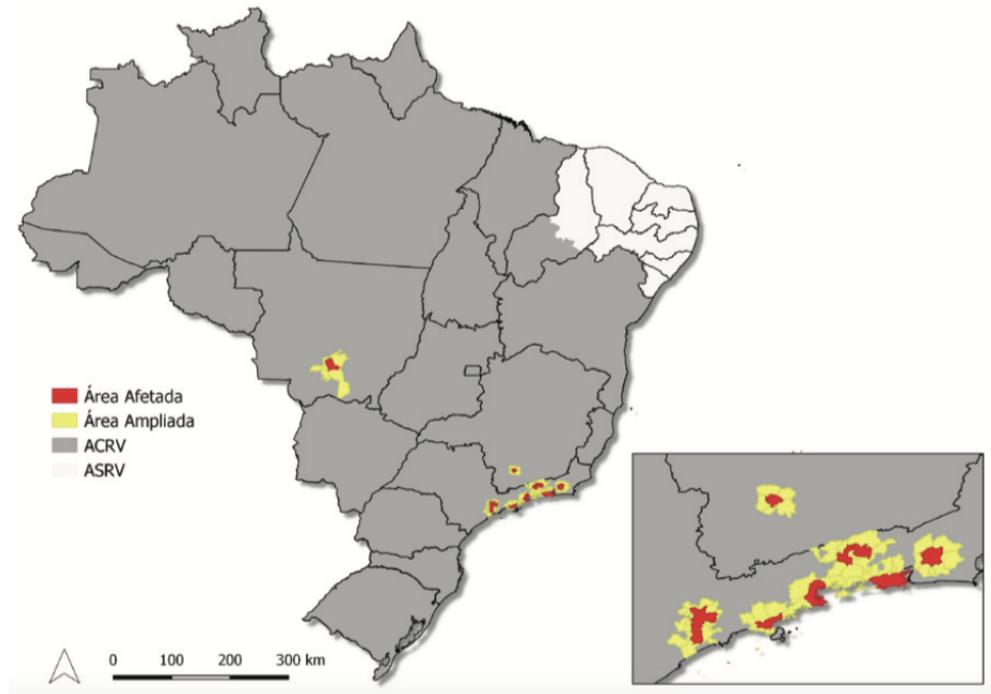


Figura 1.4: Áreas Com Recomendação de Vacinação (ACRV), Áreas Sem Recomendação de Vacinação (ASRV), áreas afetadas e ampliadas. Extraído de Ministério da Saúde (2018a).

- Proteger populações em risco;
- Prevenir a disseminação internacional da doença;
- Conter surtos rapidamente.

Para atingir esses objetivos, a estratégia sugere ações em diferentes frentes, entre elas o acesso às vacinas, o compromisso político em todos os níveis e a pesquisa e o desenvolvimento para melhores ferramentas e práticas. É nesse cenário que a modelagem matemática e computacional se apresenta como uma possível ferramenta para auxiliar as pesquisas em vacinologia e em saúde pública. A aplicação de modelos computacionais que permitem a simulação de processos biológicos complexos produz hipóteses e propõe experimentos (Pappalardo *et al.*, 2015). A simulação computacional aparece como sendo um primeiro estágio das pesquisas, reduzindo o espaço de busca para os experimentos *in vivo* ou *in vitro*, sendo possível eliminar, reforçar ou enfraquecer hipóteses e direcionar estudos, poupando assim tempo e recursos.

Já existe o termo vacinologia computacional e, embora as definições variem, um

consenso pode ser formulado como “*tecnologias computacionais dedicadas a apoiar e melhorar o desenvolvimento de vacinas*” (Söllner *et al.*, 2010). Os modelos matemáticos têm sido utilizados há muitos anos para representar diversos aspectos do sistema imunológico e patologias relacionadas, porém sua aplicação para descrever os efeitos das vacinas tem sido bastante limitada (Pappalardo *et al.*, 2015).

O objetivo deste trabalho é demonstrar que ferramentas matemático-computacionais podem ser utilizadas para simular a resposta imune de um indivíduo à vacina contra FA e através dessas ferramentas realizar experimentos com diferentes cenários e possibilidades em um ambiente totalmente computacional, sem a necessidade de grandes recursos financeiros ou em situações em que haja dificuldades metodológicas e/ou éticas para realização de estudos em humanos. Para isso, será apresentado um modelo matemático-computacional da resposta imune à vacina contra FA. O modelo considera as principais populações de células e moléculas do Sistema Imune Humano (SIH) importantes no processo de aquisição de imunidade, como células apresentadoras de antígeno (APCs, do inglês *Antigen Presenting Cells*), linfócitos B e T, o vírus vacinal e os anticorpos, sendo que estes são considerados o principal marcador de imunidade.

O trabalho será dividido da seguinte maneira: a Seção 1.1 apresentará uma revisão bibliográfica dos trabalhos relacionados. O Capítulo 2 irá explicar um pouco do funcionamento do SIH e da vacina contra FA. O Capítulo 3 detalha o modelo matemático desenvolvido e os experimentos realizados. Serão apresentados também aspectos sobre a implementação de um algoritmo para a resolução do sistema de Equações Diferenciais Ordinárias (EDOs) e os métodos numéricos usados por este algoritmo. O Capítulo 4 será dedicado a apresentar e discutir os resultados obtidos. Por fim o Capítulo 5 fará algumas considerações sobre o trabalho desenvolvido e apresentará um panorama do que ainda pode ser aprimorado.

1.1 Revisão Bibliográfica

Esta seção apresenta a revisão bibliográfica de alguns trabalhos relacionados. Eles foram considerados nessa revisão por utilizarem a modelagem matemática e/ou computacional

para reproduzir fenômenos biológicos, como o comportamento do SIH frente a outras doenças ou vacinas. Apenas um trabalho sobre modelagem matemática da resposta imune à vacinação contra FA foi encontrado e também será revisado.

O trabalho de Lee *et al.* (2009), que foi usado como base para a construção do modelo apresentado em Bonin *et al.* (2016), usa a modelagem matemática para reproduzir o comportamento do SIH frente a uma infecção natural pela mucosa das vias aéreas por vírus da Influenza A. Ele foi usado pois considera vários dos componentes do SIH que também são importantes para a modelagem da resposta imune à vacina contra FA, visto que a vacina para esta doença é feita utilizando o vírus vivo, porém atenuado. O modelo proposto por Lee *et al.* (2009) é composto por 15 EDOs que representam: células epiteliais infectadas e não infectadas, vírus, células dendríticas (imaturas, carregadas de antígeno e maduras), células T CD4+, T CD8+, ambas *naive* e efectoras, células B *naive* e ativas, plasmócitos (células secretoras de anticorpos) de vida curta e vida longa e anticorpos. Esse modelo é dividido em dois compartimentos: um referente ao compartimento linfático e o outro ao tecido (o tecido considerado foi o do pulmão).

O trabalho de Wilson *et al.* (2007) também usa a modelagem matemática através de EDOs para simular a resposta dos anticorpos para a vacinação contra Hepatite B (HB). O modelo é composto por 3 equações que representam o antígeno vacinal circulante, o nível de anticorpos anti-HB e a memória imune. O objetivo do modelo é avaliar as diferentes respostas encontradas quando diferentes doses e esquemas de vacinação são empregados. Apesar do objetivo ser semelhante ao deste trabalho, Wilson *et al.* (2007) considera o vírus utilizado na fabricação da vacina contra HB que é inativado e não possui poder infeccioso. Essa diferença em relação ao vírus da vacina contra FA é significativa porque alguns mecanismos que foram desconsiderados no modelo de HB são importantes no processo de indução da imunidade através da vacinação com vírus vivo e devem ser considerados neste trabalho.

Pappalardo *et al.* (2014) apresenta um modelo computacional que avalia a resposta imune às vacinas que usam células dendríticas. Vacinas baseadas em células dendríticas têm sido extensivamente investigadas como potenciais vacinas terapêuticas contra o câncer

devido ao papel primário dessas células como APCs e sua habilidade única na ativação de células T. As populações consideradas por Pappalardo *et al.* (2014) são: a) as células dendríticas no ponto de injeção e no local de apresentação (linfonodos); b) as células T CD8+ *naive*, ativadas e de memória; e c) IFN- γ , que é uma citocina solúvel da classe de interferons do tipo II secretada por células do SIH (Murphy e Weaver, 2008). Como as vacinas consideradas usam células dendríticas, o vírus não é considerado de forma explícita através de uma equação. Para o que se deseja simular neste trabalho, como a resposta a diferentes doses da vacina contra FA, ter uma equação que descreva o vírus vacinal é fundamental.

O estudo desenvolvido por Dorigatti *et al.* (2015) analisa os dados de imunogenicidade coletados em cinco ensaios clínicos da vacina contra dengue, que usa como base a vacina contra FA. O estudo usa modelos de regressão multivariada para identificar os fatores que melhor reproduzem a heterogeneidade nas respostas de anticorpos entre os receptores de vacina e, simultaneamente, estima as correlações entre as respostas de anticorpos geradas aos quatro sorotipos. É avaliada também a correlação entre as imunidades prévias contra FA e *Japanese Encephalitis Virus* (JEV). Esse modelo não descreve o comportamento da vacina no organismo de um indivíduo e sim o comportamento da população, e tenta identificar os fatores que interferem na diferença entre as respostas vacinais dos indivíduos. É portanto um modelo de natureza estatística, e dessa forma não possui grandes semelhanças com o que se deseja demonstrar neste trabalho.

O trabalho desenvolvido por Pappalardo *et al.* (2015) analisa e discute várias técnicas de modelagem computacional aplicadas à vacinologia. Os autores descrevem de forma clara o que é a modelagem matemática e computacional e como ela pode auxiliar as pesquisas nessa área. A modelagem é definida como a atividade humana envolvendo a representação, a manipulação e a comunicação dos objetos diários do mundo real (Pappalardo *et al.*, 2015). Nesse estudo, dois tipos principais de modelagem são considerados: os Modelos Baseados em Agentes (MBA) e os modelos matemáticos. Os agentes dinâmicos de um MBA podem ser descritos como uma função de tempo, uma posição e um estado interno que inclui as propriedades mais importantes do agente, como

a idade. Já os modelos matemáticos baseiam-se principalmente em equações diferenciais, sejam elas ordinárias, como as que são apresentadas neste trabalho, parciais, com *delay* e/ou estocásticas.

O estudo de Pappalardo *et al.* (2015) apresenta uma revisão de vários estudos de modelagem, e não um modelo propriamente dito. Os estudos revisados estão mais relacionados com a modelagem de tumores ou com vacinas que utilizam outros mecanismos que não a inoculação de vírus vivo e atenuado e por isso não foram considerados neste trabalho.

Alguns dos trabalhos encontrados sobre FA, e que estão relacionados com modelagem, se referem à parte epidemiológica da doença. O trabalho de Cannon e Galiffa (2012) apresenta um modelo epidemiológico baseado em equações diferenciais parciais (EDPs), enquanto que o trabalho de Massad *et al.* (2003) apresenta um modelo matemático capaz de estimar o risco de uma epidemia de FA urbana em uma área infestada por *Aedes aegypti*. Esses modelos estão em um nível de abstração acima do que é apresentado neste trabalho, que considera o comportamento de um único indivíduo e não de uma população. O nível de abstração de um modelo depende dos objetivos do mesmo. Os modelos Cannon e Galiffa (2012) e Massad *et al.* (2003) não foram considerados semelhantes pois possuem objetivos diferentes dos que se deseja alcançar neste trabalho.

Utilizando as informações dos surtos recentes registrados em Kinshasa e na RDC, Wu *et al.* (2016) fizeram um estudo usando modelos da transmissão de FA para calcular a taxa de ataque da infecção (a proporção da população infectada ao longo de uma epidemia) com vários níveis de transmissibilidade e eficácia da vacina com uma dose 5 vezes fracionada para dois cenários de vacinação. Usando doses fracionadas, o número de doses produzido atualmente é capaz de imunizar uma parcela maior da população, isso faz com que a taxa de transmissão da doença diminua (Wu *et al.*, 2016).

O objetivo de Wu *et al.* (2016) é avaliar o impacto do uso da estratégia de doses fracionadas no espalhamento da FA. Esse objetivo é diferente do que se pretende avaliar neste trabalho, a resposta imune de um indivíduo à vacina com doses fracionadas. Por esse motivo, o trabalho citado não foi considerado semelhante a este.

O trabalho de Le *et al.* (2015) é o que se mostrou estar mais relacionado com o que é proposto neste trabalho. Ele apresenta uma modelagem matemática, usando EDOs, da resposta imune humana à vacinação, tanto de FA quanto de varíola. O modelo é dividido em dois compartimentos: um referente à circulação e outro aos órgãos linfoides secundários. As equações representam o vírus vacinal, os anticorpos, os plasmócitos de vida longa, as células secretoras de anticorpos e as células T CD8+, tanto nos órgãos linfoides secundários (como o baço) quanto na circulação. O objetivo do trabalho de Le *et al.* (2015) é avaliar, principalmente, a dinâmica das células T CD8+ e não a resposta imune como um todo. Com a análise das simulações feitas e a comparação com os dados experimentais obtidos em Miller *et al.* (2008), Akondy *et al.* (2009) e Ahmed e Akondy (2011), Le *et al.* (2015) pôde perceber que a população de células T CD8+ específicas para o vírus da FA se expande devagar, atingindo seu pico 2,5 semanas após a imunização. Além disso, o pico dessas células foi determinado pela taxa de proliferação das células T e não pela frequência do precursor das células antígeno específicas, como é sugerido por alguns estudos em ratos.

O modelo proposto neste trabalho difere do que foi apresentado por Le *et al.* (2015) por considerar populações importantes em cada etapa da resposta imune à vacinação contra FA, desde a inoculação do vírus, passando pela apresentação do antígeno feita pelas APCs e consequente ativação dos linfócitos até chegar na geração dos anticorpos e das células de memória.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Este capítulo tem por objetivo dar uma visão geral sobre o funcionamento de alguns mecanismos do SIH, além de informações e dados relevantes sobre a FA e a sua vacina. Os conceitos apresentados aqui serão importantes para o entendimento do modelo matemático, que será apresentado no Capítulo 3, e foram baseados em referências clássicas de imunologia (Sompayrac, 2008; Coico e Sunshine, 2010; Murphy e Weaver, 2008; Edwards, 2018).

2.1 Sistema imune humano

O SIH é uma complexa rede de órgãos, células, moléculas, proteínas e outros componentes que têm a função de defender o organismo contra a invasão de agentes externos causadores de doenças chamados de antígenos, podendo ser vírus, bactérias, fungos, protozoários ou substâncias tóxicas, como venenos de animais. O SIH funciona como um exército que utiliza diferentes armas para combater seus inimigos. Todo o processo de detecção e combate do antígeno é chamado de resposta imune. A Figura 2.1 mostra os principais órgãos que compõem o SIH. Em amarelo são destacados os órgãos primários e em azul os secundários. Os primários representam os locais onde ocorrem as principais fases de amadurecimento dos linfócitos. O timo e a medula óssea são considerados órgãos primários, neles ocorre o amadurecimento dos linfócitos T e B, respectivamente. Os tecidos linfoides secundários são os que efetivamente participam da resposta imune, seja ela humoral (mediada por anticorpos e responsável por atacar micro-organismos extracelulares) ou celular (mediada por linfócitos T e responsável por atacar micro-organismos intracelulares). Como exemplos pode-se citar linfonodos, tonsilas, baço e adenoide. As células presentes nesses tecidos tiveram origem nos órgãos linfoides primários, migraram pela circulação e atingiram o tecido.

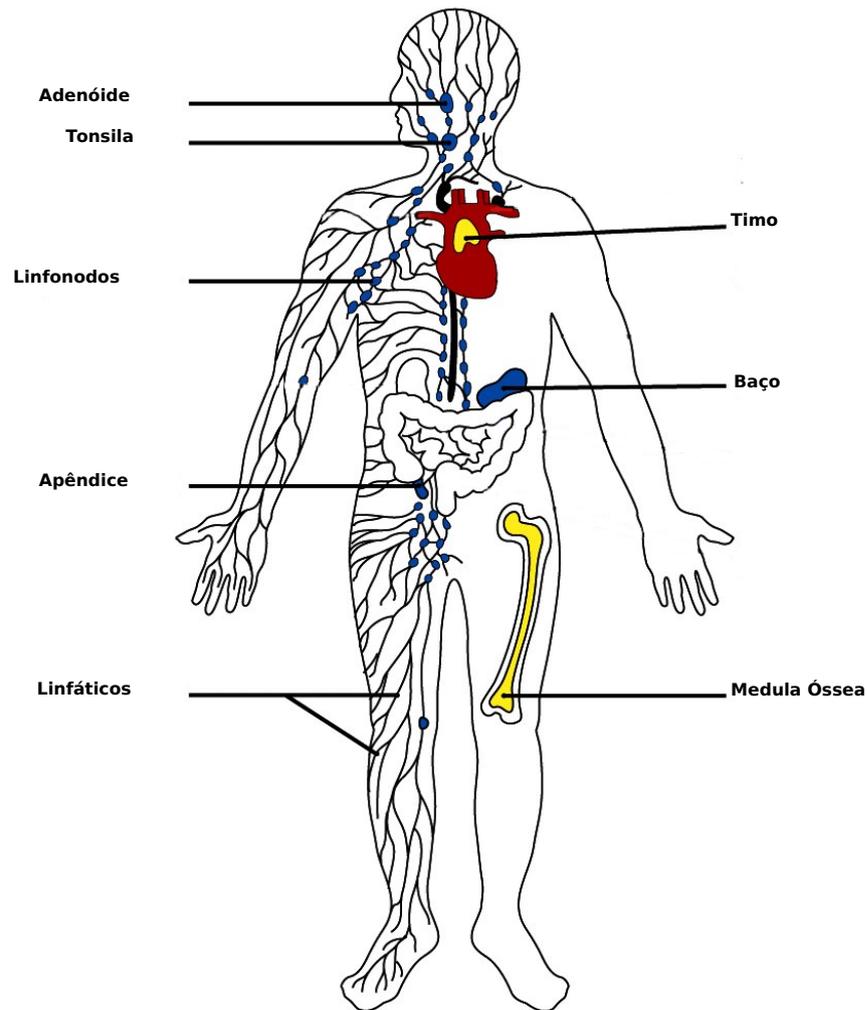


Figura 2.1: Órgãos do SIH. Adaptado de Murphy *et al.* (2010).

As primeiras barreiras do corpo são barreiras físicas e químicas que impedem a entrada de microrganismos no corpo. Quando esta barreira é rompida, existem outras duas capazes de reconhecer e combater o antígeno invasor. A segunda barreira do corpo é o SIH inato, que fornece uma resposta rápida porém inespecífica através, principalmente, dos fagócitos, assim chamados por realizarem um processo chamado fagocitose, que será explicado mais adiante. Pertencem a este grupo as células dendríticas, os macrófagos e os granulócitos, sendo que estes últimos compreendem as células sanguíneas brancas conhecidas como neutrófilos, basófilos e eosinófilos, que atuam de maneira semelhante, independente do invasor. Este sistema está presente em muitos animais e funciona desde o nascimento do

indivíduo, sem a necessidade de que haja um contato prévio com algum invasor.

A terceira barreira do corpo é o SIH adaptativo, assim chamado por adaptar-se a responder a qualquer tipo de invasor. É caracterizado pela produção de anticorpos e pelo desenvolvimento da memória imunológica, sendo esta a responsável por gerar uma resposta mais rápida, intensa e específica em um próximo contato com o mesmo antígeno. Suas principais células são os linfócitos, capazes de reconhecer um patógeno e produzir uma resposta eficiente contra ele.

Sompayrac (2008) faz uma analogia que ajuda muito na compreensão das diferenças entre os sistemas inato e adaptativo. Imagine que você está em uma cidade e tem seus sapatos roubados. Próximo a você existe uma loja que fabrica sapatos sob medida, porém estes demoram duas semanas para ficarem prontos. Mas você está descalço e precisa de algo para calçar agora, então avista uma loja que já tem em estoque alguns modelos e tamanhos comuns e que irão resolver o seu problema no momento, caso o seu tamanho não seja muito grande nem muito pequeno. Semelhante a isso ocorre com o SIH: a loja sob medida seria o sistema adaptativo, capaz de defender o organismo de qualquer invasor, porém este sistema demanda um certo tempo que talvez na prática, assim como ficar descalço no centro da cidade, não seja viável. Para suprir esta necessidade existe o sistema inato, semelhante à loja com pronta entrega, apresentando uma solução rápida, conseguindo proteger o indivíduo de uma certa gama de invasores.

O sistema imunológico tem uma notável capacidade de manter um estado de equilíbrio, mesmo estando constantemente exposto a uma gama diversificada de invasores. Após uma resposta produtiva a um antígeno estranho, o sistema imunológico retorna a um estado de repouso, de modo que a quantidade e o *status* funcional dos linfócitos sejam redefinidos aproximadamente ao nível de pré-imunização. Esse processo é chamado de homeostase e permite que o sistema imunológico responda efetivamente a um novo desafio antigênico (Van Parijs e Abbas, 1998). O mecanismo de homeostase foi considerado no modelo e será importante para o entendimento do mesmo.

2.1.1 Principais células do SIH

Algumas células desempenham um importante papel na proteção do organismo e serão resumidamente explicadas nesta subseção para facilitar o entendimento posterior do modelo matemático.

A Figura 2.2 apresenta os ícones que serão usados no texto e quais células ou moléculas eles representam.

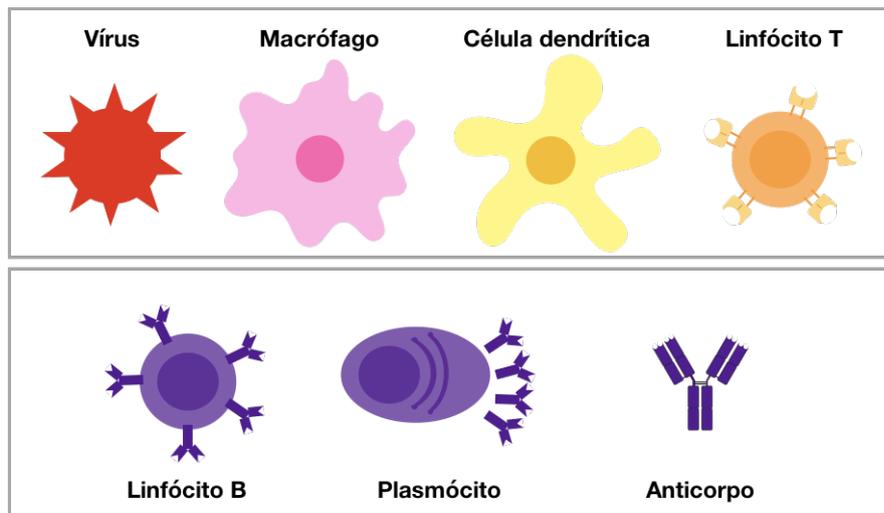


Figura 2.2: Ícones usados no texto para representar as principais células e moléculas do SIH e o vírus. Autoria própria.

No SIH inato temos um importante grupo de células chamadas de fagócitos, entre elas estão os macrófagos, os granulócitos e as células dendríticas. Os macrófagos residem na maioria dos tecidos e no sangue (onde são chamados de monócitos) e são células de vida relativamente longa. Desempenham diferentes funções tanto na resposta imune inata quanto na adaptativa. Uma delas consiste em engolfar, ou envolver, antígenos e destruí-los, além de eliminar células mortas. Os macrófagos também auxiliam na resposta imune liberando proteínas que sinalizam a presença de um invasor. Eles ficam como sentinelas, prontos para perceber a presença de invasores e recrutar outras células, principalmente os neutrófilos, que irão ajudar no combate.

Os granulócitos se dividem em neutrófilos, basófilos e eosinófilos. Os dois últimos ainda têm seu papel pouco entendido. Acredita-se que eles são importantes na defesa

contra invasores maiores como os parasitas, difíceis de serem ingeridos pelos macrófagos ou neutrófilos. Os neutrófilos, por sua vez, são as células existentes em maior quantidade no SIH inato. Eles, assim como os macrófagos, capturam os invasores envolvendo-os em uma estrutura chamada fagossomo, semelhante à uma bolha, e destruindo-os pela liberação de substâncias tóxicas a eles, em um processo chamado fagocitose. A Figura 2.3 ilustra esse processo.

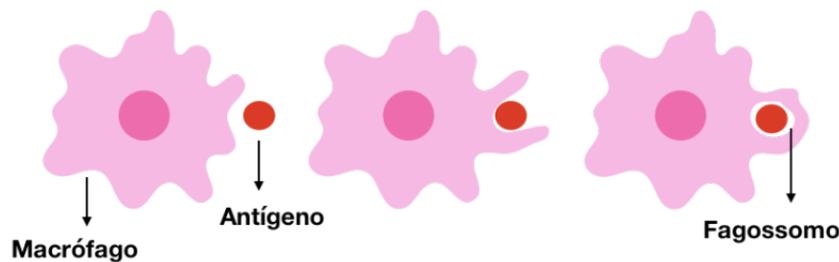


Figura 2.3: Processo de fagocitose. Adaptado de Murphy e Weaver (2008).

As células dendríticas, assim chamadas por possuírem prolongamentos chamados dendritos (do grego *dendron*, que significa árvore), capturam fragmentos de invasores e realizam fagocitose, mas essa não é sua principal função. Quando estas encontram um antígeno, tornam-se maduras, sendo capazes de apresentar este antígeno em sua superfície fazendo com que ele seja reconhecido pelas células T, ativando-as. Por esta tarefa são chamadas de células apresentadoras de antígeno (APCs).

No SIH adaptativo temos um importante grupo de células chamadas linfócitos. Essas células, presentes no sangue, são um tipo de leucócito (glóbulo branco) e podem ser de três tipos principais: B, T CD4+ (*helper* ou auxiliar) ou T CD8+ (*killer* ou citotóxica).

Ao final do seu desenvolvimento no timo, os linfócitos T são compostos por duas classes principais, uma que possui a proteína de superfície celular chamada de CD8 e a outra chamada CD4. Essas proteínas não são apenas marcadores aleatórios, elas são importantes para a função das células T pois ajudam a determinar as interações dessas células com outras. As células T citotóxicas possuem o CD8, e são chamadas de *killer* por destruírem células anormais, infectadas ou estranhas ao organismo por meio da liberação de substâncias que sinalizam para a célula infectada que ela deve se destruir. Esse processo de morte da célula é chamado de apoptose.

A classe de células T CD4 está envolvida na ativação de células do sistema imune e não no processo de apoptose da célula infectada. Os linfócitos T CD4 são estimulados, através de sinais recebidos pelas APCs, a ativar os outros tipos de linfócitos, T CD8 e B, por exemplo.

Os linfócitos B têm como principal função a produção de anticorpos. Isto ocorre quando eles estão ativos, podendo ser chamados nesse estágio de plasmócitos. Existem dois caminhos para que os linfócitos B se tornem ativos. Um é completamente dependente da assistência dos linfócitos T CD4 (ativação dependente de célula T), por isso as células T CD4 são chamadas de T *helper*. O outro caminho para a ativação dos linfócitos B é chamado de T-independente (Sompayrac, 2008). A Figura 2.4 mostra um esquema da ativação T-dependente.

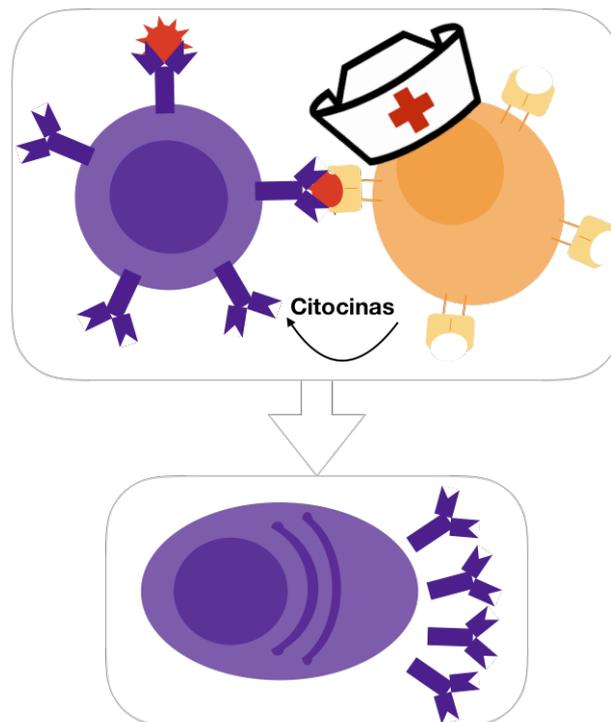


Figura 2.4: Processo de ativação dos linfócitos B dependente da assistência dos linfócitos T CD4+. Além do reconhecimento direto do antígeno pelos receptores dos linfócitos B, é necessária também a ligação de um linfócito T CD4+ ativado para que este libere citocinas que funcionam como um sinal complementar para a ativação dos linfócitos B. Autoria própria.

Independente do caminho, são necessários dois sinais para a ativação dos linfócitos B. O primeiro é o reconhecimento do antígeno por moléculas das células B, chamadas de Imunoglobulinas (Ig). Essas proteínas são produzidas pelas células B com uma ampla variedade de especificidade a antígenos, onde cada célula B produz uma Ig de especificidade única. As Ig ligadas à membrana das células B atuam como receptores para antígenos e são chamadas de receptores de células B (BCR). Uma Ig específica para o antígeno reconhecido pelo seu BCR é secretada quando a célula B é ativada.

Na ativação dependente de célula T, o segundo sinal necessário para a ativação dos linfócitos B é dado pela assistência dos linfócitos T CD4. Para a ativação independente de célula T, o segundo sinal pode ser enviado pelo próprio antígeno, por exemplo no caso de uma ligação direta de uma parte do antígeno a um receptor do SIH inato. Vale ressaltar que nem todos os antígenos são capazes de realizar este tipo de ativação (Sompayrac, 2008; Murphy *et al.*, 2010).

O BCR de um linfócito B ativo é capaz de enviar o antígeno para regiões intracelulares, onde pode ser degradado para originar peptídeos que são devolvidos para a superfície do linfócito. Com esses fragmentos de antígeno expostos em sua superfície, uma célula B se torna uma APC (Murphy *et al.*, 2010).

Os linfócitos T (CD4 e CD8) tornam-se maduros no timo enquanto que os linfócitos B maturam na medula óssea ou *Bone Marrow*. Parte dos linfócitos produzidos torna-se células de memória que duram por muitos anos, ou até mesmo a vida toda, e são capazes de reconhecer agentes infecciosos com os quais o organismo já teve contato. Havendo um novo ataque por agentes conhecidos, as células de memória são estimuladas a se reproduzir, dando início a um rápido processo de defesa do organismo.

Os anticorpos são as Ig produzidas e secretadas por um linfócito B ativo e estão divididos em cinco classes: IgG, IgM, IgD, IgA e IgE. Como pode ser visto na Figura 2.5, uma molécula de anticorpo é composta por dois tipos de cadeias proteicas: leves (lilás) e pesadas (roxo). As duas regiões de ligação ao antígeno são as extremidades dos braços e variam entre diferentes moléculas de anticorpo, por isso são chamadas de região variável. A base do Y é a região constante e interage com as células efectoras, é esta região que

diferencia as cinco classes de imunoglobulinas descritas acima.

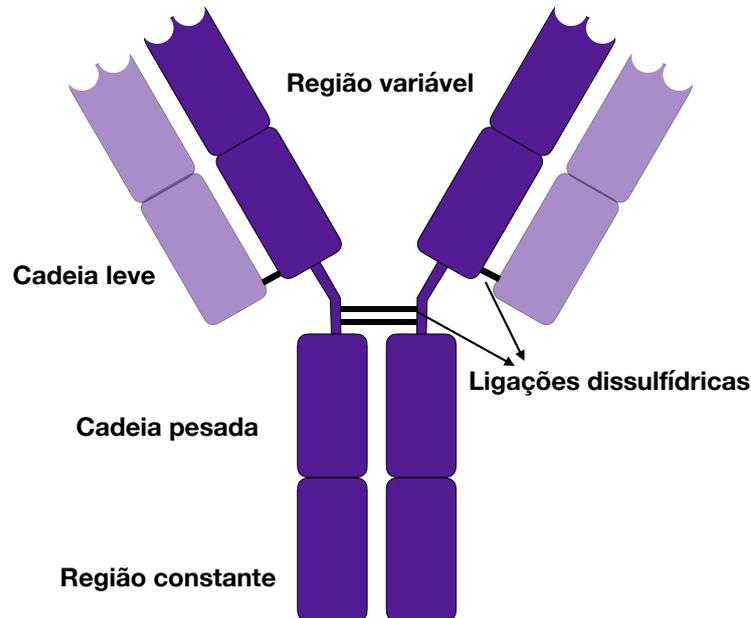


Figura 2.5: Representação simplificada de uma molécula de anticorpo. Autoria própria.

Os anticorpos não têm a função de eliminar diretamente o antígeno ou de induzir a apoptose da célula infectada. Eles podem participar de três formas na defesa do indivíduo. A primeira e mais direta é ligando-se aos patógenos ou seus produtos e bloqueando seu acesso às células que eles poderiam infectar. Esse processo é conhecido com neutralização e é importante para a proteção contra vírus, já que esses ficam impedidos de entrar nas células e se replicar (Murphy *et al.*, 2010). As outras formas são mais eficientes na proteção contra bactérias e por esse motivo não serão descritas aqui, visto que neste trabalho apenas o vírus será considerado como antígeno, mais especificamente o vírus atenuado usado na fabricação da vacina contra FA.

Quando o vírus invade o organismo de um indivíduo, ele tem o objetivo de infectar as células saudáveis do corpo e utilizá-las como fábricas para fazer suas cópias, afinal este tipo de micro-organismo não consegue se replicar de forma autossuficiente. A Figura 2.6 apresenta uma célula infectada por vírus.

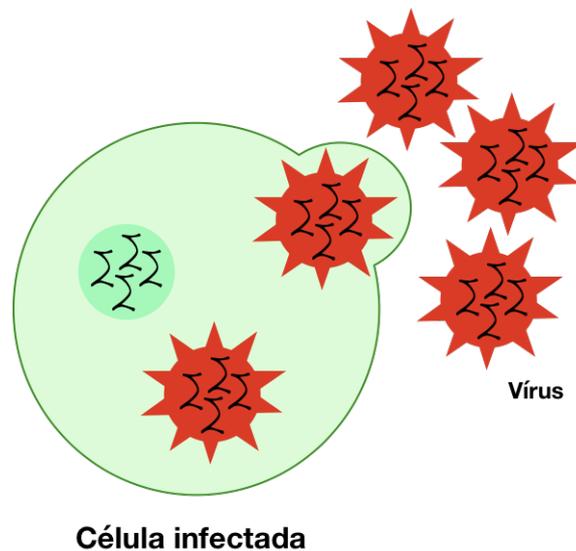


Figura 2.6: Representação simplificada de uma célula infectada por vírus. Autoria própria.

Porém, como o vírus da vacina contra FA é atenuado, “enfraquecido”, ele não tem o mesmo poder infeccioso do vírus selvagem (Barrett, 2017). Dessa maneira, ele age o mínimo suficiente para disparar a resposta imune sem que haja danos ao indivíduo.

A Figura 2.7 resume a resposta imune para combater um micro-organismo infeccioso que penetra no epitélio. O micro-organismo adere às células epiteliais e atravessa o epitélio. Em seguida, uma resposta do SIH inato ocorre com a participação dos macrófagos e células dendríticas. Essas capturam o antígeno e migram através dos vasos linfáticos para os linfonodos locais, iniciando a resposta do SIH adaptativo. Os anticorpos e as células T CD8⁺ efetoras migram para o local da infecção através dos vasos linfáticos e da corrente sanguínea a fim de auxiliar no combate ao antígeno.

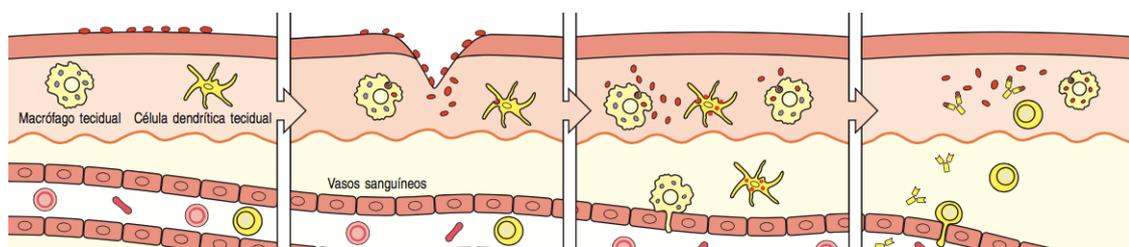


Figura 2.7: Esquema da resposta imune à infecção por um micro-organismo. Extraído de Murphy *et al.* (2010).

2.2 Casos especiais

Como foi apresentada na seção anterior, a resposta imune envolve várias células e moléculas do SIH em diversos mecanismos de ação. Todo esse funcionamento acontece de forma semelhante em todos os indivíduos.

Porém, por diversas razões, esse sistema pode ter seu funcionamento alterado ou até mesmo prejudicado. Uma dessas razões é o uso de medicamentos imunomoduladores, utilizados normalmente por indivíduos portadores de doenças autoimunes. Será citado neste trabalho apenas o uso de terapias imunomoduladoras que combinam drogas biológicas e sintéticas para o tratamento de artrite reumatoide pois foi o cenário para o qual foram obtidos dados experimentais que permitissem a realização de simulações computacionais.

Existe também uma diferença na resposta imune de crianças vacinadas até os dois anos de idade. O sistema imune nessa fase ainda está em amadurecimento e a resposta tende a ser menos efetiva do que a observada em adultos. Também foram obtidos dados experimentais de crianças primovacinadas. Os resultados das simulações computacionais para os dois casos serão apresentados no Capítulo 4.

2.2.1 Indivíduos que fazem uso de terapias imunomoduladoras

A artrite reumatoide (AR) é uma doença sistêmica, inflamatória, autoimune, caracterizada pelo comprometimento da membrana sinovial principalmente das articulações periféricas (Araki e Mimura, 2016).

Existem diversas terapias medicamentosas para o controle da doença como anti-inflamatórios não hormonais (AINH), corticosteroides, drogas imunossupressoras e/ou *disease modifying anti-rheumatic drugs* (DMARDs), que podem ser sintéticas ou biológicas. Os dados experimentais obtidos são oriundos de pacientes que fazem uso de DMARDs, sintéticas sozinhas ou combinadas com biológicas. O estudo desenvolvido por Ferreira *et al.* (2019) apresenta o impacto do uso das DMARDs na duração da imunidade dos pacientes vacinados contra FA.

Um total de 122 pacientes com AR, previamente imunizados com a vacina contra FA

em diferentes intervalos de tempo (1 a 5, >5 a 9 e \geq 10 anos) e atualmente sob terapia com DMARD, foram incluídos no estudo de Ferreira *et al.* (2019). A terapia imunomoduladora abrange o uso de DMARD sintética convencional sozinha (csDMARD) ou combinada com DMARD biológica (cs+bDMARD). Um total de 226 indivíduos saudáveis também foram recrutados como um grupo de controle (CONT).

Os dados demonstraram que a terapia com csDMARD não afetou a duração da imunidade protetora induzida pela vacina em comparação com o grupo controle, já que ambas apresentaram um declínio significativo dependente do tempo aos 10 anos após a vacinação. Por outro lado, a terapia combinada (cs+bDMARD) induziu uma redução prematura nos principais marcadores da resposta imune à vacina, com níveis de anticorpos diminuídos entre 5 e 9 anos após a vacinação.

A Tabela 2.1 apresenta quais as drogas utilizadas pelos pacientes que participaram do estudo citado acima. O estudo de Mota *et al.* (2013) apresenta maiores detalhes do funcionamento de cada uma dessas drogas.

Tabela 2.1: DMARDs utilizadas pelos pacientes do estudo feito por Ferreira *et al.* (2019)

Tipo	Sigla	Nome
Biológica	ADA	<i>Adalimumab</i>
	CTZ	<i>Certolizumab</i>
	ETN	<i>Etanercept</i>
	GOL	<i>Golimumab</i>
	IFX	<i>Infliximab</i>
	TCZ	<i>Tocilizumab</i>
	ABT	<i>Abatacept</i>
	RTX	<i>Rituximab</i>
Sintética	MTX	<i>Methotrexate</i>
	LEF	<i>Leflunomide</i>
	SSZ	<i>Sulfasalazine</i>
	AML	<i>Anti-malarial drugs</i>
	AZA	<i>Azathioprine</i>
	CYC	<i>Ciclosporin</i>

2.2.2 Crianças

Segundo estimativas da UNICEF (*United Nations International Children's Emergency Fund*), 4 milhões de bebês com menos de 6 meses morrem anualmente de infecções

agudas (UNICEF e Fund, 2008). Nos países mais desenvolvidos, a mortalidade foi reduzida, mas as infecções representam uma proporção significativa de hospitalizações infantis. Essas infecções são causadas por um número limitado de patógenos, de modo que a disponibilidade de algumas vacinas adicionais que seriam imunogênicas logo após o nascimento faria uma enorme diferença. Isso porque as respostas imunológicas dos indivíduos recém-nascidos diferem acentuadamente daquelas produzidas por indivíduos adultos.

No útero, o ambiente fetal exige que o sistema imunológico permaneça tolerante aos aloantígenos maternos. Após o nascimento, ocorre uma súbita e enorme exposição a antígenos ambientais. Nesse momento, a proteção contra muitas doenças infecciosas previamente experimentadas pela mãe é dada pelos anticorpos passivos transferidos da mãe por via transplacentária e no leite. O sistema imunológico amadurece gradualmente durante a infância e o repertório imunológico vai sendo moldado por infecções naturais e vacinações (Simon *et al.*, 2015). Sabe-se que a imaturidade imunológica presente nos bebês e crianças jovens limita a indução/persistência de plasmócitos de vida longa (Siegrist, 2018). O mesmo ocorre com os idosos devido à imunossenescência¹.

Estudos feitos no Brasil visam esclarecer alguns dos mecanismos presentes na resposta imune de crianças (Luiza-Silva *et al.*, 2011; Campi-Azevedo *et al.*, 2012). Esses estudos investigam os perfis de citocinas disparados pela vacinação contra FA em crianças. Contudo seus resultados não serão discutidos nesse trabalho pois o modelo aqui proposto não considera, até o momento, essas moléculas.

2.3 Febre Amarela

Esta seção apresenta algumas informações relevantes a respeito da FA, tais como aspectos clínicos e epidemiológicos, e também informações sobre a vacina contra FA que serão importantes para o entendimento do modelo que será apresentado no Capítulo 3.

¹Estado de função imunológica desregulada, nos idosos, que contribui para o aumento da suscetibilidade a infecções, câncer e autoimunidade, e redução da resposta vacinal.

2.3.1 Aspectos Clínicos

A FA é uma doença infecciosa transmitida por vetores hematófagos da família *Culicidae*, especialmente dos gêneros *Aedes* e *Haemagogus*. O vírus da FA é um arbovírus da família *Flaviviridae*, à qual também pertence o vírus da dengue (Vasconcelos, 2003). A apresentação clínica se dá com início abrupto de febre alta, calafrios, intensas dores de cabeça, lombares e musculares, náuseas e vômitos, com duração média de 3 dias. Este período corresponde ao período de infecção, durante o qual o vírus amarelo está presente no sangue. O período de infecção é seguido por um período de remissão, com redução da febre e dos sintomas. Cerca de 85% dos pacientes se recupera completamente e fica permanentemente imune à doença (Monath *et al.*, 2013).

Aproximadamente 15% das pessoas infectadas com o vírus da FA desenvolvem a forma moderada ou grave da doença, caracterizada por icterícia (olhos e coloração amarelos, daí o nome de febre amarela) (Monath *et al.*, 2013). Esses pacientes entram no terceiro estágio da doença, o período de intoxicação, que ocorre entre o terceiro e o sexto dia após o início, com retorno de sintomas como bradicardia (ritmo cardíaco lento ou irregular), náuseas, vômitos, dor epigástrica, icterícia, oligúria (diminuição da produção de urina) e uma diátese hemorrágica (tendência para sangramento sem causa aparente ou hemorragias espontâneas). Nessa fase a viremia, ou o nível de vírus, encontra-se normalmente ausente e os anticorpos já estão presentes.

Aproximadamente 10^3 virions² são inoculados durante a picada do mosquito. A replicação do vírus é iniciada na epiderme e derme no local da inoculação, e se espalha através dos canais linfáticos para os linfonodos locais e depois para outros órgãos linfoides e vísceras através da corrente sanguínea (Monath *et al.*, 2013).

O diagnóstico preciso da doença torna-se difícil, especialmente nos casos mais simples, pois os sintomas se assemelham aos de outras doenças como dengue hemorrágica, leptospirose, malária, hepatite viral, ebola, entre outras (Monath *et al.*, 2013). O diagnóstico específico pode ser feito através do isolamento do vírus, estudo histopatológico, demonstração do antígeno viral ou resposta específica de anticorpos.

²uma partícula de vírus completa que consiste em um núcleo de RNA ou DNA com um revestimento de proteína, às vezes com envelopes externos e que é a forma infecciosa extracelular de um vírus

A apresentação e severidade da doença variam de um indivíduo para outro, provavelmente devido à variações no comportamento do SIH. Infecções anteriores com outros flavivírus como Dengue, Zika e Wesselsbron podem gerar uma proteção cruzada contra a FA (Monath, 2001). Estudos observacionais que datam de 1815 sugeriram que a imunidade aos flavivírus (por exemplo, à dengue) era a base da resistência à FA em residentes de longo prazo de áreas endêmicas, e mais tarde foi proposta como uma barreira à introdução da FA na Ásia (Monath *et al.*, 2013).

Segundo Benenson (1990) e Monath (1995) *apud* Fernandes (2010), não existe tratamento específico para a FA. Em geral, o paciente fica internado apenas para investigação diagnóstica e um suporte que inclui hidratação e administração de medicamentos para controlar a febre.

2.3.2 Aspectos epidemiológicos

O vírus da FA é mantido em ciclos epidemiológicos distintos. No ciclo urbano, a FA é transmitida entre humanos pela picada de mosquitos peridomésticos, como o *Aedes aegypti*. Esse ciclo é relatado esporadicamente na América do Sul mas ainda é frequente na África. No ciclo silvestre, a FA é mantida entre macacos pelas picadas de várias espécies de mosquitos do gênero *Aedes* na África e várias espécies dos gêneros *Haemagogus* e *Sabethes* na América do Sul. Um terceiro ciclo, o rural, foi descrito em pequenas comunidades africanas que vivem perto de florestas nas quais o mosquito *Aedes simpsoni* é o principal responsável pela transmissão (Quaresma *et al.*, 2013). A Figura 2.8 apresenta os ciclos urbano e silvestre de manutenção da FA.

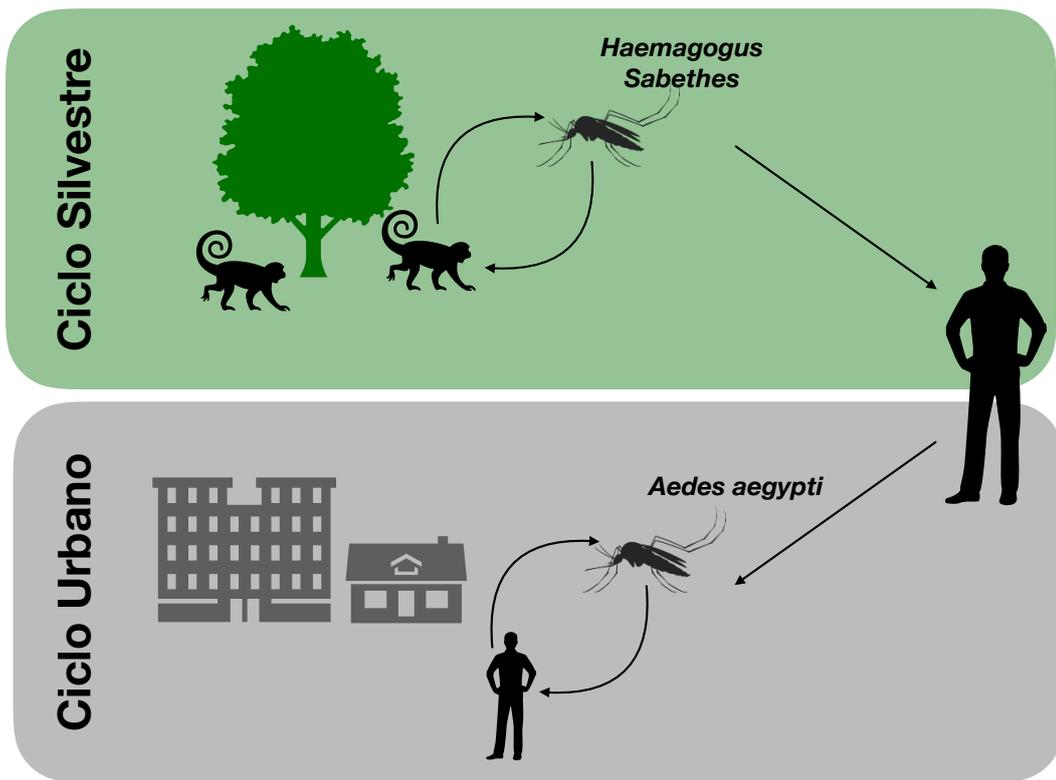


Figura 2.8: Ciclos de manutenção da FA. Autoria própria.

As figuras 2.9 e 2.10 mostram os mapas das áreas com recomendação de vacinação nos países da África e das Américas, respectivamente.

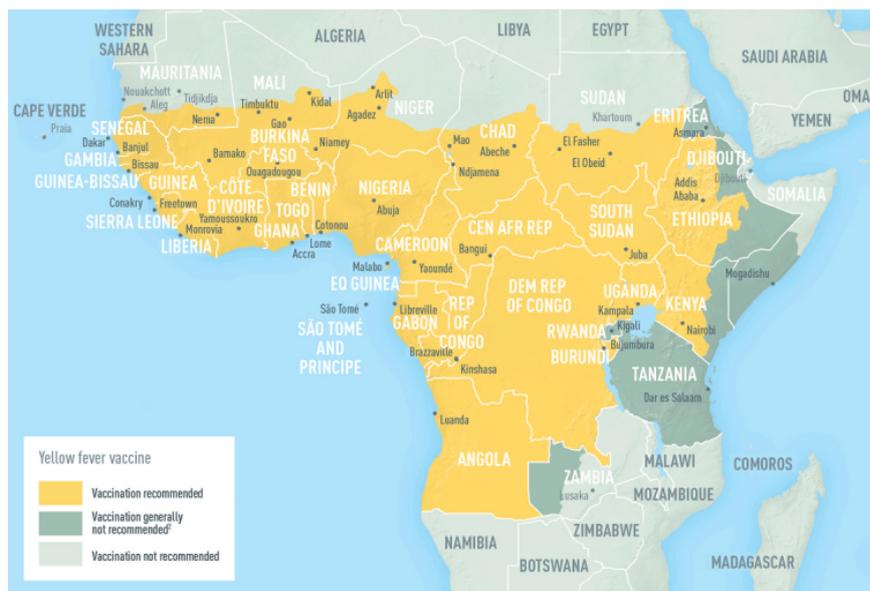


Figura 2.9: Áreas com recomendação de vacinação contra FA nos países da África. Extraído de Centers for Disease Control and Prevention (2018a)



Figura 2.10: Áreas com recomendação de vacinação contra FA nos países das Américas. Extraído de Centers for Disease Control and Prevention (2018a)

2.3.3 Vacina contra FA

As vacinas têm a capacidade de induzir imunidade ativa que confere proteção duradoura (Ada, 1999). Porém, a ativação do SIH envolve complexos mecanismos e pode sofrer influência de diferentes fatores. Após o primeiro contato com o antígeno vacinal, há indução de resposta imunológica primária pela ativação das respostas humoral (mediada principalmente pelos anticorpos) e celular (mediada principalmente pelos linfócitos T, CD4+ e CD8+). Quando o indivíduo é novamente exposto ao antígeno, ocorre a resposta secundária na qual as células B e T de memória podem ser rapidamente ativadas. A resposta

decorrente da ativação de células B e T de memória tende a ser mais rápida e potente do que a resposta imunológica primária (Ada, 1999). Os principais determinantes da resposta primária à vacinação são relativos à natureza do antígeno vacinal e sua imunogenicidade (capacidade de conferir imunidade), que depende da dose vacinal e de características inatas do antígeno e do indivíduo. Vacinas com vírus vivos habitualmente apresentam melhores respostas primárias e, segundo Siegrist (2008) *apud* Fernandes (2010), apesar de ser esperada a elevação de anticorpos a níveis considerados protetores, pode haver proteção parcial mesmo sem uma resposta vacinal ideal.

A vacina contra FA é fabricada com vírus vivos e atenuados. O vírus foi isolado em 1927 de um paciente africano (cepa Asibi)³ e atualmente duas subcepas derivadas da cepa Asibi são usadas na produção, a 17D-204 e a 17DD (Monath *et al.*, 2013). Como o vírus vacinal é atenuado (enfraquecido), segundo Camacho *et al.*(2005) e Monath (2004) *apud* Fernandes (2010) a viremia após a primeira vacinação é, em geral, breve e tem níveis baixos, com picos entre o terceiro e sétimo dias após a inoculação e indetectável após a administração da segunda dose.

A vacinação de FA induz uma resposta imune semelhante à da infecção natural, mas com menor viremia e menor risco de reações adversas graves como febre, eventos hemorrágicos e disfunções hepática e renal.

Nos primeiros dias após a vacinação, uma robusta resposta imune inata é gerada, atingindo o pico no dia 7 e diminuindo a partir de então. O resultado é tanto uma imediata e protetiva expressão de moléculas antivirais quanto a estimulação e modulação da resposta imune adaptativa. Acredita-se que a forte ativação da imunidade inata é a principal razão pela qual a vacina contra FA é tão imunogênica e gera imunidade de longa duração em virtude do desenvolvimento antecipado de células CD4+ com memória Th2 e populações de células B persistentes.

A produção de anticorpos neutralizantes induzidos pela vacina, responsáveis principalmente por conferir imunidade contra uma reexposição ao vírus, é considerada o principal marcador de proteção contra futuras infecções. Cerca de 90% dos indivíduos

³cepa é uma linhagem de algum microrganismo (vírus ou bactéria) com alguma finalidade para estudos

vacinados desenvolvem anticorpos neutralizantes 10 dias após a vacinação e 99%, 30 dias após a vacinação (Barnett, 2007).

Há diferentes métodos para verificação de imunidade contra FA, como o PRNT (*Plaque-Reduction Neutralization Test*) e o ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). O PRNT é considerado o teste mais sensível e mais específico para FA (Dobler *et al.*, 1997; Niedrig *et al.*, 1999; Simões *et al.*, 2012). Ele produz resultados quantitativos (em Unidades Internacionais - UI - ou em diluição) que se correlacionam com proteção. Segundo Monath (2005) *apud* Fernandes (2010), o ELISA por sua vez apresenta maior sensibilidade para detecção de anticorpos em indivíduos revacinados.

A recomendação da OMS até 2012 para vacinação contra FA era de aplicação de dose única aos 9 meses de idade, com reforço a cada 10 anos. Atualmente a OMS não recomenda mais a revacinação a cada 10 anos baseada em evidências da persistência de anticorpos neutralizantes na maioria dos indivíduos após 10 anos de vacinação (Poland *et al.*, 1981) e da identificação de somente 12 casos de FA pós-vacinal, sendo que neste pequeno número de falhas vacinais todos os casos desenvolveram a doença dentro de 5 anos após a vacinação (OMS, 2013). Não existem estudos clínicos prospectivos mostrando a durabilidade da proteção da vacina contra FA em humanos. Diferentes estudos apontam evidências para apoiar a nova recomendação da OMS (Poland *et al.*, 1981; Gotuzzo *et al.*, 2014; Staples *et al.*, 2010), apesar do risco teórico do acúmulo de indivíduos suscetíveis ao longo do tempo e com isso a possibilidade de ocorrência de surtos mesmo em áreas com elevada cobertura vacinal. No Brasil, o Ministério da Saúde modificou a recomendação de vacinação durante o surto de FA ocorrido na região sudeste em 2018 para uma única dose na vida a partir dos 9 meses (Ministério da Saúde, 2019). Casos específicos devem ser avaliados quanto à relação risco *versus* benefício. Alguns exemplos são indivíduos com idade menor que 9 meses ou maior que 60 anos e indivíduos imunossuprimidos, como é o caso de portadores do HIV.

Apesar das evidências apresentadas nos estudos feitos por Poland *et al.* (1981), Gotuzzo *et al.* (2014) e Staples *et al.* (2010), Martins e Homma (2013) dizem que é preciso cautela antes de suspender a revacinação. Os indivíduos destes estudos não foram

monitorados durante todos esses anos; eles podem ter adquirido um reforço natural através do contato com o vírus, durante uma viagem, por exemplo. Um dos estudos mais recentes, feito por Camacho *et al.* (2019), reforça a necessidade de manutenção de doses de reforço.

3 MÉTODOS

A construção de um modelo começa com a observação e a compreensão do fenômeno que está sendo investigado. Em seguida, são definidos os objetivos do modelo, ou seja, quais questões devem ser abordadas. Os objetivos do modelo definem o nível de abstração que deve ser usado. Eles podem ser construídos usando níveis distintos de detalhes: os principais aspectos do problema são capturados pelo modelo e os detalhes, que não contribuem para a solução do problema, são omitidos. Se a escolha do que deve ser considerado e o que deve ser omitido estiver errada, e alguns detalhes são, de fato, aspectos-chave do modelo, eles podem ser incluídos posteriormente.

Existem diferentes maneiras de modelar um problema. Uma delas é usar equações matemáticas para descrever os fenômenos associados ao problema. A seção 3.1 apresenta o modelo matemático proposto nesse trabalho bem como as populações e mecanismos de interação considerados nele. Um breve histórico de todo o desenvolvimento do modelo também é apresentado na Seção 3.2. Uma vez que um modelo tenha sido definido, uma simulação computacional pode ser realizada para validar o modelo. A Seção 3.3 apresenta os métodos numéricos usados para a resolução computacional do modelo matemático apresentado.

A Seção 3.4 esclarece como foi feita a seleção dos dados experimentais utilizados entre todos os dados obtidos e qual a melhor maneira de apresentá-los e compará-los às simulações do modelo desenvolvido. Também são mostradas as etapas necessárias para o ajuste das unidades do modelo e conseqüentemente dos parâmetros do mesmo.

3.1 Modelo matemático

Um modelo matemático é uma abstração da realidade e por esse motivo, simplificações são sempre necessárias. Isso se acentua quando o alvo do modelo é a resposta do SIH, uma complexa rede que envolve muitos tecidos, órgãos e células e realiza diversos processos. O

nível de abstração depende do objetivo do modelo. O SIH pode ser visto em vários níveis, desde o nível das substâncias produzidas pelas células, como as citocinas, passando pelo nível das células e moléculas, como é o caso do modelo atual, podendo chegar ao nível dos modelos populacionais e epidemiológicos, que estão interessados em um padrão de comportamento observado em uma amostra da população.

O modelo proposto neste trabalho é composto por um sistema de 12 EDOs que representam algumas populações importantes no processo da resposta gerada pelo organismo após a vacinação. As principais são: vírus da vacina da febre amarela, APCs, células T CD4+, células T CD8+, plasmócitos de vida curta e vida longa, células B, células B de memória e anticorpos. As condições iniciais e siglas destas populações, bem como os parâmetros das equações e seus significados, são apresentados nas Tabelas 3.1 e 3.2, respectivamente.

Tabela 3.1: Variáveis do modelo e valores iniciais

Variável	Descrição	Valor inicial	Unidade
V	Vírus vacinal	724	cópias/ml
A_p	APCs imaturas	10^6	células/ml
A_{pm}	APCs maduras	0	células/ml
T_{hn}	Células T CD4+ <i>naive</i>	10^6	células/ml
T_{he}	Células T CD4+ efetoras	0	células/ml
T_{kn}	Células T CD8+ <i>naive</i>	5×10^5	células/ml
T_{ke}	Células T CD8+ efetoras	0	células/ml
B	Células B	$2,5 \times 10^5$	células/ml
P_s	Plasmócitos de vida curta	0	células/ml
P_l	Plasmócitos de vida longa	0	células/ml
B_m	Células B de memória	0	células/ml
A	Anticorpos	150	mUI/ml

Tabela 3.2: Parâmetros do modelo

Parâmetro	Descrição	Valor
π_v	Taxa de replicação viral (dia^{-1})	$6,80 \times 10^{-1}$
c_{v1}	Taxa de clareamento viral máximo pelo sistema inato (dia^{-1})	$2,63 \times 10^0$
c_{v2}	Constante de meia saturação (cópias/ml)	6×10^{-1}
k_{v1}	Taxa de neutralização do vírus por unidade de anticorpos neutralizantes ($\text{dia}^{-1} (\text{mUI/ml})^{-1}$)	$4,82 \times 10^{-5}$
k_{v2}	Taxa de eliminação do vírus por unidade de células T CD8+ ($\text{dia}^{-1} (\text{células/ml})^{-1}$)	$7,48 \times 10^{-7}$
α_{ap}	Taxa de homeostase das APCs imaturas (dia^{-1})	$2,5 \times 10^{-3}$
β_{ap}	Taxa de maturação das APCs ($\text{dia}^{-1} (\text{cópias/ml})^{-1}$)	$5,5 \times 10^{-1}$
c_{ap1}	Taxa de maturação máxima das APCs (cópias/ml)	8×10^{-1}
c_{ap2}	Constante de meia ativação (cópias/ml)	4×10^1
δ_{apm}	Taxa de morte das APCs maduras (dia^{-1})	$5,38 \times 10^{-1}$
α_{th}	Taxa de homeostase das células T CD4+ (dia^{-1})	$2,17 \times 10^{-4}$
β_{th}	Taxa de ativação das células T CD4+ <i>naive</i> (dia^{-1})	1×10^{-7}
π_{th}	Taxa de replicação das células T CD4+ efectoras (dia^{-1})	1×10^{-8}
δ_{th}	Taxa de morte das células T CD4+ efectoras (dia^{-1})	$2,2 \times 10^{-1}$
α_{tk}	Taxa de homeostase das células T CD8+ (dia^{-1})	$2,17 \times 10^{-4}$
β_{tk}	Taxa de ativação das células T CD8+ <i>naive</i> (dia^{-1})	1×10^{-5}
π_{tk}	Taxa de replicação das células T CD8+ efectoras (dia^{-1})	1×10^{-8}
δ_{tk}	Taxa de morte das células T CD8+ efectoras (dia^{-1})	3×10^{-4}
α_b	Taxa de homeostase das células B (dia^{-1})	$6,0 \times 10^0$
π_{b1}	Taxa de ativação das células B T-independente (dia^{-1})	$4,83 \times 10^{-6}$
π_{b2}	Taxa de ativação das células B T-dependente (dia^{-1})	$1,27 \times 10^{-8}$
β_{ps}	Taxa de diferenciação das células B ativas em plasmócitos de vida curta (dia^{-1})	$6,72 \times 10^{-4}$
β_{pl}	Taxa de diferenciação das células B ativas em plasmócitos de vida longa (dia^{-1})	$5,61 \times 10^{-6}$
β_{bm}	Taxa de diferenciação das células B ativas em células B de memória (dia^{-1})	1×10^{-6}
δ_{ps}	Taxa de morte dos plasmócitos de vida curta (dia^{-1})	$2,0 \times 10^0$
δ_{pl}	Taxa de morte dos plasmócitos de vida longa (dia^{-1})	$2,4 \times 10^{-4}$
γ_{bm}	Taxa de diferenciação das células B de memória em plasmócitos de vida longa (dia^{-1})	$9,75 \times 10^{-4}$
π_{bm1}	Taxa de proliferação das células B de memória (dia^{-1})	1×10^{-5}
π_{bm2}	Constante de crescimento máximo (células/ml)	$2,5 \times 10^3$
π_{ps}	Taxa de secreção de anticorpos por unidade de plasmócitos de vida curta (dia^{-1})	2×10^{-3}
π_{pl}	Taxa de secreção de anticorpos por unidade de plasmócito de vida longa (dia^{-1})	$6,8 \times 10^{-4}$
δ_a	Taxa de morte de anticorpos (dia^{-1})	4×10^{-2}

A Figura 3.1 é um esquema que mostra as populações consideradas e o relacionamento entre elas.

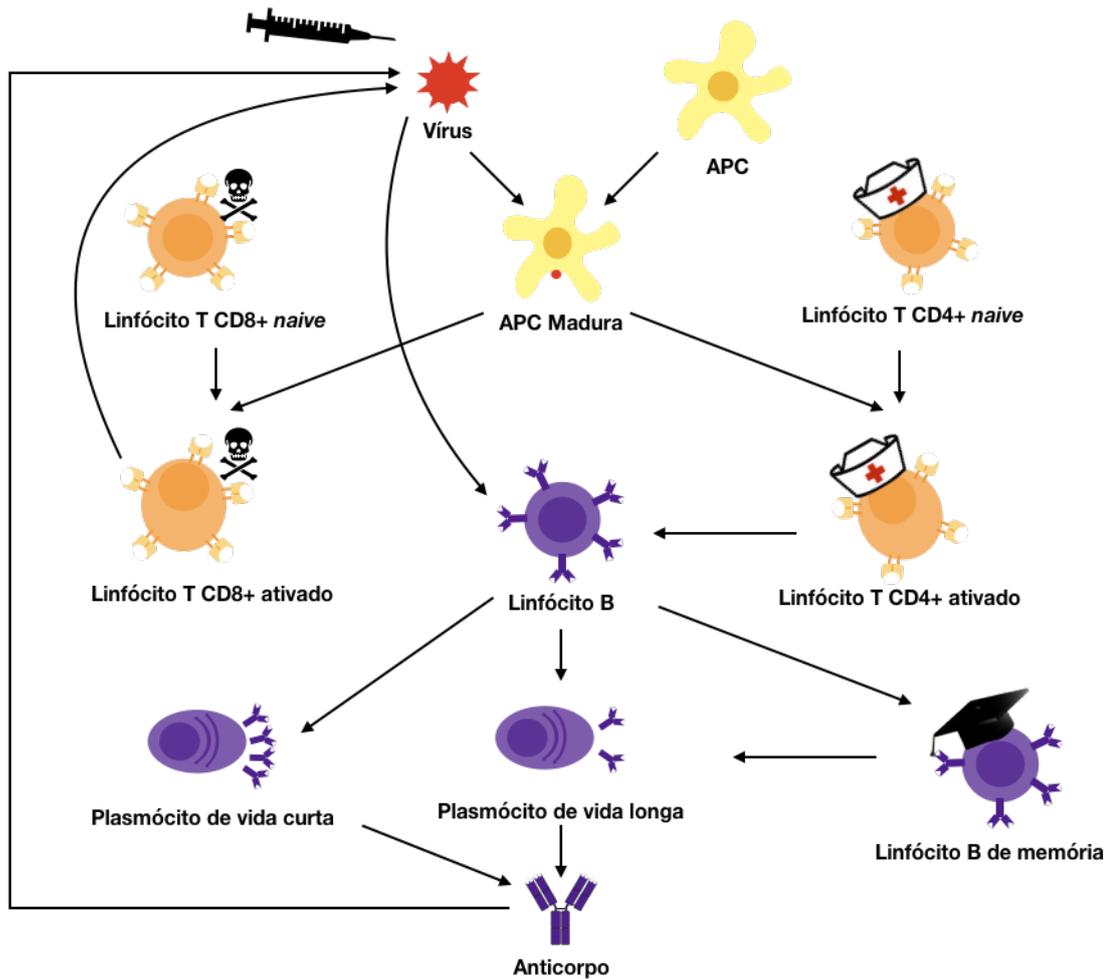


Figura 3.1: Esquema da interação entre as populações consideradas no modelo.

O processo se inicia quando o vírus vacinal (V) é inoculado e, após isso, as células da região onde a vacina foi aplicada são infectadas. Esta infecção estimula as APCs imaturas (A_p) presentes no local a capturarem o vírus e tornarem-se maduras (A_{pm}), sendo assim capazes de ativar as células *naíve* e torná-las células efetoras.

As células T CD4+ efetoras (T_{he}) têm a função de auxiliar no processo de ativação de outras células, como os linfócitos B (B). As células B (B), quando ativas, se diferenciam em plasmócitos (células B secretoras de anticorpos) de vida curta (P_s) e de vida longa (P_l). Uma parte das células B ativas se diferenciam também em células B de memória (B_m), que permanecerão em repouso até uma nova exposição ao mesmo vírus. Além disso, as células B de memória (B_m) mantêm os níveis de plasmócitos de vida longa (P_l). A Figura 3.2 mostra um esquema simplificado da ativação e diferenciação das células B.

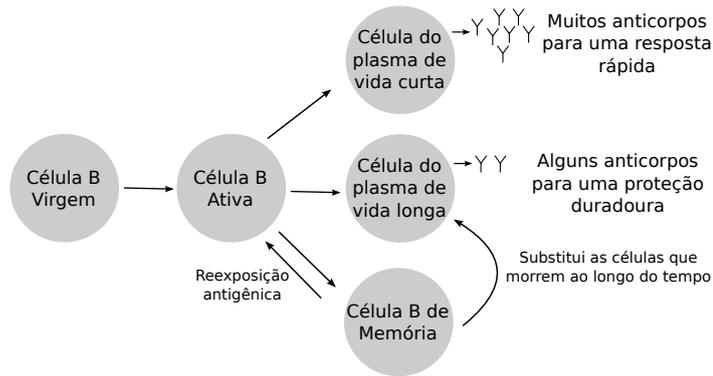


Figura 3.2: Esquema de ativação e diferenciação das células B. Adaptado de Sompayrac (2008).

3.1.1 Detalhamento do modelo

A Equação (3.1) representa o vírus vacinal (V):

$$\frac{d}{dt}V = \pi_v V - \frac{c_{v1}V}{c_{v2} + V} - k_{v1}VA - k_{v2}VT_{ke}. \quad (3.1)$$

O vírus não consegue proliferar sozinho, ele precisa infectar uma célula e usá-la como fábrica de novos vírus. Isso é implicitamente considerado no termo $\pi_v V$, que representa a multiplicação do vírus no organismo. O termo $\frac{c_{v1}V}{c_{v2}+V}$ denota um clareamento viral ¹ não específico feito pelo SIH inato. O termo $k_{v1}VA$ denota o clareamento viral específico decorrente da neutralização do vírus pelos anticorpos. O termo $k_{v2}VT_{ke}$ denota o clareamento viral específico devido à indução da apoptose das células infectadas com vírus da FA pelas células T CD8+.

As APCs são todas as células que apresentam complexos de antígenos nas suas superfícies, como as células dendríticas e os macrófagos. Foram considerados dois estágios de APCs: imaturas e maduras. O estágio das APCs imaturas (A_p) é descrito pela Equação (3.2):

$$\frac{d}{dt}A_p = \alpha_{ap}(A_{p0} - A_p) - \beta_{ap}A_p \frac{c_{ap1}V}{c_{ap2} + V}. \quad (3.2)$$

¹Processo de eliminação do vírus

O termo $\alpha_{ap}(A_{p0} - A_p)$ denota a homeostase das APCs. O termo $\beta_{ap}A_p \frac{c_{ap1}V}{c_{ap2}+V}$ denota o decaimento das APCs imaturas devido ao fato de tornarem-se maduras. Este mesmo termo aparece na Equação (3.3) com sinal positivo, isso porque a população de APCs imaturas foi diminuída e a de APCs maduras foi acrescida.

A Equação (3.3) corresponde às APCs maduras (A_{pm}):

$$\frac{d}{dt}A_{pm} = \beta_{ap}A_p \frac{c_{ap1}V}{c_{ap2}+V} - \delta_{apm}A_{pm}. \quad (3.3)$$

O termo $\beta_{ap}A_p \frac{c_{ap1}V}{c_{ap2}+V}$ denota a dinâmica da maturação das APCs. O termo $\delta_{apm}A_{pm}$ denota o decaimento natural das APCs maduras.

A Equação (3.4) representa a população de células T CD4+ *naive* (T_{hn}):

$$\frac{d}{dt}T_{hn} = \alpha_{th}(T_{hn0} - T_{hn}) - \beta_{th}A_{pm}T_{hn}. \quad (3.4)$$

O termo $\alpha_{th}(T_{hn0} - T_{hn})$ representa a homeostase das células T CD4+. O termo $\beta_{th}A_{pm}T_{hn}$ denota a ativação das células T CD4+ *naive*.

A Equação (3.5) representa a população de células T CD4+ efectoras (T_{he}):

$$\frac{d}{dt}T_{he} = \beta_{th}A_{pm}T_{hn} + \pi_{th}A_{pm}T_{he} - \delta_{th}T_{he}. \quad (3.5)$$

O termo $\pi_{th}A_{pm}T_{he}$ representa a replicação das células T CD4+ efectoras. O termo $\delta_{th}T_{he}$ representa a morte natural dessas células.

A Equação (3.6) representa a população de células T CD8+ *naive* (T_{kn}):

$$\frac{d}{dt}T_{kn} = \alpha_{tk}(T_{kn0} - T_{kn}) - \beta_{tk}A_{pm}T_{kn}. \quad (3.6)$$

O termo $\alpha_{tk}(T_{kn0} - T_{kn})$ representa a homeostase das células T CD8+. O termo $\beta_{tk}A_{pm}T_{kn}$ denota a ativação das células T CD8+ *naive*.

A Equação (3.7) representa a população de células T CD8+ efectoras (T_{ke}):

$$\frac{d}{dt}T_{ke} = \beta_{tk}A_{pm}T_{kn} + \pi_{tk}A_{pm}T_{ke} - \delta_{tk}T_{ke}. \quad (3.7)$$

O termo $\pi_{tk}A_{pm}T_{ke}$ representa a replicação das células T CD8+ efectoras. O termo $\delta_{tk}T_{ke}$ representa a morte natural dessas células.

A Equação (3.8) representa as células B, *naive* e efectoras:

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}B = & \alpha_b(B_0 - B) + \pi_{b1}VB + \pi_{b2}T_{he}B - \beta_{ps}A_{pm}B \\ & - \beta_{pl}T_{he}B - \beta_{bm}T_{he}B. \end{aligned} \quad (3.8)$$

Como simplificação do modelo, essas populações não foram consideradas separadamente. Uma parcela das células B ativas que não se diferenciam em plasmócitos, se diferenciam em células de memória. Elas permanecem em repouso, prontas para uma rápida ativação no caso de uma reexposição ao mesmo antígeno. O termo $\alpha_b(B_0 - B)$ representa a homeostase das células B. Os termos $\pi_{b1}VB$ e $\pi_{b2}T_{he}B$ representam a ativação das células B utilizando os mecanismos independente e dependente de células T CD4+, respectivamente. Os termos $\beta_{ps}A_{pm}B$, $\beta_{pl}T_{he}B$ e $\beta_{bm}T_{he}B$ denotam as parcelas de células B ativas que se diferenciam em plasmócitos de vida curta, vida longa e células B de memória, respectivamente.

A Equação (3.9) representa os plasmócitos de vida curta (P_s):

$$\frac{d}{dt}P_s = \beta_{ps}A_{pm}B - \delta_{ps}P_s. \quad (3.9)$$

O termo $\delta_{ps}P_s$ denota o decaimento natural dos plasmócitos de vida curta.

A Equação (3.10) representa os plasmócitos de vida longa (P_l):

$$\frac{d}{dt}P_l = \beta_{pl}T_{he}B - \delta_{pl}P_l + \gamma_{bm}B_m. \quad (3.10)$$

O termo $\delta_{pl}P_l$ denota o decaimento natural dos plasmócitos de vida longa. O termo $\gamma_{bm}B_m$ representa a diferenciação das células B de memória em plasmócitos de vida longa.

A Equação (3.11) corresponde às células B de memória (B_m):

$$\frac{d}{dt}B_m = \beta_{bm}T_{he}B + \pi_{bm1}B_m \left(1 - \frac{B_m}{\pi_{bm2}}\right) - \gamma_{bm}B_m. \quad (3.11)$$

O termo $\pi_{bm1}B_m \left(1 - \frac{B_m}{\pi_{bm2}}\right)$ representa o crescimento logístico das células B de memória, ou seja, existe um limite para este crescimento.

A Equação (3.12) representa os anticorpos:

$$\frac{d}{dt}A = \pi_{ps}P_s + \pi_{pl}P_l - \delta_a A. \quad (3.12)$$

Os termos $\pi_{ps}P_s$ e $\pi_{pl}P_l$ representam a produção dos anticorpos pelos plasmócitos de vida curta e de vida longa, respectivamente. O termo $\delta_a A$ denota o decaimento natural dessa população.

É possível perceber que nas Equações (3.1), (3.2) e (3.11) foram usadas as funções apresentadas nas Equações (3.13), (3.14) e (3.15), respectivamente:

$$\frac{c_{v1}V}{c_{v2} + V}, \quad (3.13)$$

$$\beta_{ap}A_p \frac{c_{ap1}V}{c_{ap2} + V}, \text{ e} \quad (3.14)$$

$$\pi_{bm1}B_m \left(1 - \frac{B_m}{\pi_{bm2}}\right). \quad (3.15)$$

Estas funções são amplamente utilizadas na modelagem de sistemas biológicos e foram baseadas no livro de Haefner (2005). A função apresentada nas Equações (3.13) e (3.14) é uma função que se baseia no conceito apresentado por Michaelis and Menten (Sneyd e Keener, 1998), usado normalmente para reações químicas. Nesse contexto, sob pequenas concentrações de substrato, a taxa da reação é obedecida, mas quando há alta concentração de substrato, a taxa de reação satura ao valor estabelecido por um dos parâmetros contidos na função. No contexto deste trabalho, isso quer dizer que a viremia consegue ser controlada pelo SIH inato até um certo nível. Mas, se houver uma enorme quantidade de V , esse sistema não é mais suficiente, existe um limite que é dado pelo valor de saturação. A função tem dois importantes parâmetros: um associado ao valor de saturação e outro ao número de células necessárias para a metade da eliminação máxima.

Na Equação (3.13), por exemplo, esses parâmetros são c_{v1} e c_{v2} , respectivamente.

A outra função utilizada, apresentada na Equação (3.15), é o crescimento logístico. Uma aplicação típica da equação logística é um modelo comum do crescimento populacional, originalmente, devido a Pierre-François Verhulst em 1838, onde a taxa de reprodução é proporcional tanto a população existente quanto à quantidade de recursos disponíveis, todo o resto sendo constante (Haefner, 2005).

Sendo P o tamanho populacional e t o tempo, esse modelo é formalizado como a equação diferencial apresentada na Equação (3.16):

$$\frac{dP}{dt} = rP\left(1 - \frac{P}{k}\right), \quad (3.16)$$

onde a constante r define a taxa de crescimento e k é a capacidade de carga.

3.1.2 Modelo completo

Em resumo, as equações do modelo que descrevem a resposta do SIH à vacinação de FA são:

$$\frac{d}{dt}V = \pi_v V - \frac{c_{v1}V}{c_{v2} + V} - k_{v1}VA - k_{v2}VT_{ke}, \quad (3.17)$$

$$\frac{d}{dt}A_p = \alpha_{ap}(A_{p0} - A_p) - \beta_{ap}A_p \frac{c_{ap1}V}{c_{ap2} + V}, \quad (3.18)$$

$$\frac{d}{dt}A_{pm} = \beta_{ap}A_p \frac{c_{ap1}V}{c_{ap2} + V} - \delta_{apm}A_{pm}, \quad (3.19)$$

$$\frac{d}{dt}T_{hn} = \alpha_{th}(T_{hn0} - T_{hn}) - \beta_{th}A_{pm}T_{hn}, \quad (3.20)$$

$$\frac{d}{dt}T_{he} = \beta_{th}A_{pm}T_{hn} + \pi_{th}A_{pm}T_{he} - \delta_{th}T_{he}, \quad (3.21)$$

$$\frac{d}{dt}T_{kn} = \alpha_{tk}(T_{kn0} - T_{kn}) - \beta_{tk}A_{pm}T_{kn}, \quad (3.22)$$

$$\frac{d}{dt}T_{ke} = \beta_{tk}A_{pm}T_{kn} + \pi_{tk}A_{pm}T_{ke} - \delta_{tk}T_{ke}, \quad (3.23)$$

$$\begin{aligned} \frac{d}{dt}B = \alpha_b(B_0 - B) + \pi_{b1}VB + \pi_{b2}T_{he}B - \beta_{ps}A_{pm}B \\ - \beta_{pl}T_{he}B - \beta_{bm}T_{he}B, \end{aligned} \quad (3.24)$$

$$\frac{d}{dt}P_s = \beta_{ps}A_{pm}B - \delta_{ps}P_s, \quad (3.25)$$

$$\frac{d}{dt}P_l = \beta_{pl}T_{he}B - \delta_{pl}P_l + \gamma_{bm}B_m, \quad (3.26)$$

$$\frac{d}{dt}B_m = \beta_{bm}T_{he}B + \pi_{bm1}B_m \left(1 - \frac{B_m}{\pi_{bm2}}\right) - \gamma_{bm}B_m, \quad (3.27)$$

$$\frac{d}{dt}A = \pi_{ps}P_s + \pi_{pl}P_l - \delta_a A. \quad (3.28)$$

3.2 Histórico do modelo

O modelo apresentado vem sendo desenvolvido e aprimorado desde 2013 (Bonin *et al.*, 2016, 2017, 2018). O objetivo geral do estudo sempre foi desenvolver um modelo da resposta imune à vacina contra FA. Pensou-se inicialmente em um modelo que capturasse todas as etapas da resposta imune, desde a infecção das células epiteliais até a secreção dos anticorpos, considerando várias populações de células e moléculas, em diferentes estágios e compartimentos. Eram 19 EDOs divididas em dois compartimentos: um que representava o tecido de injeção da vacina e o outro os linfonodos.

Porém, para considerar todos os aspectos supracitados, tanto o modelo quanto o ajuste

necessário para que ele conseguisse reproduzir os comportamentos desejados se tornaram complexos. Com o aumento do número de equações e parâmetros, aumenta também a quantidade de dados e informações necessárias para prover ao modelo, muitos dos quais indisponíveis tanto na literatura quanto em dados experimentais: para desenvolver e validar modelos matemáticos se faz necessário o uso dos dados obtidos através de experimentos. Em alguns casos eles são usados para ajustar o modelo e em outros para sua validação, ou seja, comparar o comportamento experimental com o que é obtido pela simulação do modelo.

A obtenção desses dados de fato não é tarefa trivial. Segundo Martins e Homma (2013), os estudos sobre duração da imunidade são de difícil interpretação, porque são utilizados diferentes métodos laboratoriais e/ou diferentes métodos de avaliação da soroproteção. Não há um marcador sorológico de proteção bem estabelecido em seres humanos. Dados de imunidade celular são muito escassos. Esses fatores dificultaram a obtenção de dados experimentais compatíveis com os padrões e unidades usadas no modelo.

Pensando nisso, decidiu-se fazer um modelo simplificado, que considerasse apenas os principais comportamentos da resposta imune e que pudesse ser validado de forma qualitativa com os comportamentos descritos na literatura e quantitativa com os poucos dados disponíveis até aquele momento. O modelo passou então a ter 10 equações, que representavam o vírus vacinal, APCs, células T CD8+, plasmócitos de vida curta e vida longa, células B, B de memória e anticorpos. A Tabela 3.3 apresenta as principais diferenças entre os modelos apresentados em Bonin *et al.* (2016) e Bonin *et al.* (2018).

Tabela 3.3: Principais diferenças entre os modelos

	Bonin <i>et al.</i> (2016)	Bonin <i>et al.</i> (2018)
Número de equações	19	10
Número de parâmetros	54	27
Número de compartimentos	2	1
Número de populações consideradas	10	8

Em relação ao trabalho Bonin *et al.* (2018), algumas alterações foram feitas no escopo do presente trabalho. Uma das mais significativas foi reintroduzir a população de células T CD4+. Isso se fez necessário para conseguir incluir o mecanismo de ativação dos linfócitos

B dependente das células T CD4+. A Tabela 3.4 apresenta as principais diferenças entre os modelos apresentados em Bonin *et al.* (2018) e o modelo apresentado nesse trabalho.

Tabela 3.4: Principais diferenças entre os modelos

	Bonin <i>et al.</i> (2018)	Atual
Número de equações	10	12
Número de parâmetros	27	32
Número de compartimentos	1	1
Número de populações consideradas	8	9

3.3 Implementação computacional

Para resolução do sistema de EDOs foi implementado um código em linguagem `Python`. Algumas vantagens oferecidas pela linguagem foram importantes para a escolha. A linguagem `Python` é livre e está disponível em versões para Windows, Linux e macOS. Mas, a principal vantagem considerada foi a variedade de bibliotecas que oferecem ferramentas para a resolução de complexos cálculos matemáticos de forma eficiente e facilmente codificável. As rotinas contidas nessas bibliotecas são, em geral, desenvolvidas nas linguagens C ou Fortran. A biblioteca escolhida foi a `scipy` (Odeint, 2014). Essa biblioteca possui um pacote chamado `integrate` com algumas funções para cálculos de integrais. Este pacote também possui uma função chamada `odeint` e foi escolhida por ser capaz de resolver numericamente um sistema de EDOs. A escolha do método numérico a ser usado é feita de forma automática pela função baseando-se nas características das equações. O método BDF (*Backward Differentiation Formulae*) é usado para equações *stiff* e o método de Adams (LeVeque, 2007) caso contrário. Equações *stiff* são aquelas cujas soluções contêm escalas significativamente diferentes para a variável independente (Akai, 1994). Frequentemente, esses problemas ocorrem em sistemas de equações diferenciais que envolvem vários componentes que estão decaindo a taxas muito diferentes. As escolhas do passo de integração e da ordem de convergência utilizam um esquema adaptativo.

3.3.1 Métodos BDF

Os métodos BDF são uma família de métodos implícitos para a integração numérica de EDOs. Eles são métodos lineares multipasso que, para uma determinada função e tempo, aproximam a derivada dessa função por expressões de diferenças finitas regressivas, usando informações de passos anteriores. Estes métodos são usados para resolver problemas de valor inicial. Dada a EDO

$$y'(x) = f(t, y), \quad (3.29)$$

com a condição inicial

$$y_{t_0} = y_0, \quad (3.30)$$

a fórmula geral para os métodos BDF é dada pela equação

$$\sum_{k=0}^s a_k y_{n+k} = h\beta f(t_{n+s}, y_{n+s}), \quad (3.31)$$

onde h representa o passo de tempo, $t_n = t_0 + nh$. Os coeficientes a_k e β são escolhidos de acordo com a ordem, onde o máximo é s . As Equações de (3.32) a (3.34) apresentam a formulação para os métodos BDF de ordem 1 a 3, respectivamente. O método de ordem 1 desta família é também conhecido com *Backward Euler Method*.

BDF de ordem 1:

$$y_{n+1} - y_n = hf(t_{n+1}, y_{n+1}). \quad (3.32)$$

BDF de ordem 2:

$$y_{n+2} - \frac{4}{3}y_{n+1} + \frac{1}{3}y_n = \frac{2}{3}hf(t_{n+2}, y_{n+2}). \quad (3.33)$$

BDF de ordem 3:

$$y_{n+3} - \frac{18}{11}y_{n+2} + \frac{9}{11}y_{n+1} - \frac{2}{11}y_n = \frac{6}{11}hf(t_{n+3}, y_{n+3}). \quad (3.34)$$

3.3.2 Métodos de Adams

Os métodos de Adams usam informações de múltiplos passos da solução para obter a solução no próximo passo. O método de Adams pode ser explícito (quando a solução do próximo passo depende apenas de informações já obtidas), chamado de Adams-Bashforth, ou implícito (quando a solução do próximo passo depende de informações dele mesmo, que ainda não foram obtidas), chamado de Adams-Moulton. O método usado pela função `odeint` é o Adams-Moulton.

Seja a EDO:

$$Y'(x) = f(x, Y(x)). \quad (3.35)$$

Deseja-se conhecer $Y(x)$, para isso, deve-se integrar no intervalo $[x_n, x_{n+1}]$, obtendo:

$$\int_{x_n}^{x_{n+1}} Y'(x) dx = \int_{x_n}^{x_{n+1}} f(x, Y(x)) dx \quad (3.36)$$

Sendo que

$$Y(x_{n+1}) = Y(x_n) + \int_{x_n}^{x_{n+1}} f(x, Y(x)) dx, \quad (3.37)$$

e dado que

$$g(x) = f(x, Y(x)), \quad (3.38)$$

para encontrar a função $Y(x)$ deve-se usar um método numérico que aproxime a função. O método de Adams-Moulton faz isso usando um polinômio interpolador e então integra o polinômio. Considerando o caso em que se usa o polinômio linear $p_1(x)$ para interpolar $g(x)$ em x_n e x_{n+1} temos

$$p_1(x) = \frac{1}{h} [(x_{n+1} - x)g(x) + (x - x_n)g(x_{n+1})]. \quad (3.39)$$

Usando o polinômio acima para aproximar $g(x)$ e integrar tem-se

$$\int_{x_n}^{x_{n+1}} g(x) dx \approx \int_{x_n}^{x_{n+1}} p_1(x) dx = \frac{h}{2} [g(x_n) - g(x_{n+1})]. \quad (3.40)$$

Aplicando (3.40) à formulação integral (3.37) e incluindo o termo de erro obtém-se

$$Y(x_{n+1}) = Y(x_n) + \frac{h}{2}[f(x_n, Y(x_n)) + f(x_{n+1}, Y(x_{n+1}))] - \frac{h^3}{12}Y'''(\xi_n). \quad (3.41)$$

Desprezando o termo do erro, obtém-se a aproximação para o próximo passo dada pela Equação (3.42):

$$Y(x_{n+1}) \approx Y(x_n) + \frac{h}{2}[f(x_n, Y(x_n)) + f(x_{n+1}, Y(x_{n+1}))]. \quad (3.42)$$

3.4 Dados experimentais

Em setembro de 2018 foi estabelecida uma parceria entre a Universidade Federal de Juiz de Fora e o Instituto René Rachou, Fiocruz Minas. Com essa parceria, foi possível ter acesso a dados experimentais de diversos estudos realizados por esse instituto de pesquisa sobre a vacina contra FA em humanos, como os de viremia e títulos de anticorpos ² para diferentes cenários. Apesar da parceria ter sido estabelecida com o Instituto René Rachou, Fiocruz Minas, alguns dados foram gerados no Laboratório de Tecnologia Viroológica (LATEV/BioManguinhos), integrante do Grupo Colaborativo para o Estudo da Vacina contra Febre Amarela. Os dados experimentais obtidos foram:

- Fatores solúveis dose resposta, contendo os dados de biomarcadores séricos dosados em amostras de soros de militares voluntários, categorizados em 6 grupos que receberam a dose padrão (27476 UI - Unidades Internacionais) ou doses menores da vacina contra FA 17DD, produzida por BioManguinhos;
- Dados da duração da imunidade humoral (PRNT) e celular (memória fenotípica e funcional) em crianças primovacinadas com a vacina 17DD;
- Dados da duração da imunidade humoral (PRNT) e celular (memória fenotípica

²Título de anticorpo indica o nível de anticorpos em uma amostra de sangue, definido como a maior diluição da amostra de sangue com um diluente na qual um ensaio, como ELISA, ainda produz um resultado positivo (Simões *et al.*, 2012).

e funcional) em adultos primovacinados e revacinados (duas doses e mais de duas doses) com a vacina 17DD;

- Impacto em FOLDS³ nos níveis de PRNT comparando-se os valores obtidos antes e após a primovacinação ou a revacinação 17DD;
- Dados da duração da imunidade humoral (PRNT) e celular (memória fenotípica e funcional) em adultos portadores de doenças autoimunes em uso de terapia imunomoduladora e controles saudáveis, primovacinados com a vacina 17DD;

Dentre todos esses dados, foram selecionados alguns para ajustar e posteriormente validar o modelo. O restante poderá ser usado para futuras modificações e melhorias no modelo.

O primeiro conjunto de dados utilizado foi o que apresenta marcadores da resposta imunológica à vacina contra FA em indivíduos adultos primovacinados e revacinados. As Tabelas 3.5 e 3.6 apresentam um resumo dos dados que foram utilizados para os indivíduos primovacinados e a Tabela 3.7 para os revacinados. Os dados de anticorpos apresentados nas tabelas representam a média geométrica dos títulos de anticorpos (GMT, do inglês *Geometric Mean Titers*) de todos os indivíduos de cada grupo. Maiores detalhes sobre o cálculo dessas médias serão dados na Seção 4.1.

Tabela 3.5: Uma dose adultos - Anticorpos (\log_{10} mUI/ml) - por intervalo de tempo

Tempo Categórico	Número de indivíduos	Tempo médio (dias)	GMT (\log_{10} mUI/ml)
NV (0)	46	0	1.96
PV (30-45 dias)	46	44 (42-49)	3.88
PV (1-5 anos)	36	1367 (537-1833)	3.40
PV (5-9 anos)	12	2609 (1882-3406)	3.40
PV(>10 anos)	45	4081 (3721-4414)	3.19

Tabela 3.6: Uma dose adultos - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo

Tempo Categórico	Número de indivíduos	Tempo médio (dias)	GMT (reverso da diluição)
PV (5-9 anos)	23	2797 (2008-3285)	152
PV (>10 anos)	45	5021 (3650-5475)	100

As Tabelas 3.8 e 3.9 apresentam um resumo dos dados que foram utilizados sobre vacinação contra FA em crianças e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora,

³Número de vezes em que aumenta em relação a um valor de referência

Tabela 3.7: Revacinados - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo

Tempo Categórico	Número de indivíduos	Tempo médio (dias)	GMT (reverso da diluição)
RV (30-45 dias)	45	40 (30-69)	347
RV (1-5 anos)	47	1017 (365-1825)	180
RV (5-9 anos)	34	2287 (2190-2555)	177
RV (>10 anos)	9	3163 (2920-5840)	116

respectivamente. A Tabela 3.10 resume os dados dos níveis de anticorpos do estudo que avalia a relação dose *versus* resposta.

Tabela 3.8: Crianças - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo

Tempo Categórico	Número de indivíduos	Tempo médio (dias)	GMT (reverso da diluição)
NV (0)	50	0	5
PV (30-45 dias)	46	39 (30-57)	74
PV (1 ano)	113	409 (243-549)	37
PV (2 anos)	93	758 (558-909)	26
PV (4 anos)	97	1529 (966-2064)	14
PV (7 anos)	93	2562 (2379-2982)	10
PV (10 anos)	111	3670 (3027-4239)	12

Tabela 3.9: Uso de terapia imunomoduladora - Anticorpos (reverso da diluição) - por intervalo de tempo

Tempo Categórico	Número de indivíduos	Tempo médio (dias)	GMT (reverso da diluição)
CONT (1-5 anos)	4	1553 (1200-1800)	375,55
CONT (>5-9 anos)	26	2745 (1950-3240)	179,30
CONT (10 anos)	11	3900 (3450-5520)	136,07
cs + bDMARD (1-5 anos)	10	1233 (660-1830)	244,88
cs + bDMARD (>5-9 anos)	24	2686 (2070-3420)	126,81
cs + bDMARD (10 anos)	13	5268 (3600-7500)	103,25

Tabela 3.10: Dose Resposta - Anticorpos (\log_{10} mUI/ml) - por intervalo de tempo

Dose - UI	Número de indivíduos	Tempo médio (dias)	GMT dia 0	GMT PV 30-45 dias
31	92	27 (21-34)	2,12	2,99
158	88	27 (20-34)	2,14	3,68
587	92	28 (21-34)	2,16	4,02
3013	100	28 (21-34)	2,14	3,98
10447	91	28 (21-34)	2,19	4,10
27476	98	27 (21-34)	2,23	4,09

É possível notar uma diferença na unidade dos títulos anticorpos (mUI/ml e reverso da diluição). O teste que normalmente é realizado para a quantificação de anticorpos, PRNT, gera resultados em diluição. Quando, no momento do teste, existe o soro padrão para a quantificação em Unidades Internacionais, esse valor também é obtido. O que muitas vezes ocorre é a falta desse soro e conseqüentemente a falta dos valores em mUI/ml.

Dessa forma, em alguns experimentos, os níveis de anticorpos estão em mUI/ml e em outros, reverso da diluição. A unidade adotada pelo modelo para a concentração de anticorpos é mUI/ml e dados nessa unidade serão usados para uma validação quantitativa

do modelo. Porém, os dados em reverso da diluição também serão usados na validação do modelo, mas de forma qualitativa. Não foi encontrada uma correlação direta entre essas unidades na literatura.

Antes da assinatura do convênio que permitiu o acesso aos dados experimentais, o modelo era dito qualitativamente validado pois seu comportamento era comparado somente ao que é descrito na literatura e a alguns poucos valores encontrados em artigos científicos. Com a obtenção dos dados experimentais de todos os participantes dos vários estudos sobre os efeitos da vacina contra FA, é possível realizar diversas análises destes dados e utilizá-los para ajustar quantitativamente os comportamentos apresentados pela simulação do modelo.

Uma das principais alterações feitas após a obtenção dos dados experimentais foi o ajuste das unidades usadas no modelo. A quantidade de vírus vacinal usada como condição inicial do modelo foi uma dessas alterações. Anteriormente, era usado o valor 27.476 UI, que é a quantidade média de vírus presente na dose padrão, ou seja, em 0,5 ml. Mas, a partir do momento em que a vacina é injetada no indivíduo, assumiu-se que ela é diluída no volume de líquidos que o indivíduo tem no corpo, algo em torno de 65% do peso corporal. Além disso, neste trabalho, deseja-se comparar a curva de viremia gerada pelo modelo com os dados experimentais obtidos, que estão expressos na unidade cópias/ml, ou seja, o número de partículas virais por mililitro. Para isso, é necessário que o modelo também esteja nessa unidade. Foi preciso então converter de UI/dose (27.476 UI em 0,5 ml da dose) para UI/ml de líquido no corpo. Após isso, o valor encontrado foi convertido para PFU⁴/ml usando a relação 1 UI = 1,91 PFU (Martins *et al.*, 2013). Para converter de PFU/ml para cópias/ml, foi usada uma relação encontrada em Fernandes-Monteiro *et al.* (2015) e apresentada na Equação (3.43):

$$\log_{10} PFU/ml = [0,974 \log_{10} copias/ml] - 2,807. \quad (3.43)$$

Com relação às outras populações, exceto a de anticorpos, os valores usados

⁴Plaque-Forming Unit ou Unidade Formadora de Placa é uma medida do número de partículas capazes de formar placas (estruturas visíveis formadas dentro de uma cultura celular) por unidade de volume, tais como partículas virais.

anteriormente eram compatíveis com a quantidade de células encontrada em $1 \mu\text{l}$, e por esse motivo foram multiplicadas por 10^3 para ficarem compatíveis com o restante do modelo que está em ml. Como houve alteração nas condições iniciais, foi necessário realizar um novo ajuste nos parâmetros do modelo.

4 RESULTADOS

Os capítulos anteriores apresentaram os conceitos usados para a construção do modelo computacional proposto neste trabalho, as etapas do seu desenvolvimento e as técnicas usadas para sua implementação. Este capítulo tem por objetivo apresentar e discutir os resultados obtidos pelo modelo, ressaltando pontos importantes observados à partir da comparação com os dados experimentais obtidos através da parceria com o Instituto René Rachou - Fiocruz Minas e com comportamentos biológicos descritos na literatura.

Este capítulo se inicia na Seção 4.1 apresentando os diferentes cenários que foram simulados. A Seção 4.2 apresenta os resultados para o cenário mais simples, a simulação de um indivíduo sendo vacinado pela primeira vez com a dose padrão da vacina contra FA, comparando-os quantitativamente com os dados experimentais de anticorpos. Os dados experimentais desse cenário foram usados para ajustar os parâmetros do modelo. Para todos os outros cenários que serão apresentados posteriormente, os dados experimentais foram usados apenas para a validação dos resultados do modelo, seja esta quantitativa ou apenas qualitativa. É importante ressaltar que não foi utilizada nenhuma técnica automatizada para ajuste dos parâmetros. Esse processo foi feito de forma manual, entendendo qual comportamento não estava de acordo com o desejado e alterando os parâmetros que representavam o mecanismo que desencadeava aquele comportamento. A dinâmica de todas as populações do modelo durante a simulação é apresentada no Apêndice A.

A Seção 4.3 apresenta as simulações do modelo para o cenário de administração da dose reforço da vacina. Para esse cenário também existem dados experimentais para a validação dos resultados. Esses dados estão em unidades diferentes daquelas usadas no modelo, mas ainda assim é possível fazer uma validação qualitativa.

Quando o objetivo é simular a resposta imune de indivíduos em condições especiais, em que o funcionamento do SIH é alterado de alguma forma, precisa-se alterar no modelo parâmetros que representem os mecanismos que diferenciam estes indivíduos dos demais.

Essa abordagem foi feita para a simulação da vacinação de crianças e de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. As Seções 4.4 e 4.5 apresentam os resultados computacionais obtidos pela simulação do modelo quando uma alteração nos valores de alguns parâmetros foi feita a fim de reproduzir a resposta imune de uma criança e de um indivíduo portador de doença autoimune sob uso de terapia imunomoduladora combinada quando vacinados pela primeira vez contra FA, respectivamente. Para os dois cenários foram obtidos dados experimentais e esses foram usados para uma validação qualitativa do modelo, uma vez que os dados experimentais e resultados computacionais não estão na mesma unidade.

Foram obtidos também dados experimentais que comparam a resposta imune de indivíduos que receberam doses diferentes da vacina. Sem que nenhuma alteração fosse feita nas equações ou nos parâmetros do modelo, esse cenário foi simulado alterando apenas a condição inicial do vírus, que representa a dose da vacina injetada no indivíduo. Os resultados computacionais dessa simulação são apresentados na Seção 4.6.

As células T, CD4+ e CD8+, desempenham papéis importantes na aquisição e manutenção da imunidade. Baseando-se em comportamentos descritos na literatura, decidiu-se avaliar o impacto da variação da contagem dessas células no organismo no momento da vacinação. Para isso foram feitas simulações utilizando-se diferentes valores de condição inicial para células T CD4+ e T CD8+ *naive* e os resultados computacionais são apresentados nas Seções 4.7 e 4.8, respectivamente. Ainda não foram utilizados dados experimentais para validar esses cenários, portanto apenas comportamentos descritos na literatura foram avaliados.

4.1 Experimentos computacionais realizados

Foram simulados diferentes cenários para comparar os resultados computacionais obtidos pelo modelo aos dados experimentais obtidos através da parceria com o Instituto René Rachou, Fiocruz Minas. Os resultados dessas simulações serão apresentados no Capítulo 4, sendo os cenários explicados a seguir.

O primeiro cenário simulado foi o de um indivíduo adulto sendo vacinado pela primeira

vez com a dose plena de um lote da vacina contra FA. Esses resultados podem ser vistos na Seção 4.2.

O segundo cenário representa a revacinação de indivíduos adultos. Nesse caso, assim como acontece em alguns outros que serão descritos posteriormente, os dados obtidos não estão na mesma unidade do modelo. Por esse motivo, os gráficos que apresentam esses resultados possuem dois eixos Y, cada um representando uma unidade: um para os dados computacionais e outro para os dados experimentais. Dessa forma, é possível comparar qualitativamente o comportamento experimental com o obtido através da simulação do modelo.

Como já foi mencionado no Capítulo 2, existem situações em que a resposta imune de alguns indivíduos difere da resposta habitualmente obtida pela vacinação em adultos imunocompetentes. Foram obtidos dados experimentais para duas dessas situações. O primeiro caso é o da vacinação de crianças e o segundo é o da vacinação de indivíduos com doenças autoimunes sob uso de terapia imunomoduladora. Foram feitas alterações nos valores de alguns parâmetros do modelo na tentativa de reproduzir a resposta imune nesses dois casos. Os parâmetros que tiveram seus valores alterados foram escolhidos baseado em informações descritas na literatura. Os resultados dessas simulações, assim como a escolha e os valores desses parâmetros, serão melhor discutidos nas Seções 4.4 e 4.5. Assim como no caso dos indivíduos revacinados, os dados obtidos para crianças e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora não estão na mesma unidade do modelo.

Baseado nos estudos de Martins *et al.* (2013) e Martins *et al.* (2018), nos quais foram avaliadas as respostas imunes de voluntários à doses da vacina contra FA menores que a padrão usada atualmente, foi feita outra simulação. Nela, avalia-se a resposta do modelo quando diferentes doses são administradas. Foram obtidos os dados experimentais e esses estão na mesma unidade do modelo.

Por fim, são realizadas simulações da variação na quantidade de células T CD4 e T CD8 no organismo. Deseja-se avaliar o impacto dessas populações de células nas curvas de interesse, viremia e anticorpos. Para esses casos não foram utilizados dados experimentais e por esse motivo apenas o comportamento qualitativo será avaliado e comparado ao que

é descrito na literatura.

É preciso esclarecer como foram feitas as comparações dos dados experimentais e computacionais. Para todos os casos, independente das unidades, existem dados de diversos indivíduos em diferentes intervalos de tempo pós-vacinação. Para um mesmo dia existem um ou mais indivíduos e os valores encontrados podem variar devido às diferenças de resposta imune que podem ser causadas por inúmeros fatores como uso de medicamentos, herança genética, hábitos e muitos outros.

Os dados já vieram separados por grupos definidos pelo intervalo de tempo pós-vacinação e essa divisão foi respeitada. Para cada grupo existem indivíduos espalhados por todo o intervalo, o que dificulta observar uma tendência de comportamento. Por esse motivo, decidiu-se apresentar os dados em formato de digrama de caixas (*boxplot*), assim facilita-se a visualização resumida dos dados para cada um dos intervalos. À cada um dos *boxplots* foi adicionada a média geométrica dos títulos de anticorpos (GMT), definida como a raiz enésima do produto de n termos e calculada através da fórmula apresentada na Equação (4.1):

$$\left(\prod_{i=1}^N x_i \right)^{\frac{1}{N}} = \sqrt[N]{x_1 x_2 \dots x_N}. \quad (4.1)$$

Como é calculada a média geométrica dos títulos de anticorpos dos dados experimentais, julgou-se necessário também calcular essa média para os resultados obtidos através da simulação do modelo. O cálculo foi feito com os valores produzidos pelo modelo nos mesmos dias em que existem títulos de anticorpos experimentais, por grupo. Por exemplo, suponha que um determinado grupo (PV 30-45 dias) tenha 5 indivíduos com títulos de anticorpos obtidos nos dias 32, 35, 41, 43 e 45. Para comparar os resultados do modelo com os indivíduos desse grupo, foi calculada a média geométrica dos níveis de anticorpos produzidos pelo modelo nesses mesmos dias.

Os experimentos foram realizados utilizando a versão 3.6.6 do `Python` no *software* `Spyder` em um ambiente com processador Intel Core i5 1,6 GHz, com 8 GB de memória RAM. O sistema operacional é macOS Mojave versão 10.14.5.

4.2 Primeira vacinação

Esta seção apresenta os resultados obtidos pelo modelo computacional quando simula-se um indivíduo vacinado pela primeira vez contra FA utilizando-se a dose padrão da vacina desenvolvida por Bio-Manguinhos/Fiocruz (17DD-YFV).

Foi observado nos dados experimentais que, antes mesmo de os indivíduos serem vacinados, alguns deles já apresentam anticorpos contra FA. Existem algumas hipóteses para que isso aconteça, uma delas é a proteção cruzada causada pelo contato com outros *flavivirus*, como o vírus da dengue, por exemplo. Mas talvez a mais provável seja uma vacinação anterior não registrada. Para que a simulação se aproximasse do cenário real, foi estabelecida, como condição inicial do modelo, uma concentração de anticorpos semelhante ao que foi obtido experimentalmente, algo em torno de 150 mUI/ml.

Após a vacinação, foram medidos os níveis de anticorpos dos indivíduos que participaram do experimento em diferentes momentos. Essas amostras foram organizadas em grupos, de forma a ter indivíduos suficientes em cada grupo para que se pudesse observar o comportamento dos anticorpos ao longo do tempo. Esses grupos, em geral, se repetem para todos os outros cenários que serão descritos nas seções posteriores. São eles:

- NV (dia 0) - *Naive*, imediatamente antes da vacinação;
- PV (30-45 dias) - de 30 a 45 dias após a vacinação;
- PV (1-5 anos) - de 1 a 5 anos após a vacinação;
- PV (>5-9 anos) - de mais de 5 até 9 anos após a vacinação;
- PV (10 anos) - 10 anos ou mais após a vacinação.

Para comparar os dados experimentais de cada um dos grupos apresentados acima com os resultados computacionais obtidos, foram calculadas as médias geométricas de cada grupo, tanto para os dados quanto para os resultados do modelo. O método usado foi descrito na Seção 4.1 e a fórmula usada para o cálculo pode ser vista na Equação 4.1. Portanto, em todos os gráficos que serão apresentados neste capítulo, a sigla GMT

representará a média geométrica dos títulos de anticorpos, tanto daqueles oriundos dos dados experimentais quanto dos resultados computacionais do modelo.

A Figura 4.1 apresenta a comparação entre os níveis de anticorpos obtidos pela simulação do modelo e os dados experimentais, em diferentes intervalos de tempo pós-vacinação.

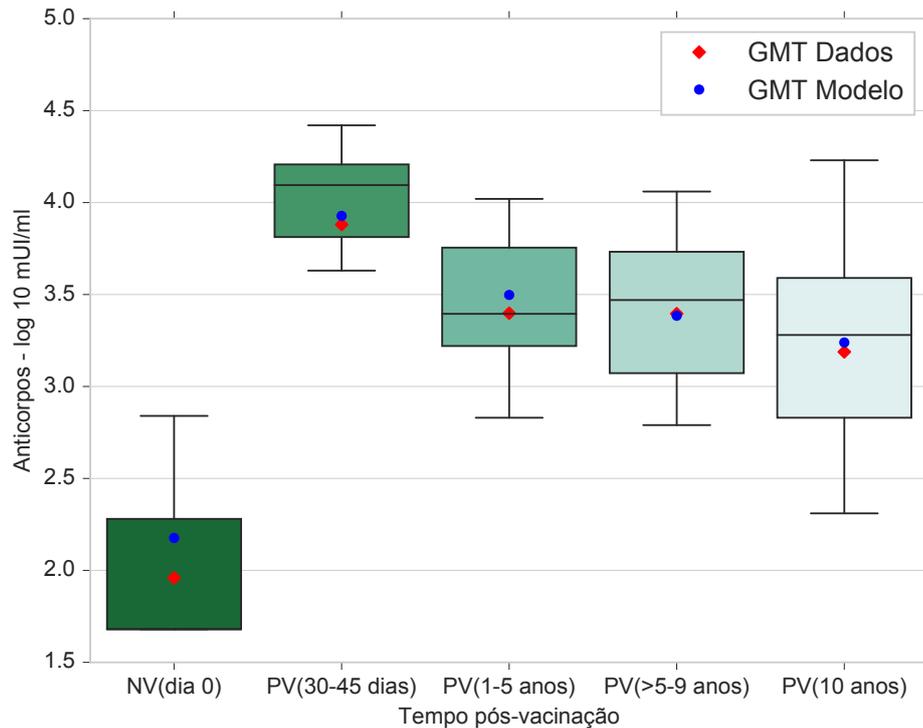


Figura 4.1: Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação. “GMT Dados” (♦) refere-se à média geométrica dos dados experimentais e “GMT Modelo” (●) à média geométrica dos resultados computacionais.

Foram calculados os erros do modelo para cada um dos intervalos pós-vacinação e os valores são apresentados na Tabela 4.1. Era esperado que o erro fosse pequeno, uma vez que o modelo foi ajustado utilizando esses dados. A análise do erro que será apresentada na Seção 4.6 terá maior validade por tratar-se de um cenário para o qual o modelo não foi ajustado. Para todos os outros cenários simulados, não foi possível fazer uma análise semelhante ou pelos dados não estarem disponíveis, ou por empregarem unidades distintas. Os dados experimentais dos níveis de anticorpos utilizam reverso da diluição como unidade, enquanto o modelo apresenta níveis de anticorpos em mUI/ml e não foi

encontrado na literatura um método para fazer a correlação entre as duas unidades. Dessa forma, não é possível afirmar, por exemplo, que um aumento de 50% no nível de anticorpos expresso em reverso da diluição signifique um aumento dos mesmos 50% expressos em mUI/ml.

Tabela 4.1: Erro do modelo para cada intervalo de tempo pós-vacinação

Tempo pós-vacinação	Erro do modelo
30-45 dias	1,2%
1-5 anos	2,8%
>5-9 anos	0,3%
10 anos	1,6%

Os dados experimentais obtidos para esse primeiro cenário, da primeira vacinação de um indivíduo adulto, foram utilizados para o ajuste do modelo. Porém, não existem dados experimentais disponíveis para todos os dias em que se deseja realizar simulações. A Figura 4.2 apresenta os dados experimentais e os resultados computacionais do modelo proposto para todo o tempo de simulação feito nesse cenário, que foi de 5.000 dias.

Devido ao tempo total de simulação, não é possível, na Figura 4.2, observar os resultados do modelo e os dados experimentais para os dois grupos iniciais, NV e PV (30-45 dias). Para facilitar a visualização da curva nos primeiros dias de simulação, foi gerada a Figura 4.3 que apresenta os dados experimentais apenas para os 100 primeiros dias pós-vacinação, bem como os resultados computacionais do modelo proposto.

É possível perceber na Figura 4.3 que, entre os dias 1 e 41, não foram obtidos dados experimentais. Dessa forma, não foi possível realizar o ajuste ou mesmo avaliar a qualidade da curva gerada pela simulação do modelo nesse intervalo.

4.3 Dose Reforço

Além de avaliar a resposta imune à primeira dose da vacina contra FA, o grupo de pesquisa da Fiocruz também coletou dados experimentais de indivíduos revacinados.

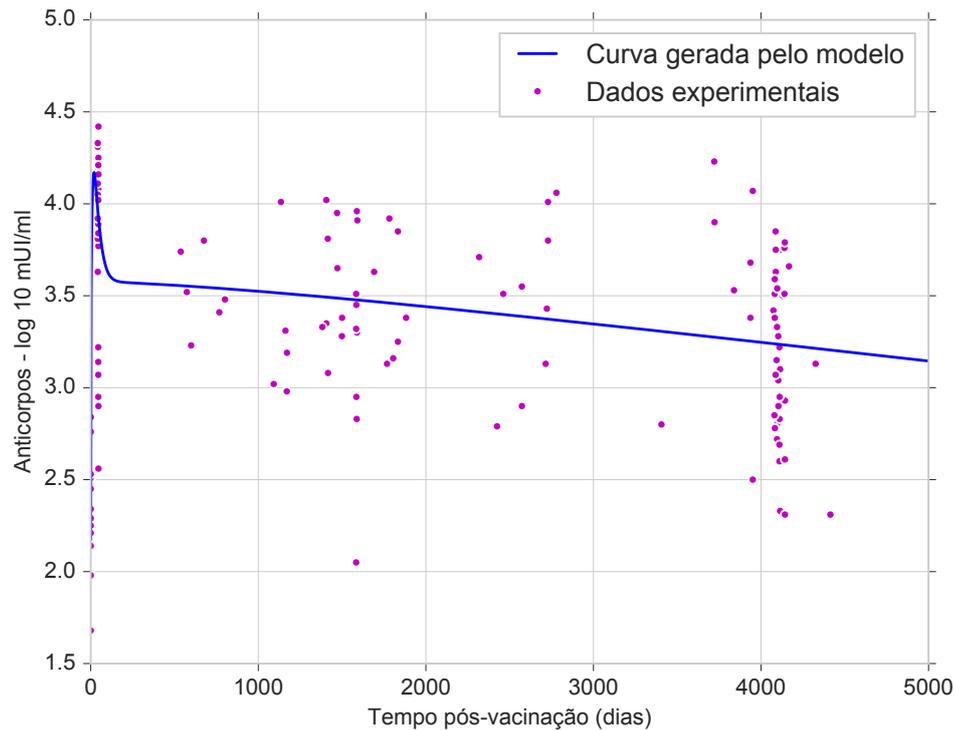


Figura 4.2: Comparação entre a curva de anticorpos (—) gerada pelo modelo para 5.000 dias de simulação e os dados experimentais (●) obtidos de indivíduos primovacinados nesse período.

Para verificar se o modelo é capaz de obter resultados semelhantes aos verificados experimentalmente para uma situação de aplicação de dose reforço, o seguinte método foi adotado. Inicialmente foi feita uma simulação de um indivíduo primovacinado. Após simular o equivalente a 5.500 dias desde a aplicação da vacina, a simulação foi interrompida, salvaram-se as condições atuais de todas as populações do modelo e apenas a condição do vírus foi alterada, de zero para a dose padrão da vacina. Prosseguiu-se então a execução da aplicação para que esta simulasse mais 4.500 dias, ou seja, até esta atingir 10.000 dias.

Os valores 5.500 e 10.000 dias foram escolhidos baseado nos dias em que existem dados experimentais disponíveis. O grupo PV (10 anos), ou seja, os indivíduos primovacinados 10 anos após a primeira dose, possui amostras coletadas até 5.475 dias (15 anos) após a vacinação. Por esse motivo, a dose reforço foi simulada no modelo 5.500 dias após a primeira dose. Da mesma forma, no grupo RV (10 anos), indivíduos 10 anos após a dose reforço, possui amostras coletadas 3.650 dias após a segunda dose, consequentemente

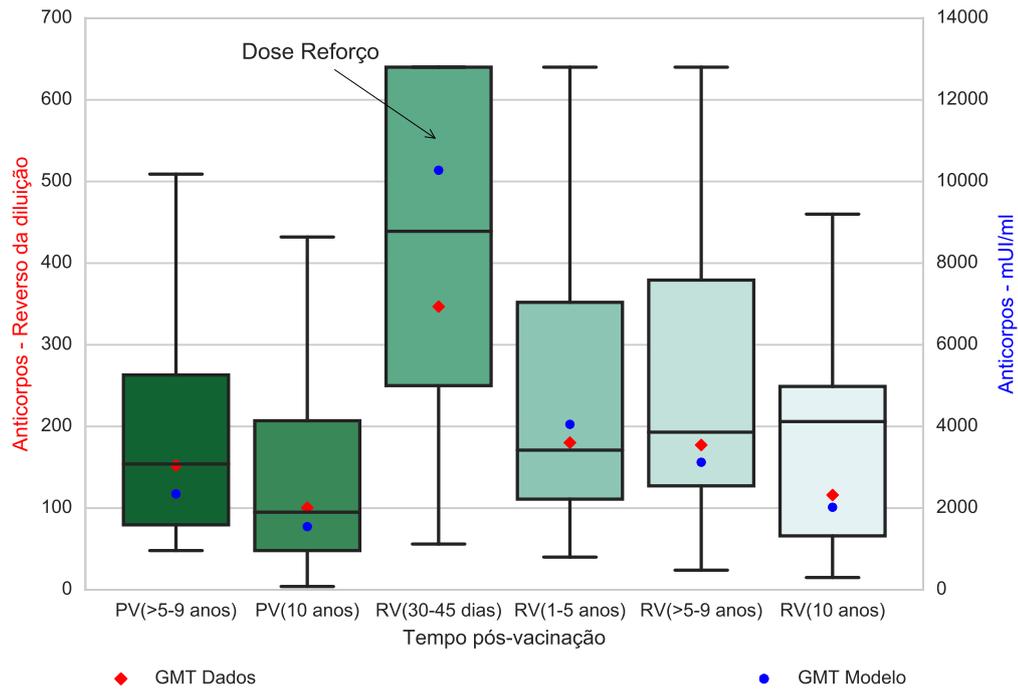


Figura 4.4: Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, primeira dose e dose reforço. “GMT Dados” (♦) refere-se à média geométrica dos dados e “GMT Modelo” (●) à média geométrica dos resultados computacionais.

4.4 Crianças

Como foi dito no Capítulo 2, a resposta imune de crianças é menos potente do que a de adultos. Isso ocorre porque o sistema imune ainda está em processo de maturação, e muitos de seus personagens principais não estão atuando da melhor forma. Existem algumas hipóteses que explicam essas diferenças. Uma delas é que a imaturidade imunológica limita a indução e a persistência dos plasmócitos de vida longa (Edwards, 2018). Dessa forma, foi decidido testar essa hipótese usando o modelo apresentado neste trabalho. A taxa de diferenciação das células B em plasmócitos de vida longa (β_{pl}) foi reduzida a fim de simular essa limitação na indução desse tipo de células. Alterando apenas esse parâmetro pôde-se perceber uma redução na produção de anticorpos a médio e longo prazos. As Figuras 4.5 e 4.6 apresentam as curvas de anticorpos geradas pelo modelo usando diferentes valores para o parâmetro β_{pl} a fim de ajustá-lo aos dados experimentais obtidos de crianças. As curvas cujas legendas são I1, I2 e I3 são valores intermediários

entre o valor usado no modelo para adultos e o valor ajustado para crianças. Esses valores podem ser vistos na Tabela 4.2. Novamente, devido a escala de tempo utilizada, optou-se por dividir a figura em duas, uma que apresenta os resultados computacionais e experimentais nos 100 primeiros dias pós-vacinação e a segunda que apresenta para o intervalo entre 100 e 4.000 dias pós-vacinação.

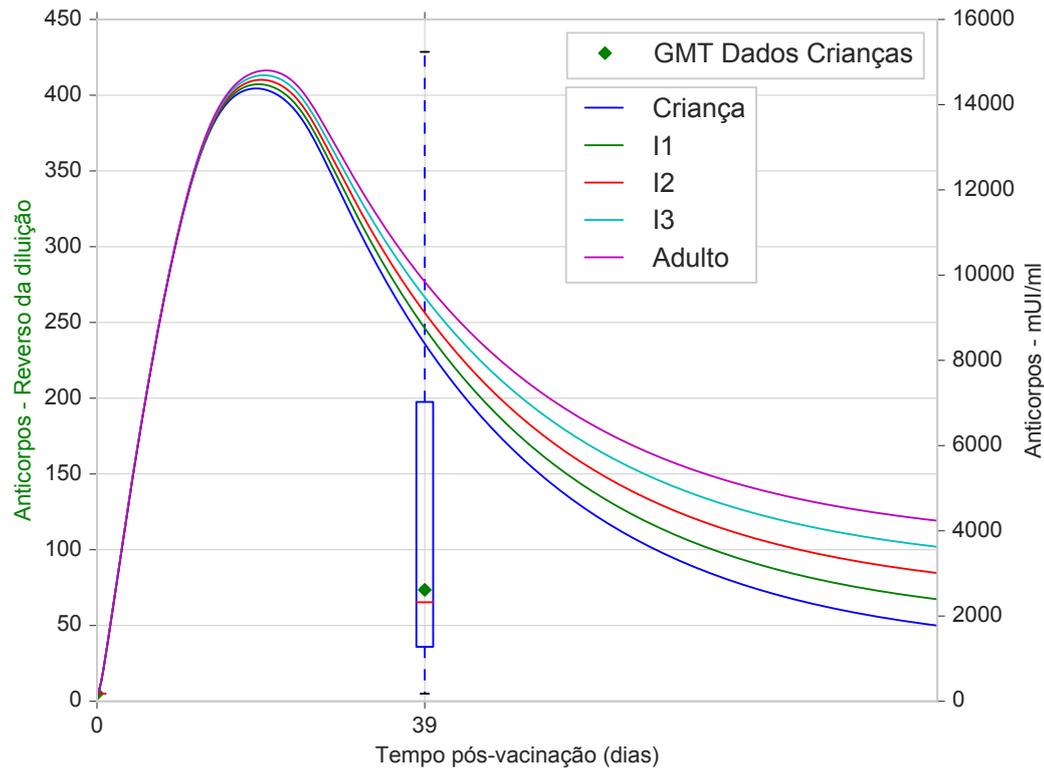


Figura 4.5: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{pl} no intervalo de 0 a 100 dias. O objetivo de diminuir esse parâmetro é representar a diminuição da indução dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.

A fim de simular a limitação na persistência dos plasmócitos de vida longa, a taxa de morte natural desse tipo de células, parâmetro (δ_{pl}) do modelo, foi aumentada. Alterando apenas esse parâmetro pôde-se perceber uma redução na produção de anticorpos a longo prazo. As Figuras 4.7 e 4.8 apresentam as curvas de anticorpos geradas pelo modelo usando diferentes valores para o parâmetro δ_{pl} a fim de ajustá-lo aos dados experimentais obtidos de crianças. Esses valores podem ser vistos na Tabela 4.2. Na Figura 4.7, todas as curvas estão sobrepostas, não sendo possível diferenciá-las. Isso mostra que a alteração do parâmetro δ_{pl} não produziu nenhum efeito na curva de anticorpos nos 100 primeiros

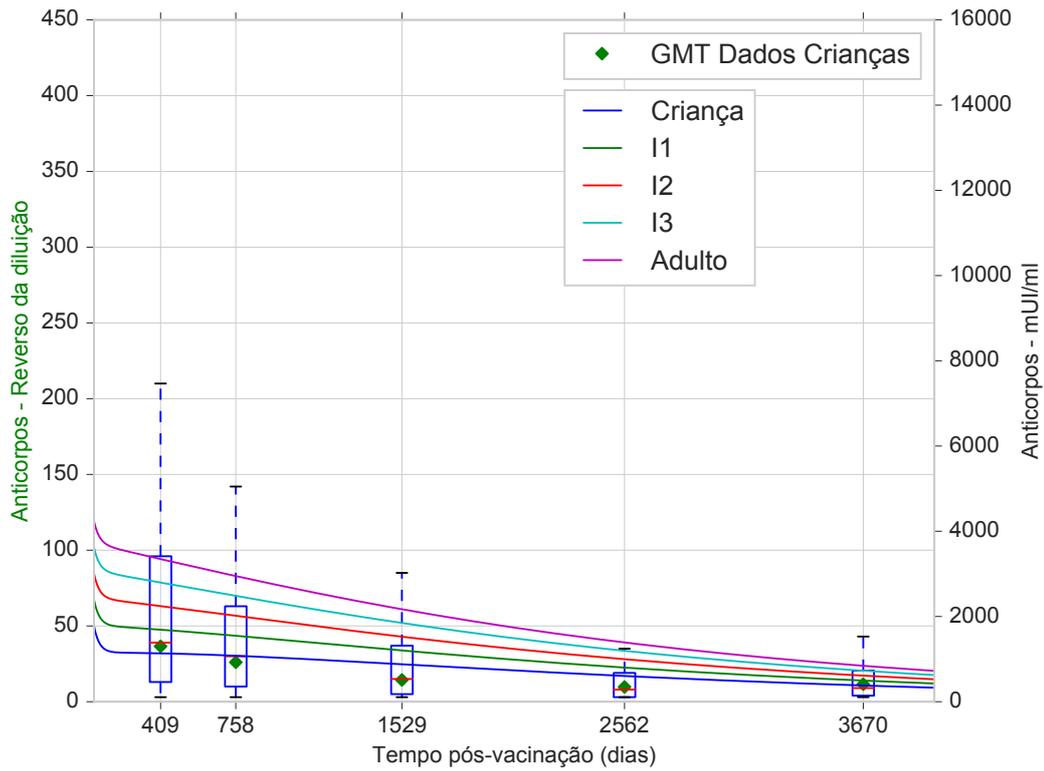


Figura 4.6: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{pl} no intervalo de 100 a 4.000 dias. O objetivo de diminuir esse parâmetro é representar a diminuição da indução dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.

dias.

A alteração de cada um desses parâmetros separadamente não foi suficiente para reproduzir de forma satisfatória o comportamento da resposta imune de crianças. Decidiu-se então fazer as duas alterações simultaneamente. As Figuras 4.9 e 4.10 apresentam as curvas de anticorpos geradas pelo modelo usando diferentes valores para os parâmetros β_{pl} e δ_{pl} a fim de ajustá-lo aos dados experimentais obtidos de crianças.

Foram testados diferentes valores para os parâmetros β_{pl} e δ_{pl} . Os valores intermediários usados nos testes assim como os valores que foram capazes aproximar os resultados do modelo aos dados experimentais obtidos de crianças são apresentados na Tabela 4.2. Houve uma redução de aproximadamente 70% para o parâmetro β_{pl} e um aumento de 100% para o parâmetro δ_{pl} .

Os valores intermediários usados nas simulações e representados nas figuras como I1, I2 e I3 foram calculados dividindo-se em três partes igualmente espaçadas o intervalo entre

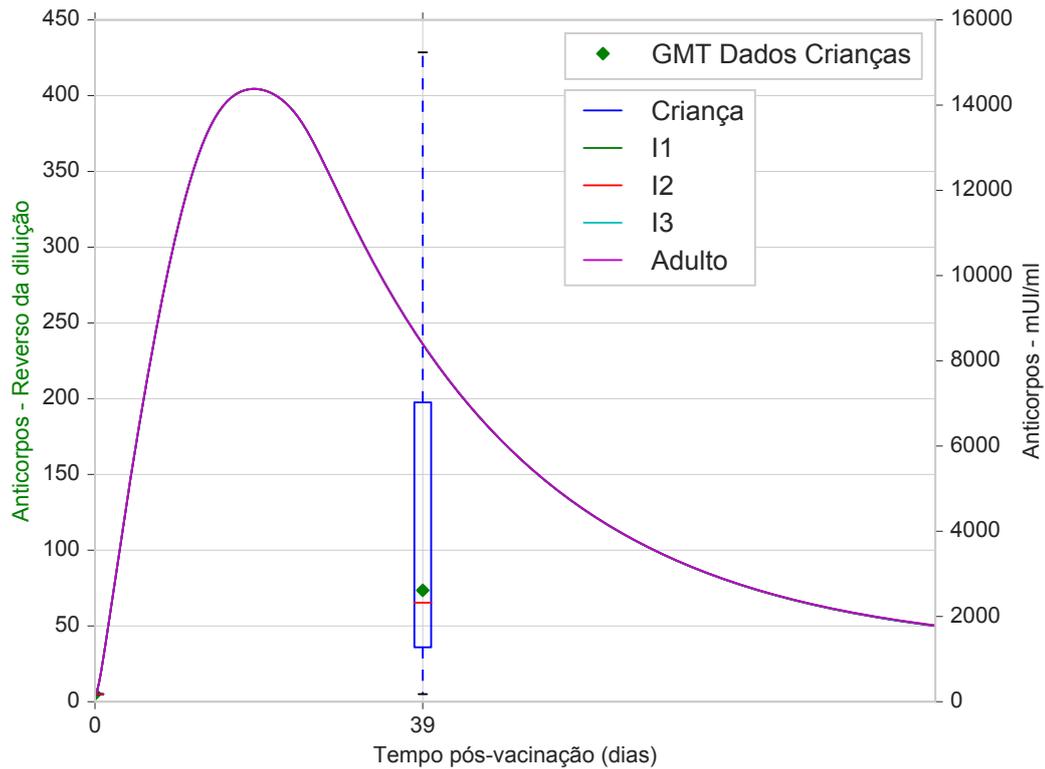


Figura 4.7: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro δ_{pl} no intervalo de 0 a 100 dias. O objetivo de aumentar esse parâmetro é representar a limitação na persistência dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.

Tabela 4.2: Valores dos parâmetros β_{pl} e δ_{pl} usados no modelo para simular indivíduos adultos e crianças e valores intermediários usados nos testes.

Parâmetro	Valor p/ criança	I1	I2	I3	Valor p/ adulto
β_{pl}	$1,68 \times 10^{-6}$	$2,66 \times 10^{-6}$	$3,65 \times 10^{-6}$	$4,63 \times 10^{-6}$	$5,61 \times 10^{-6}$
δ_{pl}	$4,8 \times 10^{-4}$	$4,2 \times 10^{-4}$	$3,6 \times 10^{-4}$	$3,0 \times 10^{-4}$	$2,4 \times 10^{-4}$

o valor do parâmetro usado para adultos e o valor usado para crianças.

A alteração simultânea dos parâmetros β_{pl} e δ_{pl} , indução e persistência dos plasmócitos de vida longa, respectivamente, produziu o melhor ajuste para o modelo reproduzir a resposta imune de crianças. A Figura 4.11 apresenta a comparação dos dados experimentais com o modelo ajustado para crianças. Mais uma vez vale ressaltar que devido à diferença das unidades, apenas o comportamento qualitativo está sendo avaliado.

Apesar da diferença de unidades, é possível notar na Figura 4.11 que a resposta do modelo para o intervalo 30-45 dias após a vacinação foi a que aparentemente apresentou

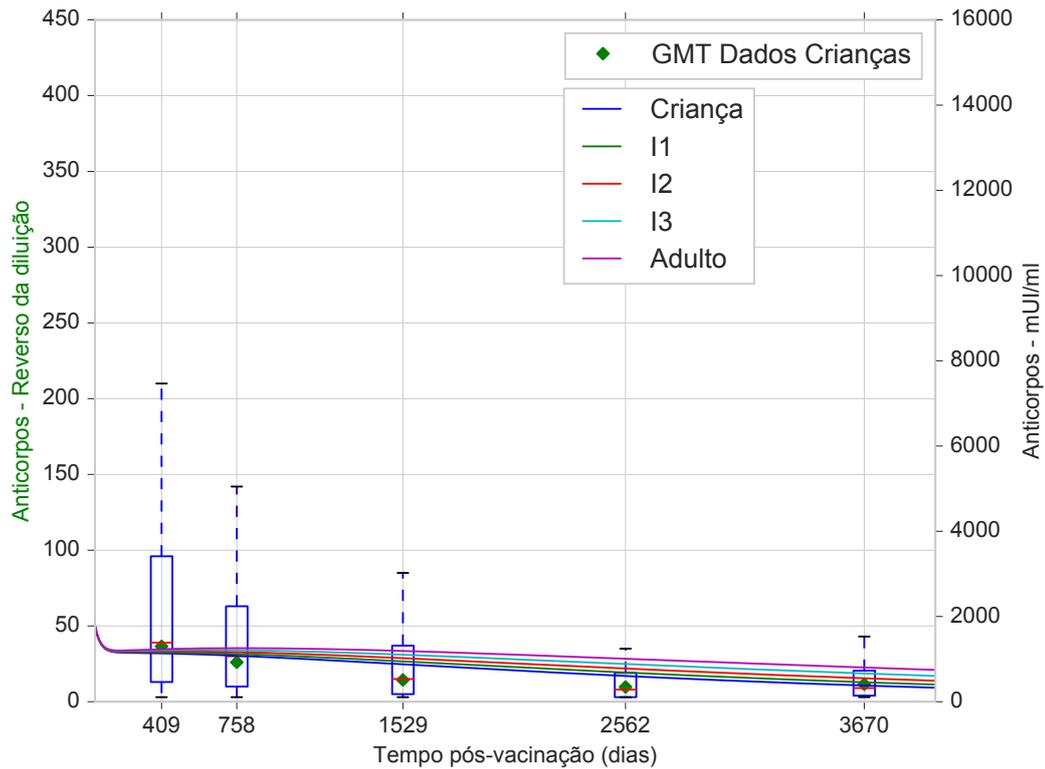


Figura 4.8: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro δ_{pl} no intervalo de 100 a 4.000 dias. O objetivo de aumentar esse parâmetro é representar a limitação na persistência dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.

um comportamento mais diferente do observado nos dados experimentais. Isso pode ser explicado pelo fato da população cujos parâmetros foram alterados, plasmócitos de vida longa, não terem tanto impacto nesse primeiro momento da curva de anticorpos. Além disso, o modelo foi ajustado usando os dados experimentais de indivíduos adultos primovacinados e, como foi discutido na Seção 4.2, nesse conjunto de dados faltam amostras entre os dias 1 e 41, o que prejudica o ajuste nesse intervalo.

A fim de facilitar a comparação da resposta imune de adultos e crianças quando vacinados contra FA, apresenta-se na Figura 4.12 os dados experimentais e os resultados computacionais para estes dois tipos de indivíduos. Os dados experimentais empregam a mesma unidade (reverso da diluição). Já os resultados computacionais usam outra unidade (mUI/ml).

Observando a Figura 4.12 fica bem evidente a diferença nos níveis de anticorpos produzidos por adultos e crianças. É preciso ressaltar que o modelo foi ajustado usando

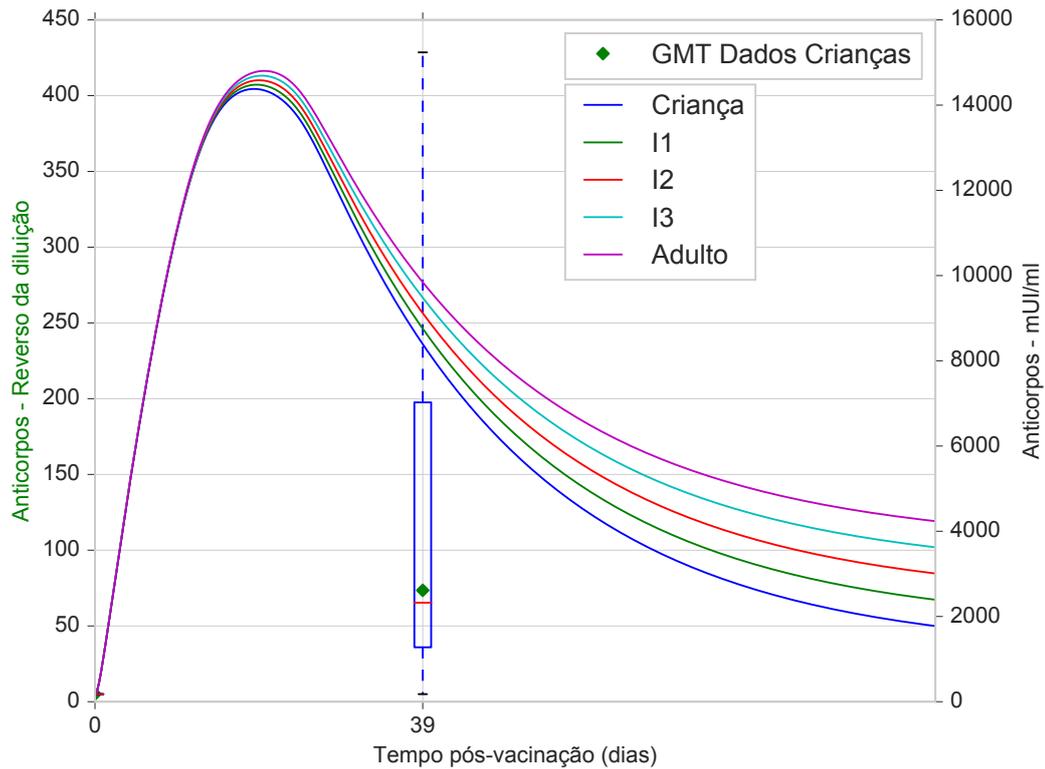


Figura 4.9: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores dos parâmetros β_{pt} e δ_{pt} no intervalo de 0 a 100 dias. O objetivo de alterar esses parâmetros simultaneamente é representar tanto a indução quanto a limitação na persistência dos plasmócitos de vida longa nas crianças. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.

dados de adultos expressos em mUI/ml, e portanto não são os mesmos dados que foram apresentados na Figura 4.12, que estão em reverso da diluição. Ainda assim, de forma qualitativa, os resultados do modelo para adultos estão bem próximos dos dados experimentais. Já para o caso das crianças, o modelo apresentou uma diferença maior em relação aos dados no intervalo 5-9 anos do que 10 anos.

4.5 Resposta imune em indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora

O estudo desenvolvido por Ferreira *et al.* (2019) apresenta as diferenças encontradas na resposta imune à vacina contra FA em grupos que usam diferentes tipos de terapias imunomoduladoras. As terapias abordadas no estudo se dividem em dois principais

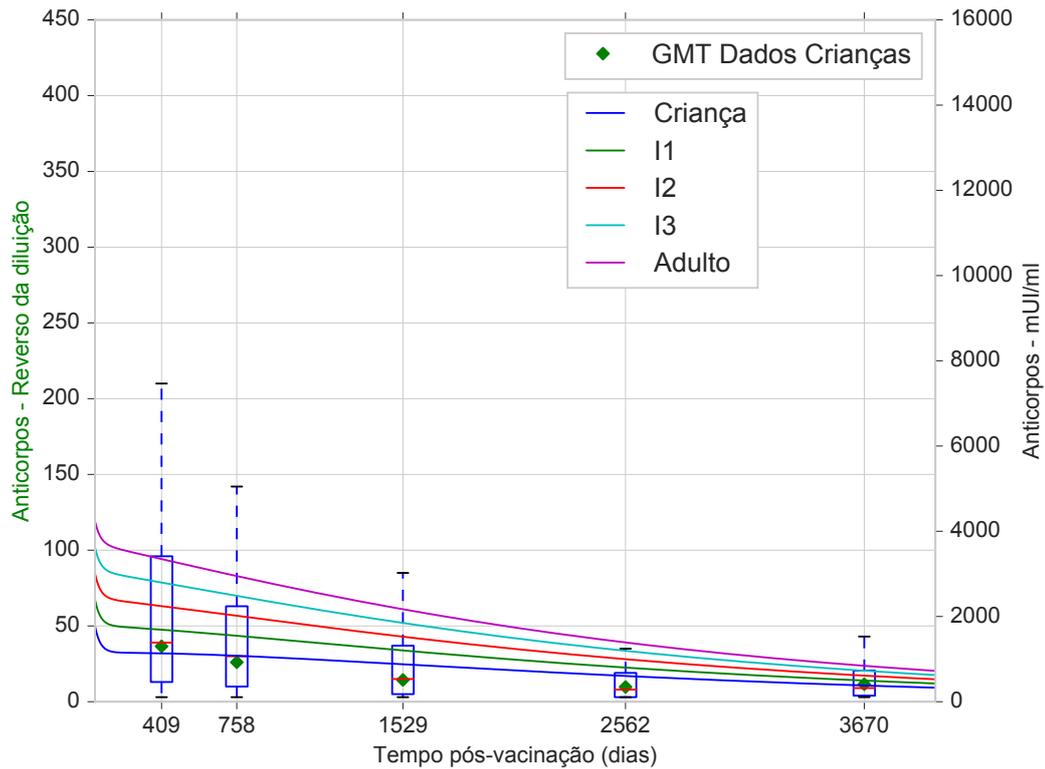


Figura 4.10: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores dos parâmetros β_{pl} e δ_{pl} no intervalo de 100 a 4.000 dias. “GMT Dados Crianças” (◆) refere-se à média geométrica dos dados obtidos de crianças primovacinadas.

grupos, as que usam apenas DMARDs (drogas anti-reumáticos modificadores da doença) sintéticas e as que usam uma combinação de drogas biológicas e sintéticas. Segundo Ferreira *et al.* (2019), as DMARDs têm a capacidade de modificar ou afetar a imunidade protetora pré-existente induzida pela vacina, incluindo a função de células T e B de memória e, como consequência, níveis de anticorpos neutralizantes específicos da FA. A maior diferença foi encontrada na comparação do grupo controle, ou seja, indivíduos sem nenhuma doença autoimune, com o grupo sob uso de terapia combinada. Por esse motivo, neste trabalho foi feita a simulação de indivíduos nessas duas condições, controle e sob uso de terapia combinada.

Para a simulação de indivíduos nessa condição, foram testadas alterações nos valores de todos os parâmetros da equação que descreve a dinâmica das células B, bem como a sua quantidade inicial. Três testes foram capazes de reproduzir os níveis de anticorpos de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada:

- Redução de 50% no parâmetro α_b - taxa de homeostase das células B;

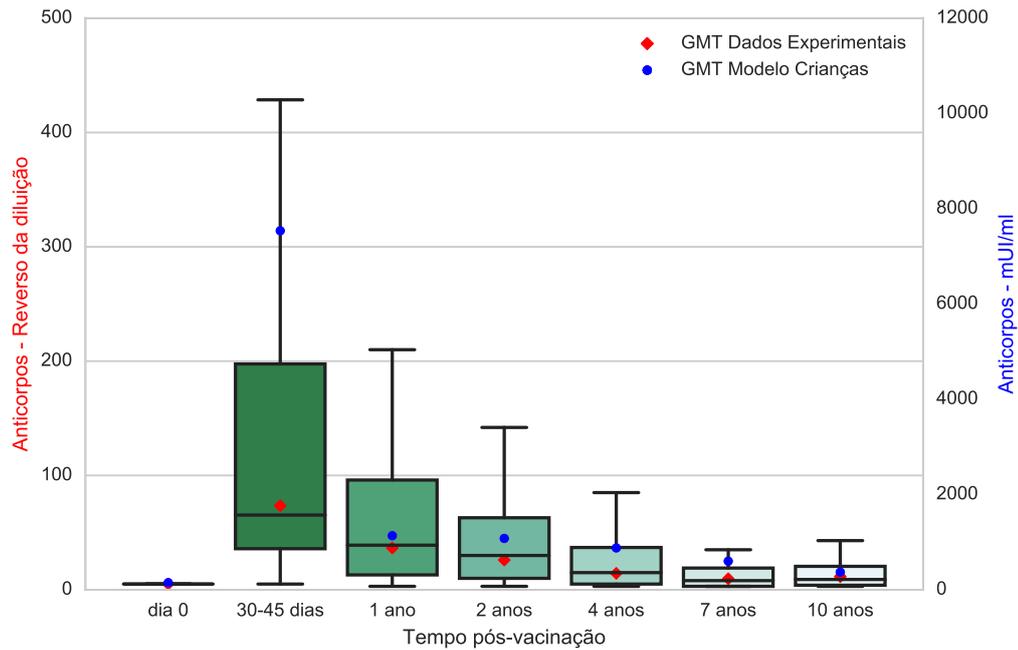


Figura 4.11: Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo após a vacinação em crianças. “GMT Dados Experimentais” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de crianças e “GMT Modelo Crianças” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo com os parâmetros ajustados para representar a resposta imune de crianças.

- Redução de 50% nos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} , taxas de diferenciação das células B em plasmócitos de vida curta e vida longa e células de memória, respectivamente;
- Redução de 25% na condição inicial de células B.

Após a realização de diversos testes com diferentes valores de parâmetros e condições iniciais de células B, os percentuais de redução foram escolhidos baseando-se nos valores que produziram os melhores ajustes dos níveis de anticorpos gerados pelo modelo aos dados experimentais obtidos para os indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

O primeiro teste capaz de alterar a curva de anticorpos e aproximá-la aos dados experimentais foi a redução de 50% no valor de parâmetro α_b , que representa a taxa de homeostase das células B. O conceito de homeostase foi apresentado no Capítulo 2, mas pode-se dizer, de forma resumida, que é o estado de equilíbrio do sistema imune.

Em todas as figuras apresentadas nessa seção, as legendas “GMT Dados

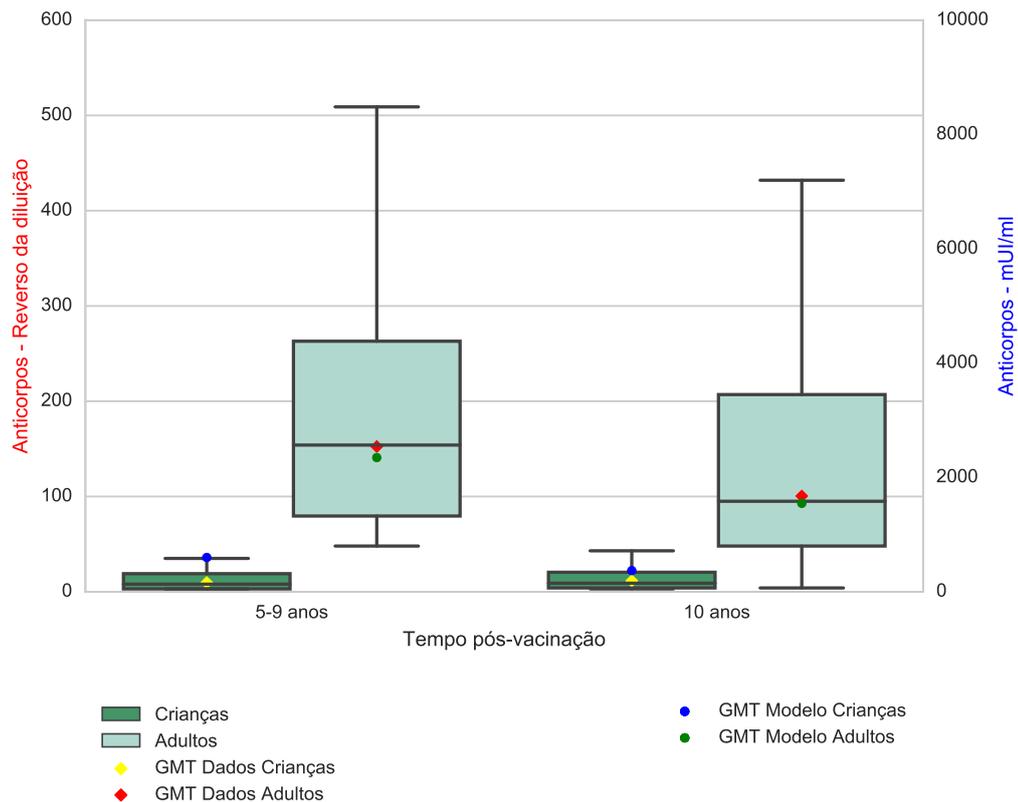


Figura 4.12: Níveis de anticorpos gerados pelo modelo (para adultos e crianças) e dados experimentais de adultos e crianças. “GMT Dados Crianças” (\diamond) refere-se à média geométrica dos dados de crianças e “GMT Modelo Crianças” (\bullet) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo com os parâmetros ajustados para representar a resposta imune de crianças. “GMT Dados Adultos” (\blacklozenge) refere-se à média geométrica dos dados de adultos e “GMT Modelo Adultos” (\bullet) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo usando os valores padrão definidos para adultos.

Imunomoduladores” referem-se à média geométrica dos dados experimentais obtidos de indivíduos portadores de doença autoimune sob uso de terapia imunomoduladora combinada. Para simplificar, esse grupo será representado nas legendas como “cs + bDMARD” e o grupo dos indivíduos que não possuem doença autoimune e, portanto, não usam terapia imunomoduladora, será chamado “Controle”. As curvas cujas legendas são I1, I2 e I3 são valores intermediários entre o valor usado no modelo para indivíduos controle e o valor ajustado para a simulação do uso de terapia combinada (cs + bDMARD). Eles foram calculados dividindo-se em três partes igualmente espaçadas o intervalo entre o valor do parâmetro usado para indivíduos controle e sob uso de terapia.

A Figura 4.13 apresenta as curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro α_b a fim de ajustá-lo aos dados experimentais obtidos de indivíduos

sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

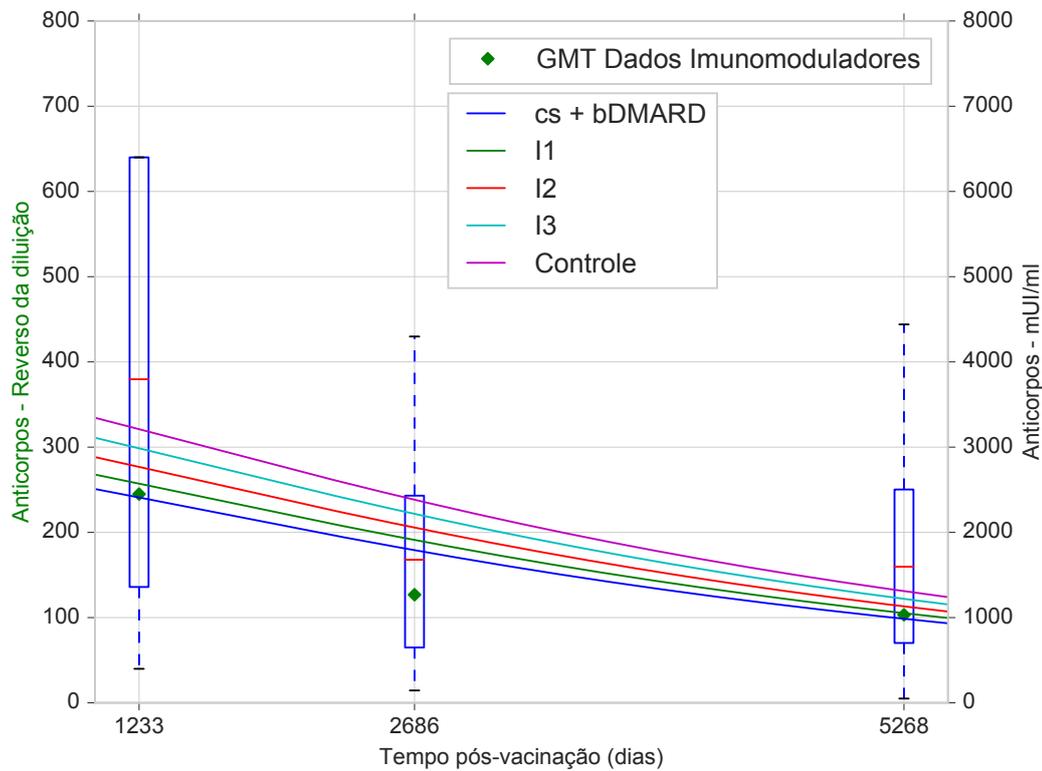


Figura 4.13: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro α_b para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

Para facilitar a avaliação da qualidade do ajuste do modelo para indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora, a Figura 4.14 apresenta tanto os dados experimentais quanto os resultados do modelo para indivíduos controle e indivíduos sob uso de terapia. Para reproduzir esse último caso, apenas o valor do parâmetro α_b foi alterado no modelo. Mais uma vez vale ressaltar que devido à diferença das unidades, apenas o comportamento qualitativo está sendo avaliado.

Foram testados diferentes valores para o parâmetro α_b e o que melhor foi capaz aproximar os resultados do modelo aos dados experimentais obtidos de indivíduos sob uso de terapia foi o que equivale a uma redução de 50% em relação ao valor usado para indivíduos saudáveis. Os valores intermediários usados nos testes assim como os valores do parâmetro α_b usados para ambos os casos são apresentados na Tabela 4.3.

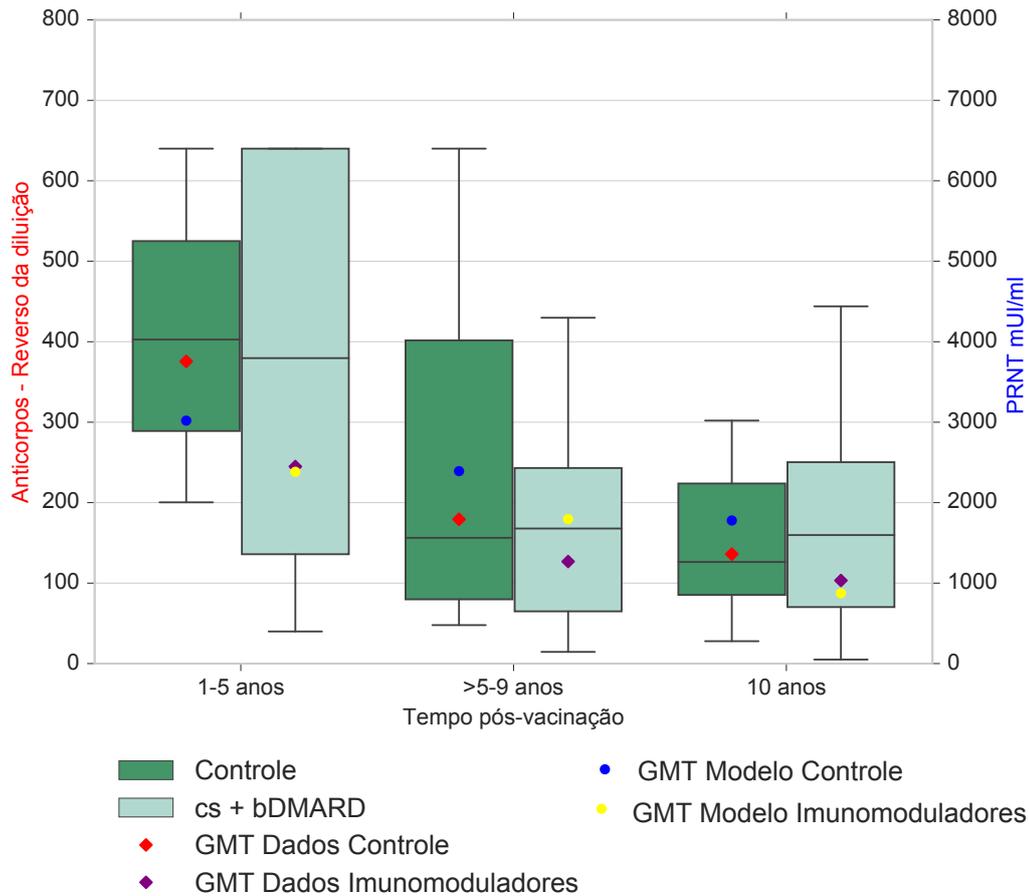


Figura 4.14: Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, para indivíduos controle e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. “GMT Dados Controle” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos controle e “GMT Modelo Controle” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo sem ajuste. “GMT Dados Imunomoduladores” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos sob uso de terapia e “GMT Modelo Imunomoduladores” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo ajustado para representar indivíduos sob uso de terapia.

Tabela 4.3: Valores do parâmetro α_b usados no modelo para simular indivíduos controle e sob uso de terapia imunomoduladora combinada e valores intermediários usados nos testes.

Parâmetro	Valor cs + bDMARD	I1	I2	I3	Valor controle
α_b	3,0	3,75	4,5	5,25	6,0

No segundo teste, assim como foi feito para ajustar o modelo aos dados de crianças, um parâmetro por vez teve seu valor alterado a fim de aproximar a resposta do modelo

aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. O primeiro parâmetro testado foi β_{ps} , que representa a taxa de diferenciação das células B em plasmócitos de vida curta. Seu valor foi reduzido parcialmente até atingir 50% do valor usado para adultos saudáveis. A Figura 4.15 apresenta as curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{ps} a fim de ajustá-lo aos dados experimentais obtidos de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

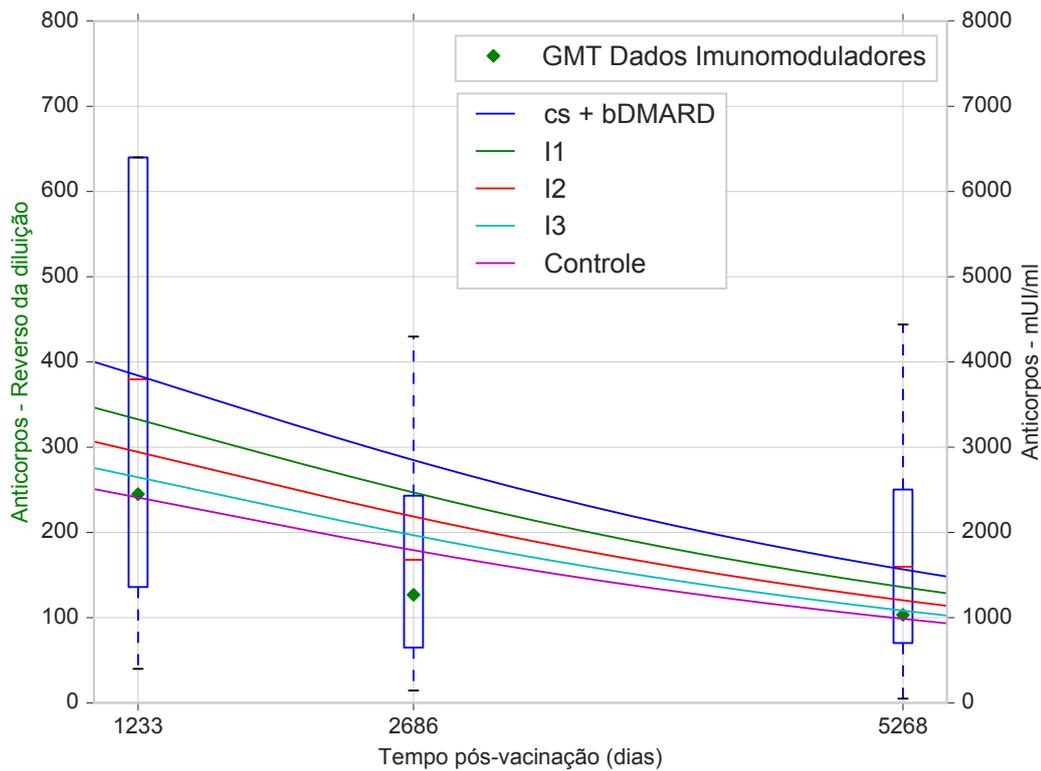


Figura 4.15: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{ps} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

Quando se reduz a taxa de diferenciação de células que são produtoras de anticorpos, como é o caso dos plasmócitos, espera-se que o nível de anticorpos seja reduzido. Mas como pode ser visto na Figura 4.15, com uma redução de 50% no parâmetro β_{ps} , a simulação apresentou um comportamento contrário ao que seria esperado. Foram obtidos níveis de anticorpos maiores do que com o valor original do parâmetro β_{ps} . Mas, é preciso ressaltar que a figura apresentada mostra a simulação a partir de 1.000 dias, quando já não há mais influência dos plasmócitos de vida curta. A Figura 4.16 apresenta as curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{ps} nos primeiros 100 dias de

simulação. É possível observar que, enquanto há grande influência dos plasmócitos de vida curta, a curva de anticorpos reproduz o comportamento esperado, ou seja, com uma redução do parâmetro β_{ps} ocorre também uma redução do nível de anticorpos. Por volta de 40 dias acontece uma inversão nesse comportamento, isso porque com a diminuição da diferenciação de células B em plasmócitos de vida curta, existem mais células B disponíveis para se diferenciar em plasmócitos de vida longa e com isso o nível de anticorpos aumenta a longo prazo.

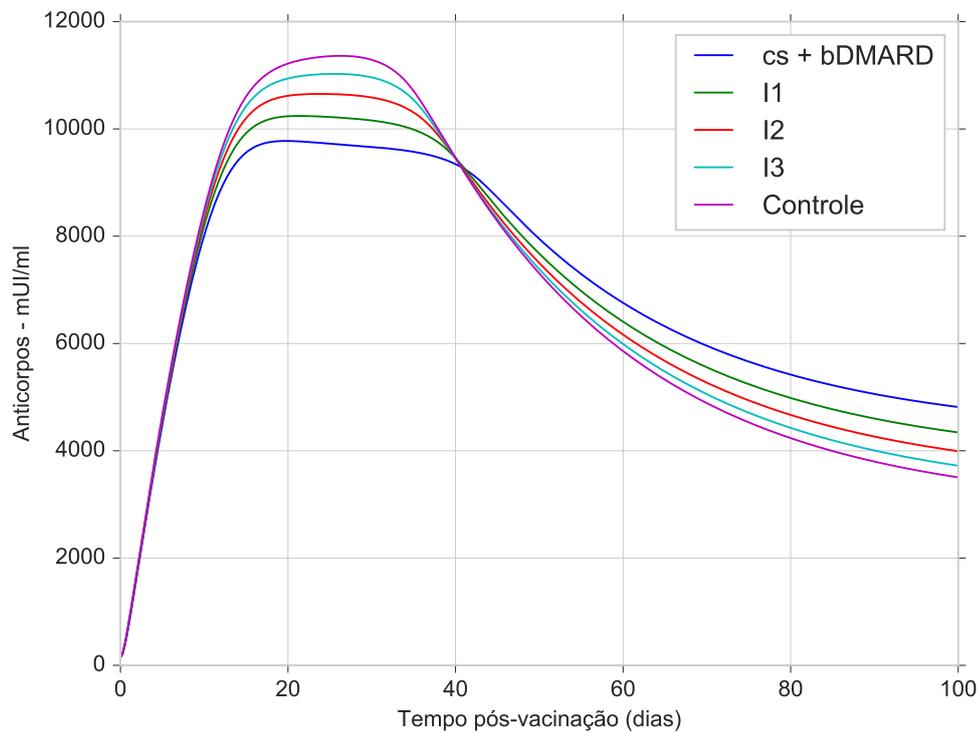


Figura 4.16: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{ps} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada nos 100 primeiros dias de simulação.

Isso pode ser explicado pelo fato do parâmetro alterado estar relacionado aos plasmócitos de vida curta. Essas células produzem grandes quantidades de anticorpos durante um curto período.

O segundo parâmetro testado foi β_{pl} , que representa a taxa de diferenciação das células B em plasmócitos de vida longa. Seu valor foi reduzido parcialmente até atingir 50% do valor usado para adultos. A Figura 4.17 apresenta as curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{pl} a fim de ajustá-lo aos dados experimentais

obtidos de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

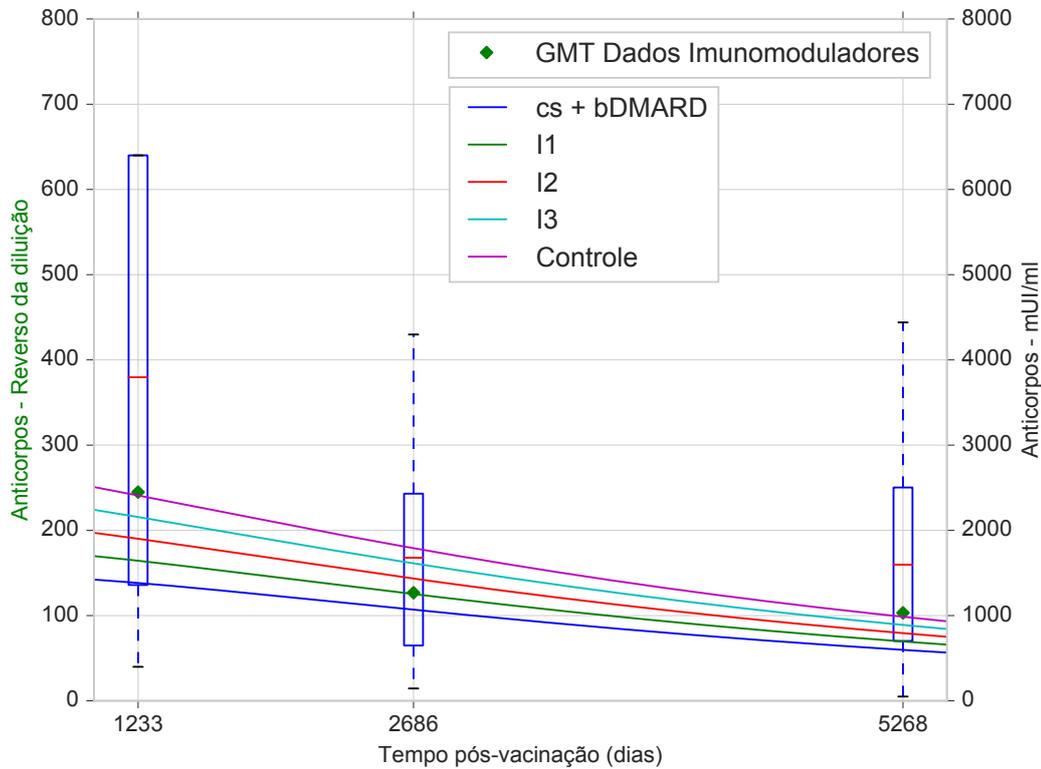


Figura 4.17: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{pl} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

O terceiro parâmetro testado foi β_{bm} , ele representa a taxa de diferenciação das células B em células B de memória. Seu valor foi reduzido parcialmente até atingir 50% do valor usado para adultos. A Figura 4.18 apresenta as curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{bm} a fim de ajustá-lo aos dados experimentais obtidos de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

A alteração de cada um desses parâmetros separadamente não foi suficiente para reproduzir de forma satisfatória o comportamento da resposta imune de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. Decidiu-se então fazer as três alterações de forma simultânea. A Figura 4.9 apresenta as curvas de anticorpos geradas pela variação simultânea dos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

A alteração simultânea dos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} , taxas de diferenciação das células B em plasmócitos de vida curta, vida longa e células B de memória, respectivamente,

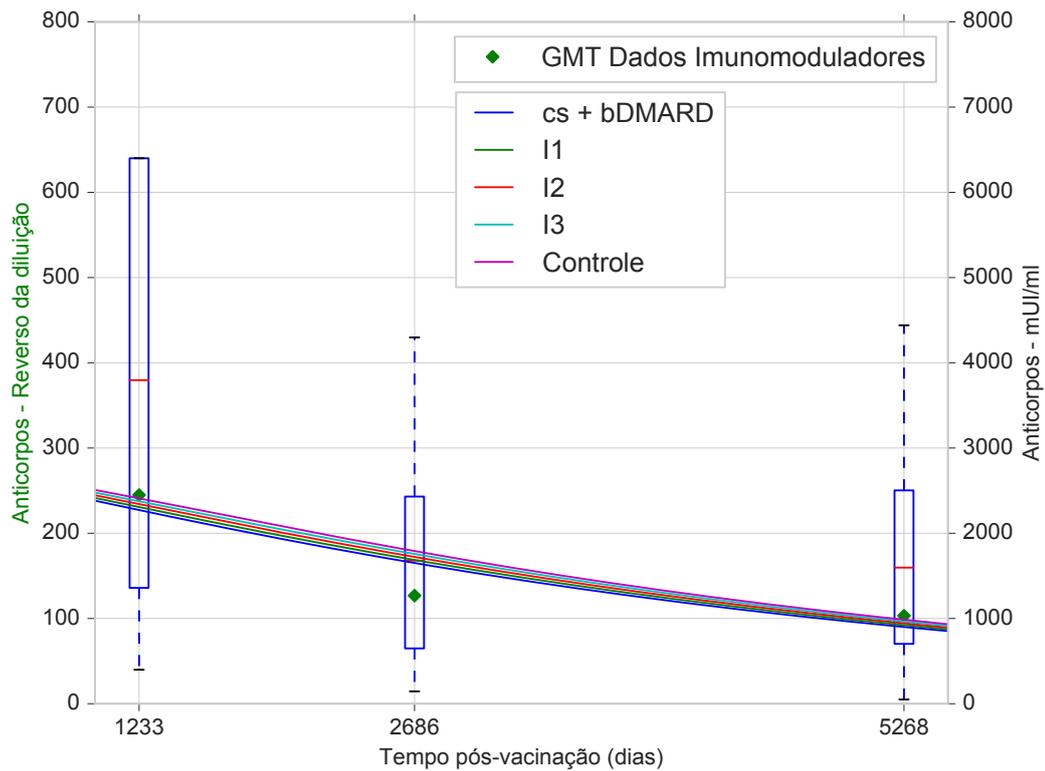


Figura 4.18: Curvas de anticorpos geradas pelo modelo para diferentes valores do parâmetro β_{bm} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

produziu o melhor ajuste para o modelo reproduzir a resposta imune de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. A Figura 4.20 apresenta a comparação dos dados experimentais com o modelo ajustado. Mais uma vez vale ressaltar que devido à diferença das unidades, apenas o comportamento qualitativo está sendo avaliado.

Foram testados diferentes valores para os parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} e os que foram capazes de aproximar os resultados do modelo aos dados experimentais obtidos de indivíduos sob uso de terapia foram equivalentes a 50% do valor usado para indivíduos saudáveis. Os valores intermediários usados nos testes assim como os valores dos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} usados para simular ambos os casos são apresentados na Tabela 4.4.

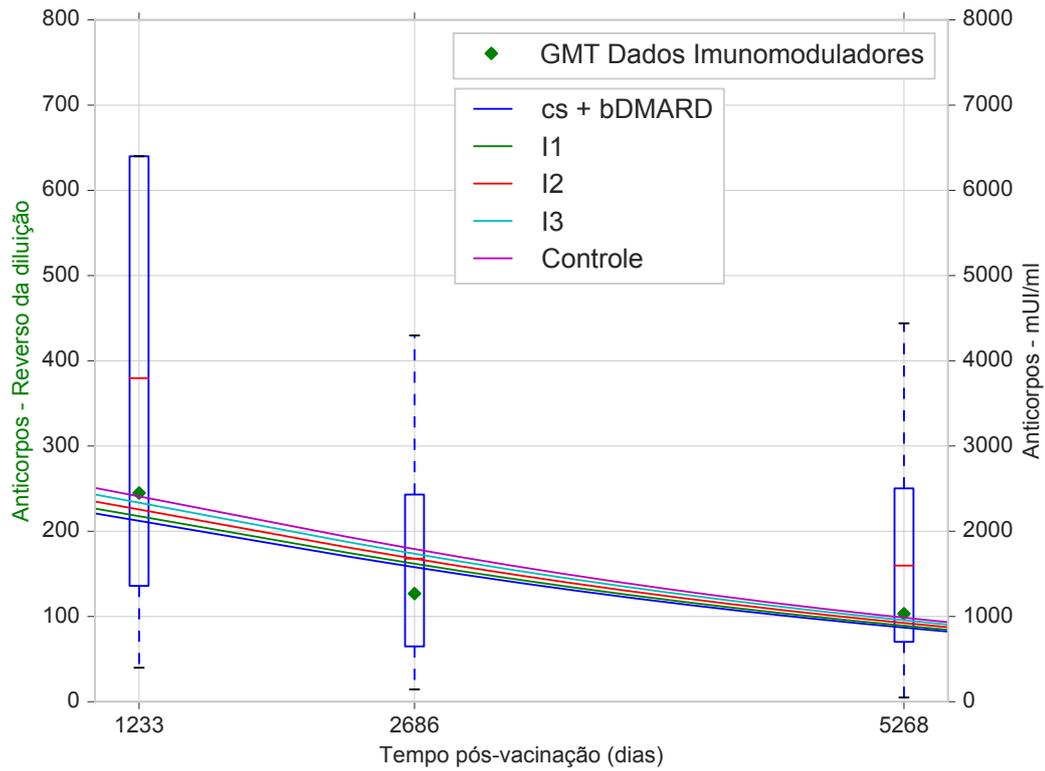


Figura 4.19: Curvas de variação simultânea dos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

Tabela 4.4: Valores dos parâmetros β_{ps} , β_{pl} e β_{bm} usados no modelo para simular indivíduos controle e cs + bDMARD e valores intermediários usados nos testes.

Parâmetro	Valor cs + bDMARD	I1	I2	I3	Valor controle
β_{ps}	$3,36 \times 10^{-4}$	$4,2 \times 10^{-4}$	$5,04 \times 10^{-4}$	$5,88 \times 10^{-4}$	$6,72 \times 10^{-4}$
β_{pl}	$2,8 \times 10^{-6}$	$3,5 \times 10^{-6}$	$4,2 \times 10^{-6}$	$4,9 \times 10^{-6}$	$5,61 \times 10^{-6}$
β_{bm}	5×10^{-7}	$6,25 \times 10^{-7}$	$7,5 \times 10^{-7}$	$8,75 \times 10^{-7}$	1×10^{-6}

O terceiro teste realizado que conseguiu aproximar os níveis de anticorpos produzidos pelo modelo aos níveis encontrados nos dados experimentais para os indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora foi uma redução de 25% na quantidade inicial de células B. A Figura 4.21 apresenta as curvas de anticorpos geradas para diferentes condições iniciais de células B (B_0) para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

A Figura 4.22 apresenta a comparação dos dados experimentais com o modelo ajustado através da redução de 25% na condição inicial das células B (B_0). É preciso ressaltar

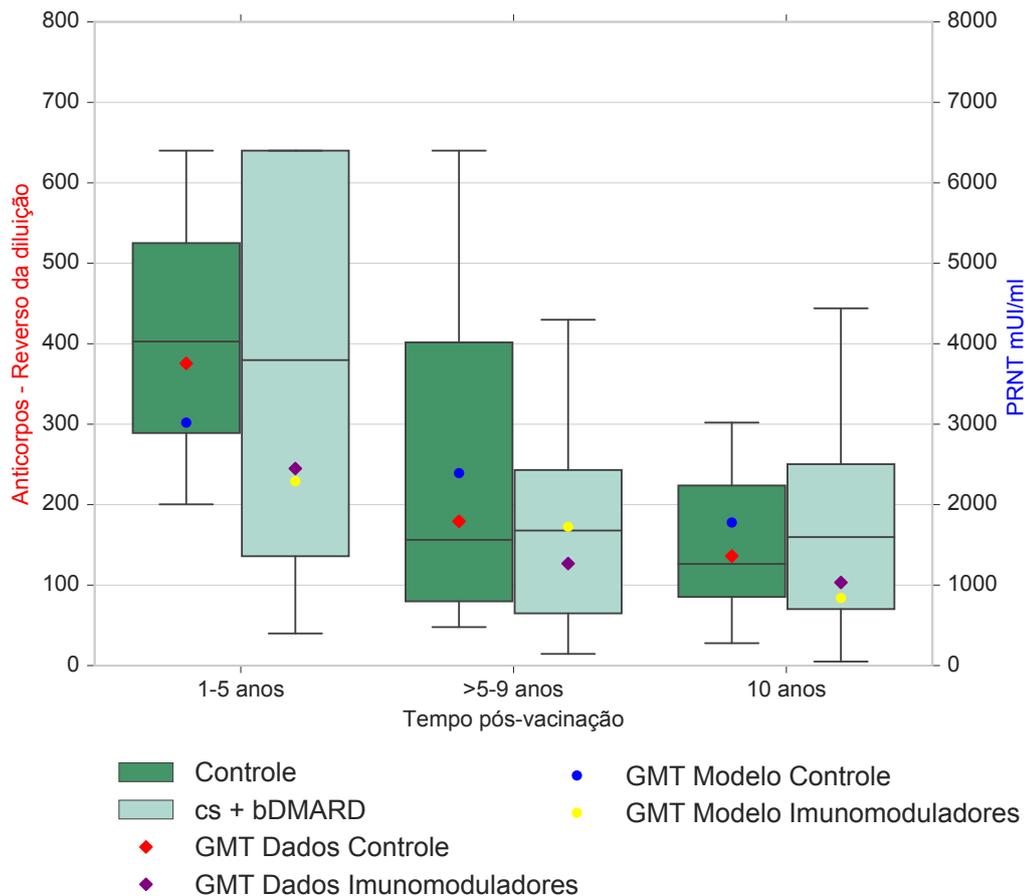


Figura 4.20: Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, para indivíduos controle e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. “GMT Dados Controle” (◆) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos controle e “GMT Modelo Controle” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo sem ajuste. “GMT Dados Imunomoduladores” (◆) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos sob uso de terapia e “GMT Modelo Imunomoduladores” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo ajustado para representar indivíduos sob uso de terapia.

novamente que, devido à diferença das unidades, apenas o comportamento qualitativo está sendo avaliado.

Foram testadas diferentes condições iniciais para a população de células B e a que melhor foi capaz aproximar os resultados do modelo aos dados experimentais obtidos de indivíduos sob uso de terapia foi a que equivale a uma redução de 25% em relação ao valor usado para indivíduos saudáveis. Os valores usados para ambos os casos assim como os valores intermediários usados nos testes são apresentados na Tabela 4.5. As curvas cujas legendas são I1, I2 e I3 são valores intermediários entre o valor usado no modelo para

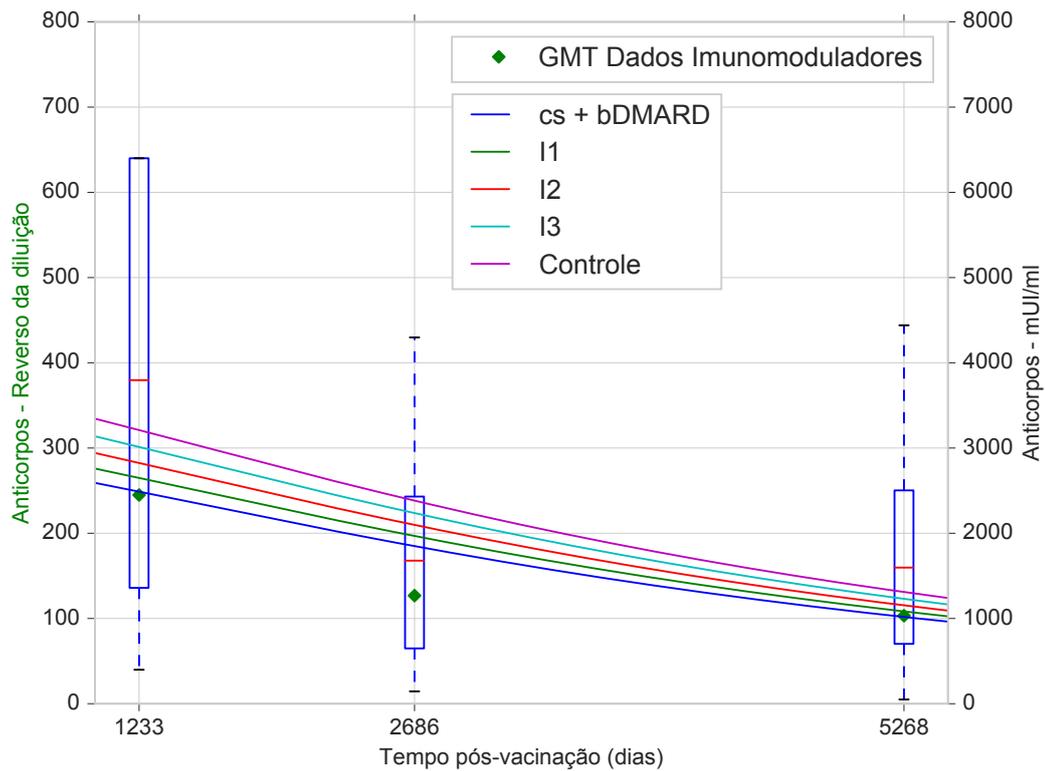


Figura 4.21: Curvas de variação da quantidade inicial de células B (B_0) para o ajuste do modelo aos dados de indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada.

indivíduos controle e o valor ajustado para a simulação do uso de terapia combinada (cs + bDMARD). Eles foram calculados dividindo-se em três partes igualmente espaçadas o intervalo entre o valor da condição inicial usado para indivíduos controle e sob uso de terapia.

Tabela 4.5: Valores usados como condição inicial do modelo para a população de células B (B_0) a fim de simular indivíduos controle e cs + bDMARD e valores intermediários.

Parâmetro	Valor cs + bDMARD	I1	I2	I3	Valor controle
B_0	$1,875 \times 10^5$	$2,03 \times 10^5$	$2,19 \times 10^5$	$2,35 \times 10^5$	$2,5 \times 10^5$

Os três testes produziram resultados muito semelhantes em relação ao ajuste do modelo padrão, aquele proposto neste trabalho e que foi desenvolvido baseado em dados de indivíduos adultos, saudáveis e primovacinados, para reproduzir a resposta imune de um indivíduo portador de doença autoimune sob uso de terapia imunomoduladora combinada. Até o momento, não foi possível definir qual dos três testes produziu os melhores resultados. Uma possibilidade é avaliar qual das alterações representa melhor

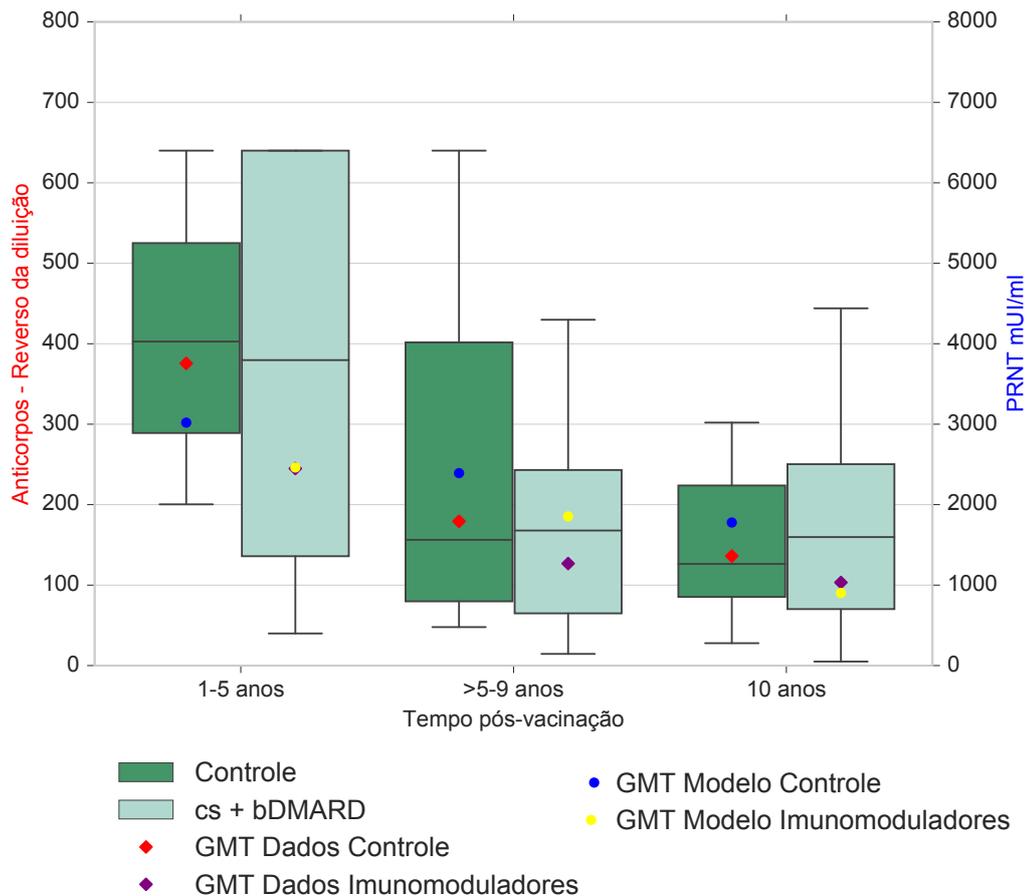


Figura 4.22: Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha preta), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo tempo pós-vacinação, para indivíduos controle e indivíduos sob uso de terapia imunomoduladora combinada. “GMT Dados Controle” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos controle e “GMT Modelo Controle” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo sem ajuste. “GMT Dados Imunomoduladores” (♦) refere-se à média geométrica dos dados de indivíduos sob uso de terapia e “GMT Modelo Imunomoduladores” (●) à média geométrica dos resultados computacionais do modelo ajustado para representar indivíduos sob uso de terapia.

o comportamento descrito na literatura sobre o uso dessas terapias. Porém, para fazer essa avaliação é necessário ter amplo conhecimento a respeito do funcionamento dessas drogas e dos mecanismos de ação em cada tipo de células. Esses mecanismos envolvem a produção e/ou a inibição de substâncias como citocinas, que ainda não são consideradas no modelo.

Levando-se em conta os fatores descritos acima, decidiu-se apresentar os resultados obtidos para todos os testes realizados a fim de mostrar a gama de possibilidades que o modelo oferece para simular a resposta imune à vacinação de indivíduos sob uso de terapia

imunomoduladora.

4.6 Dose Resposta

Martins *et al.* (2013) observaram que doses de 27.476 UI a 587 UI da vacina contra FA induziram nos indivíduos que participaram do experimento taxas de seroconversão e títulos geométricos médios de anticorpos neutralizantes semelhantes.

Com base nesse estudo, decidiu-se simular a resposta imune obtida quando diferentes doses da vacina contra FA são administradas. Os valores usados como condição inicial de vírus na simulação do modelo foram calculados com base nos valores usados por Martins *et al.* (2013). O método usado para calcular esses valores, considerando a diluição da vacina no organismo, bem como a conversão das unidades, foi apresentado no Capítulo 3.

Para a simulação desse cenário, não foi feita nenhuma alteração nas equações ou nos parâmetros do modelo; esse cenário foi simulado alterando apenas a condição inicial do vírus, que representa a dose da vacina injetada no indivíduo. Os dados experimentais de anticorpos obtidos para esse cenário estão na mesma unidade do modelo, mUI/ml. Dessa forma, a magnitude da diferença apresentada entre as doses é a mesma para os dados e para o modelo, possibilitando a validação quantitativa do mesmo.

A Figura 4.23 apresenta a comparação entre os níveis de anticorpos obtidos pela simulação do modelo e os dados experimentais para as diferentes doses da vacina no intervalo entre 30 e 45 dias pós-vacinação.

Assim como foi feito para os indivíduos primovacinados, foram calculados os erros do modelo para cada uma das doses no intervalo entre 30 e 45 dias pós-vacinação. Os valores obtidos estão apresentados na Tabela 4.6. É possível perceber que o erro apresentado pelo modelo foi bem abaixo de 10% para 5 das 6 doses testadas. Esse resultado mostra que o modelo que foi ajustado usando apenas os dados de indivíduos primovacinados com a dose padrão foi capaz de reproduzir de forma satisfatória a resposta imune obtida com a vacinação usando doses menores que a padrão.

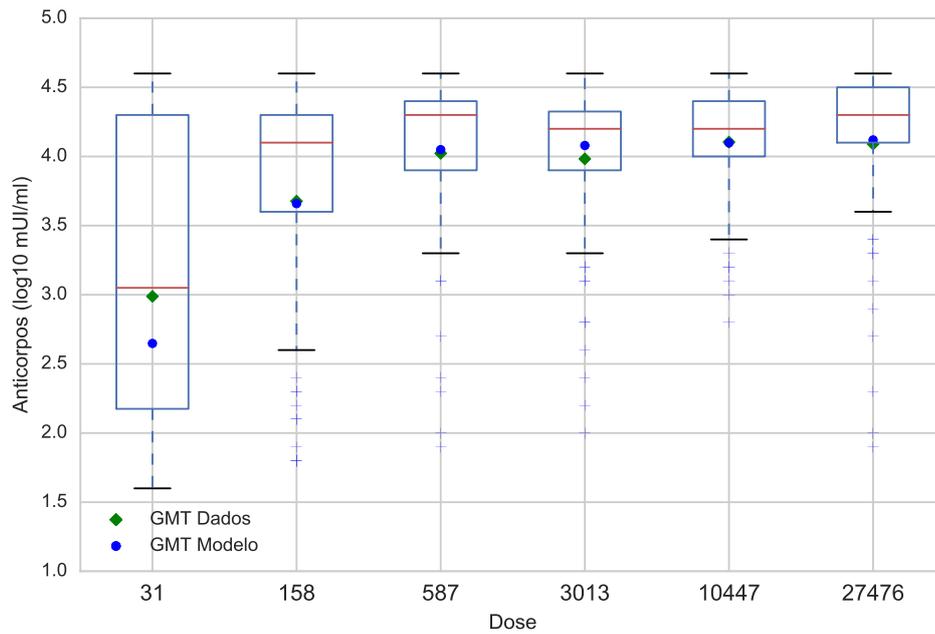


Figura 4.23: Intervalo interquartil (retângulos), mediana (linha vermelha), limite inferior e limite superior (hastes pretas) e médias geométricas (observadas e estimadas pelo modelo) de títulos de anticorpos para FA segundo as diferentes doses da vacina no intervalo de 30 a 45 dias após a vacinação. “GMT Dados” (◆) refere-se à média geométrica dos dados experimentais e “GMT Modelo” (●) à média geométrica dos resultados computacionais, ambos obtidos para cada dose.

Tabela 4.6: Erro do modelo para cada dose no intervalo entre 30 e 45 pós vacinação

Dose (UI)	Erro do modelo
31	12,9%
158	0,5%
587	0,7%
3.013	2,4%
10.447	0,1%
27.476	0,7%

O modelo é capaz de reproduzir a diferença existente entre as duas menores doses e o comportamento muito semelhante entre as demais, no intervalo entre 30 e 45 dias pós-vacinação. O trabalho de referência (Martins *et al.*, 2013) também obteve dados experimentais provenientes de amostras coletadas dez meses após a vacinação. Porém, estes dados experimentais não foram usados para fins de validação dos resultados

computacionais gerados pelo modelo proposto neste trabalho por serem oriundos de um subconjunto dos indivíduos do início do estudo: aqueles indivíduos que, na amostra coletada 30-45 dias após a vacinação, apresentaram níveis de anticorpos considerados não protetores foram revacinados com a dose padrão da vacina, para sua própria segurança, e excluídos do estudo. Dessa forma, o conjunto de dados do período de dez meses após a vacinação contempla apenas os indivíduos que responderam de forma eficaz desde a primeira coleta, mesmo sendo vacinados com doses bem menores que a dose padrão. Existem ainda os dados do estudo de Martins *et al.* (2018), coletados 8 anos após a vacinação, mas pelo mesmo motivo não foram usados.

O modelo apresentado neste trabalho visa simular a resposta imune de um indivíduo que represente a média da população, a curto, médio e longo prazos. Os dados obtidos experimentalmente nos estudos de Martins *et al.* (2013) e Martins *et al.* (2018) para médio e longo prazos não representam o comportamento observado na população inteira. Por esse motivo optou-se por não comparar os resultados computacionais e os dados experimentais obtidos em amostras coletadas 10 meses e 8 anos pós-vacinação.

Ainda que não seja possível a comparação com os dados experimentais, foram feitas simulação de médio e longo prazos para avaliar a duração da imunidade produzida pelas diferentes doses da vacina. As Figuras 4.24 e 4.25 apresentam, respectivamente, a dinâmica dos anticorpos para as diferentes doses da vacina nos 100 primeiros dias após a vacinação e no tempo total da simulação, que foi de 1.000 dias.

Observando os resultados computacionais obtidos com 1.000 dias de simulação, pode-se perceber que as doses ≥ 587 UI são capazes de induzir a produção de títulos de anticorpos muito semelhantes àqueles produzidos pela dose padrão, 27.476 UI. Além disso, a Figura 4.25 mostra que a duração desses anticorpos também é semelhante. Esse resultado reforça a hipótese de que uma dose reduzida da vacina contra FA não prejudica a indução e a duração da imunidade conferida por anticorpos.

A viremia após a vacinação contra FA é indetectável na maioria dos indivíduos, como mostra a Tabela 4.6, extraída do estudo feito por Martins *et al.* (2013). A tabela apresenta a detecção viral em indivíduos vacinados com diferentes doses e em diferentes dias de

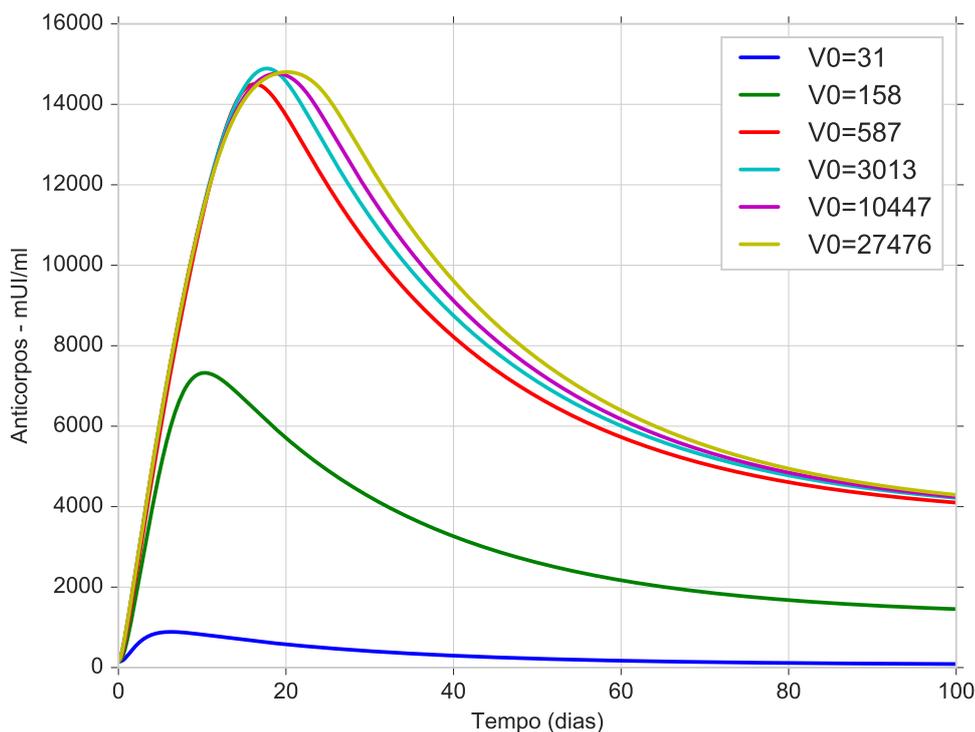


Figura 4.24: Curvas dos níveis de anticorpos obtidos após 100 dias de simulação do modelo para diferentes doses da vacina.

coleta. São apresentados: o número de indivíduos com viremia detectável / o número de amostras de sangue (e o % de detecção).

Tabela 4.7: Detecção viral em indivíduos vacinados com diferentes doses da vacina contra FA

Grupo (UI/dose)	Dia da amostra de sangue					Total
	3	4	5	6	7	
27476	0/20(0)	1/19(5,3)	0/26(0)	0/27(0)	0/13(0)	1/105(1)
10447	0/17(0)	2/14(14,3)	4/27(14,8)	1/29(3,4)	0/15(0)	7/102(6,9)
3013	1/22(4,5)	1/14(7,1)	2/30(6,7)	1/24(4,2)	0/13(0)	5/103(4,9)
587	0/17(0)	1/20(5)	4/26(15,4)	1/29(3,4)	0/13(0)	6/105(5,7)
158	0/22(0)	0/17(0)	2/21(9,5)	1/32(3,1)	0/10(0)	3/102(2,9)
31	0/13(0)	0/25(0)	2/24(8,3)	3/30(10)	0/11(0)	5/103(4,9)
Total	1/111(0,9)	5/109(4,6)	14/154(9,1)	7/171(4,1)	0/75(0)	27/620(4,4)

Apesar de alguns indivíduos apresentarem viremia detectável após a vacinação, esse não é o comportamento observado na maioria da população. A resposta produzida pelo modelo para a viremia, independente da dose, fica abaixo do nível considerado detectável: $2,6 \log_{10}$ PFU/ml ou aproximadamente 2.147 cópias/ml (Martins *et al.*, 2013).

As Figuras 4.26 e 4.27 apresentam as curvas de viremia geradas pela simulação do modelo para as diferentes doses da vacina. As figuras representam a mesma simulação

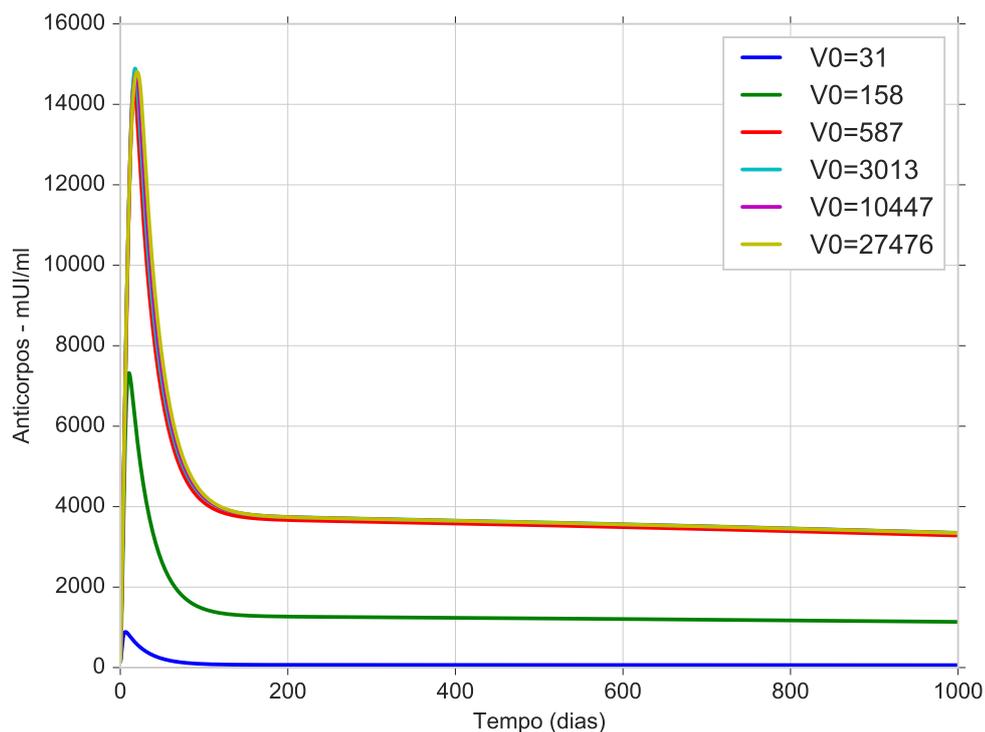


Figura 4.25: Curvas dos níveis de anticorpos obtidos após 1.000 dias de simulação do modelo para diferentes doses da vacina.

em escalas diferentes para que seja possível a visualização de todas as curvas. As curvas variam de acordo com a dose, mas é importante ressaltar que todas se encontram abaixo do nível considerado detectável, no tempo oportuno.

4.7 Variação da quantidade inicial de células T CD4+ *naive*

Com exceção de casos muito raros de eventos adversos, a vacina contra FA é geralmente considerada segura. A vacina é contraindicada em alguns casos específicos como indivíduos com infecção sintomática pelo HIV ou com contagem de células T CD4+ menor que 200 células/ mm^3 (2×10^5 células/ml) (Centers for Disease Control and Prevention, 2018b). Existe ainda uma precaução de vacinação para indivíduos com infecção assintomática pelo HIV e contagem de células T CD4+ entre 200 e 499 células/ mm^3 (entre 2×10^5 e $4,9 \times 10^5$ células/ml).

Com base nas restrições relacionadas à vacinação de indivíduos portadores do HIV,

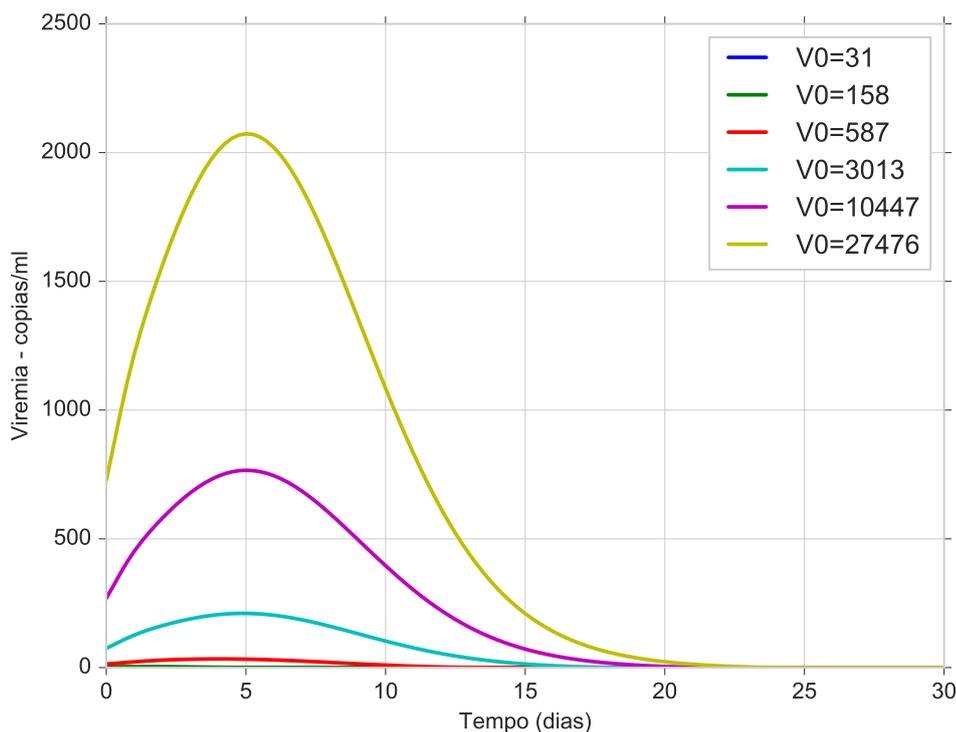


Figura 4.26: Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de vírus.

decidiu-se avaliar a resposta do modelo com diferentes contagens de células T CD4+. Partindo do valor inicial definido na Tabela 3.1, identificado na legenda como “Original”, foram testadas contagens de T CD4+ menores (-45% e -90%) e maiores (45% e 90%). A linha vermelha tracejada representa o nível mínimo de anticorpos considerado protetor, que é de $2,7 \log_{10}$ mUI/ml ou aproximadamente 500 mUI/ml (Martins *et al.*, 2018). As Figuras 4.28 e 4.29 apresentam o impacto dessas variações nas curvas de anticorpos, nos 100 primeiros dias e no tempo total de simulação que foi de 4.000 dias, respectivamente.

É possível perceber que a contagem de células T CD4+ afeta diretamente os níveis de anticorpos. Isso pode ser explicado porque o modelo considera o mecanismo T-dependente de ativação das células B, que posteriormente se diferenciam em plasmócitos que secretam anticorpos.

É possível perceber na Figura 4.29 que, com uma redução de 90% na contagem de células T CD4+ (1×10^5 células/ml), o nível de anticorpos obtido fica abaixo do nível considerado protetor. Obter dados experimentais para validar a simulação desse cenário é inviável, visto que poderia colocar em risco a vida dos indivíduos envolvidos. Sendo assim,

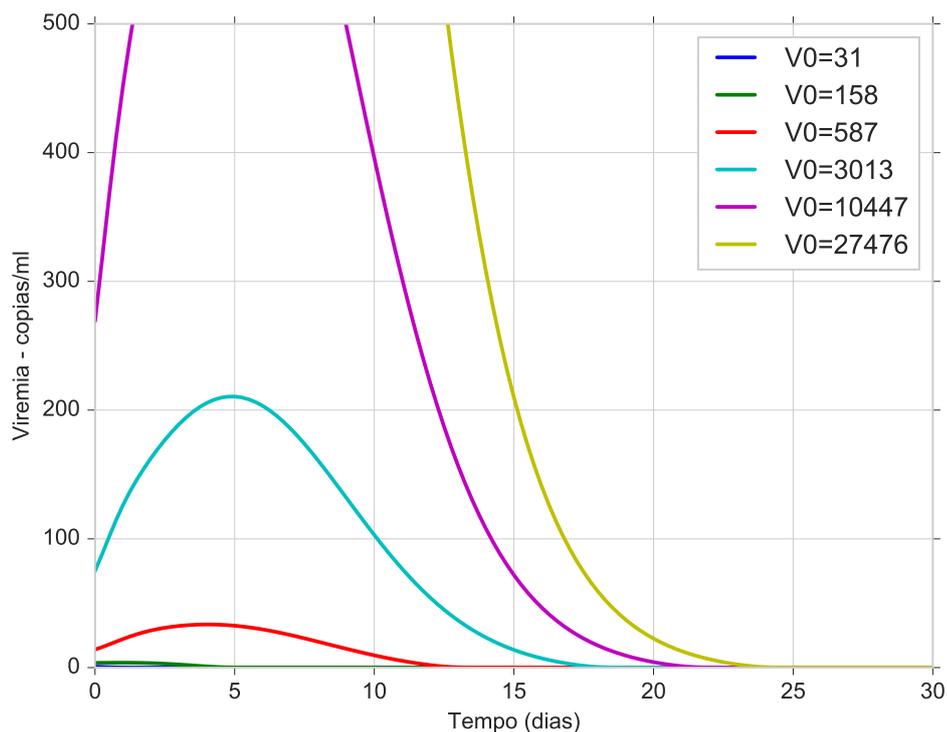


Figura 4.27: Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de vírus.

o resultado apresentado pelo modelo foi analisado apenas como hipótese para reforçar a contraindicação de vacinação de indivíduos com contagem de células T CD4+ abaixo de 2×10^5 células/ml.

A curva de viremia não foi afetada pela variação da quantidade de células T CD4+, como pode ser visto na Figura 4.30.

De fato, a relação das células T CD4+ com a viremia não é muito direta. Essas células auxiliam em uma das vias de ativação das células B, que posteriormente se diferenciam em plasmócitos e esses secretam anticorpos. Os anticorpos, por sua vez, neutralizam células infectadas por vírus, sinalizando-as para que sejam eliminadas do organismo. Quando uma célula infectada é eliminada, a viremia tende a diminuir porque menos cópias virais estarão sendo produzidas.

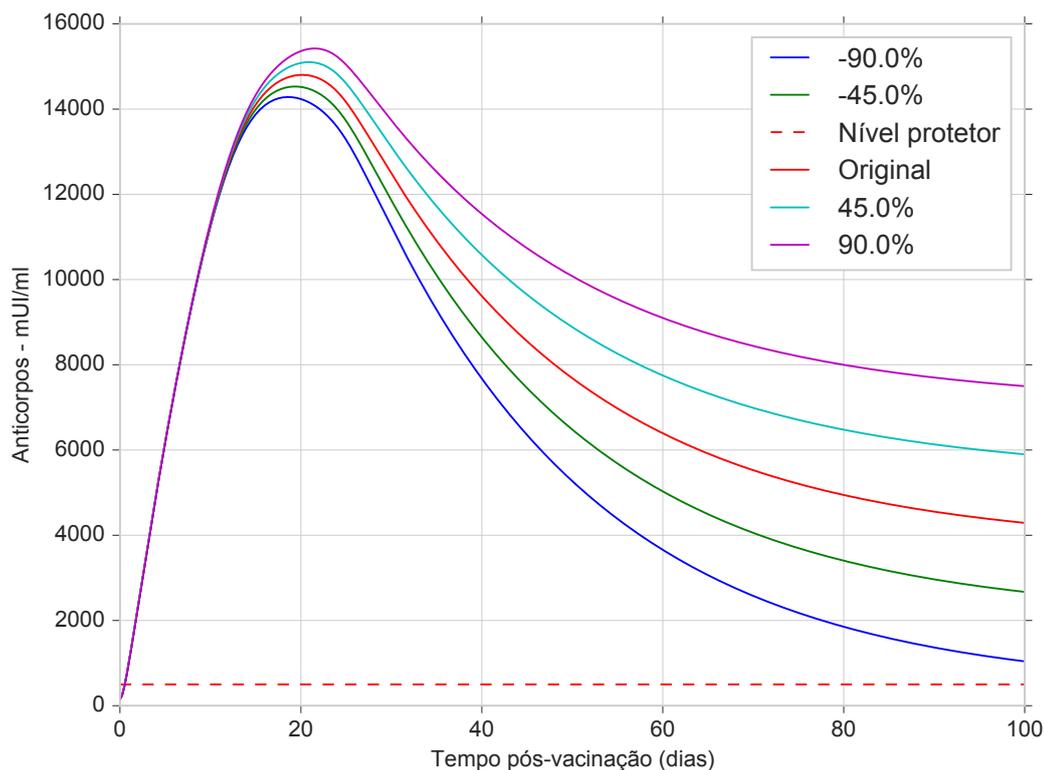


Figura 4.28: Curvas dos níveis de anticorpos geradas pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD4+. A linha tracejada (- -) representa o nível mínimo de anticorpos considerado protetor.

4.8 Variação da quantidade inicial de células T CD8+ *naive*

Segundo Reinhardt *et al.* (1998), o clareamento do patógeno intracelular através de linfócitos T CD8+ citotóxicos parece ser importante para a recuperação da infecção viral primária.

Baseando-se nessa observação, decidiu-se analisar a resposta imunológica dada pela simulação do modelo com diferentes quantidades iniciais de células T CD8+, a fim de avaliar a importância dessa população de linfócitos.

A Figura 4.31 apresenta as curvas de viremia para diferentes condições iniciais de células T CD8+.

Diferente do que foi observado com a redução da quantidade inicial de células T CD4+, a redução das células T CD8+ causou um impacto grande e direto na curva de viremia. À medida em que a quantidade dessas células é reduzida, a viremia atinge níveis mais

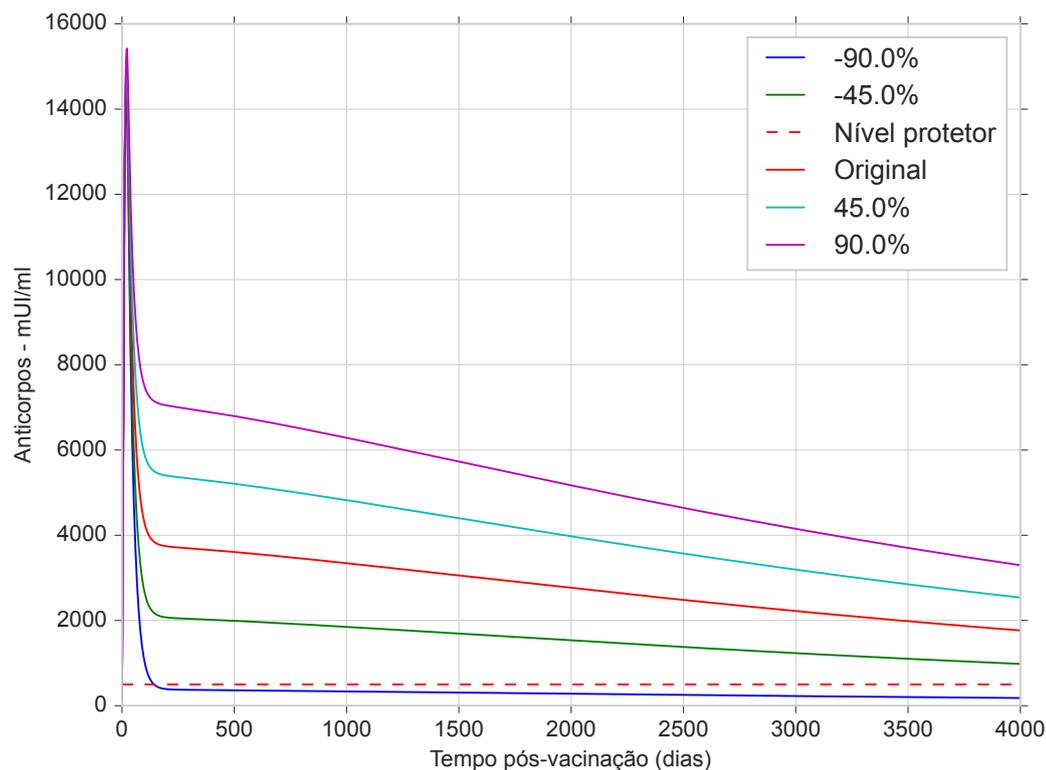


Figura 4.29: Curvas dos níveis de anticorpos obtidas pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD4+. A linha tracejada (- -) representa o nível mínimo de anticorpos considerado protetor.

altos e tem maior duração, reforçando as observações citadas anteriormente.

A Figura 4.32 mostra que, a curto e médio prazos, a variação na condição inicial de células T CD8+ afetou o nível de anticorpos.

A Figura 4.33 mostra que, a longo prazo, a variação na condição inicial de células T CD8+ não afetou significativamente a curva de anticorpos.

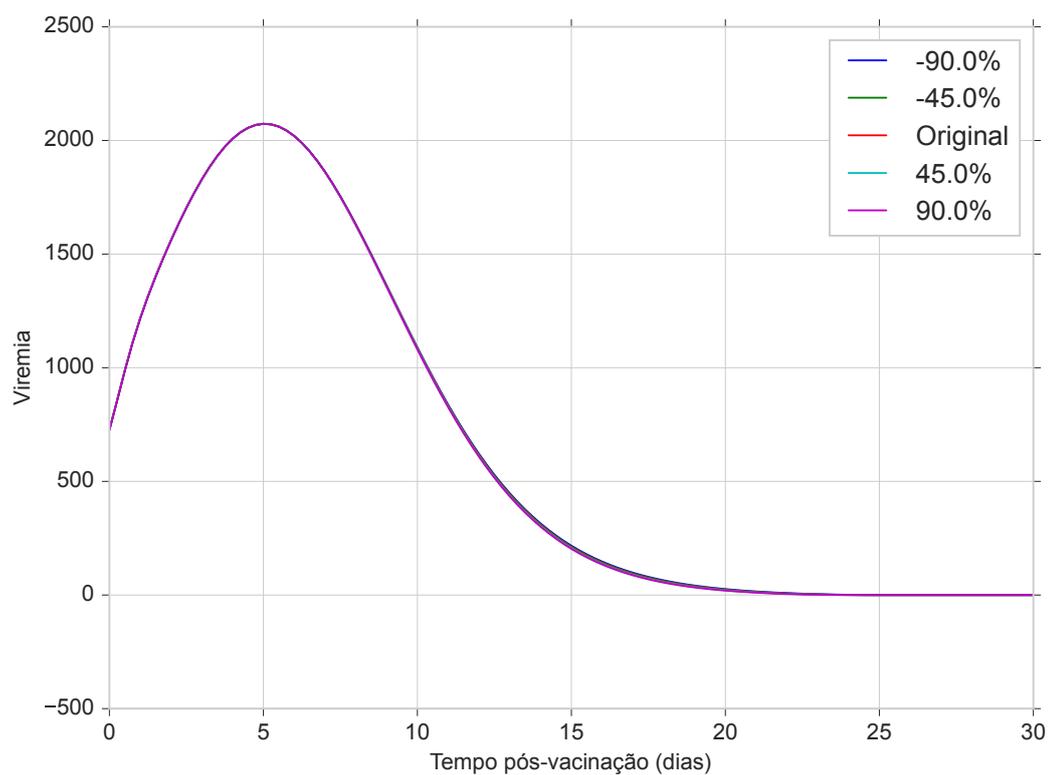


Figura 4.30: Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de células T CD4+.

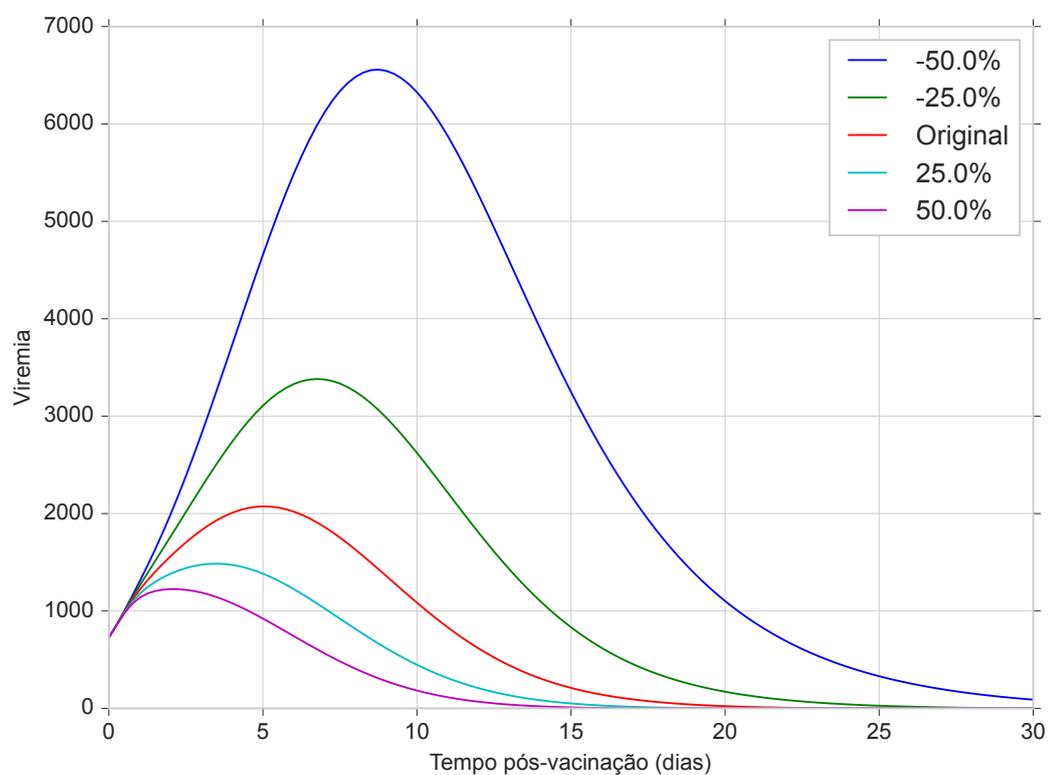


Figura 4.31: Curvas de viremia obtidas pela simulação do modelo para diferentes condições iniciais de células T CD8+.

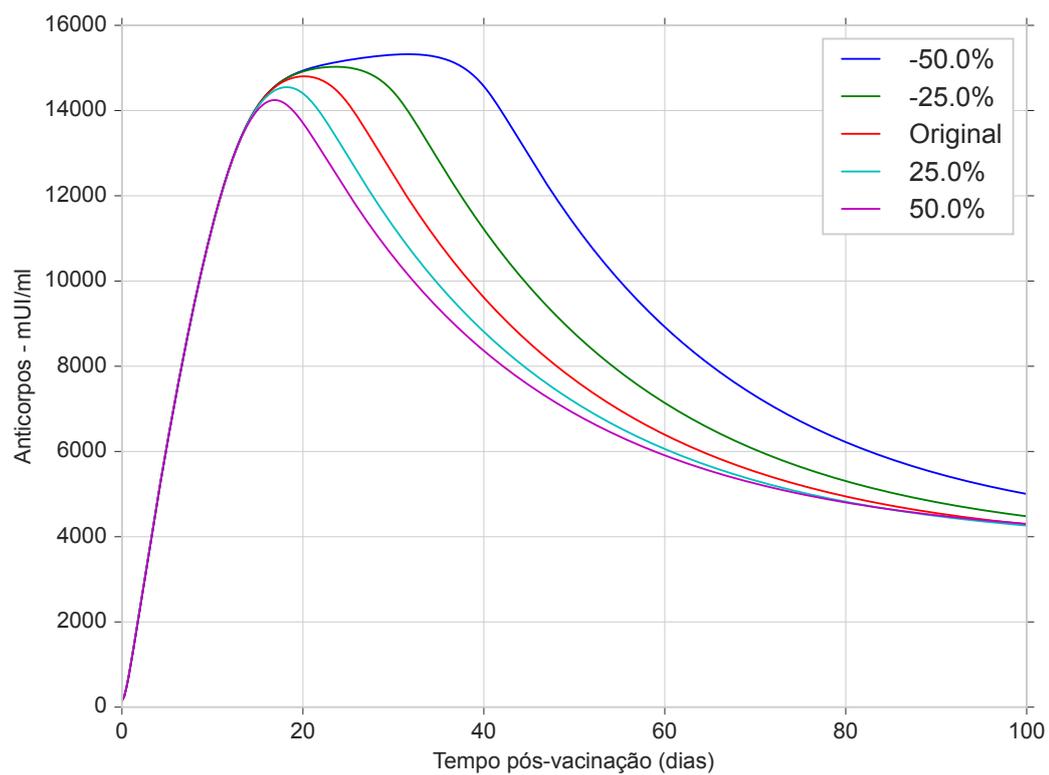


Figura 4.32: Curvas dos níveis de anticorpos obtidos pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD8+.

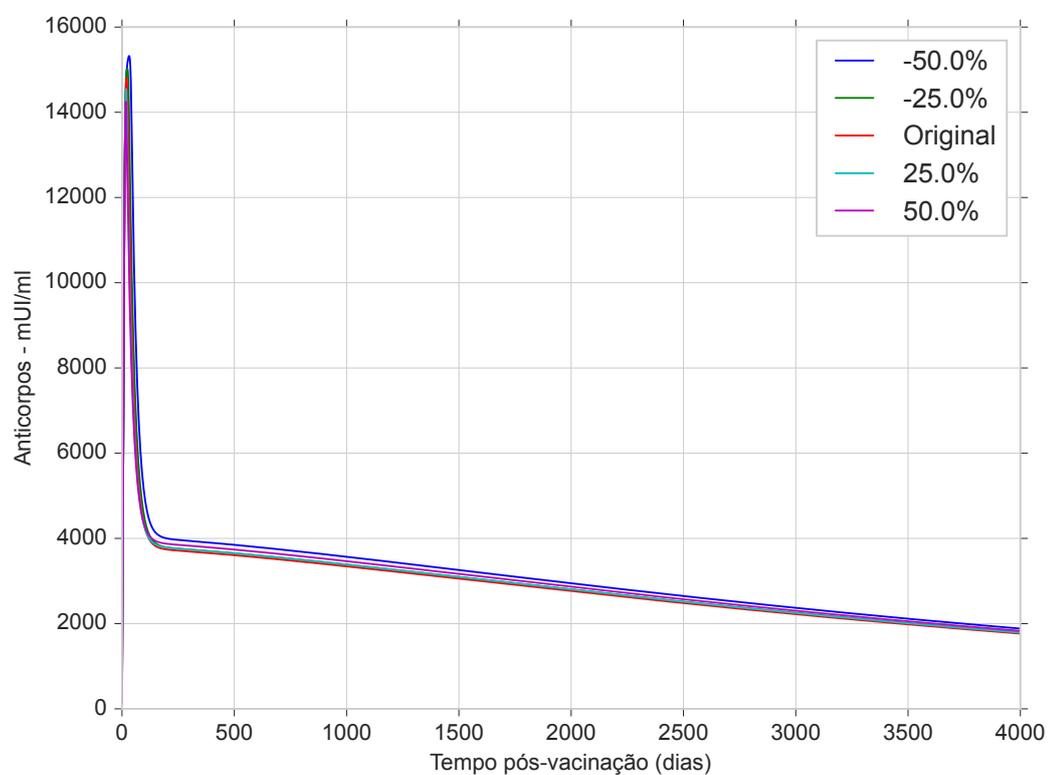


Figura 4.33: Curvas dos níveis de anticorpos obtidos pela simulação do modelo, para diferentes condições iniciais de células T CD8+.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresentou um modelo computacional para representar a resposta imune à vacina contra FA. O modelo foi capaz de reproduzir as concentrações de títulos de anticorpos encontrados experimentalmente em indivíduos imunocompetentes primovacinados com a dose padrão da vacina. Além disso, foram apresentados bons resultados para diversos outros cenários como indivíduos revacinados, portadores de doenças autoimunes sob uso de terapia imunomoduladora combinada e crianças. Além disso, foi possível reproduzir *in silico* os resultados experimentais da administração de diferentes doses da vacina contra FA observados por Martins *et al.* (2013). O modelo apresentou um erro bem abaixo de 10% para 5 das 6 doses testadas, o que demonstra que o modelo, ajustado usando apenas os dados de indivíduos primovacinados com a dose padrão, foi capaz de reproduzir de forma satisfatória a resposta imune obtida com a vacinação usando doses menores que a padrão. Para todos os cenários descritos, os dados experimentais foram usados para validar o modelo. Em virtude de diferenças de unidades e da impossibilidade da conversão das mesmas, para alguns cenários apenas o comportamento qualitativo foi validado.

Foram simuladas também variações nas quantidades iniciais das células T, CD4+ e CD8+. Para esses cenários não foram usados dados experimentais. Para o primeiro caso, a simulação de uma redução de 90% na contagem inicial de células T CD4+ mostrou que os níveis de anticorpos gerados ficam abaixo do nível mínimo considerado protetor, antes mesmo de completar um ano após a vacinação. Esse resultado pode reforçar a contraindicação de vacinação para indivíduos com contagem de células T CD4+ abaixo de 2×10^5 células/ml.

Para o cenário da variação na quantidade inicial de células T CD8+, as curvas que apresentam as reduções nestas populações de 25% e 50% mostraram um aumento significativo da viremia, que ultrapassou o nível detectável de aproximadamente 2.147 cópias/ml. Esse resultado está de acordo com o que foi descrito por Reinhardt *et al.*

(1998).

Após a simulação de todos esses cenários, muitos deles tendo sido validados, alguns inclusive de forma quantitativa, pode-se concluir que o modelo apresentado neste trabalho é um modelo que considera os principais personagens envolvidos na resposta imune humana à vacina contra FA e é capaz de simular diferentes cenários referentes à vacinação. Não foi encontrado na literatura nenhum modelo que considere todas as populações e simule todos os cenários descritos anteriormente. Assim sendo, este é o primeiro modelo computacional da resposta imune humana à vacina contra FA.

Esse é o primeiro passo para um longo caminho no ramo da vacinologia computacional. O modelo ainda tem pontos que podem ser aprimorados visando aumentar sua confiabilidade. Um desses pontos é utilizar dados experimentais de outras populações de células consideradas no modelo, como por exemplo as células T CD4+ e T CD8+. Os dados experimentais classificam essas populações de células em quatro tipos: *naive*, *early effector memory*, *central memory* e *effector memory*, enquanto que o modelo considera apenas células *naive* e efectoras. Para a utilização desses dados ainda é necessário aprofundar os conhecimentos sobre cada uma dessas classificações para escolher o melhor método de comparação desses dados com os resultados do modelo. Situação semelhante ocorre com os dados experimentais de células B de memória. Esses são divididos em *naive*, *non-classical memory* e *classical memory* enquanto que o modelo considera células B *naive* e efectoras, células B de memória e plasmócitos, que também são uma diferenciação das células B.

Devido a falta de dados experimentais para algumas das populações consideradas no modelo, uma possível melhoria seria a sua simplificação. Dessa forma, o número de parâmetros estimados é reduzido e a confiabilidade do modelo tende a aumentar.

O modelo apresentado está em um nível intermediário de abstração do fenômeno estudado, existem modelos da resposta imune que estão níveis acima ou abaixo. Os modelos populacionais como os de dispersão de doenças são um exemplo de modelos que estão um nível acima do que foi apresentado neste trabalho. Eles reproduzem o comportamento observado em uma população de indivíduos e não o que acontece no SIH

de um único indivíduo.

Existem ainda modelos que estão um nível abaixo, como por exemplo os modelos que avaliam os mecanismos de ação de um determinado medicamento. Eles consideram aspectos detalhados de um tipo específico de célula, substância, proteína etc. Uma possível melhoria no modelo proposto, ou uma nova proposta de modelo, seria um modelo que considerasse as citocinas produzidas pelas células do SIH quando estimuladas pela presença do vírus da vacina contra FA.

O trabalho de Xavier *et al.* (2017) apresenta um modelo estocástico para a resposta imune à vacina contra FA. Esse tipo de modelo representa a aleatoriedade existente nos indivíduos e nos fenômenos observados e pode auxiliar na avaliação da diversidade das respostas imunes observadas nos estudos experimentais. É possível avaliar, por exemplo, quais parâmetros impactam mais no percentual de soroconversão¹ para as diferentes doses da vacina. No modelo proposto neste trabalho, isso não é possível porque o modelo é determinístico, ou seja, a resposta será a mesma sempre que for feita uma simulação com as mesmas condições iniciais e parâmetros.

A incerteza é uma parte inerente do mundo real e, na simulação de modelos computacionais, ela afeta quase todos os aspectos. Incertezas aparecem em condições de contorno, condições iniciais, parâmetros e no próprio sistema, no modelo e nos seus cálculos. A Quantificação de Incerteza (QI) é a ciência de quantificar, caracterizar, rastrear e gerenciar a incerteza em sistemas computacionais e do mundo real. Todos os modelos são aproximações da realidade e quantificar a incerteza significa avaliar com que precisão um modelo matemático descreve o fenômeno real e qual é o impacto dessa incerteza sobre as saídas do mesmo. Ao entender e quantificar mais profundamente as fontes de incerteza, pode-se tomar melhores decisões com níveis conhecidos de confiança.

Um dos processos importantes para se quantificar as incertezas de um modelo computacional é a análise da sensibilidade relacionada aos seus parâmetros de entrada. O objetivo da análise de sensibilidade é quantificar a contribuição de determinados parâmetros de entrada e suas interações para a saída do modelo. Para avaliar essa

¹Passagem do estado de não reator para reator à sorologia para anticorpos contra FA (Fernandes, 2010).

contribuição, são utilizados os índices `Sobol`, principalmente os de primeira ordem e total. O índice de primeira ordem quantifica a porção que um parâmetro de entrada contribui diretamente para a variância total da quantidade de interesse enquanto que o índice total considera também as interações entre os vários parâmetros avaliados na análise (Eck *et al.*, 2016).

Decidiu-se iniciar a QI do modelo proposto neste trabalho. Porém, o modelo possui muitos parâmetros, condições iniciais, suposições e aproximações, o que dificulta essa quantificação. Ainda assim foi feita uma análise inicial da QI do modelo usando aproximadamente 40% dos seus parâmetros. Esses parâmetros foram escolhidos por serem considerados os mais sensíveis do modelo, de acordo com a análise de sensibilidade realizada e quantificada pelos índices `Sobol`. A Figura 5.1 apresenta os índices `Sobol` de primeira ordem dos parâmetros avaliados para a curva da viremia ao longo dos 15 primeiros dias de simulação.

É possível perceber que o parâmetro π_v , que representa a taxa de replicação viral, é inegavelmente o que mais impacta a curva de viremia. Porém, os outros parâmetros influenciam de modo semelhante e suas curvas se confundem. Para facilitar a análise da sensibilidade do modelo a esses outros parâmetros, foram definidos intervalos de tempo e os índices `Sobol` de cada parâmetro foram somados nesse intervalo. A Figura 5.2 apresenta a soma dos índices `Sobol` de primeira ordem de cada um dos parâmetros avaliados no intervalo de 0 a 15 dias pós-vacinação.

Além do intervalo de 0 a 15 dias pós-vacinação, também foram avaliados os índices `Sobol` de primeira ordem para a curva de viremia no intervalo de 15 a 30 dias. Para a curva de anticorpos, foram feitas as mesmas análises e os intervalos definidos foram de 0 a 10 dias e de 10 a 50 dias pós-vacinação. Os resultados dessas análises estão no Apêndice B.

Para a realização da QI foi escolhida a biblioteca `Chaospy` (Feinberg e Langtangen, 2015) disponível para a linguagem de programação `Python`, que implementa a QI através do Método de Monte Carlo (Rubinstein e Kroese, 2016) e também pelos polinômios de caos generalizados (Xiu, 2010). O pacote `Chaospy` permite a criação de variáveis aleatórias

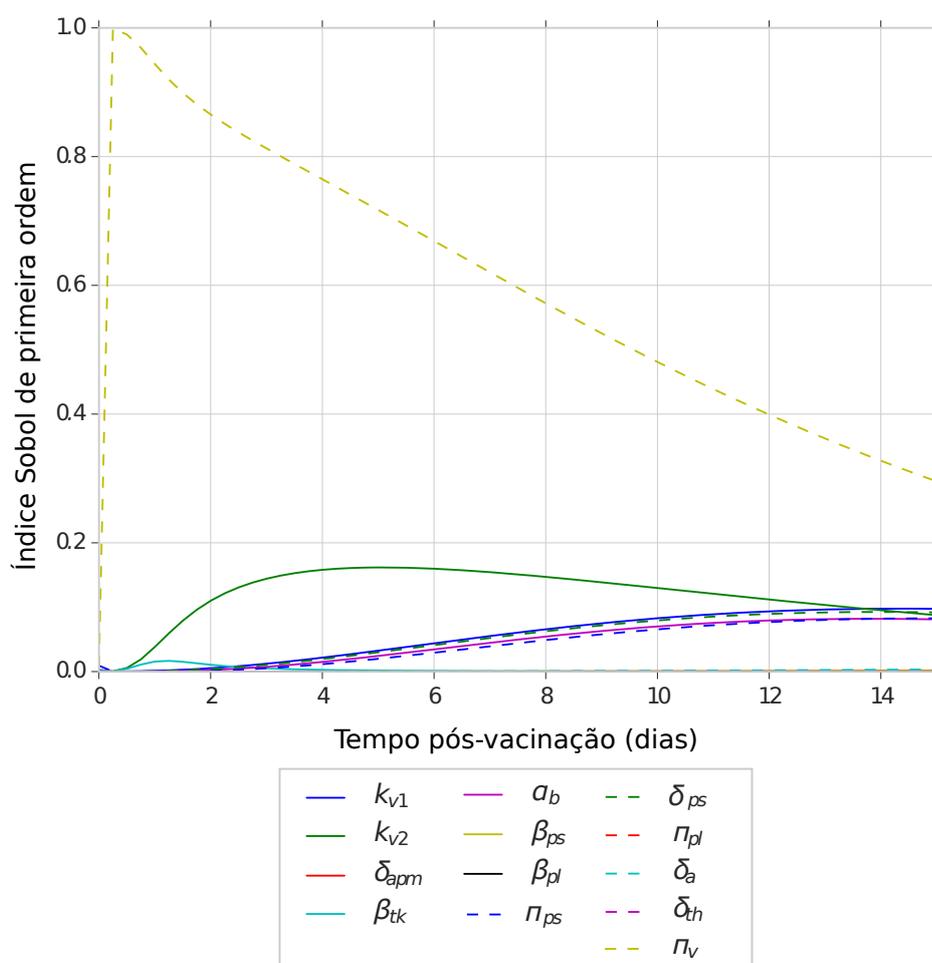


Figura 5.1: Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia no intervalo de 0 a 15 dias pós-vacinação.

escalares usando diferentes distribuições de probabilidade já predefinidas, em seguida é possível gerar amostras destas variáveis através de diferentes técnicas disponíveis. Com estas amostras é possível realizar simulações usando o método de Monte Carlo ou construir polinômios de caos para a quantificação de incertezas no modelo. Detalhes dos métodos não serão abordados.

Dessa forma, foi feita uma QI para 13 dos 32 parâmetros do modelo, usando polinômios de caos de quarto grau. Foi definida uma faixa de variação de 10% em torno dos valores usados no modelo e foram avaliados os impactos nas curvas de viremia e anticorpos. Foram geradas 2.380 amostras, ou seja, combinações de parâmetros. Esse número foi

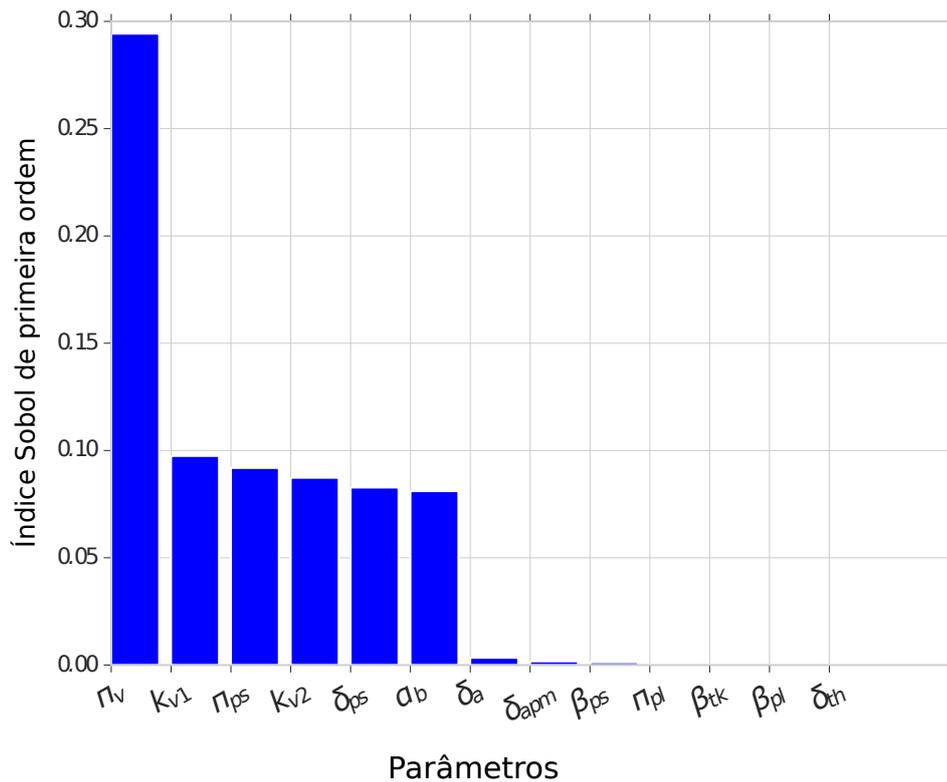


Figura 5.2: Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia nos 15 primeiros dias de simulação. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.

obtido através da fórmula descrita na Equação:

$$n^{\circ}amostras = \frac{(N + d)!}{N!d!}, \quad (5.1)$$

onde N é o grau do polinômio e d é o número de parâmetros usado (Rodríguez-Cantano *et al.*, 2019). Os parâmetros incluídos na QI foram: π_v , k_{v1} , k_{v2} , δ_{apm} , β_{tk} , α_b , β_{ps} , β_{pl} , δ_{ps} , π_{ps} , π_{pl} , δ_a e δ_{th} . A Figura 5.3 apresenta as possíveis curvas de viremia obtidas com diferentes combinações de valores para os parâmetros escolhidos. É possível perceber que, com uma faixa de variação de apenas 10%, a viremia foi bastante alterada, atingindo valores bem acima do nível considerado detectável, que é de 2.147 cópias/ml. Isso pode representar o que acontece no cenário real: alguns indivíduos apresentam viremia detectável enquanto outros não, mesmo sendo administrada a mesma dose da vacina.

Cada parâmetro do modelo representa algum mecanismo do SIH. Sendo assim, as curvas geradas pelas combinações de diferentes valores para esses parâmetros representam

as diferentes respostas do SIH dos indivíduos. No modelo, algumas vezes não é a variação de um parâmetro específico que influencia na resposta imune, mas sim a combinação de várias alterações. No mundo real, isso poderia explicar o porquê de indivíduos considerados aptos a serem vacinados apresentam um comportamento inesperado, como um evento adverso, ainda que esses eventos sejam raros.

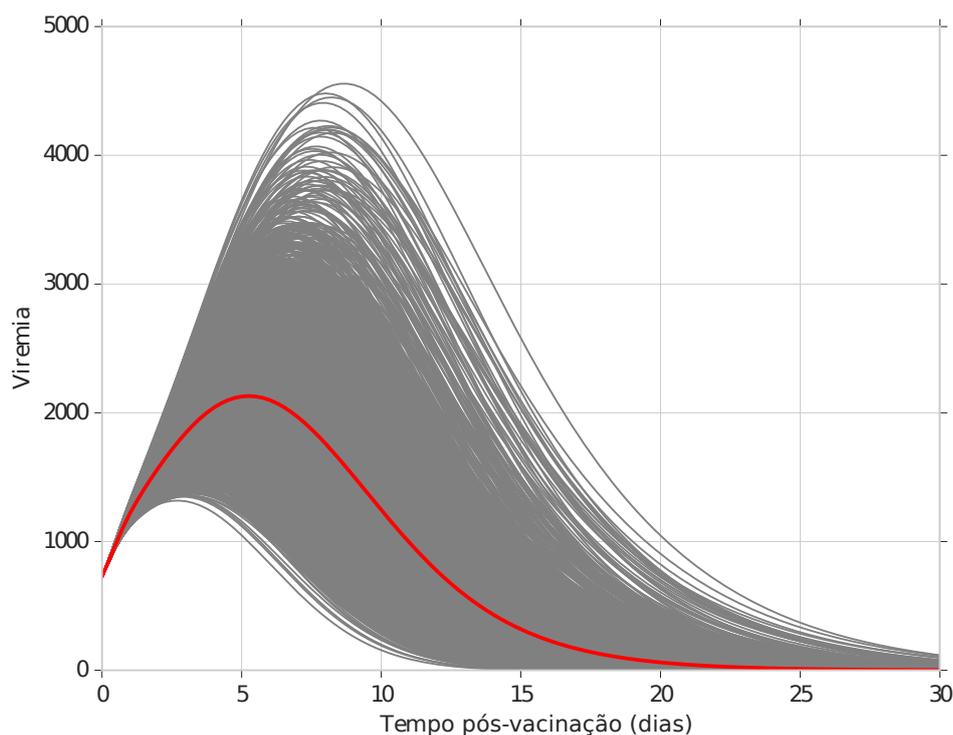


Figura 5.3: Curvas dos níveis de viremia obtidas pela combinação de diferentes valores para os parâmetros escolhidos. As curvas em cinza (—) representam todas as curvas geradas pelas 2.380 combinações e a curva em vermelho (—) representa a média delas.

A Figura 5.4 apresenta as possíveis curvas de anticorpos obtidas com diferentes combinações de valores para os parâmetros escolhidos. É possível perceber que a variação na curva de anticorpos é bem menor que na de viremia.

Ainda é necessário aprofundar os conhecimentos na área de QI para realizar análises mais detalhadas e tirar conclusões mais precisas sobre o comportamento do modelo em diferentes combinações de parâmetros, condições iniciais e faixas de variação. Esses foram apenas resultados preliminares que indicam a direção de um longo caminho a ser trilhado visando sempre entender melhor e aprimorar mais o modelo proposto.

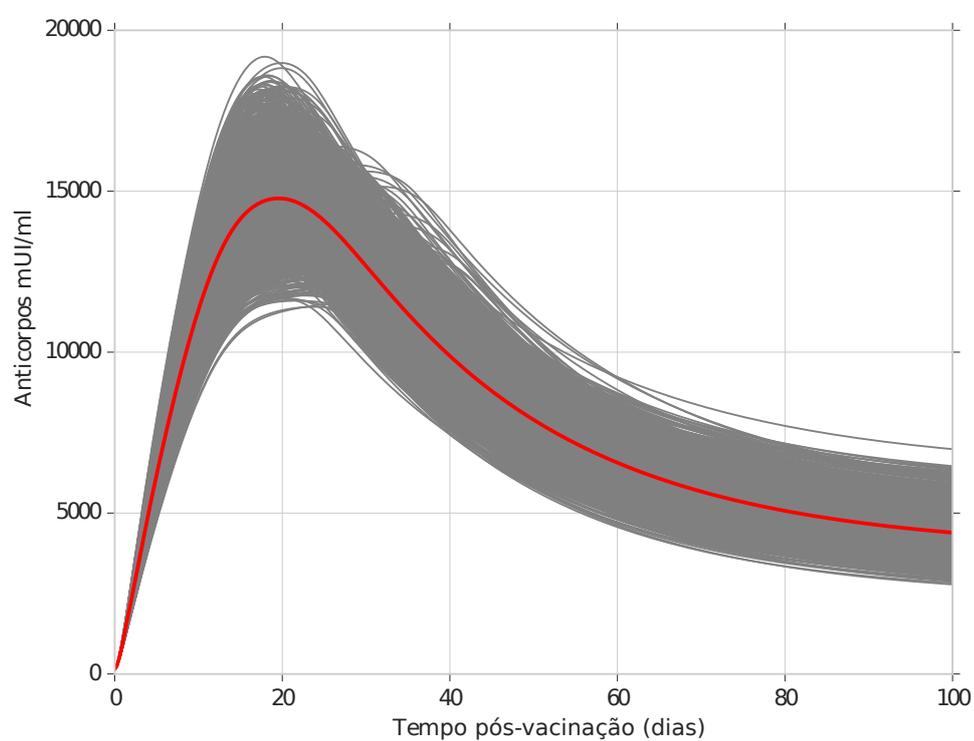


Figura 5.4: Curvas dos níveis de anticorpos obtidas pela combinação de diferentes valores para os parâmetros escolhidos. As curvas em cinza (—) representam todas as curvas geradas pelas 2.380 combinações e a curva em vermelho (—) representa a média delas.

Referências Bibliográficas

- Ada, G., 1999. The Immunology of Vaccination, 3rd Edition. Vaccines. Plotkin, S. A. & Orestein, W. A., USA.
- Ahmed, R., Akondy, R. S., 2011. Insights into human cd8+ t-cell memory using the yellow fever and smallpox vaccines. *Immunology and cell biology* 89 (3), 340–345.
- Ahuka-Mundeke, S., Casey, R. M., Harris, J. B., Dixon, M. G., Nsele, P. M., Kizito, G. M., Umutesi, G., Laven, J., Paluku, G., Gueye, A. S., *et al.*, 2018. Immunogenicity of fractional-dose vaccine during a yellow fever outbreak—preliminary report. *New England Journal of Medicine*.
- Akai, T. J., 1994. Applied numerical methods for engineers. John Wiley & Sons.
- Akondy, R. S., Monson, N. D., Miller, J. D., Edupuganti, S., Teuwen, D., Wu, H., Quyyumi, F., Garg, S., Altman, J. D., Del Rio, C., *et al.*, 2009. The yellow fever virus vaccine induces a broad and polyfunctional human memory cd8+ t cell response. *The Journal of Immunology* 183 (12), 7919–7930.
- Araki, Y., Mimura, T., 2016. The mechanisms underlying chronic inflammation in rheumatoid arthritis from the perspective of the epigenetic landscape. *Journal of immunology research* 2016.
- Barnett, E. D., 2007. Yellow fever: epidemiology and prevention. *Clinical Infectious Diseases* 44 (6), 850–856.
- Barrett, A. D., 2017. Yellow fever live attenuated vaccine: a very successful live attenuated vaccine but still we have problems controlling the disease. *Vaccine* 35 (44), 5951–5955.

- Bonin, C., dos Santos, R. W., Fernandes, G., Lobosco, M., 2016. Computational modeling of the immune response to yellow fever. *Journal of Computational and Applied Mathematics* 295, 127–138.
- Bonin, C. R., Fernandes, G. C., dos Santos, R. W., Lobosco, M., 2018. A qualitatively validated mathematical-computational model of the immune response to the yellow fever vaccine. *BMC immunology* 19 (1), 15.
- Bonin, C. R. B., Fernandes, G. C., dos Santos, R. W., Lobosco, M., 2017. Mathematical modeling based on ordinary differential equations: A promising approach to vaccinology. *Human vaccines & immunotherapeutics* 13 (2), 484–489.
- Camacho, L. A. B., group for studies on yellow fever vaccines, C., *et al.*, 2019. Duration of immunity in recipients of two doses of 17dd yellow fever vaccine. *Vaccine*.
- Campi-Azevedo, A. C., de Araújo-Porto, L. P., Luiza-Silva, M., Batista, M. A., Martins, M. A., Sathler-Avelar, R., da Silveira-Lemos, D., Camacho, L. A. B., de Menezes Martins, R., de Sousa Maia, M. d. L., *et al.*, 2012. 17dd and 17d-213/77 yellow fever substrains trigger a balanced cytokine profile in primary vaccinated children. *PloS one* 7 (12), e49828.
- Cannon, J. R., Galiffa, D. J., 2012. An epidemiology model suggested by yellow fever. *Mathematical Methods in the Applied Sciences* 35 (2), 196–206.
- Centers for Disease Control and Prevention, July 2018a. Yellow fever maps.
URL <https://www.cdc.gov/yellowfever/maps/index.html>
- Centers for Disease Control and Prevention, May 2018b. Yellow fever vaccine information for healthcare providers.
URL <https://www.cdc.gov/yellowfever/healthcareproviders/vaccine-info.html>
- Coico, R., Sunshine, G., 2010. *Imunologia*. Guanabara Koogan.

- Dobler, G., Jelinek, T., Frosner, G., NOTHDURFT, H.-D., Loscher, T., 1997. Kreuzreaktivitat von patientenseren mit akutem dengue-fieber mit fruhsummer-meningo-enzephalitis-tests. Wiener medizinische Wochenschrift 147 (19-20), 463–464.
- Dorigatti, I., Aguas, R., Donnelly, C. A., Guy, B., Coudeville, L., Jackson, N., Saville, M., Ferguson, N. M., 2015. Modelling the immunological response to a tetravalent dengue vaccine from multiple phase-2 trials in latin america and south east asia. Vaccine 33 (31), 3746–3751.
- Eck, V. G., Donders, W. P., Sturdy, J., Feinberg, J., Delhaas, T., Hellevik, L. R., Huberts, W., 2016. A guide to uncertainty quantification and sensitivity analysis for cardiovascular applications. International journal for numerical methods in biomedical engineering 32 (8), e02755.
- Edwards, S. P. W. O. P. O. K. M., 2018. Plotkin’s Vaccines, 7th Edition. Elsevier, USA.
- Feinberg, J., Langtangen, H. P., 2015. Chaospy: An open source tool for designing methods of uncertainty quantification. Journal of Computational Science 11, 46–57.
- Fernandes, G. C., 2010. Imunogenicidade e reatogenicidade das vacinas contra febre amarela: implicações para o programa nacional de imunizações. Ph.D. thesis, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz.
- Fernandes-Monteiro, A. G., Trindade, G. F., Yamamura, A. M., Moreira, O. C., de Paula, V. S., Duarte, A. C. M., Britto, C., Lima, S. M. B., 2015. New approaches for the standardization and validation of a real-time qpcr assay using taqman probes for quantification of yellow fever virus on clinical samples with high quality parameters. Human vaccines & immunotherapeutics 11 (7), 1865–1871.
- Ferreira, C. d. C., Campi-Azevedo, A. C., Peruhype-Magalhães, V., Coelho-dos Reis, J. G., Antonelli, L. R. d. V., Torres, K., Freire, L. C., Costa-Rocha, I. A. d., Oliveira, A. C. V., Maia, M. d. L. d. S., *et al.*, 2019. Impact of synthetic and biological immunomodulatory therapy on the duration of 17dd yellow fever vaccine-induced immunity in rheumatoid arthritis. Arthritis research & therapy 21 (1), 75.

- Gotuzzo, E., Yactayo, S., Córdova, E., May 2014. Efficacy and duration of immunity following yellow fever vaccine: a systematic review on the need of yellow fever booster every 10 years.
- Haefner, J. W., 2005. Modeling Biological Systems: Principles and Applications. Springer.
- Le, D., Miller, J. D., Ganusov, V. V., 2015. Mathematical modeling provides kinetic details of the human immune response to vaccination. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 4 (177).
- Lee, H. Y., Topham, D. J., Park, S. Y., Hollenbaugh, J., Treanor, J., Mosmann, T. R., Jin, X., Ward, B. M., Miao, H., Holden-Wiltse, J., Perelson, A. S., Zand, M., Wu, H., Jul 2009. Simulation and prediction of the adaptive immune response to influenza A virus infection. *J. Virol.* 83 (14), 7151–7165.
- LeVeque, R. J., 2007. Finite difference methods for ordinary and partial differential equations - steady-state and time-dependent problems. SIAM.
- Luiza-Silva, M., Campi-Azevedo, A. C., Batista, M. A., Martins, M. A., Avelar, R. S., da Silveira Lemos, D., Bastos Camacho, L. A., de Menezes Martins, R., de Lourdes de Sousa Maia, M., Guedes Farias, R. H., *et al.*, 2011. Cytokine signatures of innate and adaptive immunity in 17dd yellow fever vaccinated children and its association with the level of neutralizing antibody. *Journal of Infectious Diseases* 204 (6), 873–883.
- Martins, R. d. M., Maia, M. d. L. S., Lima, S. M. B. d., Noronha, T. G. d., Xavier, J. R., Camacho, L. A. B., Albuquerque, E. M. d., Farias, R. H. G., Castro, T. d. M. d., Homma, A., *et al.*, 2018. Duration of post-vaccination immunity to yellow fever in volunteers eight years after a dose-response study. *Vaccine* 36 (28), 4112–4117.
- Martins, R. M., Homma, A., 2013. Há necessidade de doses de reforço para a vacina febre amarela? *Controvérsias em imunizações 2013*. 1ªed.
- Martins, R. M., Maia, M. d. L. S., Farias, R. H. G., Camacho, L. A. B., Freire, M. S., Galler, R., Yamamura, A. M. Y., Almeida, L. F. C., Lima, S. M. B., Nogueira, R.

- M. R., *et al.*, 2013. 17dd yellow fever vaccine: a double blind, randomized clinical trial of immunogenicity and safety on a dose-response study. *Human vaccines & immunotherapeutics* 9 (4), 879–888.
- Massad, E., Burattini, M. N., Coutinho, F. A. B., Lopez, L. F., 2003. Dengue and the risk of urban yellow fever reintroduction in sao paulo state, brazil. *Revista de Saúde Pública* 37 (4), 477–484.
- Miller, J. D., van der Most, R. G., Akondy, R. S., Glidewell, J. T., Albott, S., Masopust, D., Murali-Krishna, K., Mahar, P. L., Edupuganti, S., Lalor, S., *et al.*, 2008. Human effector and memory cd8+ t cell responses to smallpox and yellow fever vaccines. *Immunity* 28 (5), 710–722.
- Ministério da Saúde, Março 2017. Informe especial febre amarela no brasil.
URL <http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/marco/18/Informe-especial-COES-FA.pdf>
- Ministério da Saúde, Dezembro 2018a. informe nº 02 | 2018/2019.
URL http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/dezembro/17/informe-FA-n.2_12dez18.pdf
- Ministério da Saúde, Outubro 2018b. informe nº 27 | 2017/2018.
URL <http://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2018/outubro/08/Informe-FA.pdf>
- Ministério da Saúde, Junho 2019. Calendário nacional de vacinação.
URL <http://www.saude.gov.br/saude-de-a-z/vacinacao/calendario-vacinacao>
- Monath, T. P., 2001. Yellow fever: an update. *Lancet Infect Dis*.
- Monath, T. P., Gershman, M., Staples, J. E., Barrett, A. D. T., 2013. Yellow fever vaccine. *Vaccines*, 6th edition. Elsevier Saunders.
- Mota, L. M. H. d., Cruz, B. A., Brenol, C. V., Pereira, I. A., Rezende-Fronza, L. S., Bertolo, M. B., Freitas, M. V. C., Silva, N. A. d., Louzada-Junior, P., Giorgio, R.

- D. N., *et al.*, 2013. Guidelines for the drug treatment of rheumatoid arthritis. *Revista brasileira de reumatologia* 53 (2), 158–183.
- Murphy, K., Travers, P., Walport, M., 2010. *Imunobiologia de Janeway*. Garland Science.
- Murphy, K., Weaver, C., 2008. *Janeway's immunobiology*. Garland Science.
- Niedrig, M., Lademann, M., Emmerich, P., Lafrenz, M., 1999. Assessment of igg antibodies against yellow fever virus after vaccination with 17d by different assays: neutralization test, haemagglutination inhibition test, immunofluorescence assay and elisa. *Tropical Medicine & International Health* 4 (12), 867–871.
- Odeint, September 2014. Odeint's homepage.
URL <http://docs.scipy.org>
- OMS, 2013. Vaccines and vaccination against yellow fever: Who position paper–june 2013. *Weekly Epidemiological Record* 88, 269–284.
- Pappalardo, F., Flower, D., Russo, G., Pennisi, M., Motta, S., 2015. Computational modelling approaches to vaccinology. *Pharmacological research* 92, 40–45.
- Pappalardo, F., Pennisi, M., Ricupito, A., Topputo, F., Bellone, M., 2014. Induction of t-cell memory by a dendritic cell vaccine: a computational model. *Bioinformatics*, btu059.
- Poland, J. D., Calisher, C. H., Monath, T. P., Downs, W. G., Murphy, K., 1981. Persistence of neutralizing antibody 30-35 years after immunization with 17D yellow fever vaccine. *Bull. World Health Organ.* 59 (6), 895–900.
- Quaresma, J. A., Pagliari, C., Medeiros, D. B., Duarte, M. I., Vasconcelos, P. F., 2013. Immunity and immune response, pathology and pathologic changes: progress and challenges in the immunopathology of yellow fever. *Reviews in medical virology* 23 (5), 305–318.
- Reinhardt, B., Jaspert, R., Niedrig, M., Kostner, C., L'age-Stehr, J., 1998. Development of viremia and humoral and cellular parameters of immune activation after vaccination

- with yellow fever virus strain 17d: a model of human flavivirus infection. *Journal of medical virology* 56 (2), 159–167.
- Rodríguez-Cantano, R., Sundnes, J., Rognes, M. E., 2019. Uncertainty in cardiac myofiber orientation and stiffnesses dominate the variability of left ventricle deformation response. *International journal for numerical methods in biomedical engineering*, e3178.
- Rubinstein, R. Y., Kroese, D. P., 2016. *Simulation and the Monte Carlo method*. Vol. 10. John Wiley & Sons.
- Siegrist, C.-A., 2018. Vaccine immunology. In: *Plotkin's Vaccines*. Elsevier, pp. 16–34.
- Simões, M., B, L. A. C., Yamamura, A. M., Miranda, E. H., Cajaville, A. C. R., da Silva Freire, M., 2012. Evaluation of accuracy and reliability of the plaque reduction neutralization test (micro-prnt) in detection of yellow fever virus antibodies. *Biologicals* 40 (6), 399–404.
- Simon, A. K., Hollander, G. A., McMichael, A., 2015. Evolution of the immune system in humans from infancy to old age. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 282 (1821), 20143085.
- Sneyd, J., Keener, J., 1998. *Mathematical Physiology*. Springer New York.
- Söllner, J., Heinzl, A., Summer, G., Fehete, R., Stipkovits, L., Szathmary, S., Mayer, B., 2010. Concept and application of a computational vaccinology workflow. *Immunome research* 6 (2), S7.
- Sompayrac, L., 2008. *How the immune system works*, 3rd Edition. Blackwell Publishing, USA.
- Staples, J. E., Gershman, M., Fischer, M., Jul 2010. Yellow fever vaccine: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* 59 (RR-7), 1–27.
- Theiler, M., Smith, H. H., May 1937. The use of yellow fever virus modified by in vitro cultivation for human immunization. *J. Exp. Med.* 65 (6), 787–800.

- UNICEF, Fund, U. N. C., 2008. The state of the world's children 2009: maternal and newborn health. Vol. 9. Unicef.
- Van Parijs, L., Abbas, A. K., 1998. Homeostasis and self-tolerance in the immune system: turning lymphocytes off. *Science* 280 (5361), 243–248.
- Vannice, K., Wilder-Smith, A., Hombach, J., 2018. Fractional-dose yellow fever vaccination—advancing the evidence base. *New England Journal of Medicine* 379 (7), 603–605.
- Vasconcelos, P. F. d. C., 04 2003. Febre amarela. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 36, 275–293.
- WHO, August 2016. Situation report - yellow fever.
URL <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/249520/1/yellowfeversitrept12Aug16-eng.pdf>
- WHO, April 2017a. Weekly epidemiological record.
URL <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/255040/1/WER9216.pdf?ua=1>
- WHO, February 2017b. The yellow fever outbreak in angola and democratic republic of the congo ends.
URL <https://www.who.int/emergencies/yellow-fever/en/>
- Wilson, J. N., Nokes, D. J., Medley, G. F., Shouval, D., 2007. Mathematical model of the antibody response to hepatitis b vaccines: Implications for reduced schedules. *Vaccine* 25 (18), 3705 – 3712.
- Wu, J. T., Peak, C. M., Leung, G. M., Lipsitch, M., 2016. Fractional dosing of yellow fever vaccine to extend supply: a modelling study. *The Lancet* 388 (10062), 2904–2911.
- Xavier, M. P., Bonin, C., dos Santos, R. W., Lobosco, M., 2017. On the use of gillespie stochastic simulation algorithm in a model of the human immune system response to the yellow fever vaccine. In: 2017 IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM). IEEE, pp. 1476–1482.

Xiu, D., 2010. Numerical methods for stochastic computations: a spectral method approach. Princeton university press.

APÊNDICE A - Populações do modelo

As Figuras A.1 a A.10 apresentam as curvas de todas as populações consideradas no modelo.

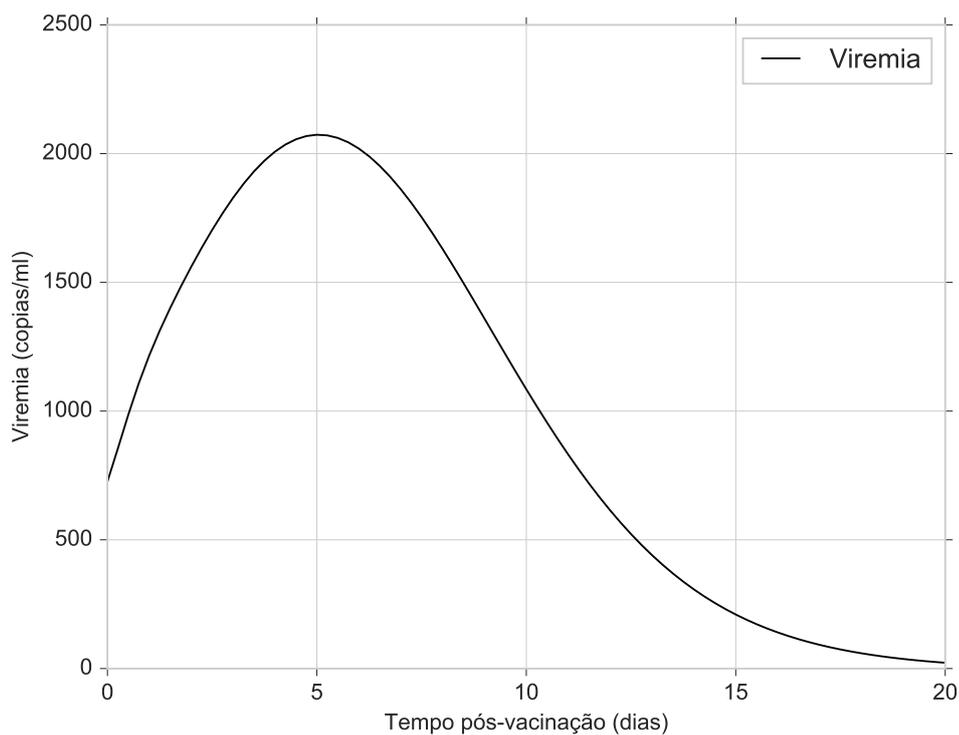


Figura A.1: Curva de viremia gerada pela simulação do modelo nos primeiros 20 dias após a vacinação.

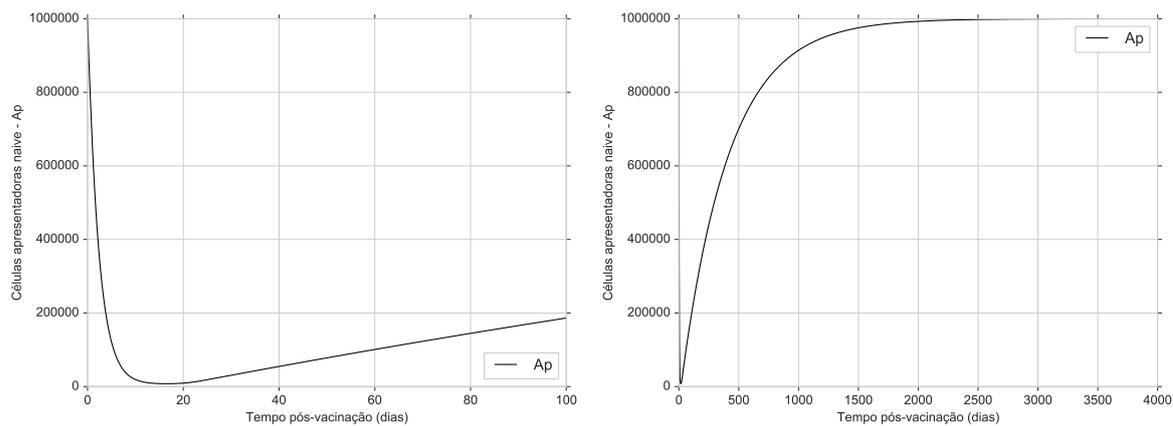


Figura A.2: Curvas de células apresentadoras de antígeno *naive* geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.

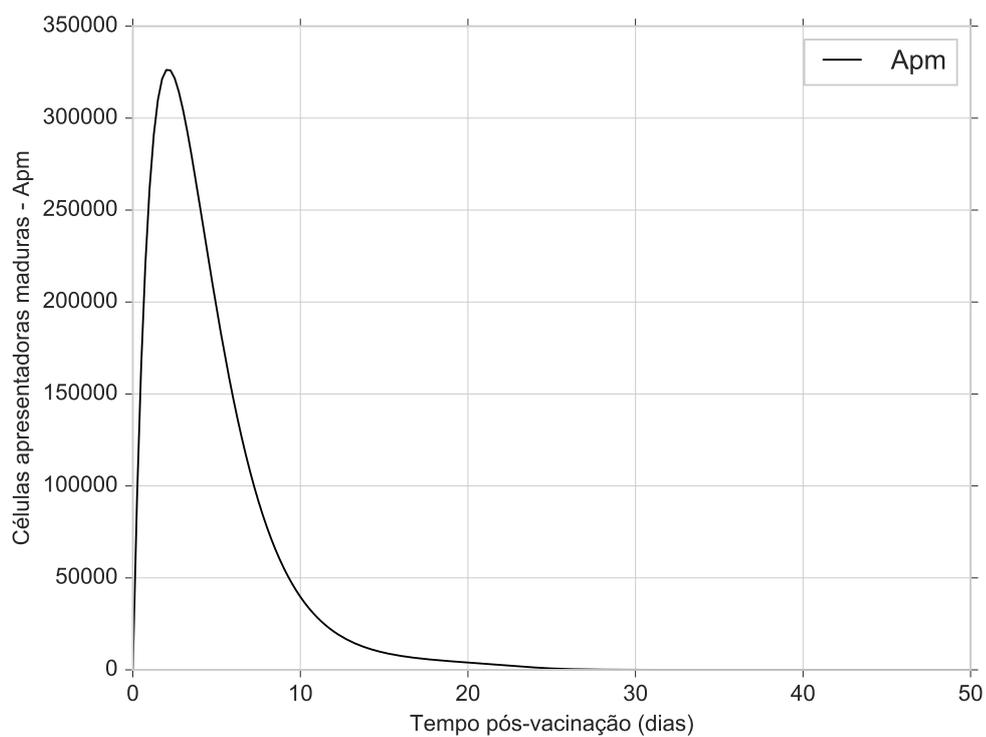


Figura A.3: Curva de células apresentadoras de antígeno maduras gerada pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.

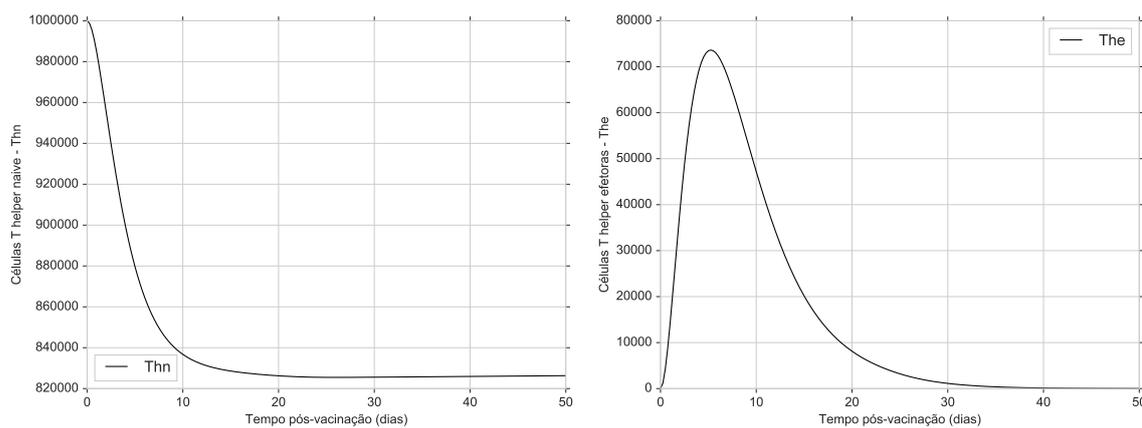


Figura A.4: Curvas de células T CD4+ *naive* e efectoras, respectivamente, geradas pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.

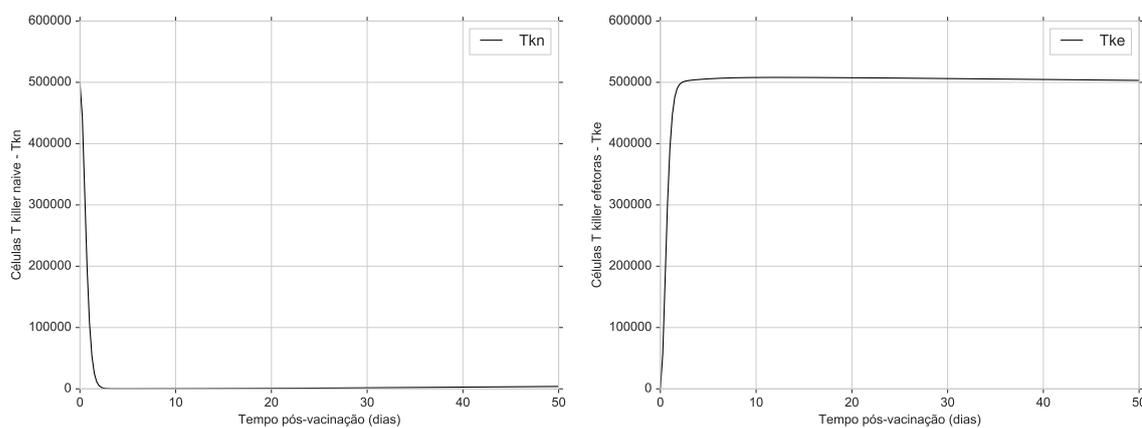


Figura A.5: Curvas de células T CD8+ *naive* e efectoras, respectivamente, geradas pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.

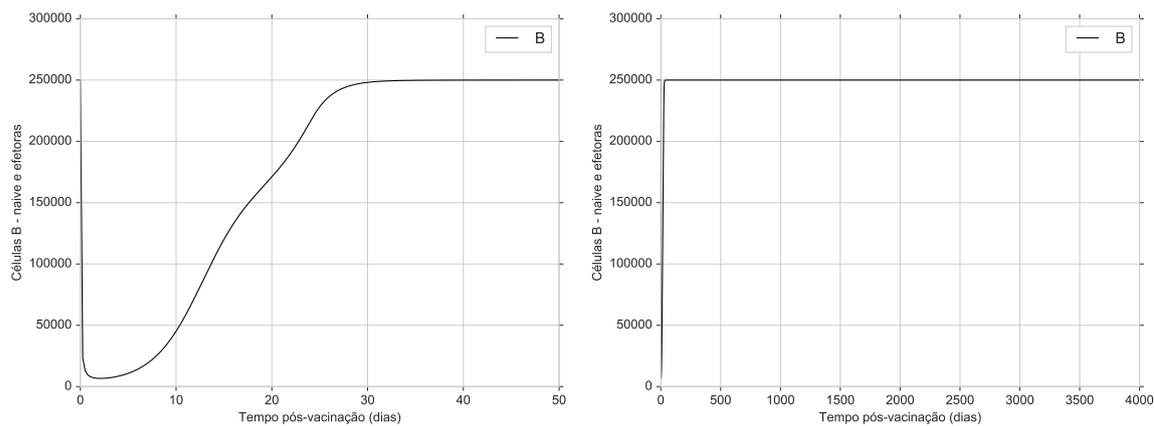


Figura A.6: Curvas de células B geradas pela simulação do modelo nos primeiros 50 e 4.000 dias após a vacinação.

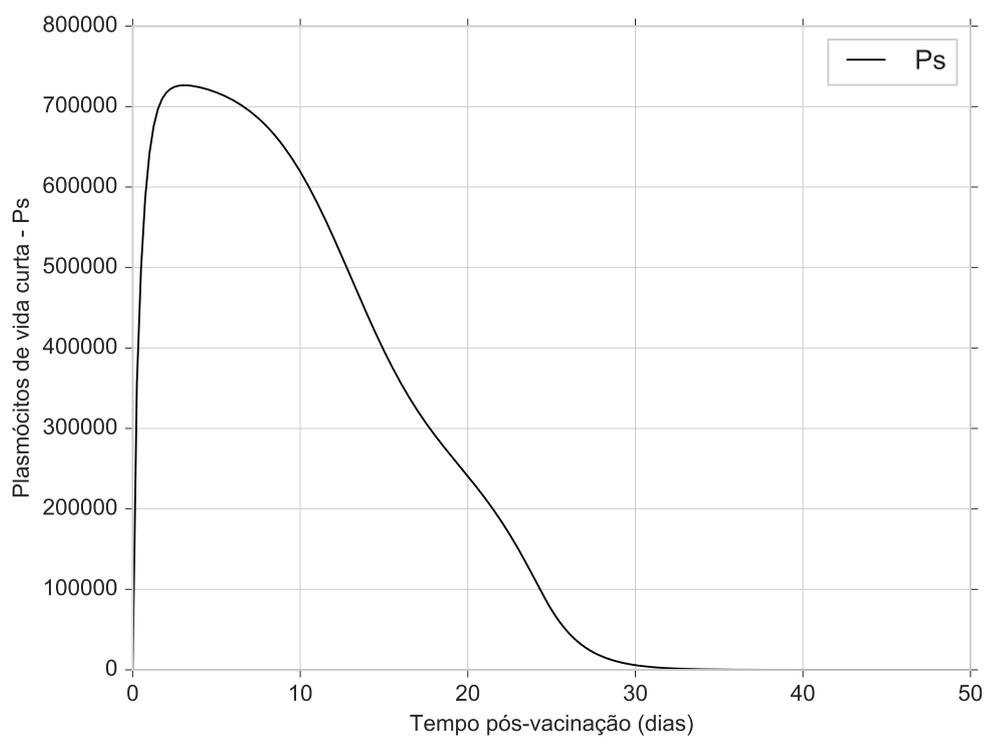


Figura A.7: Curva de plasmócitos de vida curta gerada pela simulação do modelo nos primeiros 50 dias após a vacinação.

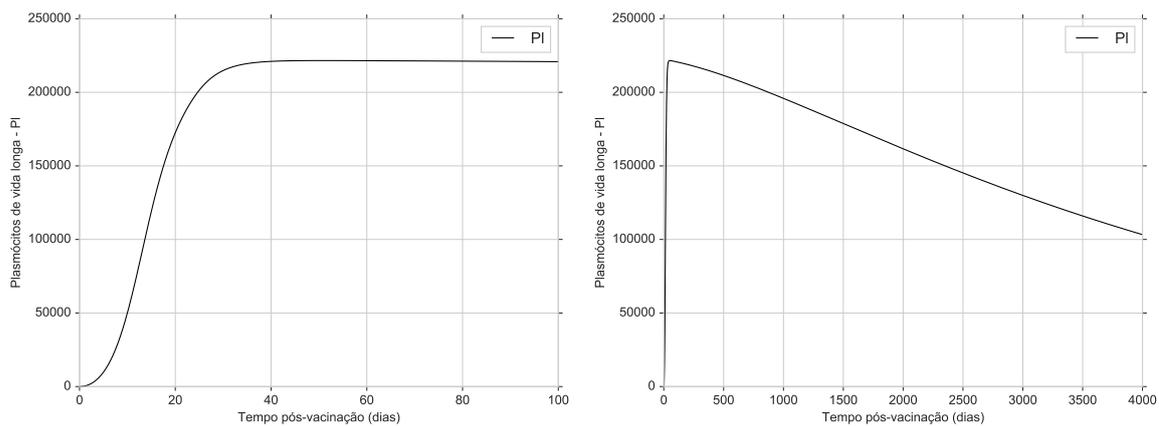


Figura A.8: Curvas de plasmócitos de vida longa geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.

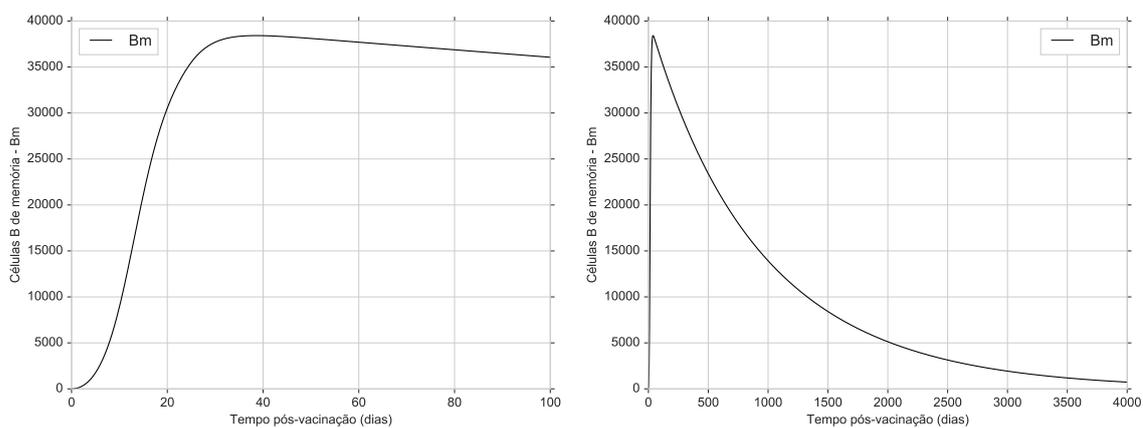


Figura A.9: Curvas de células B de memória geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.

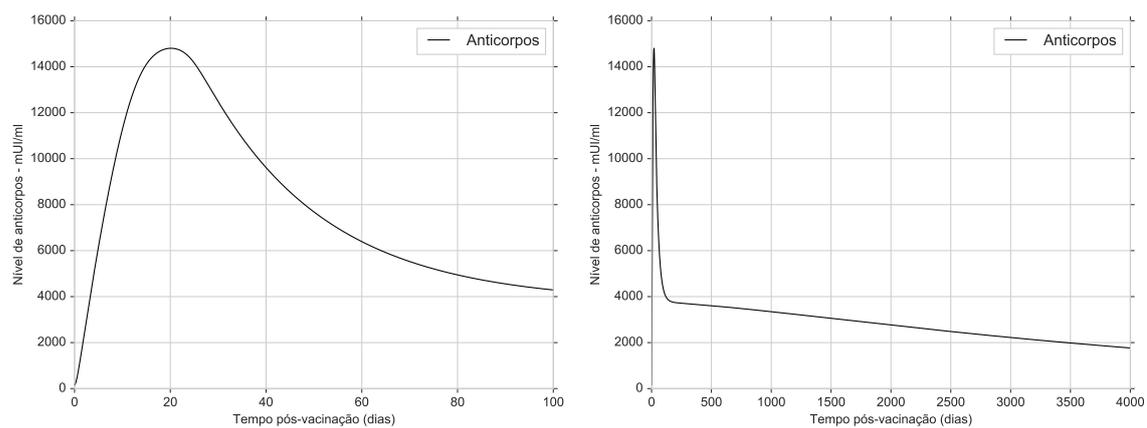


Figura A.10: Curvas de anticorpos geradas pela simulação do modelo nos primeiros 100 e 4.000 dias após a vacinação.

APÊNDICE B - Análise de Sensibilidade

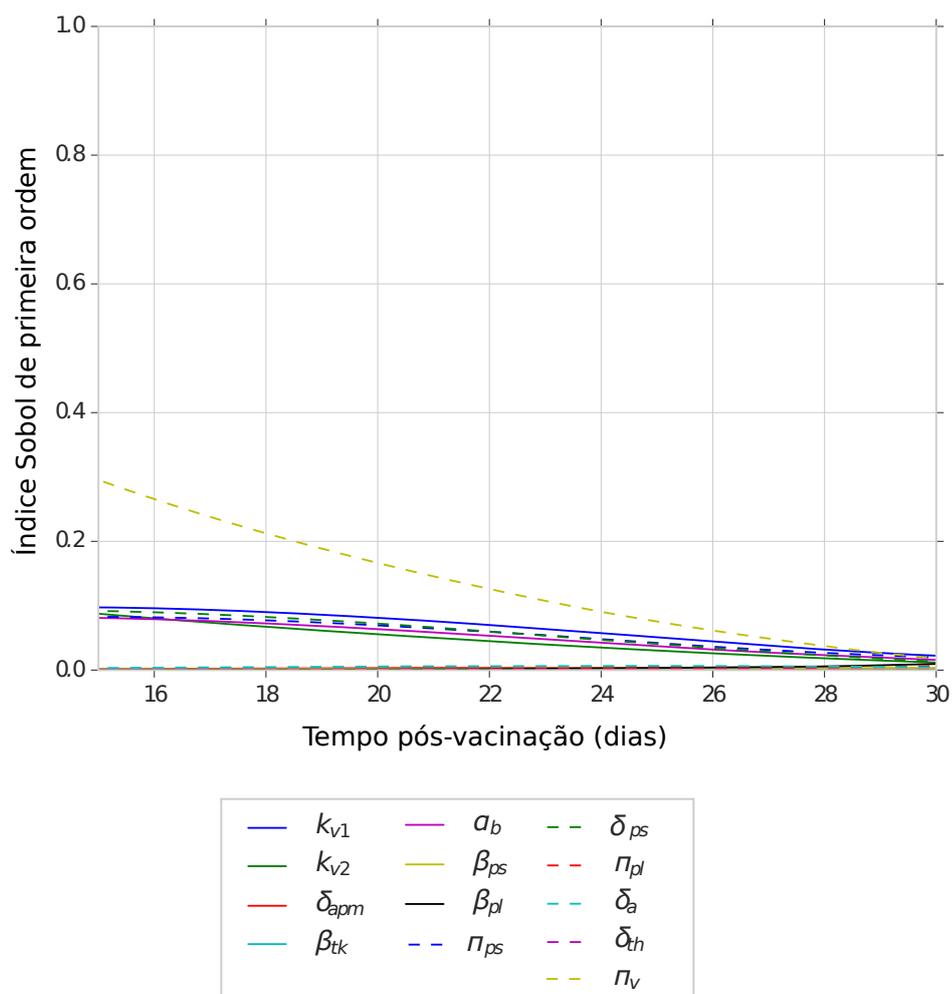


Figura B.1: Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia no intervalo de 15 a 30 dias pós-vacinação.

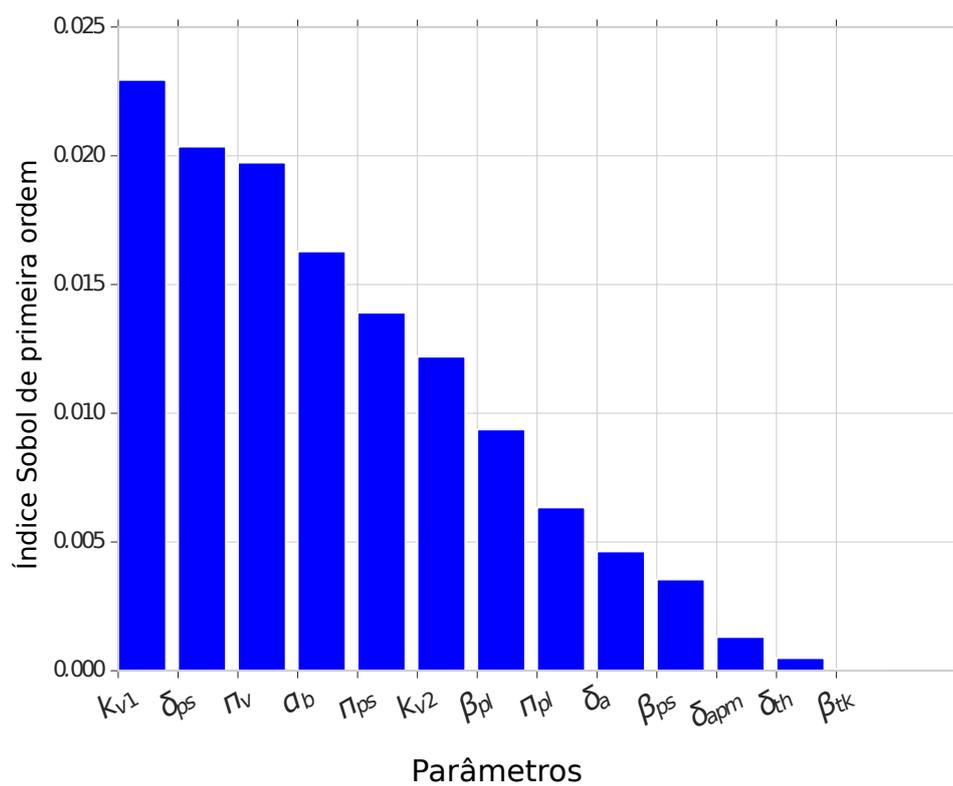


Figura B.2: Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de viremia no intervalo de 15 a 30 dias. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.

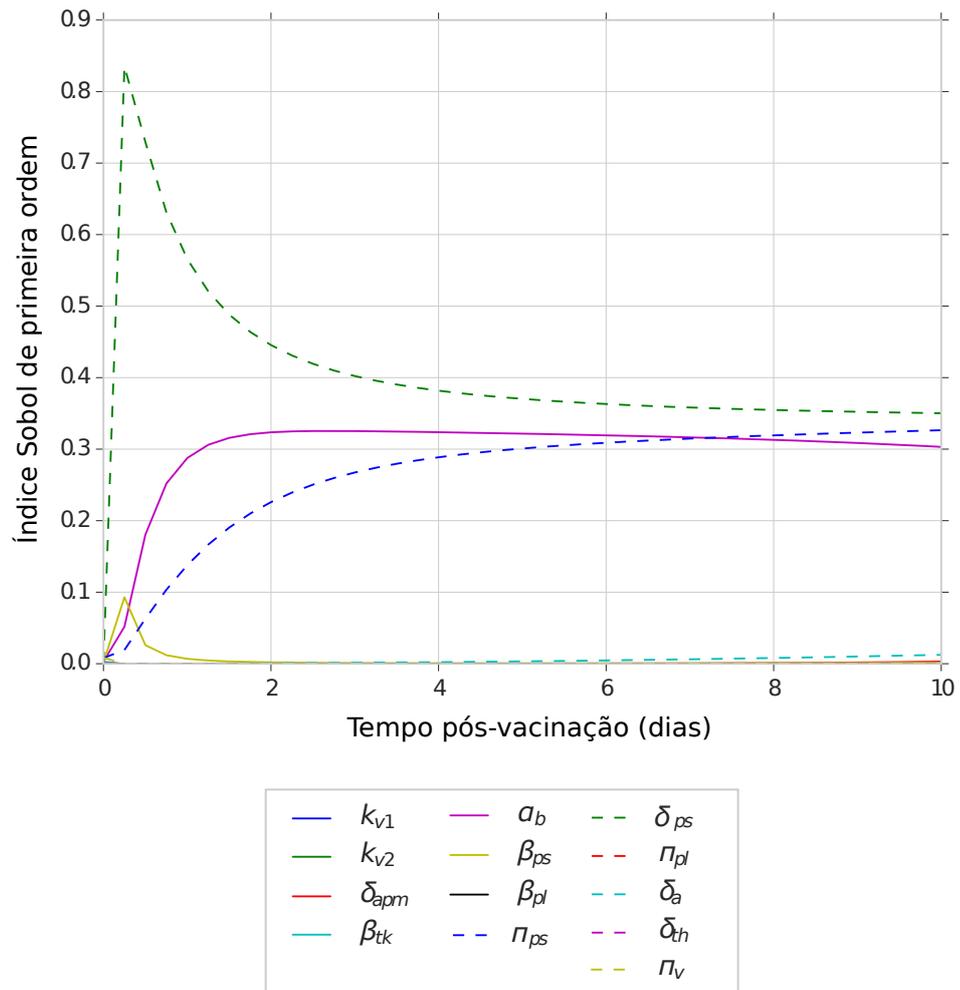


Figura B.3: Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 0 a 10 dias pós-vacinação.

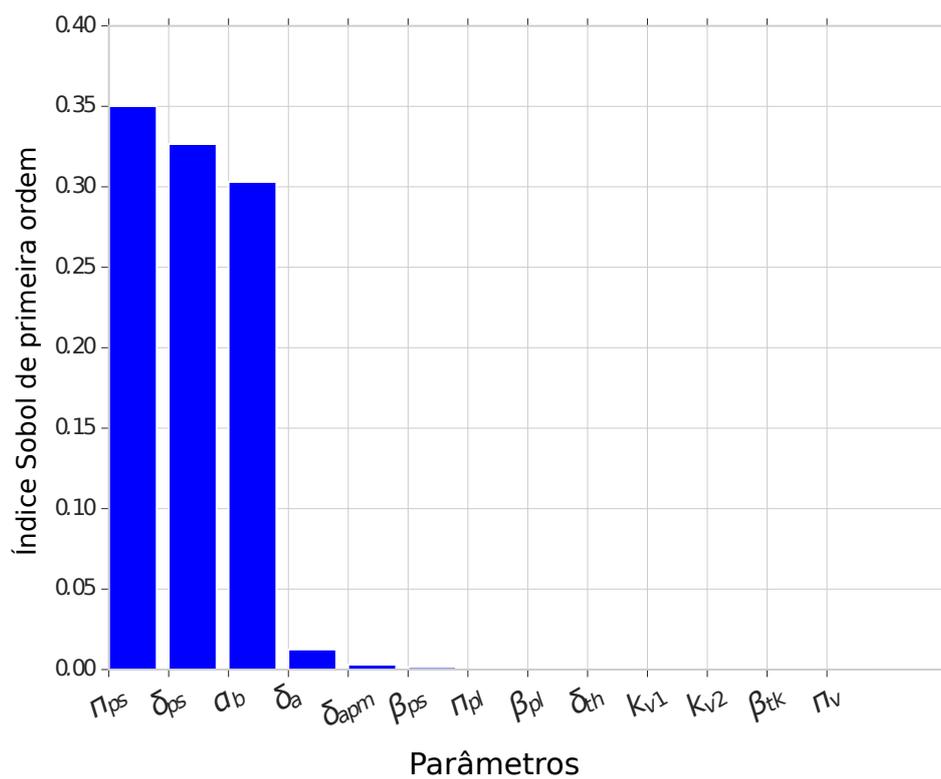


Figura B.4: Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 0 a 10 dias. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.

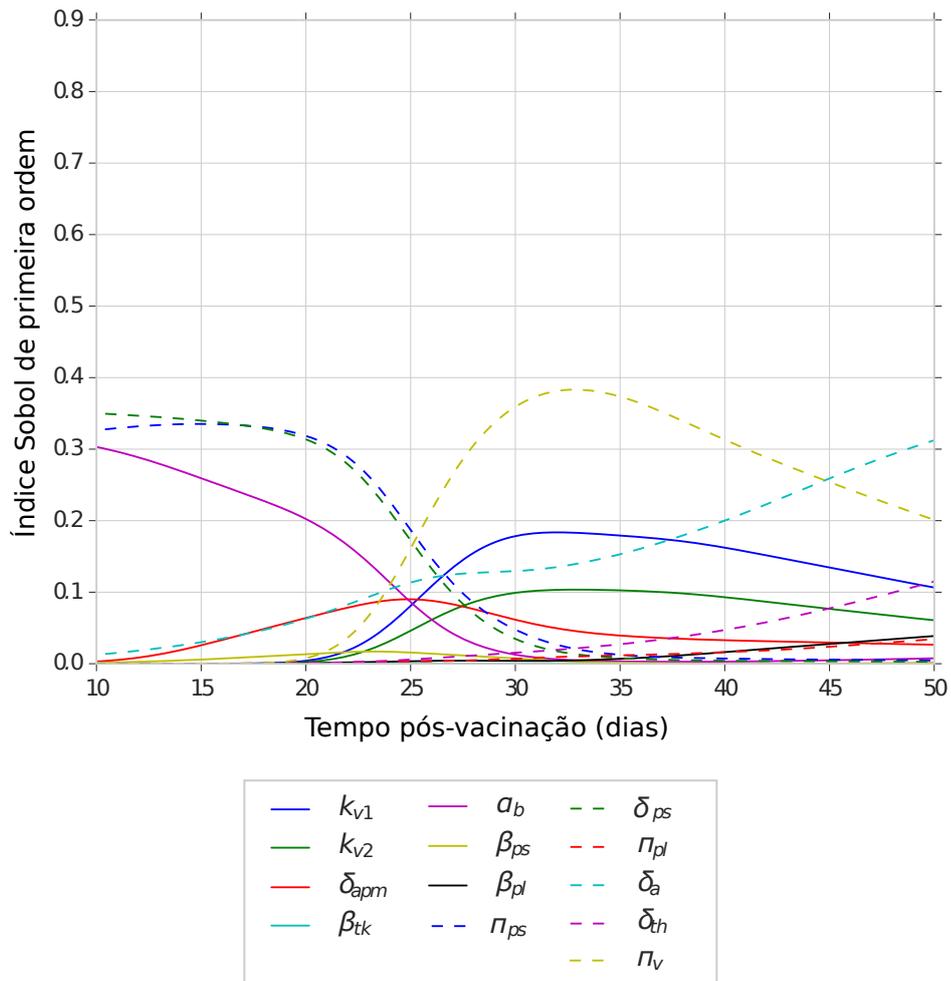


Figura B.5: Curvas dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 10 a 50 dias pós-vacinação.

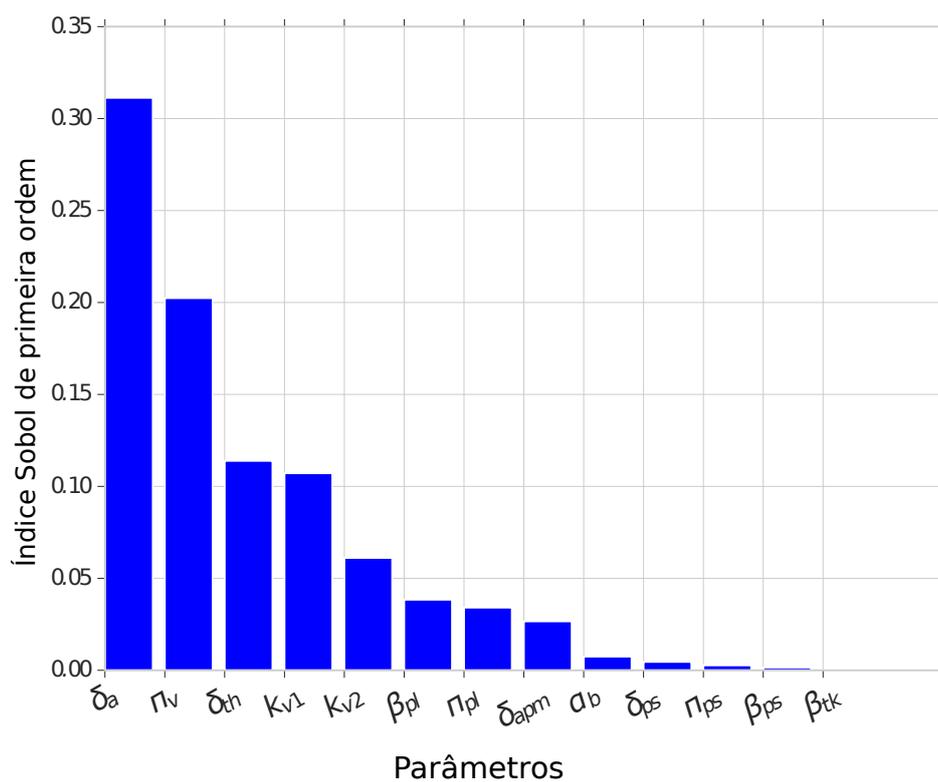


Figura B.6: Somatório dos índices Sobol de primeira ordem para a curva de anticorpos no intervalo de 10 a 50 dias. Os índices estão ordenados de forma decrescente para facilitar a análise de sensibilidade.