

Universidade Federal de Juiz de Fora
Instituto de Ciências Exatas / Faculdade de Engenharia
Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional

Alexandre Bittencourt Pigozzo

Modelagem computacional da formação de abscessos

Juiz de Fora

2015

Alexandre Bittencourt Pigozzo

Modelagem computacional da formação de abscessos

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional da Universidade Federal de Juiz de Fora, na área de concentração Modelagem Computacional, como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Modelagem Computacional.

Orientador: Dr. Marcelo Lobosco

Coorientadores: Dr. Rodrigo Weber dos Santos

Ph.D. Dominique Missiakas

Juiz de Fora

2015

AGRADECIMENTOS

Eu gostaria de agradecer a Deus por tudo na minha vida, por ter muita saúde, por ter uma família maravilhosa que me ama muito. Eu gostaria de agradecer aos meus pais por tudo o que fizeram para eu chegar aonde eu cheguei. O suporte e o apoio deles foi fundamental, principalmente nos momentos mais difíceis nos quais pensei em desistir, nos quais achei que não era capaz, eles me ajudaram a acreditar em mim. Gostaria de agradecer o apoio do meu irmão que é meu grande amigo e companheiro. Também quero agradecer a minha namorada Larissa por ser uma pessoa maravilhosa que eu amo muito, por ter trazido mais tranquilidade e calma para minha vida, foram muitos momentos felizes que já passamos. Enfim, gostaria de agradecer a toda a minha família pelo apoio. Meus especiais agradecimentos vão para meu orientador, o professor Marcelo Lobosco, que me orienta desde a graduação e acompanhou toda a minha trajetória acadêmica desde o final da graduação, passando pelo mestrado e agora o doutorado. Meu muitíssimo obrigado, Marcelo Lobosco, por tudo o que você me ensinou, por ter enxergado em mim um aluno com potencial e capacidade, que só precisava de incentivo e motivação para chegar longe, muito obrigado pela imensa ajuda nessa conquista. Meus especiais agradecimentos também vão para meu coorientador Rodrigo Weber, por todas as coisas que me ensinou, por ter me ajudado a melhorar cada vez mais meu trabalho e por ter me ajudado a entender assuntos complexos, que nunca imaginei que conseguiria. Também sou muito grato a Dominique Missiakas, professora da Universidade de Chicago, por ter aceito o convite de colaborar com esta pesquisa e coorientar este trabalho. O resultado final deste trabalho também é devido a todo o aprendizado adquirido com a Dominique e com todos os outros pesquisadores do laboratório coordenado por ela, que me receberam muito bem e me ajudaram muito. Gostaria de agradecer a Universidade Federal de Juiz de Fora por todos esses anos que me acolheu muito bem e por todo o suporte e apoio fornecidos. Gostaria de agradecer também a todos os professores e funcionários do Programa de Pós-graduação em Modelagem Computacional por tudo o que fizeram por mim. Gostaria de agradecer a todos os meus amigos por toda a ajuda, conselho, apoio, a tudo que vocês já fizeram por mim e aos momentos felizes que me proporcionaram. Por último, eu gostaria de agradecer a FAPEMIG pelo apoio financeiro durante esses 4 anos.

RESUMO

Em algumas infecções bacterianas, o sistema imunológico não é capaz de eliminar completamente o patógeno invasor. Nesses casos, o patógeno invasor é bem-sucedido em estabelecer um ambiente favorável para a sobrevivência e persistência no organismo hospedeiro. Os patógenos empregam diversas estratégias para sobreviver no hospedeiro. Dentre elas, destacam-se: o vírus da imunodeficiência humana infecta células T CD4+ que são muito importantes na resposta imune adaptativa, provocando dessa forma uma supressão dessa resposta; a bactéria *Mycobacterium tuberculosis* persiste no hospedeiro infectando intracelularmente macrófagos; a bactéria *Staphylococcus aureus* persiste no hospedeiro através da produção de uma rede de fibrina que atua como uma barreira protetora contra o sistema imune inato. No caso do *Staphylococcus aureus* e de outras espécies de bactéria, a formação da rede de fibrina junto com outros mecanismos, como a secreção de toxinas, dão origem a uma lesão conhecida como abscesso. Um abscesso é caracterizado como uma área composta de bactérias, células do sistema imune (principalmente neutrófilos) e muitos tipos de células mortas. A formação do abscesso pode ser vista como resultado de uma série de estratégias utilizadas pelas bactérias para escapar da resposta imune e estabelecer um ambiente favorável para persistir no hospedeiro. Este trabalho tem como objetivo reproduzir algumas características do processo de formação de abscessos através de simulações computacionais. As simulações computacionais têm como base modelos matemáticos de equações diferenciais parciais. Os modelos matemáticos apresentados neste trabalho foram desenvolvidos adotando-se uma abordagem incremental. Nessa abordagem inicia-se o processo de modelagem desenvolvendo-se um modelo simplificado que é capaz de reproduzir algum comportamento do fenômeno de interesse e, depois, esse modelo é estendido acrescentando-se outras variáveis e processos de interesse. As hipóteses, as variáveis, as relações entre as variáveis e os processos presentes nos modelos matemáticos deste trabalho foram construídos com base em um estudo aprofundado que foi realizado sobre a fisiopatologia do abscesso, envolvendo um contato com especialistas da área experimental (microbiologistas, imunologistas e médicos), uma leitura extensiva da literatura, além de análises de dados experimentais. Os modelos desenvolvidos foram capazes de reproduzir algumas características observadas experimentalmente como, por exemplo, a formação de uma colônia de bactérias na região central do abscesso, cercada por uma rede de fibrina. Ao redor da rede de fibrina, foi observado um acúmulo de neutrófilos mortos e neutrófilos vivos assim como nos dados experimentais. Os modelos também foram capazes de reproduzir algumas características observadas no experimento *in vivo* de depleção da resposta imune como, por exemplo, um aumento no número de abscessos, com alguns abscessos contendo elevadas concentrações de bactéria e fibrina.

ABSTRACT

In some bacterial infections, the immune system is not capable of completely eliminating the invading pathogen. In these cases, the invading pathogen is successful in establishing a favorable environment to survive and persist in the host organism. The pathogens employ different strategies to survive in the host. Among these strategies, we can highlight: human immunodeficiency virus infects T CD4+ cells that are very important in the adaptive immune response, causing a suppression of this response; bacteria *Mycobacterium tuberculosis* persist in the host organism through the intracellular infection of macrophages; bacteria *Staphylococcus aureus* persist in the host through the production of a fibrin network that acts as a protecting barrier against the innate immune response. In the case of *Staphylococcus aureus* and other bacteria species, the formation of a fibrin network together with other mechanisms as, for instance, the secretion of toxins give rise to a lesion known as abscess. An abscess is characterized as an area comprising bacteria, cells of the immune system (mainly neutrophils) and many types of dead cells. The abscess formation can be seen as the result of a series of strategies employed by bacteria to escape the immune response and to establish a favorable environment to persist in the host. This work has the objective of reproducing some characteristics of the process of abscess formation through computational simulations. The computational simulations are based in mathematical models of partial differential equations. The mathematical models presented in this work were developed through an incremental approach. In this approach the modeling process is initiated with the development of a simplified model that is capable of reproducing some behavior of the phenomena of interest and then this model can be extended through the addition of other variables and processes. The hypotheses, the variables, the relation between variables and the processes considered in the mathematical models of this work were constructed based on a study that was conducted about fisiopathology of the abscess, involving contact with experts of the experimental area (microbiologists, imunologists and medical doctors), reading of the literature and analysis of experimental data. The models developed in this work were capable of reproducing some characteristics observed experimentally as, for example, the formation of a bacteria colony in the central region of the abscess, surrounded by a fibrin network. Surrounding the fibrin network, it was observed an accumulation of dead neutrophils and healthy neutrophils as in the experimental data. These models were also capable of reproducing some characteristics observed in the *in vivo* experiment of immune response depletion as, for example, an increase in the number of abscesses, with some abscesses containing high concentrations of bacteria and fibrin.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Abscesso renal	13
Figura 2 – Formação da fibrina induzida pelos fatores <i>Coa</i> e <i>vWbp</i>	23
Figura 3 – Histologia de um tecido renal infectado com <i>S. aureus</i> . A região roxa mais escura é a colônia de estafilococos e a região rosa ao redor da colônia é a rede de fibrina.	24
Figura 4 – Colônia de estafilococos. (Setas pretas, estafilococos). (Setas brancas, fibrina).	25
Figura 5 – Formação de abscesso após infecção intravenosa de <i>S. aureus</i> em camundongos. A) UFC/ml de <i>S. aureus</i> no sangue. B) UFC/ml de <i>S. aureus</i> no rim. As barras pretas indicam as médias das observações. C) Diâmetro médio das lesões dos abscessos. D-K) Histologias dos rins infectados em intervalos regulares. As setas indicam lesões.	26
Figura 6 – Histopatologia das colônias de estafilococos. Tecidos hepáticos no 2º dia (A-C) e no 5º dia (D-F) após a infecção.	27
Figura 7 – Formação de abscessos após administração de 8C5.	29
Figura 8 – Histologia de um tecido renal infectado com <i>S. aureus</i> . Painel A: rim de camundongo do tipo selvagem. Painel B: rim de camundongo tratado com 8C5.	30
Figura 9 – Histologia de um tecido renal de camundongo do tipo selvagem tratado com 8C5.	31
Figura 10 – Histologia de um tecido renal de camundongo do tipo selvagem.	31
Figura 11 – Plano Traço-Determinante.	46
Figura 12 – Um Plano de Fases do sistema para $s = 0$. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 1\}$ é sela e $\{0, 0\}$ é estável do tipo sumidouro. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As <i>nullclines</i> de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as <i>nullclines</i> de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 0$, $a_1 = 1$, $a_2 = 0.8$, $r = 5$, $m = 2$	57
Figura 13 – Um Plano de Fases do sistema para $s > 0$. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.625, 1\}$ é estável do tipo sumidouro, $\{0.4, 3.7\}$ e $\{0.79, 0\}$ são pontos de sela. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As <i>nullclines</i> de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as <i>nullclines</i> de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 3$, $a_1 = 1$, $a_2 = 0.8$, $r = 5$, $m = 2$	59

Figura 14 – Plano de Fases do sistema para $s > 0$. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.666, 0.7\}$ é estável do tipo sumidouro, $\{0.625, 1\}$ e $\{0.79, 0\}$ são pontos de sela. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As <i>nullclines</i> de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as <i>nullclines</i> de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 3, a_1 = 1, a_2 = 0.8, r = 3, m = 2$	60
Figura 15 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.	61
Figura 16 – Distribuição espacial da concentração de nutrientes.	62
Figura 17 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.1429, 0.4286\}$ é sela, $\{0.4116, 0\}$ e $\{0, 1\}$ são sumidouros. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As <i>nullclines</i> de $\frac{df}{dt}$ são apresentadas em rosa e as <i>nullclines</i> de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $k = 5, a_1 = 2, a_2 = 1, r = 2.5, c_1 = 1, c_2 = 4$	68
Figura 18 – Distribuição espacial da concentração de bactéria. Valores dos parâmetros: $k = 5, D_f = 0.5, X_f = 5, a_1 = 1, a_2 = 2, r = 2.5, D_b = 0.05, c_1 = 1, c_2 = 4$	69
Figura 19 – Distribuição espacial da concentração de fibrina. Valores dos parâmetros: $k = 5, D_f = 0.5, X_f = 5, a_1 = 1, a_2 = 2, r = 2.5, D_b = 0.05, c_1 = 1, c_2 = 4$	69
Figura 20 – Distribuição espacial da concentração de bactéria. Valores dos parâmetros: $k = 5, D_f = 0.5, a_1 = 1, a_2 = 2, r = 1, D_b = 0.05, c_1 = 1, c_2 = 4$	71
Figura 21 – Distribuição espacial da concentração de fibrina. Valores dos parâmetros: $k = 5, D_f = 0.5, a_1 = 1, a_2 = 2, r = 1, D_b = 0.05, c_1 = 1, c_2 = 4$	71
Figura 22 – Distribuição espacial da concentração de bactéria. Valores dos parâmetros: $k = 5, D_f = 0.5, X_f = 5, a_1 = 1, a_2 = 2, r = 2.5, D_b = 0.05, c_1 = 1, c_2 = 4$	73
Figura 23 – Distribuição espacial da concentração de fibrina. Valores dos parâmetros: $k = 5, D_f = 0.5, X_f = 5, a_1 = 1, a_2 = 2, r = 2.5, D_b = 0.05, c_1 = 1, c_2 = 4$	73
Figura 24 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 0\}$ e $\{0.4, 0.4\}$ são selas. $\{0, 1\}, \{0.78, 0\}, \{0.82, 0\}$ e $\{0.83, 0\}$ são estáveis do tipo sumidouro. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As <i>nullclines</i> de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as <i>nullclines</i> de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 10, r = 2.5, l = 0.05, c_1 = 1, c_2 = 1.5, d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$	76

- Figura 25 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 0\}$ é instável do tipo fonte e $\{0.25, 0.5\}$ é sela. $\{0, 1\}$ é estável do tipo sumidouro e $\{0.5, 0.333\}$ também é estável do tipo espiral sumidouro. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 10, r = 2.5, l = 5, c_1 = 1, c_2 = 2, d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$ 78
- Figura 26 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 0\}$ é fonte. $\{0.1250, 0.5833\}$ é sela. $\{0, 1\}$ e os pontos marcados na reta $b = 0$ são sumidouros. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 10, r = 2.5, l = 20, c_1 = 1, c_2 = 1, d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$. 79
- Figura 27 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.4, 0.4\}$ é instável do tipo espiral fonte. $\{0, 0\}$ e $\{0.2, 0.53\}$ são do tipo sela. $\{0, 1\}, \{0.39, 0\}, \{0.44, 0\}$ e $\{0.51, 0\}$ são sumidouros. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 1, r = 2.5, l = 5, c_1 = 1, c_2 = 1, d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$ 80
- Figura 28 – Distribuição espacial da concentração de bactérias. Valores dos parâmetros: $r = 2.5, l = 0.05, s = 10, c_1 = 1, c_2 = 1.5, d_1 = 1.5, d_2 = 1, D_b = 0.05, D_n = 3$ e $X_n = 3$ 81
- Figura 29 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos. Valores dos parâmetros: $r = 2.5, l = 0.05, s = 10, c_1 = 1, c_2 = 1.5, d_1 = 1.5, d_2 = 1, D_b = 0.05, D_n = 3$ e $X_n = 3$ 82
- Figura 30 – Distribuição espacial da concentração de bactérias. Valores dos parâmetros: $s = 10, r = 2.5, l = 40, c_1 = 1, c_2 = 1, d_1 = 1.5, d_2 = 1, D_b = 0.05, D_n = 3$ e $X_n = 3$ 82
- Figura 31 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos. Valores dos parâmetros: $s = 10, r = 2.5, l = 40, c_1 = 1, c_2 = 1, d_1 = 1.5, d_2 = 1, D_b = 0.05, D_n = 3$ e $X_n = 3$ 83
- Figura 32 – Distribuição espacial da concentração de bactérias. Valores dos parâmetros: $s = 1, r = 2.5, l = 5, c_1 = 1, c_2 = 1, d_1 = 1.5, d_2 = 1, D_b = 0.05, D_n = 3$ e $X_n = 3$ 83
- Figura 33 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos. Valores dos parâmetros: $s = 1, r = 2.5, l = 5, c_1 = 1, c_2 = 1, d_1 = 1.5, d_2 = 1, D_b = 0.05, D_n = 3$ e $X_n = 3$ 84
- Figura 34 – Distribuição espacial da concentração de bactérias. 87

Figura 35 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.	87
Figura 36 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos.	88
Figura 37 – Distribuição espacial da concentração de bactéria, fibrina e neutrófilo no 10º dia após o início da infecção.	89
Figura 38 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.	92
Figura 39 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.	92
Figura 40 – Distribuição espacial da concentração de toxinas.	93
Figura 41 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos mortos.	93
Figura 42 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos vivos.	94
Figura 43 – Distribuição espacial da concentração de bactéria, fibrina e neutrófilo no 10º dia após o início da infecção.	94
Figura 44 – Relações entre os componentes do modelo matemático estendido.	96
Figura 45 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.	104
Figura 46 – Curvas de nível - concentração de bactérias	105
Figura 47 – Distribuição espacial da concentração de toxina.	106
Figura 48 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.	107
Figura 49 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos.	108
Figura 50 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos mortos.	109
Figura 51 – Distribuição espacial da concentração de macrófagos <i>resting</i>	110
Figura 52 – Distribuição espacial da concentração de macrófagos ativados.	111
Figura 53 – Distribuição espacial da concentração de tecido morto.	112
Figura 54 – Distribuição espacial da concentração de citocinas pró-inflamatórias.	113
Figura 55 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.	115
Figura 56 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos.	115
Figura 57 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.	116
Figura 58 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.	116
Figura 59 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.	117
Figura 60 – Evolução temporal da distribuição espacial da concentração de bactérias. A: resposta imune normal. B: depleção da resposta imune.	119
Figura 61 – Evolução temporal da distribuição espacial da concentração de fibrina. A: resposta imune normal. B: depleção da resposta imune.	120

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

EDOs	Equações Diferenciais Ordinárias
EDPs	Equações Diferenciais Parciais
UFC	Unidades Formadoras de Colônia
1D	Domínio unidimensional
2D	Domínio bidimensional
H&E	Coloração com hematoxilina e eosina
LPS	Lipopolissacarídeo
PMNs	Leucócitos Polimorfonucleares

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	JUSTIFICATIVA	13
1.2	MÉTODO DE PESQUISA	14
1.3	OBJETIVO	15
1.4	CONTRIBUIÇÕES	15
1.5	ORGANIZAÇÃO DO TEXTO	16
2	SISTEMA IMUNE INATO E INFECÇÕES BACTERIANAS	17
2.1	SISTEMA IMUNE INATO	17
2.2	RESPOSTA IMUNE INATA E A FORMAÇÃO DE ABSCESSOS . . .	19
2.3	FISIOPATOLOGIA DO ABSCESSO	21
2.3.1	Formação do abscesso	21
2.4	MÉTODOS EXPERIMENTAIS	24
2.5	CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DOS ABSCESSOS . . .	25
2.6	DEPLEÇÃO DA RESPOSTA IMUNE	28
3	TRABALHOS RELACIONADOS	32
3.1	MODELOS BASEADOS EM AGENTES	32
3.2	MODELOS BASEADOS EM EDOs	33
3.3	MODELOS BASEADOS EM EDPs	36
3.4	MODELOS HÍBRIDOS	38
3.5	MODELOS DE CRESCIMENTO DE COLÔNIAS DE BACTÉRIAS . .	39
3.6	MODELOS DA DINÂMICA PATÓGENO-HOSPEDEIRO	40
4	MÉTODOS	42
4.1	EQUAÇÕES DIFERENCIAIS ORDINÁRIAS	43
4.2	ANÁLISE DE ESTABILIDADE	44
4.3	EQUAÇÕES DIFERENCIAIS PARCIAIS	48
4.4	IMPLEMENTAÇÃO COMPUTACIONAL	49
4.5	AJUSTE DE PARÂMETROS	52
5	MODELAGEM MATEMÁTICA DA FORMAÇÃO DO ABS-	
	CESSO	53
5.1	MODELOS MATEMÁTICOS SIMPLIFICADOS	53
5.1.1	Modelo bactéria-nutriente	54
5.1.1.1	Simulações em 1D	60
5.1.2	Modelo bactéria-fibrina	62

5.1.2.1	Simulações em 1D	68
5.1.3	Modelo bactéria-neutrófilo	74
5.1.3.1	Simulações em 1D	80
5.1.4	Modelo bactéria-fibrina-neutrófilo	84
5.1.5	Modelo bactéria-fibrina-neutrófilo-toxina	89
5.2	MODELO MATEMÁTICO ESTENDIDO	95
5.2.1	Equações do modelo	96
6	RESULTADOS DO MODELO	102
7	VALIDAÇÃO DO MODELO	114
8	CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS	121
8.1	LIMITAÇÕES DO TRABALHO	121
8.2	TRABALHOS FUTUROS	123
	REFERÊNCIAS	124

1 INTRODUÇÃO

Para a maioria dos seres humanos, as doenças infecciosas têm sido uma das grandes causas de doenças e mortes. Tais doenças limitam não apenas as melhorias no conforto pessoal, mas também impedem o avanço do bem-estar social geral (KONEMAN *et al.*, 2008).

Na década de 1950, os avanços da medicina moderna e da saúde pública pareciam tão impressionantes que muitos cientistas estavam propensos a predizer o desaparecimento das doenças infecciosas e a erradicação das “pestes”. Infelizmente, esses cientistas subestimaram muito a capacidade de adaptação das variadas formas de vida que compartilham o planeta com os seres humanos. Contrariando as previsões, o número de doenças infecciosas novas ou reemergentes é grande e ainda crescente (KONEMAN *et al.*, 2008).

Bactérias, fungos, parasitas e vírus são os agentes infecciosos causadores dessas doenças. A maioria desses microrganismos é de vida livre e contém toda a maquinaria necessária para a manutenção de sua espécie. Dentre eles, as bactérias são as que contêm o maior número de espécies patogênicas para os seres humanos (KONEMAN *et al.*, 2008).

O sistema imune inato é o sistema responsável pela resposta inicial do corpo a uma infecção bacteriana. Essa resposta inicial se dá, principalmente, através dos neutrófilos, que são uma das células mais importantes e numerosas da imunidade inata (JANEWAY *et al.*, 2001; SOMPAYRAC, 2008).

Em algumas infecções, os neutrófilos não conseguem eliminar completamente o patógeno invasor. Nesses casos pode ocorrer a formação de uma lesão conhecida como abscesso, principalmente na pele ou em tecido mole de órgãos.

Um abscesso é caracterizado por uma área compreendendo bactéria, células do sistema imune (principalmente neutrófilos) e muitos tipos de células mortas. Ele pode aparecer em infecções por bactérias ou vírus, em diversos órgãos, como pele, pulmões, fígado, rins e cérebro. Um abscesso renal pode ser visualizado na Figura 1.

O abscesso pode ser visto como o resultado de uma série de mecanismos usados pelos patógenos para escapar da resposta imune inata e estabelecer um ambiente favorável para a persistência no hospedeiro (CHENG *et al.*, 2009; CHENG *et al.*, 2010; GRAVES; KOBAYASHI; DELEO, 2010; MCADOW; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2012).

O processo de formação do abscesso é um processo complexo que envolve a participação de diversas células de defesa do hospedeiro, moléculas e substâncias produzidas pelo patógeno.

Através de diversos tipos de experimentos *in vivo* busca-se compreender quais fatores são necessários para a formação do abscesso. Essa busca pelos fatores determinantes da formação do abscesso é uma tarefa complexa, pois exige compreender a interação entre

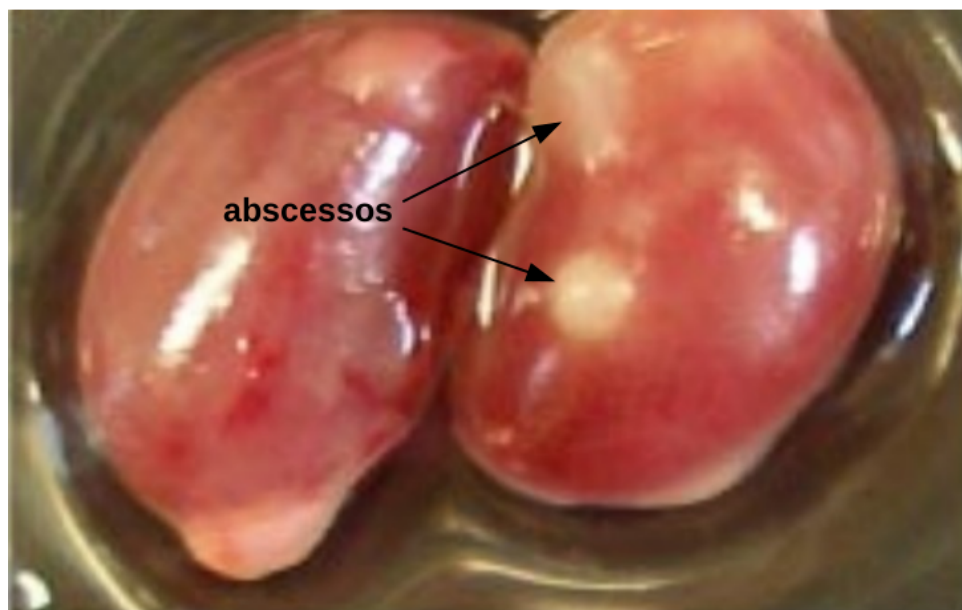


Figura 1 – Abscesso renal

Fonte: Adaptado de (CHENG *et al.*, 2009). Com permissão de Dominique Missiakas e Olaf Schneewind - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

centenas ou, até mesmo, milhares de componentes que participam do processo e de que forma essas interações fazem emergir o comportamento observado.

A modelagem matemática e computacional (BENDER, 2000; MEERSCHAERT, 2013; SHIFLET; SHIFLET, 2014) é uma ferramenta que pode auxiliar nesta busca, contribuindo para uma melhor compreensão de alguns aspectos da formação do abscesso como, por exemplo, a importância dos diferentes mecanismos usados pelo patógeno para sobreviver no hospedeiro.

Nesse contexto, o presente trabalho busca estudar abscessos através de modelos computacionais baseados em equações diferenciais parciais (EDPs).

A seguir serão apresentadas as justificativas para o desenvolvimento de modelos da formação de abscessos, o método de pesquisa e os objetivos deste trabalho.

1.1 JUSTIFICATIVA

Apesar de um contínuo avanço nos conhecimentos sobre os mecanismos moleculares e celulares da resposta imune inata a determinados patógenos e dos mecanismos usados pelos patógenos para escapar da resposta imune, alguns tipos de infecções ainda não são muito bem compreendidos, dificultando o desenvolvimento de tratamentos e de vacinas.

A dificuldade em se obter um entendimento completo sobre a sequência de passos que levam a uma doença ou a uma infecção mais grave vem do fato de que, mesmo

com os avanços nos métodos experimentais e equipamentos, ainda hoje é difícil realizar experimentos que estudem, ao mesmo tempo, várias células, moléculas, substâncias e suas muitas interações.

A biologia sistêmica (IDEKER; GALITSKI; HOOD, 2001; KITANO, 2002; KOIDE; PANG; BALIGA, 2009) é uma área que tenta lidar com essa questão, desenvolvendo ferramentas que permitem estudar várias variáveis de um processo ao mesmo tempo e tem contribuído muito com o entendimento de grandes processos complexos, altamente não-lineares e redundantes.

As modelagens matemática e computacional (BENDER, 2000; MEERSCHAERT, 2013; SHIFLET; SHIFLET, 2014) são algumas das muitas ferramentas utilizadas pela biologia sistêmica para entender o comportamento emergente de um sistema biológico a partir da interação entre os seus componentes.

Os modelos computacionais e as simulações *in silico* mostram grande potencial para complementar os experimentos *in vitro* e *in vivo* (CELADA; SEIDEN, 1992; AN; LEE, 2001; BERNASCHI; CASTIGLIONE, 2001; KALITA *et al.*, 2006; FORREST; BEAUCHEMIN, 2007). No contexto deste trabalho, um modelo computacional da formação de abscessos poderia contribuir para um melhor entendimento dos fatores que são importantes nesse processo.

Uma questão científica que emerge a partir desse cenário é a seguinte: é possível reproduzir a formação de abscessos com modelos matemáticos-computacionais?

Este trabalho assume que é possível reproduzir algumas características da formação de abscessos com modelos matemáticos-computacionais que capturam a dinâmica espaço-temporal de alguns componentes da resposta imune inata a uma infecção bacteriana.

Será mostrado que os modelos conseguem capturar alguns comportamentos observados no processo de formação de abscessos através da validação dos modelos matemáticos desenvolvidos neste trabalho. Além disso, será mostrado que os modelos possuem componentes e propriedades importantes que permitem que eles reproduzam a formação de abscessos espacialmente. Esses componentes e propriedades importantes serão apresentados ao longo de todo o trabalho.

1.2 MÉTODO DE PESQUISA

O desenvolvimento de um modelo matemático que englobasse um grande número de células/moléculas que participam da formação do abscesso seria muito complexo e demandaria muito tempo, e não necessariamente contribuiria para um maior entendimento desse processo de formação.

Na área de modelagem, uma abordagem comumente adotada para modelar processos

complexos é começar com o desenvolvimento de um modelo simplificado que é capaz de reproduzir algum comportamento relevante do fenômeno de interesse. Depois esse modelo pode ser estendido até a obtenção de um modelo mais completo com as variáveis e processos de interesse. Essa abordagem é adotada neste trabalho.

O modelo inicial pode ser estendido, por exemplo, para reproduzir outros comportamentos de interesse. Essa extensão do modelo deve acomodar apenas as variáveis e processos que se julgam necessários para que o modelo reproduza os novos comportamentos desejados.

O desenvolvimento do modelo inicial e das extensões posteriores exigem a difícil escolha de quais aspectos são mais relevantes para reproduzir o comportamento de interesse.

Neste trabalho, a escolha desses aspectos baseou-se em um estudo aprofundado que foi realizado sobre a fisiopatologia do abscesso, envolvendo o contato com especialistas da área, uma leitura extensiva da literatura, junto com análises e interpretações de dados experimentais.

1.3 OBJETIVO

O objetivo geral do presente trabalho é mostrar que é possível reproduzir a formação de abscessos *in silico* com modelos matemáticos-computacionais. Esse objetivo será alcançado através da validação qualitativa dos modelos matemáticos desenvolvidos neste trabalho. A validação é realizada comparando-se qualitativamente os resultados dos modelos com dados experimentais. Compara-se, por exemplo, os resultados espaciais do modelo 2D com imagens de histologia de tecido renal de camundongo infectado com a bactéria *S. aureus*. Além disso, compara-se características e comportamentos obtidos com descrições disponíveis na literatura sobre o processo de formação de abscessos.

1.4 CONTRIBUIÇÕES

As seguintes contribuições são esperadas com este trabalho:

- mostrar que alguns aspectos do processo de formação de abscessos podem ser reproduzidos *in silico* por modelos que capturam a dinâmica espaço-temporal de algumas células do sistema imune inato durante uma infecção bacteriana;
- o desenvolvimento de um modelo matemático simplificado da interação entre bactéria e fibrina no processo de formação da rede de fibrina ao redor da colônia de bactérias;
- o desenvolvimento de um modelo matemático simplificado da formação de um abscesso composto por 4 regiões distintas: 1- colônia de bactérias; 2- rede de fibrina; 3- neutrófilos mortos e 4- neutrófilos vivos.

1.5 ORGANIZAÇÃO DO TEXTO

O texto está organizado de forma a primeiramente formalizar os conceitos fundamentais relacionados aos fenômenos biológicos tratados (Capítulo 2). Em seguida, no Capítulo 3 é apresentada uma revisão da literatura abordando os modelos que foram desenvolvidos até o presente momento e apresentando a correlação com o trabalho atual. O Capítulo 4 apresenta uma breve descrição dos métodos que foram utilizados no desenvolvimento deste trabalho. Depois, o Capítulo 5 apresenta os modelos matemáticos desenvolvidos e estudados neste trabalho, assim como as análises dos comportamentos desses modelos e dos resultados obtidos. No Capítulo 6 são apresentados os resultados da simulação computacional com o modelo estendido desenvolvido neste trabalho e no Capítulo 7 é apresentada uma validação qualitativa desse modelo estendido. As considerações finais, destacando as contribuições do trabalho e os objetivos que foram atingidos, assim como as limitações do trabalho e expectativas de trabalhos futuros estão descritos no Capítulo 8.

2 SISTEMA IMUNE INATO E INFECÇÕES BACTERIANAS

Este capítulo contém os conceitos biológicos necessários para a compreensão dos modelos apresentados neste trabalho. Existe uma vasta bibliografia detalhando cada processo biológico e não faz parte dos objetivos deste capítulo detalhar cada processo. No entanto, espera-se contextualizar os modelos desenvolvidos oferecendo uma base para melhor compreensão da proposta do trabalho.

2.1 SISTEMA IMUNE INATO

O texto desta seção foi escrito com base em referências clássicas da área de imunologia (JANEWAY *et al.*, 2001; KINDT; OSBORNE; GOLDSBY, 2006; SOMPAYRAC, 2008).

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

A imunidade inata representa a primeira linha de defesa contra as infecções. Seus mecanismos já se encontram presentes no organismo antes mesmo do encontro com agentes patogênicos. A resposta imune inata é uma resposta inicial que visa impedir a infecção do hospedeiro.

Os sistemas de defesa da imunidade inata são efetivos contra muitos patógenos. Eles contam com um repertório limitado e invariável de receptores que reconhecem os patógenos. Os receptores de reconhecimento de patógenos das células do sistema imune inato reconhecem moléculas simples e padrões regulares de estruturas celulares conhecidas como padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs, *pathogen-associated molecular pattern*), que estão presentes em muitos microrganismos e não estão presentes nas células do corpo. Dessa forma o sistema imune inato é muito eficiente em distinguir patógenos invasores.

O sistema imune inato tem como um dos seus principais mecanismos de defesa os fagócitos, que são as células do corpo responsáveis pelo processo de fagocitose. Esse processo é utilizado por várias células para a eliminação dos patógenos. Essas células produzem expansões da membrana plasmática (pseudópodes) que envolvem os patógenos e os englobam, destruindo-os em vesículas intracelulares e eliminando-os do corpo.

Os principais fagócitos que fazem parte do sistema imune inato são os neutrófilos e

os macrófagos.

Neutrófilos também chamados de leucócitos polimorfonucleares (PMNs), são as células brancas mais abundantes do corpo com aproximadamente 20 bilhões de neutrófilos circulando por veias e artérias, possuem diâmetro entre 12 e 15 μm e em resposta a infecções, principalmente bacterianas, têm sua produção rapidamente aumentada na medula óssea. Os neutrófilos são um componente essencial do sistema imune inato, pois sem os neutrófilos um organismo iria sucumbir à infecção e morrer em questão de dias. Na maioria das vezes eles são as primeiras células a chegar em um local infectado para eliminar os patógenos. Os neutrófilos capturam uma variedade de microrganismos por fagocitose e os destroem eficientemente em vesículas intracelulares usando enzimas de degradação e outras substâncias antimicrobianas armazenadas em seus grânulos citoplasmáticos. Além disso, eles podem utilizar outros mecanismos para eliminar os patógenos como, por exemplo, a produção de substâncias tóxicas para os patógenos, mas que causam grande dano tecidual. Devido a isso, eles são programados para morrer dentro de poucos dias. Esse processo de morte programada é denominado de apoptose. Os neutrófilos também podem morrer devido à ação de toxinas produzidas pelos patógenos. Nesse caso ocorre a necrose da célula.

Apoptose é o evento de morte celular, geneticamente programada, que envolve uma série de alterações morfológicas no citoplasma e núcleo da célula, levando à inativação e fragmentação da célula apoptótica, ao final de seu ciclo celular, sem extravasar conteúdo tóxico para o meio extracelular, portanto, sem causar dano tecidual.

Necrose é sempre um processo patológico e desordenado de morte celular causado por fatores que levam à lesão celular irreversível e consequente morte celular. Alguns exemplos destes fatores são hipoxia/isquemia, agentes químicos tóxicos ou agentes biológicos que causam dano direto ou agentes tóxicos produzidos por fungos, bactérias e vírus.

Citocinas são proteínas que se ligam a outras células que possuem receptores específicos para elas, sendo uma forma de comunicação muito usada entre as células do sistema imune. Elas podem ser classificadas em pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. As pró-inflamatórias contribuem para a resposta inflamatória e as anti-inflamatórias controlam/regulam essa resposta. As citocinas pró-inflamatórias estimulam algumas células do sistema imune inato como, por exemplo, os neutrófilos, podendo provocar, entre outros efeitos, um aumento na capacidade fagocítica e um aumento na produção de mais citocinas pró-inflamatórias. Além disso, elas aumentam a permeabilidade dos vasos sanguíneos nos locais próximos a infecção, permitindo que mais células

do sistema imune migrem para o tecido infectado. E no tecido, as citocinas pró-inflamatórias possuem a capacidade de direcionar o movimento das células do sistema imune, atraindo essas células para os locais com grandes concentrações de citocinas, onde provavelmente se localiza o patógeno causador da infecção.

Macrófagos são bem menos numerosos do que os neutrófilos, possuem um diâmetro de aproximadamente $21 \mu m$, residem na maioria dos tecidos corporais e são a forma madura dos monócitos. Os monócitos circulam no sangue e migram continuamente para os tecidos, onde se diferenciam em macrófagos. Os macrófagos são células de vida relativamente longa e realizam muitas funções nas respostas imunes. Eles podem existir em três estados diferentes. No estado *resting* funcionam como “coletores de lixo”, atuam limpando o organismo, eliminando células mortas e restos celulares. Quando o macrófago no estado *resting* recebe um sinal (por exemplo, reconhece um patógeno ou a presença de uma determinada citocina) que induz sua ativação, ele passa para um estado onde é capaz de fagocitar substâncias maiores e produzir diversas citocinas importantes que iniciam o processo de inflamação (MCCORMICK; STEVENS; KANG, 2000; N; K., 2005). Há ainda um outro estado de prontidão, conhecido como hiperativado, também referido como ativado neste trabalho, que é consequência de um sinal recebido diretamente de um microrganismo invasor. Quando receptores na superfície do macrófago se ligam ao microrganismo invasor, ele para de proliferar e foca sua atenção em eliminar os antígenos. Neste estado tornam-se maiores, aumentam sua taxa de fagocitose e produzem $TNF-\alpha$ (LJ., 1988). O $TNF-\alpha$ é uma citocina produzida por vários tipos celulares, especialmente por macrófagos. O $TNF-\alpha$ inicia uma cascata de produção de citocinas e também provoca um aumento na permeabilidade vascular, sendo importante no recrutamento de macrófagos e neutrófilos para o local da infecção.

O sistema imunológico tem uma estratégia de defesa na qual os macrófagos residentes ficam de sentinela nos tecidos procurando por algum sinal de infecção. Quando encontram esse sinal, os macrófagos alertam os neutrófilos de que a ajuda deles é necessária. A cooperação entre macrófagos e neutrófilos é essencial para montar uma resposta imune efetiva.

2.2 RESPOSTA IMUNE INATA E A FORMAÇÃO DE ABSCESSOS

A resposta imune inata a uma infecção bacteriana também pode ser chamada de resposta inflamatória.

Plaquetas que estão no local da infecção iniciam a fase inflamatória dentro de poucos minutos após o início do dano tecidual. Elas se agregam para formar um coágulo estável impedindo que o dano ou a infecção se tornem ainda maiores (CLARK, 1988). As

plaquetas também liberam uma variedade de substâncias, incluindo vários tipos de fatores de crescimento que individualmente e sinergeticamente regulam vários processos de reparo (SPRUGEL *et al.*, 1987).

Nesta fase inicial da inflamação também há um processo supurativo (acúmulo de pus) quando a primeira linha de defesa do sistema imune inato, os neutrófilos, se acumulam no local infectado. O pus é um conjunto de células mortas como, por exemplo, neutrófilos mortos, bactérias mortas e células mortas do tecido. Este processo supurativo pode levar à formação de abscessos. O abscesso é uma região caracterizada por elevadas concentrações de bactérias, neutrófilos e muitos tipos de células mortas.

O processo de formação do abscesso começa quando uma célula do tecido ou um macrófago residente no tecido reconhece uma bactéria e inicia a produção de citocinas e outras moléculas de sinalização para alertar outras células, principalmente neutrófilos, de que há um organismo invasor.

Na maioria das vezes todo esse processo passa despercebido, pois os neutrófilos que chegam ao local da infecção fagocitam as bactérias, eliminando-as completamente e, como consequência, a resposta imune é terminada. Mas, em algumas situações, o patógeno invasor consegue escapar da resposta imune inata utilizando para isso diversas estratégias.

Por exemplo, a bactéria *Staphylococcus aureus* produz numerosas moléculas de superfície e secreta toxinas que têm potencial para alterar ou inibir a função de células da imunidade inata (GRAVES; KOBAYASHI; DELEO, 2010). Além disso, o *S. aureus* induz a deposição de coágulos de fibrina ao redor da colônia de estafilococos (CHENG *et al.*, 2009; CHENG *et al.*, 2010; MCADOW; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2012), formando uma rede de fibrina, também chamada cápsula anti-fagocítica, que confere aos estafilococos proteção contra os mecanismos de defesa do sistema imunológico.

Após a formação da rede de fibrina, as células do sistema imune inato, principalmente os neutrófilos, continuam a migrar para o local da infecção, mas sem serem capazes de dar uma resposta efetiva contra as bactérias, contribuindo apenas com o aumento da inflamação e causando mais dano tecidual.

Os abscessos sempre foram considerados uma resposta normal do hospedeiro. Porém, no caso do *S. aureus*, Cheng e co-autores (CHENG *et al.*, 2009) sugeriram que a formação do abscesso e a replicação dos estafilococos dentro das lesões purulentas é um processo conduzido pelo patógeno que usurpa as defesas do hospedeiro.

O *Staphylococcus aureus* foi uma das primeiras bactérias a serem controladas com a descoberta de antibióticos, mas devido à sua grande capacidade de adaptação e resistência, tornou-se uma das espécies de maior importância nos quadros de infecções comunitárias e hospitalares (SANTOS *et al.*, 2007). Pode-se dar como exemplo a sepse causada por *S. aureus*, que representa a causa mais comum de mortalidade por doenças infecciosas nos

Estados Unidos (KIM *et al.*, 2011).

Os estafilococos sobrevivem nos órgãos empregando um conjunto de mecanismos que trabalham de forma coordenada e altamente regulada, permitindo: 1) um eficiente enfraquecimento e prejuízo da resposta imune; 2) a proteção e o isolamento dos estafilococos dentro de uma rede de fibrina.

O próprio sistema imune pode produzir uma outra cápsula de fibrina que cerca toda a área da lesão do abscesso, tentando evitar desta forma que a inflamação e quaisquer bactérias presentes no abscesso se espalhem para as áreas saudáveis do órgão e para outros locais do corpo.

Nas próximas seções serão detalhadas a fisiopatologia do abscesso e o processo de formação deste, considerando, sem perda de generalidade, a bactéria *S. aureus* como patógeno causador da infecção.

2.3 FISIOPATOLOGIA DO ABSCESSO

O processo de formação do abscesso pode ser melhor compreendido através de experimentos *in vivo* realizados em camundongos. Nesses experimentos, o *S. aureus* é inoculado na região retro orbital dos camundongos e dissemina para vários órgãos do corpo através da corrente sanguínea. Após a disseminação, o rim é um dos órgãos com grandes quantidades de *S. aureus*.

A partir do conhecimento adquirido com esses experimentos, além da análise de diversos tipos de dados experimentais, pode-se descrever uma sequência de eventos que levam à formação do abscesso.

É importante destacar que o foco deste trabalho é modelar a infecção bacteriana no tecido renal, não será levado em consideração o que ocorre dentro dos capilares sanguíneos. Devido a este fato, os modelos desenvolvidos neste trabalho terão como base a sequência de eventos que ocorrem a partir de aproximadamente 12 horas após o início da infecção, quando a bactéria começa a migrar para o tecido. Essa sequência de eventos será descrita em maiores detalhes a seguir.

2.3.1 Formação do abscesso

Nos vasos sanguíneos, a bactéria *S. aureus* produz numerosas moléculas de superfície e secreta toxinas que têm potencial para alterar ou inibir a função de células da imunidade inata (GRAVES; KOBAYASHI; DELEO, 2010).

Algumas toxinas, como a α -toxina, podem afetar vários tipos celulares e provocar um grande dano nos locais infectados. As toxinas destroem principalmente as células dos neutrófilos que são a principal linha de defesa contra infecções por *S. aureus* (KIM *et al.*,

2012).

S. aureus também induz a coagulação do sangue nos vasos sanguíneos (CHENG *et al.*, 2009; CHENG *et al.*, 2010). Presumivelmente este mecanismo previne células imunes, na corrente sanguínea, de fagocitar a bactéria. Além disso, este mecanismo é responsável pela formação de aglutinações de bactérias que podem ajudar a mecanicamente destruir a barreira endotelial e portanto, permitir a bactéria ganhar acesso aos tecidos.

Apesar dessas estratégias para escapar da resposta imune, todos os estafilococos podem ser eliminados pelo sistema imune.

Em alguns casos, poucos estafilococos sobrevivem na corrente sanguínea e conseguem estabelecer lesões nos rins (CHENG *et al.*, 2009).

Com aproximadamente 12 horas após a inoculação intravenosa de *S. aureus* em camundongos, os poucos estafilococos que sobreviveram começam a deixar os vasos sanguíneos e migram para o tecido.

Nos tecidos, os estafilococos começam a se replicar formando uma colônia (em inglês, a colônia é conhecida como *S. aureus abscess community* - SAC) em um processo chamado colonização.

Durante a replicação, além dos mecanismos citados para destruir os neutrófilos e outras células do sistema imune, os estafilococos induzem a deposição de coágulos de fibrina ao redor da colônia (CHENG *et al.*, 2009; CHENG *et al.*, 2010; MCADOW; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2012), formando uma rede (pseudocápsula) de fibrina que confere proteção contra os mecanismos de defesa do sistema imunológico.

A formação desse coágulo de fibrina começa com a bactéria *S. aureus* secretando duas proteínas, a *coagulase* (Coa) e a proteína ligante do fator de von Willebrand (vWbp, *von Willebrand Factor binding protein*), que promovem modificações similares na cascata de coagulação (Figura 2).

Coa e vWbp são responsáveis pela ativação da protrombina, convertendo-a para trombina ativa (Figura 2).

A protrombina é uma proteína sintetizada no fígado, sendo um dos fatores de coagulação que participam da cascata normal de coagulação. É a precursora da trombina nessa cascata de coagulação. A trombina é uma enzima que converte fibrinogênio solúvel em filamentos insolúveis de fibrina que irão formar a rede de fibrina (KWIECINSKI, 2013).

O fibrinogênio é uma glicoproteína presente em grandes quantidades no corpo, envolvida nas etapas finais da cascata de coagulação. A fibrina é uma proteína insolúvel, que constitui parte essencial do coágulo sanguíneo.

As proteínas Coa e vWbp difundem pelo tecido a partir da colônia de estafilococos, induzindo a conversão de fibrinogênio em fibrina nas regiões ao redor dessa colônia e como

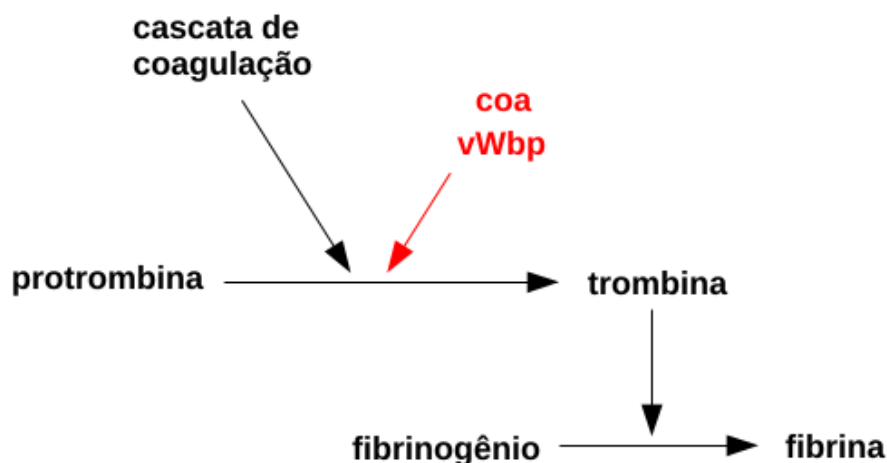


Figura 2 – Formação da fibrina induzida pelos fatores *Coa* e *vWbp*.

resultado uma rede de fibrina é formada.

A bactéria *S. aureus* traduz uma proteína da membrana celular chamada *Clumping Factor A* (ClfA) (FOSTER; Höök, 1998). O ClfA é responsável por reconhecer e se ligar à fibrina.

A ligação entre as moléculas de fibrina mediada pelo ClfA define as “bordas” da colônia de estafilococos (FOSTER, 2005; CHENG *et al.*, 2010; MCADOW; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2012). O polímero resultante desta ligação forma a estrutura da fibrina ao redor da colônia.

A ligação da bactéria *S. aureus* com o fibrinogênio e com a fibrina é um importante atributo da patogênese da doença. A interação com o fibrinogênio e a fibrina favorece a formação do abscesso e a persistência da bactéria nos tecidos hospedeiros, além de permitir ao patógeno escapar da resposta imune e causar uma bacteremia letal (FOSTER, 2005; MCADOW; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2012).

O produto dos fatores *Coa* e *vWbp*, que são estafilococos “presos” dentro de uma rede de fibrina, permite aos estafilococos se disseminarem no hospedeiro através dessas lesões e resistir à fagocitose pelas células do sistema imune (MCADOW; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2012).

Um outro mecanismo de evasão da resposta imune é a infecção intracelular persistente do *S. aureus* que pode estar relacionada com a internalização deste patógeno pelas células hospedeiras, criando assim um ambiente favorável, onde as bactérias são protegidas contra as defesas do hospedeiro e da terapia antimicrobiana (DAS; BISHAYI, 2009). Esse mecanismo não será considerado nos modelos desenvolvidos neste trabalho.

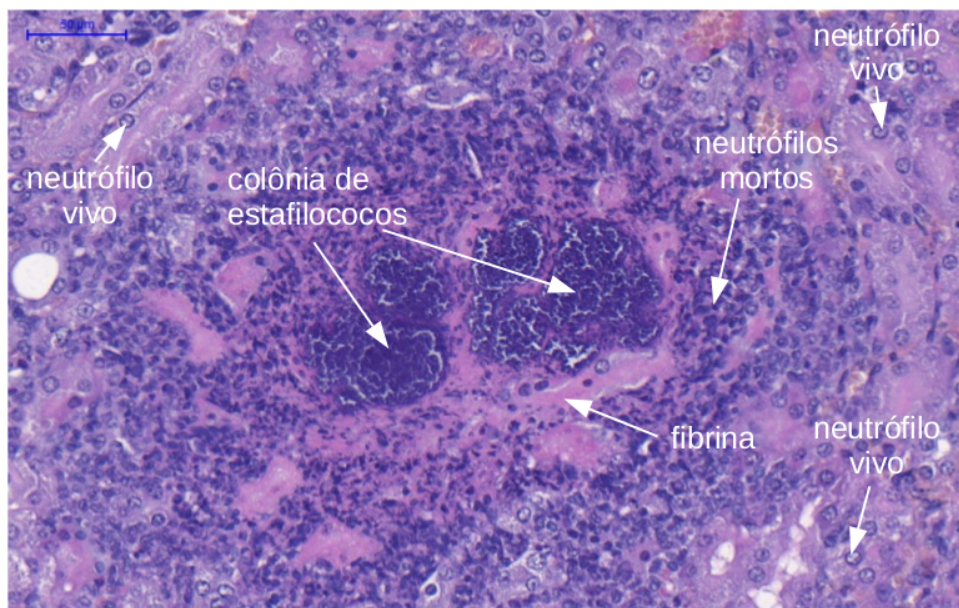


Figura 3 – Histologia de um tecido renal infectado com *S. aureus*. A região roxa mais escura é a colônia de estafilococos e a região rosa ao redor da colônia é a rede de fibrina.

Fonte: Com permissão de Hwan Keun Kim - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

2.4 MÉTODOS EXPERIMENTAIS

Abscessos podem ser visualizados nos tecidos de um rim através da coloração com hematoxilina e eosina (H&E). A coloração H&E é a combinação mais comum de corantes usada em Histologia e Histopatologia. A Histologia (do grego: *hydton* = tecido + *logos* = estudos) é a ciência que estuda os tecidos biológicos, incluindo a formação (origem), estrutura (tipos diferenciados de células) e funcionamento desses tecidos. E a Histopatologia é o estudo de como uma doença específica afeta o conjunto de células de um tecido.

Em um tecido típico, o núcleo (DNA + RNA) e a membrana são corados com uma cor roxa escura, enquanto que as proteínas presentes no citoplasma e na matriz extracelular tem graus variados de rosa (FISCHER *et al.*, 2008).

No caso de abscessos causados por *S. aureus* pode-se observar na coloração H&E, como mostrado na Figura 3, que a colônia de estafilococos é a região roxa mais escura, porque na colônia de estafilococos há uma grande quantidade de DNA, RNA e material da parede celular devido ao grande número de bactérias em uma pequena área.

Nesta mesma Figura 3, uma região rosa pode ser observada ao redor da colônia de bactérias. Essa região com um rosa mais forte é o depósito de fibrina.

Um “anel” composto de pontos roxos escuros pode ser visto se estendendo ao redor

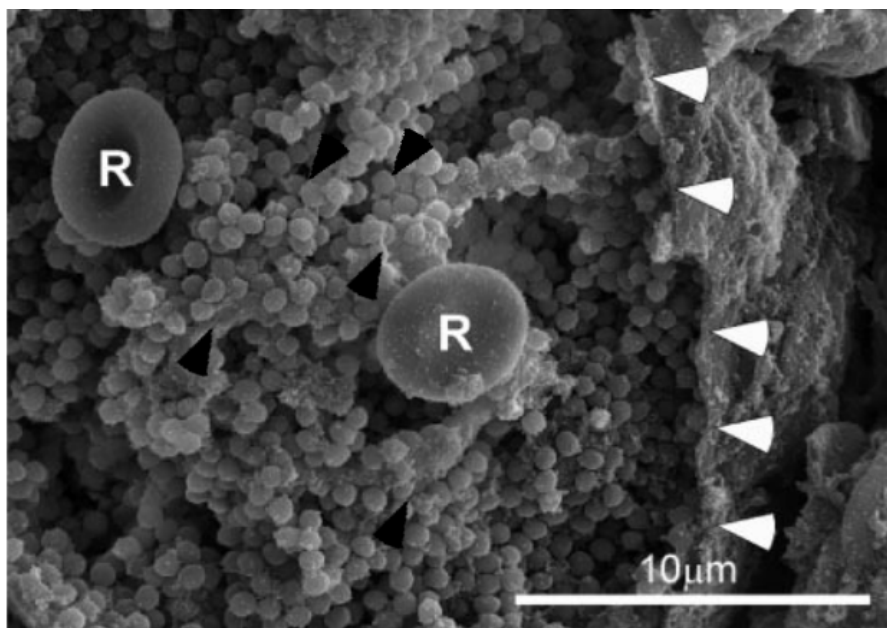


Figura 4 – Colônia de estafilococos. (Setas pretas, estafilococos). (Setas brancas, fibrina).

Fonte: Adaptado de (CHENG *et al.*, 2009). Com permissão de Dominique Missiakas e Olaf Schneewind - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

da rede de fibrina (Figura 3). Esses pontos são principalmente neutrófilos necróticos que liberam seu DNA durante a necrose. Mais afastada da colônia, uma região menos escura composta principalmente de neutrófilos vivos pode ser observada (Figura 3).

Outra técnica chamada Microscopia Eletrônica de Varredura pode ser usada para visualizar a colônia de estafilococos. O uso desta técnica é ilustrado na Figura 4 (CHENG *et al.*, 2009), onde são mostrados os estafilococos (setas pretas) organizados como uma colônia central, que está contida dentro de uma pseudocápsula de fibrina (setas brancas), separando-a dos neutrófilos ao seu redor. Células vermelhas do sangue (R) estão localizadas entre os estafilococos.

Uma outra medida da infecção é a enumeração do número de unidades formadoras de colônia (UFC) no sangue e nos rins. A enumeração de unidades formadoras de colônia (UFC) é um método utilizado em microbiologia para quantificar o crescimento de uma população microbiana. A quantificação é realizada considerando o número de células em mililitros ou em gramas de um material sólido.

2.5 CARACTERÍSTICAS HISTOPATOLÓGICAS DOS ABSCESSOS

Cheng e co-autores (CHENG *et al.*, 2009) caracterizaram a patogênese de formação do abscesso causado por *S. aureus* através da análise de características histopatológicas das lesões e das concentrações de bactérias no sangue e nos rins. A patogênese ou nosogénia é

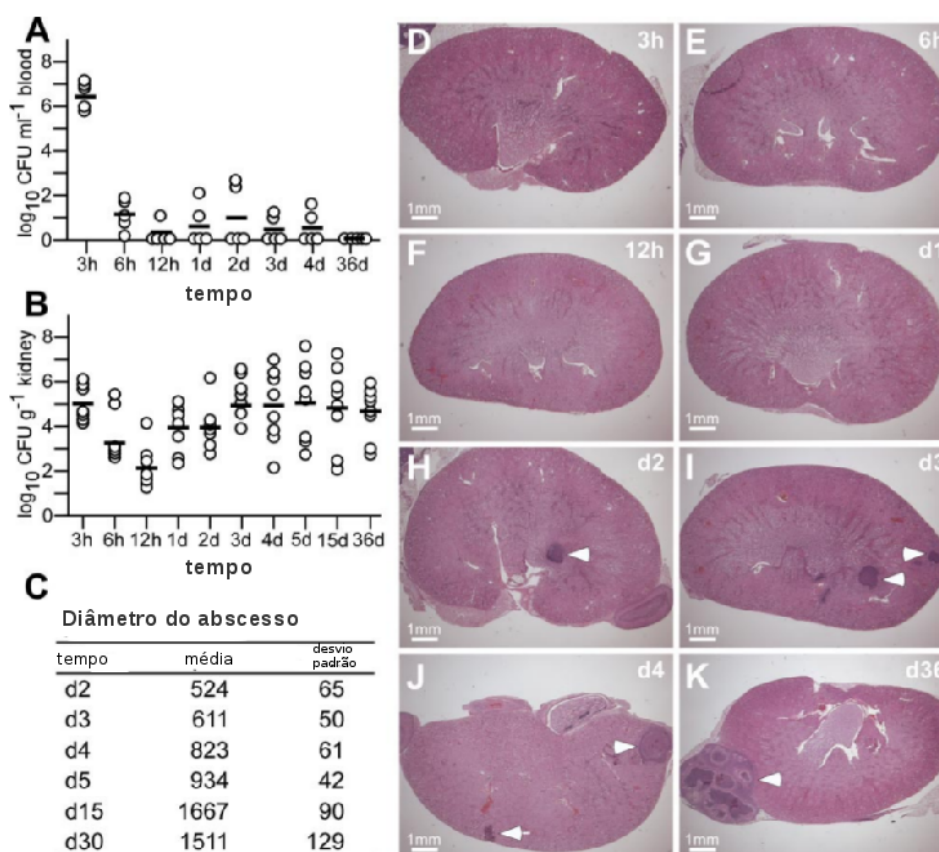


Figura 5 – Formação de abscesso após infecção intravenosa de *S. aureus* em camundongos. A) UFC/ml de *S. aureus* no sangue. B) UFC/ml de *S. aureus* no rim. As barras pretas indicam as médias das observações. C) Diâmetro médio das lesões dos abscessos. D-K) Histologias dos rins infectados em intervalos regulares. As setas indicam lesões.

Fonte: Adaptado de (CHENG *et al.*, 2009). Com permissão de Dominique Missiakas e Olaf Schneewind - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

a sequência de eventos celulares e de tecido que ocorrem a partir do momento do contato com um agente patogênico inicial até a expressão final da doença.

As descobertas de Cheng e co-autores (CHENG *et al.*, 2009) estão resumidas abaixo.

Nas pesquisas de Cheng e co-autores (CHENG *et al.*, 2009), camundongos foram infectados com uma injeção intravenosa com 1×10^7 UFC do isolado clínico humano *S. aureus Newman* via injeção retro-orbital.

Em um dos experimentos (Figura 5), um grupo de 5 camundongos foi examinado por punção cardíaca em intervalos regulares de tempo para a medida da concentração de bactéria no sangue (Painel A, Figura 5). A disseminação de *S. aureus Newman* nos órgãos periféricos e replicação do patógeno foi medida em intervalos regulares de tempo nos rins

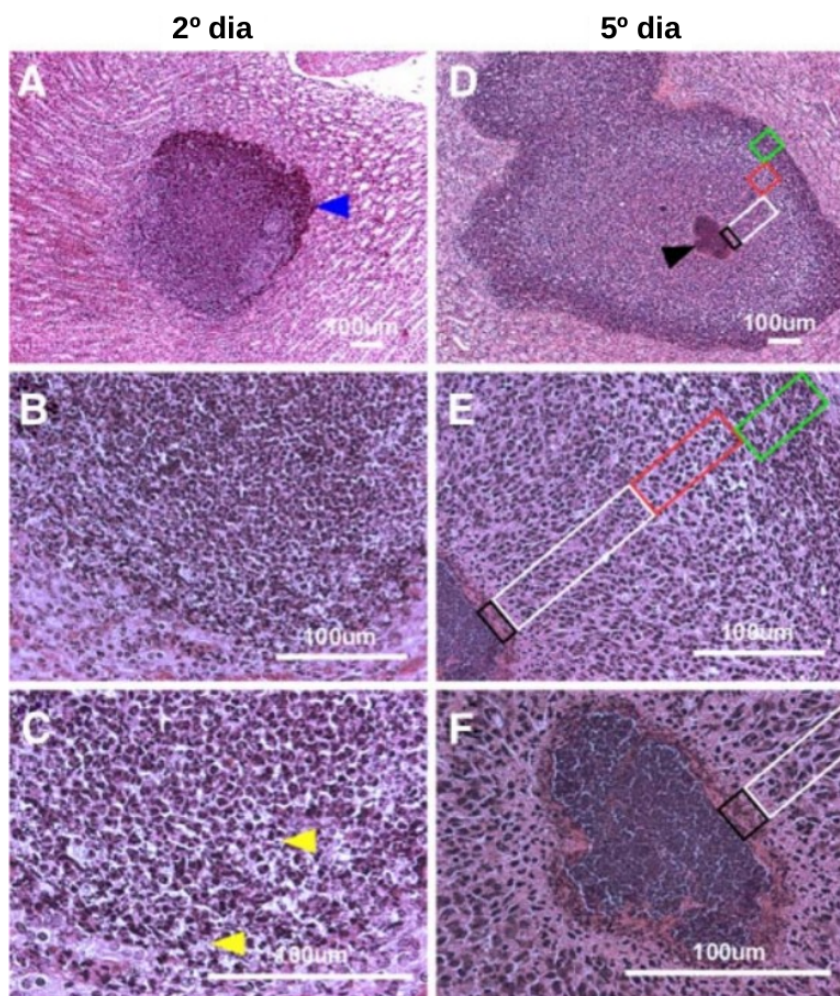


Figura 6 – Histopatologia das colônias de estafilococos. Tecidos hepáticos no 2º dia (A-C) e no 5º dia (D-F) após a infecção.

Fonte: Adaptado de (CHENG *et al.*, 2009). Com permissão de Dominique Missiakas e Olaf Schneewind - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

dos camundongos (grupos de 10 animais, Painel B, Figura 5).

O processo de formação de abscessos pode ser descrito com maiores detalhes a partir da observação das características encontradas nas imagens histológicas de experimentos *in vivo* (Figuras 5 e 6). Essas características refletem uma sequência de eventos que ocorrem durante a formação do abscesso:

- A disseminação dos estafilococos para diversos órgãos (rins, fígado) ocorreu rapidamente como mostra a concentração de bactéria no rim. A concentração alcançou o valor 1×10^5 UFC/g dentro das primeiras 3 horas como pode ser visualizado no Painel B da Figura 5;
- Seis horas após o início da infecção, a maioria dos estafilococos foram eliminados pelo sistema imune inato na corrente sanguínea. Como consequência disso, poucos

estafilococos foram capazes de migrar para os tecidos (Painéis A e B, Figura 5);

- No 2º dia, as lesões foram inicialmente marcadas por um influxo de neutrófilos (seta azul, Painel A, Figura 6) e não tinham nenhuma organização discernível de estafilococos (Painéis A-C, Figura 6, setas amarelas);
- No 5º dia, abscessos tinham crescido em tamanho e incluíam uma população central de estafilococos (seta preta, Painel D, Figura 6), rodeados por fibrina (caixa preta, Painéis D, E e F, Figura 6), por uma zona de neutrófilos mortos (caixa branca, Painéis D, E e F, Figura 6), uma zona de neutrófilos vivos (caixa vermelha, Painéis D e E, Figura 6) e outra zona de neutrófilos mortos (caixa verde, Painéis D e E, Figura 6);
- Em intervalos de tempo posteriores, a concentração de estafilococos aumentou para 10^4 – 10^6 UFC/g, e as lesões crescentes do abscesso migraram para a cápsula renal que envolve todo o órgão (Painéis J e K, Figura 5).

2.6 DEPLEÇÃO DA RESPOSTA IMUNE

Um experimento interessante que pode ser usado para validar qualitativamente o modelo que será desenvolvido neste trabalho é o experimento de depleção de células do sistema imune. A validação será realizada através da comparação dos resultados do modelo com imagens de histologia obtidas do experimento de depleção.

A depleção é a redução drástica de alguma célula, molécula ou substância ou de um processo físico, químico ou biológico. A depleção de células imunes efectoras (neutrófilos, macrófagos e linfócitos) tem sido usada de forma bem sucedida para delinear os papéis e funções dessas células nas respostas imunes (DALEY *et al.*, 2008).

No experimento a que se refere este trabalho são realizadas as depleções de neutrófilos e macrófagos, sendo a depleção neutrofílica maior. A depleção de neutrófilos e macrófagos ocorre através da administração de 2 tipos de anticorpos: os anticorpos monoclonais 1A8 e 8C5 (DALEY *et al.*, 2008). O anticorpo 1A8 é específico para neutrófilo, realizando a depleção somente desse tipo de célula (DALEY *et al.*, 2008). O anticorpo 8C5 se liga a neutrófilos, monócitos, células dendríticas e subpopulações de linfócitos (DALEY *et al.*, 2008).

O experimento foi realizado com um grupo de 10 camundongos que foram intravenosamente infectados com *S. aureus Newman* (1×10^7 CFU) e receberam 1A8 (1 mg por camundongo por injeção) ou 8C5 (0.5 mg por camundongo por injeção) no 1º, 4º e 7º dias após a infecção. Camundongos foram monitorados por 10 dias e foram eutanasiados no 10º dia.

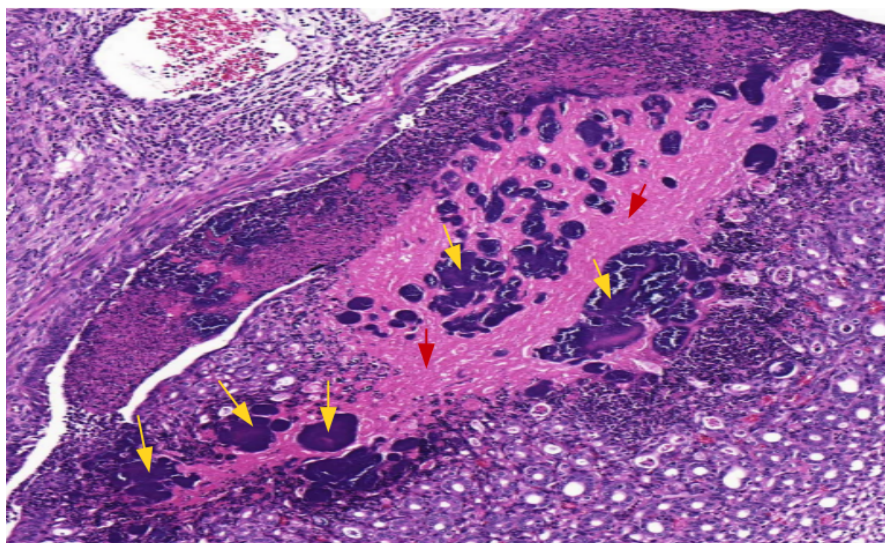


Figura 7 – Formação de abscessos após administração de 8C5.

Fonte: Com permissão de Hwan Keun Kim - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

A administração de 1A8 resultou em uma considerável redução no número de neutrófilos viáveis para 20% dos níveis normais. Nos animais tratados com 8C5, essa redução foi ainda maior chegando a 2% dos níveis normais. A redução nos macrófagos foi bem menos expressiva chegando a aproximadamente 50% dos níveis normais na administração de 8C5.

Nas imagens histológicas dos tecidos renais de ambos os tratamentos (1A8 e 8C5), foram observadas grandes lesões. Os abscessos continham altas concentrações de *S. aureus* (setas amarelas na Figura 7), um considerável dano tecidual (áreas brancas) também pode ser observado em algumas regiões (Figura 7), além de um grande depósito de fibrina (setas vermelhas) e algumas células do sistema imune espalhadas.

Os efeitos da depleção de neutrófilos e macrófagos também podem ser observados quando se compara o rim de um camundongo que não recebeu o anticorpo 8C5 (*wild-type*, Painel A na Figura 8) com o de um camundongo tratado com 8C5 (Painel B na Figura 8). Observa-se a formação de vários abscessos no camundongo tratado com 8C5 (círculos brancos, Painel B na Figura 8), enquanto naquele que não recebeu o tratamento o número é bem menor, chegando a 1 em alguns casos (círculo branco, Painel A na Figura 8).

Outros importantes efeitos da depleção da resposta imune como, por exemplo, um aumento no tamanho de algumas colônias de estafilococos e um aumento no acúmulo de fibrina ao redor dessas colônias podem ser visualizados em imagens histológicas com uma magnificação maior (Figuras 9 e 10).

Pode-se observar na histologia do camundongo tratado com 8C5 (Figura 9), um

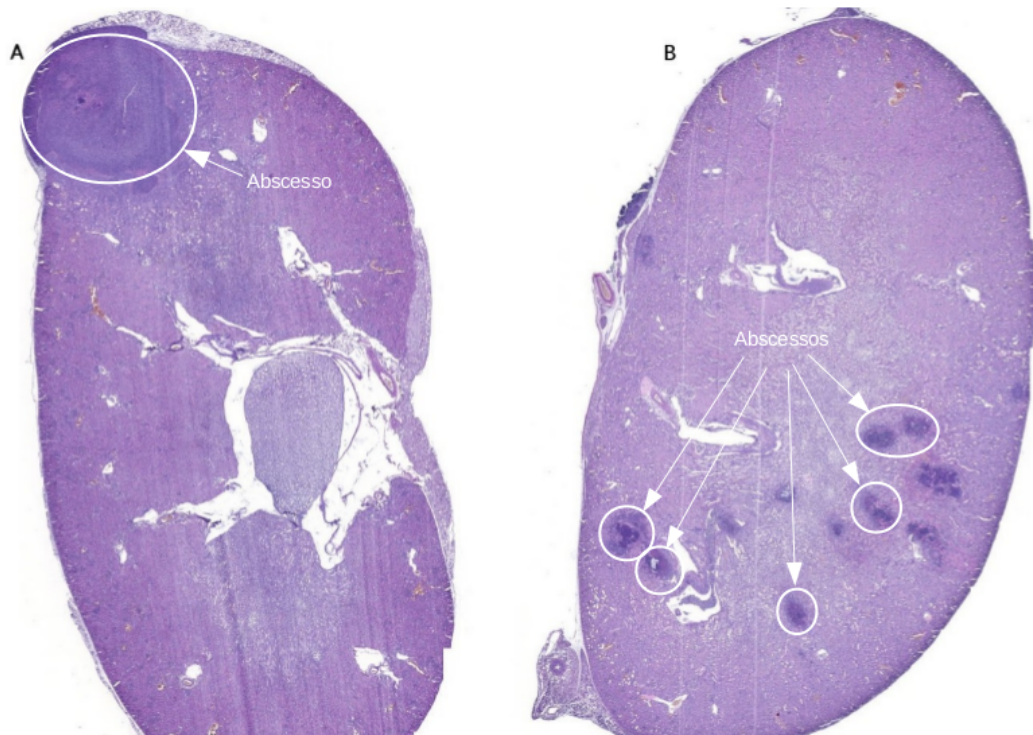


Figura 8 – Histologia de um tecido renal infectado com *S. aureus*. Painel A: rim de camundongo do tipo selvagem. Painel B: rim de camundongo tratado com 8C5.

Fonte: Com permissão de Hwan Keun Kim - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

grande número de colônias com algumas ocupando uma área maior e contendo concentrações maiores de bactérias em relação ao camundongo que não recebeu esse anticorpo (Figura 10). Além disso, observa-se a fibrina cobrindo áreas maiores do tecido no caso do camundongo que recebeu 8C5 (Figura 9) em relação ao camundongo não tratado (Figura 10).

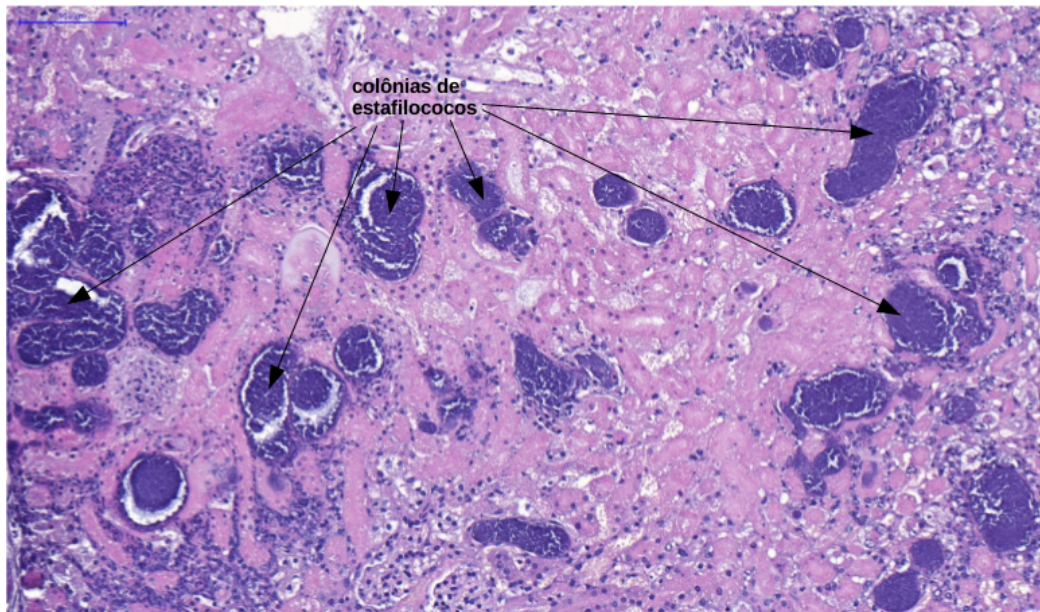


Figura 9 – Histologia de um tecido renal de camundongo do tipo selvagem tratado com 8C5.

Fonte: Com permissão de Hwan Keun Kim - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

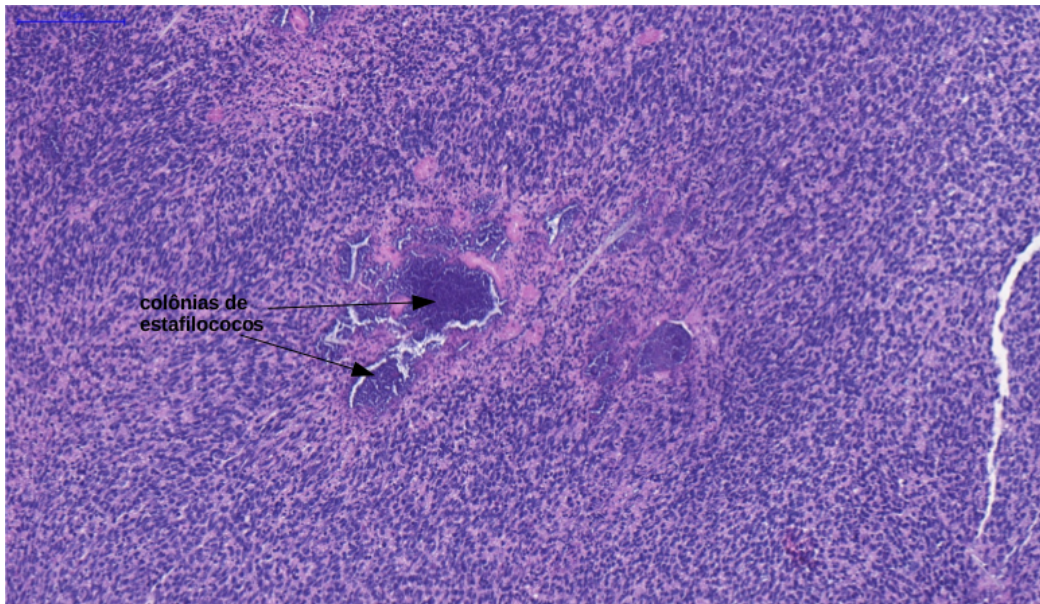


Figura 10 – Histologia de um tecido renal de camundongo do tipo selvagem.

Fonte: Com permissão de Hwan Keun Kim - Departamento de Microbiologia - Universidade de Chicago.

3 TRABALHOS RELACIONADOS

O conjunto de trabalhos relacionados é composto por trabalhos que desenvolveram modelos baseados em agentes ou modelos matemáticos da resposta imune com o objetivo de estudar os seguintes temas: resposta inflamatória como consequência de um trauma, infecção bacteriana ou exposição ao lipopolissacarídeo (LPS); crescimento de colônias de bactérias; dinâmica da interação entre o patógeno e o hospedeiro. O LPS é um constituinte da parede celular de bactérias Gram-negativas, sendo uma molécula altamente conservada e altamente imunogênico, isto é, tem uma grande capacidade de causar imunidade.

Esses trabalhos possuem algumas características em comum com o presente trabalho, como, por exemplo, a modelagem de bactérias, neutrófilos, macrófagos e células do tecido. Além disso, esses trabalhos modelam diversos processos como fagocitose, necrose, difusão de células/moléculas, quimiotaxia, que também são modelados no presente trabalho. Apesar dessas características em comum, até o presente momento, não foi identificado em nenhum outro trabalho um modelo matemático-computacional que modela o processo de formação de um abscesso.

3.1 MODELOS BASEADOS EM AGENTES

Modelos baseados em agentes (AN, 2001; AN, 2004) foram propostos para modelar a dinâmica de algumas células, como neutrófilos e células mononucleares (por exemplo, macrófagos), e moléculas, como TNF- α e IL-1, durante uma resposta inflamatória na interface endotélio/vaso sanguíneo no nível de um capilar.

Nesta tese considerou-se apenas o processo infeccioso que ocorre no tecido renal, não sendo levado em consideração o que ocorre nos vasos sanguíneos durante a infecção.

Os trabalhos de An (AN, 2001; AN, 2004) objetivam reproduzir a evolução temporal da resposta inflamatória inicial associada a Síndrome da resposta inflamatória sistêmica (SRIS)/Síndrome de disfunção múltipla de órgãos (SDMO). Essa resposta inflamatória inicial é consequência de um grande trauma ou grande exposição ao LPS, também conhecido como endotoxina.

O modelo desse trabalho foi validado com dados experimentais do receptor solúvel da citocina pró-inflamatória TNF- α (FISHER *et al.*, 1996), onde esse receptor solúvel é testado como um tratamento terapêutico para a septicemia. An (AN, 2001; AN, 2004) afirma que os resultados do modelo replicam os encontrados em vários testes clínicos realizados.

Outro trabalho (DONG *et al.*, 2010) também se propôs a estudar a resposta inflamatória ao LPS usando um modelo baseado em agentes. O trabalho tenta elucidar as interações moleculares envolvidas no caminho de sinalização do NF- κ β . Essas interações

são acopladas com a orientação espacial de várias moléculas específicas da inflamação, além de algumas populações de células como os macrófagos e células *T-helper*. Nesse modelo a propagação do sinal gerado a partir do reconhecimento do LPS é estudada considerando o acoplamento entre sinais extracelulares e a resposta transcricional. O modelo proposto é avaliado pela sua habilidade de reproduzir de forma bem sucedida uma resposta inflamatória controlada, isto é, uma resposta imune normal, assim como uma série de outros cenários, por exemplo, uma resposta inflamatória persistente ou os fenômenos de potenciação e tolerância da resposta imune como resultado de perturbações nas moléculas e caminhos de sinalização intracelular.

3.2 MODELOS BASEADOS EM EDOS

Um primeiro trabalho (KUMAR *et al.*, 2004) desenvolveu um modelo da inflamação composto por EDOS para 3 tipos celulares/moleculares: o patógeno e dois mediadores inflamatórios. Os autores fizeram análises de bifurcações a partir da variação nos parâmetros-chave e várias estratégias terapêuticas são sugeridas a partir desta análise. O modelo captura os seguintes cenários clinicamente relevantes:

- uma resposta bem sucedida, onde o patógeno é eliminado e o corpo retorna para a homeostase;
- uma infecção recorrente, onde a resposta inflamatória não é suficiente e o patógeno não foi completamente eliminado;
- uma inflamação persistente e infecciosa, onde a resposta inflamatória e a concentração de patógeno são elevadas;
- uma inflamação persistente e não infecciosa, onde o patógeno é eliminado, porém a inflamação persiste;
- uma imunodeficiência severa, onde a concentração de patógeno é muito elevada, porém a intensidade da resposta inflamatória é muito baixa.

O modelo consiste de 3 variáveis:

- o patógeno p ;
- um mediador inflamatório inicial m , que pode ser considerado um representante dos efeitos combinados de células do sistema imunológico humano, como macrófagos e neutrófilos, e de citocinas, como $\text{TNF-}\alpha$ e IL-1 ;
- um mediador pró-inflamatório tardio l , que representa um *feedback* pró-inflamatório tardio, representando o efeito de citocinas como IL-6 , HMGB-1 (*High Motility Group*

Box 1) e efeitos estimulatórios consequentes do dano ao tecido e disfunções nos órgãos.

Esse modelo (KUMAR *et al.*, 2004) mostrou que a resposta imune é efetiva quando: 1) a virulência do patógeno não é muito forte nem muito fraca, 2) a resposta pró-inflamatória inicial não pode ser muito fraca e 3) a resposta pró-inflamatória tardia não pode ser muito forte nem muito fraca. A segunda condição, que destaca que a resposta pró-inflamatória inicial não pode ser fraca, também foi uma característica observada para uma resposta imune efetiva no modelo estendido desenvolvido nesta tese. Além disso, no modelo estendido desta tese considera-se explicitamente as dinâmicas dos neutrófilos, macrófagos e citocinas pró-inflamatórias, ao contrário do modelo de Kumar e co-autores (KUMAR *et al.*, 2004) que utiliza uma variável para representar os efeitos de todas essas células.

O trabalho de Kumar e co-autores foi estendido para investigar as vantagens de uma resposta anti-inflamatória dinâmica que variasse com o tempo (REYNOLDS *et al.*, 2006a). Nessa extensão, o modelo matemático foi construído a partir de modelos mais simples, chamados de modelos reduzidos. Uma abordagem semelhante foi utilizada no escopo desta tese, e é apresentada no Capítulo 5.

O modelo matemático de Reynolds e co-autores (REYNOLDS *et al.*, 2006a) consiste de um sistema de EDOs com 4 equações para modelar: 1) os patógenos, 2) os fagócitos ativados, 3) dano tecidual e 4) mediadores anti-inflamatórios. O modelo estendido desta tese diferencia os fagócitos em neutrófilos e macrófagos ao contrário do modelo de Reynolds e co-autores que considera uma variável genérica para representar os fagócitos. O modelo estendido desta tese não considera a dinâmica da resposta anti-inflamatória.

No trabalho de Reynolds e co-autores (REYNOLDS *et al.*, 2006a), o termo fonte dos fagócitos, ou seja, o termo que modela a inserção de novos fagócitos no modelo, é uma função que depende 1) da própria concentração de fagócitos atual, 2) da concentração do patógeno e 3) do dano tecidual. Esse termo modela as várias interações que os fagócitos podem realizar durante uma resposta imune, sejam elas diretas ou mediadas por citocinas.

Na interação mediada por citocinas considera-se a participação implícita delas. Por exemplo, em uma resposta imune, a interação do fagócito com o tecido é mediada pela citocina pró-inflamatória produzida pelas células epiteliais infectadas do tecido e esta relação é representada diretamente no termo de fonte dos fagócitos como uma taxa vezes o dano tecidual.

Esse trabalho (REYNOLDS *et al.*, 2006a) avaliou o impacto de considerar a dinâmica da citocina anti-inflamatória no modelo através de simulações e estudos de bifurcação. Os resultados obtidos ilustram a vantagem de uma resposta anti-inflamatória dinâmica e destacam também os riscos associados com a manipulação dos níveis do

mediador anti-inflamatório antes ou durante uma infecção.

Uma nova adaptação do modelo de Kumar e co-autores (KUMAR *et al.*, 2004) simula vários cenários envolvendo repetidas doses de LPS (DAY *et al.*, 2006a). Nesse trabalho, resultados obtidos através de experimentos com camundongos são utilizados para guiar os experimentos *in silico* que procuram recriar estes resultados qualitativamente.

O modelo matemático emprega os aspectos chave de uma resposta imune para examinar a administração repetida de LPS no contexto de uma resposta inflamatória.

O modelo é composto por EDOs e consiste de um patógeno, dois mediadores pró-inflamatórios e um mediador anti-inflamatório. Os mediadores pró-inflamatórios representam respectivamente os fagócitos ativados e o dano tecidual. A variável que representa o dano tecidual não só quantifica esse dano, mas também serve como um *feedback* positivo para as vias pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, do mesmo modo que um tecido danificado realmente faria (MATZINGER, 2002). O mediador anti-inflamatório atua em uma escala de tempo mais lenta do que os fagócitos ativados, comportando-se mais como a citocina TGF- β do que IL-10.

Nas simulações desse modelo (DAY *et al.*, 2006a) foram observados que o tempo e a magnitude das doses de LPS, bem como a dinâmica entre mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios, são as chaves para distinguir os fenômenos da potenciação e tolerância ao LPS. Foi ainda demonstrado que o modelo computacional proposto, apesar de reduzido, incorpora uma dinâmica suficientemente complexa que reproduz qualitativamente um conjunto de resultados experimentais associados com variadas administrações de LPS em camundongos.

Por fim, um último trabalho de Vodovotz e co-autores (VODOVOTZ *et al.*, 2006) desenvolveu um sistema de EDOs mais completo da inflamação aguda, incluindo macrófagos, neutrófilos, células dendríticas, células T_H1 , a pressão do sangue, o trauma no tecido, elementos efetores como iNOS, NO_2^- e NO_3^- , citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias, e elementos que participam da coagulação. Nesse trabalho, a ativação também ocorre indiretamente por vários estímulos resultantes de um trauma ou de uma hemorragia. Contudo, esse modelo não inclui explicitamente os acontecimentos iniciais de uma inflamação, como degranulação dos mastócitos e ativação do complemento, mas estes foram incorporados implicitamente na dinâmica do LPS e das citocinas. Uma vez ativados, neutrófilos e macrófagos produzem citocinas que ativam outras células, como as células endoteliais. O modelo também inclui citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF β , além de receptores solúveis para citocinas pró-inflamatórias.

O modelo mostrou ser capaz em simular a resposta inflamatória ao LPS, a um trauma cirúrgico ou a uma hemorragia em camundongos, sendo capaz de prever até certo ponto os níveis de TNF, IL-10, IL-6 e os produtos reativos do óxido nítrico.

3.3 MODELOS BASEADOS EM EDPs

Em Keener e Sneyd (KEENER; SNEYD, 1998) é apresentado um modelo unidimensional desenvolvido por Alt e Lauffenburger (ALT; LAUFFENBURGER, 1987) para estudar em quais condições os leucócitos polimorfonucleares (PMNs), mais comumente chamados de neutrófilos, são bem sucedidos em controlar uma infecção bacteriana.

O modelo é composto por 3 variáveis: bactéria (b), citocina (c) e neutrófilo (n).

As equações governantes do modelo são dadas abaixo.

1- as bactérias difundem, reproduzem e são destruídas quando estão em contato com os neutrófilos:

$$\frac{\partial b}{\partial t} = (r_b - \lambda_{nb} \cdot n) \cdot b + D_b \frac{\partial^2 b}{\partial x^2} \quad (3.1)$$

Onde D_b é o coeficiente de difusão da bactéria, r_b é a taxa de crescimento da bactéria e λ_{nb} é a taxa de fagocitose.

2- a citocina quimioatraente (ou quimiocina) é produzida pelo metabolismo da bactéria e se difunde:

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \beta_c \cdot b + D_c \frac{\partial^2 c}{\partial x^2} \quad (3.2)$$

Onde D_c é o coeficiente de difusão da citocina e β_c é a taxa de produção de citocina.

3- os neutrófilos são atraídos pela quimiocina e morrem quando entram em contato com a bactéria:

$$\frac{\partial n}{\partial t} = -(\mu_n + \lambda_{bn} \cdot b) \cdot n - \frac{\partial J_n}{\partial x} \quad (3.3)$$

Onde μ_n é a taxa de apoptose dos neutrófilos, λ_{bn} é a taxa com que os neutrófilos entram em apoptose após realizarem a fagocitose e J_n é o fluxo de neutrófilos dado por:

$$J_n = -D_n \frac{\partial n}{\partial x} + X_n n \frac{\partial c}{\partial x} \quad (3.4)$$

J_n é a soma de um termo difusivo $-D_n \frac{\partial n}{\partial x}$ com um termo que modela a quimiotaxia ($X_n n \frac{\partial c}{\partial x}$), isto é, o movimento dos neutrófilos na direção do gradiente da quimiocina $\frac{\partial c}{\partial x}$. D_n é o coeficiente de difusão e X_n é a taxa de quimiotaxia.

As condições de contorno do modelo são:

$$\frac{\partial b}{\partial x} = 0, x = 0 \quad e \quad x = L \quad (3.5)$$

$$\frac{\partial c}{\partial x} = \begin{cases} 0, & x = 0 \\ -h_c \cdot c, & x = L \end{cases} \quad (3.6)$$

$$J_n = \begin{cases} 0, & x = 0 \\ -(h_0 + h_1 \cdot c) \cdot (n_s - n), & x = L \end{cases} \quad (3.7)$$

Assume-se que a bactéria não pode deixar a região do tecido, por isso as condições de contorno são do tipo Neumann nas duas fronteiras do domínio. Contudo a citocina pode difundir para a corrente sanguínea ($-h_c \cdot c, x = L$) a uma taxa h_c . Nos modelos desenvolvidos nesta tese considera-se que as células e moléculas simuladas não podem deixar a região do tecido.

Os neutrófilos entram no tecido a partir da corrente sanguínea a uma taxa proporcional a densidade de neutrófilos circulantes no sangue (n_s). E essa taxa é aumentada na presença de citocina ($h_1 \cdot c$). A taxa na ausência de citocinas é dada por h_0 . A migração de neutrófilos e macrófagos para o tecido é modelada da mesma forma no modelo estendido desenvolvido nesta tese.

Os autores realizaram uma análise de estabilidade linear do modelo após a adimensionalização e um conjunto de simplificações do sistema de equações (mais detalhes podem ser obtidos na Seção 16.3 do livro *Mathematical physiology* (KEENER; SNEYD, 1998)). Os resultados obtidos podem ser resumidos em 3 casos:

- a bactéria é completamente eliminada e a concentração de neutrófilo se estabiliza em um valor normal;
- os neutrófilos não conseguem controlar o crescimento das bactérias e elas crescem sem limitação;
- os neutrófilos controlam o crescimento da bactéria, mas não conseguem eliminá-las completamente. Nesse caso, há um estado de infecção persistente onde ambos estão presentes e mantêm um equilíbrio.

Esses 3 comportamentos também são obtidos no modelo da interação bactéria-neutrófilo desenvolvido nesta tese e apresentado na Seção 5.1.3.

O trabalho conclui que uma infecção bacteriana pode ser controlada quando a taxa de fagocitose é suficientemente grande e a resposta imune é mais eficiente quando os neutrófilos são capazes de recrutar mais células e se mover quimiotaticamente.

Essas conclusões são importantes porque os resultados apresentados nesta tese corroboram com elas. Nos modelos que consideram a dinâmica dos neutrófilos, esses comportamentos também puderam ser observados.

Outro modelo interessante proposto por Su e co-autores (SU *et al.*, 2009) utiliza um sistema de EDPs para modelar não apenas o funcionamento do sistema imune inato, como também o sistema imune adaptativo. O modelo considera a forma mais simples de antígeno, que são os padrões moleculares constituintes dos patógenos, levando em consideração os seguintes fatores de uma resposta imune: antígeno, células do sistema imune, citocinas e quimiocinas. Esse modelo captura os seguintes estágios da resposta imune: reconhecimento, iniciação, resposta efetora e resolução da infecção ou mudança para um novo estado de equilíbrio (infecção persistente, entre outros). Entre suas principais características, pode-se destacar:

- Células se movem para o local de infecção numa ordem temporal de formação do granuloma bem estabelecida;
- Para representar o movimento através da microvasculatura, é aplicado o conceito de homogeneização e, por simplicidade, é assumido que os capilares sanguíneos formam uma estrutura reticulada;
- A fronteira da área simulada atua como um nodo linfático, cuja tarefa principal é fornecer células T efectoras (T CD8) para o combate aos antígenos.

O modelo consegue reproduzir fenômenos importantes como: ordem temporal de chegada das células no local da infecção, apresentação de antígenos pelas células dendríticas, a participação de macrófagos e células T regulatórias (Treg) na resolução da resposta imune.

3.4 MODELOS HÍBRIDOS

Um modelo híbrido (WAKELAND; MACOVSKY; AN, 2007) foi desenvolvido acoplando um modelo baseado em agentes (AN, 2001; AN, 2004) e um modelo de equações diferenciais (CLERMONT *et al.*, 2004) usando a ferramenta de Dinâmica de Sistemas disponível no software Netlogo (WILENSKY, 2015). Nesse trabalho ainda foi desenvolvida uma interface entre o modelo baseado em agentes e o modelo de equações diferenciais. Todas as interações moleculares e celulares que ocorriam no local de infecção foram simuladas com o modelo de agentes, enquanto que os aspectos relacionados a produção e ciclo de vida de células do sistema imune circulantes foram modelados com equações diferenciais.

Esse trabalho implementou um sistema de equações simples cujo foco era a produção sistêmica de neutrófilos, a maturação deles e posterior liberação para a corrente sanguínea. Alguns dos fluxos dentro do modelo de equações foram influenciados pelas condições dentro do modelo baseado em agentes. Com a divisão nesses dois modelos o sistema é capaz de reproduzir um atraso entre a elevação das citocinas no tecido e um crescimento no número

de neutrófilos circulantes no sangue. O objetivo do trabalho (WAKELAND; MACOVSKY; AN, 2007) foi reproduzir alguns dos resultados obtidos por trabalhos anteriores (AN, 2001; AN, 2004) utilizando o modelo híbrido.

3.5 MODELOS DE CRESCIMENTO DE COLÔNIAS DE BACTÉRIAS

Kawasaki e co-autores (KAWASAKI *et al.*, 1997) desenvolveram um sistema de reação-difusão para as concentrações de bactéria e nutriente que reproduz vários padrões de crescimento observados em colônias de bactérias.

Um dos elementos importantes do modelo que o permitiu reproduzir diferentes padrões de crescimento foi considerar um termo de difusão não-linear que depende de ambas as concentrações de bactéria e nutriente. Esse modelo simula o fato de que, em regiões desprovidas de nutrientes, a bactéria não consegue se movimentar, ficando mais inativa. O modelo não considera a difusão dependente da quantidade de espaço disponível assim como os modelos apresentados nesta tese.

Kawasaki e co-autores (KAWASAKI *et al.*, 1997) foram capazes de produzir padrões altamente ramificados apenas com a presença de uma anisotropia mínima advinda da *lattice* quadrada utilizada nas simulações. A *lattice* é definida como a forma que o domínio espacial 2D está estruturado.

Apesar de reproduzir vários padrões, o modelo não foi capaz de reproduzir o padrão de anéis concêntricos porque segundo os autores esse padrão requer mecanismos adicionais.

Um mecanismo adicional foi proposto por Lacasta e co-autores (LACASTA *et al.*, 1999). Nesse trabalho também apresentaram um modelo de reação-difusão para o crescimento de colônias de bactérias da espécie *Bacillus subtilis*. Esse modelo é composto por duas equações para as concentrações de bactérias e nutrientes. Assim como o modelo anterior de Kawasaki e co-autores (KAWASAKI *et al.*, 1997), o modelo de Lacasta e co-autores foi capaz de reproduzir os diferentes padrões de crescimento da bactéria da espécie *Bacillus subtilis*, que resultam em uma rica variedade de estruturas. Determinadas estruturas, como os anéis concêntricos, só foram obtidas porque eles consideram no modelo um comportamento cooperativo entre as bactérias. Esse comportamento foi modelado considerando uma variável fenomenológica global que representa o número de bactérias mais ativas na colônia, isto é, as bactérias que se movimentam mais em busca de nutrientes. Além disso, consideraram um coeficiente de difusão não-linear que depende dessa variável.

Esse modelo apresenta algumas similaridades com o modelo bactéria-nutriente (Seção 5.1.1) desenvolvido nesta tese. Por exemplo, o crescimento da bactéria e o consumo de nutrientes são dependentes de ambas as concentrações de bactéria e nutriente, mas no modelo de Lacasta e co-autores (LACASTA *et al.*, 1999), assim como no modelo de Kawasaki e co-autores (KAWASAKI *et al.*, 1997), esses processos são modelados por

uma cinética de Michaelis-Menten e saturam à medida que a concentração de nutriente aumenta.

3.6 MODELOS DA DINÂMICA PATÓGENO-HOSPEDEIRO

Imran e co-autores (IMRAN; SMITH, 2007) desenvolveram um modelo matemático simples da colonização bacteriana em um tecido que leva em consideração a disponibilidade de nutrientes e a resposta imune inata. O modelo tem como característica um estado livre de infecção que é localmente estável, não sendo globalmente estável. Os autores argumentam que a concentração inicial de bactéria inoculada deve ultrapassar um super-limite (*super-threshold*) para que a colonização seja bem sucedida e ocorra a infecção do tecido. Imran e co-autores (IMRAN; SMITH, 2007) também estudaram a dinâmica do tratamento com antibióticos e concluíram que um tratamento é bem-sucedido quando o regime de dose de antibióticos leva o sistema para uma sub-região do domínio de atração do estado livre de infecção.

Um outro trabalho (SMITH; MCCULLERS; ADLER, 2011) desenvolveu uma série de modelos para ganhar um maior entendimento de como as diferentes camadas de defesa do hospedeiro no trato respiratório inferior, incluindo células residentes e células recrutadas, se combinam para uma resposta contra uma infecção pneumocócica no pulmão.

Consideram a resposta imune dividida em 3 estágios:

- 1º estágio: a resposta dada pelos macrófagos alveolares residentes;
- 2º estágio: a resposta dada pelos neutrófilos;
- 3º estágio: a resposta dada pelos macrófagos derivados dos monócitos vindos da corrente sanguínea.

Smith e co-autores (SMITH; MCCULLERS; ADLER, 2011) desenvolveram modelos matemáticos que descrevem a dinâmica de cada um desses 3 estágios. Estudaram a relação entre a concentração inoculada de bactéria e duas saídas do modelo: o estabelecimento ou a erradicação de uma infecção. Primeiro, utilizaram uma única equação da resposta do macrófago alveolar para determinar como surge um *threshold* de uma dose inicial que determinará se o resultado será o estabelecimento ou erradicação da infecção. Depois esse modelo foi estendido para incorporar a produção de citocina pró-inflamatória e o consequente recrutamento de neutrófilos. E, por último, examinaram a possibilidade de eliminação da bactéria dado um influxo de macrófagos derivados de monócitos. Os autores argumentam que através desses modelos foi possível compreender melhor a contribuição de cada uma das variáveis consideradas para a iniciação e resolução da infecção pneumocócica pulmonar e foram capazes de capturar o comportamento qualitativo dos dados experimentais.

Outros trabalhos estudam a dinâmica do parasita no sistema imune. Antia e co-autores (ANTIA; LEVIN; MAY, 1994; ANTIA; KOELLA; PERROT, 1996) exploram a dinâmica da resposta imune contra parasitas. O primeiro trabalho (ANTIA; LEVIN; MAY, 1994) considera a dinâmica do parasita durante uma infecção aguda. O modelo considera uma população genérica de parasitas e a resposta imune. Antia e co-autores assumiram que a virulência do parasita é proporcional a taxa de crescimento no hospedeiro. Os resultados indicaram que a transmissão seria mais eficiente se o parasita tivesse uma taxa de crescimento intermediária (não tão alta como, por exemplo, no caso da *Escherichia coli* e nem tão baixa como *Mycobacterium Tuberculosis*). Os autores argumentaram que isso iria resultar em uma evolução e manutenção de um nível intermediário de virulência parasitária.

Um segundo trabalho de Antia e co-autores (ANTIA; KOELLA; PERROT, 1996) considerou um diferente conjunto de hipóteses para a dinâmica das infecções parasitárias persistentes. Esse modelo previu que a persistência inicial no hospedeiro pode ser conseguida por parasitas que crescem muito lentamente ou por parasitas que possuem um refúgio que é inacessível para a resposta imune. Neste trabalho será mostrado que um mecanismo de refúgio usado por algumas bactérias para persistir no hospedeiro é a formação de uma rede de fibrina que confere proteção contra a resposta imune. Os autores também sugeriram que a evasão da resposta imune pelo patógeno em um tempo bem posterior ao início da infecção pode ser consequência de dois processos: 1) deleção de células T no timo causada pelos antígenos; e 2) presença de um limite máximo no número de divisões de uma célula T.

4 MÉTODOS

Neste capítulo serão apresentados os métodos que foram utilizados: 1) no desenvolvimento dos modelos matemáticos deste trabalho, 2) na análise desses modelos e 3) na implementação computacional deles.

Um primeiro passo na construção de um modelo é a definição de seu propósito:

- Para que esse modelo será usado?
- Quais questões esse modelo pretende responder?

A definição do propósito está muito relacionada com a definição do escopo, da abrangência do modelo.

Antes de começar o projeto de modelagem, é importante que os objetivos do modelo estejam claros. No início do projeto de modelagem, os objetivos do esforço de modelagem devem estar explicitamente e totalmente definidos. Uma afirmação clara dos objetivos específicos é essencial para definir as necessidades e natureza do modelo. É mais provável que os objetivos sejam atingidos com sucesso quando eles forem claros, modestos e tratáveis.

Após a definição do propósito do modelo, devem ser escolhidos os mecanismos e processos que serão nele incorporados. Esses mecanismos e processos têm como base hipóteses que devem estar fundamentadas em teorias e dados do fenômeno modelado. A definição de hipóteses adequadas pode ser considerada a decisão mais importante no processo de modelagem matemática.

Depois de definidas as hipóteses, inicia-se a construção do modelo matemático. O modelo matemático é construído a partir de abstrações e formalizações dos mecanismos e processos que serão incorporados. Os modelos matemáticos desenvolvidos neste trabalho são formados por um conjunto de equações diferenciais ordinárias (EDOs) ou por um conjunto de equações diferenciais parciais (EDPs).

A modelagem pode ser vista como um processo dinâmico para se obter modelos, sendo caracterizada por etapas que se complementam:

- Experimentação: a obtenção de dados experimentais ou empíricos é fundamental para a compreensão do problema e também ajuda na estruturação, formulação e modificação dos modelos. Além disso, os dados experimentais também são muito importantes para a validação do modelo.

- Abstração: é o processo de seleção das variáveis importantes responsáveis pela evolução do fenômeno estudado. Nesta fase são formuladas as hipóteses e leis que devem ser testadas na validação do modelo.
- Formulação: as hipóteses do modelo, as variáveis, as relações entre as variáveis e os processos são incorporados e representados por equações que vão compor o modelo matemático.
- Resolução: a resolução do modelo pode ser analítica ou numérica. No caso de sistemas de equações diferenciais, na maioria dos casos uma solução analítica não pode ser obtida, então deve-se recorrer a um método numérico para resolver o problema.
- Validação/Avaliação: a validação de um modelo deve ser feita baseada em um critério estabelecido no estágio de definição dos objetivos. A validação é uma etapa importante no processo de desenvolvimento de um modelo porque a validação determina o grau em que um modelo é uma representação precisa do fenômeno estudado a partir da perspectiva das utilizações previstas para esse modelo.

4.1 EQUAÇÕES DIFERENCIAIS ORDINÁRIAS

Uma equação diferencial é dita ordinária quando envolve derivadas de uma função de uma variável. A equação diferencial $\frac{dy}{dx} = f(x, y)$ estabelece uma relação entre as coordenadas de um ponto e o coeficiente angular da reta tangente ao gráfico da solução naquele ponto. Portanto, uma equação diferencial define um campo de direções ou inclinações em relação às soluções do sistema. Esse campo de direções pode ser visualizado através de um gráfico chamado Plano de Fases.

O Plano de Fases é um gráfico 2D no plano cartesiano que exhibe as diferentes trajetórias e pontos de equilíbrio de um sistema de EDOs composto por 2 equações. Esse gráfico tem como eixos de referência as duas variáveis cujas equações diferenciais estão representadas no sistema em questão.

As soluções da equação $\frac{dy}{dx} = f(x, y)$ são chamadas curvas integrais e têm a propriedade de que a direção das retas tangentes, em cada ponto, coincide com a direção preestabelecida do campo de direção naquele ponto. A partir de um ponto $\{x, y\}$ que corresponde à condição inicial do sistema quando $t = 0$, pode-se seguir um conjunto de direções dadas pelas equações diferenciais do sistema até se alcançar um ponto chamado ponto de equilíbrio. Um ponto de equilíbrio é um ponto onde as equações diferenciais do sistema são iguais a zero. Um conjunto de direções representa uma das trajetórias do sistema (HIRSCH; SMALE; DEVANEY, 2013).

As diferentes trajetórias de um sistema representam todos os tipos de evoluções do comportamento do sistema. A partir de uma trajetória que tem início na condição inicial do sistema, consegue-se determinar o estado que o sistema irá alcançar. Além disso, em um Plano de Fases pode-se conhecer o comportamento do sistema na vizinhança de cada ponto de equilíbrio (ou estado de equilíbrio) (HIRSCH; SMALE; DEVANEY, 2013).

Neste trabalho, tem-se interesse em verificar a estabilidade de cada ponto de equilíbrio dos modelos estudados e, caso um ponto de equilíbrio seja estável, deseja-se determinar as condições para essa estabilidade. Na próxima seção, será explicado com maiores detalhes o processo de análise de estabilidade.

Os pontos de equilíbrio estáveis são importantes para a análise do comportamento do modelo porque eles representam os comportamentos de longo prazo que podem ser alcançados pelo modelo.

Outra definição importante está relacionada às isóclinas (*isoclines* em inglês). Uma isóclina é o lugar geométrico dos pontos onde cada reta tangente à curva integral preserva uma direção constante. Obtém-se a equação de uma isóclina considerando $\frac{dy}{dx} = f(x, y) = k$, onde k é uma constante (inclinação da tangente). A isóclina onde $k = 0$, isto é, $\frac{dy}{dx} = f(x, y) = 0$, é chamada de nulóclina ou *nullcline* em inglês. O conjunto de pontos que estão na interseção entre duas nulóclinas são pontos de equilíbrio.

Uma equação diferencial também pode ser interpretada como a variação de uma quantidade em relação a outra. Por exemplo, a equação $\frac{df}{dt} = f(t)$ pode ser interpretada como a variação de f em relação ao tempo. Logo uma equação diferencial pode ser interpretada como a taxa de variação de uma quantidade no tempo.

Nos modelos matemáticos desenvolvidos neste trabalho, uma equação diferencial representa o cálculo da variação da concentração de uma célula/molécula/substância em relação ao tempo. Desta forma, estuda-se a variação temporal dessas células, moléculas e substâncias.

4.2 ANÁLISE DE ESTABILIDADE

Alguns modelos matemáticos são representações altamente simplificadas de um sistema e são compostos de um número muito limitado de componentes (KUMAR *et al.*, 2004; REYNOLDS *et al.*, 2006b; CLERMONT, 2013). Tipicamente, esses componentes não representam entidades biológicas mensuráveis, mas um conjunto de ações ou princípios biológicos (CLERMONT, 2013). Por exemplo, vários pequenos modelos da resposta inflamatória (REYNOLDS *et al.*, 2006b; DAY *et al.*, 2006b) agregam uma complexa rede de citocinas e células do sistema imune ativas sob as categorias gerais de mediadores pró-inflamatórios e anti-inflamatórios (CLERMONT, 2013).

Visto que a teoria matemática das equações diferenciais é madura, pequenos

modelos permitem uma análise matemática formal e a derivação de conclusões importantes sobre a estabilidade de longo prazo, além de uma enumeração exaustiva de todos os tipos de evolução de tais modelos (CLERMONT, 2013).

O comportamento de um sistema de equações diferenciais ordinárias (EDOs) pode ser estudado através da análise de estabilidade dos pontos de equilíbrio desse sistema.

A determinação das regiões de estabilidade (ou bacias de atração) dos pontos de equilíbrio assintoticamente estáveis de um sistema de EDOs é importante para o estudo qualitativo do fenômeno que o sistema modela (MAY, 1973; CHIANG; HIRSCH; WU, 1988; FASSONI; TAKAHASHI; SANTOS, 2014). Se, por exemplo, um ponto de equilíbrio representa a extinção de uma espécie que deve ser preservada, então procura-se garantir que as condições iniciais não estejam na região de estabilidade do mesmo e estuda-se estratégias de controle sobre os parâmetros do sistema para que a região de estabilidade desse ponto diminua, o que aumentaria as chances de uma condição inicial não levar a extinção da espécie (FASSONI; TAKAHASHI; SANTOS, 2014).

Neste trabalho, as bacias de atração de cada ponto de equilíbrio não serão calculadas, mas a estabilidade e o comportamento do sistema em torno de cada ponto de equilíbrio serão determinados e poderão ser visualizados em um Plano de Fases.

Para a análise de estabilidade dos pontos de equilíbrio, serão utilizados os valores do traço e do determinante da matriz Jacobiana do sistema de EDOs calculados sobre cada ponto de equilíbrio.

Na Figura 11 pode-se visualizar um gráfico que mostra para diferentes combinações dos valores do traço e do determinante, os diferentes tipos de pontos de equilíbrio que podem ser obtidos. Por exemplo, para que um ponto de equilíbrio seja estável do tipo sumidouro ou espiral sumidouro, duas condições devem ser satisfeitas (Figura 11): o determinante da matriz Jacobiana calculado sobre o ponto de equilíbrio deve ser maior ou igual a zero ($Det(J) \geq 0$) e o traço da matriz Jacobiana calculado sobre o ponto de equilíbrio deve ser menor do que zero ($Tr(J) < 0$).

Um primeiro passo na análise de estabilidade é o cálculo dos pontos de equilíbrio. Esses pontos são calculados igualando-se as equações diferenciais do sistema a zero. Por exemplo, seja o sistema dado abaixo:

$$\begin{cases} \frac{dx}{dt} = x \cdot (x - 1) - \lambda \cdot x \cdot y \\ \frac{dy}{dt} = s \cdot x \cdot y - \mu \cdot y \end{cases} \quad (4.1)$$

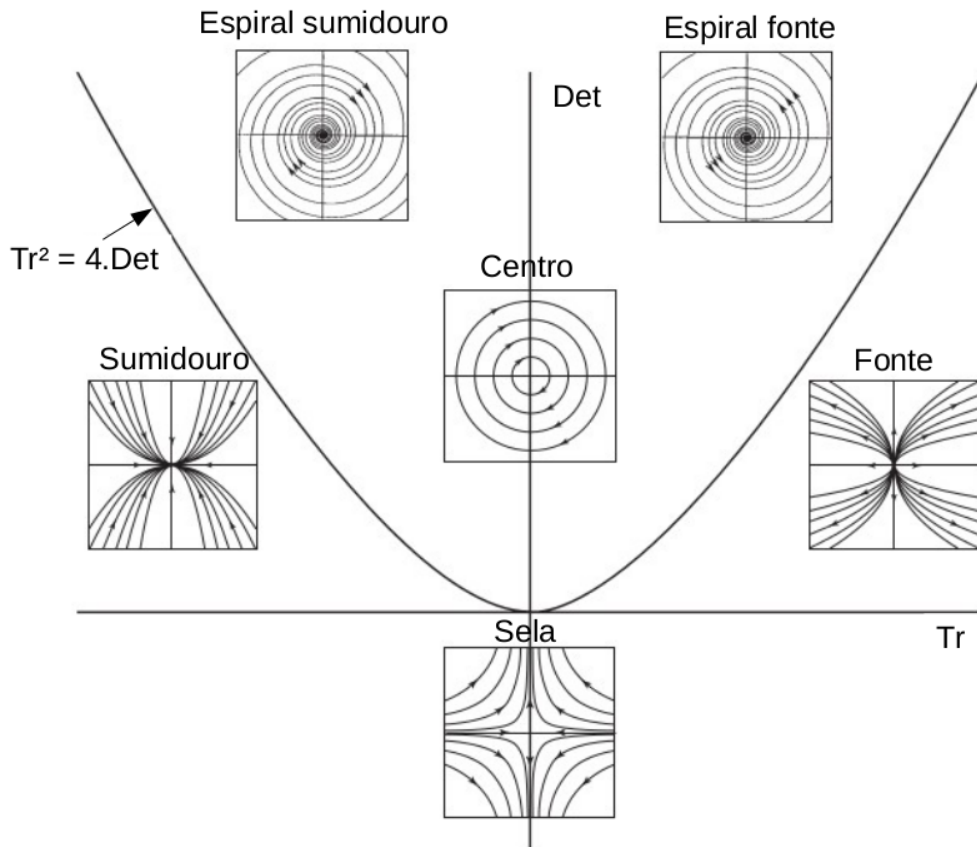


Figura 11 – Plano Traço-Determinante.

Fonte: Adaptado de (HIRSCH; SMALE; DEVANEY, 2013).

Igualando-se $\frac{dx}{dt}$ a zero, isto é, $\frac{dx}{dt} = x \cdot (x - 1) - \lambda \cdot x \cdot y = 0$, obtém-se:

$$\begin{cases} x = 0 & \text{ou} \\ x = 1 + \lambda y \end{cases} \quad (4.2)$$

Depois calcula-se o valor de y no equilíbrio para cada x obtido anteriormente. Para $x = 0$, temos:

$$\frac{dy}{dt} = 0 - \mu y = -\mu y \quad (4.3)$$

Igualando-se $\frac{dy}{dt}$ a zero, obtém-se:

$$\frac{dy}{dt} = 0 \implies -\mu y = 0 \implies y = 0 \quad (4.4)$$

Logo o ponto $\{0, 0\}$ é o primeiro ponto de equilíbrio obtido para esse sistema de equações diferenciais.

Para o segundo valor encontrado para x , isto é, $x = 1 + \lambda.y$, obtém-se:

$$\frac{dy}{dt} = s.(1 + \lambda y).y - \mu y = 0 \implies y = \frac{\mu}{s.\lambda} - \frac{1}{\lambda} \quad (4.5)$$

Então $x = 1 + \lambda.(\frac{\mu}{s.\lambda} - \frac{1}{\lambda})$ e isso implica que $x = \frac{\mu}{s}$. Logo o segundo ponto de equilíbrio do sistema é $\left\{x = \frac{\mu}{s}, y = \frac{\mu}{s.\lambda} - \frac{1}{\lambda}\right\}$.

Os valores de y também são substituídos em $\frac{dx}{dt}$.

Para $y = 0$, temos $\frac{dx}{dt} = x.(x - 1)$. Observa-se que $\frac{dx}{dt} = 0$ quando $x = 1$. Logo o ponto $\{1, 0\}$ também é ponto de equilíbrio.

Para analisar a estabilidade dos pontos de equilíbrio, é necessário calcular o traço e o determinante da matriz Jacobiana do sistema em torno desses pontos.

Seja $F_1(x, y) = \frac{dx}{dt} = x.(x - 1) - \lambda.x.y$ e $F_2(x, y) = \frac{dy}{dt} = s.x.y - \mu.y$, a matriz Jacobiana desse sistema é dada por:

$$J = \begin{bmatrix} \frac{\partial F_1(x,y)}{\partial x} & \frac{\partial F_1(x,y)}{\partial y} \\ \frac{\partial F_2(x,y)}{\partial x} & \frac{\partial F_2(x,y)}{\partial y} \end{bmatrix} \quad (4.6)$$

Calculando-se as derivadas parciais, obtém-se:

$$J = \begin{bmatrix} 2.x - 1 - \lambda.y & -\lambda.x \\ s.y & s.x - \mu \end{bmatrix} \quad (4.7)$$

A matriz Jacobiana calculada sobre o ponto $\{0, 0\}$ é:

$$J = \begin{bmatrix} -1 & 0 \\ 0 & -\mu \end{bmatrix} \quad (4.8)$$

O determinante de J ($Det(J)$) é igual a μ e o traço de J ($Tr(J)$) é igual a $-1 - \mu$.

Para o ponto de equilíbrio $\{0, 0\}$, temos $Det(J) = \mu > 0$ e $Tr(J) = -1 - \mu < 0$. Observa-se na Figura 11 que quando o $Det > 0$ e o $Tr < 0$, o ponto de equilíbrio é um ponto estável, podendo ser do tipo sumidouro ou espiral sumidouro. Caso o $Tr(J)^2 > 4.Det(J)$, o ponto é do tipo sumidouro e, caso contrário, é do tipo espiral sumidouro.

A matriz Jacobiana calculada sobre o ponto de equilíbrio $\left\{x = \frac{\mu}{s}, y = \frac{\mu}{s.\lambda} - \frac{1}{\lambda}\right\}$ é:

$$J = \begin{bmatrix} \frac{2.\mu}{s} - 1 - \frac{\mu-s}{s} & \frac{-\lambda.\mu}{s} \\ \frac{\mu-s}{\lambda} & 0 \end{bmatrix} \quad (4.9)$$

Os seguintes valores foram calculados para o determinante e para o traço:

$$Det(J) = \frac{\mu \cdot (\mu - s)}{s} \quad (4.10)$$

$$Tr(J) = \frac{\mu}{s} \quad (4.11)$$

Para que este ponto seja estável devemos ter $Det(J) > 0 \implies \mu > s$ e $Tr(J) < 0 \implies \frac{\mu}{s} < 0$. Como $\frac{\mu}{s} > 0$, pois μ e s são parâmetros positivos, esse ponto é instável e é do tipo fonte, pois $Tr(J)^2 > 4 \cdot Det(J)$.

Para o terceiro ponto de equilíbrio $\{1, 0\}$, a matriz Jacobiana é:

$$J = \begin{bmatrix} 1 & -\lambda \\ 0 & s - \mu \end{bmatrix} \quad (4.12)$$

Os seguintes valores foram calculados para o determinante e para o traço:

$$Det(J) = s - \mu \quad (4.13)$$

$$Tr(J) = 1 + s - \mu \quad (4.14)$$

O $Det(J) > 0$ quando $s > \mu$. E o $Tr(J) < 0$ quando $\mu > 1 + s$. Observa-se que caso $s > \mu$, tem-se $Det(J) > 0$ e $Tr(J) > 0$ e, nesse caso, o ponto de equilíbrio é instável do tipo fonte (Figura 11). Esse ponto de equilíbrio também pode ser do tipo sela quando $\mu > s$ e, nesse caso, $Det(J) < 0$, como pode ser visto na Figura 11.

Observamos neste exemplo que a estabilidade dos pontos de equilíbrio pode ser determinada a partir dos valores do traço e do determinante da matriz Jacobiana do sistema. Essa análise de estabilidade é importante para se determinar o comportamento do sistema na vizinhança de cada ponto de equilíbrio e determinar o comportamento de longo prazo do sistema.

4.3 EQUAÇÕES DIFERENCIAIS PARCIAIS

Um equação diferencial parcial ou equação de derivadas parciais (EDP) é uma equação envolvendo várias funções incógnita de várias variáveis independentes e também envolvendo as derivadas dessas funções. As EDPS surgem naturalmente em problemas de física matemática, física, engenharia e biologia.

Uma EDP estuda a evolução de uma quantidade no tempo e no espaço. As EDPs tratadas neste trabalho possuem duas variáveis independentes (uma variável t que denota o tempo e uma variável x que denota a posição no espaço 1D) ou três variáveis independentes (uma variável t que denota o tempo e as variáveis x e y que denotam a posição de um ponto no espaço 2D).

As EDPs são importantes porque modelam diversos fenômenos na natureza. A difusão de uma população de células é modelada por uma derivada parcial de 2ª ordem dessa população em relação ao espaço. Por exemplo, a equação dada abaixo modela a difusão das células de bactérias (b) em uma dimensão:

$$D_b \cdot \frac{\partial^2 b}{\partial x^2} \quad (4.15)$$

Onde D_b é o coeficiente de difusão da bactéria, b é a população de bactérias e x representa o espaço.

A difusão pode ser definida como o processo pelo qual uma população de células se movimenta a partir de regiões com altas concentrações de células para regiões com concentrações mais baixas de células.

Outro importante processo modelado neste trabalho é o processo de quimiotaxia. A quimiotaxia é o movimento de células na direção do gradiente de uma substância. O termo que modela a quimiotaxia de uma população p de células na direção do gradiente de uma substância quimioatraente c é dado por:

$$X_p \cdot \nabla \cdot \left(p \cdot \frac{\partial c}{\partial x} \right) \quad (4.16)$$

Onde X_p é a taxa de quimiotaxia. A população p de células se move na direção do gradiente $\frac{\partial c}{\partial x}$ da substância c .

4.4 IMPLEMENTAÇÃO COMPUTACIONAL

A implementação numérica dos modelos deste trabalho é baseada no método das diferenças finitas (LEVEQUE, 2007) para a discretização espacial e no método de Euler explícito para a discretização no tempo.

O operador de diferenças finitas usado na discretização do operador de Laplace $D_n \frac{\partial^2 n}{\partial x^2}$ que simula o fenômeno da difusão é dado abaixo:

$$D_n \frac{\partial^2 n(x)}{\partial x^2} \approx D_n \cdot \left(\frac{n[x + \delta x] - 2 \cdot n[x] + n[x - \delta x]}{(\delta x)^2} \right) \quad (4.17)$$

Nessa equação, n representa a discretização da quantidade de nutrientes, D_n é o coeficiente de difusão dos nutrientes, x é a posição no espaço e δx é a discretização no espaço.

O método das diferenças finitas é muito usado na discretização numérica de EDPs. Uma parte complexa na resolução de EDPs é a resolução do termo advectivo, que é o termo de quimiotaxia dos modelos matemáticos deste trabalho. O desenvolvimento de métodos numéricos para aproximar termos advectivos (na maioria dos casos não-lineares)

tem sido assunto de intensas pesquisas nas últimas décadas (HARTEN, 1997; LEONARD, 1988; SHU; OSHER, 1989; SOD, 1978). Diferentes abordagens têm sido propostas para a discretização do termo de quimiotaxia (MARROCCO, 2003; FILBET, 2006).

Neste trabalho, a discretização do termo de quimiotaxia ($X_n \nabla \cdot (n \cdot \frac{\partial ch}{\partial x})$) usa um esquema *upwind* de Primeira Ordem (HAFEZ; CHATTOT, 2002). Portanto, a precisão de nossa implementação numérica é de primeira ordem no tempo (Euler explícito) e de primeira ordem no espaço (esquema *upwind*). Os esquemas *upwind* discretizam EDPs hiperbólicas através do uso de diferenças com *bias* na direção determinada pelo sinal das velocidades características. Os esquemas *upwind* usam um *stencil* adaptativo ou sensível a solução para numericamente simular mais precisamente a direção da propagação da informação.

O código a seguir apresenta a implementação computacional do operador de quimiotaxia usando o esquema *upwind*.

Em duas dimensões, o esquema *upwind* aproxima o termo de quimiotaxia como a soma do fluxo na direção x (*fluxX*) com o fluxo na direção y (*fluxY*). Onde *fluxX* é a soma do fluxo à esquerda (*flux_left*) no ponto $x - \frac{dx}{2}$ com o fluxo à direita (*flux_right*) no ponto $x + \frac{dx}{2}$ e *fluxY* é a soma do fluxo acima (*flux_up*) no ponto $y - \frac{dy}{2}$ com o fluxo abaixo (*flux_down*) no ponto $y + \frac{dy}{2}$:

```
float chemotaxis(float** n, float **ch, int x, int y)
{
    float flux_left = 0, flux_right = 0, flux_up = 0, flux_down = 0;
    if (x > 0)
    {
        if ((ch[x][y] - ch[x-1][y]) > 0)
        {
            flux_left = -(ch[x][y] - ch[x-1][y])*n[x-1][y]/dx;
        }
        else
        {
            flux_left = -(ch[x][y] - ch[x-1][y])*n[x][y]/dx;
        }
    }
    if (x < (size-1))
    {
        if ((ch[x+1][y] - ch[x][y]) > 0)
        {
            flux_right = (ch[x+1][y] - ch[x][y])*n[x][y]/dx;
        }
    }
}
```

```

        else
        {
            flux_right = (ch[x+1][y] - ch[x][y])*n[x+1][y]/dx;
        }
    }
    fluxX = (flux_left + flux_right)/dx;

    if(y > 0)
    {
        if((ch[x][y] - ch[x][y-1]) > 0)
        {
            flux_up = -(ch[x][y] - ch[x][y-1])*n[x][y-1]/dy;
        }
        else
        {
            flux_up = -(ch[x][y] - ch[x][y-1])*n[x][y]/dy;
        }
    }
    if(y < (size-1))
    {
        if((ch[x][y+1] - ch[x][y]) > 0)
        {
            flux_down = (ch[x][y+1] - ch[x][y])*n[x][y]/dy;
        }
        else
        {
            flux_down = (ch[x][y+1] - ch[x][y])*n[x][y+1]/dy;
        }
    }
    fluxY = (flux_up + flux_down)/dy;
    return fluxX + fluxY;
}

```

Nesse código, o parâmetro ch representa a discretização da citocina pró-inflamatória, n representa a discretização dos neutrófilos, x e y são as posições do espaço, dx e dy são as discretizações espaciais nas direções x e y , respectivamente.

O teste no código é feito para decidir o sinal da velocidade característica, onde a velocidade do movimento dos neutrófilos é dada pelo termo ∇ch . Esse valor da velocidade é depois usado para escolher entre dois esquemas de diferenças finitas: para frente (*forward*) ou para trás (*backward*).

Outra característica importante da implementação foi a escolha de um método

one-step, ou seja, a derivada no tempo foi discretizada utilizando a derivada para frente (*forward*) tal que a população no instante de tempo $t + 1$ só depende da população no instante de tempo t . Essa escolha permitiu diminuir consideravelmente a demanda por memória devido ao fato de que só precisamos utilizar duas posições de memória para cada posição discretizada do espaço simulado, sendo que uma posição guarda o valor da população no instante de tempo atual e a outra armazena o valor no próximo instante de tempo.

O código dos modelos 1D foi implementado na linguagem C e o código do modelo estendido 2D foi implementado em CUDA (NVIDIA, 2015; KIRK; HWU, 2010; NICKOLLS; DALLY, 2010) para execução em uma GPU.

4.5 AJUSTE DE PARÂMETROS

O uso de modelos baseados em equações diferenciais requer conhecimento detalhado sobre os parâmetros que estão incluídos nas equações. Alguns desses parâmetros podem ser medidos experimentalmente, enquanto outros precisam ser estimados. Neste trabalho, a maioria dos parâmetros foi estimada devido à falta de dados na literatura. Somente alguns valores de parâmetros do modelo matemático estendido foram obtidos da literatura.

É importante destacar que os valores dos parâmetros foram escolhidos, principalmente no caso dos modelos matemáticos simplificados apresentados na Seção 5.1, para mostrar os diferentes comportamentos que cada modelo é capaz de reproduzir e para destacar as principais características desses modelos. O mesmo pode ser afirmado para as condições iniciais. Além disso, destaca-se que a ênfase maior foi no comportamento qualitativo dos modelos devido à falta de dados experimentais para o ajuste dos parâmetros e para uma validação mais quantitativa.

Apesar da falta de dados experimentais, a análise de estabilidade dos modelos também mostrou-se muito importante ao ajudar a definir os valores dos parâmetros para os quais determinados comportamentos podem ser obtidos.

5 MODELAGEM MATEMÁTICA DA FORMAÇÃO DO ABSCESSO

Neste capítulo serão apresentados os resultados de um estudo realizado para identificar características em um modelo matemático que possibilitem a esse modelo reproduzir numericamente a formação de abscessos. Nesse estudo foram analisados os comportamentos temporal e espacial de diversos modelos matemáticos que modelam a interação entre bactéria, fibrina e células do sistema imune inato representadas pelos neutrófilos.

A análise do comportamento temporal pode ser dividida nas seguintes etapas:

- Cálculo dos pontos de equilíbrio das EDOs;
- Análise dos sinais do traço e do determinante da matriz Jacobiana do sistema calculada sobre os pontos de equilíbrio;
- Visualização dos pontos de equilíbrio, do comportamento em torno de cada ponto de equilíbrio e das trajetórias do sistema através do Plano de Fases do sistema de EDOs.

Para uma melhor compreensão do comportamento espacial do modelo, simulações em uma dimensão (1D) do sistema de Equações Diferenciais Parciais (EDPs) são realizadas. As simulações computacionais também são importantes porque permitem analisar os efeitos da introdução de alguns processos de movimento, como, por exemplo, a difusão e/ou a quimiotaxia na dinâmica do sistema. Para todos os modelos matemáticos desenvolvidos neste trabalho, as condições de contorno prescritas são do tipo Neumann, isto é, considera-se que não há fluxo de células através das fronteiras do domínio unidimensional simulado.

5.1 MODELOS MATEMÁTICOS SIMPLIFICADOS

Nesta seção, serão apresentados alguns modelos matemáticos simplificados para a formação do abscesso, destacando algumas de suas características que permitiram a esses modelos reproduzir esse processo de formação.

O estudo desses modelos será importante para entender as implicações de algumas considerações na dinâmica do sistema, além de permitir uma compreensão de como os processos modelados interagem e quais são seus efeitos.

O processo de construção de um modelo final será incremental: inicia-se por um modelo simples e depois acrescentam-se mais variáveis e processos até a obtenção do modelo final.

5.1.1 Modelo bactéria-nutriente

No primeiro modelo desenvolvido adotamos uma visão simplificada de um abscesso como um acúmulo de bactérias em uma determinada região. Esse primeiro modelo considera a interação entre bactéria e nutriente, onde o nutriente é a fonte de energia necessária para que as bactérias possam se replicar.

O modelo da interação bactéria-nutriente é formado pelo seguinte conjunto de equações:

$$\begin{aligned}\frac{dn}{dt} &= s.(1 - n) - a_1.b.n - a_2.n \\ \frac{db}{dt} &= (r.n - m).b.(1 - b)\end{aligned}\tag{5.1}$$

Os parâmetros desse modelo são:

- s é a taxa de produção de nutrientes;
- a_1 é a taxa de consumo de nutrientes pela bactéria;
- a_2 é a taxa de consumo de nutrientes por outras células;
- r é a taxa de replicação da bactéria;
- m é a taxa de mortalidade da bactéria.

O termo $s.(1 - n)$ representa a produção de nutrientes que possui um limite máximo em 1 a partir do qual não são produzidos mais nutrientes. Ambas as concentrações de nutriente e bactéria possuem uma saturação em 1, pois considera-se concentrações normalizadas.

O termo $a_1.b.n$ representa o consumo de nutrientes pela bactéria e o termo $a_2.n$ representa o consumo de nutrientes por outras células. O consumo de nutrientes resulta em energia que a bactéria usa para a replicação ($r.n.b.(1 - b)$). Considera-se nesse modelo que o crescimento das bactérias ocorre somente na presença de nutrientes.

O crescimento da bactéria ($r.n.b.(1 - b)$) possui uma limitação, sendo modelado por uma equação logística, ou seja, é um crescimento logístico.

O modelo de crescimento logístico foi proposto por Pierre F. Verhurst em 1837 e esse modelo supõe que uma população poderá crescer até um limite máximo, a partir do qual tende a se estabilizar. Além disso, esse modelo leva em consideração que o crescimento de uma população pode ser afetado por diversos fatores ambientais. Por exemplo, o termo quadrático que aparece na equação da bactéria (termo $r.n.b^2$) modela a competição entre

os indivíduos da população por recursos vitais (espaço, alimentos, entre outros). Desta forma considera-se nesse modelo que o crescimento da bactéria é influenciado por fatores ambientais como, por exemplo, o espaço disponível.

A mortalidade da bactéria é modelada pelo termo $m.b.(1 - b)$, sendo também influenciada por fatores ambientais.

Com o intuito de melhor compreender a dinâmica temporal desse modelo, será realizada uma análise da estabilidade para dois casos distintos:

- Caso 1: Não há entrada de nutrientes para certos pontos do tecido. Nesse caso tem-se $s = 0$;
- Caso 2: Há entrada de nutrientes em alguns pontos do tecido. Nesse caso $s > 0$ para esses pontos;

Primeiro será analisado o Caso 1 ($s = 0$).

Para esse caso o sistema de equações é dado por:

$$\begin{aligned}\frac{dn}{dt} &= -a_1.b.n - a_2.n \\ \frac{db}{dt} &= (r.n - m).b.(1 - b)\end{aligned}\tag{5.2}$$

Dado o sistema 5.2, igualam-se as derivadas a zero e obtém-se os seguintes pontos de equilíbrio:

$$\{n = 0, b = 0\}, \{n = 0, b = 1\}, \left\{n = \frac{m}{r}, b = -\frac{a_2}{a_1}\right\}\tag{5.3}$$

Seja a matriz Jacobiana do sistema 5.2 dada por:

$$J = \begin{bmatrix} -a_1.b - a_2 & -a_1.n \\ r.b.(1 - b) & (r.n - m).(1 - 2.b) \end{bmatrix}\tag{5.4}$$

O determinante e o traço do jacobiano para o primeiro ponto de equilíbrio $\{n = 0, b = 0\}$ são iguais a:

$$\begin{aligned}Det(J) &= a_2.m \\ Tr(J) &= -a_2 - m\end{aligned}\tag{5.5}$$

As condições $Det(J) > 0$ e $Tr(J) < 0$ sempre são satisfeitas para esse ponto de equilíbrio, pois $a_2 > 0$ e $m > 0$. Logo, na ausência de nutrientes, o ponto $\{n = 0, b = 0\}$ é estável.

Para o segundo ponto de equilíbrio $\{n = 0, b = 1\}$, o traço e o determinante são:

$$Det(J) = -m.(a_1 + a_2) \quad (5.6)$$

$$Tr(J) = -a_1 - a_2 + m \quad (5.7)$$

Na ausência de nutrientes ($s = 0$), a condição $Det(J) > 0$ nunca é satisfeita, visto que $-m.(a_1 + a_2)$ é sempre menor do que zero. Nesse caso $\{n = 0, b = 1\}$ é um ponto de equilíbrio instável do tipo sela.

No caso do terceiro ponto de equilíbrio $\left\{n = \frac{m}{r}, b = \frac{-a_2}{a_1}\right\}$, as condições para que ele seja factível ($n > 0$ e $b > 0$) não são satisfeitas, pois $b < 0$ visto que $a_2 > 0$ e $a_1 > 0$. Logo esse ponto de equilíbrio não é factível para $s = 0$.

Esses pontos de equilíbrio e as trajetórias do modelo podem ser facilmente visualizados em um Plano de Fases como o mostrado na Figura 12. Além disso, as *nullclines* do sistema também podem ser visualizadas em um Plano de Fases. Os pontos que satisfazem, por exemplo, $\frac{db}{dt} = 0$ pertencem a *nullcline* de b . Nessa Figura temos o Plano de Fases do sistema de equações dado em 5.2.

Observa-se nesse Plano de Fases que dependendo da concentração inicial de nutrientes, a bactéria pode crescer até o limite máximo suportado pelo tecido ($b = 1$), mas a partir do momento que as bactérias consomem todo o nutriente disponível e não havendo uma reposição deles, pois $s = 0$, as bactérias começam a morrer, tendendo a zero.

Agora será analisado o comportamento do modelo para o Caso 2 ($s > 0$).

Os pontos de equilíbrio do sistema 5.1 são:

$$\left\{n = \frac{s}{s + a_2}, b = 0\right\}, \left\{n = \frac{s}{s + a_1 + a_2}, b = 1\right\}, \left\{n = \frac{m}{r}, b = \frac{r.s}{m} - \frac{s + a_2}{a_1}\right\} \quad (5.8)$$

O jacobiano do sistema é:

$$J = \begin{bmatrix} -s - a_1.b - a_2 & -a_1.n \\ r.b.(1 - b) & (r.n - m).(1 - 2.b) \end{bmatrix} \quad (5.9)$$

O determinante do jacobiano para o primeiro ponto de equilíbrio $\left\{n = \frac{s}{s + a_2}, b = 0\right\}$ é igual a:

$$Det(J) = (-s - a_2). \left(\frac{r.s}{s + a_2} - m\right) \quad (5.10)$$

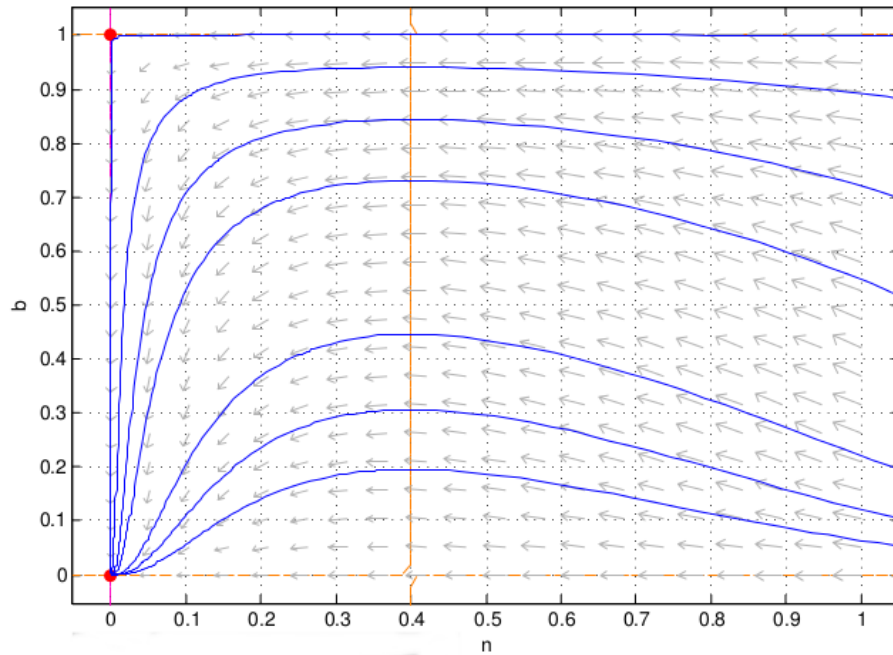


Figura 12 – Um Plano de Fases do sistema para $s = 0$. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 1\}$ é sela e $\{0, 0\}$ é estável do tipo sumidouro. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 0$, $a_1 = 1$, $a_2 = 0.8$, $r = 5$, $m = 2$.

O $Det(J) > 0$ quando $m > \frac{r \cdot s}{s + a_2}$, pois $(-s - a_2) < 0$ visto que $s > 0$ e $a_2 > 0$.

Observa-se que $\frac{s}{s + a_2}$ é a concentração de nutriente no equilíbrio. Pode-se escrever para a condição do determinante $m > r \cdot \bar{n}$, onde \bar{n} representa a concentração de nutriente no equilíbrio.

Logo o determinante será maior do que zero quando a taxa de mortalidade da bactéria for maior do que a taxa de replicação vezes a concentração de nutrientes no equilíbrio ($m > r \cdot \bar{n}$). Nessa situação, a população de bactérias morre mais do que se replica, tendendo a zero.

O traço do jacobiano é dado por:

$$Tr(J) = -s - a_2 - m + \frac{r \cdot s}{s + a_2} \quad (5.11)$$

O $Tr(J) < 0$ quando $s + a_2 + m > \frac{r \cdot s}{s + a_2}$.

Observa-se que quando a condição $Det(J) > 0$ é satisfeita, isto é, $m > \frac{r \cdot s}{s + a_2}$, a condição do traço também é satisfeita, pois $s + a_2 + m > \frac{r \cdot s}{s + a_2}$. Logo esse ponto de equilíbrio será um ponto estável.

Para o segundo ponto de equilíbrio $\left\{n = \frac{s}{s + a_1 + a_2}, b = 1\right\}$, o traço e o determinante são:

$$Det(J) = r.s - m.(s + a_1 + a_2) \quad (5.12)$$

$$Tr(J) = -s - a_1 - a_2 - \frac{r.s}{s + a_1 + a_2} + m \quad (5.13)$$

O $Det(J) > 0$ quando $r.s > m.(s + a_1 + a_2)$. E o $Tr(J) < 0$ quando $s + a_1 + a_2 + \frac{r.s}{s+a_1+a_2} > m$.

Na presença de nutrientes ($s > 0$), caso a condição do determinante seja satisfeita, tem-se $\frac{r.s}{s+a_1+a_2} > m$. Como consequência a condição $Tr(J) < 0$ também será satisfeita e esse ponto será estável. Nesse caso, observa-se que na presença de nutrientes a bactéria tende para a sua concentração máxima ($b = 1$), caso a taxa de mortalidade não seja significativa. E também verifica-se que a bactéria alcança um estado de equilíbrio favorável a ela quando as taxas de produção de nutrientes e de replicação da bactéria são suficientemente grandes e o consumo de nutrientes não é muito elevado.

É importante destacar que a condição $Det(J) > 0$ não pode ser satisfeita simultaneamente para os dois primeiros pontos de equilíbrio e isso será mostrado a seguir.

Seja $m_1 = \frac{r.s}{s+a_2}$ e $m_2 = \frac{r.s}{s+a_1+a_2}$. Observa-se que $m_2 < m_1$, pois $a_1 > 0$. A condição $Det(J) > 0$ para o primeiro ponto de equilíbrio é $m > \frac{r.s}{s+a_2}$, isto é, $m > m_1$. Quando essa condição é satisfeita, a condição do determinante para o segundo ponto de equilíbrio ($\frac{r.s}{s+a_1+a_2} > m$), ou seja, $m_2 > m$ já não pode ser satisfeita, pois $m > m_1 > m_2$. O mesmo vale para o caso oposto quando a condição do determinante do segundo ponto de equilíbrio é satisfeita, a condição do primeiro ponto não pode ser satisfeita.

No caso do terceiro ponto de equilíbrio, a condição para que ele seja factível ($b > 0$) é: $\frac{r.s}{m} > \frac{s+a_2}{a_1}$.

Para $s > 0$, novamente serão analisados os sinais do traço e do determinante:

$$Det(J) = -\frac{(-\frac{r.s}{m} + s + a_2).(a_1 - \frac{r.s}{m} + s + a_2)}{a_1} \quad Tr(J) = \frac{-r.s}{m} \quad (5.14)$$

O $Det(J) > 0$ quando $\frac{r.s}{m} > s + a_2$ e $a_1 + s + a_2 > \frac{r.s}{m}$.

Observa-se que essa condição é bem complexa de ser atendida, pois se $\frac{r.s}{m} > s + a_2$, a_1 deve ser maior do que a diferença entre $\frac{r.s}{m}$ e $s + a_2$, ou seja, $a_1 > \frac{r.s}{m} - (s + a_2)$. Como o traço é sempre negativo, esse ponto de equilíbrio será estável quando a condição do determinante for satisfeita ($Det(J) > 0$). Quando essa condição do determinante é satisfeita para esse ponto de equilíbrio, as condições de estabilidade dos outros pontos de equilíbrio deixam de ser satisfeitas e os outros pontos passam a ser pontos de sela.

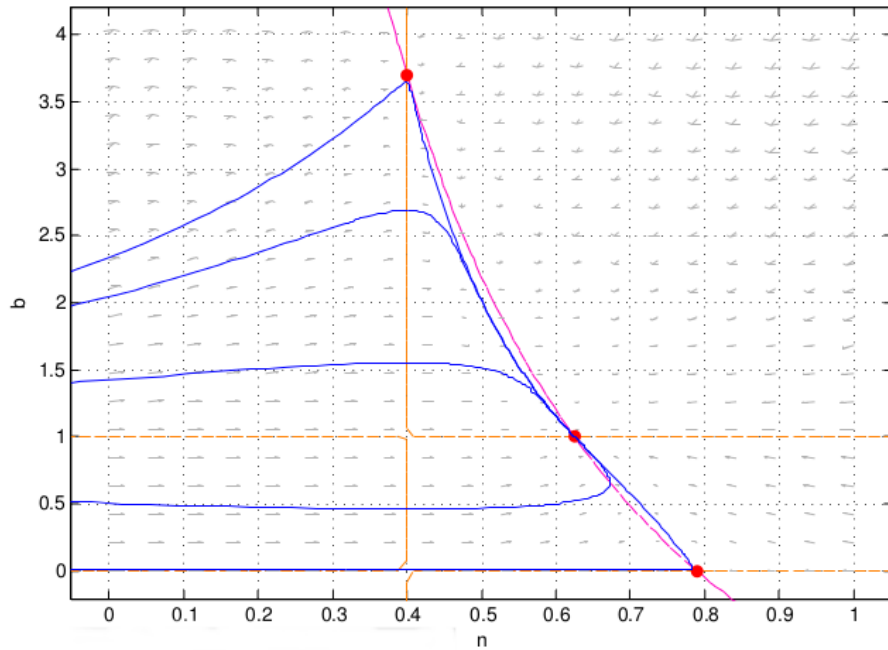


Figura 13 – Um Plano de Fases do sistema para $s > 0$. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.625, 1\}$ é estável do tipo sumidouro, $\{0.4, 3.7\}$ e $\{0.79, 0\}$ são pontos de sela. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 3$, $a_1 = 1$, $a_2 = 0.8$, $r = 5$, $m = 2$.

Um Plano de Fases do sistema considerando $s > 0$ é mostrado na Figura 13.

Nesse caso, observa-se que todas as trajetórias do sistema com $b > 0$ levam até o ponto de equilíbrio $\{0.625, 1\}$, onde a bactéria consegue crescer até a sua capacidade de suporte ($b = 1$), pois há uma entrada contínua de nutrientes no tecido ($s > 0$) para alguns pontos.

Caso seja feita uma pequena alteração nos parâmetros, por exemplo, uma mudança de $r = 5$ para $r = 3$, o terceiro ponto de equilíbrio $\left\{n = \frac{m}{r}, b = \frac{r \cdot s}{m} - \frac{s + a_2}{a_1}\right\}$ do sistema passa a ser estável e o ponto $\{0.625, 1\}$ passa a ser um ponto de sela como pode ser visto no Plano de Fases (Figura 14).

Nesse modelo, observamos que o sistema alcança dois estados de equilíbrio estáveis: um estado onde a bactéria não sobrevive na ausência de nutrientes e um estado onde ela sobrevive na presença de nutrientes. Essa característica permite que o modelo reproduza espacialmente a formação de uma colônia de bactérias.

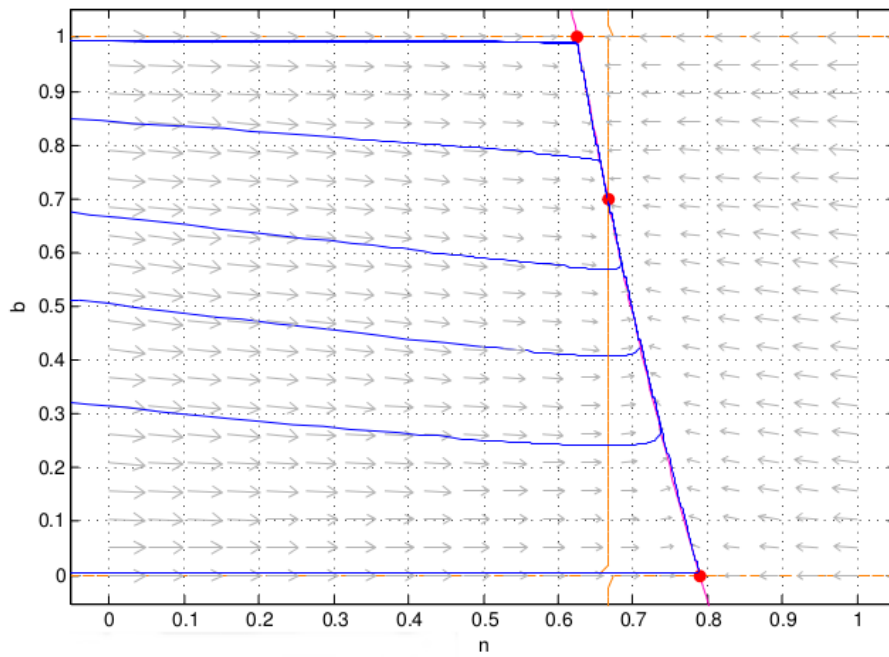


Figura 14 – Plano de Fases do sistema para $s > 0$. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.666, 0.7\}$ é estável do tipo sumidouro, $\{0.625, 1\}$ e $\{0.79, 0\}$ são pontos de sela. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 3$, $a_1 = 1$, $a_2 = 0.8$, $r = 3$, $m = 2$.

5.1.1.1 Simulações em 1D

Foram realizadas algumas simulações computacionais em 1D com o sistema de EDPs dado abaixo com o objetivo de entender o comportamento espacial do modelo dado em 5.1.

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial n}{\partial t} &= s(x) \cdot (1 - n) - a_1 \cdot b \cdot n - a_2 \cdot n + D_n \frac{\partial^2 n}{\partial x^2} \\
 n(x, 0) &= n_0, \quad \frac{\partial n(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \\
 \\
 \frac{\partial b}{\partial t} &= (r \cdot n - m) \cdot b \cdot (1 - b) + D_b \frac{\partial^2 b}{\partial x^2} \\
 b(x, 0) &= b_0, \quad \frac{\partial b(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0
 \end{aligned} \tag{5.15}$$

Onde $s(x)$ é a fonte de nutrientes que depende da posição do espaço. Para $0 \leq x \leq 0.5$, $s(x)$ é maior do que zero e para $x > 0.5$, $s(x)$ é igual a zero. Os termos $D_n \frac{\partial^2 n}{\partial x^2}$ e $D_b \frac{\partial^2 b}{\partial x^2}$ representam os termos de difusão em 1D para o nutriente e para a bactéria, respectivamente, onde D_n é o coeficiente de difusão do nutriente e D_b é o coeficiente de difusão da bactéria.

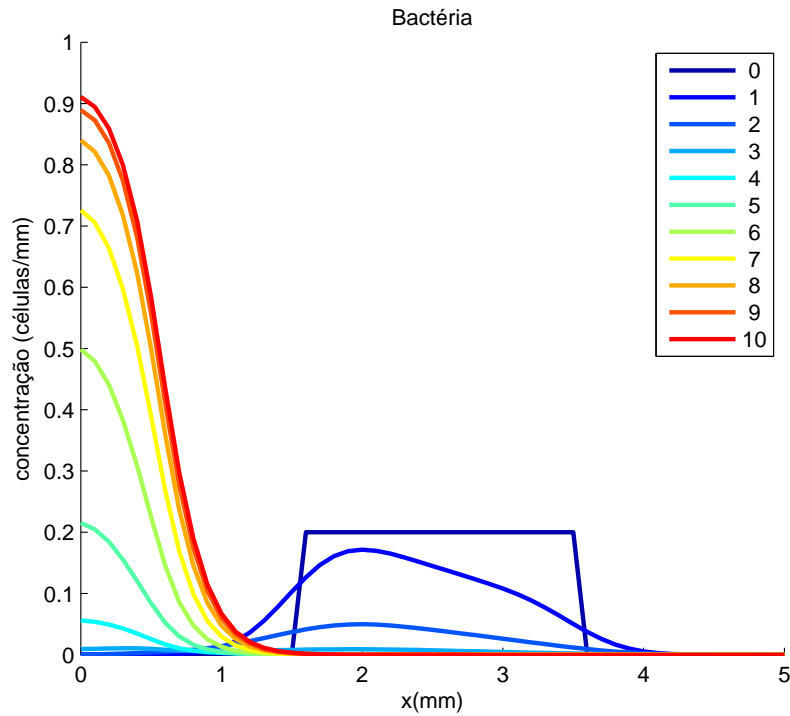


Figura 15 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.

Nas simulações computacionais foi assumido um domínio 1D de tamanho 5 mm e um tempo de simulação de 10 dias. As discretizações no espaço e no tempo são: $\delta x = 0.1$ e $\delta t = 10^{-6}$. As bactérias foram colocadas inicialmente na região $1.5 \leq x \leq 3.5$ e foi considerado um gradiente inicial da concentração de nutrientes com $n = 1$ no ponto $x = 0$ decaindo até zero no ponto $x = 5$.

Os resultados da simulação mostrados nas Figuras 15 e 16 ilustram os dois comportamentos que podem ser obtidos com o modelo: a sobrevivência da bactéria nos pontos onde há suprimento de nutriente e a extinção da bactéria na ausência desse.

O fato do modelo exibir dois comportamentos distintos, dependendo da presença ou não de nutrientes, permite que esse modelo reproduza a formação da colônia de bactérias espacialmente.

Os valores dos parâmetros utilizados são: $s = 3$, $a_1 = 1$, $a_2 = 0.8$, $r = 5$, $m = 2$, $D_b = 0.05$, e $D_n = 0.1$.

É importante destacar que esse modelo não será utilizado como base para os próximos modelos que serão apresentados neste trabalho, pois optou-se por não incorporar a dinâmica do nutriente nos modelos de formação de abscessos com o intuito de evitar adicionar mais complexidade a esses modelos. Essa escolha permitiu focar em outras características que são importantes para a formação do abscesso como, por exemplo, a formação da rede de fibrina ao redor da colônia de bactérias, que será estudada no próximo

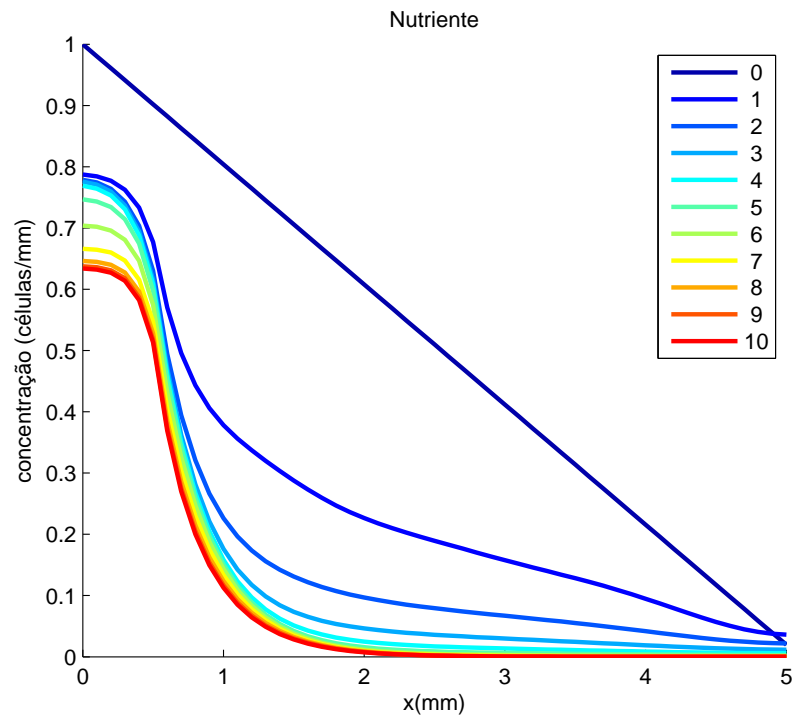


Figura 16 – Distribuição espacial da concentração de nutrientes.

modelo.

5.1.2 Modelo bactéria-fibrina

Um primeiro modelo estudado que envolve algumas características observadas nos abscessos é o modelo da interação entre bactéria e fibrina. Esse modelo tem como objetivo reproduzir a formação da rede de fibrina ao redor da colônia de bactérias, processo esse que foi descrito de forma mais detalhada na Seção 2.3.1.

O modelo que será desenvolvido é um modelo matemático-computacional simplificado que produz um padrão formado por 3 regiões distintas:

1. uma região central da colônia de bactérias contendo elevadas concentrações destas;
2. uma região ao redor da colônia de bactérias composta apenas por fibrina e formando uma rede, uma barreira protetora;
3. e uma região que representa a *interface* entre as duas anteriores contendo ambas bactéria e fibrina.

O modelo matemático é composto pelo seguinte conjunto de EDOs:

$$\begin{aligned}\frac{df}{dt} &= k.f.b.g_f(f, b) \\ \frac{db}{dt} &= r.b.g_b(f, b)\end{aligned}\tag{5.16}$$

No sistema de equações 5.16, o termo $k.f.b.g_f(f, b)$ denota a produção da fibrina, onde k é a taxa de produção/formação da fibrina. O termo $r.b.g_b(f, b)$ denota o processo de replicação da bactéria, onde r é a taxa de replicação. As funções $g_f(f, b)$ e $g_b(f, b)$ são as funções g de saturação da fibrina e da bactéria, respectivamente, e retornam a quantidade de espaço livre em uma região discretizada do domínio (a região discretizada refere-se a um ponto no caso 1D e a uma área no caso 2D).

O uso dessa função g é motivado por alguns conceitos biológicos importantes como *quorum sensing/volume sensing* (PAINTER; HILLEN, 2002; PAINTER; SHERRATT, 2003; BYRNE; OWEN, 2004; PAINTER, 2009; WANG, 2012). Esses conceitos se referem à capacidade das células de “sentirem” a densidade de células ao seu redor e mudarem seu comportamento em regiões com grandes concentrações de células (PAINTER; HILLEN, 2002; PAINTER; SHERRATT, 2003). No contexto dos modelos matemáticos desenvolvidos neste trabalho, a função g é usada para limitar a concentração máxima de células que é suportada por uma região discretizada do domínio.

A função g pode ser definida de forma genérica como:

$$g(w(x)) = 1 - \frac{w(x)}{total(x)};\tag{5.17}$$

Onde $w(x)$ representa a soma das concentrações de todos os tipos de células que ocupam uma determinada região discretizada x do domínio e $total(x)$ é um valor constante que representa a concentração limite/máxima suportada por cada região discretizada x . O $total(x)$ pode ser diferente para cada região x do espaço, mas neste trabalho considera-se, por questões de simplicidade, que o $total$ é igual para todas as regiões discretizadas do domínio, isto é, $total(x)$ é o mesmo para todo x . Além disso, considera-se $total(x) = 1$ para todo x , pois trabalha-se com concentrações normalizadas.

No caso do modelo bactéria-fibrina, as funções g de saturação são dadas pelas seguintes equações:

$$\begin{aligned}g_f(f, b) &= 1 - (a_1.b + a_2.f) \\ g_b(f, b) &= 1 - (c_1.b + c_2.f)\end{aligned}\tag{5.18}$$

Na primeira equação, a_1 é a influência que a bactéria tem no crescimento da fibrina e a_2 é a influência que a própria fibrina tem no crescimento dela.

Na segunda equação, c_1 representa a influência que a concentração de bactérias tem no crescimento da colônia. E c_2 é um parâmetro importante que representa a taxa com que a fibrina inibe o crescimento da colônia de bactérias. Os parâmetros a_1 , a_2 , c_1 e c_2 são chamados pesos da função de saturação.

Substituindo as equações 5.18 no sistema 5.16 obtém-se:

$$\begin{aligned}\frac{df}{dt} &= k.f.b.(1 - a_1.b - a_2.f) \\ \frac{db}{dt} &= r.b.(1 - c_1.b - c_2.f)\end{aligned}\tag{5.19}$$

Este modelo matemático é baseado nas seguintes hipóteses:

- o processo de formação da fibrina é modelado por uma equação logística modificada;
- a equação logística foi modificada pela adição de um novo termo de saturação, a função g (para a bactéria g_b e para a fibrina g_f);
- o uso da função g é motivado pelo fato de que células/moléculas/substâncias que compartilham um determinado espaço, interagem o tempo inteiro através de estímulos, inibições. Essas interações podem resultar em uma disputa por recursos vitais, como, por exemplo, uma disputa por espaço (PAINTER; SHERRATT, 2003);
- a função g permite que uma população influencie a dinâmica de todas as outras e que seja influenciada por todas as outras populações. Essa influência poderia ocorrer, por exemplo, através da inibição do crescimento ou da inibição de outros processos;
- o processo de formação da fibrina é influenciado pela bactéria;
- o processo de replicação da bactéria é influenciado pela fibrina;
- considera-se que o domínio simulado comporta um número limitado de células, moléculas e esse número é igual a 1, pois considera-se concentrações normalizadas.

Será realizada uma análise de estabilidade do modelo com o intuito de entender e enumerar todos os tipos de evolução de longo prazo do modelo. Essa análise é de fundamental importância para se determinar a combinação de condições iniciais e valores dos parâmetros que permitem ao modelo obter o comportamento desejado.

Dado o sistema 5.19, igualam-se as derivadas a zero e obtém-se os seguintes pontos de equilíbrio:

$$\left\{ f = 0, b = 0 \right\}, \left\{ f = \bar{f}, b = 0 \right\}, \left\{ f = 0, b = \frac{1}{c_1} \right\},$$

$$\left\{ f = \frac{a_1 - c_1}{a_1 \cdot c_2 - a_2 \cdot c_1}, b = \frac{c_2 - a_2}{a_1 \cdot c_2 - a_2 \cdot c_1} \right\} \quad (5.20)$$

\bar{f} representa o conjunto de pontos de equilíbrio na reta $b = 0$ cujo os valores de f estão acima de um limiar. Esse limiar depende dos valores dos parâmetros. Por exemplo, para o conjunto de valores dos parâmetros utilizados no Plano de Fases da Figura 17, esse limiar é aproximadamente 0.25.

O jacobiano do sistema é:

$$J = \begin{bmatrix} -k \cdot b^2 \cdot a_1 - 2 \cdot k \cdot b \cdot f \cdot a_2 + k \cdot b & -2 \cdot k \cdot b \cdot f \cdot a_1 - k \cdot f^2 \cdot a_2 + k \cdot f \\ -r \cdot b \cdot c_2 & -2 \cdot r \cdot b \cdot c_1 - r \cdot c_2 \cdot f + r \end{bmatrix} \quad (5.21)$$

Inicialmente será analisada a estabilidade do ponto de equilíbrio $\{f = 0, b = 0\}$.

O determinante do jacobiano calculado nesse ponto de equilíbrio é dado por:

$$Det(J) = 0 \quad (5.22)$$

Como $Det(J) = 0$, será analisado o sinal do traço para determinar a estabilidade do ponto de equilíbrio.

$$Tr(J) = r \quad (5.23)$$

Como $Tr(J) > 0$, conclui-se que o ponto $\{f = 0, b = 0\}$ é um ponto instável do tipo fonte.

Para o segundo ponto de equilíbrio $\{f = \bar{f}, b = 0\}$, os valores do determinante e do traço são dados por:

$$Det(J) = 0$$

$$Tr(J) = r \cdot (1 - c_2 \cdot f) \quad (5.24)$$

Como $Det(J) = 0$, será analisado o sinal do traço para verificar a estabilidade desse ponto de equilíbrio. O traço será negativo quando $c_2 \cdot f > 1$ e, nesse caso, esse ponto de equilíbrio será estável.

A partir dessa condição observa-se que dependendo da influência da fibrina no crescimento da bactéria, isto é, dependendo do valor do produto da concentração de fibrina f pelo seu peso c_2 , a bactéria não consegue crescer nos locais com a concentração de fibrina suficientemente grande para que ocorra a inibição desse crescimento.

Os seguintes valores são obtidos para o determinante e o traço do sistema no terceiro ponto de equilíbrio $\{f = 0, b = \frac{1}{c_1}\}$:

$$\begin{aligned} Det(J) &= \frac{k.r.(a_1 - c_1)}{c_1^2} \\ Tr(J) &= \frac{-c_1^2.r - k.a_1 + k.c_1}{c_1^2} \end{aligned} \quad (5.25)$$

Observa-se que o $Det(J)$ é maior do que zero quando $a_1 > c_1$. Essa restrição indica que para que esse ponto de equilíbrio seja um ponto estável, a influência da bactéria no crescimento da fibrina tem que ser maior do que em seu próprio crescimento. O $Tr(J)$ é menor do que zero quando $\frac{c_1.r}{k} + \frac{a_1}{c_1} > 1$. Se $a_1 > c_1$ temos ambas as condições satisfeitas, isto é, $Det(J) > 0$ e $Tr(J) < 0$ para esse ponto de equilíbrio e, conseqüentemente, esse ponto será estável.

Para que o quarto ponto de equilíbrio $\{f = \frac{a_1 - c_1}{a_1.c_2 - a_2.c_1}, b = \frac{c_2 - a_2}{a_1.c_2 - a_2.c_1}\}$ seja um ponto factível, ou seja, para que $f > 0$ e $b > 0$, as seguintes condições devem ser satisfeitas:

$$\begin{aligned} c_2 &> a_2 \\ a_1 &> c_1 \\ a_1.c_2 &> a_2.c_1 \end{aligned} \quad (5.26)$$

Obtém-se os seguintes valores do traço e do determinante para esse ponto de equilíbrio:

$$\begin{aligned} Det(J) &= \frac{-k.r.(a_2 - c_2)^2.(a_1 - c_1)}{(a_1.c_2 - a_2.c_1)^2} \\ Tr(J) &= \frac{(a_2 - c_2).(a_1.c_1.c_2.r - a_2.c_1^2.r + a_1.a_2.k - a_2.c_1.k)}{(a_1.c_2 - a_2.c_1)^2} \end{aligned} \quad (5.27)$$

Observa-se que o $Det(J) > 0$ quando $c_1 > a_1$, mas isto vai de encontro à segunda condição em 5.26, então $Det(J) < 0$. Logo esse ponto de equilíbrio é um ponto de sela.

O fato desse ponto de equilíbrio em que bactéria e fibrina coexistem não ser um ponto estável tem implicações importantes para o modelo. Uma consequência direta desse fato é que para conseguir uma região estável com bactéria e fibrina coexistindo deve-se

recorrer a outros mecanismos no modelo espacial. Esses mecanismos serão apresentados e discutidos na próxima seção.

No Plano de Fases desse modelo (Figura 17) pode-se observar que dependendo da condição inicial do sistema chega-se a dois estados de equilíbrio estáveis: 1) um estado onde a bactéria cresce até sua capacidade de suporte ($\{f = 0, b = 1\}$); e 2) um estado onde a fibrina impede o crescimento da bactéria (o conjunto de pontos estáveis em $b = 0$). A essa característica do modelo (presença de dois equilíbrios estáveis) dá-se o nome de biestabilidade. A biestabilidade é um fenômeno que indica que o sistema pode assumir dois estados diferentes para um mesmo conjunto de parâmetros. A biestabilidade é uma característica muito importante desse modelo que o permite, junto com outras características (processos de difusão 5.29 e quimiotaxia 5.31 modificados) que serão explicadas a seguir, reproduzir espacialmente a formação da colônia de bactérias cercada por uma rede de fibrina.

A biestabilidade aparece em diversos sistemas biológicos como, por exemplo, em um modelo que descreve a dinâmica de duas espécies competindo entre si em um habitat com recursos limitados. Sob competição forte, o sistema possui dois equilíbrios assintoticamente estáveis que correspondem cada um a extinção de uma das espécies, e também um ponto de sela e um ponto de fonte, também chamado repulsor (FASSONI; TAKAHASHI; SANTOS, 2014). Nesse modelo de competição, quanto maior é a taxa de competição interespecífica de uma espécie, maior é a região de estabilidade que corresponde a predominância da mesma (FASSONI; TAKAHASHI; SANTOS, 2014).

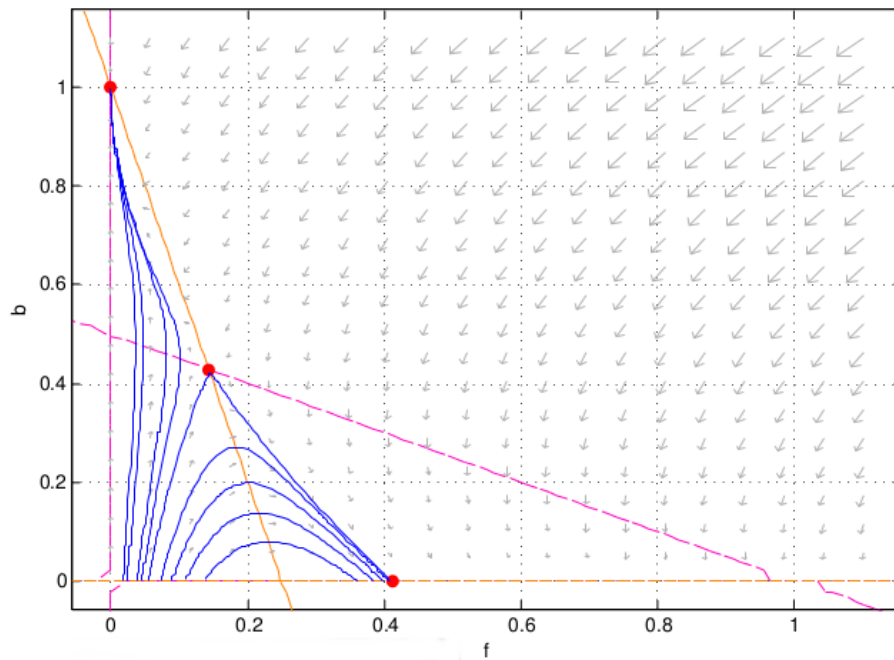


Figura 17 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.1429, 0.4286\}$ é sela, $\{0.4116, 0\}$ e $\{0, 1\}$ são sumidouros. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{df}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $k = 5$, $a_1 = 2$, $a_2 = 1$, $r = 2.5$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$.

5.1.2.1 Simulações em 1D

Com o objetivo de entender o comportamento do modelo bactéria-fibrina na dimensão espacial, o processo de difusão em 1D é acrescentado às EDOs, e adicionalmente algumas simulações espaciais foram realizadas.

O sistema resultante de EDPs é dado por:

$$\begin{aligned}
 \frac{\partial f}{\partial t} &= k \cdot f \cdot b \cdot g_f(f, b) + D_f \frac{\partial^2 f}{\partial x^2} \\
 f(x, 0) &= f_0, \quad \frac{\partial f(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \\
 \\
 \frac{\partial b}{\partial t} &= r \cdot b \cdot g_b(f, b) + D_b \frac{\partial^2 b}{\partial x^2} \\
 b(x, 0) &= b_0, \quad \frac{\partial b(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0
 \end{aligned} \tag{5.28}$$

Nas simulações foi assumido um domínio unidimensional de tamanho 5 mm e um tempo de simulação de 10 dias. As discretizações no espaço e no tempo são: $\delta x = 0.1$ e $\delta t = 10^{-8}$. As bactérias foram colocadas inicialmente na região $2.2 \leq x \leq 2.8$. Consideramos que inicialmente a fibrina possui uma concentração homogênea por todo o tecido.

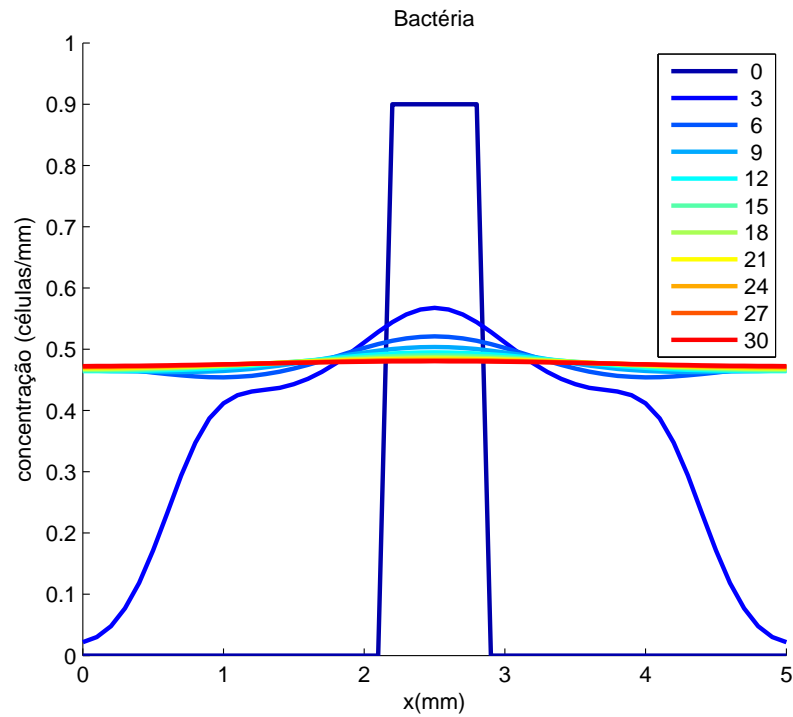


Figura 18 – Distribuição espacial da concentração de bactéria. Valores dos parâmetros: $k = 5$, $D_f = 0.5$, $X_f = 5$, $a_1 = 1$, $a_2 = 2$, $r = 2.5$, $D_b = 0.05$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$.

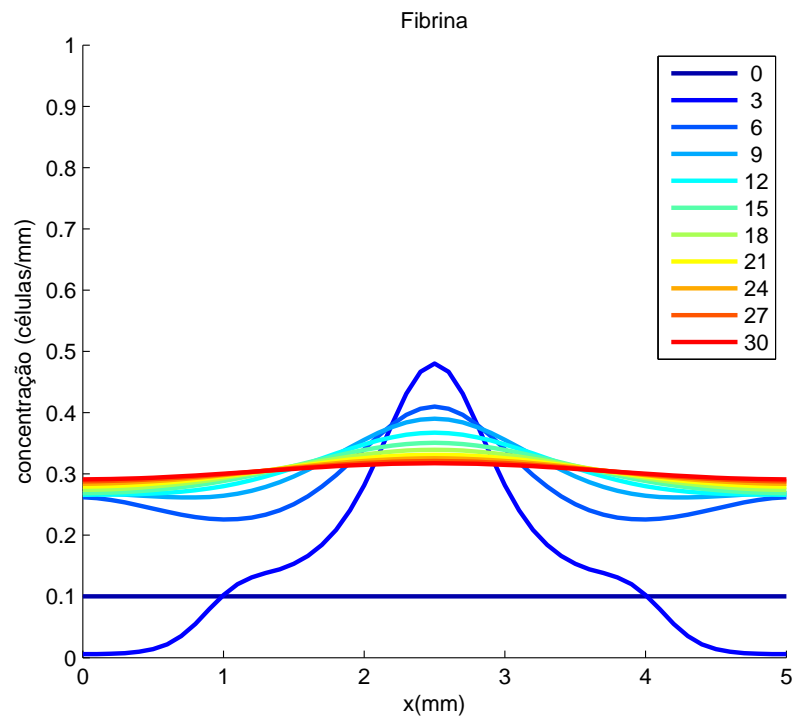


Figura 19 – Distribuição espacial da concentração de fibrina. Valores dos parâmetros: $k = 5$, $D_f = 0.5$, $X_f = 5$, $a_1 = 1$, $a_2 = 2$, $r = 2.5$, $D_b = 0.05$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$.

Observa-se na Figura 18 que, à medida que o tempo passa, a bactéria começa a se difundir pelo tecido e a produção de fibrina aumenta (Figura 19). Mesmo com a presença da fibrina, a bactéria move-se livremente pelo tecido. Isto ocorre devido ao fato de que não foi imposta nenhuma limitação ao movimento da bactéria. Uma forma de contornar esse problema é através do uso de um operador de difusão modificado.

O operador de difusão modificado (Equação 5.29) foi desenvolvido por Kevin J. Painter e Jonathan A. Sherratt (PAINTER; SHERRATT, 2003) motivado pelo fato de que as células possuem uma dificuldade de movimentação em regiões com grandes concentrações de células:

$$dif(b, g_b(f, b)) = \frac{\partial}{\partial x} \left(g_b(f, b) \cdot \frac{\partial b}{\partial x} - b \cdot \frac{\partial g_b(f, b)}{\partial x} \right) \quad (5.29)$$

O uso desse operador de difusão modificado permite: 1- limitar o número de células que podem ocupar ao mesmo tempo uma mesma região discretizada do domínio e 2- reduzir a eficiência do processo de difusão em regiões com grandes concentrações de células (PAINTER; SHERRATT, 2003).

Observa-se na equação 5.29 que a difusão é influenciada pela quantidade de espaço disponível no tecido através do emprego da função g . Quanto menor a quantidade de espaço disponível, isto é, quanto menor o valor retornado pela função g , menor será a difusão, até se chegar a um momento onde as células não conseguem mais difundir ($g_b(f, b) = 0$ e $\frac{\partial g_b(f, b)}{\partial x} = 0$). Nessa situação, a posição do tecido em questão está saturada, não havendo mais nenhum espaço disponível naquele local.

Será mostrado que esse novo processo de difusão é muito relevante para reproduzir a formação do abscesso espacialmente. Para isso, seja o sistema de equações dado abaixo:

$$\begin{aligned} \frac{\partial f}{\partial t} &= k \cdot f \cdot b \cdot g_f(f, b) + D_f \cdot dif(f, g_f(f, b)) \\ f(x, 0) &= f_0, \quad \frac{\partial f(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \\ \frac{\partial b}{\partial t} &= r \cdot b \cdot g_b(f, b) + D_b \cdot dif(b, g_b(f, b)) \\ b(x, 0) &= b_0, \quad \frac{\partial b(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \end{aligned} \quad (5.30)$$

Os resultados obtidos com a simulação desse modelo são mostrados nas Figuras 20 e 21. Observa-se que nesse caso a bactéria (Figura 20) já não consegue mais se difundir por todo o tecido, pois seu movimento está sendo contido pela fibrina (Figura 21). A fibrina, por sua vez, se difunde pouco para dentro da colônia de bactérias. Apesar da fibrina ter sido capaz de conter a frente de onda da bactéria, esse processo demorou a

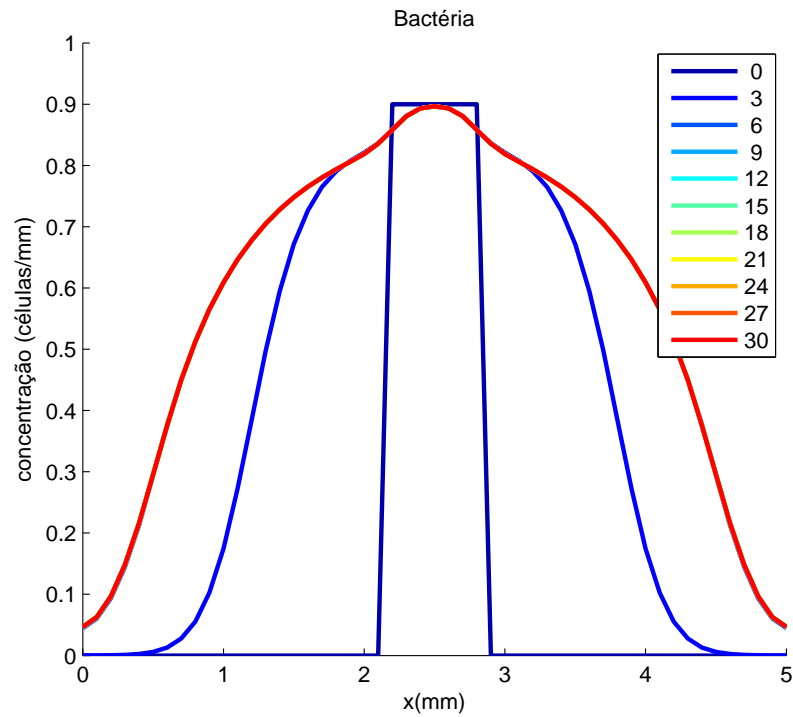


Figura 20 – Distribuição espacial da concentração de bactéria. Valores dos parâmetros: $k = 5$, $D_f = 0.5$, $a_1 = 1$, $a_2 = 2$, $r = 1$, $D_b = 0.05$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$.

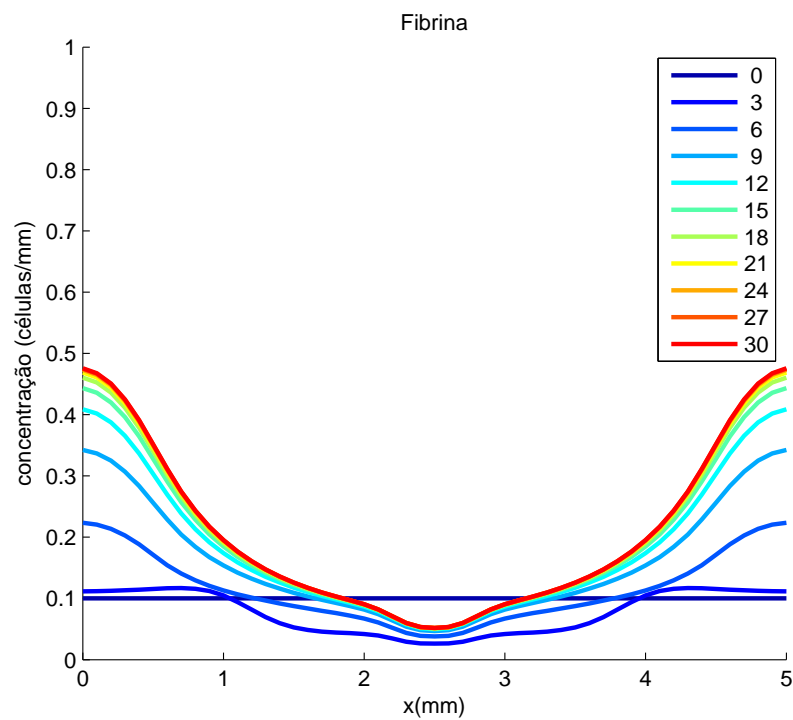


Figura 21 – Distribuição espacial da concentração de fibrina. Valores dos parâmetros: $k = 5$, $D_f = 0.5$, $a_1 = 1$, $a_2 = 2$, $r = 1$, $D_b = 0.05$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$.

ocorrer e permitiu que a bactéria se espalhasse por uma grande área. Uma frente de onda é a região do espaço que reúne todos os pontos da onda que estão em fase e a um mesmo número de comprimentos de onda da fonte geradora da onda.

Esse resultado pode ser melhorado considerando-se um processo de quimiotaxia, onde a fibrina se movimenta em direção ao gradiente de concentração da bactéria. A ideia desse processo de quimiotaxia é simular a formação da rede de fibrina ao redor da colônia de bactérias, havendo neste caso uma concentração de fibrina maior nas regiões mais próximas da colônia.

O processo de quimiotaxia da fibrina em direção ao gradiente da bactéria é modelado da seguinte forma (PAINTER; SHERRATT, 2003):

$$\text{chemotaxis}(f, b, g_f(f, b)) = X_f \nabla \cdot \left(f \cdot g_f(f, b) \cdot \frac{\partial b}{\partial x} \right) \quad (5.31)$$

Onde X_f é a taxa de quimiotaxia da fibrina, f é a concentração de fibrina, b é a concentração de bactérias e $g_f(f, b)$ é a função de saturação da fibrina.

Observa-se também, neste caso, a presença da função $g_f(f, b)$ limitando o processo de quimiotaxia, impedindo desta forma que a fibrina se forme mais no interior da colônia de bactérias.

Após a inclusão da quimiotaxia, o novo sistema de EDPs é dado por:

$$\begin{aligned} \frac{\partial f}{\partial t} &= k \cdot f \cdot b \cdot g_f(f, b) + D_f \cdot \text{dif}(f, g_f(f, b)) - X_f \nabla \cdot \left(f \cdot g_f(f, b) \frac{\partial b}{\partial x} \right) \\ f(x, 0) &= f_0, \quad \frac{\partial f(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \\ \frac{\partial b}{\partial t} &= r \cdot b \cdot g_b(f, b) + D_b \cdot \text{dif}(b, g_b(f, b)) \\ b(x, 0) &= b_0, \quad \frac{\partial b(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \end{aligned} \quad (5.32)$$

Os resultados após a inclusão da quimiotaxia são mostrados nas Figuras 22 e 23. Nesse caso, podemos observar que a fibrina conseguiu rapidamente parar a frente de onda da bactéria (Figura 22). E houve um maior acúmulo de fibrina nas regiões mais próximas da colônia de bactérias (Figura 23).

Observa-se que esse modelo foi capaz de reproduzir um grande acúmulo de fibrina ao redor da colônia de bactérias como observado nas imagens de histologia (Figuras 3, 5 e 6).

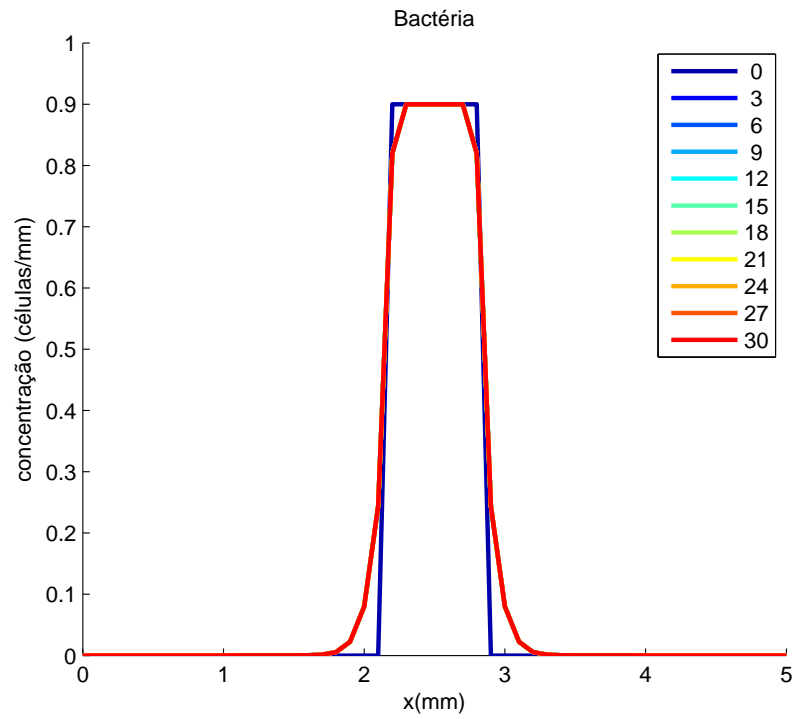


Figura 22 – Distribuição espacial da concentração de bactéria. Valores dos parâmetros: $k = 5$, $D_f = 0.5$, $X_f = 5$, $a_1 = 1$, $a_2 = 2$, $r = 2.5$, $D_b = 0.05$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$.

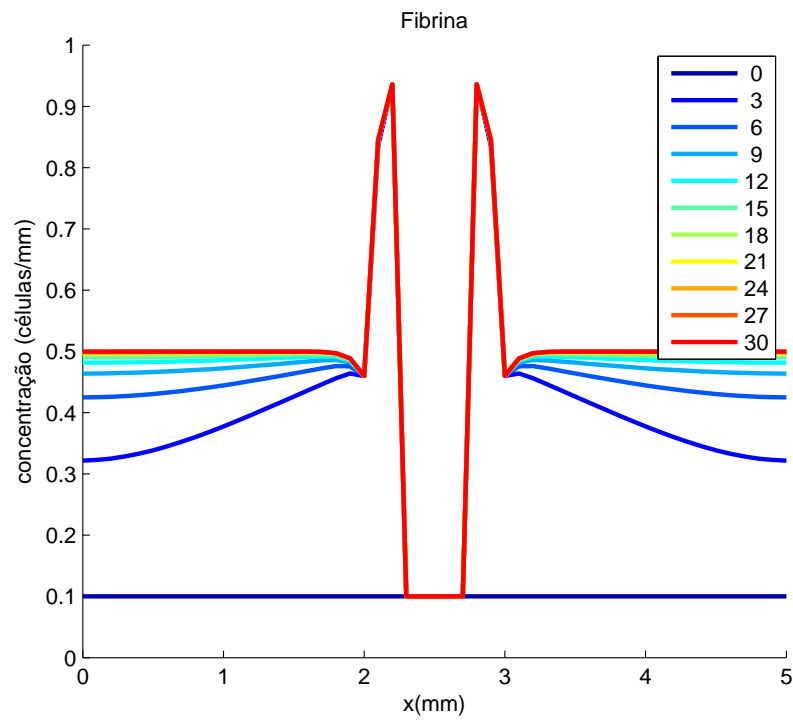


Figura 23 – Distribuição espacial da concentração de fibrina. Valores dos parâmetros: $k = 5$, $D_f = 0.5$, $X_f = 5$, $a_1 = 1$, $a_2 = 2$, $r = 2.5$, $D_b = 0.05$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$.

5.1.3 Modelo bactéria-neutrófilo

O modelo da interação bactéria-neutrófilo é muito semelhante ao modelo da interação bactéria-fibrina (Equação 5.16). Destaca-se que a migração de neutrófilos para o tecido pode ser modelada de forma semelhante à produção de fibrina. O aumento no número de neutrófilos no tecido depende de ambas as concentrações de bactéria e de neutrófilo e, de forma análoga, no caso da fibrina, o aumento na produção de fibrina depende das concentrações de bactéria e fibrina.

Com o modelo bactéria-neutrófilo, espera-se reproduzir os seguintes cenários:

1. uma resposta imune bem-sucedida com a completa eliminação das bactérias pelos neutrófilos;
2. uma resposta imune deficiente, tendo como consequência a formação de várias colônias de bactérias, originando diversos locais infectados;
3. uma resposta imune um pouco enfraquecida e uma bactéria mais bem-sucedida em infectar algumas regiões do tecido, sendo completamente eliminada em outras.

O modelo da interação bactéria-neutrófilo é formado pelo seguinte conjunto de equações:

$$\begin{aligned} \frac{dn}{dt} &= s.b.n.g_n(b, n) \\ \frac{db}{dt} &= (r.b - l.n.b).g_b(b, n) \end{aligned} \quad (5.33)$$

O produto $b.n$ no termo $s.b.n.g_n(b, n)$, que modela a migração de neutrófilos para o tecido, pode ser interpretado como a produção de citocina pró-inflamatória e essa citocina teria o efeito de atrair mais neutrófilos para o local da infecção. Por questões de simplicidade, nesse modelo não consideramos explicitamente citocinas pró-inflamatórias. Elas são consideradas no modelo mais completo desenvolvido neste trabalho.

Nesse modelo, apenas um novo processo é acrescentado: a fagocitose da bactéria, que é representada pelo termo $l.n.b$ no sistema de equações 5.33.

O termo $s.b.n.g_n(b, n)$ representa a migração dos neutrófilos para o tecido infectado. $r.b.g_b(b, n)$ representa a replicação da bactéria e $l.n.b.g_b(b, n)$ representa a fagocitose da bactéria.

O modelo possui duas funções de saturação diferentes para a bactéria ($g_b(b, n)$) e para o neutrófilo ($g_n(b, n)$). As funções de saturação são dadas por:

$$\begin{aligned}g_b(b, n) &= 1 - c_1.b - c_2.n \\g_n(b, n) &= 1 - d_1.b - d_2.n\end{aligned}\tag{5.34}$$

Substituindo 5.34 em 5.33, o sistema de equações fica:

$$\begin{aligned}\frac{dn}{dt} &= (s.b.n).(1 - d_1.b - d_2.n) \\ \frac{db}{dt} &= (r.b - l.n.b).(1 - c_1.b - c_2.n)\end{aligned}\tag{5.35}$$

Os parâmetros do modelo são:

- r é a taxa de replicação da bactéria;
- l é a taxa de fagocitose;
- c_1 é a influência da bactéria em seu próprio crescimento;
- c_2 é a influência dos neutrófilos no crescimento da bactéria;
- s é a taxa de migração de neutrófilos para o tecido;
- d_1 é a influência da bactéria no crescimento do neutrófilo;
- d_2 é a influência do neutrófilo em seu próprio crescimento.

Com exceção do termo de fagocitose introduzido, todos os outros termos são análogos aos termos do modelo bactéria-fibrina. De fato, ao considerarmos l pequeno obtemos o Plano de Fases que pode ser visto na Figura 24, muito semelhante ao obtido com o modelo bactéria-fibrina (Figura 17).

Observa-se nesse Plano de Fases (Figura 24), assim como no Plano de Fases do modelo bactéria-fibrina (Figura 17), a presença do fenômeno da biestabilidade no qual para um mesmo conjunto de parâmetros o sistema exibe dois estados de equilíbrio estáveis. O 1º estado é representado por um ponto de equilíbrio onde a bactéria domina o tecido (com $n = 0$) e o 2º estado é representado por um conjunto de pontos na reta $b = 0$, que representam a completa eliminação das bactérias pelos neutrófilos.

A seguir será analisada com mais detalhes a estabilidade desse modelo. Os seguintes pontos de equilíbrio foram obtidos para esse modelo:

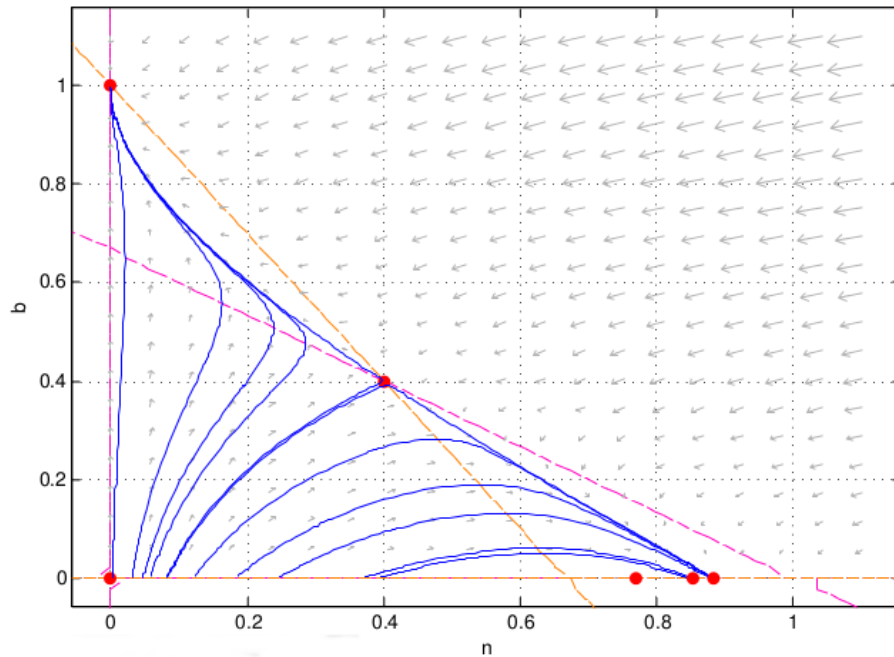


Figura 24 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 0\}$ e $\{0.4, 0.4\}$ são selas. $\{0, 1\}$, $\{0.78, 0\}$, $\{0.82, 0\}$ e $\{0.83, 0\}$ são estáveis do tipo sumidouro. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 10$, $r = 2.5$, $l = 0.05$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1.5$, $d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$.

$$\left\{ n = \bar{n}, b = 0 \right\}, \left\{ n = 0, b = \frac{1}{c_1} \right\}, \left\{ n = \frac{r}{l}, b = \frac{l - d_2 \cdot r}{d_1 \cdot l} \right\},$$

$$\left\{ n = \frac{c_1 - d_1}{d_2 \cdot c_1 - c_2 \cdot d_1}, b = -\frac{c_2 - d_2}{d_2 \cdot c_1 - c_2 \cdot d_1} \right\} \quad (5.36)$$

\bar{n} representa um conjunto de pontos de equilíbrio na reta $b = 0$ cujos valores de n estão acima de um limiar. Esse limiar depende dos valores dos parâmetros. Por exemplo, para o conjunto de valores dos parâmetros utilizados no Plano de Fases da Figura 24, esse limiar é aproximadamente 0.67.

O determinante e o traço calculados para o ponto de equilíbrio $\{n = \bar{n}, b = 0\}$ são iguais a:

$$\begin{aligned} \text{Det}(J) &= 0 \\ \text{Tr}(J) &= (r - l \cdot n) \cdot (1 - c_2 \cdot n) \end{aligned} \quad (5.37)$$

Como $\text{Det}(J) = 0$ o sinal do traço deve ser analisado para se determinar a estabilidade. Observa-se que $\text{Tr}(J) < 0$ quando $l \cdot n > r$ e $c_2 \cdot n < 1$ ou $c_2 \cdot n > 1$ e $l \cdot n < r$. Caso uma dessas condições seja satisfeita, esse ponto de equilíbrio será um ponto estável.

Para o segundo ponto de equilíbrio $\{n = 0, b = \frac{1}{c_1}\}$ os valores do traço e do determinante são:

$$\begin{aligned} Det(J) &= \frac{-r.s.(c_1 - d_1)}{c_1^2} \\ Tr(J) &= \frac{-(r.c_1^2 - s.c_1 + s.d_1)}{c_1^2} \end{aligned} \quad (5.38)$$

O $Det(J) > 0$ quando $d_1 > c_1$. E o $Tr(J) < 0$ quando $r.c_1^2 + s.d_1 > s.c_1$. Se a condição do determinante for satisfeita, isto é, $d_1 > c_1$, então a condição do traço também será, pois $s.d_1 > s.c_1$. Nesse caso esse ponto de equilíbrio será estável.

Para o ponto de equilíbrio $\{n = \frac{r}{l}, b = \frac{l-d_2.r}{d_1.l}\}$, os seguintes valores do traço e do determinante foram encontrados:

$$\begin{aligned} Det(J) &= -\frac{s.r(-l + d_2.r)^2(r.c_1.d_2 - r.d_1.c_2 - l.c_1 + l.d_1)}{d_1^2.l^3} \\ Tr(J) &= \frac{s.r.d_2(d_2.r - l)}{l^2.d_1} \end{aligned} \quad (5.39)$$

Para que $Det(J) > 0$, deve-se ter $r.d_1.c_2 + l.c_1 > r.c_1.d_2 + l.d_1$. Essa condição pode ser satisfeita nas seguintes situações: $c_1 > d_1$, $c_2 > d_2$ e $l > r$ ou $d_1 > c_1$, $c_2 > d_2$ e $r > l$.

O $Tr(J) < 0$ quando $l > d_2.r$. Para que esse ponto de equilíbrio seja factível ($b > 0$), deve-se ter $l > d_2.r$. Caso essa condição e a condição do determinante forem satisfeitas, esse ponto de equilíbrio será um ponto estável.

Para o ponto de equilíbrio $\{n = \frac{c_1-d_1}{d_2.c_1-c_2.d_1}, b = -\frac{c_2-d_2}{d_2.c_1-c_2.d_1}\}$, temos os seguintes valores do traço e do determinante:

$$\begin{aligned} Det(J) &= \frac{(c_2 - d_2)^2 s(c_1 - d_1)(r.c_1.d_2 - r.d_1.c_2 - l.c_1 + l.d_1)}{(c_1.d_2 - c_2.d_1)^3} \\ Tr(J) &= \frac{(c_2 - d_2)(d_2.c_1.s + c_1.l.d_1 + r.c_1^2.d_2 - c_1.r.d_1.c_2 - l.c_1^2 - d_2.s.d_1)}{(c_1.d_2 - c_2.d_1)^2} \end{aligned} \quad (5.40)$$

Para que esse ponto seja factível ($b, n > 0$) as seguintes condições devem ser satisfeitas:

$$c_1.d_2 > c_2.d_1, c_1 > d_1 \text{ e } d_2 > c_2$$

Para que $Det(J) > 0$, deve-se ter $r.c_1.d_2 + l.d_1 > r.d_1.c_2 + l.c_1$. E para que $Tr(J) < 0$, duas condições devem ser satisfeitas:

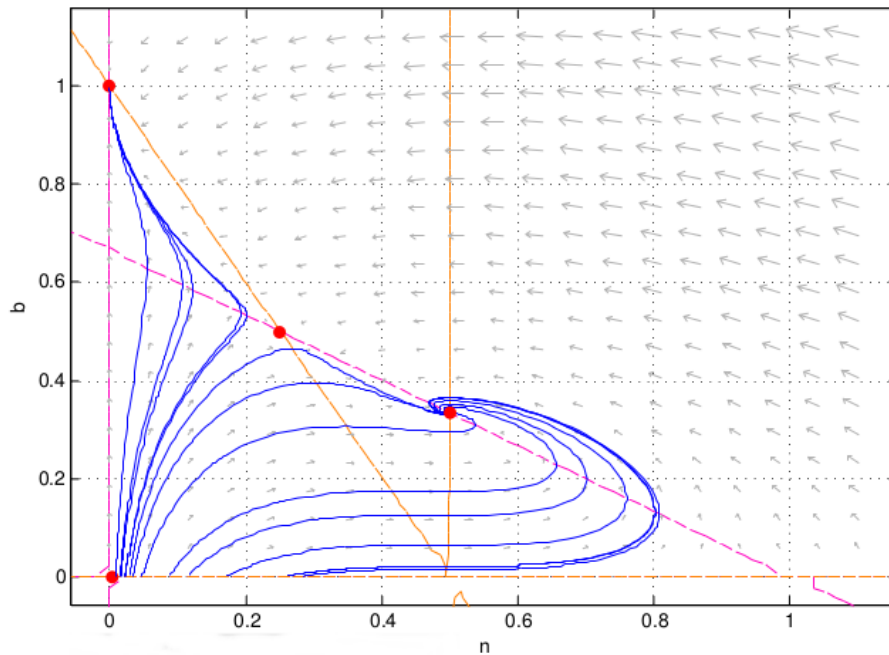


Figura 25 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 0\}$ é instável do tipo fonte e $\{0.25, 0.5\}$ é sela. $\{0, 1\}$ é estável do tipo sumidouro e $\{0.5, 0.333\}$ também é estável do tipo espiral sumidouro. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 10$, $r = 2.5$, $l = 5$, $c_1 = 1$, $c_2 = 2$, $d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$.

1. $d_2 > c_2$;
2. $d_2 \cdot s \cdot c_1 + l \cdot c_1 \cdot d_1 + r \cdot c_1^2 \cdot d_2 > r \cdot c_1 \cdot d_1 \cdot c_2 + l \cdot c_1^2 + d_2 \cdot s \cdot d_1$.

Observa-se que essas condições são bem mais complexas do que as dos pontos de equilíbrio anteriores e que o intervalo de valores dos parâmetros para os quais essas condições são satisfeitas é bem restrito.

Algumas análises dos pontos de equilíbrio feitas anteriormente serão retomadas agora para a análise dos planos de fases.

Relembrando a condição do traço para o ponto de equilíbrio $\{n = \bar{n}, b = 0\}$: $l \cdot n > r$ e $c_2 \cdot n < 1$ ou $c_2 \cdot n > 1$ e $l \cdot n < r$. Colocando as duas primeiras desigualdades em função de n , obtém-se as seguintes condições: $n > \frac{r}{l}$ e $n < \frac{1}{c_2}$, isto é, $\frac{r}{l} < n < \frac{1}{c_2}$. Dependendo dos valores dos parâmetros essa condição pode não ser satisfeita. Por exemplo, para os valores $r = 2.5$, $l = 5$ e $c_2 = 2$, essa condição não é satisfeita, pois $0.5 < n < 0.5$. Nesse caso, o sistema não exhibe mais pontos de equilíbrio estáveis com $b = 0$ como pode ser visto no Plano de Fases da Figura 25. Observa-se nesse caso que além do ponto $\{0, 1\}$, o ponto $\{0.5, 0.333\}$ atrai diversas trajetórias do sistema.

Para que a condição $\frac{r}{l} < n < \frac{1}{c_2}$ passe a ser satisfeita, podemos fazer algumas

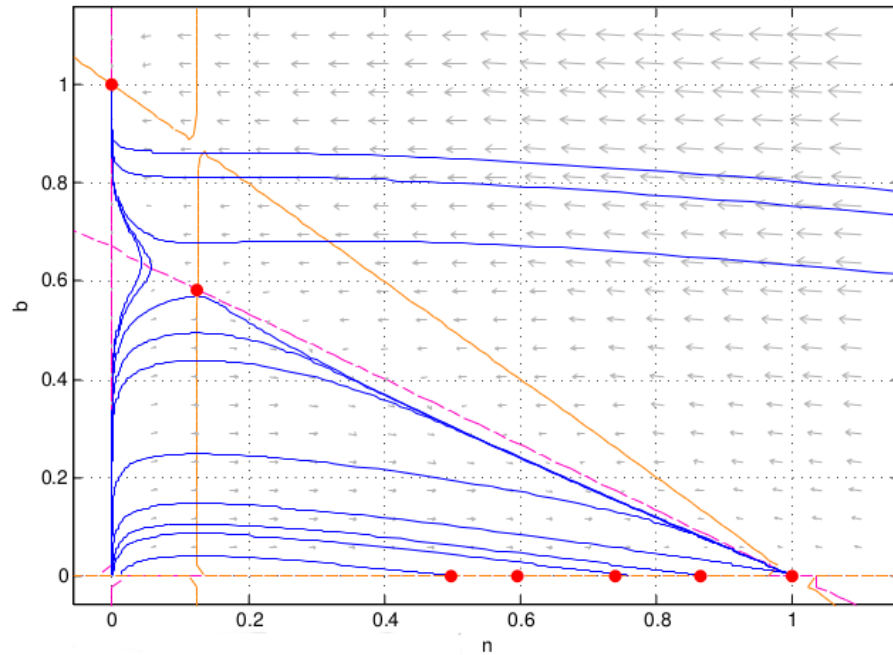


Figura 26 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0, 0\}$ é fonte. $\{0.1250, 0.5833\}$ é sela. $\{0, 1\}$ e os pontos marcados na reta $b = 0$ são sumidouros. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 10$, $r = 2.5$, $l = 20$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1$, $d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$.

alterações nos valores dos parâmetros como, por exemplo, diminuir o valor de c_2 ou aumentar o valor de l .

O efeito de diminuir o valor de c_2 e aumentar o valor de l simultaneamente pode ser visualizado no Plano de Fases da Figura 26, onde foi usado $c_2 = 1$ e $l = 20$.

Nesse caso, observa-se que foi possível obter um conjunto de pontos de equilíbrio estáveis para os quais $b = 0$. Além disso, o número de trajetórias do sistema que levam para os pontos de equilíbrio na reta $b = 0$ aumentou em relação ao caso onde a taxa de fagocitose é pequena (Figura 24).

Um último caso pode ser obtido quando a taxa de migração dos neutrófilos s e a taxa de fagocitose l não são tão elevadas. Nesse caso, tem-se um cenário semelhante ao Plano de Fases com l pequeno (Figura 24), onde o sistema exibe biestabilidade e um ponto de sela entre os dois equilíbrios estáveis, mas além disso exibe um ponto instável do tipo espiral fonte como pode ser visualizado no Plano de Fases da Figura 27.

A partir dessas análises constata-se que mesmo após uma modificação relativamente pequena em relação ao modelo bactéria-fibrina, que foi o acréscimo do termo de fagocitose, foi possível obter uma grande variedade de comportamentos interessantes e que são esperados da interação entre bactéria e neutrófilo.

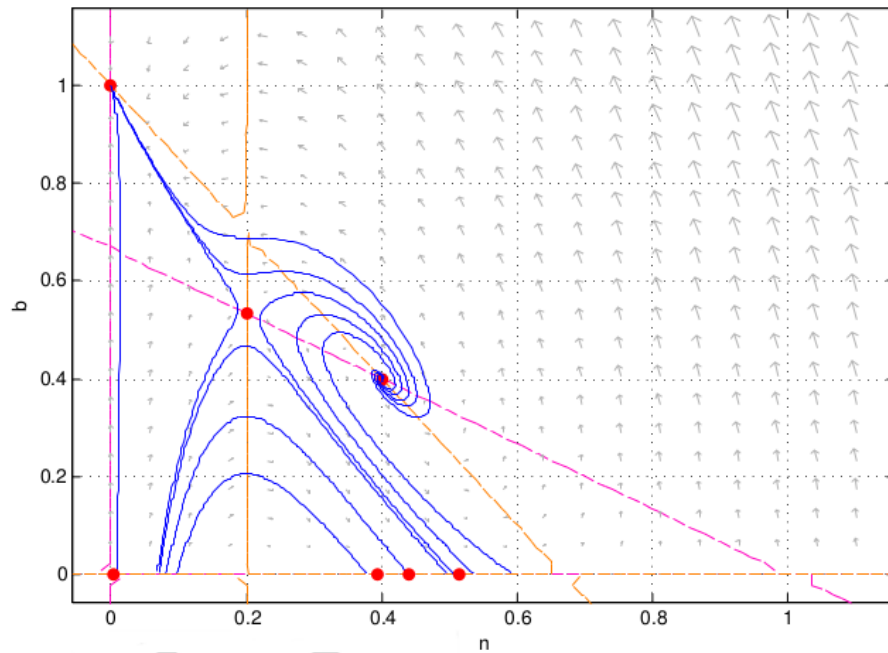


Figura 27 – Plano de Fases do sistema. Os pontos de equilíbrio são representados por pontos vermelhos: $\{0.4, 0.4\}$ é instável do tipo espiral fonte. $\{0, 0\}$ e $\{0.2, 0.53\}$ são do tipo sela. $\{0, 1\}$, $\{0.39, 0\}$, $\{0.44, 0\}$ e $\{0.51, 0\}$ são sumidouros. Algumas trajetórias são apresentadas em azul. As *nullclines* de $\frac{dn}{dt}$ são apresentadas em rosa e as *nullclines* de $\frac{db}{dt}$ são apresentadas em laranja. Valores dos parâmetros: $s = 1$, $r = 2.5$, $l = 5$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1$, $d_1 = 1.5$ e $d_2 = 1$.

5.1.3.1 Simulações em 1D

Com o intuito de analisar o comportamento espacial do modelo bactéria-neutrófilo também foram realizadas simulações em 1D do sistema de EDPs dado abaixo:

$$\begin{aligned} \frac{\partial n}{\partial t} &= s \cdot b \cdot n \cdot g_n(b, n) + D_n \cdot \text{div}(n, g_n(n, b)) - X_n \nabla \cdot (n \cdot g_n(n, b) \nabla b) \\ n(x, 0) &= n_0, \quad \frac{\partial n(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \\ \frac{\partial b}{\partial t} &= (r - l \cdot n) \cdot b \cdot g_b(n, b) + D_b \cdot \text{div}(b, g_b(n, b)) \\ b(x, 0) &= b_0, \quad \frac{\partial b(\cdot, t)}{\partial \vec{n}} \Big|_{\partial \Omega} = 0 \end{aligned} \quad (5.41)$$

Onde $g_n(b, n) = (1 - d_1 \cdot b - d_2 \cdot n)$ e $g_b(n, b) = (1 - c_1 \cdot b - c_2 \cdot n)$.

Nas simulações é considerado um domínio 1D de 10 *mm* e um tempo de simulação de 10 dias. As discretizações no espaço e no tempo são: $\delta x = 0.1$ e $\delta t = 10^{-6}$. As bactérias foram colocadas inicialmente em duas regiões: $b = 0.2$ para $4.5 \leq x \leq 5.5$ e $b = 0.6$ para $8.5 \leq x \leq 10$.

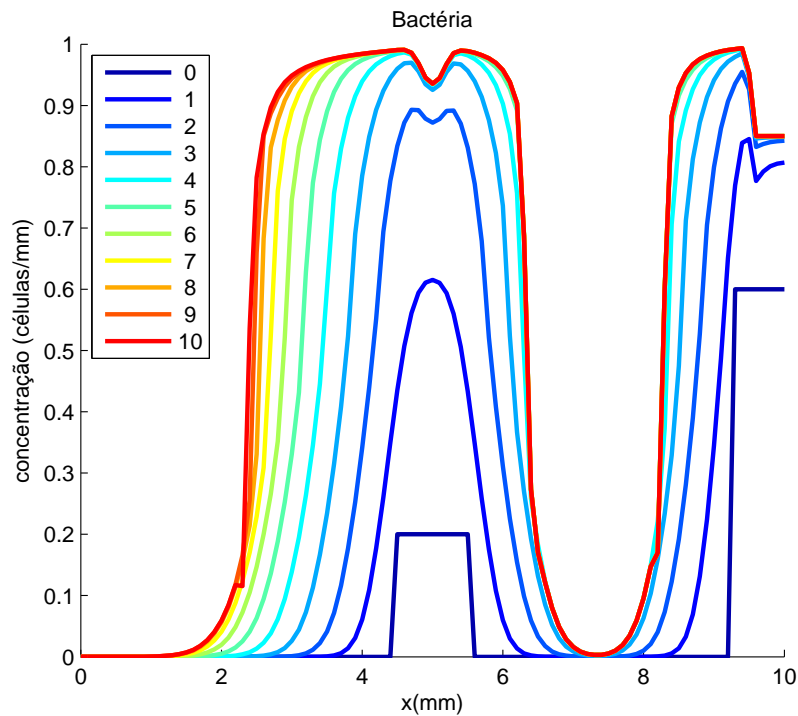


Figura 28 – Distribuição espacial da concentração de bactérias. Valores dos parâmetros: $r = 2.5$, $l = 0.05$, $s = 10$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1.5$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 1$, $D_b = 0.05$, $D_n = 3$ e $X_n = 3$

A primeira simulação considera o mesmo conjunto de parâmetros do Plano de Fases dado na Figura 24. Tem-se um interesse em avaliar se a biestabilidade obtida no Plano de Fases contribui para a formação do abscesso espacialmente. Como pode ser visto nas Figuras 28 e 29, o padrão do abscesso pode ser obtido espacialmente. Nas regiões onde as bactérias foram colocadas inicialmente, elas cresceram até sua capacidade de suporte (Figura 28) porque a taxa de fagocitose é muito baixa. Os neutrófilos que chegam em grandes quantidades (Figura 29) impedem que as bactérias se espalhem por todo o domínio. Quando as posições do domínio estão saturadas, há uma completa estabilidade, formando-se o abscesso.

Um outro cenário testado considera um aumento significativo na taxa de fagocitose. O efeito desse aumento é a completa eliminação das bactérias como pode ser visto na Figura 30. Os neutrófilos após eliminarem a bactéria tendem a se estabilizar (Figura 31).

E um último caso considera que a taxa de migração do neutrófilo s e a taxa de fagocitose l são pequenas, assim como no Plano de Fases da Figura 27. Nesse caso, pode-se observar nas Figuras 32 e 33 que novamente foi possível obter o padrão do abscesso.

Observa-se que devido a esta diferença de concentração e para os valores dos parâmetros considerados, a colônia de bactérias que estava se formando na região central do domínio foi eliminada completamente pelos neutrófilos e a colônia com um número maior de bactérias conseguiu sobreviver (Figura 32).

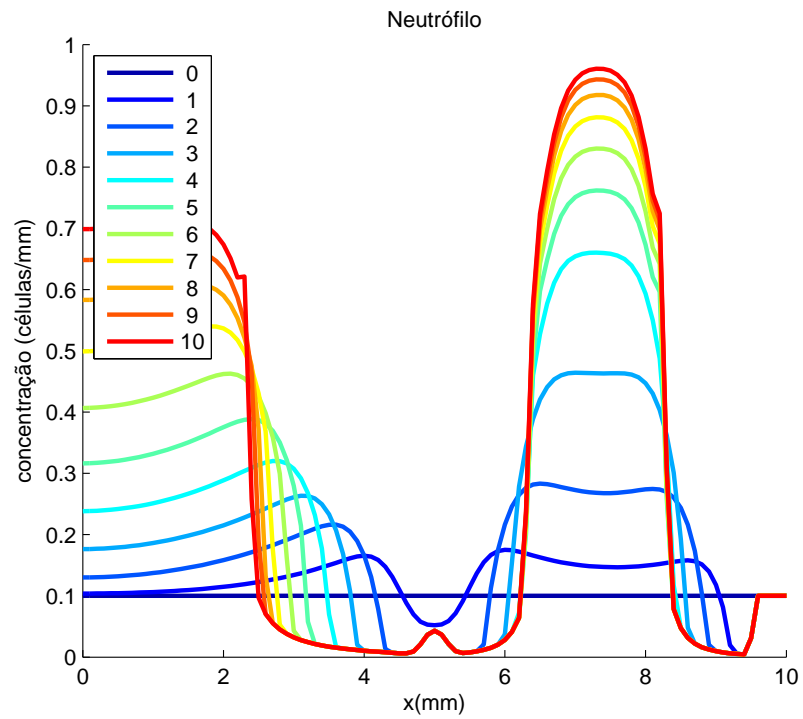


Figura 29 – Distribui33o espacial da concentra33o de neutr3f3los. Valores dos par3m3tros: $r = 2.5$, $l = 0.05$, $s = 10$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1.5$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 1$, $D_b = 0.05$, $D_n = 3$ e $X_n = 3$

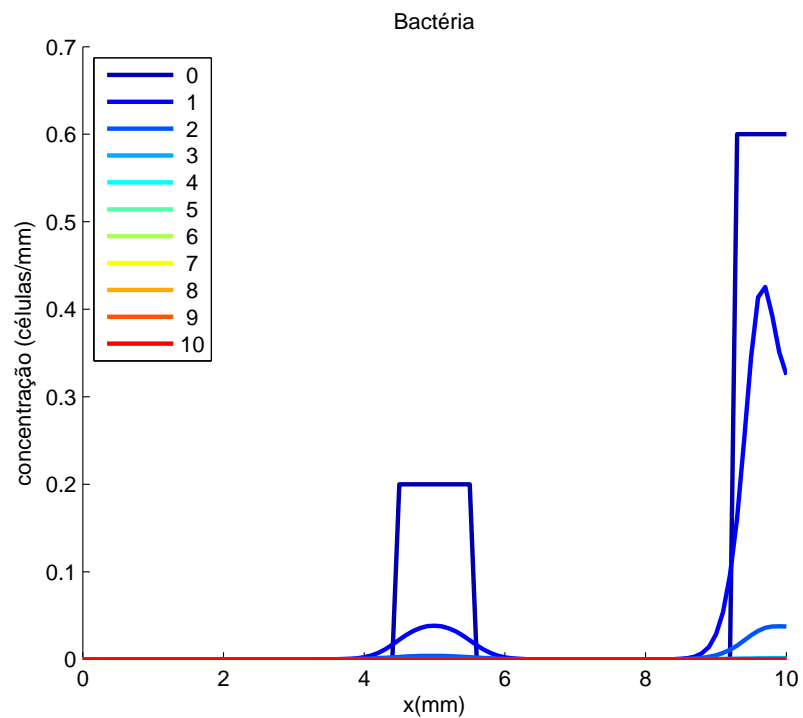


Figura 30 – Distribui33o espacial da concentra33o de bact3rias. Valores dos par3m3tros: $s = 10$, $r = 2.5$, $l = 40$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 1$, $D_b = 0.05$, $D_n = 3$ e $X_n = 3$

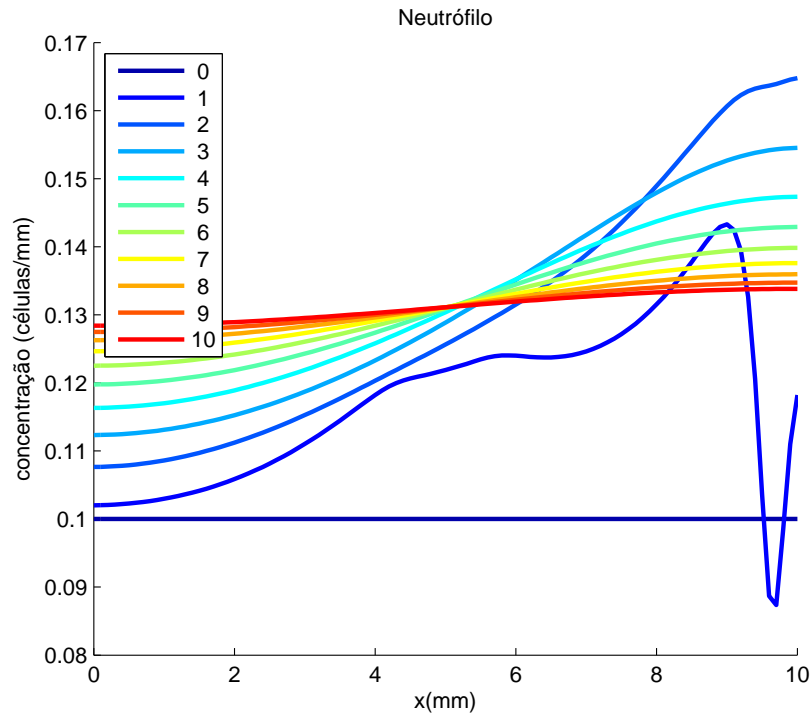


Figura 31 – Distribu33o espacial da concentra33o de neutr3falos. Valores dos par3metros: $s = 10$, $r = 2.5$, $l = 40$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 1$, $D_b = 0.05$, $D_n = 3$ e $X_n = 3$

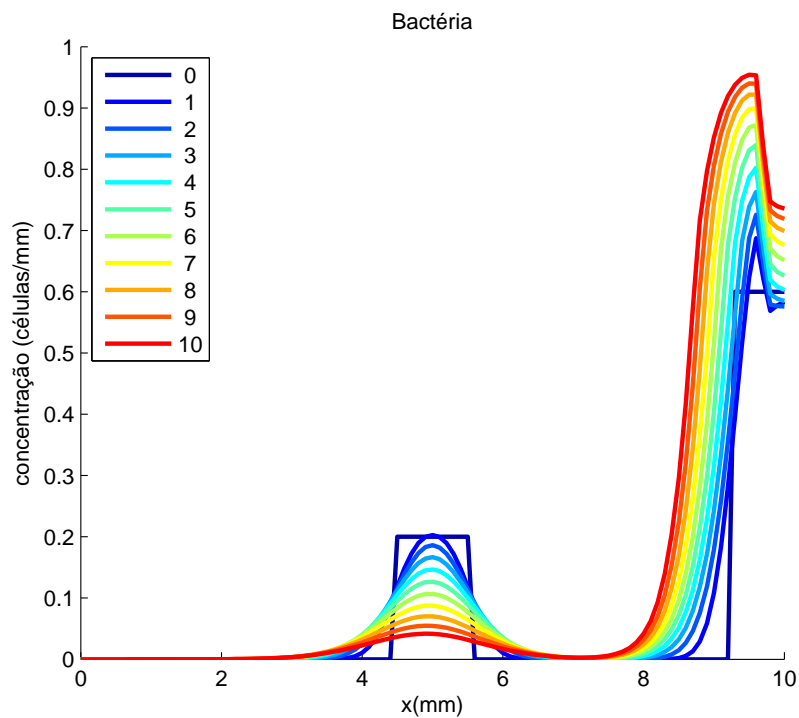


Figura 32 – Distribu33o espacial da concentra33o de bact3rias. Valores dos par3metros: $s = 1$, $r = 2.5$, $l = 5$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 1$, $D_b = 0.05$, $D_n = 3$ e $X_n = 3$

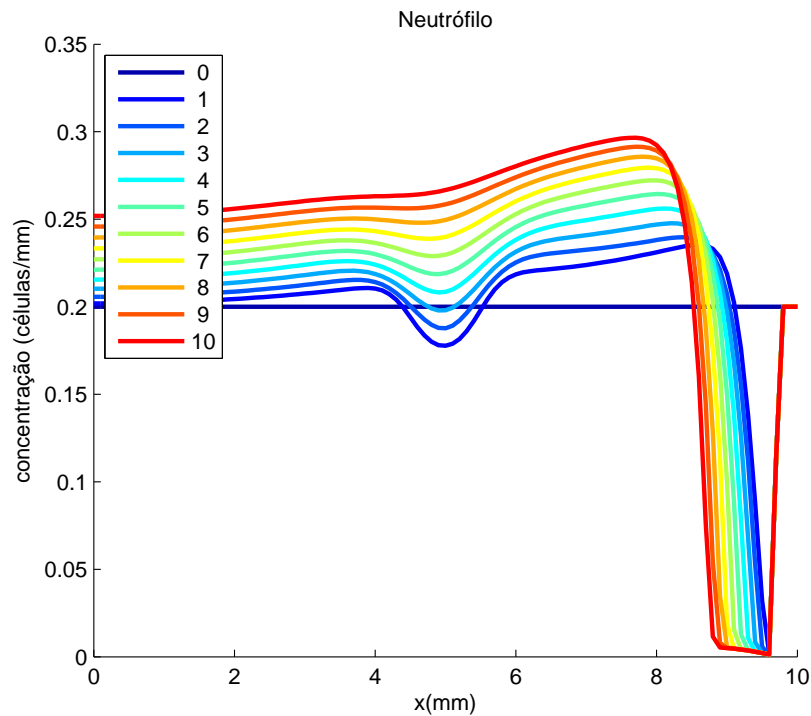


Figura 33 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos. Valores dos parâmetros: $s = 1$, $r = 2.5$, $l = 5$, $c_1 = 1$, $c_2 = 1$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 1$, $D_b = 0.05$, $D_n = 3$ e $X_n = 3$

5.1.4 Modelo bactéria-fibrina-neutrófilo

Um modelo mais completo, que é uma combinação dos modelos da interação entre bactéria e fibrina (apresentado na Seção 5.1.2) e da interação entre bactéria e neutrófilo (apresentado na Seção 5.1.3), foi desenvolvido com o objetivo de chegar mais próximo do padrão observado nos abscessos.

Foi realizada uma análise de estabilidade do modelo bactéria-fibrina-neutrófilo (resultados não mostrados) e verificou-se que alguns pontos de equilíbrio são muito semelhantes aos obtidos para os modelos bactéria-fibrina e bactéria-neutrófilo. Os comportamentos obtidos com os modelos bactéria-fibrina e bactéria-neutrófilo também podem ser obtidos com o modelo mais completo bactéria-fibrina-neutrófilo. Por exemplo, os seguintes estados de equilíbrio podem ser atingidos com o modelo bactéria-fibrina-neutrófilo: um estado contendo somente bactéria; ou um estado contendo bactéria e fibrina; ou contendo somente neutrófilo e fibrina; ou contendo bactéria, fibrina e neutrófilo. As condições para que alguns desses pontos de equilíbrio sejam estáveis são complexas. Em alguns casos, essas condições só podem ser satisfeitas para intervalos muito pequenos dos valores dos parâmetros e, em outros casos, elas só podem ser satisfeitas quando uma das populações (de bactéria, fibrina ou neutrófilo) fica negativa. Sendo que, nesse último caso, deixa de ser um estado de equilíbrio factível para o modelo.

A análise de estabilidade foi importante para determinar que o modelo é capaz de

reproduzir diversos comportamentos de interesse. Complementando essa análise do comportamento temporal, realizou-se simulações em 1D para compreender o comportamento espacial do modelo e verificar se ele é capaz de reproduzir um abscesso espacialmente.

O conjunto de EDPs do modelo é dado por:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial f}{\partial t} &= k.f.b.(1 - a_1.b - a_2.f - a_3.n) + D_f.dif(f, g_f(f, b, n)) \\
&\quad - X_f \nabla \cdot (f.g_f(f, b, n) \nabla b) \\
f(x, 0) &= f_0, \frac{\partial f(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial \Omega} = 0 \\
\frac{\partial b}{\partial t} &= (r.b - l.n.b).(1 - c_1.b - c_2.f - c_3.n) + D_b.dif(b, g_b(f, b, n)) \\
b(x, 0) &= b_0, \frac{\partial b(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial \Omega} = 0 \\
\frac{\partial n}{\partial t} &= (s.b.n).(1 - d_1.b - d_2.f - d_3.n) + D_n.dif(n, g_n(f, b, n)) \\
&\quad - X_n \nabla \cdot (n.g_n(f, b, n) \nabla b) \\
n(x, 0) &= n_0, \frac{\partial n(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial \Omega} = 0 \tag{5.42}
\end{aligned}$$

É importante destacar que fazendo $n = 0$ no sistema de equações 5.42 retornamos para o modelo bactéria-fibrina dado em 5.16 e caso consideremos $f = 0$ no sistema 5.42 retornamos para o modelo bactéria-neutrófilo dado em 5.33.

Nesse novo modelo as funções g passam a depender das 3 populações: bactéria, fibrina e neutrófilo. As novas funções g são dadas por:

$$\begin{aligned}
g_f(f, b, n) &= (1 - a_1.b - a_2.f - a_3.n) \\
g_b(f, b, n) &= (1 - c_1.b - c_2.f - c_3.n) \\
g_n(f, b, n) &= (1 - d_1.b - d_2.f - d_3.n) \tag{5.43}
\end{aligned}$$

Os parâmetros do modelo são:

- k é a taxa de produção de fibrina;
- a_1 , a_2 e a_3 são a influência da bactéria, fibrina e neutrófilo, respectivamente, na produção de fibrina;
- r é a taxa de replicação da bactéria;
- l é a taxa de fagocitose;

- c_1 , c_2 e c_3 são a influência da bactéria, fibrina e neutrófilo, respectivamente, no crescimento da bactéria;
- s é a taxa de migração dos neutrófilos;
- d_1 , d_2 e d_3 são a influência da bactéria, fibrina e neutrófilo, respectivamente, na migração dos neutrófilos para o tecido;
- D_f , D_b e D_n são os coeficientes de difusão da fibrina, da bactéria e do neutrófilo, respectivamente;
- X_f e X_n são as taxas de quimiotaxia da fibrina e do neutrófilo, respectivamente.

Nesse modelo consideramos, além da influência que a fibrina tem na dinâmica de crescimento da bactéria, a influência da fibrina na dinâmica dos neutrófilos. Essa influência se reflete no fato dos neutrófilos não conseguirem se aproximar da colônia de bactérias devido à “barreira” formada pela fibrina.

É importante destacar que a fagocitose também é influenciada pela fibrina. Se a concentração de fibrina estiver acima de um limiar, os neutrófilos não conseguem mais fagocitar a bactéria. Esse efeito da “rede de proteção” que a fibrina forma também pode ser observado nos experimentos *in vivo*.

Foram realizadas simulações em 1D com o intuito de determinar quais os tipos de comportamento que esse modelo seria capaz de produzir espacialmente e se esse modelo seria capaz de reproduzir as seguintes características observadas em um abscesso:

- uma região central formada por uma colônia de bactérias;
- uma região ao redor da colônia de bactérias composta por fibrina;
- uma região ao redor da rede de fibrina composta principalmente por neutrófilos.

Nas simulações foi assumido um domínio unidimensional de tamanho 10 mm e um tempo de simulação de 10 dias. As bactérias foram colocadas inicialmente em duas regiões: $b = 0.2$ para $4 \leq x \leq 6$ e $b = 0.6$ para $8.5 \leq x \leq 10$. Consideramos que inicialmente a fibrina possui uma concentração homogênea por todo o tecido, $f(x) = 0.05$ para $0 \leq x \leq 10$. Também é considerada uma concentração inicial homogênea para os neutrófilos, $n(x) = 0.01$ para $0 \leq x \leq 10$. Os valores dos parâmetros usados nessa simulação são: $k = 2.5$, $D_f = 0.5$, $X_f = 3$, $r = 2.5$, $l = 40$, $D_b = 0.05$, $s = 50$, $D_n = 3$, $X_n = 3$, $a_1 = 1$, $a_2 = 1$, $a_3 = 1$, $c_1 = 1$, $c_2 = 3$, $c_3 = 1.5$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 3$ e $d_3 = 1$.

Na Figura 34 observa-se que inicialmente as bactérias foram distribuídas em duas regiões com concentrações diferentes. Na região com $8.5 \leq x \leq 10$ foi considerada uma concentração mais elevada do que na região com $4 \leq x \leq 6$.

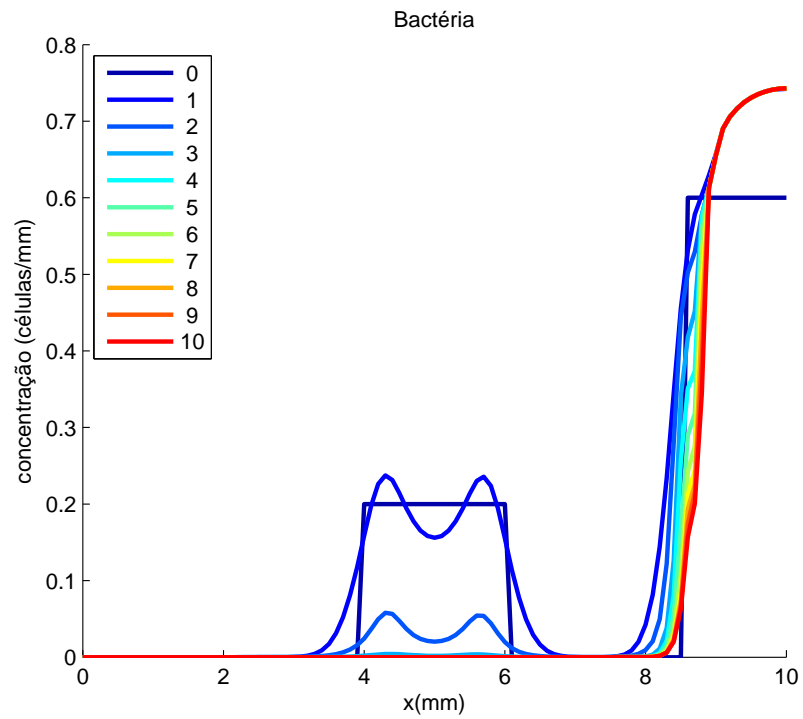


Figura 34 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.

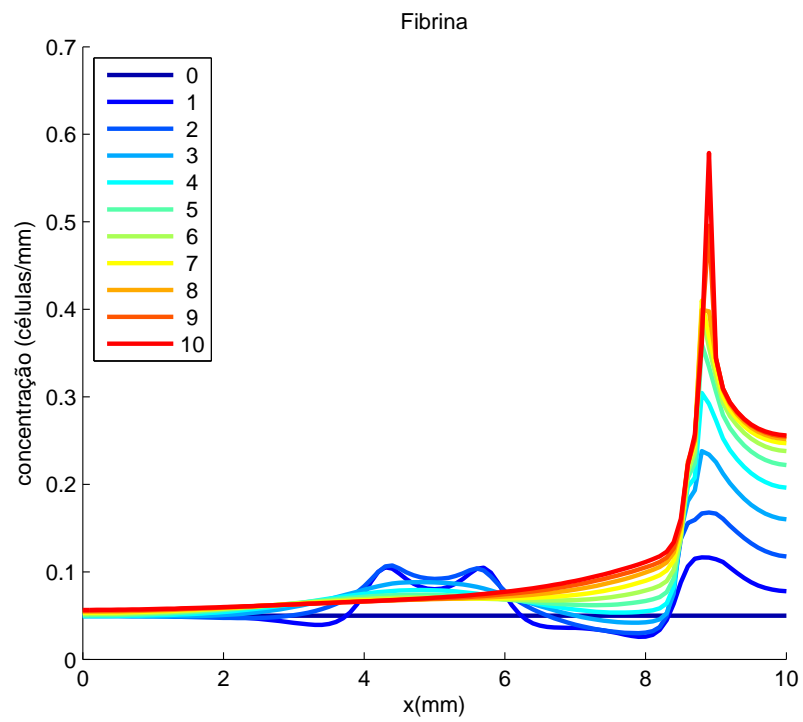


Figura 35 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.

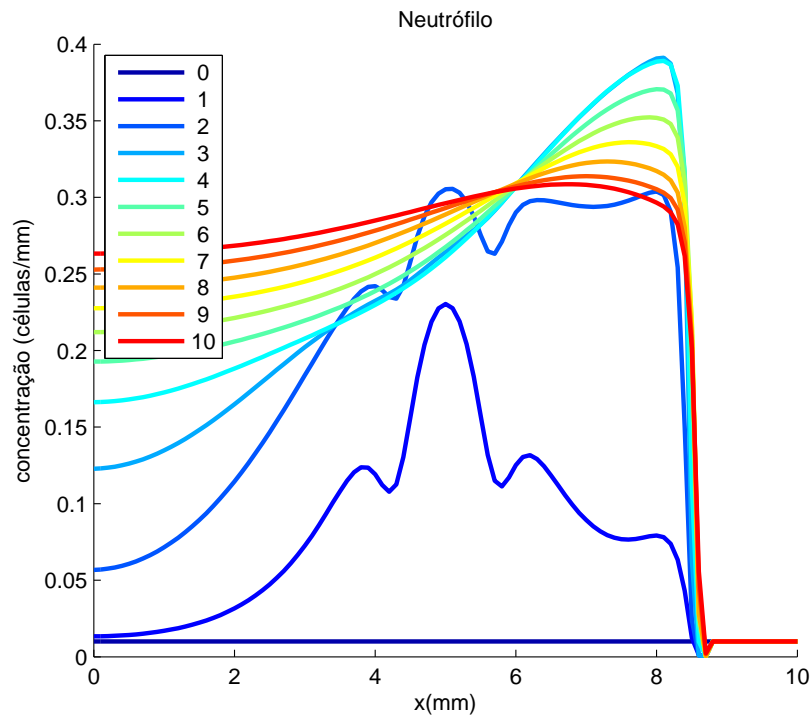


Figura 36 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos.

Observa-se que devido a esta diferença de concentração e para os valores dos parâmetros considerados, a colônia de bactérias que estava se formando na região central do domínio foi eliminada completamente pelos neutrófilos (Figura 36). E a colônia com um número maior de bactérias conseguiu sobreviver (Figura 34) e formar uma cápsula de fibrina ao seu redor (Figura 35), persistindo dessa forma no hospedeiro.

A estrutura do abscesso pode ser melhor visualizada colocando-se bactéria, fibrina e neutrófilo no mesmo gráfico como mostrado na Figura 37.

Pode-se concluir que esse modelo foi bem-sucedido em reproduzir a formação de um abscesso devido ao fato de que incorporou características muito importantes dos modelos anteriores como, por exemplo, a forma como a produção de fibrina foi modelada, além de sua influência nos processos de crescimento e movimentação das outras células.

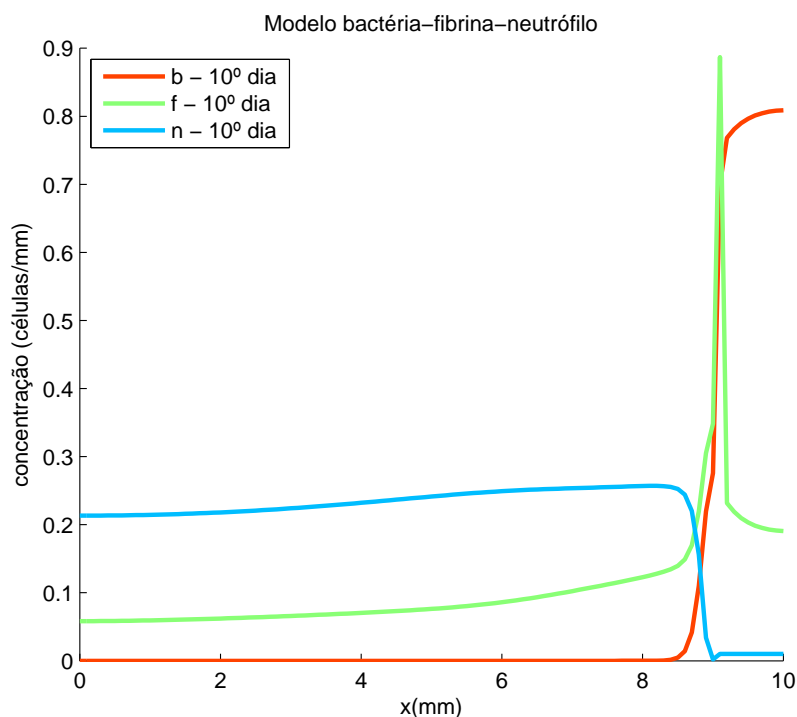


Figura 37 – Distribuição espacial da concentração de bactéria, fibrina e neutrófilo no 10º dia após o início da infecção.

5.1.5 Modelo bactéria-fibrina-neutrófilo-toxina

O modelo anterior (Equação 5.42) pode ser modificado para considerar os efeitos das toxinas produzidas pelo *Staphylococcus aureus*. As toxinas também contribuem para que a bactéria *S. aureus* consiga persistir no hospedeiro. O papel das toxinas é manter as células do sistema imune, principalmente neutrófilos, longe da colônia de bactérias.

Mesmo após a formação da rede de fibrina ao redor da colônia de bactérias, as bactérias continuam a produzir diversos tipos de toxinas, que, por apresentarem um volume pequeno, conseguem passar pela rede de fibrina e chegar até às regiões onde mais neutrófilos vivos estão migrando para o tecido, causando a morte desses neutrófilos e outras células do sistema imune.

É importante destacar que o sistema imunológico de camundongos, assim como o de seres humanos, é muito eficiente em eliminar células mortas, fazendo uma limpeza no local infectado. Essa limpeza permitiria aos neutrófilos e outras células do sistema imune se aproximarem da rede de fibrina ao redor da colônia, ameaçando dissolver, quebrar essa rede para conseguir acesso à colônia de bactérias, mas as toxinas impedem esse avanço (GUGGENBERGER *et al.*, 2012; MCADOW; MISSIAKAS; SCHNEEWIND, 2012).

Foi considerado um modelo muito simplificado da dinâmica da toxina baseado nas seguintes hipóteses:

- a produção de toxinas depende da concentração de bactérias, possuindo uma saturação. Essa produção não é influenciada por outras células;
- as toxinas provocam a morte de neutrófilos a uma taxa que é proporcional à concentração de ambos;
- considera-se que a difusão das toxinas não é influenciada pela presença de outras células.

O sistema de EDPs para esse modelo é dado abaixo:

$$\begin{aligned}
\frac{\partial to}{\partial t} &= \beta_{to}.b.(1 - to) - \mu_{to}.to + D_{to}.\Delta to \\
to(x, 0) &= to_0, \frac{\partial to(., t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \\
\frac{\partial f}{\partial t} &= k.f.b.g_f(f, b, n, nd) + D_f.dif(f, g_f(f, b, n, nd)) \\
&\quad - X_f \nabla \cdot (f.g_f(f, b, n, nd) \nabla b) \\
f(x, 0) &= f_0, \frac{\partial f(., t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \\
\frac{\partial b}{\partial t} &= (r.b - l.n.b).g_b(f, b, n, nd) + D_b.dif(b, g_b(f, b, n, nd)) \\
b(x, 0) &= b_0, \frac{\partial b(., t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \\
\frac{\partial n}{\partial t} &= (s.b.n).g_n(f, b, n, nd) - \alpha_{to}.to.n + D_n.dif(n, g_n(f, b, n, nd)) \\
&\quad - X_n \nabla \cdot (n.g_n(f, b, n, nd) \nabla b) \\
n(x, 0) &= n_0, \frac{\partial n(., t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \\
\frac{\partial nd}{\partial t} &= \alpha_{to}.to.n - \gamma_{nd}.nd.n \\
nd(x, 0) &= nd_0, \frac{\partial nd(., t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0
\end{aligned} \tag{5.44}$$

As funções de saturação g_f , g_b e g_n são dadas por:

$$\begin{aligned}
g_f(f, b, n, nd) &= (1 - a_1.b - a_2.f - a_3.n - a_4.nd) \\
g_b(f, b, n, nd) &= (1 - c_1.b - c_2.f - c_3.n - c_4.nd) \\
g_n(f, b, n, nd) &= (1 - d_1.b - d_2.f - d_3.n - d_4.nd)
\end{aligned} \tag{5.45}$$

Supõe-se que o volume das toxinas é desprezível em relação aos volumes das demais células, de modo que nas funções de saturação das demais células do modelo não se considera a influência da toxina. Foi considerado também que os neutrófilos mortos exercem a mesma influência sobre as demais células do modelo, isto é, $a_4 = c_4 = d_4$.

Os novos parâmetros são:

- β_{to} é a taxa de produção das toxinas;
- μ_{to} é a taxa de decaimento das toxinas;
- D_{to} é o coeficiente de difusão das toxinas;
- α_{to} é a taxa com que as toxinas causam a morte dos neutrófilos;
- γ_{nd} é a taxa de fagocitose das células mortas. Esse termo modela a remoção de detritos celulares realizada pelas células do sistema imune, principalmente pelos macrófagos, sendo esse papel representado pelos neutrófilos.

Simulações em 1D foram realizadas para compreender melhor o efeito da introdução da toxina na dinâmica do modelo.

Os valores dos parâmetros usados nessa simulação são: $k = 1.5$, $D_f = 0.1$, $X_f = 0.8$, $r = 3$, $l = 20$, $D_b = 0.05$, $s = 200$, $D_n = 1$, $X_n = 2$, $a_1 = 1.5$, $a_2 = 1$, $a_3 = 1$, $c_1 = 1$, $c_2 = 4$, $c_3 = 1$, $d_1 = 1.5$, $d_2 = 4$, $d_3 = 1$, $a_4 = c_4 = d_4 = 1$, $\beta_{to} = 2$, $\mu_{to} = 1$, $D_{to} = 4$, $\alpha_{to} = 10$ e $\gamma_{nd} = 0$.

Na Figura 38 observa-se que inicialmente as bactérias foram distribuídas em duas regiões com concentrações diferentes. Na região com $8.5 \leq x \leq 10$ foi considerada uma concentração mais elevada ($b = 0.6$) do que na região com $4 \leq x \leq 6$ ($b = 0.2$).

Observa-se que após a chegada dos neutrófilos as bactérias da região central ($4 \leq x \leq 6$) foram completamente eliminadas (Figura 38). As bactérias da região com $8.5 \leq x \leq 10$ conseguiram sobreviver, produzindo uma rede de fibrina ao seu redor (Figura 39) e produzindo toxinas (Figura 40) que impedem o avanço dos neutrófilos (Figura 42) na direção da colônia.

Observa-se uma grande quantidade de neutrófilos mortos próximos da rede de fibrina (Figura 41) e um grande decréscimo no número de neutrófilos vivos (Figura 42).

A estrutura do abscesso também pode ser visualizada em um gráfico com todas as regiões como o mostrado na Figura 43.

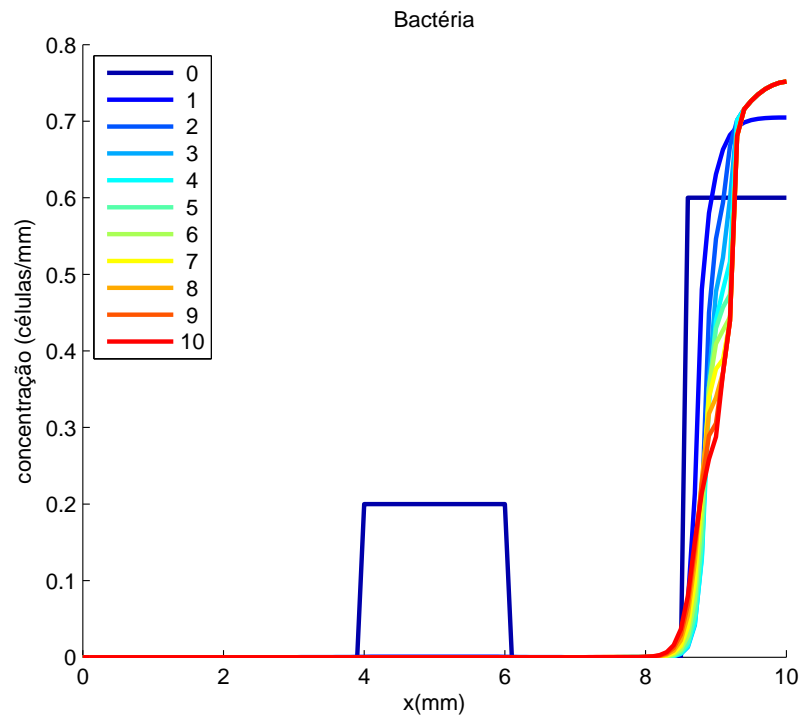


Figura 38 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.

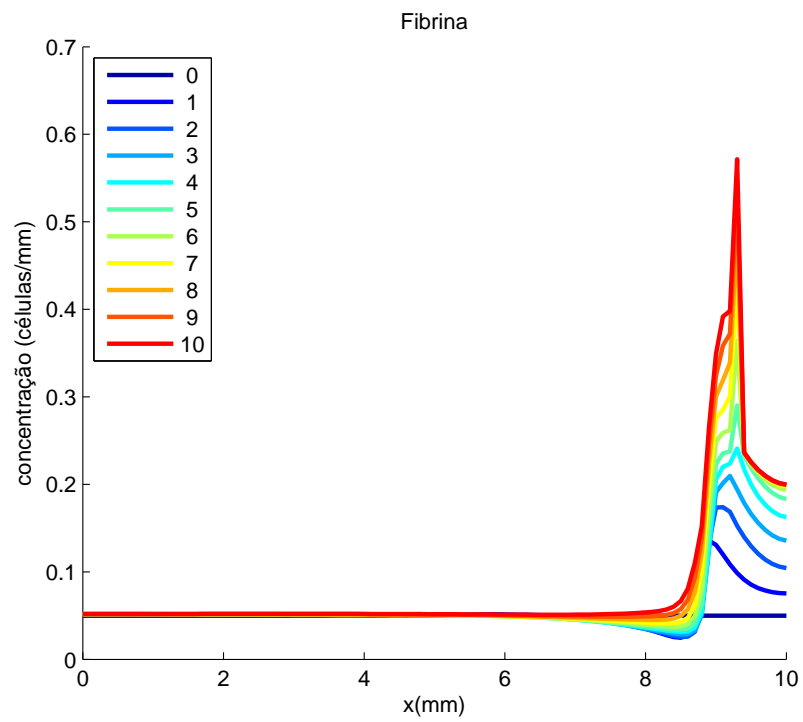


Figura 39 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.

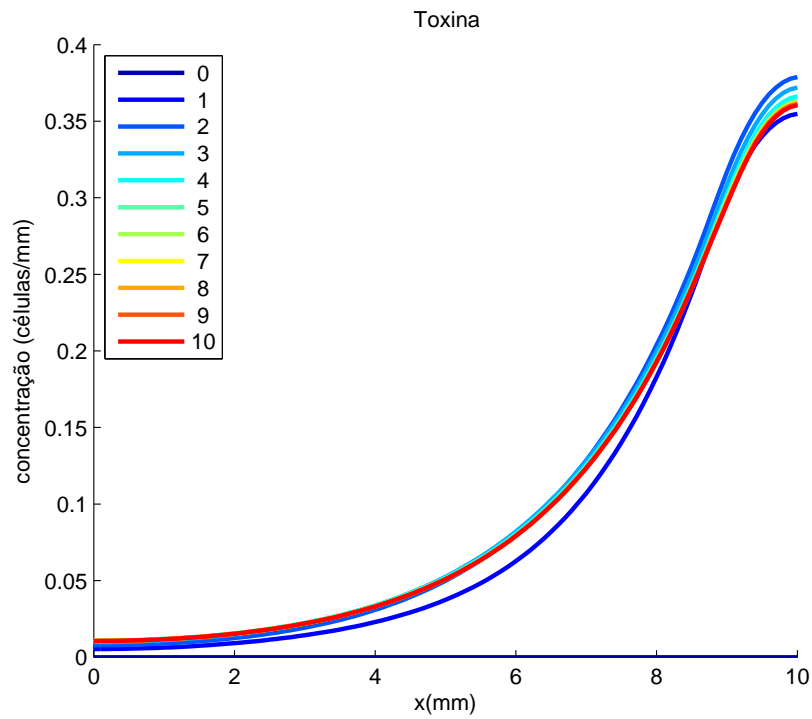


Figura 40 – Distribuição espacial da concentração de toxinas.

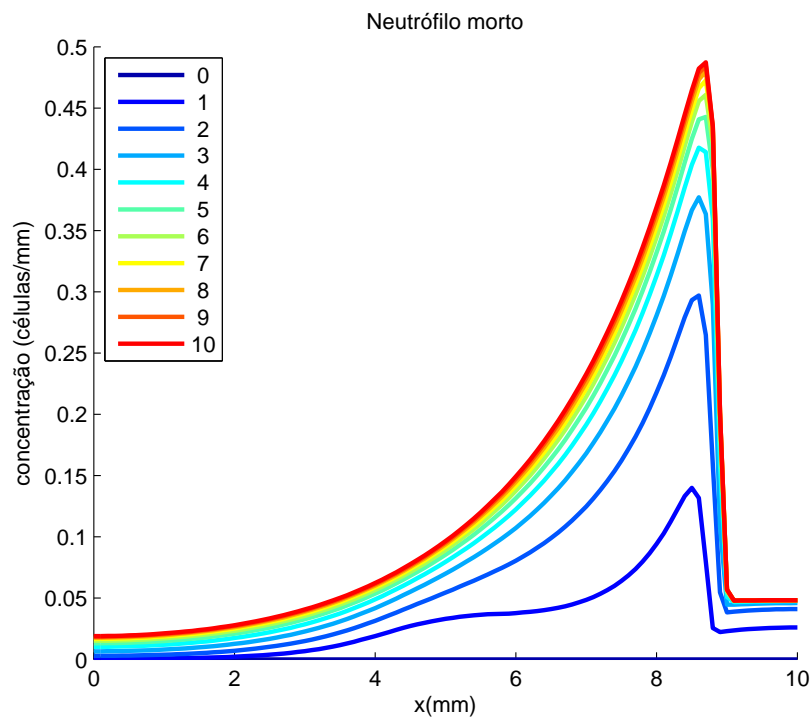


Figura 41 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos mortos.

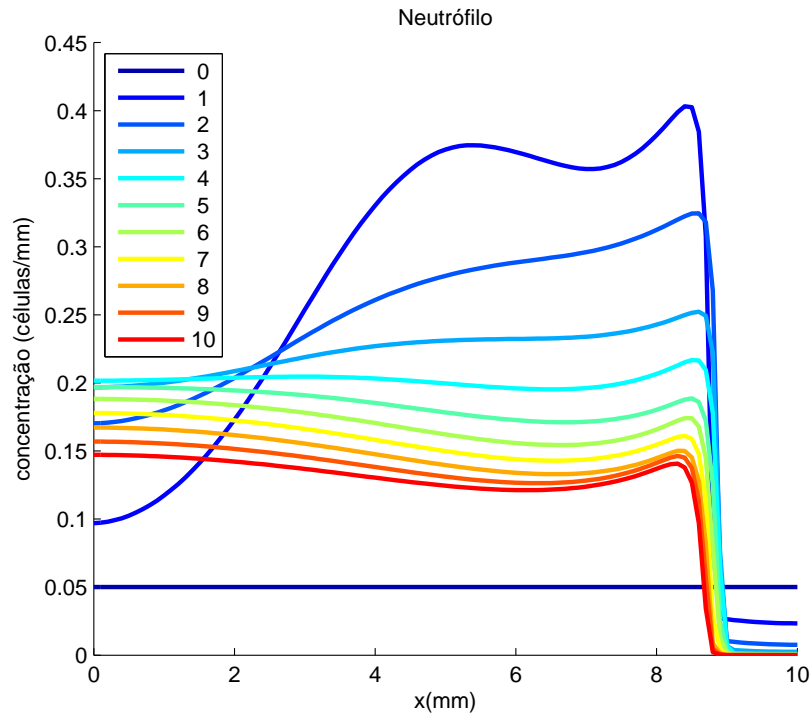


Figura 42 – Distribui33o espacial da concentra33o de neutr3falo vivos.

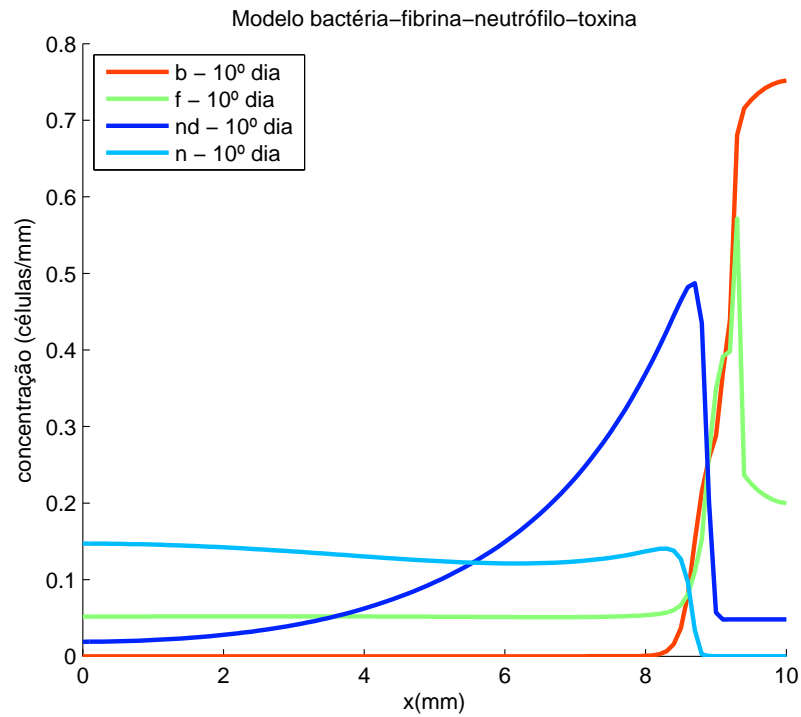


Figura 43 – Distribui33o espacial da concentra33o de bact3ria, fibrina e neutr3falo no 10^o dia ap3s o in3cio da infec33o.

5.2 MODELO MATEMÁTICO ESTENDIDO

Um modelo matemático 2D estendido foi desenvolvido com base no modelo da interação entre bactéria, fibrina, neutrófilo e toxina (Seção 5.1.5). Esse modelo estendido tenta capturar outros aspectos das respostas imunes, como, por exemplo, a participação de macrófagos e das citocinas pró-inflamatórias na defesa do organismo hospedeiro contra infecções bacterianas.

O modelo matemático estendido simula o comportamento temporal e espacial das seguintes células/moléculas: bactéria (B), bactéria morta (BD), fibrina (F), toxina (TO), macrófago, neutrófilo (N), neutrófilo morto (ND), citocinas pró-inflamatórias (CH), tecido saudável (HT) e tecido morto (TD). Os macrófagos estão presentes em dois estados de prontidão: *resting* (RM) e ativado (AM).

É importante destacar que a equação que modela a citocina é genérica no sentido de que modela o papel de diferentes citocinas que participam do processo inflamatório. Os parâmetros da equação podem ser ajustados para modelar o papel de uma citocina específica.

As citocinas pró-inflamatórias são modeladas com uma única equação com o intuito de evitar adicionar mais complexidade ao modelo.

As relações entre os componentes do modelo matemático são descritas a seguir e podem ser visualizadas na Figura 44.

Relações entre os componentes do modelo:

As bactérias produzem uma rede de fibrina com o intuito de se protegerem e se isolarem das células do sistema imune. As bactérias também produzem toxinas que provocam a morte/necrose dos neutrófilos, macrófagos e células saudáveis do tecido. Neutrófilos, macrófagos *resting* e macrófagos ativados fagocitam a bactéria.

Os neutrófilos necróticos liberam grânulos citotóxicos e enzimas de degradação causando dano ao tecido saudável.

Para evitar esse dano tecidual os neutrófilos necróticos são eliminados do corpo pelos macrófagos *resting* e ativados.

O local da infecção é “limpo” por macrófagos *resting* e ativados que realizam a fagocitose de células de tecido mortas, bactérias mortas e neutrófilos mortos.

Células danificadas do tecido, neutrófilos e macrófagos ativados produzem citocinas pró-inflamatórias. As citocinas pró-inflamatórias aumentam a permeabilidade dos vasos sanguíneos, permitindo a entrada de mais neutrófilos e macrófagos no local de infecção. Além disso, as citocinas pró-inflamatórias atuam como uma substância

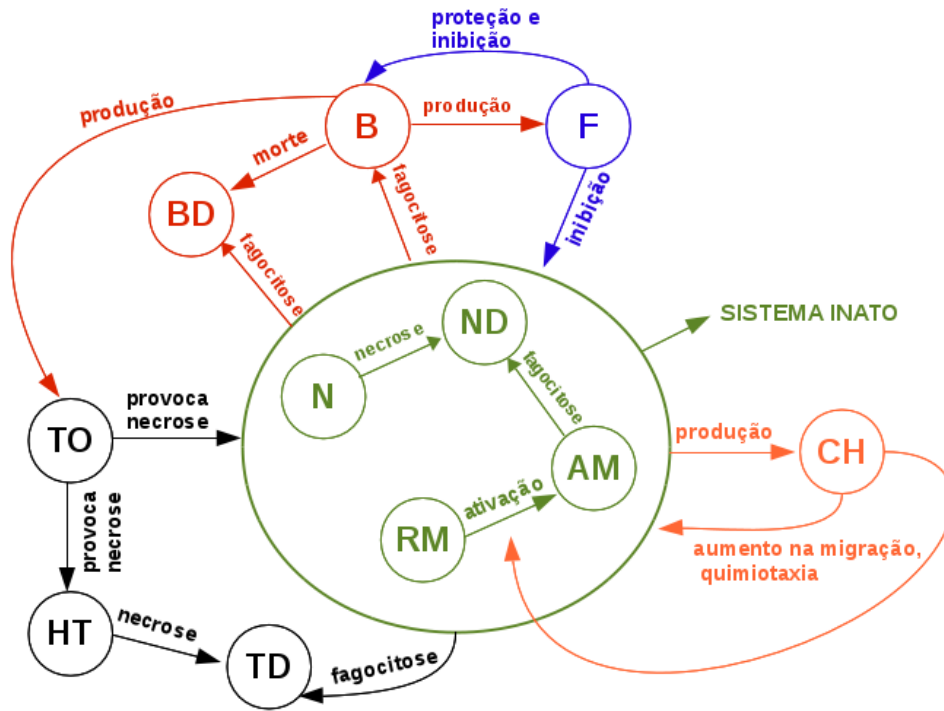


Figura 44 – Relações entre os componentes do modelo matemático estendido.

químioatratante para neutrófilos e macrófagos, e também ativam os macrófagos *resting*.

5.2.1 Equações do modelo

O modelo é composto pelo conjunto de equações dado a seguir.

A equação diferencial abaixo descreve o comportamento espaço-temporal da bactéria (B).

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial B}{\partial t} = (r_B \cdot B - \lambda_{N|B} \cdot N \cdot B - \lambda_{RM|B} \cdot RM \cdot B - \lambda_{AM|B} \cdot AM \cdot B) \cdot g_b(Wb) \\ + D_B \cdot \text{dif}(B, g_b(Wb)) \\ B(x, y, 0) = B_0, \frac{\partial B(\cdot, t)}{\partial \bar{n}} |_{\partial \Omega} = 0 \end{array} \right. \quad (5.46)$$

Nesta equação, $r_B \cdot B$ denota a replicação da bactéria, onde r_B é a taxa de replicação. $\lambda_{N|B} \cdot N \cdot B$ denota a fagocitose realizada pelos neutrófilos, onde $\lambda_{N|B}$ é a taxa de fagocitose. $\lambda_{RM|B} \cdot RM \cdot B$ denota a fagocitose realizada pelos macrófagos *resting*, onde $\lambda_{RM|B}$ é a taxa de fagocitose. $\lambda_{AM|B} \cdot AM \cdot B$ denota a fagocitose realizada pelos macrófagos ativos, onde $\lambda_{AM|B}$ é a taxa de fagocitose. $D_B \cdot \text{dif}(B, g_b(Wb))$ denota a difusão da bactéria, onde D_B é

o coeficiente de difusão e $\text{dif}(B, g_b(Wb))$ é o operador de difusão modificado apresentado na equação 5.29.

A função $g_b(Wb)$ é a função de saturação da bactéria que depende da soma total ponderada de todas as células (Wb) em um ponto do domínio bidimensional (2D).

A função $g_b(Wb)$ é dada por:

$$g_b(Wb(x, y, t)) = 1 - \frac{Wb(x, y, t)}{Wb_{total}} \quad (5.47)$$

Onde Wb_{total} é a concentração total de bactérias permitida em uma área discretizada do domínio 2D, também chamada de capacidade de suporte da bactéria.

A variável Wb pode ser vista como a soma ponderada da influência de todas as células sobre b , sendo definida como:

$$\begin{aligned} Wb(x, y, t) = & Wb_F.F(x, y, t) + Wb_B.B(x, y, t) + Wb_N.N(x, y, t) + Wb_{BD}.BD(x, y, t) + \\ & Wb_{ND}.ND(x, y, t) + Wb_{RM}.RM(x, y, t) + Wb_{AM}.AM(x, y, t) + Wb_{CH}.CH(x, y, t) + \\ & Wb_{HT}.HT(x, y, t) + Wb_{TD}.TD(x, y, t) + Wb_{TO}.TO(x, y, t) \end{aligned} \quad (5.48)$$

Observa-se que essa é uma soma ponderada onde a concentração de cada célula no modelo é multiplicada por um peso. Esse peso pode ser interpretado como um valor que leva em consideração a diferença de volume entre as células e os efeitos inibidores que uma célula tem sobre as demais. É importante destacar que o valor dessa soma pode ser diferente para cada variável do modelo, por exemplo, podemos ter uma soma Wf para a fibrina, uma soma Wch para as citocinas pró-inflamatórias e assim por diante.

O mesmo se aplica à constante Wb_{total} , que pode ser diferente para cada variável do modelo e reflete as diferentes capacidades de suporte de cada célula.

Para as células da imunidade inata (neutrófilos, macrófagos *resting* e macrófagos ativadas) considera-se a mesma função g chamada g_{im} , com Wim e Wim_{total} sendo respectivamente a soma ponderada e a capacidade de suporte.

A variável W será usada para designar uma soma ponderada padrão que servirá para diversas células, assim como a variável W_{total} indica uma capacidade de suporte padrão. Os pesos padrões serão designados pelas seguintes variáveis: $W_F, W_B, W_N, W_{BD}, W_{ND}, W_{RM}, W_{AM}, W_{CH}, W_{HT}, W_{TD}, W_{TO}$.

A equação diferencial abaixo descreve a dinâmica das bactérias mortas (BD).

$$\begin{cases} \frac{\partial BD}{\partial t} = (\lambda_{N|B}.N.B + \lambda_{RM|B}.RM.B + \lambda_{AM|B}.AM.B).g_b(Wb) \\ -\lambda_{AM|BD}.AM.BD - \lambda_{RM|BD}.RM.BD \\ BD(x, y, 0) = B_0, \frac{\partial BD(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.49)$$

Note que $\lambda_{N|B}.N.B$, $\lambda_{RM|B}.RM.B$, $\lambda_{AM|B}.AM.B$ e $g_b(Wb)$ foram definidos anteriormente. $\lambda_{AM|BD}.AM.BD$ denota a fagocitose realizada pelos macrófagos ativos, onde $\lambda_{AM|BD}$ é a taxa de fagocitose. $\lambda_{RM|BD}.RM.BD$ denota a fagocitose realizada pelos macrófagos *resting*, onde $\lambda_{RM|BD}$ é a taxa de fagocitose.

A equação diferencial abaixo descreve a dinâmica dos macrófagos *resting* (RM).

$$\begin{cases} P_{RM} = P_{RM}^{max}.CH + P_{RM}^{min} \\ source_{RM} = P_{RM}.(M^{max} - (RM + AM)) \\ \frac{\partial RM}{\partial t} = (source_{RM} - act_{RM}.B.RM - \mu_{RM}.RM).g_{im}(Wim) - \alpha_{TO}.TO.RM \\ + D_{RM}.dif(RM, g_{im}(Wim)) - \chi_{RM}.chemotaxis(RM, CH, g_{im}(Wim)) \\ RM(x, y, 0) = RM_0, \frac{\partial RM(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.50)$$

P_{RM} denota a permeabilidade do endotélio e seus efeitos na migração de monócitos. O aumento na permeabilidade do endotélio é dependente da concentração de citocina pró-inflamatória.

O cálculo de P_{RM} envolve os seguintes parâmetros: 1) P_{RM}^{max} , o aumento máximo na permeabilidade do endotélio induzido pelas citocinas pró-inflamatórias. 2) P_{RM}^{min} , a permeabilidade do endotélio na ausência de condições inflamatórias.

$source_{RM}$ denota o termo de fonte dos macrófagos. Este número depende da permeabilidade do endotélio P_{RM} e do número de monócitos que estão na corrente sanguínea (M^{max}). $act_{RM}.B.RM$ denota a ativação do macrófago *resting*, onde act_{RM} é a taxa de ativação. $\alpha_{TO}.TO.RM$ denota a morte dos macrófagos *resting* devida a ação das toxinas, onde α_{TO} representa a taxa dessa mortalidade. $\mu_{RM}.RM$ denota a apoptose do macrófago *resting*, onde μ_{RM} é a taxa de apoptose. $D_{RM}.dif(RM, g_{im}(Wim))$ denota a difusão do macrófago *resting*, onde D_{RM} é o coeficiente de difusão e a função dif é o operador de difusão modificado. $\chi_{RM}.chemotaxis(RM, CH, g_{im}(Wim))$ denota a quimiotaxia do

macrófago *resting*, onde χ_{RM} é a taxa de quimiotaxia e $chemotaxis(RM, CH, g_{im}(Wim))$ foi definida anteriormente na equação 5.31.

A função $g_{im}(Wim)$ é a função de saturação g das células de defesa do sistema imune: neutrófilos, macrófagos *resting* e ativados.

A dinâmica dos macrófagos ativados (AM) é descrita pela equação diferencial abaixo.

$$\begin{cases} \frac{\partial AM}{\partial t} = (act_{RM}.B.RM - \mu_{AM}.AM).g_{im}(Wim) - \alpha_{TO}.TO.AM \\ + D_{AM}.dif(AM, g_{im}(Wim)) - \chi_{AM}.chemotaxis(AM, CH, g_{im}(Wim)) \\ AM(x, y, 0) = AM_0, \frac{\partial AM(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.51)$$

Note que $act_{RM}.B.RM$ foi definido anteriormente. $\alpha_{TO}.TO.AM$ denota a morte dos macrófagos ativados devida a ação das toxinas, onde α_{TO} representa a taxa dessa mortalidade. $\mu_{AM}.AM$, $D_{AM}.dif(AM, g_{im}(Wim))$, e $\chi_{AM}.chemotaxis(AM, CH, g_{im}(Wim))$ denotam a apoptose do macrófago ativo, difusão, e quimiotaxia, respectivamente.

A equação diferencial para a dinâmica dos neutrófilos (N) é dada abaixo.

$$\begin{cases} P_N = P_N^{max}.CH + P_N^{min} \\ source_N = P_N.(N^{max} - N) \\ \frac{\partial N}{\partial t} = (source_N - \mu_N.N).g_{im}(Wim) - \alpha_{TO}.TO.N + D_N.dif(N, g_{im}(Wim)) \\ - \chi_N.chemotaxis(N, CH, g_{im}(Wim)) \\ N(x, y, 0) = N_0, \frac{\partial N(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.52)$$

Nesta equação, P_N denota a permeabilidade do endotélio e seus efeitos no extravasamento dos neutrófilos. P_N^{max} é o aumento máximo na permeabilidade do endotélio induzido pelas citocinas pró-inflamatórias. P_N^{min} é a permeabilidade do endotélio na ausência de condições inflamatórias.

$source_N.g(Wim)$ representa o termo fonte do neutrófilo. Esse número depende da permeabilidade do endotélio (P_N) e do número de neutrófilos no sangue (N^{max}).

$\alpha_{TO}.TO.N$ denota a morte neutrofílica devida a ação das toxinas, onde α_{TO} representa a taxa de mortalidade. $\mu_N.N$ denota a apoptose do neutrófilo, onde μ_N é

a taxa de apoptose. $D_N \cdot dif(N, g_{im}(Wim))$ denota a difusão do neutrófilo, onde D_N é o coeficiente de difusão. $\chi_N \cdot chemotaxis(N, CH, g_{im}(Wim))$ denota a quimiotaxia do neutrófilo, onde χ_N é a taxa de quimiotaxia.

A equação que descreve a dinâmica dos neutrófilos mortos (necróticos, ND) é dada abaixo.

$$\begin{cases} \frac{\partial ND}{\partial t} = (\mu_N \cdot N) \cdot g_{im}(Wim) \alpha_{TO} \cdot TO \cdot N - \lambda_{ND|AM} \cdot ND \cdot AM - \lambda_{ND|RM} \cdot ND \cdot RM \\ ND(x, y, 0) = ND_0, \frac{\partial ND(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.53)$$

Note que $\mu_N \cdot N$ e $\alpha_{TO} \cdot TO \cdot N$ foram definidos anteriormente.

$\lambda_{ND|AM} \cdot ND \cdot AM$ e $\lambda_{ND|RM} \cdot ND \cdot RM$ denotam a fagocitose dos neutrófilos necróticos realizada pelos macrófagos ativos e pelos macrófagos *resting*, respectivamente.

A equação diferencial que descreve a dinâmica das citocinas pró-inflamatórias (CH) é dada abaixo.

$$\begin{cases} \frac{\partial CH}{\partial t} = (\beta_{CH|N} \cdot N \cdot B + \beta_{CH|AM} \cdot AM \cdot B + \beta_{CH|ND} \cdot ND + \beta_{CH|TD} \cdot TD - \mu_{CH} \cdot CH) \cdot g(W) \\ + D_{CH} \cdot dif(CH, W) \\ CH(x, y, 0) = CH_0, \frac{\partial CH(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.54)$$

$\beta_{CH|N} \cdot N \cdot B$, $\beta_{CH|AM} \cdot AM \cdot B$, $\beta_{CH|TD} \cdot TD$ e $\beta_{CH|ND} \cdot ND$ denotam a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos neutrófilos, macrófagos ativos, células danificadas do tecido e no processo de necrose dos neutrófilos, respectivamente. $\mu_{CH} \cdot CH$ denota o decaimento da citocina pró-inflamatória e $D_{CH} \cdot dif(CH, W)$ denota a difusão da citocina pró-inflamatória.

A equação diferencial para a dinâmica do tecido saudável (HT) é dada abaixo.

$$\begin{cases} \frac{\partial HT}{\partial t} = -\lambda_{B|HT} \cdot B \cdot HT - \lambda_{ND|HT} \cdot ND \cdot HT \\ HT(x, y, 0) = HT_0, \frac{\partial HT(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.55)$$

$\lambda_{B|HT} \cdot B \cdot HT$ denota o dano tecidual causado pela bactéria e $\lambda_{ND|HT} \cdot ND \cdot HT$ denota o dano tecidual causado pela liberação de produtos tóxicos dos neutrófilos necróticos.

Equação diferencial para o tecido danificado (TD):

$$\begin{cases} \frac{\partial TD}{\partial t} = \lambda_{B|HT}.B.HT + \lambda_{ND|HT}.ND.HT - \lambda_{AM|TD}.AM.TD - \lambda_{RM|TD}.RM.TD \\ TD(x, y, 0) = TD_0, \frac{\partial TD(\cdot, t)}{\partial \vec{n}}|_{\partial\Omega} = 0 \end{cases} \quad (5.56)$$

$\mu_{ND}ND$ e $\lambda_{B|HT}.B.HT$ foram definidas anteriormente.

$\lambda_{RM|TD}.RM.TD$ e $\lambda_{AM|TD}.AM.TD$ denotam a fagocitose de células mortas do tecido realizada pelos macrófagos *resting* e pelos macrófagos ativos, respectivamente.

6 RESULTADOS DO MODELO

Foram realizadas simulações com o modelo matemático estendido em um domínio bidimensional (2D) para verificar se esse modelo é capaz de reproduzir a formação de um abscesso. O resultado de uma dessas simulações é apresentado abaixo.

Nesta simulação foi considerado um domínio bidimensional de $8.5 \text{ mm} \times 5.5 \text{ mm}$ representando o tamanho aproximado de uma área seccionada do rim de um camundongo. O tempo de simulação é de 10 dias. As discretizações no espaço e no tempo são: $\delta x = 0.1$ e $\delta t = 10^{-6}$. As condições de contorno são do tipo Neumann, isto é, não há fluxo de células através das fronteiras do domínio.

Para esta simulação considera-se que todos os pontos do tecido estão sendo irrigados por vasos sanguíneos. Devido a isso, neutrófilos e macrófagos podem entrar no tecido em qualquer ponto. Considera-se que a bactéria está migrando para o tecido em apenas 1 ponto, que está localizado aproximadamente no meio do tecido (4.2, 2.7).

A seguir são apresentados os resultados da simulação para o 2º, 4º, 7º e 10º dias após o início da infecção.

Na Figura 45 observa-se inicialmente poucas bactérias no tecido. Essas bactérias produzem toxinas (Figura 47) e começam a estimular a produção de fibrina (Figura 48) com o intuito de escapar da resposta imune e se proteger dos macrófagos (Figura 51) e neutrófilos (Figura 49), que chegam em grandes quantidades ao tecido infectado. As toxinas (Figura 47) são muito importantes para impedir que os neutrófilos fagocitem as bactérias, provocando um grande número de mortes (Figura 50). É importante destacar que o tamanho do “anel” de neutrófilos mortos aumenta cada vez mais ao longo do tempo (Figura 50) e isso significa que o abscesso está aumentando de tamanho cada vez mais, isto é, seu diâmetro é cada vez maior. Essa característica também pode ser observada na Figura 49 que mostra a região com neutrófilos vivos se afastando cada vez mais do centro do abscesso, região onde está a colônia de bactérias. Esses resultados mostraram que o modelo conseguiu reproduzir um outro comportamento relevante observado nos experimentos *in vivo*, como o mostrado na Figura 5, que é um aumento no diâmetro da lesão do abscesso com o passar do tempo.

A fibrina também possui um papel fundamental na sobrevivência da bactéria, pois ela forma uma barreira protetora ao redor da colônia de bactérias (Figura 48), impedindo neutrófilos e macrófagos (Figuras 49 e 52) de reconhecerem as bactérias e realizarem a fagocitose delas. Após a completa formação da rede de fibrina (Figura 48) e a saturação dos pontos do tecido ao redor da colônia de bactérias, a eliminação da bactéria se torna um grande desafio para o sistema imune inato. Mesmo com a migração de neutrófilos continuando (Figura 49), as bactérias não são mais fagocitadas e sua população permanece estável (Figura 45) como pode ser visto nas curvas de nível que mostram as áreas com

maior concentração de bactérias para os dias 2, 4, 7 e 10 após o início da infecção (Figura 46).

Como neutrófilos e macrófagos tendem a se mover seguindo o gradiente da citocina pró-inflamatória, podemos observar um acúmulo deles ao redor do abscesso (Figuras 49 e 52).

Os macrófagos (Figuras 51 e 52) possuem a tarefa de fagocitar células mortas do tecido (Figura 53) e neutrófilos necróticos (Figura 50) contribuindo para que os neutrófilos vivos consigam chegar mais perto da colônia de bactérias.

As citocinas pró-inflamatórias (Figura 54) são produzidas inicialmente pelos macrófagos *resting* residentes no tecido, que são responsáveis por reconhecer as primeiras bactérias que migraram para o tecido. Esses macrófagos *resting* se ativam depois de reconhecerem a bactéria. No estado ativo, possuem uma maior capacidade de produzirem citocinas pró-inflamatórias e uma maior capacidade fagocítica.

As citocinas pró-inflamatórias (Figura 54) também aumentam a permeabilidade do endotélio dos vasos sanguíneos, permitindo a migração dos neutrófilos (Figura 49). Os neutrófilos, por sua vez, também produzem grandes quantidades de citocinas pró-inflamatórias, contribuindo com o recrutamento cada vez maior de mais neutrófilos.

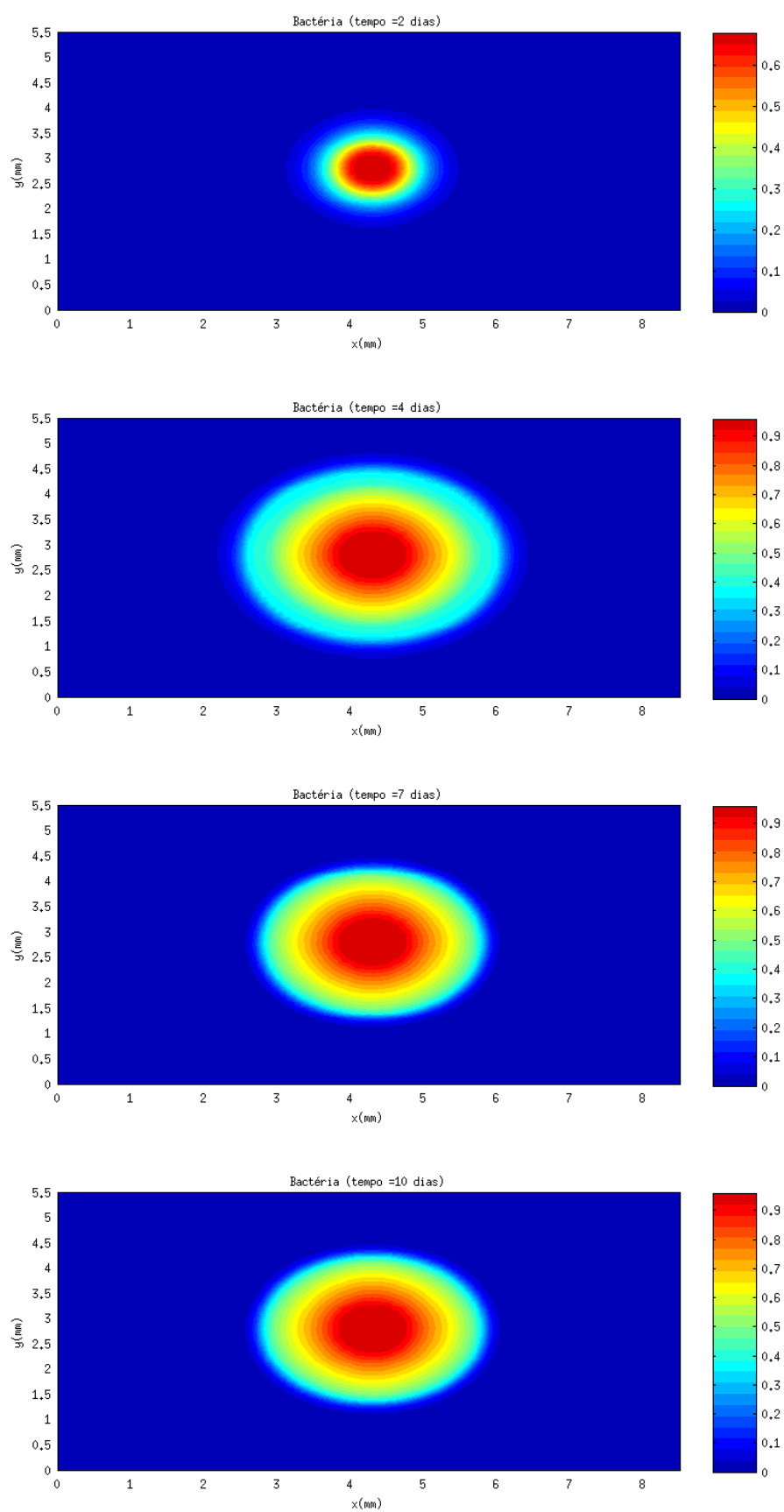


Figura 45 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.

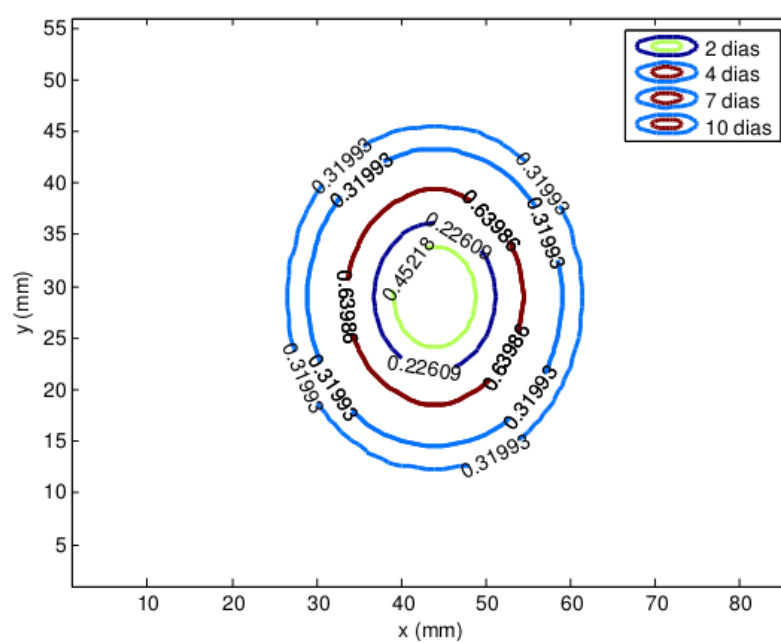


Figura 46 – Curvas de nível - concentração de bactérias

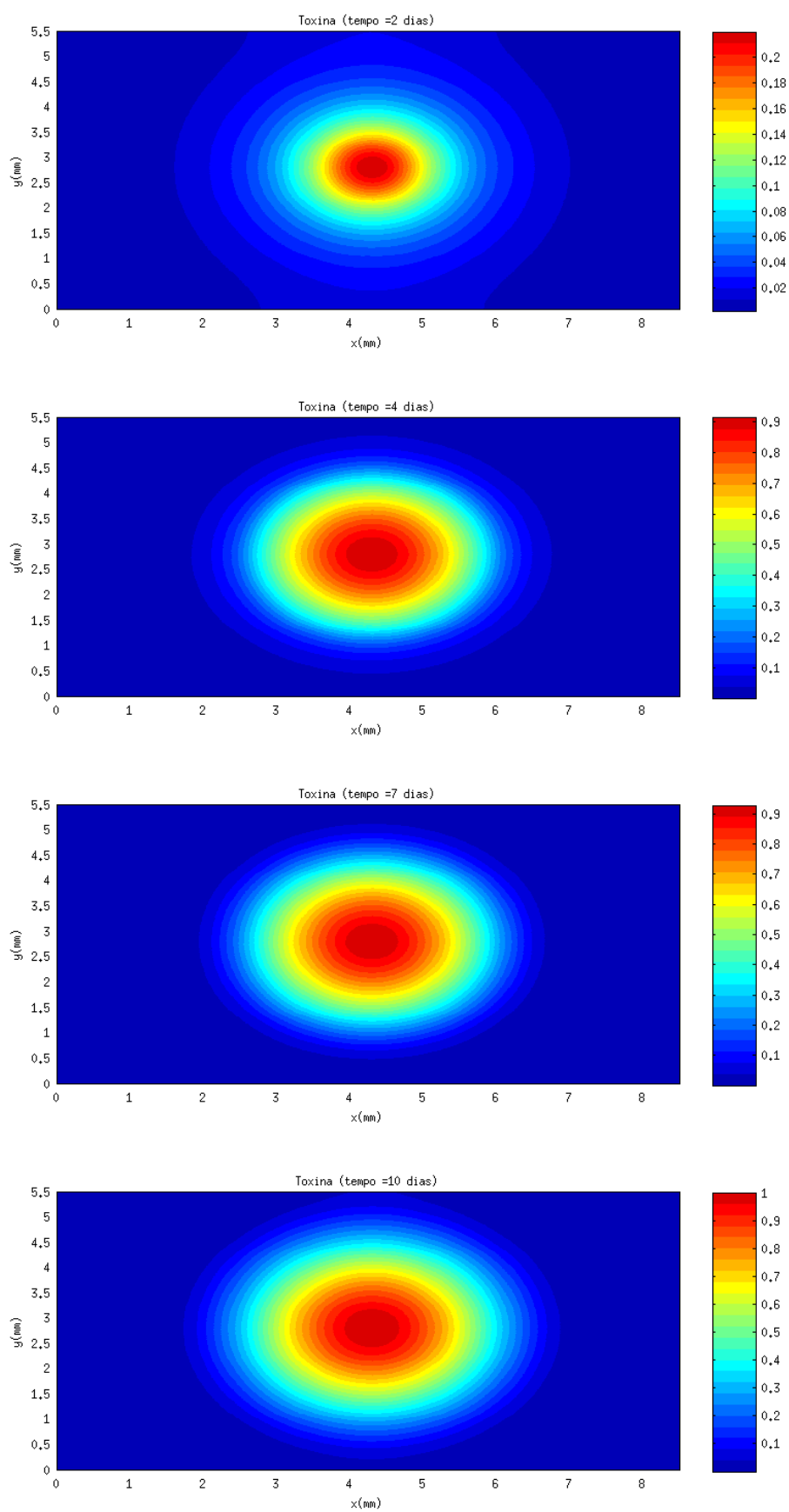


Figura 47 – Distribuição espacial da concentração de toxina.

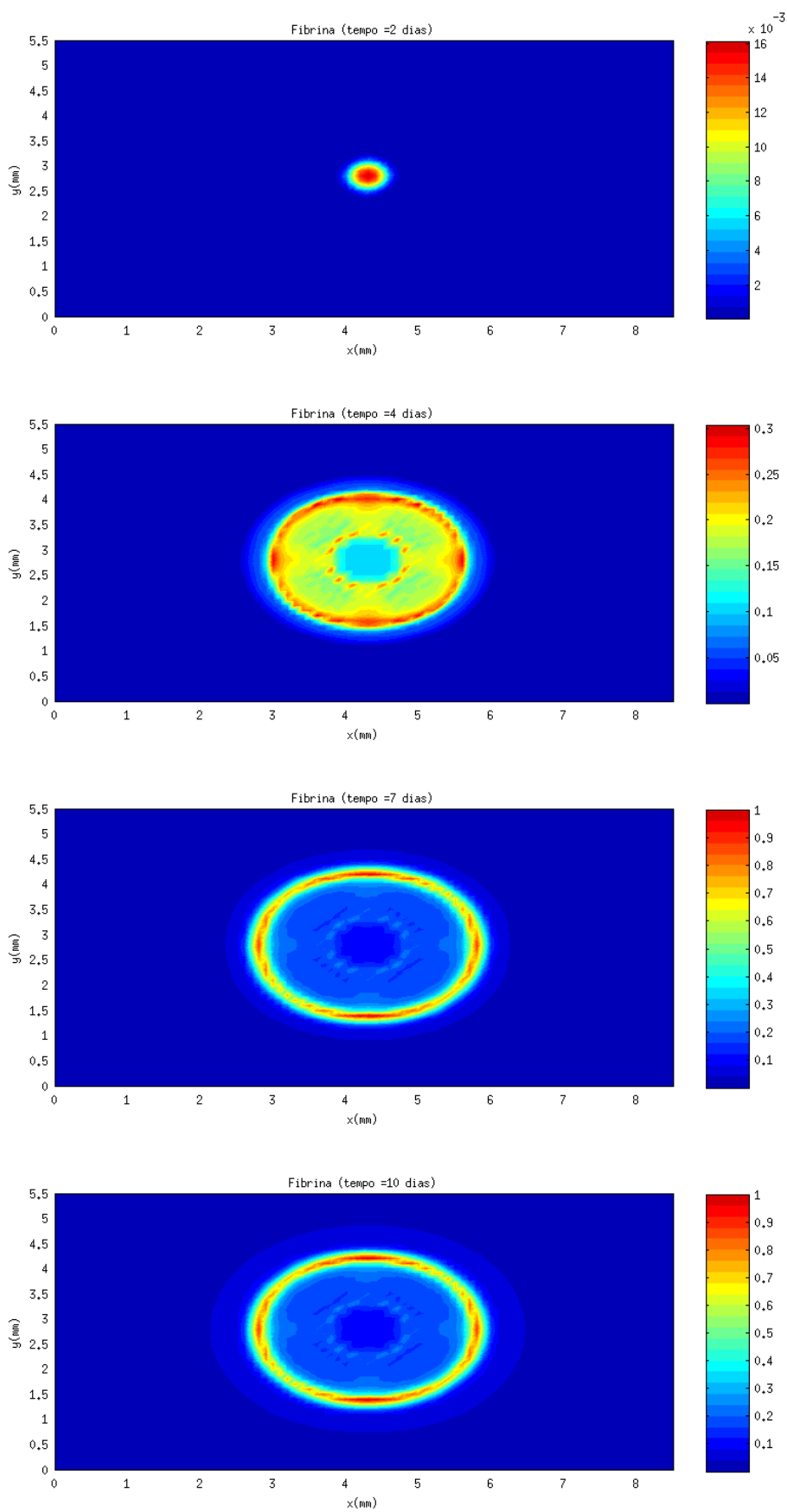


Figura 48 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.

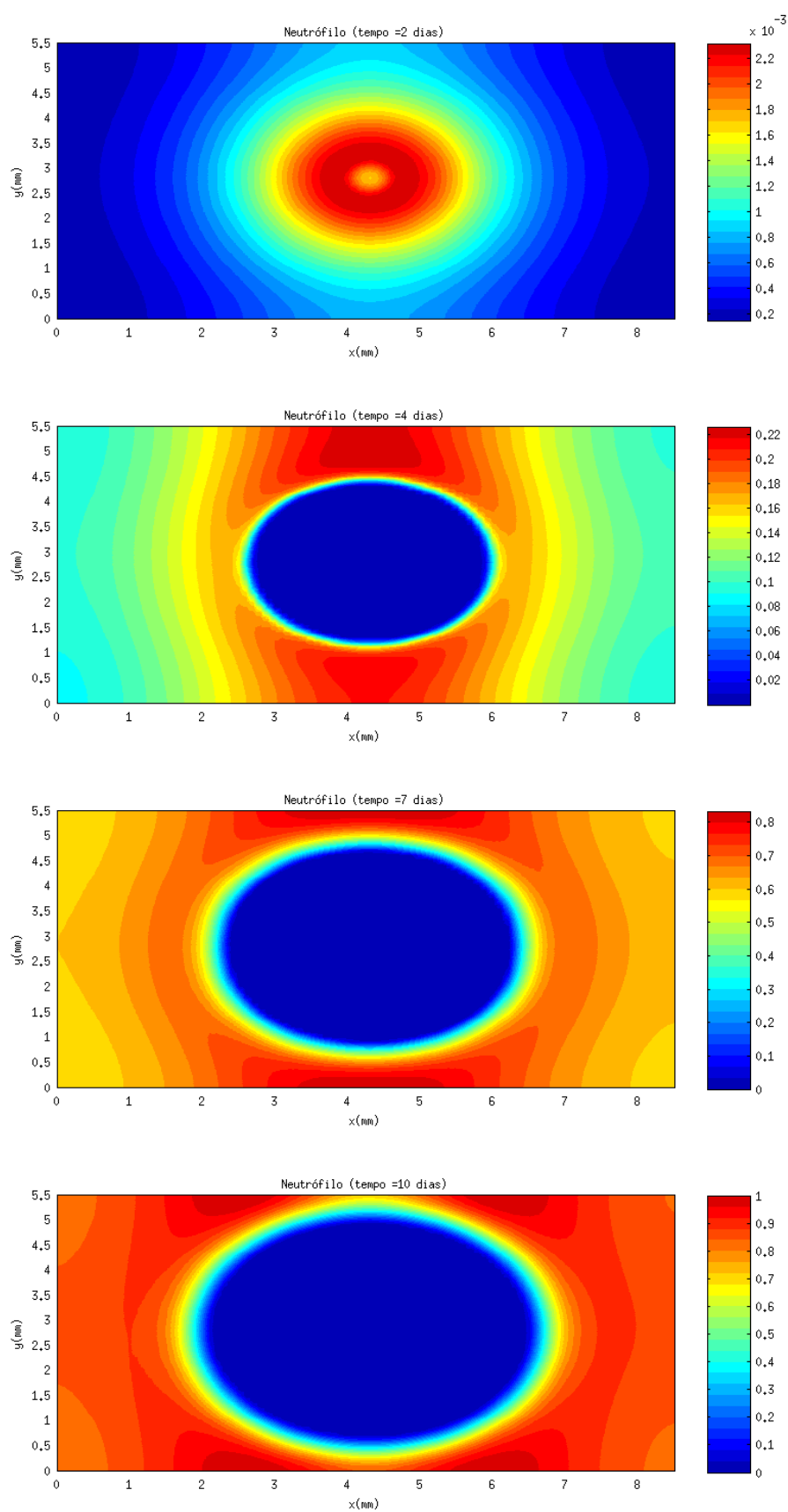


Figura 49 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos.

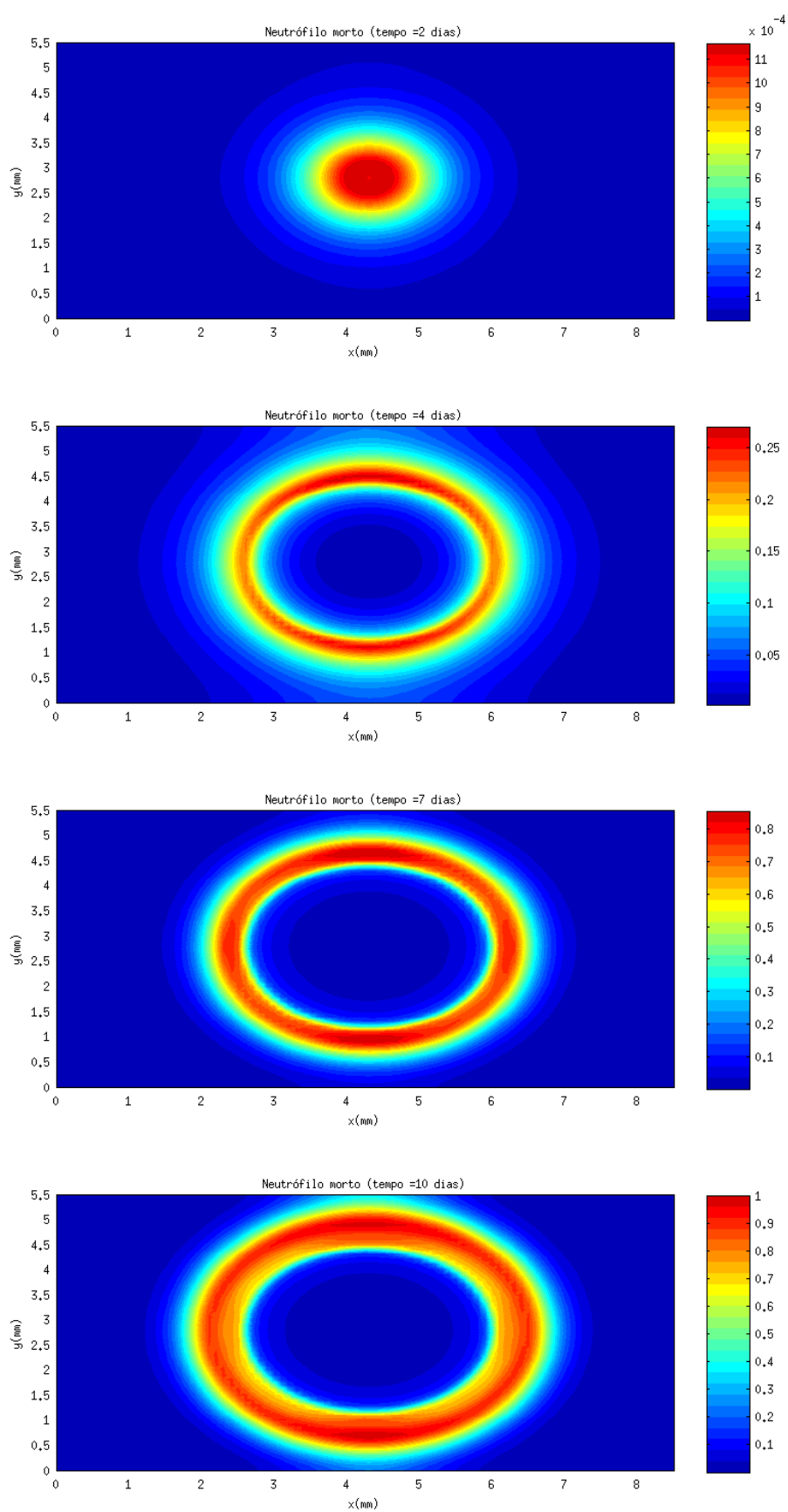


Figura 50 – Distribui33o espacial da concentra33o de neutr3falo morto.

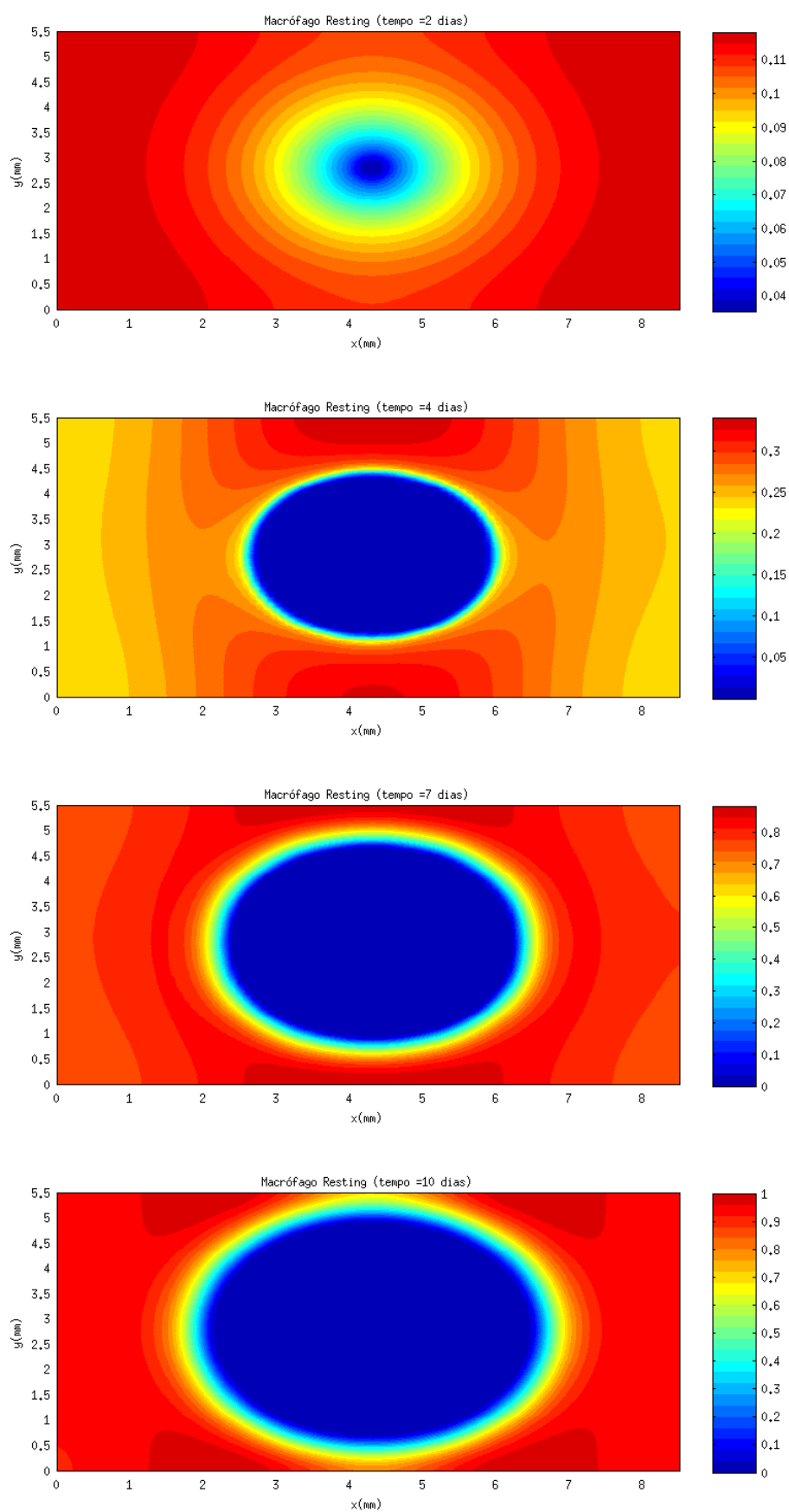


Figura 51 – Distribuição espacial da concentração de macrófagos *resting*.

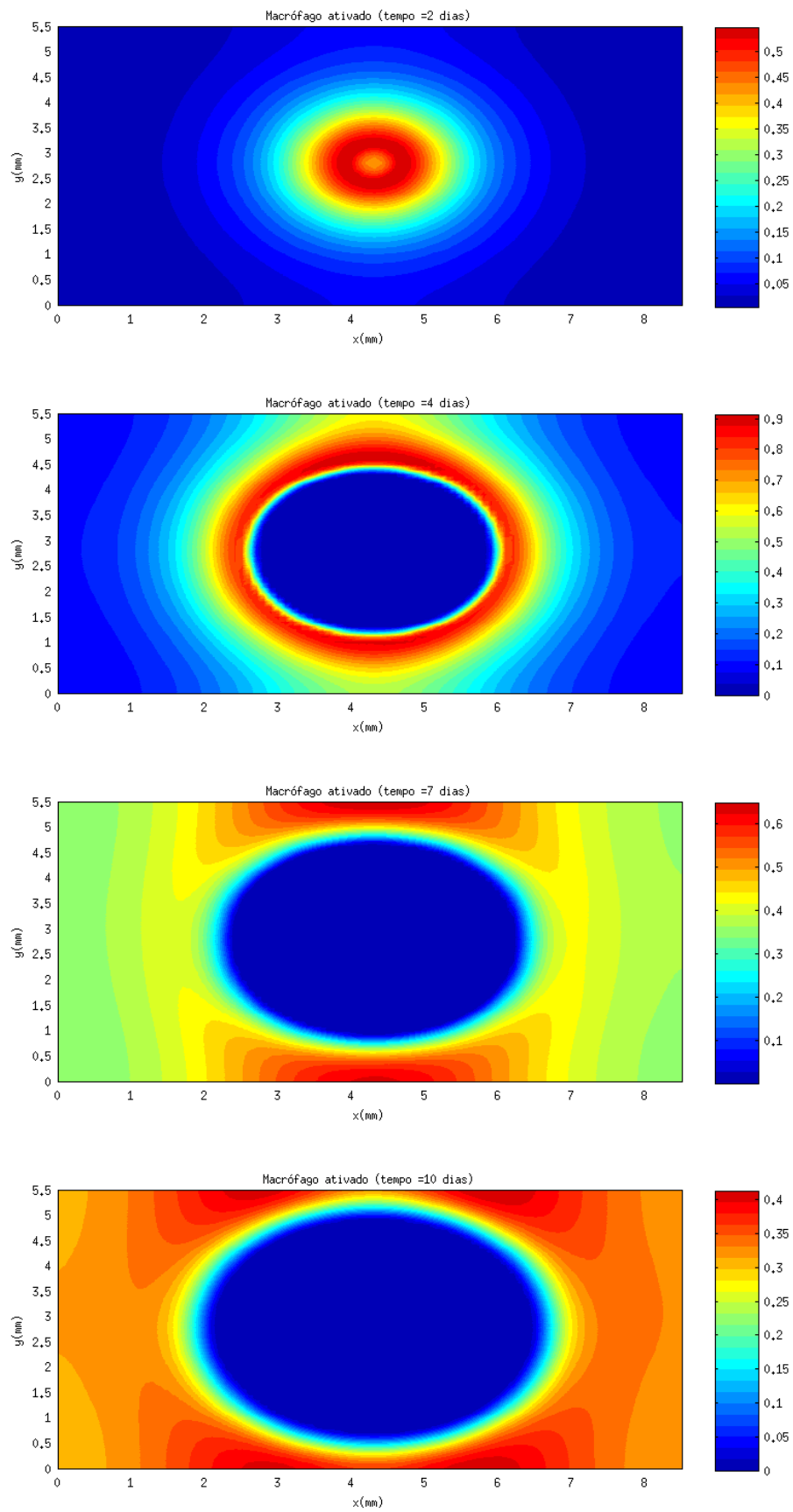


Figura 52 – Distribuição espacial da concentração de macrófagos ativados.

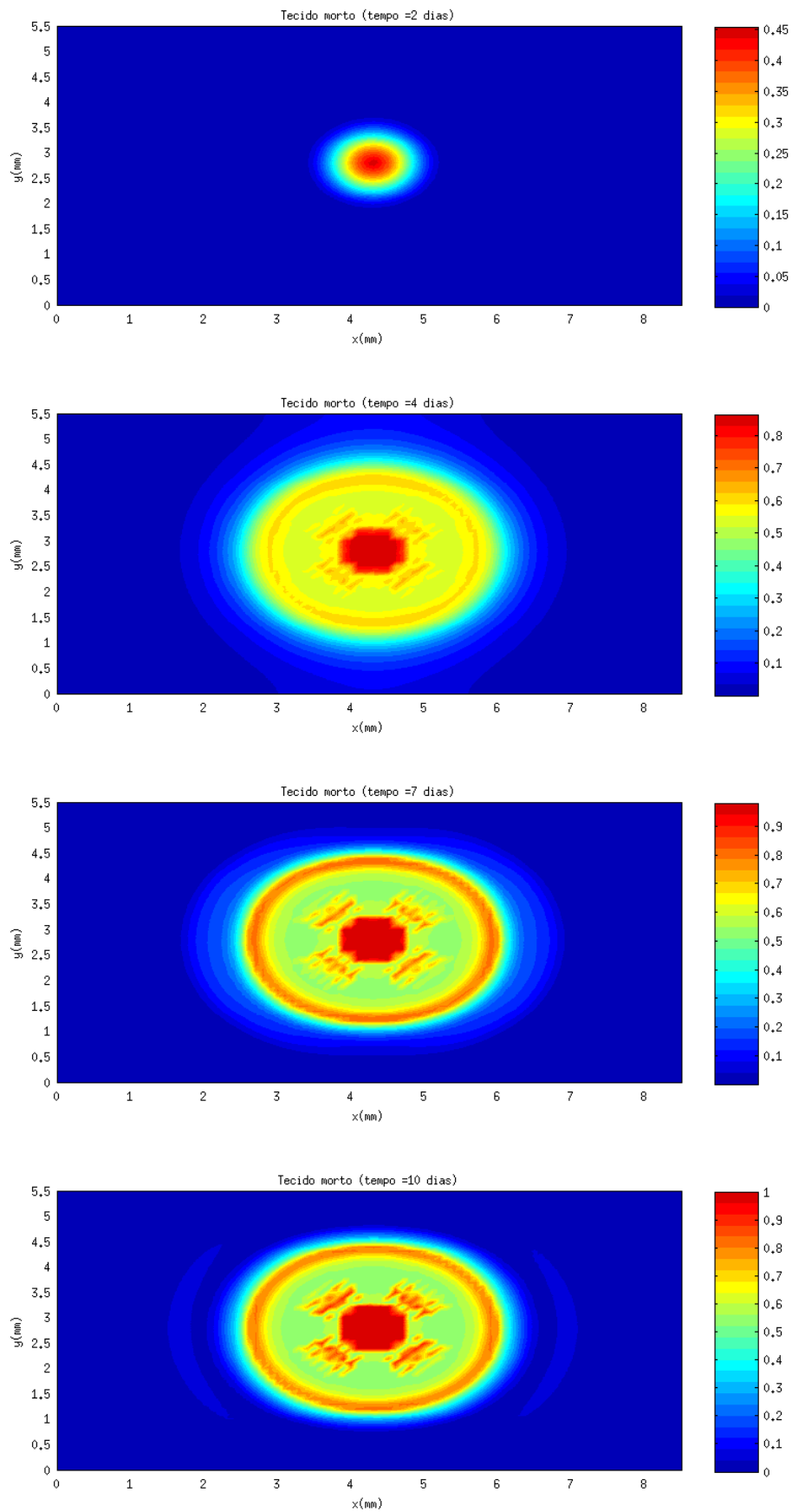


Figura 53 – Distribuição espacial da concentração de tecido morto.

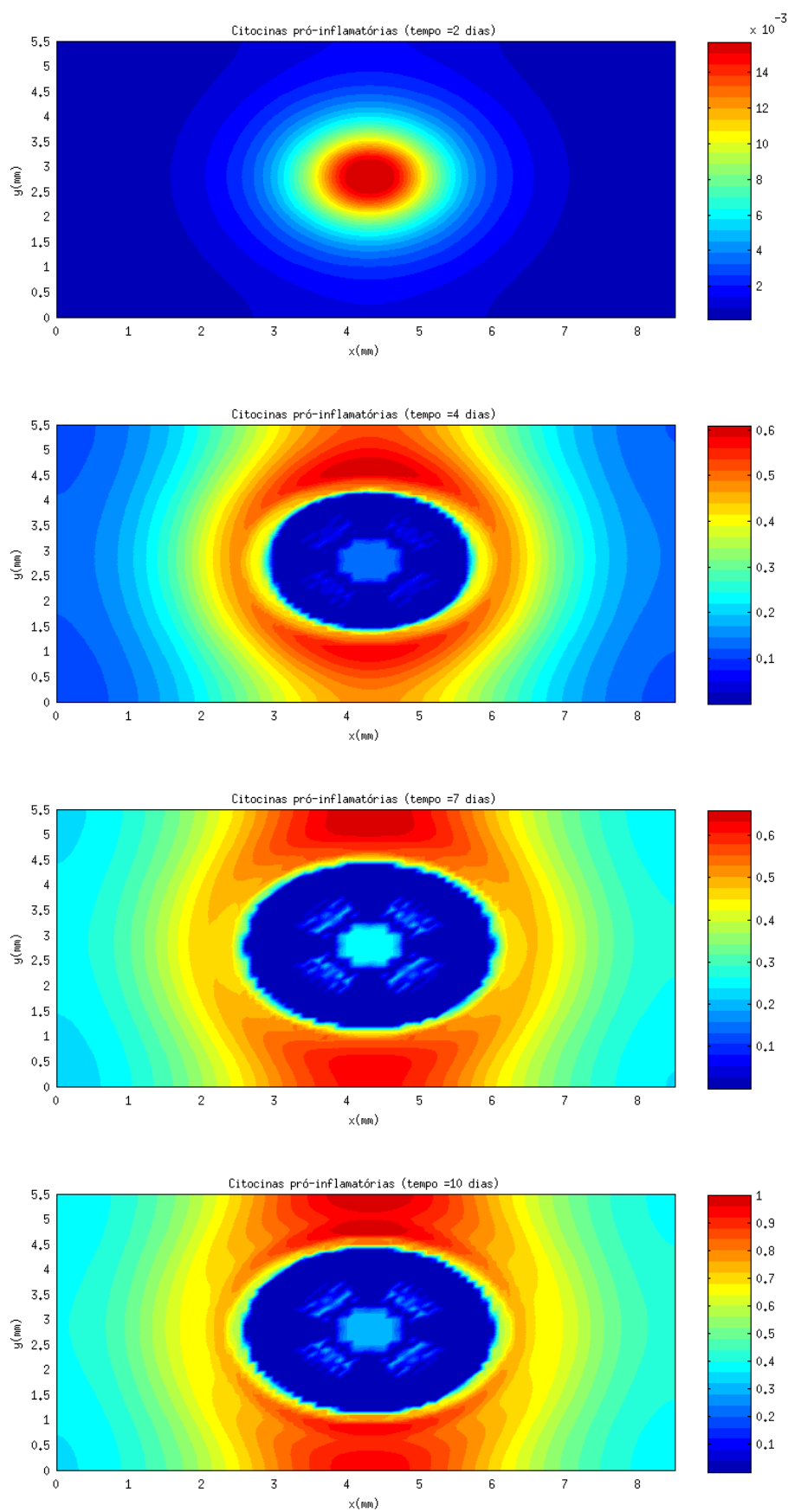


Figura 54 – Distribuição espacial da concentração de citocinas pró-inflamatórias.

7 VALIDAÇÃO DO MODELO

A validação é uma etapa importante no processo de construção de um modelo porque ela determina o grau em que um modelo é uma representação precisa do fenômeno estudado a partir da perspectiva das utilizações previstas para esse modelo. Além disso, como parte da validação ocorre o processo de ajuste dos parâmetros do modelo computacional com o intuito de aumentar a concordância com os dados experimentais.

A validação também é importante para revisar o modelo conceitual porque pode indicar a necessidade de correções e melhorias no conjunto de suposições do modelo, nos algoritmos, nas relações ou nos dados que descrevem o processo modelado.

A validação dos modelos desenvolvidos neste trabalho será realizada com base no experimento de depleção da resposta imune descrito na Seção 2.6. Para essa validação consideram-se os efeitos do anticorpo 8C5. É importante destacar que esse anticorpo e suas muitas interações complexas não serão modelados neste trabalho, apenas considera-se de forma simplificada seu importante efeito na resposta imune, que é o de provocar uma grande diminuição no número de neutrófilos vivos e no número de macrófagos.

Baseado nos dados do experimento de depleção da resposta imune, o efeito do anticorpo 8C5 pode ser incorporado de 2 formas nos modelos: 1) considerar que todos os neutrófilos e macrófagos estão inativos e, como consequência, nenhum neutrófilo ou macrófago migra para o tecido infectado; e 2) considerar que apenas 2% do total de neutrófilos consegue migrar para o tecido infectado e participar da resposta imune. E no caso dos macrófagos, considera-se que 50% do total participa da resposta imune. Para todos os testes realizados durante este trabalho, os resultados obtidos por essas duas abordagens foram muito similares.

Primeiro, será realizada uma validação do modelo bactéria-fibrina-neutrófilo apresentado na Seção 5.1.3. Nessa validação, são simulados dois cenários: 1) uma resposta imune normal; e 2) uma resposta imune deficiente devido a depleção de neutrófilos. No cenário de depleção considera-se que nenhum neutrófilo participa da resposta imune.

Nas Figuras 55, 56 e 57 são apresentados os resultados da simulação para o primeiro cenário da resposta imune normal. Observa-se que os neutrófilos (Figura 56) migraram para o tecido infectado na tentativa de eliminar completamente a bactéria, mas uma das colônias de bactérias (Figura 55) conseguiu formar a rede de fibrina ao seu redor (Figura 57), sobrevivendo ao ataque dos neutrófilos.

Uma outra simulação (Figuras 58 e 59), utilizando o mesmo conjunto de parâmetros da anterior, foi realizada considerando que não há neutrófilos para combater a infecção, simulando desta forma o cenário de depleção da resposta imune. Observa-se na Figura 58 que ambas as colônias de bactérias conseguiram crescer e estabelecer abscessos ao

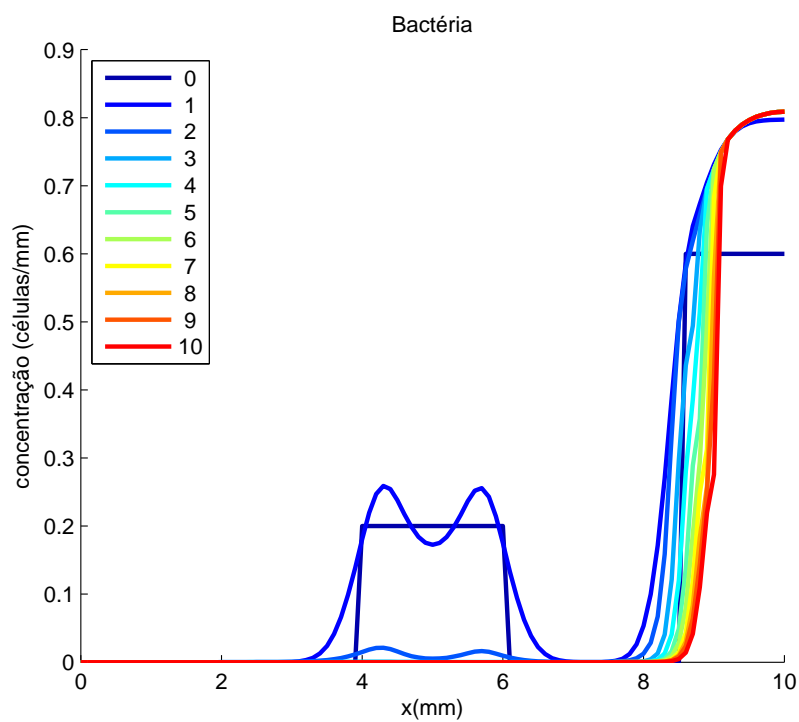


Figura 55 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.

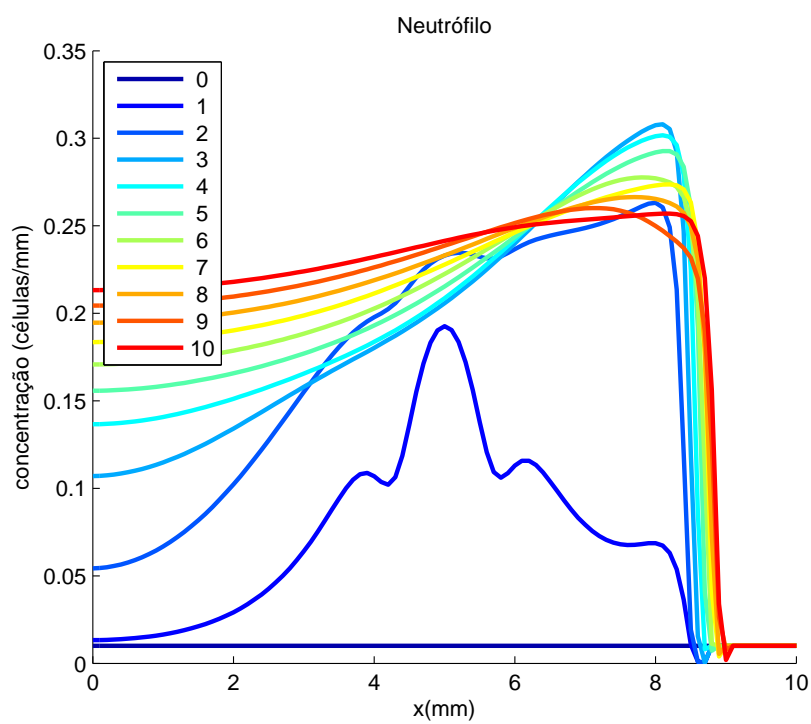


Figura 56 – Distribuição espacial da concentração de neutrófilos.

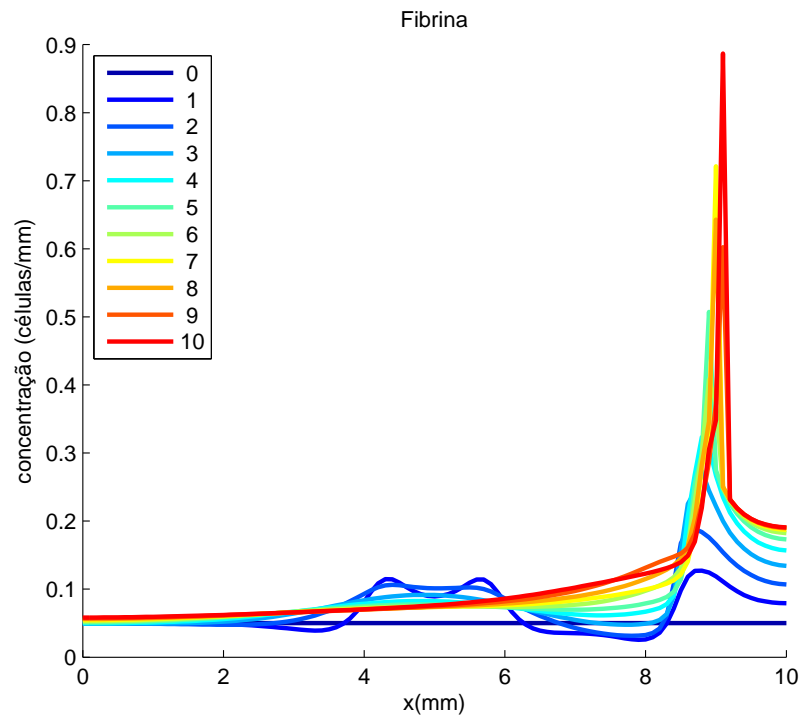


Figura 57 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.

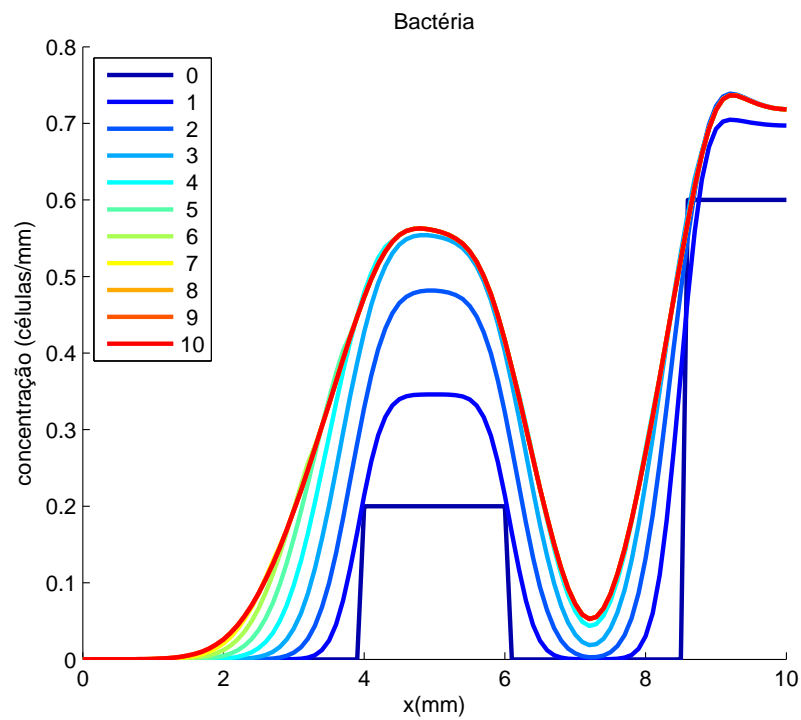


Figura 58 – Distribuição espacial da concentração de bactérias.

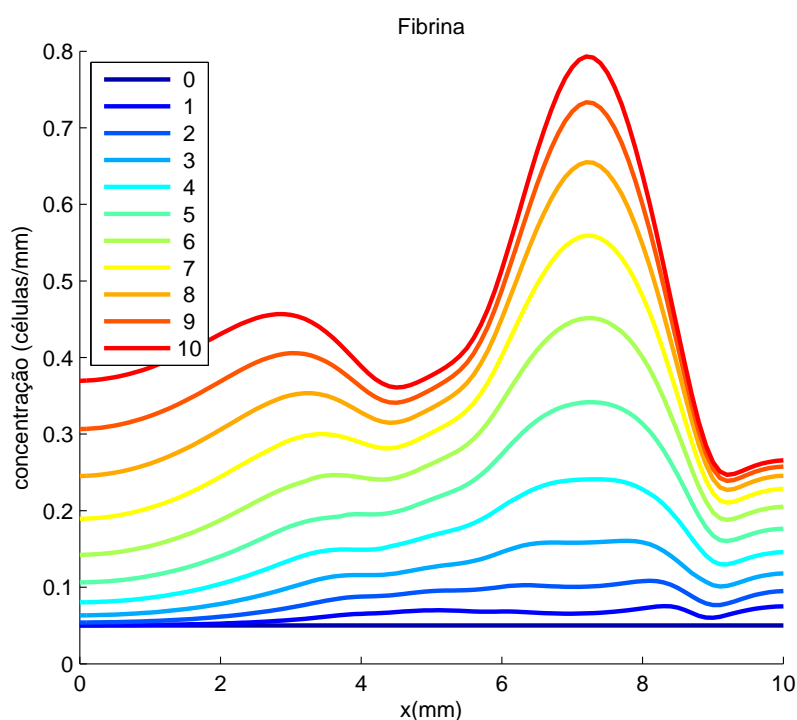


Figura 59 – Distribuição espacial da concentração de fibrina.

contrário do cenário anterior (Figura 55), onde somente uma delas conseguiu. Esse mesmo comportamento também pode ser obtido com o modelo bactéria-fibrina-neutrófilo-toxina.

Essa validação inicial é importante porque mostra o potencial do modelo de capturar aspectos relevantes da formação de abscessos, apesar de suas simplificações e limitações. Nesse sentido, uma validação do modelo matemático estendido (Seção 5.2) também será realizada e seus resultados serão discutidos a seguir.

Na simulação computacional que valida o modelo matemático estendido, levou-se em consideração que no cenário de depleção da resposta imune o número de neutrófilos que podem migrar para o tecido (N^{max}) cai para 2% do valor considerado normal e o número de macrófagos (M^{max}) cai para 50% do valor assumido como normal no modelo.

A ideia da validação é mostrar que o modelo é capaz de reproduzir os efeitos da depleção de neutrófilos e macrófagos (Figura 8). O modelo deve ser capaz de reproduzir as seguintes características que podem ser observadas no cenário de depleção da resposta imune:

- um aumento no número de abscessos;
- alguns abscessos contêm uma concentração maior de bactérias do que em relação ao cenário da resposta imune normal;
- em alguns casos também pode-se observar uma concentração maior de fibrina;

Os resultados da simulação do modelo estendido em um domínio 2D são mostrados e discutidos a seguir.

O domínio 2D tem tamanho $6\text{ mm} \times 9\text{ mm}$ e foi considerado um tempo de simulação de 10 dias. Serão apresentados os resultados da simulação para o 2º, 4º, 7º e 10º dias após o início da infecção.

Para essa simulação considera-se que a bactéria infectou o tecido em 3 regiões e as concentrações iniciais da bactéria em cada uma dessas regiões são dadas abaixo:

- para $4.3 \leq x \leq 4.6$ e $2.8 \leq y \leq 3.1$ a concentração inicial de bactéria é 0.4;
- para $1.9 \leq x \leq 2.2$ e $3.3 \leq y \leq 3.6$ a concentração inicial de bactéria é 0.1;
- para $2.3 \leq x \leq 2.6$ e $6.8 \leq y \leq 7.1$ a concentração inicial de bactéria é 0.05.

Considera-se também que todos os pontos do tecido estão sendo irrigados por vasos sanguíneos. Desta forma neutrófilos e macrófagos podem entrar no tecido em qualquer ponto.

Na Figura 60 são mostrados os resultados da bactéria para os dois cenários simulados: no painel A temos o cenário da resposta imune normal e no painel B o cenário da resposta imune deficiente devido a depleção de neutrófilos e macrófagos.

Observa-se no cenário da resposta imune normal (painel A, Figura 60), que somente em uma das três regiões infectadas a bactéria conseguiu sobreviver e formar a rede de fibrina, dando origem a um abscesso. No cenário de depleção da resposta imune, as três regiões infectadas deram origem a abscessos (painel B, Figura 60), pois não havia no tecido neutrófilos e macrófagos suficientes para montar uma resposta imune adequada. Além do aumento no número de abscessos também pode ser visualizado um aumento na quantidade de bactérias no cenário de depleção (painel B, Figura 60).

No caso da fibrina, observa-se no painel B da Figura 61 que esta cobriu uma região maior no cenário de depleção em relação ao cenário da resposta imune normal, dando origem a colônias de bactérias maiores que podem até se juntar em alguns casos como pode ser visto na Figura 7.

Essas características também podem ser observadas em diversas imagens histológicas do experimento de depleção, sendo que algumas dessas imagens foram apresentadas nas Figuras 7 e 8.

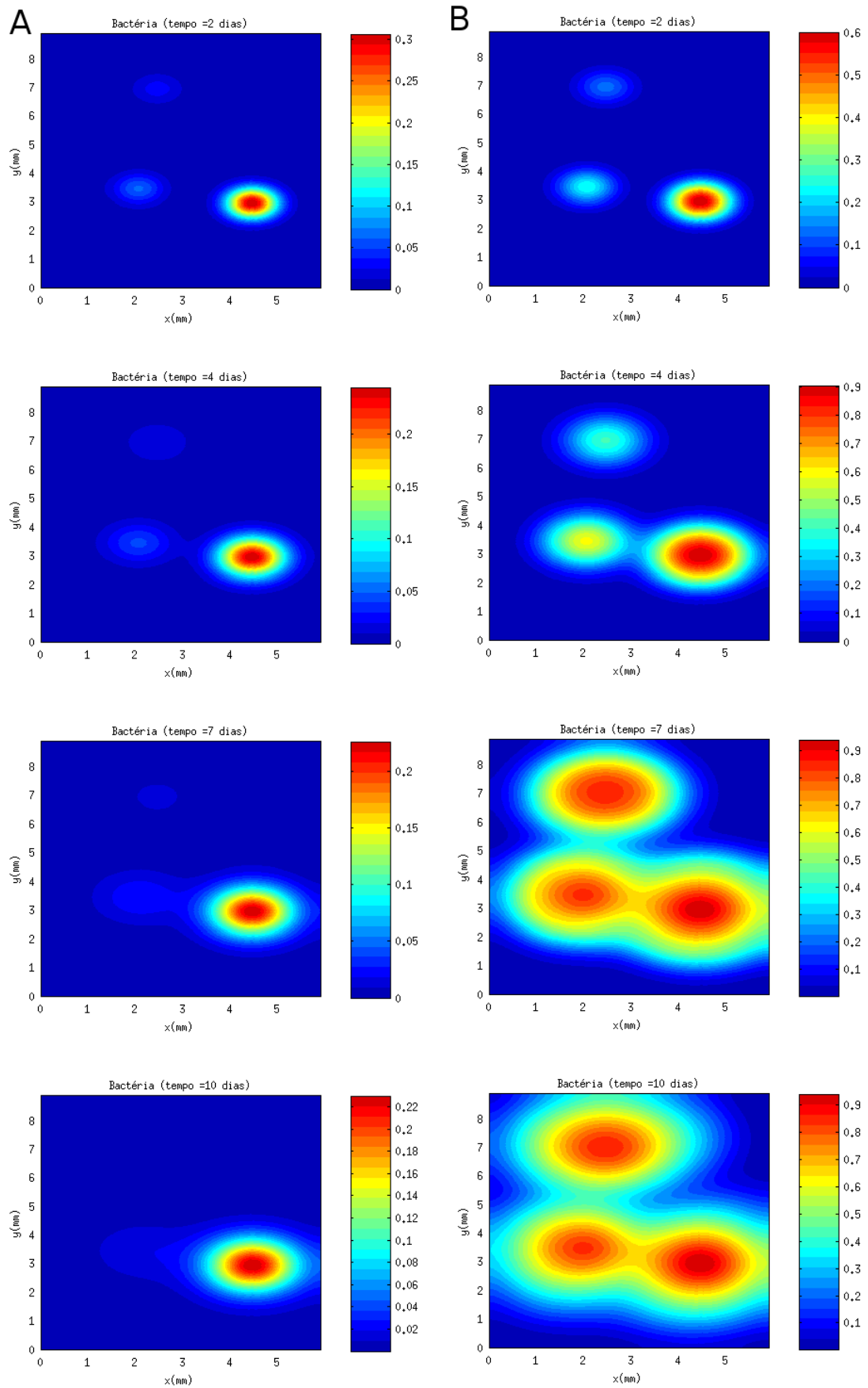


Figura 60 – Evolução temporal da distribuição espacial da concentração de bactérias. A: resposta imune normal. B: depleção da resposta imune.

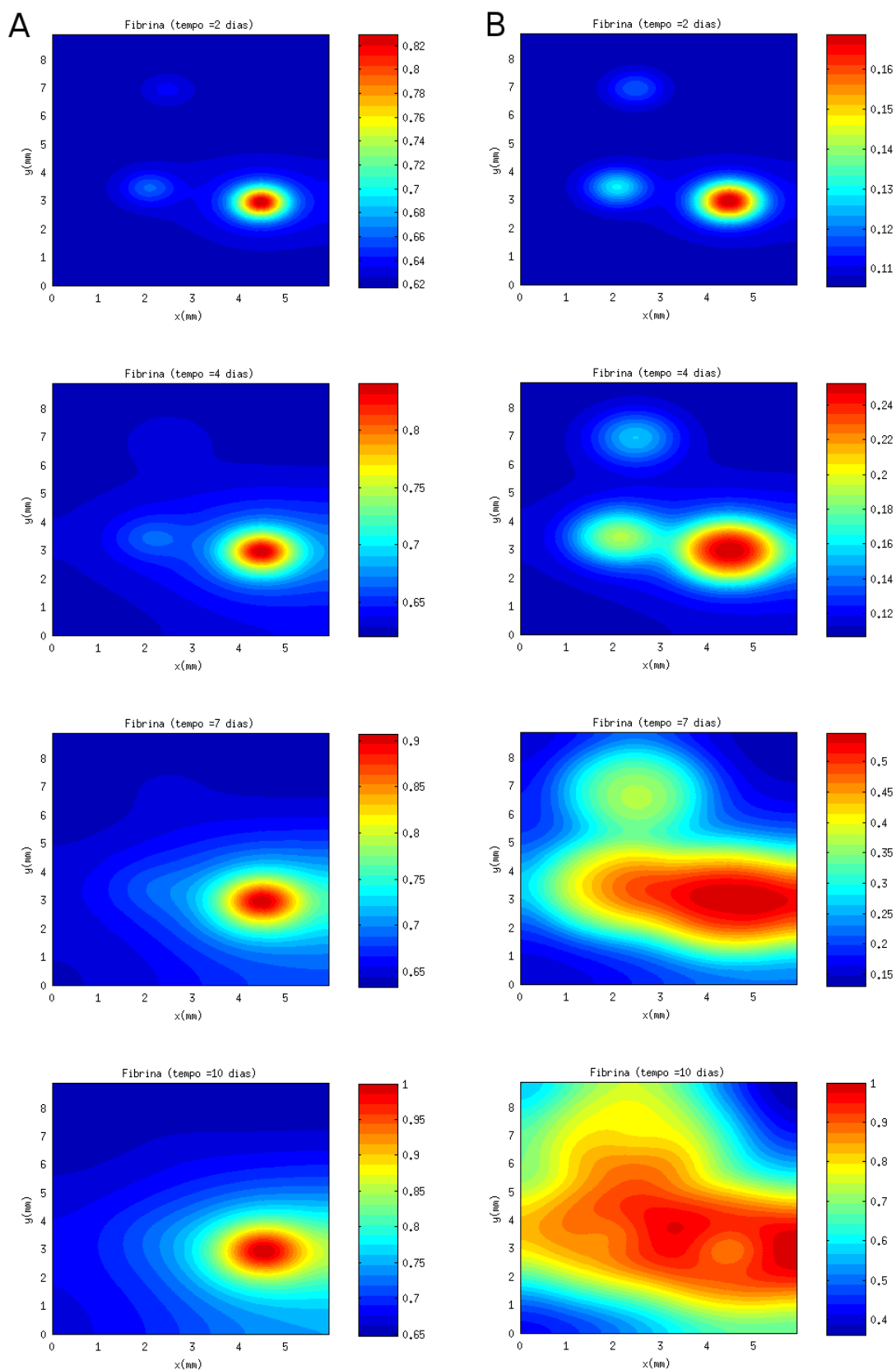


Figura 61 – Evolução temporal da distribuição espacial da concentração de fibrina. A: resposta imune normal. B: depleção da resposta imune.

8 CONCLUSÕES E TRABALHOS FUTUROS

Neste trabalho, foram desenvolvidos diversos modelos matemáticos-computacionais baseados em equações diferenciais parciais que reproduzem comportamentos relevantes do processo de formação de abscessos. Mostrou-se que é possível reproduzir a formação de abscessos numericamente com modelos que capturam a dinâmica espaço-temporal de alguns componentes da resposta imune inata a uma infecção bacteriana.

Foi realizada a validação dos modelos desenvolvidos neste trabalho, comparando-se qualitativamente os resultados do modelo com dados experimentais. Verificou-se que os resultados do modelo reproduziram características e comportamentos encontrados no processo de formação de abscessos.

Neste trabalho também foi realizado um estudo para identificar características em um modelo matemático que possibilitassem a esse modelo reproduzir a formação de abscessos espacialmente. Nesse estudo foram realizadas diversas análises dos comportamentos temporal e espacial dos modelos desenvolvidos. Essas análises permitiram compreender melhor como os processos modelados interagem, quais os efeitos da incorporação de determinados processos, quais as implicações de determinadas considerações na dinâmica do sistema, entre outros fatores. Com esse estudo verificou-se, dentre outras coisas, que a função g foi muito importante para a formação do abscesso através da limitação no número de células que podem ocupar um local do tecido e a limitação nos processos de movimento e crescimento das células, exercendo dessa forma um papel fundamental no modelo.

Os modelos apresentados neste trabalho foram capazes de capturar com equações simples comportamentos importantes no processo de formação de abscessos. Os resultados espaciais mostraram um aglomerado de células de bactérias, fibrina, neutrófilos mortos e neutrófilos vivos na região do abscesso como observado nas imagens histológicas. O modelo também foi capaz de reproduzir algumas características observadas *in vivo* no experimento de depleção da resposta imune como, por exemplo, um aumento no número de abscessos, com alguns abscessos contendo elevadas concentrações de bactéria e fibrina.

Não foi encontrado na literatura consultada nenhum outro trabalho que desenvolveu um modelo matemático-computacional da formação de abscessos. Este trabalho é um passo inicial na modelagem desse complexo processo de formação. Entre as principais contribuições deste trabalho destaca-se o desenvolvimento de modelos que capturam comportamentos relevantes na formação de abscessos.

8.1 LIMITAÇÕES DO TRABALHO

Como limitações deste trabalho podemos citar o fato de que as condições para a formação do abscesso são restritivas em alguns casos, havendo um intervalo pequeno

de parâmetros para os quais o abscesso é formado. Mais análises são necessárias para determinar o grau de robustez do modelo.

Outro problema decorre do fato de que o uso de modelos baseados em equações diferenciais requer conhecimento detalhado sobre os parâmetros que estão incluídos nas equações. Alguns desses parâmetros podem ser medidos experimentalmente, enquanto outros precisam ser estimados. Neste trabalho, a maioria dos parâmetros foi estimada devido à falta de dados na literatura. Uma grande preocupação que surge com o uso da abordagem baseada em equações diferenciais é que quanto mais parâmetros existirem, mais fácil será introduzir imprecisões no modelo que podem desviar da realidade que o modelo está tentando capturar.

Outra questão importante está relacionada à disponibilidade de dados experimentais. Quanto maior a quantidade de dados experimentais disponíveis, mais informações podem ser utilizadas para o desenvolvimento do modelo, dando um embasamento para este, e, além disso essas informações também são valiosas para a validação mais detalhada e cuidadosa do modelo. Neste trabalho, não foi possível obter muitos dados experimentais de diferentes tipos que pudessem ser utilizados na validação do modelo. A maioria dos dados experimentais eram imagens de histologia, que foram muito importantes para a validação, mas faltaram outros dados importantes como concentrações de células no tecido infectado (por exemplo, concentrações de toxinas, fibrina, neutrófilos e macrófagos) as taxas de produção de fibrina, de produção de toxinas e citocinas, de migração de neutrófilos e macrófagos, taxa de fagocitose, entre outras taxas, além de imagens de histologia que mostram a distribuição de outros tipos de células como, por exemplo, a distribuição das toxinas, dos macrófagos e das citocinas pró-inflamatórias na região do abscesso.

Os modelos matemáticos desenvolvidos neste trabalho também possuem diversas limitações. O modelo de formação da fibrina (Equação 5.1.2) possui limitações que decorrem do próprio uso da função g . A inibição que a função g exerce no movimento das células só é significativa quando em determinada posição do tecido a concentração de células é elevada. Para baixas concentrações de células, a inibição é pequena. Uma tentativa de superar essa limitação e de simular o efeito da diferença de volume entre os diferentes tipos de células foi através do uso de “pesos” na função g . Quando o “peso” é maior do que 1 ele representa uma influência maior de determinado tipo de célula na dinâmica de outra célula como, por exemplo, a influência da fibrina no movimento da bactéria.

O modelo matemático desenvolvido para a dinâmica da toxina também é muito limitado. Esse modelo não foi fundamentado em muitos dados experimentais e informações da literatura, pois poucas informações sobre a dinâmica de algumas toxinas secretadas pela *S. aureus* estavam disponíveis. Devido a essa escassez de dados e informações, optou-se por modelar alguns processos da dinâmica da toxina de modo bastante simplificado,

mas de forma que, mesmo com essa simplificação, o modelo fosse capaz de reproduzir o comportamento desejado. Esse comportamento era a formação de uma região de neutrófilos mortos ao redor da rede de fibrina.

8.2 TRABALHOS FUTUROS

Como trabalho futuro, destaca-se a possibilidade de um ajuste mais refinado nos valores dos parâmetros, utilizando-se para isso uma maior quantidade de dados experimentais, inclusive para outras espécies de bactérias.

Uma análise de sensibilidade dos parâmetros do modelo contribuiria para um maior entendimento do grau de influência de cada parâmetro na dinâmica do sistema, ajudando a determinar os intervalos dos valores dos parâmetros para os quais determinado comportamento pode ser obtido. Além disso, destaca-se também as muitas possibilidades de melhorar o modelo atual e estendê-lo para outros problemas.

Uma possibilidade de extensão seria considerar um modelo mais adequado para a estrutura do tecido e de seus constituintes. O tecido e as células nele presentes poderiam ser caracterizados como um meio poroso multifásico. Dentre as motivações para o uso de uma abordagem baseada em meios porosos, destaca-se: 1) o modelo atual não leva em consideração as diferenças de volume entre os diferentes tipos de células modelados; 2) o modelo se utiliza de um artifício para limitar o número de células que ocupam uma área discretizada do domínio (a função \mathbf{g}); e 3) uma tentativa de representar as restrições de volume que estão presentes muito fortemente dentro dos organismos vivos, onde milhões de células ocupam espaços pequenos.

Em relação aos métodos também existem possibilidades de melhorias como, por exemplo, implementar um método numérico com uma taxa de convergência maior no tempo e no espaço, aumentando assim, além da convergência, a precisão do esquema numérico.

Outra possibilidade de extensão seria o uso de outras abordagens para modelar o problema como, por exemplo, autômatos celulares, modelos baseados em agentes, modelos estocásticos ou redes de Petri.

REFERÊNCIAS

- ALT, W.; LAUFFENBURGER, D. Transient behavior of a chemotaxis system modelling certain types of tissue inflammation. *Journal of Mathematical Biology*, 1987. Springer-Verlag, v. 24, n. 6, p. 691–722, 1987. ISSN 0303-6812. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/BF00275511>>.
- AN, G. Agent-based computer simulation and sirs: Building a bridge between basic science and clinical trials. *Shock*, 2001. v. 16, n. 4, p. 266–273, 2001. Disponível em: <http://journals.lww.com/shockjournal/Fulltext/2001/16040-/Agent_Based_Computer_Simulation_and_Sirs_Building.6.aspx>.
- AN, G. In silico experiments of existing and hypothetical cytokine-directed clinical trials using agent-based modeling. *Critical Care Medicine*, 2004. v. 32, n. 10, p. 2050–2060 10.1097/01.CCM.0000139707.13729.7D, 2004. Disponível em: <http://journals.lww.com/ccmjournal/Fulltext/2004/10000/In_silico_experiments_of_existing_and_hypothetical.11.aspx>.
- AN, G.; LEE, I. A. Computer simulation to study inflammatory response. *Simulation & Gaming*, 2001. v. 32, n. 3, p. 344–361, set. 2001. Disponível em: <<http://sag.sagepub.com/content/32/3/344.abstract>>.
- ANTIA, R.; KOELLA, J. C.; PERROT, V. Models of the within-host dynamics of persistent mycobacterial infections. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 1996. v. 263, n. 1368, p. 257–263, mar. 1996. Disponível em: <<http://rspb.royalsocietypublishing.org/content/263/1368/257.abstract>>.
- ANTIA, R.; LEVIN, B. R.; MAY, R. M. Within-host population dynamics and the evolution and maintenance of microparasite virulence. *The American Naturalist*, 1994. v. 144, p. 457–472, 1994.
- BENDER, E. A. *An Introduction to Mathematical Modeling*. [S.l.]: Dover Publications (Educa Books), 2000. 272 p.
- BERNASCHI, M.; CASTIGLIONE, F. Design and implementation of an immune system simulator. *Computers in Biology and Medicine*, 2001. v. 31, n. 5, p. 303 – 331, 2001. ISSN 0010-4825. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6T5N-43VRMC8-2/2/eea5c458b2535b38120746a573a12b2c>>.
- BYRNE, H. M.; OWEN, M. R. A new interpretation of the keller-segel model based on multiphase modelling. *Journal of Mathematical Biology*, 2004. v. 49, n. 6, p. 604–626, 2004. Disponível em: <<http://www.ingentaconnect.com/content/klu/285/2004/00000049-00000006/art00004>>.
- CELADA, F.; SEIDEN, P. E. A computer model of cellular interactions in the immune system. *Immunology Today*, 1992. v. 13, n. 2, p. 56 – 62, 1992. ISSN 0167-5699. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6VHW-4805SYB-P/2-/074bd180cec587021d6ed7b96be84125>>.
- CHENG, A. G. *et al.* Genetic requirements for staphylococcus aureus abscess formation and persistence in host tissues. *The FASEB Journal*, 2009. v. 23, n. 10, p. 3393–3404, 2009. Disponível em: <<http://www.fasebj.org/content/23/10/3393.abstract>>.

CHENG, A. G. *et al.* Contribution of coagulases towards staphylococcus aureus disease and protective immunity. *PLoS Pathog*, 2010. Public Library of Science, v. 6, n. 8, p. e1001036, 08 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.ppat.1001036>>.

CHIANG, H.-D.; HIRSCH, M.; WU, F. Stability regions of nonlinear autonomous dynamical systems. *Automatic Control, IEEE Transactions on*, 1988. v. 33, n. 1, p. 16–27, 1988. ISSN 0018-9286.

CLARK, R. A. Overview and general considerations of wound repair. In: CLARK, R.; HENSON, P. (Ed.). *The Molecular and Cellular Biology of Wound Repair*. Springer US, 1988. p. 3–33. ISBN 978-1-4613-5725-4. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4613-5725-4_1>.

CLERMONT, G. Translational equation-based modeling. In: VODOVOTZ, Y.; AN, G. (Ed.). *Complex Systems and Computational Biology Approaches to Acute Inflammation*. Springer New York, 2013. p. 11–28. ISBN 978-1-4614-8007-5. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/978-1-4614-8007-5_2>.

CLERMONT, G. *et al.* In silico design of clinical trials: A method coming of age. *Critical Care Medicine*, 2004. v. 32, n. 10, p. 2061–2070. 10.1097/01.CCM.0000142394.28791.C3, 2004. Disponível em: <http://journals.lww.com/ccmjournals/Fulltext/2004/10000-/In_silico_design_of_clinical_trials_A_method.12.aspx>.

DALEY, J. M. *et al.* Use of ly6g-specific monoclonal antibody to deplete neutrophils in mice. *Journal of Leukocyte Biology*, 2008. v. 83, n. 1, p. 64–70, jan. 2008. Disponível em: <<http://www.jleukbio.org/content/83/1/64.abstract>>.

DAS, D.; BISHAYI, B. Contribution of catalase and superoxide dismutase to the intracellular survival of clinical isolates of staphylococcus aureus in murine macrophages. *Indian Journal of Microbiology*, 2009. Springer-Verlag, India, v. 50, n. 4, p. 375–384, jul. 2009. ISSN 0973-7715. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3209836/>>.

DAY, J. *et al.* A reduced mathematical model of the acute inflammatory response ii. capturing scenarios of repeated endotoxin administration. *J Theor Biol*, 2006. Department of Mathematics, 301 Thackeray, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15260, USA., v. 242, n. 1, p. 237–256, September 2006. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2006.02.015>>.

DAY, J. *et al.* A reduced mathematical model of the acute inflammatory response ii. capturing scenarios of repeated endotoxin administration. *J Theor Biol*, 2006. Department of Mathematics, 301 Thackeray, University of Pittsburgh, Pittsburgh, PA 15260, USA., v. 242, n. 1, p. 237–256, September 2006. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtbi.2006.02.015>>.

DONG, X. *et al.* Agent-based modeling of endotoxin-induced acute inflammatory response in human blood leukocytes. *PLoS ONE*, 2010. Public Library of Science, v. 5, n. 2, p. e9249, 02 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371%2Fjournal.pone.0009249>>.

FASSONI, A.; TAKAHASHI, L.; SANTOS, L. dos. Basins of attraction of the classic model of competition between two populations. *Ecological Complexity*, 2014. v. 18, n. 0, p. 39–48, jun. 2014. ISSN 1476-945X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1476945X13001050>>.

- FILBET, F. A finite volume scheme for the patlak–keller–segel chemotaxis model. *Numerische Mathematik*, 2006. v. 104, p. 457–488, 2006.
- FISCHER, A. H. *et al.* Hematoxylin and eosin staining of tissue and cell sections. *Cold Spring Harbor Protocols*, 2008. v. 2008, n. 5, p. pdb.prot4986, 2008. Disponível em: <<http://cshprotocols.cshlp.org/content/2008/5/pdb.prot4986.abstract>>.
- FISHER, C. J. *et al.* Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor:fc fusion protein. *New England Journal of Medicine*, 1996. v. 334, n. 26, p. 1697–1702, 1996. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199606273342603>>.
- FORREST, S.; BEAUCHEMIN, C. Computer immunology. *Immunological Reviews*, 2007. Blackwell Publishing Ltd, v. 216, n. 1, p. 176–197, 2007. ISSN 1600-065X. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-065X.2007.00499.x>>.
- FOSTER, T. J. Immune evasion by staphylococci. *Nat Rev Micro*, 2005. v. 3, n. 12, p. 948–958, dez. 2005. ISSN 1740-1526. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1289>>.
- FOSTER, T. J.; HÖÖK, M. Surface protein adhesins of staphylococcus aureus. *Trends in Microbiology*, 1998. v. 6, n. 12, p. 484 – 488, 1998. ISSN 0966-842X. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X98014000>>.
- GRAVES, S.; KOBAYASHI, S.; DELEO, F. Community-associated methicillin-resistant staphylococcus aureus immune evasion and virulence. *Journal of Molecular Medicine*, 2010. Springer-Verlag, v. 88, n. 2, p. 109–114, 2010. ISSN 0946-2716. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s00109-009-0573-x>>.
- GUGGENBERGER, C. *et al.* Two distinct coagulase-dependent barriers protect staphylococcus aureus from neutrophils in a three dimensional *in vitro* infection model. *PLoS Pathog*, 2012. Public Library of Science, v. 8, n. 1, p. e1002434, 01 2012. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1002434>>.
- HAFEZ, M. M.; CHATTOT, J. J. *Innovative Methods for Numerical Solution of Partial Differential Equations*. [S.l.]: World Scientific Publishing Company, 2002.
- HARTEN, A. High resolution schemes for hyperbolic conservation laws. *J. Comput. Phys.*, 1997. Academic Press Professional, Inc., San Diego, CA, USA, v. 135, p. 260–278, August 1997. ISSN 0021-9991. Disponível em: <<http://portal.acm.org/citation.cfm?id=260709-260744>>.
- HIRSCH, M. W.; SMALE, S.; DEVANEY, R. L. *Differential Equations, Dynamical Systems, and an Introduction to Chaos*. Third edition. [S.l.]: Elsevier Academic Press, 2013.
- IDEKER, T.; GALITSKI, T.; HOOD, L. A new approach to decoding life: Systems biology. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2001. v. 2, n. 1, p. 343–372, 2001. PMID: 11701654. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1146/annurev.genom.2.1.343>>.
- IMRAN, M.; SMITH, H. L. The dynamics of bacterial infection, innate immune response, and antibiotic treatment. *Discrete and Continuous Dynamical Systems - Series B*, 2007. v. 8, n. 1, p. 127–143, 2007. ISSN 1531-3492. Disponível em: <<http://aimsciences.org/journals/displayArticlesnew.jsp?paperID=2542>>.

JANEWAY, C. *et al.* *Immunobiology*. 5th ed.. ed. [S.l.]: Garland Science, New York and London, 2001.

KALITA, J. K. *et al.* Computational modelling and simulation of the immune system. *Int. J. Bioinformatics Res. Appl.*, 2006. Inderscience Publishers, Inderscience Publishers, Geneva, SWITZERLAND, v. 2, p. 63–88, March 2006. ISSN 1744-5485. Disponível em: <<http://portal.acm.org/citation.cfm?id=1356588.1356593>>.

KAWASAKI, K. *et al.* Modeling spatio-temporal patterns generated by bacillus subtilis. *Journal of Theoretical Biology*, 1997. v. 188, n. 2, p. 177–185, set. 1997. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022519397904628>>.

KEENER, J.; SNEYD, J. *Mathematical physiology*. [S.l.]: Springer-Verlag New York, Inc., 1998.

KIM, H. K. *et al.* Identifying protective antigens of staphylococcus aureus, a pathogen that suppresses host immune responses. *The FASEB Journal*, 2011. v. 25, n. 10, p. 3605–3612, 2011. Disponível em: <<http://www.fasebj.org/content/25/10/3605.abstract>>.

KIM, H. K. *et al.* Recurrent infections and immune evasion strategies of staphylococcus aureus. *Current Opinion in Microbiology*, 2012. v. 15, n. 1, p. 92–99, fev. 2012. ISSN 1369-5274. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527411001822>>.

KINDT, T. J.; OSBORNE, B. A.; GOLDSBY, R. A. *Kuby Immunology*. [S.l.]: W. H. Freeman, 2006. Paperback. ISBN 0716785900.

KIRK, D.; HWU, W. *Massively Parallel Processors: A Hands-on Approach*. [S.l.]: Morgan Kaufmann, 2010.

KITANO, H. Systems biology: A brief overview. *Science*, 2002. v. 295, n. 5560, p. 1662–1664, mar. 2002. Disponível em: <<http://www.sciencemag.org/content/295/5560/1662.abstract>>.

KOIDE, T.; PANG, W. L.; BALIGA, N. S. The role of predictive modelling in rationally re-engineering biological systems. *Nat Rev Micro*, 2009. Nature Publishing Group, v. 7, n. 4, p. 297–305, abr. 2009. ISSN 1740-1526. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2107>>.

KONEMAN, W. *et al.* *Diagnóstico Microbiológico - Texto e Atlas Colorido - 6ª Edição*. [S.l.]: GEN GRUPO EDITORIAL NACIONAL PARTICIPACOES S/A, 2008.

KUMAR, R. *et al.* The dynamics of acute inflammation. *Journal of Theoretical Biology*, 2004. v. 230, n. 2, p. 145–155, 2004. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/ARTICLE/B6WMD-4D1TSCK-2/2-44a01fc313cd567f0861e5b6c36fc80f>>.

KWIECINSKI, J. *Bacteria-host interplay in Staphylococcus aureus infections*. Tese (Doutorado) — University of Gothenburg / Göteborgs Universitet, 2013.

LACASTA, A. M. *et al.* Modeling of spatiotemporal patterns in bacterial colonies. *Phys. Rev. E*, 1999. American Physical Society, v. 59, p. 7036–7041, Jun 1999. Disponível em: <<http://link.aps.org/doi/10.1103/PhysRevE.59.7036>>.

- LEONARD, B. P. Simple high-accuracy resolution program for convective modelling of discontinuities. *International Journal for Numerical Methods in Fluids*, 1988. John Wiley & Sons, Ltd, v. 8, n. 10, p. 1291–1318, 1988. ISSN 1097-0363. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1002/flid.1650081013>>.
- LEVEQUE, R. J. *Finite Difference Methods for Ordinary and Partial Differential Equations*. [S.l.]: Society for Industrial and Applied Mathematics, 2007.
- LJ., O. Tumor necrosis factor. *Scientific American*, 1988. v. 258, 1988.
- MARROCCO, A. Numerical simulation of chemotactic bacteria aggregation via mixed finite elements. *Math. Mod. Num. Analysis*, 2003. v. 37, p. 617–630, 2003.
- MATZINGER, P. The danger model: A renewed sense of self. *Science*, 2002. v. 296, p. 301–305, 2002.
- MAY, R. M. *Stability and Complexity in Model Ecosystems*. [S.l.]: Princeton University Press, 1973.
- MCADOW, M.; MISSIAKAS, D.; SCHNEEWIND, O. *Staphylococcus aureus Secretes Coagulase and von Willebrand Factor Binding Protein to Modify the Coagulation Cascade and Establish Host Infections*. 2012. 141–148 p. Disponível em: <<http://www.karger.com/DOI/10.1159/000333447>>.
- MCCORMICK, T. S.; STEVENS, S. R.; KANG, K. Macrophages and cutaneous inflammation. *Nat Biotech*, 2000. Nature America Inc., v. 18, n. 1, p. 25–26, jan. 2000. ISSN 1087-0156. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/71879>>.
- MEERSCHAERT, M. M. *Mathematical Modeling*. 4 edition. ed. [S.l.]: Academic Press, 2013. 386 p.
- N, F.; K., K. Macrophages in inflammation. *Current Drug Targets - Inflammation & Allergy*, 2005. v. 4, n. 3, p. 281–286(6), June 2005.
- NICKOLLS, J.; DALLY, W. J. The gpu computing era. *IEEE Micro*, 2010. IEEE Computer Society Press, Los Alamitos, CA, USA, v. 30, n. 2, p. 56–69, 2010. ISSN 0272-1732.
- NVIDIA. *CUDA*. 2015. Disponível em: <http://www.nvidia.com/object/cuda_home_new.html>.
- PAINTER, K. Continuous models for cell migration in tissues and applications to cell sorting via differential chemotaxis. *Bulletin of Mathematical Biology*, 2009. Springer New York, v. 71, p. 1117–1147, 2009. ISSN 0092-8240. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1007/s11538-009-9396-8>>.
- PAINTER, K. J.; HILLEN, T. Volume-filling and quorum-sensing in models for chemosensitive movement. *Can. Appl. Math. Quart*, 2002. v. 10, n. 4, p. 501–543, 2002.
- PAINTER, K. J.; SHERRATT, J. A. Modelling the movement of interacting cell populations. *Journal of Theoretical Biology*, 2003. v. 225, n. 3, p. 327 – 339, 2003. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022519303002583>>.

REYNOLDS, A. *et al.* A reduced mathematical model of the acute inflammatory response: I. derivation of model and analysis of anti-inflammation. *Journal of Theoretical Biology*, 2006. v. 242, n. 1, p. 220–236, 2006. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/ARTICLE/B6WMD-4JMKWTP-2/2-/5ae6086e6a080ecb9bfa17c6f2a947c9>>.

REYNOLDS, A. *et al.* A reduced mathematical model of the acute inflammatory response: I. derivation of model and analysis of anti-inflammation. *Journal of Theoretical Biology*, 2006. v. 242, n. 1, p. 220–236, 2006. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/B6WMD-4JMKWTP-2/2-/5ae6086e6a080ecb9bfa17c6f2a947c9>>.

SANTOS, A. L. dos *et al.* Staphylococcus aureus: visitando uma cepa de importância hospitalar. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 2007. scielo, v. 43, p. 413–423, 2007. ISSN 1676-2444.

SHIFLET, A. B.; SHIFLET, G. W. *Introduction to Computational Science: Modeling and Simulation for the Sciences (Second Edition)*. [S.l.]: Princeton University Press, 2014.

SHU, C.-W.; OSHER, S. Efficient implementation of essentially non-oscillatory shock-capturing schemes,ii. *J. Comput. Phys.*, 1989. Academic Press Professional, Inc., San Diego, CA, USA, v. 83, p. 32–78, July 1989. ISSN 0021-9991. Disponível em: <<http://portal.acm.org/citation.cfm?id=65350.65353>>.

SMITH, A. M.; MCCULLERS, J. A.; ADLER, F. R. Mathematical model of a three-stage innate immune response to a pneumococcal lung infection. *Journal of Theoretical Biology*, 2011. v. 276, n. 1, p. 106–116, maio 2011. ISSN 0022-5193. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022519311000786>>.

SOD, G. A. A survey of several finite difference methods for systems of nonlinear hyperbolic conservation laws. *Journal of Computational Physics*, 1978. v. 27, n. 1, p. 1 – 31, 1978. ISSN 0021-9991. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/ARTICLE/B6WHY-4DD1V4B-XG/2/8430b098b30e033dd59e3dfae904eeef>>.

SOMPAYRAC, L. M. *How the Immune System Works*. [S.l.]: Wiley, John & Sons, Incorporated, 2008.

SPRUGEL, K. H. *et al.* Effects of growth factors in vivo. *Am. J. Pathol*, 1987. v. 129, p. 601–613, 1987.

SU, B. *et al.* Mathematical modelling of immune response in tissues. *Computational and Mathematical Methods in Medicine: An Interdisciplinary Journal of Mathematical, Theoretical and Clinical Aspects of Medicine*, 2009. v. 10, p. 1748–6718, 2009.

VODOVOTZ, Y. *et al.* In silico models of acute inflammation in animals. 2006. 2006.

WAKELAND, W.; MACOVSKY, L.; AN, G. A hybrid simulation model for studying acute inflammatory response. In: *Proceedings of the 2007 spring simulation multiconference - Volume 2*. San Diego, CA, USA: Society for Computer Simulation International, 2007. (SpringSim '07), p. 39–46. ISBN 1-56555-313-6. Disponível em: <<http://dl.acm.org/citation.cfm?id=1404680.1404686>>.

WANG, Z. A. On chemotaxis models with cell population interactions. *Mathematical Modelling of Natural Phenomena*, 2012. v. 5 (03), p. 173–190, 2012.

WILENSKY, U. *NetLogo Software*. 2015. Disponível em: <<http://ccl.northwestern.edu/netlogo/>>.