

Procedimento Computacional para Simular o Efeito da Vacina no Sistema Imunológico Adaptativo Humano

Nícolas P. Borges¹, Nataniel P. Borges Jr², Anita M. da Rocha Fernandes³, Edson T. Bez³

¹Divisão de Ciência da Computação. Instituto Tecnológico de Aeronáutica. São José dos Campos, SP, Brasil.

²Department of Computer Science, Saarland University, D-66123, Saarbrücken, Germany.

³Universidade do Vale do Itajaí. Curso de Ciência da Computação – Kobrasol – São José – SC

nicolas@ita.br, S8napere@stud.uni-saarland.de, {anita.fernandes; edsonbez}@univali.br

Abstract. *Motivated by the need to discover cures or treatments for immunologic diseases, several computer science researches are being performed in the immune systems field. Those researches apply biology concepts aiming to present the behavior of natural systems. The living organisms of the immune systems are related in a way that any kind of change may cause damage to its balance. In this context, this research aims to present a computational procedure to simulate the human adaptive immune system, with focus on the analysis of its response to the application of a vaccine. Through experimentation, it was possible to evaluate the impact of the application of a vaccine and the influence of the amount of antigen types in the system.*

Resumo. *Motivadas pela necessidade de se descobrir curas ou tratamentos para doenças imunológicas, diversas pesquisas estão sendo realizadas na área de ciência da computação. Estas pesquisas, por sua vez, utilizam conceitos de biologia visando representar o comportamento de sistemas naturais. Os organismos que constituem o sistema imunológico estão relacionados de tal forma que qualquer alteração pode causar danos no equilíbrio do sistema. Neste contexto, este trabalho apresenta um procedimento computacional que visa simular o sistema imunológico adaptativo humano. Por meio de experimentos, foi possível avaliar o impacto da aplicação de uma vacina, bem como a influência da quantidade de tipos de antígenos no sistema.*

1. Introdução

A pesquisa por novas vacinas requer que sejam simulados comportamentos das estruturas orgânicas internas e externas ao corpo humano. O relacionamento entre estas estruturas é, entretanto, altamente complexo, requerendo técnicas computacionais que

possibilitem a representação de seu comportamento no corpo humano na forma mais próxima à realidade.

A utilização de simulações computacionais no campo de estudos da epidemiologia de doenças infecciosas para simular o procedimento de transmissão de doenças através do comportamento do sistema imunológico é uma área de estudos bastante explorada. Barth-Jones e seus companheiros realizaram experimentos para análise do efeito da vacina do HIV baseado na simulação de Monte Carlo [Barth-Jones, Adams e Koopman 2000]. Pappalardo *et al* (2005) apresentaram um modelo que simula o comportamento do sistema imunológico à exposição de células cancerígenas em um cenário de vacina.

Este trabalho visa apresentar um procedimento computacional que represente a relação de predação existente entre antígenos e linfócitos, permitindo que seja visualizado o efeito da memória imunológica dentro do sistema imunológico adaptativo e, conseqüentemente, seja visualizada uma simulação do processo de vacinação.

A Seção 2 apresenta a contextualização da pesquisa realizada. A Seção 3 descreve o procedimento computacional para simulação da relação entre antígenos e linfócitos. A Seção 4 apresenta os experimentos realizados. A Seção 5 apresenta os resultados obtidos. Por fim, na Seção 6, são descritas as conclusões e sugestões de pesquisas futuras.

2. Contextualização

O sistema imunológico se divide em inato e adaptativo. O inato é geneticamente programado para detectar características invariantes de micróbios invasores e é composto, principalmente, por células dendríticas, macrófagos e neutrófilos. Em contraste, o sistema imunológico adaptativo, composto por linfócitos, emprega receptores de antígenos que não estão codificados na linha germinativa, mas são regenerados em cada organismo [Iwasaki e Medzhitov 2010].

A memória imunológica é uma das características principais do sistema imunológico adaptativo, pois esta permite que o sistema responda com maior velocidade e vigor a patógenos ao qual já foi exposto anteriormente [Iwasaki e Medzhitov 2010].

Pyzik e Vidal afirmam que está é a principal característica do sistema imunológico e, que tornou o procedimento de vacinação possível [Pyzik e Vidal 2009]. Vacinas são definidas como produtos farmacológicos que contêm agentes imunizantes capazes de induzir imunização ativa, onde o indivíduo é estimulado a criar defesa imunológica contra futuras exposições à doença [Abbas, Lichtman e Pillai 1994].

Dentre as características do sistema imunológico descritas por Purbasari, Iping e Santoso (2012), o presente trabalho dá ênfase nas seguintes características:

- o sistema imunológico é único para cada indivíduo;
- a detecção é distribuída através de pequenos e eficientes detectores, fazendo assim com que não exista um controlador geral;
- o sistema imunológico é apto a detectar e reagir a qualquer tipo de intruso, mesmo que o corpo nunca tivesse contato anterior com este; e

- o sistema imunológico possui a capacidade de aprender as estruturas dos patógenos, agilizando assim as futuras respostas a estes tipos de intrusos.

Segundo Abbas e Lichtman (2004), a resposta imunológica adquirida consiste em, inicialmente, reconhecer antígenos por meio de linfócitos específicos.

Posteriormente ocorre a proliferação e diferenciação de linfócitos em células efectoras, para então, o sistema eliminar os antígenos. Weng (2006) afirma que existem linfócitos cuja função é reconhecer antígenos e outros direcionados a gerenciar experiências passadas de antígenos. São os linfócitos utilizados neste trabalho:

Linfócitos T: Reconhecem fragmentos peptídicos dos antígenos apresentados por outras células [Weng 2006]. Os linfócitos T se dividem, entre outros, em dois grupos principais, a saber:

- *T-Helper*: Knutson e Disis (2005) afirmam que estas células são indispensáveis para a realização da resposta imunológica, atuando na proteção contra antígenos, através da ativação de células de defesa específicas para agirem contra um determinado tipo de antígeno, bem como através da ativação de células do sistema imunológico inato como macrófagos, eosinófilos e mastócitos. Segundo Alimonti, Ball e Fowke (2003), as células *T-Helper* são as células visadas pelos antígenos
- *T-Memory*: Kaech, Wherry e Ahmed (2003) afirmam que estas células são eficientes para combater antígenos, porque estão presentes em grande número, persistem por longos períodos e respondem rapidamente quando expostas mais de uma vez a um mesmo patógeno.

Linfócitos B: Os linfócitos B podem ser considerados como reguladores de respostas imunológicas, devido a sua capacidade de produzir anticorpos [Mauri e Bosma 2012].

Linfócito *Natural Killer*: Células morfológicamente descritas como grandes linfócitos granulares. Estas não transportam receptores de antígenos de nenhuma natureza, entretanto podem reconhecer moléculas de anticorpos ligados a antígenos e destruir estas células [Virella 2013].

3. Procedimento Computacional Proposto

A ferramenta computacional desenvolvida neste trabalho permite a criação de um cenário que represente o funcionamento sistema imunológico adaptativo, bem como a inserção de antígenos e que verifique a relação existente entre estes.

A implementação se deu através da ferramenta Matlab. Para isso foi utilizada uma matriz de células M , onde cada célula, seja esta linfócito ou antígeno, encontra-se em uma posição $M_{i,j}$, representado com um identificador do seu tipo. Este sistema funciona por iterações, logo assim que o número de iterações realizadas for satisfeito, a execução é concluída. Para cada interação, que representa um intervalo de tempo, todas as células que estão presentes nessa matriz tentam realizar sua atividade específica. A Figura 1 apresenta um diagrama de atividades que mostra o funcionamento deste sistema. Na sequência são detalhadas cada uma das atividades.

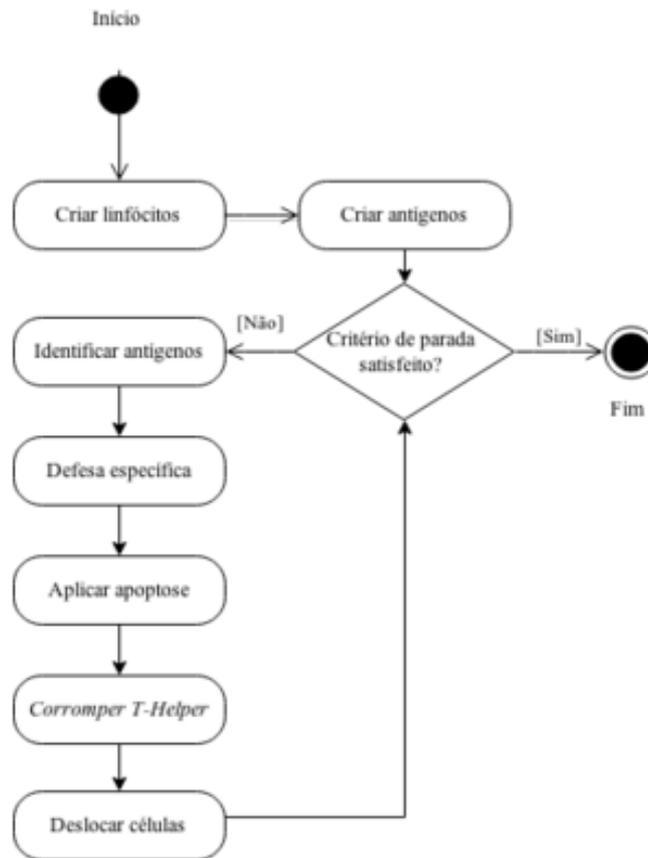


Figura 1. Diagrama de Atividades do Sistema

3.1 Criar Linfócitos

A proporção das células dentro do sistema imunológico adotou os valores descritos por Berrington, Barge, Fenton, Cant e Spickett (2005). Esta mesma proporção é utilizada para avaliar o estado atual do cenário.

Para a criação da matriz de linfócitos, define-se um parâmetro, denominado fator de incidência, que representa a proporção dos valores na matriz. Esta matriz tem um tamanho fixo, tendo em vista que o sistema imunológico humano também possui um tamanho limite.

3.2 Criar Antígenos

A criação dos antígenos ocorre de maneira similar aos linfócitos. Estes são tratados como matrizes de mesmas dimensões que as células dos linfócitos e possuem dois atributos, o tipo e a probabilidade de morrer por apoptose, possibilitando assim que existam diferentes antígenos de mesmo tipo.

3.3 Identificação de Antígenos

As únicas células do sistema imunológico adaptativo, consideradas aptas a reconhecer antígenos neste trabalho, são os linfócitos do tipo B e os *Natural Killers* (NK). Este processo de identificação se dá por meio de proximidade, onde o antígeno que está ao lado do linfócito do tipo B é identificado por esta célula.

3.4 Apoptose

O procedimento de apoptose é aplicado sobre cada uma das células NK que possuam um antígeno identificado seu lado. Caso exista mais de um antígeno com uma mesma distância a célula de defesa, seleciona-se um destes aleatoriamente.

Após a seleção do antígeno, é gerado um número aleatório no intervalo entre 1 e 100. Caso este número seja maior que probabilidade de morrer por apoptose do antígeno, o antígeno é eliminado, juntamente com a célula de defesa, caso contrário, a célula NK se transforma em um clone do antígeno que tentou eliminar.

3.5 Corromper T-Helper

O objetivo dos antígenos é eliminar os linfócitos do tipo *T-Helper*, tendo em vista que sem estas células, não é possível acionar as células *T-Memory*, para efetuar a defesa específica.

Partindo desta premissa, a partir do momento que um antígeno entra em contato com uma célula *T-Helper*, esta passa a ser um clone deste antígeno. Uma célula antigênica consegue corromper somente um *T-Helper* por vez, portanto, caso a mesma esta encontre-se ao lado de mais de uma célula *T-Helper*, a escolha de qual célula será corrompida é feita de forma aleatória.

3.6 Defesa Específica

A partir do momento em que uma célula NK encontra um antígeno e, tendo pelo menos uma célula *T-Helper* no sistema, é verificado na memória imunológica se o sistema imunológico já eliminou este antígeno anteriormente.

Caso tenha eliminado, este antígeno se transforma em um alvo. Caso uma célula *T-Memory* esteja ao lado deste alvo, o mesmo é destruído. Os alvos são os antígenos com marcação, conforme mostra a Figura 2. Nesta figura, tem-se que as células em azul são as *T-Memory*, enquanto que em vermelho tem-se os antígenos.

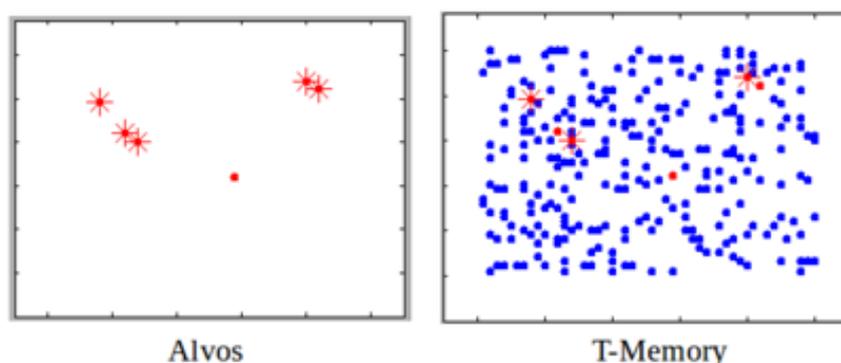


Figura 2. Cenário antes da aplicação da defesa específica.

Somente os antígenos que estão marcados como alvo, e foram identificados pelas células *T-Memory* sofrerão este procedimento de defesa específica. Aqueles que não apresentam marcações como alvo ainda não foram identificados pelas células do tipo NK, ou caso tenham sido identificados, não estão presentes na memória imunológica.

O resultado da aplicação do método de defesa específica pode ser visualizado na Figura 3. Nesta imagem é possível perceber que, dos seis antígenos presentes antes da execução deste método, cinco eram alvos identificados pelas células do tipo NK. Entretanto, destes cinco alvos, somente três foram identificados pelas células do tipo *T-Memory*, logo, como resultado do procedimento de defesa específica, restaram três antígenos, sendo que destes, dois permanecem como alvos identificados por NK.

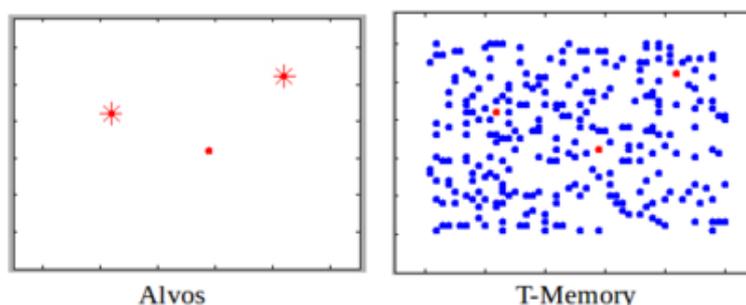


Figura 3. Cenário depois da aplicação da defesa específica.

3.7 Deslocar Células

No sistema imunológico adaptativo, os linfócitos e os antígenos estão em constante deslocamento semi aleatório, entre os órgãos linfóides. Tendo em vista que este trabalho não considera a divisão dos órgãos linfóides, o deslocamento é realizado em uma matriz de linfócitos e antígenos.

O deslocamento é considerado semi aleatório pois, em determinadas situações, que serão apresentadas em sequência, as células *T-Memory* e NK possuem um deslocamento direcionado. Inicialmente verifica-se a existência de algum linfócito do tipo *T-Helper* no cenário. Caso exista, verifica-se se existe algum tipo de antígeno identificado por NK na memória imunológica.

Tendo ambas as condições satisfeitas, movimentam-se as n células do tipo *T-Memory* na direção do antígeno identificado, avançando em $m/2$ passos, onde m é um parâmetro de entrada que representa a quantidade de passos das células seguidoras e n é o parâmetro que representa a quantidade de células seguidoras. Utilizando este mesmo mecanismo desloca-se, na sequência, as células NK, usando como referência, os antígenos identificados pelos linfócitos do tipo B.

O deslocamento direcionado foi implementado através de um algoritmo guloso. Segundo Skiena (2012), este algoritmo é caracterizados por tomar decisões com base apenas na informação disponível, sem se preocupar com os efeitos futuros de tais decisões.

Para a implementação deste algoritmo, criou-se uma matriz de distâncias entre a posição atual e o alvo. A célula efetua o movimento válido que resulta na menor distância para com o alvo. A matriz de distâncias é atualizada a cada movimento do elemento atual. Após a realização destes deslocamentos direcionados, todas as demais células, aptas a realizarem movimento, incluindo os antígenos, são deslocados em uma posição aleatoriamente.

4. Experimentos

Considerando a influência da natureza estocástica dos métodos de apoptose e deslocamento nos resultados, foi necessário criar um conjunto de dados, contendo sistemas base a fim de representar as possíveis variações de cenários. Um sistema base é composto por uma matriz de linfócitos e uma matriz de antígenos, sendo que estas foram criadas sobre um grau de aleatoriedade, a saber:

- A taxa de incidência de linfócitos varia entre 0.5 e 0.8, a fim de representar sistemas mais saudáveis e sistemas mais debilitados. Quanto menor a taxa de incidência dos linfócitos, menor a quantidade de células de defesa que estão presentes no sistema, logo, mais debilitado é o sistema imunológico do indivíduo, enquanto que quanto maior a taxa de incidência, maior a quantidade de linfócitos, e, conseqüentemente, o sistema está mais apto a reagir contra possíveis invasores.
- A taxa de incidência de antígenos varia entre 0.01 e 0.1, a fim de representar uma menor exposição ao antígeno, ou um estágio mais crítico de exposição ao mesmo. Quanto menor a taxa de incidência de um antígeno, menor foi a exposição do sistema imunológico aos antígenos, enquanto que quanto maior a taxa de incidência dos antígenos, maior é a quantidade de antígenos no sistema e, conseqüentemente, maior o dano causado por estes.
- A probabilidade de morrer por apoptose dos antígenos varia entre 0.4 e 0.8. Optou-se por este intervalo de valores, a fim de que fossem eliminados possíveis resultados discrepantes, tendo em vista que se ocorresse a criação de um antígeno com uma chance muito remota de morrer por apoptose, simulando o efeito de uma superbactéria por exemplo, a diferença de execução do cenário com memória e sem memória neste caso seria imensa, fazendo com que o comportamento dos resultados fosse extremamente alterado pela execução de um único sistema base.

Foram criados 10 conjuntos de dados, cada qual contendo de 1 a 10 tipos de antígenos, sendo que cada conjunto contém 1000 sistemas base. Optou-se por 10 tipos de antígenos a fim de que se conhecesse a relação existente entre a quantidade de tipos de antígenos e a quantidade de células *T-Helper*. Esta amostra de 10 tipos de antígenos foi suficiente para verificar esta relação, conforme é descrito nos experimentos.

A dimensão da matriz de células utilizada foi 50 x 50. Este trabalho considera que as três células mais próximas dos alvos irão realizar o deslocamento direcionado e que este é realizado através de dois movimentos, em detrimento das demais células, que realizam somente um movimento.

Optou-se por estes valores no deslocamento aleatório pois a literatura menciona que o sistema imunológico deve estar apto a reagir de forma mais ágil a uma futura exposição deste antígeno, mas em nenhum momento menciona o quanto mais rápida é esta reação. Para cada um destes sistemas base foram realizadas 100 execuções com 30 iterações cada, e foi calculado o valor médio das quantidades de linfócitos e antígenos.

São realizadas 100 execuções de cada sistema de forma a minimizar a influência dos mecanismos estocásticos e optou-se pela quantidade de 30 iterações, pois este valor

se mostrou suficiente para entender o comportamento do sistema, conforme mostram os resultados.

Estas execuções foram realizadas em duas situações, uma sem memória imunológica inicial e outra com memória imunológica inicial, a fim de avaliar a diferença entre os resultados obtidos entre um indivíduo que passou por um processo de vacinação e um indivíduo que não passou por este processo.

5. Resultados

Visando verificar o efeito do procedimento de vacinação, foram analisadas as quantidades de antígenos, células *T-Helpers* e células do tipo NK obtidas em cada iteração em um cenário com memória e um cenário sem memória. Estas análises foram feitas baseadas na média dos 10 conjuntos de dados criados, cada qual com sua quantidade de tipos de antígenos. Tendo em vista que a quantidade de tipos de antígenos afeta diretamente os resultados obtidos, por fim é apresentada a análise da influência da quantidade de tipos de antígenos no sistema.

5.1 Quantidade de Antígenos

A diferença entre a quantidade de antígenos de um cenário sem memória imunológica para um cenário com foi mais significativa nas primeiras iterações, pois durante a execução, o sistema imunológico que não possuía memória foi adquirindo esta memória quando os antígenos morriam por apoptose. A Figura 4 mostra a quantidade média de antígenos obtidos por iteração. Nestes dados o desvio padrão médio da quantidade de antígenos por geração sem memória imunológica é de 2,58%, com um máximo de 4,37%. Com memória imunológica os valores de desvio padrão médio e máximo são 2,51% e 5,23%.

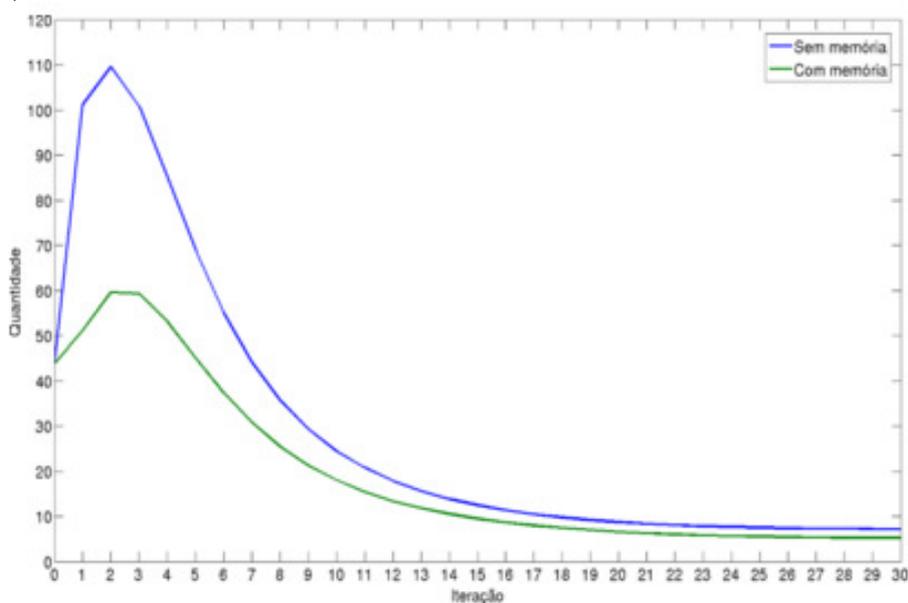


Figura 4. Quantidade média de antígenos por iteração.

5.2 Quantidade de T-Helper

A quantidade média de T-Helper em um cenário com memória imunológica sempre se manteve maior do que em um sistema sem memória, pois a quantidade de antígenos foi morta significativamente maior em um cenário com memória imunológica, logo existiam menos antígenos para corromper as células *T-Helper*, o que é condizente com a realidade pois o sistema imunológico deve estar apto a reagir de forma mais eficiente a uma futura exposição a um mesmo tipo de antígeno. Nestes dados o desvio padrão médio da quantidade de antígenos por geração sem memória imunológica é de 1,37%, com um máximo de 1,54%. Com memória imunológica os valores de desvio padrão médio e máximo são 0,78% e 0,86%.

A Figura 5 mostra a quantidade média de *T-Helper* obtidos por iteração.

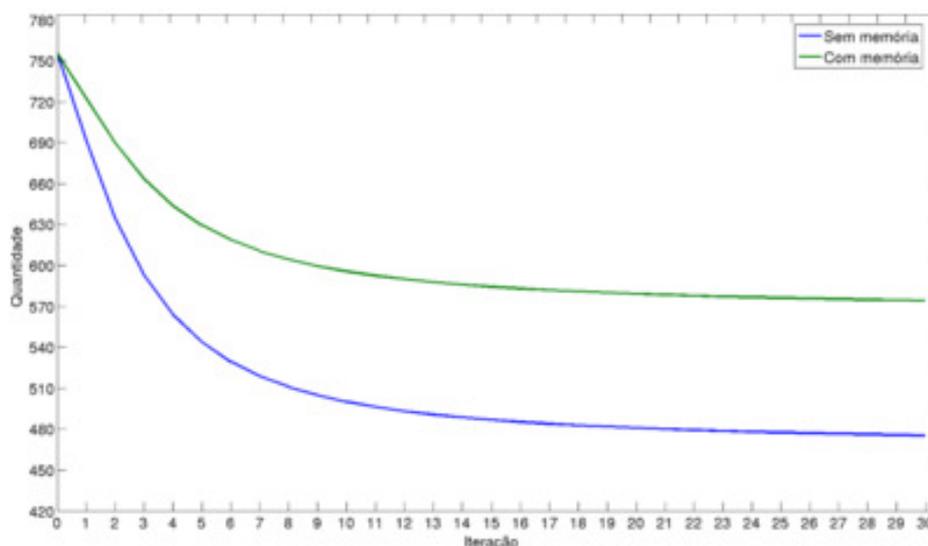


Figura 5. Quantidade média de T-Helper por iteração.

5.3 Quantidade de NK

A quantidade média de NK em um cenário com memória imunológica se manteve na maior parte do tempo inferior, pois o sistema que não apresentava memória precisa produzir mais células NK, a fim de que o crescente número de antígenos fosse eliminado.

A exceção se deu na iteração 1, pois, como o sistema com memória executou o procedimento de defesa específica, um número maior de antígenos foi morto nesta iteração e, conseqüentemente, um número menor de células NK morreu durante a apoptose.

Nas iterações seguintes, o comportamento da função foi similar, pois o sistema que não apresentava memória, adquiriu esta através da eliminação dos antígenos. A Figura 6 mostra a quantidade média de *T-Helper* obtidos por iteração. Nestes dados o desvio padrão médio da quantidade de antígenos por geração sem memória imunológica é de 0,76%, com um máximo de 0,87%. Com memória imunológica os valores de desvio padrão médio e máximo são 0,43% e 0,67%.

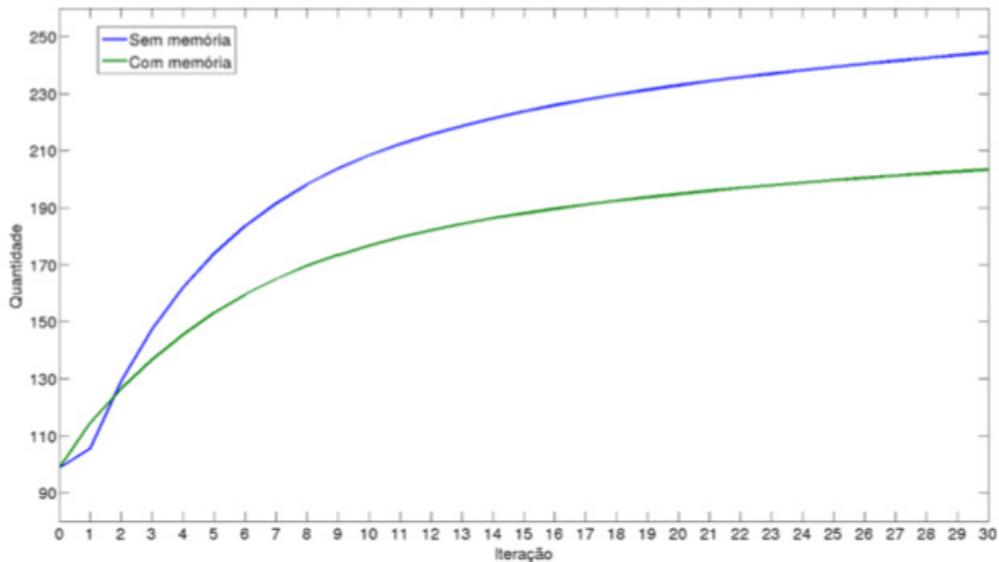


Figura 6. Quantidade média de T-Helper por iteração.

5.4 Quantidade de Tipos de Antígenos

Foi possível observar neste experimento que a quantidade de tipos de antígenos afeta diretamente a quantidade de células *T-Helper* que são corrompidas. Quanto maior a quantidade de tipos de antígenos, maior é a diferença entre a quantidade de células *T-Helper* em um cenário onde não tem memória para um cenário com memória, tendo em vista que fica mais difícil de realizar a defesa específica, uma vez que são mais tipos de antígenos que precisam estar na memória imunológica.

A Figura 7 mostra a variação da quantidade de células *T-Helper* de um cenário com vacina para um cenário sem vacina, por meio da quantidade de tipos de antígenos.

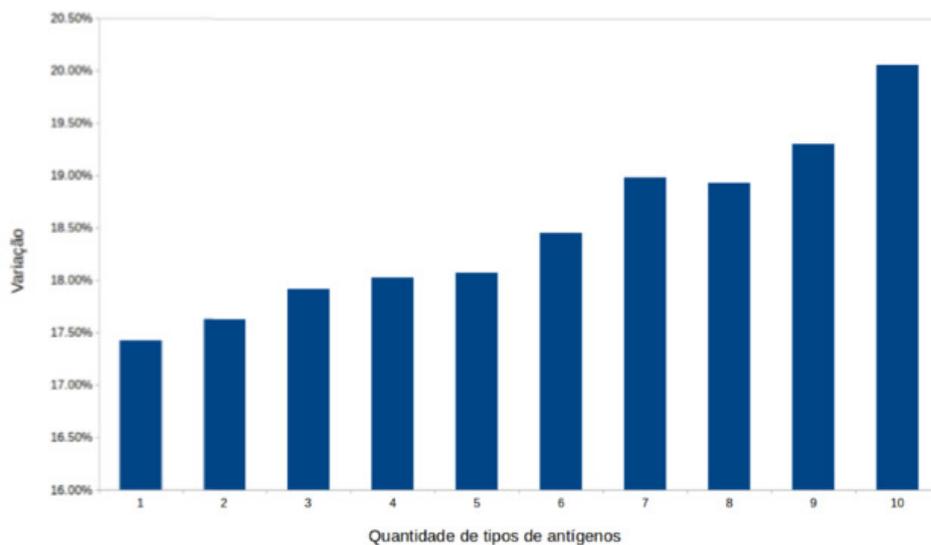


Figura 7. Diferença da quantidade média de células T-Helper em um cenário com e sem vacina pela quantidade de tipos de antígenos.

6. Resultados

Este trabalho apresentou um método computacional para representar a relação de predação existente entre os antígenos e os linfócitos no sistema imunológico adaptativo humano, tendo como resultado a simulação do cenário de uma vacina.

Observou-se por meio de experimentos que um indivíduo que já foi exposto a um determinado tipo de antígeno, tende a responder de forma mais eficiente a um novo agente patogênico de mesmo tipo, do que um indivíduo que não foi exposto. O número de 30 iterações se mostrou suficiente para se avaliar o comportamento do sistema, uma vez que, por não ter sido implementado um procedimento de reprodução celular, o comportamento tende a ser constante no final. Sugere-se este tipo de pesquisa em trabalhos futuros, assim como a adaptação do modelo para um cenário tridimensional.

A utilização de modelo inteligente para classificar um antígeno como parcialmente identificado na memória imunológica é uma alternativa para tratar o fato de que o um antígeno pode ser simplesmente similar a um outro, a qual o sistema já foi exposto, a fim de ativar a defesa específica.

O estudo da diferença relativa da variação da velocidade de movimentação das células também é uma possível linha de pesquisa.

7. Referências

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., e Pillai, S. (1994). Cellular and molecular immunology. Elsevier Health Sciences.
- Abul K. Abbas and Andrew H. Lichtman. (2004). Basic Immunology: functions and disorders . 2nd edition. Saunders.
- Alimonti, J. B., Ball, T. B., and Fowke, K. R. (2003). Mechanisms of cd4+ t lymphocyte cell death in human immunodeficiency virus infection and aids. Journal of general Virology, 84(7):1649–1661.
- Barth-Jones, D., Adams, A., e Koopman, J. (2000). Monte Carlo simulation experiments for analysis of HIV vaccine effects and vaccine trial design. In Simulation Conference, 2000. Proceedings. Winter, volume 2, pages 1985–1994 vol.2.
- Berrington, J., Barge, D., Fenton, A., Cant, A., e Spickett, G. (2005). Lymphocyte subsets in term and significantly preterm uk infants in the first year of life analyzed by single platform flow cytometry. Clinical & Experimental Immunology, 140(2):289–292.
- Iwasaki, A. e Medzhitov, R. (2010). Regulation of adaptive immunity by the innate immune system. Science, 327(5963):291–295.
- Kaech, S. M., Wherry, E. J., Ahmed, R. (2002). Effector and memory t-cell differentiation: implications for vaccine development. Nature Reviews Immunology, 2(4):251–262
- Knutson, K. e Disis, M. (2005). Tumor antigen-specific t helper cells in cancer immunity and immunotherapy. Cancer Immunology, Immunotherapy, 54(8):721–728.

- Mauri, C. e Bosma, A. (2012). Immune regulatory function of b cells. *Annual review of immunology*, 30:221–241.
- Pappalardo, F., Lollini, P.-L., Castiglione, F., e Motta, S. (2005). Modeling and simulation of cancer immunoprevention vaccine. *Bioinformatics*, 21(12):2891–2897.
- Purbasari, A., Iping Supriana, S., e Santoso, O. (2012). Using unified modeling language to model the immune system in object oriented perspective. *Computer Science and Software Engineering (JCSSE)*.
- Pyzik, M. e Vidal, S. M. (2009). Nk cells stroll down the memory lane. *Immunology and cell biology*, 87(4):261–263.
- Skiena, Steven. (2012). *The Algorithm Design Manual*. 2nd edition. Londo: Springer Verlag.
- Virella, G. (2013). *Medical Immunology*. CRC Press.
- Weng, N.-p. (2006). Aging of the immune system: how much can the adaptive immune system adapt? *Immunity*, 24(5):495–499.