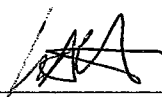


MODELO MATEMÁTICO-COMPUTACIONAL DA GÊNESE DA REDE  
IDIOTÍPICA DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Leslie Soares Pereira

DISSERTAÇÃO SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DA COORDENAÇÃO DOS  
PROGRAMAS DE PÓS-GRADUAÇÃO DE ENGENHARIA DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE MESTRE EM CIÊNCIAS EM  
ENGENHARIA DE SISTEMAS E COMPUTAÇÃO.

Aprovada por:




---

Prof. Luís Alfredo Vidal de Carvalho, D.Sc.



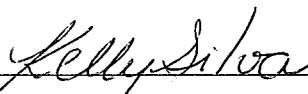
---

Profa. Inês de Castro Dutra, Ph.D.



---

Prof. Alberto Félix António da Nóbrega, D.Sc.



---

Profa. Kelly Christine Correa e Silva, Ph.D.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

MARÇO DE 2006

PEREIRA, LESLIE SOARES

Modelo Matemático-Computacional da Gênese da Rede Idiotípica do Sistema Imunológico [Rio de Janeiro] 2006

VI, 63 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ M.Sc., Engenharia de Sistemas e Computação, 2006)

Dissertação – Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE

1. Modelo do Sistema Imunológico

2. Reações Primária e Secundária

I. COPPE/UFRJ II. Título (série)

Resumo da Dissertação apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Mestre em Ciências (M.Sc.)

MODELO MATEMÁTICO-COMPUTACIONAL DA GÊNESE DA REDE  
IDIOTÍPICA DO SISTEMA IMUNOLÓGICO

Leslie Soares Pereira

Março/2006

Orientador: Luís Alfredo Vidal de Carvalho

Programa: Engenharia de Sistemas e Computação

Neste trabalho é apresentado um modelo matemático-computacional da geração da rede funcional ou idiotípica de Niels Jerne para o sistema imunológico. Um conjunto de equações modela cada etapa de formação do sistema, desde quando existe apenas o *self* (organismo do hospedeiro) até o sistema imune estar pronto para eliminar os antígenos. O modelo contempla também a reação do sistema no primeiro contato com determinados antígenos e num contato posterior com estes mesmos antígenos, em ambos os casos é mostrado como a rede volta à situação de estabilidade, ou seja, como o sistema imunológico volta à homeostase.

Abstract of Dissertation presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Master of Science (M.Sc.)

A MATHEMATICAL MODEL FOR THE GENESIS OF THE IDIOTYPIC  
NETWORK FOR THE IMMUNE SYSTEM

Leslie Soares Pereira

March/2006

Advisor: Luís Alfredo Vidal de Carvalho

Department: Computing Systems Engineering

This work presents a mathematical model for the generation of Jerne's functional or idiotypic network for the immune system. A set of equations models each system generation step, since the existence of *self* (the individual) only until the immune system is ready to eliminate antigens. The model also considers the system reaction to the first exposure to particular antigens and another exposure to the same antigens, in both cases we show how the network stabilize again, meaning, how the immune system returns to its basal resting state, the homeostasis.

# Índice

<b>1. Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>2. Fundamentos teóricos .....</b>	<b>3</b>
2.1. Conceitos básicos e funções .....	4
2.1.1. Sistema imunológico inato .....	4
2.1.2. Sistema imunológico adaptativo .....	6
2.2. Órgãos e tecidos.....	10
2.2.1. Medula Óssea .....	11
2.2.2. Timo .....	13
2.2.3. Linfonodos .....	13
2.2.4. Baço .....	14
2.3. Teoria da seleção clonal .....	14
<b>3. Maturação dos linfócitos .....</b>	<b>16</b>
3.1. Aspectos comuns às maturações das células B e T .....	17
3.2. Maturação das células B .....	18
3.2.1. Seleção do repertório das células B .....	19
3.3. Maturação das células T .....	20
<b>4. A rede idiotípica de Jerne .....</b>	<b>22</b>
4.1. Aspectos formais .....	22
4.2. Aspectos funcionais .....	24
<b>5. O modelo .....</b>	<b>27</b>
5.1. Formação do sistema imunológico .....	28
5.1.1. Hipermutação .....	30
5.2. Introdução de antígenos .....	31
<b>6. Experimentos .....</b>	<b>33</b>
6.1. Atingindo a estabilidade da rede .....	33

6.2. Introdução de antígenos .....	36
6.2.1. Bactéria igual ao <i>self</i> com uma pequena população inicial .....	36
6.2.2. Bactéria igual ao <i>self</i> com uma população inicial mediana .....	39
6.2.3. Bactéria igual ao <i>self</i> com grande população inicial .....	43
6.2.4. Bactéria diferente do <i>self</i> com pequena população inicial .....	46
6.2.5. Bactéria diferente do <i>self</i> com população inicial mediana .....	48
6.2.6. Bactéria diferente do <i>self</i> com grande população inicial .....	50
<b>7. Considerações finais .....</b>	<b>53</b>
<b>Apêndice A – Considerações sobre implementação .....</b>	<b>56</b>
<b>Apêndice B – Ilustrações do programa .....</b>	<b>58</b>

# Capítulo 1 – Introdução

O estudo da Imunologia passou por grandes avanços desde a criação da ciência no século XIX a partir de uma descoberta de Luis Pasteur. E entre os avanços alcançados podemos destacar a formulação da rede funcional de Niels Jerne.

Como principal antecessora às idéias de Jerne podemos citar a teoria da seleção clonal, na qual grupos de determinados linfócitos com capacidades semelhantes para reconhecimento de antígenos – chamados clones – são selecionados por proliferação. Segundo esta teoria alguns desses linfócitos se tornariam células de memória, as quais seriam responsáveis pela capacidade que nosso organismo tem de responder de forma mais eficiente a uma infecção já conhecida.

JERNE [1] introduziu em 1974 uma nova visão do sistema imunológico, sugerindo a existência de uma rede funcional conectada baseada no reconhecimento de padrões de certas estruturas carregadas pelos linfócitos, responsável pela auto-regulação do sistema imunológico. De acordo com Jerne a interação dos linfócitos uns com os outros é igual à interação destes com os antígenos, e estas interações levam a um sistema auto-organizado do qual funções, como a memória dos linfócitos, surgem naturalmente.

Em geral, os trabalhos que utilizam o modelo proposto por Jerne, apresentam a rede já constituída e estabilizada e fazem uso de suas propriedades para os estudos necessários [2-6]. Nossa proposta é mostrar a gênese da rede proposta por Jerne para o sistema imunológico e como essa rede atinge o estado de equilíbrio através das relações entre seus linfócitos. Depois de atingida a estabilidade da rede, ou seja, quando o sistema imunológico estiver preparado para entrar em contato com antígenos externos, será mostrado como ela reage a uma infecção pela primeira vez e como é a reação a uma infecção já conhecida, contemplando inclusive como a rede atinge novamente o equilíbrio.

A dissertação está organizada da seguinte forma: no Capítulo 2 são apresentados os fundamentos teóricos necessários à compreensão deste trabalho; serão descritos os principais órgãos e tecidos do sistema imunológico e uma das principais teorias – a teoria da seleção clonal – que antecede o trabalho de Jerne. No Capítulo 3 é descrito com uma abordagem biológica o processo de maturação dos linfócitos até estarem

prontos para eliminar um invasor. No Capítulo 4 é discutida em detalhes a rede idiotípica de Jerne – objeto do modelo proposto – em seus aspectos formais e funcionais. O Capítulo 5 apresenta então o modelo proposto, contemplando suas equações e parâmetros baseados na rede criada por Jerne. Já o Capítulo 6 traz os experimentos efetuados com o modelo proposto; estes experimentos são feitos primeiramente para atingir uma rede imunológica estável, pronta para reconhecer um invasor, e posteriormente, com o sistema imune já constituído, é testada sua capacidade de eliminar um antígeno introduzido, em duas circunstâncias que chamamos reação primária e secundária. O Capítulo 7 contém as considerações finais e conclusões obtidas a partir dos experimentos descritos no capítulo anterior. A dissertação conta ainda com um apêndice, onde são explicadas as telas que compõem o programa e o CD em anexo traz o código fonte e o arquivo executável.



## Capítulo 2 - Fundamentos teóricos

A palavra imunidade deriva do latim *immunitas*, que se referia à proteção contra condenação legal dada aos senadores romanos durante seus mandatos. Historicamente, quem primeiro usou o termo imunidade para designar uma doença foi Thucydides, no século quinto A.C. em Atenas; no entanto, o conceito de imunidade existe há muito mais tempo, quando na China, se costumava tornar as crianças resistentes à catapora fazendo-as inalar um pó feito com as lesões da pele de pacientes já curados da doença.

Segundo ABBAS e LICHTMAN [7] imunidade é a reação a substâncias estranhas, incluindo micróbios, e também macromoléculas tais como proteínas e polissacarídeos, independentemente de sua consequência fisiológica ou patológica dessa reação; e imunologia deve ser entendida como o estudo da imunidade nesse sentido amplo e dos eventos moleculares e celulares que ocorrem depois de o organismo encontrar micróbios e outras macromoléculas estranhas.

Desde a segunda metade do século XIX, mais precisamente entre 1870 e 1890, quando Louis Pasteur começou a se aprofundar nas pesquisas sobre imunologia, muito se evoluiu no seu estudo. O objetivo de Pasteur era conseguir aplicação imediata do fenômeno da imunidade na medicina preventiva, e sua demonstração de que uma vacina específica poderia ser generalizada para várias infecções microbiais fez com que se criasse a ciência imunologia.

Nos 20 anos seguintes ao estabelecimento da imunologia como ciência, vários fenômenos foram descobertos e descritos. A fagocitose<sup>1</sup>, por exemplo, foi descoberta nesse período. Nele também Paul Erlich descreveu o fato de que o ser humano parecia não produzir anticorpos para os componentes dos próprios tecidos.

Um período de 40 anos após essas descobertas foi utilizado para se tentar descobrir os mecanismos da resposta imunológica. Nesta época surge a teoria da seleção clonal e Niels Jerne começa a interpretar os experimentos existentes e a

---

<sup>1</sup> Processo pelo qual as células fagocíticas (neutrófilos e macrófagos) englobam os micróbios para sua posterior destruição.

formular os conceitos básicos de uma nova teoria do sistema imunológico, que constitui o objeto principal do modelo proposto no presente trabalho.

## **2.1. Conceitos básicos e funções**

Embora haja uma definição mais ampla, como a mostrada acima, ao longo da história, o termo imunidade passou a significar proteção contra doenças infecciosas.

As células e moléculas responsáveis pela imunidade formam o sistema imunológico, e sua resposta coletiva e coordenada à introdução de agentes estranhos é chamada resposta imunológica. Mais tarde veremos que a resposta imunológica, por vezes, ocorre até contra os agentes internos levemente modificados. Fisiologicamente, a função do sistema imunológico é ser a defesa primária do corpo contra invasão dos micróbios.

Os estudos do sistema imunológico visam a responder principalmente às seguintes perguntas [8]:

- Como nosso corpo se defende dos micróbios patogênicos?
- Como é eliminado um patógeno que consegue romper as defesas do corpo?
- Como nosso corpo se recorda de uma exposição prévia a um patógeno e responde de forma mais rápida e efetiva quando se encontra novamente com ele?

Os dois componentes formadores do sistema de defesa humano são o sistema inato e o sistema adaptativo.

### **2.1.1. Sistema imunológico inato**

O sistema imune inato forma a primeira barreira de defesa do organismo, oferecendo uma resposta rápida aos antígenos. Ele está presente no organismo mesmo que este não tenha sido atacado por nenhum agente, daí o termo inato. Seus mecanismos respondem essencialmente da mesma forma a repetidas

infecções. Como exemplo de componentes temos: barreiras físicas e químicas, como substâncias secretadas por células epiteliais e antimicrobiais produzidas na superfície epitelial; células fagocíticas (neutrófilos e macrófagos) e as células NK (*natural killers*); e proteínas chamadas citocinas, que regulam e coordenam as várias atividades celulares da imunidade inata.

As principais células que compõem o sistema inato são os fagócitos e as células destruidoras naturais (*natural killers* - NK). Estas células atacam os micróbios que conseguiram romper as barreiras epiteliais e entraram nos tecidos e na circulação. Os fagócitos, cuja função primária é identificar, ingerir e destruir os micróbios, são células derivadas da medula óssea<sup>2</sup> que se desenvolveram nos humanos para adquirirem funções específicas, podendo assim ser divididas em neutrófilos e macrófagos. Os neutrófilos constituem a população de células brancas presente em maior quantidade no sangue e medeiam as fases iniciais das respostas inflamatórias. Algumas horas após a entrada do micróbio, eles podem migrar para os locais da infecção; se um neutrófilo não é recrutado para o local da infecção nesse período, ele morre naturalmente (sofre apoptose) e é fagocitado pelos macrófagos existentes no fígado e no baço. Os macrófagos têm papel importante na eliminação dos micróbios; eles respondem aos micróbios com a mesma rapidez dos neutrófilos, mas permanecem por mais tempo no local da inflamação e lá podem se subdividir. As células NK também são geradas na medula óssea e além de destruírem células infectadas por algumas famílias de vírus, preenchem uma lacuna potencial na resposta imunológica específica, que pode ocorrer através da baixa expressão de MHC<sup>3</sup> em algumas células, resultado da ação de alguns vírus para fugir da detecção pelas células T<sup>4</sup>. Tanto os macrófagos quanto as NK secretam citocinas que ativam os fagócitos e estimulam a inflamação<sup>5</sup>.

---

<sup>2</sup> ver Seção 2.2.1

<sup>3</sup> Complexo de Histocompatibilidade Principal. Ver explicação na Seção 2.1.2

<sup>4</sup> ver Seção 2.1.2

<sup>5</sup> reação celular do sistema imunológico inato, consiste no recrutamento de leucócitos e no extravasamento de várias proteínas do plasma no local da infecção e ativação dos leucócitos e proteínas para eliminar o agente infeccioso.

Alguns dos principais componentes moleculares do sistema inato são os interferons e o sistema complemento. Os primeiros são secretados por várias células para responder à infecção viral; têm como principais funções inibir a replicação viral e ativar as células NK. O sistema complemento está constantemente no corpo, no entanto necessita de ativação; tem vários efeitos: cria orifícios nas bactérias; deflagra inflamação; estimula a fagocitose e pode ativar as células B<sup>6</sup>.

Por não conseguirem discriminar diferentes entidades moleculares, suas respostas são ditas não específicas e também não possuem memória, característica que será vista na próxima seção.

Embora seja suficiente para destruir vários micróbios invasores, as limitações do sistema imunológico inato fazem com que haja casos em que não é possível para ele eliminar rapidamente a infecção ou o microorganismo invasor, pois o próprio invasor encontra uma forma de evitar a interação com o sistema. Quando isso acontece, entra em ação a resposta imune adaptativa. É importante deixar claro que como já indicado nos parágrafos anteriores, os sistemas inato e adaptativo não são independentes, ao contrário, são interconectados e superpostos (os macrófagos, por exemplo, atuam de forma crucial em ambos os sistemas) de forma que alguns componentes do sistema inato podem afetar células do sistema adaptativo.

### **2.1.2. Sistema imunológico adaptativo**

Também conhecido como sistema imunológico específico, o sistema imunológico adaptativo é bem mais lento que o inato, enquanto este leva minutos para combater o antígeno, aquele demora dias. Por outro lado, ele possui características que lhe conferem especificidade e memória. A resposta é específica, pois consegue distinguir diferenças, ainda que pequenas, entre moléculas ou micróbios; é variada porque [8] tem capacidade de responder a quase todos os antígenos que possam ser encontrados, e tem memória, pois

---

<sup>6</sup> Células do sistema imunológico adaptativo que produzem os anticorpos. Ver Seção 2.1.2

quando se encontra com um antígeno já encontrado anteriormente ele “se lembra” desse antígeno e responde de forma mais rápida a cada novo encontro com ele. A figura 2.1 ilustra a especificidade, a memória e a auto-limitação das respostas imunes primária e secundária – como são chamados respectivamente o primeiro contato e os contatos posteriores com determinado antígeno.

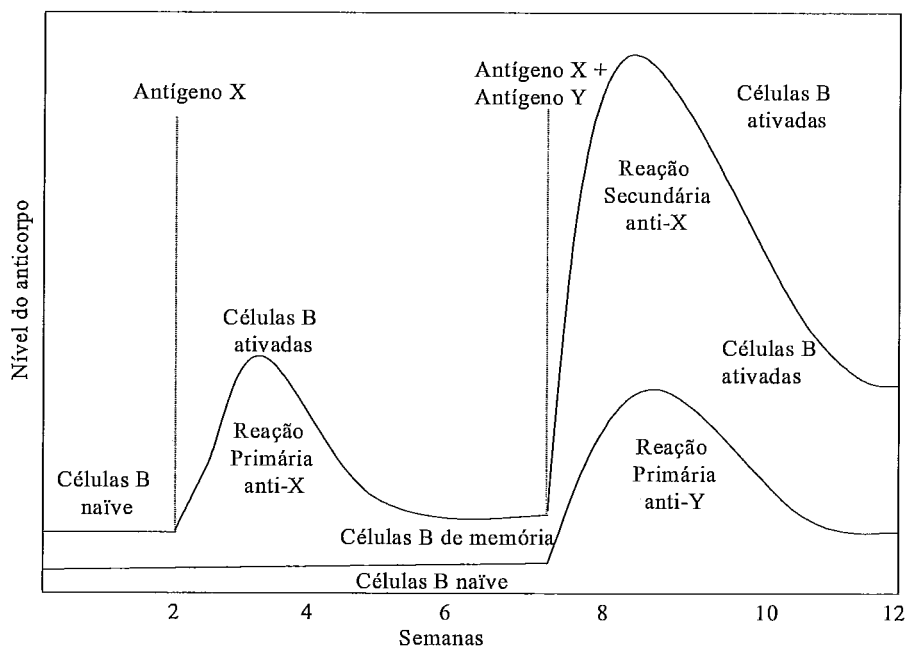


Figura 2.1 – Especificidade, memória e auto-limitação das respostas imunes. Os antígenos X e Y induzem a produção de diferentes anticorpos (especificidade). A reação secundária ao antígeno X é mais rápida e maior do que a primária (memória). Os níveis dos anticorpos decaem com o tempo depois cada reação (auto-limitação).

As células do sistema adaptativo são os linfócitos B e T. Normalmente essas células estão em repouso e são ativadas ao encontrarem um antígeno. Esse fato denota uma característica muito importante do sistema imunológico adaptativo, que é capacidade de diferenciar o que é próprio (*self*) do que não é (*não-self*). O sistema utiliza um processo chamado de reconhecimento de antígeno para combater esses agressores. Um vasto repertório<sup>7</sup> com diferentes receptores de antígenos antecipa essas estruturas estranhas.

<sup>7</sup> Ver Seção 2.3 e Capítulo 4.

Os linfócitos B produzem os anticorpos e são responsáveis pela imunidade extracelular ou humoral<sup>8</sup> e circulam na linfa e no sangue; são capazes de reconhecer antígenos solúveis e também aqueles associados a células. Já os linfócitos T são responsáveis pela imunidade celular; os linfócitos T precisam interagir com outras células, e por isso só conseguem reconhecer antígenos apresentados em outras células. Quem apresenta tais antígenos são proteínas especializadas, codificadas por genes num *locus* chamado Complexo de Histocompatibilidade Principal (MHC); e as células que realizam essa apresentação são chamadas Células Apresentadoras de Antígenos (APCs). Os linfócitos B também podem apresentar antígenos aos linfócitos T. Há duas populações de células T, as  $T_h$  (*T helpers*) e as  $T_c$  (*T citotoxic*). As  $T_h$ , após serem estimuladas pelos antígenos por meio de dois sinais<sup>9</sup>, secretam citocinas com o papel de estimular a proliferação das células T e de outras células, incluindo as B. As  $T_c$  eliminam as células que produzem antígenos estranhos.

Cada linfócito do tipo B e T possui um único idiótipo de receptor de antígeno. Quando uma molécula de anticorpo encontra um antígeno, eles podem ligar-se ou não, dependendo da **afinidade** ou especificidade existentes entre eles. Por afinidade podemos entender a complementaridade físico-química entre as moléculas. Quando o linfócito tem receptor compatível ele subdivide-se, num processo denominado **proliferação clonal** – geração de células-filhas com o mesmo receptor – com o intuito de tornar disponível uma maior quantidade dos receptores específicos para o antígeno encontrado. Além da proliferação clonal, os genes que codificam os receptores de antígeno da célula B também sofrem um processo durante a resposta imunológica denominado **hipermutação** para tentar criar receptores que se adaptam ainda melhor ao antígeno estranho.

A cada exposição a um antígeno, os clones do linfócito específico para este antígeno aumentam. Isso faz com que o sistema tenha memória, ou seja, ao entrar em contato novamente com esse antígeno ou uma pequena variação dele,

---

<sup>8</sup> Pode ser transferida para os indivíduos não imunizados pelo plasma ou o soro; é a imunização passiva, pois o hospedeiro não possui os meios necessários para produzir mais anticorpos do mesmo tipo daqueles injetados. O contrário acontece quando o hospedeiro, após a imunização, fica apto a produzir os anticorpos de um antígeno dado; este é o caso da imunização ativa.

<sup>9</sup> O sinal 1, vindo do antígeno, assegura que a resposta será específica. O sinal 2, adicional, deflagrado pelos micróbios ou pela reação do sistema inato aos micróbios, assegura que as respostas acontecerão apenas quando necessário.

apresente uma reação muito mais rápida, abrangente e qualitativamente diferente da primeira. A figura 2.2 mostra as fases da resposta imunológica adaptativa.

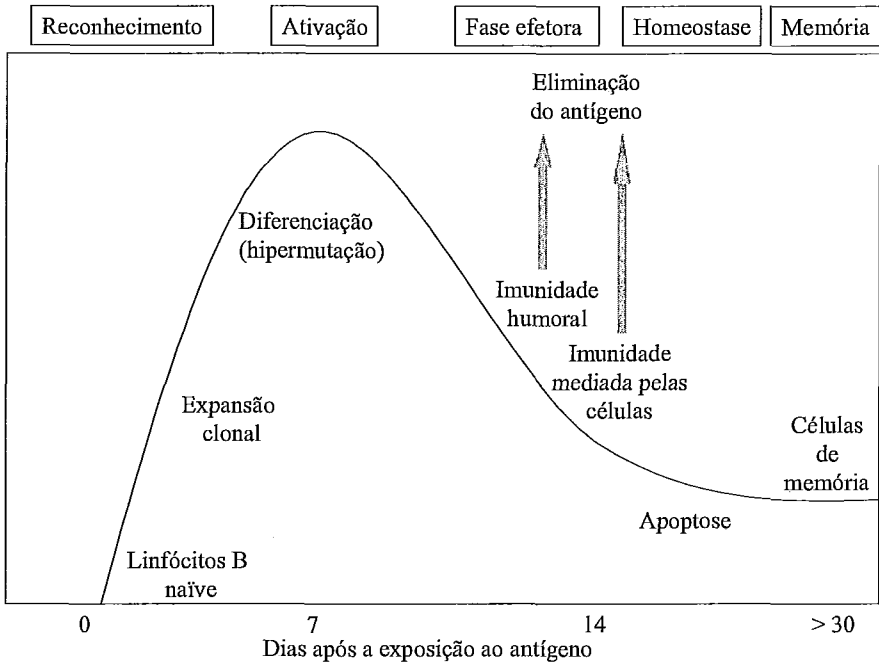


Figura 2.2 – Fases da resposta imunológica adaptativa. As três primeiras fases são o reconhecimento do antígeno, a ativação dos linfócitos e a fase efetora (eliminação do antígeno). A resposta diminui à medida que os linfócitos estimulados pelos antígenos morrem por apoptose e as células específicas para os antígenos sobrevivem. A duração de cada fase pode variar em diferentes respostas. O eixo y representa uma medida arbitrária da magnitude da resposta.

Há uma grande quantidade de clones distintos de linfócitos que diferem na estrutura de seus receptores antigênicos e por isso são diferentes na especificidade para reconhecer o antígeno, o que cria um repertório imenso. O sistema imunológico de um indivíduo pode discriminar aproximadamente de  $10^7$  a  $10^9$  determinantes antigênicos diferentes; esta propriedade é chamada de diversidade.

O sistema imunológico reconhece, responde e elimina vários agentes estranhos enquanto não reage a suas próprias substâncias antigênicas. A falta de resposta imunológica de um modo geral é chamada tolerância; e esta falta de resposta aos antígenos do *self* é chamada **auto-tolerância**. Entretanto, pode haver distúrbios na indução ou manutenção da auto-tolerância. Este fato pode ser benéfico quando as alterações são resultado de determinados processos

mórbidos, como antígenos próprios modificados por células tumorais; neste caso, o sistema pode eliminar a célula tumoral assim que esta é encontrada. Porém, esta capacidade de reconhecer variações do *self*, se não regulada, pode provocar as chamadas doenças auto-imunes, como artrite reumatóide, dermatite herpetiforme, tireóide auto-imune e lupus.

Ao final de uma resposta imunológica, o sistema retorna ao seu estado inicial. É o que chamamos de homeostase. Este processo será descrito segundo a rede idiotípica de Jerne, no Capítulo 3.

## 2.2. Órgãos e tecidos

O sistema imunológico é formado por compartimentos distintos, os órgãos e os tecidos, que são interconectados pelos sistemas sanguíneo e linfático e as respostas por ele produzidas para defesa do nosso corpo ocorrem em todo o organismo, e não apenas em células isoladas.

São várias as etapas pelas quais o sistema imunológico tem que passar para eliminar de forma eficiente uma infecção. Tecidos especializados, chamados órgãos linfóides periféricos, concentram os antígenos que penetram em nosso organismo pelas vias mais comuns, como a pele e os tratos respiratório e intestinal – a captura do antígeno e seu transporte para os órgãos linfóides são os passos iniciais para a resposta imune adaptativa.

Em seguida, os linfócitos *naïve* (aqueles que ainda não se encontraram com nenhum antígeno) migram para os órgãos linfóides periféricos, onde eles podem reconhecer o antígeno e começar a resposta imunológica.

Neste ponto, a partir das células *naïve*, desenvolvem-se os linfócitos efetores e de memória, que circulam no sangue, rumo aos locais periféricos da entrada de antígenos e se alojam nesses locais, garantindo que nossos mecanismos protetores possam agir em qualquer lugar do corpo.

Embora ainda não seja totalmente conhecido como o sistema imunológico é coordenado em termos sistêmicos, acredita-se poder dividi-lo em órgãos linfóides primários – órgãos e tecidos nos quais os linfócitos são produzidos – e órgãos linfóides secundários – aqueles onde os linfócitos entram em contato com o antígeno estranho, são clonalmente expandidos e amadurecem em células efectoras [8].



A figura 2.3 mostra os órgãos de produção de linfócitos no embrião humano. Os órgãos linfóides primários são inicialmente o saco vitelino, depois o fígado e o baço fetal e finalmente a medula óssea e o timo.

Já na figura 2.4 são mostrados, no indivíduo adulto, além dos órgãos linfóides primários, os secundários, assim normalmente considerados o baço, os linfonodos e o

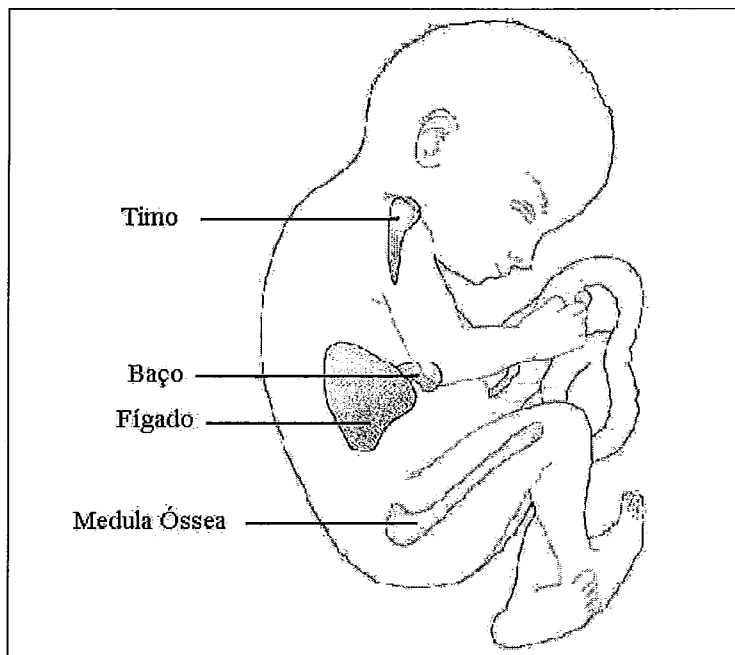


Figura 2.3 – órgãos de produção de linfócitos no ser humano em desenvolvimento. (adaptada de [8])

tecido linfóide associado à mucosa (MALT) que revestem os tratos respiratório, gastrointestinal e reprodutor. Os linfócitos alojam-se nos órgãos linfóides secundários e expandem-se clonalmente em contato com o antígeno adequado para os receptores de antígeno específico.

### 2.2.1. Medula Óssea

A medula óssea é o local onde são geradas todas as células de circulação sanguínea no indivíduo adulto (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas). Como comentado na página anterior, a hematopoese – geração de

células sanguíneas – no embrião humano se dá no saco vitelino, no fígado e no baço. Esta função é tomada gradativamente pela medula óssea e de forma mais intensa pela medula dos ossos planos, de modo que na puberdade a hematopoese acontece no esterno, nas vértebras e na costela.

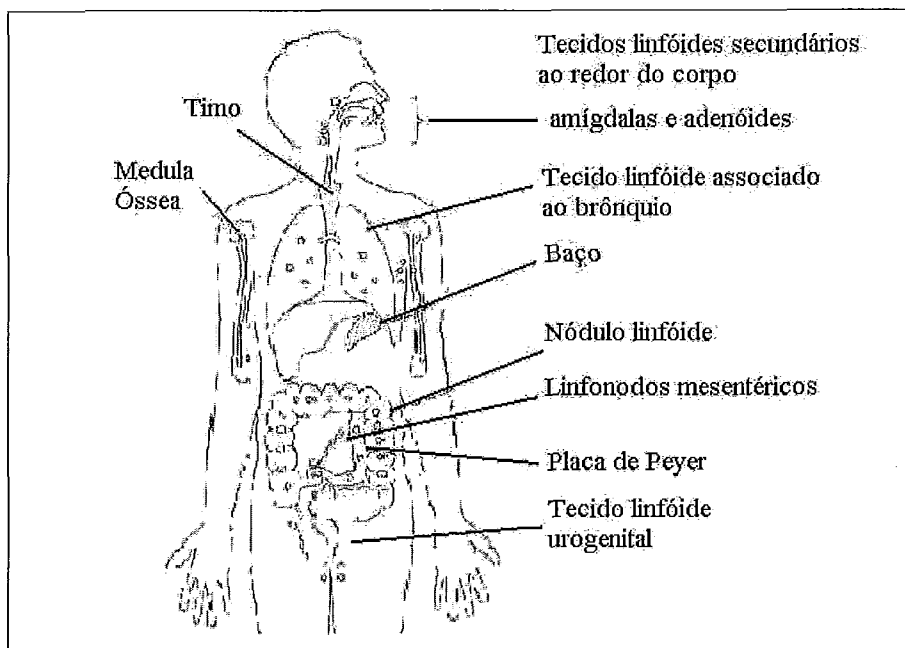


Figura 2.4 – Principais órgãos linfóides no ser humano adulto.

A medula óssea é um sistema de órgãos rico em células. Este fato faz com que seja fornecido suporte mecânico para a geração das células sanguíneas, e além disso faz com que a medula óssea se constitua numa fonte de fatores de crescimento e de citocinas essenciais para o desenvolvimento de vários tipos de células sanguíneas.

Quando a medula óssea está danificada ou quando ocorre uma demanda excepcional de produção de novas células sanguíneas, o fígado e o baço podem ser recrutados como locais de hematopoese extramedular.

### **2.2.2. Timo**

O timo é um órgão cuja base situa-se na superfície do coração. É o local da maturação das células T.

O timo cresce até a puberdade; a partir de então vai sofrendo uma involução progressiva e passa a ser formado predominantemente por tecido adiposo, com uma pequena quantidade de tecido linfóide permanecendo até a velhice. O órgão é dividido em três partes principais: a zona subcapsular, que contém células progenitoras mais iniciais; o córtex, onde as células estão em desenvolvimento e são selecionadas; e a medula, com uma quantidade menor de linfócitos, porém mais maduros.

Os linfócitos localizados no timo são chamados de timócitos e são células T em vários estágios de maturação. Em geral, as células mais imaturas entram no córtex pelos vasos sanguíneos. A maturação começa no córtex e à medida que os timócitos amadurecem migram para a medula, desta forma a medula contém, em sua maioria, linfócitos T maduros. Apenas os linfócitos maduros saem do timo e penetram na corrente sanguínea e entram no tecido linfóide periférico.

### **2.2.3. Linfonodos**

Os linfonodos são pequenas estruturas e são encontrados, em geral, em grupos nos locais para onde convergem numerosos vasos sanguíneos e linfáticos.

É o local onde as respostas imunes adaptativas começam a acontecer. Sua função é concentrar antígenos trazidos pela linfa para serem apresentados às células. A linfa é um líquido celular feito do plasma absorvido, e os linfonodos filtram os antígenos antes de ela ser drenada para a corrente sanguínea.

O linfonodo é composto de três áreas principais: a medula, que contém uma mistura de células B, T e APC; o folículo, rico em células B; e o paracórtex, que possui predominantemente células T.

Durante a resposta a uma infecção, as células B e T nos linfonodos são ativadas. O acúmulo de líquido e células nos linfonodos no período da ativação

dos linfócitos ocasiona um aumento naquelas estruturas, levando a um inchaço. Depois da eliminação da infecção, o linfonodo volta ao seu tamanho normal.

#### **2.2.4. Baço**

O baço é um órgão linfóide secundário, com a medida aproximada de um punho fechado, localizado no lado esquerdo do abdômen.

Esse órgão também funciona como um filtro importante para o sangue. Diferentes classes de linfócitos são segregadas no baço da mesma forma que o são nos linfonodos e o mecanismo de segregação é similar em ambos os órgãos; a principal diferença é que o baço é o principal local de respostas imunes a antígenos originados no sangue, enquanto os linfonodos trabalham em respostas aos antígenos da linfa.

Pode-se destacar duas áreas principais no baço: a polpa vermelha, contendo principalmente hemácias no processo de distribuição, onde os macrófagos limpam o sangue de micróbios e outras partículas; e a polpa branca, que contém os tecidos linfóides densos. Estima-se que o baço abriga cerca de 25% dos linfóides totais no corpo.

### **2.3. Teoria da seleção clonal**

No período de 1950 a 1970 as teorias imunológicas que tinham o antígeno como modelo da formação de anticorpo deram lugar às teorias seletivas. A razão mais óbvia para essa transição está no fato de as moléculas de anticorpo serem sintetizadas como outras proteínas e que o modelo para suas seqüências de aminoácidos não é o antígeno e sim o RNA mensageiro [1].

A teoria da seleção clonal foi criada com o intuito de explicar como uma grande variedade de antígenos diferentes pode fazer surgir respostas imunológicas específicas celulares ou humorais. Ela descreve as características básicas da resposta imunológica a um estímulo antigênico. Tem como premissas o fato de os linfócitos já possuírem o DNA que contém as informações necessárias para sintetizar os

receptores necessários ao reconhecimento do antígeno e o fato de uma célula produzir apenas um anticorpo e este ser apresentado na superfície da célula.

Os linfócitos que possuem reconhecedores de antígenos iguais – os clones – são selecionados por proliferação. Na resposta imunológica, o antígeno seleciona os linfócitos com receptores complementares e os induz a divisão e à execução de várias funções, como a secreção de anticorpos, caso se tratem de células B<sup>10</sup>.

PERELSON e OSTER [9] em seu estudo teórico sobre a seleção clonal concluíram entre outras coisas que:

- Com um número finito de anticorpos um animal pode reconhecer um número infinito de antígenos;
- A região de uma molécula proveniente de fora do organismo reconhecida por um anticorpo deve ter extensão limitada;
- A probabilidade de reconhecer uma molécula externa aumenta com o tamanho do repertório de anticorpos; no entanto, abaixo de um certo valor de repertório, o sistema imunológico torna-se praticamente ineficiente; enquanto para valores acima de determinado repertório, aumentos na população significam aumentos cada vez menores na probabilidade de reconhecimento;
- A multiespecificidade<sup>11</sup> equivale a um pequeno aumento no repertório de anticorpos, o que representa, porém, um aumento substancial na probabilidade de o sistema imunológico reconhecer uma molécula externa.

Segundo a seleção clonal, a propriedade da memória se deve ao fato de alguns linfócitos transformarem-se em um tipo especial de célula chamada linfócito de memória, que possuiria vida média bem mais longa (alguns anos) que os outros linfócitos e seria responsável pelo reconhecimento de antígenos já encontrados e pela resposta mais rápida a eles.

---

<sup>10</sup> A Seção 2.1.2 explica o processo de proliferação clonal e hipermutação dos linfócitos.

<sup>11</sup> Multiespecificidade é o fato de, ocasionalmente, um anticorpo ligar-se a mais de um antígeno. Isso ocorre porque existe um número suficiente de interações químicas entre o antígeno e o anticorpo para criar uma estrutura estável, independente da excelência do encaixe total [8].

### Capítulo 3 – Maturação dos linfócitos

Os linfócitos são as únicas células do nosso corpo capazes de expressar a diversidade de receptores antigênicos que reconhecem as substâncias estranhas ao nosso organismo. Tal diversidade é gerada no processo de desenvolvimento de células B e T maduras, a partir de células precursoras que não expressam os receptores de antígeno e não são capazes de reconhecer os antígenos e de responder a eles. Chamamos de maturação de linfócitos o processo que converte os linfócitos progenitores derivados do timo e da medula óssea em linfócitos maduros que irão povoar os tecidos linfóides periféricos. E a coleção desses reconhecedores de antígenos com suas especificidades chamamos de **repertório de linfócitos**. Na maturação é executada uma seqüência de passos que leva ao desenvolvimento das células, à geração de um vasto repertório, a mudanças no fenótipo, à aquisição de competências funcionais e a um processo de seleção que garante que a maior parte dos linfócitos que chegarão aos tecidos

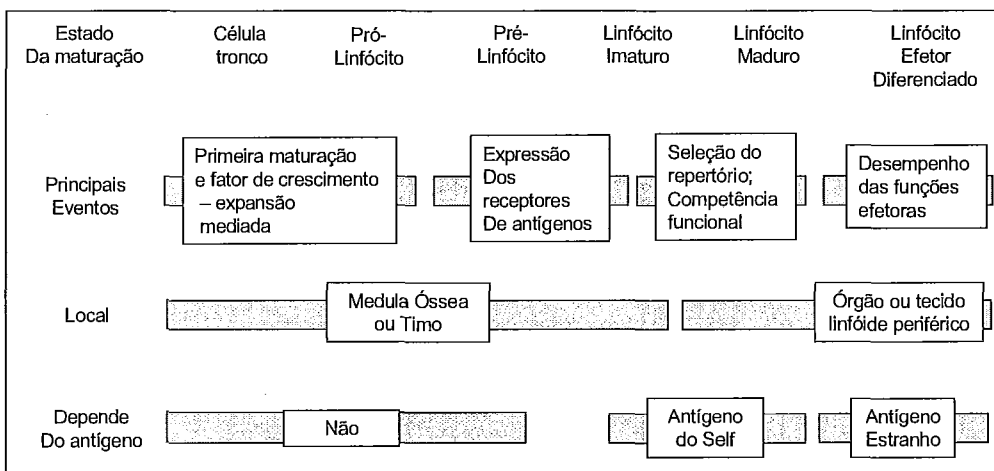
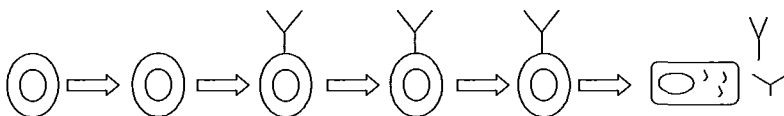


Figura 3.1 – Estágios da maturação de um linfócito. Seqüência comum aos linfócitos B e T.

periféricos serão capazes de responder aos antígenos que vêm de fora dos organismo e não reconhecer como antígeno o *self*. A figura 3.1 acima mostra as principais etapas da

maturação dos linfócitos.

É através das células tronco na medula óssea (e no baço fetal) que crescem todas as células do sangue, inclusive os linfócitos. Alguns genes envolvidos na maturação dos linfócitos codificam fatores de transcrição; outros, fatores de crescimento ou receptores de fatores de crescimento. Os linfócitos progenitores dão origem às células B, T e NK. Embora as maturações das células B e T se processem em locais diferentes, como veremos mais adiante, os eventos na fase de maturação primária de ambas são similares. Por isso abordaremos os aspectos comuns de ambas as maturações e posteriormente as particularidades de cada uma.

### **3.1. Aspectos comuns às maturações das células B e T**

Como mencionado na seção 2.1.2, um indivíduo possui cerca de  $10^7$  a  $10^9$  diferentes clones de linfócitos B e T. A capacidade de cada pessoa gerar tamanha quantidade de linfócitos se desenvolveu de forma que não seja necessário a mesma quantidade de diferentes genes receptores de antígenos. Os genes receptores de antígenos são produzidos nas células B e T ainda não maduras na medula óssea e no timo, respectivamente, por um processo chamado recombinação somática, no qual um conjunto de seqüências de DNA herdadas são separadas umas das outras e depois unidas a segmentos diferentes do seu segmento original através de uma enzima. Desta forma, os eventos de recombinação de DNA que levam à produção de receptores de antígenos não dependem ou não são influenciados pela presença de antígenos, como postulado pela teoria da seleção clonal.

Numa fase intermediária da maturação são formados os linfócitos pré-B e pré-T. Essas células são formadas por uma das cadeias que constituem a receptor maduro anexadas a uma proteína adicional; essa proteína é diferente para os linfócitos B e T. Durante essa fase, os linfócitos necessários para a proliferação e maturação permanecem vivos e as células que não representam receptores de antígenos morrem por apoptose.

Depois que as células imaturas já apresentam os receptores de antígenos, um outro processo de seleção se inicia. Como a fase anterior não é influenciada pela especificidade dos receptores que serão gerados, pode ocorrer de existirem linfócitos imaturos com alto grau de reconhecimento do *self*. É preciso preservar as células

preparadas para reconhecer os antígenos externos ao organismo e eliminar as que podem causar danos ao sistema imunológico.

Nos estágios finais de maturação, os linfócitos ganham habilidade para responder aos antígenos e gerar mecanismos efetores para eliminar esses antígenos. As células B adquirem habilidade para secretar anticorpos em resposta aos antígenos e a outros sinais. Já as células T têm subconjuntos com funções distintas que se desenvolvem no timo.

### **3.2. Maturação das células B**

As células B nunca deixam de ser produzidas por nosso organismo e o tempo para seu desenvolvimento é de 2 ou 3 dias. Seu processo de maturação no feto acontece no baço e após o nascimento, na medula óssea e, como mencionado na seção anterior, possui várias fases.

Na primeira fase temos as chamadas células pró-B. Essas células não produzem imunoglobulina, mas podem ser diferenciadas de outras células imaturas pelo aparecimento de marcadores de superfície caracterizando a linhagem B.

O próximo estágio é representado pelas células pré-B, que são as primeiras a sintetizarem alguma forma de imunoglobulina. Essas células são encontradas apenas nos tecidos hematopoéticos e ainda não expressam receptores antigênicos por ainda não ter havido a síntese de todas as cadeias de genes necessárias. Ou seja, as pré-B ainda não são capazes de reconhecer antígenos nem de responder a eles. Associações das cadeias de genes já presentes nesta fase com algumas proteínas formam os receptores de células pré-B, que associados a outras proteínas realizam a transdução de sinais do receptor e estimulam a proliferação e a continuidade da maturação das células B.

Um fenômeno denominado exclusão alélica garante que cada célula B possui uma única especificidade; caso algum problema aconteça nas recombinações genéticas, gerando rearranjos não produtivos, tais células morrem.

Na fase seguinte ocorre a produção das cadeias genéticas necessárias para transformar as células B em reconhecedoras de antígenos; são as chamadas células B imaturas. No entanto, ainda não proliferam nem diferenciam ao encontrar um antígeno. Na verdade, o encontro dessas células com um antígeno pode causar a



morte delas ou uma falta de resposta, ao invés de causar sua ativação. Sendo assim, as células B imaturas deixam a medula óssea e vão terminar seu desenvolvimento nos órgãos linfóides periféricos.

Neste ponto as células B são chamadas maduras e estão prontas para responder aos antígenos e a menos que encontrem um antígeno, morrerão em poucos dias ou poucas semanas. As células B podem ser encontradas na circulação sanguínea e nos órgãos linfóides periféricos.

### **3.2.1. Seleção do repertório das células B**

O repertório de células B maduras é selecionado – num processo que chamamos seleção positiva – a partir das células imaturas antes que elas deixem a medula óssea. Esse processo é bem conhecido para as células T, como veremos mais adiante; para as células B, embora importante, tal mecanismo ainda é desconhecido.

Por outro lado, além da seleção positiva, existe o processo da seleção negativa, onde as células B imaturas que possuem alto grau de reconhecimento aos antígenos do *self* e encontram esses antígenos morrem ou têm seu processo de maturação mal sucedido na fase posterior. A seleção negativa é parcialmente responsável por manter a tolerância aos antígenos do *self* presentes na medula, prevendo uma resposta imune prejudicial a esses antígenos. Os antígenos mediadores da seleção negativa – normalmente antígenos do *self* abundantes ou polivalentes – enviam sinais muito fortes para os linfócitos B imaturos; o reconhecimento desses antígenos leva então as células imaturas à morte por apoptose.

Além da seleção negativa, algumas células imaturas com alto grau de reconhecimento aos antígenos do *self* [7] podem ser induzidas a mudar suas especificidades num processo chamado edição de receptor, mas caso os rearranjos genéticos não sejam capazes de alterar a especificidade dos linfócitos de forma que ele passe a não ser mais reativo, a célula morrerá por apoptose.

### 3.3. Maturação das células T

A maturação dos linfócitos T obedece a uma sequência de estágios que consiste na recombinação somática e expressão dos genes TCR (receptores de células T); proliferação celular; seleção induzida por antígeno e aquisição de fenótipos maduros e capacidade funcional.

A maioria dos linfócitos T é gerada no timo. Embora o timo sofra uma involução com o passar do tempo, vá se atrofiando e seja praticamente imperceptível na idade adulta, ainda existe alguma maturação das células T nessa idade. É possível que a versão reduzida remanescente do timo seja suficiente para a maturação necessária; também devem existir locais de maturação de células T fora do timo, mas nenhum foi claramente identificado.

O processo de maturação possui avaliações intrínsecas que asseguram a diferenciação adequada. Como resultado dessas avaliações tem-se que as taxas de proliferação e morte por apoptose dos timócitos é muito alta. Um único precursor origina vários timócitos e cerca de 95% deles sofrem apoptose antes de atingir a medula. A morte se dá pela incapacidade de expressar receptores de antígenos funcionais, por não poderem ser positivamente selecionados pelas moléculas de MHC no timo e por causa da seleção negativa induzida por antígenos do *self*.

A seleção das células T em desenvolvimento é estimulada pelo reconhecimento do antígeno no timo e é feita para preservar as células úteis no reconhecimento de antígenos externos ao organismo e destruir aquelas que podem causar danos ao sistema. O repertório imaturo de células T são aquelas células cujos receptores são capazes de reconhecer qualquer antígeno peptídico – sejam próprios ou externos – apresentado por qualquer MHC. Completarão o desenvolvimento aquelas que forem específicas para peptídeos externos apresentados por MHC próprios. Além disso, como já comentado, é necessário eliminar as células que podem causar doenças auto-imunes.

As células T que sobrevivem e saem do timo e ainda não encontraram seu antígeno são chamadas células naïve e podem ficar circulando no organismo durante anos.

Quando o antígeno é apresentado, a célula T será ativada se o TCR reconhecer o antígeno mostrado nas moléculas MHC – primeiro sinal – e também se receber um segundo sinal co-estimulante. As células ativadas proliferam, expandem e

diferenciam em células efectoras, em sua maioria de vida curta. Tais células sofrem várias alterações. Elas podem mover-se para a periferia e para outros órgãos para debelar diretamente a infecção ou podem migrar para centros germinativos para ajudar a ativar células B com especificidade para o mesmo antígeno a secretar anticorpo. Como resultado tem-se uma forte resposta da célula T e destruição do patógeno. A maioria das células T ativada é destruída por apoptose, restaurando a homeostasia. Algumas células efectoras amadurecem e se transformam em células T de memória que podem responder mais rápida e eficientemente ao antígeno. Veremos mais adiante que esta afirmativa, corroborada pela teoria da seleção clonal - como visto no capítulo anterior -, é contestada por Jerne.

## Capítulo 4 – A rede idiotípica de Jerne

Na tentativa de responder, entre outras questões, como o sistema imunológico atinge a estabilidade antes da chegada de um antígeno, Niels Jerne desenvolveu a teoria da rede funcional ou teoria da rede idiotípica. Esta teoria trouxe novas idéias, introduzindo uma nova visão sobre o sistema imunológico. Para JERNE [1] a teoria da seleção clonal olhava para os linfócitos sensíveis a antígenos como células independentes e sua proposta incorporava a teoria da seleção clonal numa abordagem mais abrangente de uma rede, sem sacrificá-la.

### 4.1. Aspectos formais

Na formulação da sua rede, JERNE [1] chamou de **epítomos** os determinantes gênicos carregados pelos antígenos. Os epítomos são pedaços da molécula do antígeno que possuem um padrão que pode ser reconhecido com alta precisão pelos padrões complementares do **parátomo** – nome dado aos locais de combinação do anticorpo. Os parátomos e epítomos são essenciais para que o sistema imunológico realize o reconhecimento de antígenos. Ao conjunto de epítomos existentes nas regiões variáveis de um conjunto de moléculas de anticorpo chamamos **idiotipo**; e cada epítomo idiotípico é chamado de **idiótopo**.

Na rede idiotípica é assumido que os repertórios de parátomos e idiótopos são da mesma ordem de grandeza. Vários estudos mostram que os anticorpos possuem parátomo e idiótopo, e por isso Jerne considera que no sistema imunológico de um indivíduo qualquer idiótopo pode ser reconhecido por um conjunto de parátomos e que qualquer parátomo pode reconhecer um conjunto de idiótopos. O sistema imunológico é, portanto, uma grande rede complexa de parátomos que reconhecem idiótopos e de idiótopos que são reconhecidos por parátomos.

A funcionalidade da rede baseia-se em alguns dualismos, quais sejam:

- Os linfócitos B e T possuem interações ora sinérgicas [10] e ora antagônicas;

- As moléculas de anticorpo podem reconhecer e ser reconhecidas, como já discutido anteriormente;
- Um linfócito sensível a antígeno pode reagir positiva ou negativamente após ter reconhecido um antígeno. Uma reação positiva faz com que a célula prolifere, ative-se e secrete anticorpo; já a resposta negativa leva à tolerância e supressão.

Segundo Jerne a supressão de linfócitos é a essência do sistema imunológico. As células T que reconhecem os idiótopos de receptores das células B mantêm a supressão dessas células. Por outro lado, pode-se concluir que as células B permanecem funcionais devido à ausência de números suficientes de células T supressivas, ou seja, as células B podem suprimir o aparecimento de células T reconecedoras em algumas situações. Isso parece levar o sistema imunológico a uma situação de equilíbrio. Os idiótopos presentes nos anticorpos produzidos na primeira resposta imunológica podem agir como antígenos para deflagrar uma segunda resposta. A segunda onda de anticorpos será direcionada contra os idiótopos dos anticorpos da primeira onda. À população da segunda onda chamamos de **anticorpos anti-idiotípicos**. Estas, por sua vez, podem induzir a uma terceira onda de anticorpos, e assim sucessivamente [1,7]. Os anticorpos anti-idiotípicos possuem efeito supressivo e as células B e T podem ter efeito supressivo umas sobre as outras.

Na rede de Jerne, as interações complementares envolvendo idiotipos e anti-idiotipos alcançam um estado estável no qual o sistema estaria em **homeostase**. Quando um antígeno externo invade o sistema, os linfócitos irão responder a ele, irão expandir e as respostas anti-idiotípicas são acionada para eliminar os linfócitos específicos do antígeno [7].

De acordo com a visão de Jerne, a memória imunológica seria consequência das interações da rede, e não de células que no processo de eliminação do antígeno não morrem e persistem nos processos seguintes transformando-se em células de vida longa, como postulavam algumas teorias [1, 15, 23]. As relações estimulatórias fazem com que os linfócitos hipermutem, gerando clones específicos para determinado tipo de antígeno e as relações inibitórias impedem que a população de linfócitos cresça indefinidamente. O resultado é um sistema imunológico estável e portador de memória.

As moléculas de anticorpo aparecem tanto livres quanto como moléculas receptoras no linfócito – somente de 15% a 20% dos linfócitos disponíveis no repertório imunológico participam da rede, o restante fica livre para responder a qualquer antígeno externos ao organismo. O repertório imunológico de cada indivíduo será diferente dependendo dos linfócitos que participarão da sua rede [11].

## 4.2. Aspectos funcionais

Segundo Jerne, o sistema imunológico, mesmo na ausência de antígenos externos, mostra uma situação de equilíbrio resultante principalmente da interação parátopo-idiótopo. Desta forma, o sistema atinge um estado dinâmico estável à medida que seus elementos interagem entre si e que alguns elementos desaparecem e outros surgem.

Como sabemos, as células B (células de anticorpos) podem reconhecer e ser reconhecidas, pois possuem parátopo e idiótopo. Na figura 4.1, o símbolo  $p_i i_i$  denota o conjunto total de moléculas de anticorpo reconhecedoras e possíveis linfócitos que irão responder ao antígeno E. Uma seta saindo do parátopo de um clone em direção ao idiótopo de outro indica que aquele clone inibe (reconhece e tenta eliminar) este último. De modo recíproco, esta a mesma seta indica que o último clone estimula (é reconhecido) por aquele.

Antes de um antígeno entrar no corpo, o sistema imunológico encontra-se em equilíbrio. O clone  $p_1 i_1$  estimula o clone  $p_3 i_3$ , que por sua vez inibe o clone  $p_1 i_1$ . Simultaneamente, o clone  $p_2 i_2$  estimula  $p_1 i_1$ , e  $p_1 i_1$  inibe  $p_2 i_2$ . Interações desse tipo mantêm o equilíbrio na rede.

Consideremos agora a chegada de um antígeno com epítipo E. Tal epítipo é reconhecido com vários graus de precisão por um conjunto de diferentes parátomos de anticorpos; falamos do conjunto  $p_1$ . Além de reconhecer o epítipo do antígeno,  $p_1$  reconhece também o conjunto  $i_2$  de idiótopos que constitui uma espécie de imagem interna do epítipo E porque é reconhecido pelo mesmo conjunto  $p_1$  que reconhece E. Este conjunto  $i_2$  ocorre em associação molecular com um conjunto  $p_2$  de parátomos. Observe que  $i_1$  não apenas reconhece; ele é reconhecido por  $p_3$ , que



em estudos. Se considerarmos o epítopo E e o conjunto potencial de respostas  $p_1i_1$ , podemos admitir que alguns idiótopos do conjunto  $i_1$  ocorrem também em moléculas cujos parátomos não pertencem ao conjunto  $p_1$ . Trata-se de  $p_xi_1$ . Por supressão  $p_xi_1$  e  $p_xi_1$  secretam linfócitos ao mesmo tempo; os linfócitos de  $p_xi_1$  produzem imunoglobulinas com o mesmo idiótopo, mas parátomos inespecíficos, que não irão agir contra o epítopo E.



## Capítulo 5 – O modelo

A rede idiotípica de Jerne postula que a estabilidade do sistema imunológico é alcançada através das próprias interações sinérgicas e antagônicas entre os linfócitos B e T. Levando em consideração que esta é a principal característica da rede de Jerne, foi construído o presente modelo.

O modelo começa com a existência do *self* – que representa nosso próprio organismo – e um anticorpo matriz – a *mãe*, a partir do qual serão gerados todos os outros anticorpos para formar a rede. Tanto a mãe quanto o *self* são constituídos por uma população inicial suficiente para gerar proliferação e estabilização da rede. Os testes mostraram que uma população inicial de 1000 era suficiente para cada um.

O *self*, os clones e as bactérias, introduzidas em momento oportuno, são representados por 8 bits e a complementaridade físico-química entre as moléculas<sup>12</sup> é medida por meio de uma função OU-EXCLUSIVO realizada entre o parátopo do clone reconhecedor e o idiótopo do clone reconhecido. O resultado dessa função pode variar de 0 a 8. A função OU-EXCLUSIVO foi escolhida por medir complementaridade; a referida função apenas retorna um bit 1 se os dois bits comparados forem diferentes.

Para que os parâmetros utilizados nas equações – que serão explicados nas próximas seções – pudessem ser testados e para que fossem realizados os testes com as bactérias – apresentados no Capítulo 6 –, foi necessário fazer simplificações para garantir a geração sempre da mesma rede idiotípica estável em cada execução do programa. Entre as simplificações está o fato de o programa assumir configurações fixas para o *self* e para a mãe<sup>13</sup>, ou seja o sistema inicia sempre com o mesmo organismo. Estas configurações são lidas de arquivos texto, apresentados no Apêndice A.

---

<sup>12</sup> Ver Seções 2.1.2 – 2.3 – 4.1

<sup>13</sup> A próxima simplificação feita no sentido de gerar sempre a mesma rede estável será mostrada no item 5.1

## 5.1. Formação do sistema imunológico

A evolução da população de determinado anticorpo  $i$  no tempo é dada pela seguinte equação:

$$\frac{dP_i(t)}{dt} = \sum_{j=0}^n W_{ij} \frac{P_j(t)}{P_i(t)} - \sum_{i=0}^n W_{ji} \frac{P_i(t)}{P_j(t)} - KP_i(t) \quad (1)$$

No início do processo, quando estão apenas a mãe e o *self*, a equação da evolução da população da mãe é a seguinte:

$$\frac{dP_i(t)}{dt} = \sum_{i=0}^n W_{ij} \frac{P_j(t)}{P_i(t)} - KP_i(t), \quad (2)$$

onde  $W_{ij}$  representa a força inibitória do clone  $i$  sobre o clone  $j$ . Por outro lado,  $W_{ji}$  denota a força estimulatória do clone  $i$  sobre o clone  $j$ . Como *estimular* significa ser reconhecido e *inibir* significa reconhecer e tentar eliminar<sup>14</sup>,  $W_{ij}$  representa a intensidade com que o clone  $i$  crescerá – a intensidade com que são gerados novos clones do tipo  $i$  – para tentar eliminar o clone  $j$ ; por outro lado  $W_{ji}$  denota a intensidade com que o clone  $i$  será atacado pela força que provém do clone  $j$ , ou seja, é a intensidade com que o clone  $i$  decrescerá ou ainda a intensidade com que o clone  $j$ , na sua equação, será estimulado (crescerá) para tentar eliminar o clone  $i$ . A relação  $P_j(t)/P_i(t)$  mostra que quanto maior for a população do clone  $j$  em relação a do clone  $i$ , mais este será obrigado a crescer para tentar eliminar aquele. Ao passo que a relação  $P_i(t)/P_j(t)$  revela que quanto maior a população do clone  $i$  em relação à do clone  $j$ , mais o clone  $i$  diminuirá, já que o clone  $j$  estará crescendo com maior intensidade com o intuito de eliminá-lo.  $K$  é uma constante, que no nosso modelo assume o valor 0.5, e representa um autocontrole do clone que o impede de crescer indefinidamente caso os clones que surjam não sejam capazes de fazer com que a população do clone  $j$  diminua.

Observe que a equação (2) é uma particularização da equação (1), pois o *self* não inibe nenhum anticorpo e nenhum antígeno não havendo, portanto, o termo  $W_{ji}$  (este termo vale zero), que representaria a mãe sendo inibida pelo *self*. A população do *self*

---

<sup>14</sup> Ver Seção 4.2.

não sofre variação, permanecendo 1000 durante todo o processo.

Embora o *self* não iniba anticorpos nem antígeno, sabemos que é necessário que o *self* não seja demasiadamente atacado, pois caso isso acontecesse o sistema nem chegaria a ser gerado, o *self* morreria por ataque dos próprios anticorpos. Por esta razão, os antígenos mediadores da seleção negativa – normalmente antígenos do *self* abundantes ou polivalentes – enviam sinais muito fortes para os linfócitos imaturos e estes linfócitos morrem<sup>15</sup>. No modelo, quando um linfócito ataca o *self* com intensidade a partir de 5 passa pelo processo de seleção negativa, de acordo com a tabela 5.1. E foi dado o seguinte tratamento matemático-computacional:

$$\begin{aligned} \text{Se } W_{i\text{self}} \geq 5 \text{ então} & \quad (3) \\ W_{\text{antígenos do self } i} & \rightarrow 1000000, \end{aligned}$$

onde 1.000.000 representa os sinais muito fortes enviados para os linfócitos imaturos que os fazem morrer por apoptose.

Tabela 5.1 – Relação entre complementaridade Clone-Self e vida do clone

Complementaridade Clone – Self	Situação do clone
0	Sobrevivem
1	
2	
3	
4	
5	não são bons para a formação de um sistema imunológico saudável e não podem sobreviver
6	
7	
8	

Neste modelo, a partir do momento em que a rede idiotípica está construída, ela passa a permitir linfócitos que são capazes de reconhecer com maior intensidade o *self*. Consideramos que a rede já está forte e que a partir daí, os clones que atacam demais o *self* são controlados pelas interações com os outros clones e podem ser eliminados aqui

<sup>15</sup> A Seções 2.1.2. e 3.2.1.

no modelo, mas o serão por não satisfazerem a especificidade. No entanto, vale lembrar que uma falha nesse mecanismo de controle levaria a uma doença auto-imune [12].

### 5.1.1. Hipermutação

À medida que o clone  $i$  cresce e não se mostra capaz de estabilizar a rede com suas interações sinérgicas e antagônicas, surge a necessidade de uma maior especialização dos clones, a necessidade de clones com uma capacidade mais apurada para reconhecerem uns aos outros e tentarem chegar a uma rede estável. É o processo denominado hipermutação<sup>16</sup>. No entanto, os testes verificaram que para o clone hipermutar é necessário atingir uma determinada taxa de crescimento em relação à última hipermutação por ele sofrida ou em relação a sua população inicial, este último caso se tratando de sua primeira hipermutação. Esta taxa é estabelecida em 50%.

Desta forma, quando um linfócito atinge o crescimento mencionado no parágrafo anterior surge um novo linfócito e são feitos sorteios dos bits que compõem seu paratópo e seu idiótopo – aqui não foi considerada a relação existente entre o paratópo e o idiótopo do linfócito gerador e do linfócito gerado, e nem foi estabelecida relação entre os sorteios do paratópo e do idiótopo por ser um processo muito complexo e pouco conhecido ainda. Novamente com o intuito de gerar sempre a mesma rede estável para facilitar o estudo dos parâmetros e da forma como a rede se comporta diante de infecções, neste processo uma outra simplificação é feita, qual seja: os sorteios dos parátópos e idiótopos dos novos linfócitos gerados são feitos de forma pseudo-aleatória, de modo que para uma mesma configuração inicial de *self* e de anticorpo mãe sejam gerados sempre os mesmos linfócitos nas hipermutações que venham a ocorrer.

Com as equações (1) e (2), os parâmetros apresentados e as simplificações feitas, atinge-se uma rede idiotípica de Jerne estável, ou seja, há uma grande variedade de linfócitos com capacidades diferentes no reconhecimento de antígenos e as relações estimulatórias e inibitórias que os

---

<sup>16</sup> Ver Seção 2.1.2.

linfócitos estabelecem entre si são suficientes para que não haja mais aumento nas populações dos clones e não haja, portanto, hipermutação. Os testes no próximo capítulo mostram como a rede alcançada nas condições aqui relatadas elimina algumas configurações de infecções. Abordaremos na próxima seção como nosso modelo lida com a introdução de bactérias no sistema imune.

## 5.2. Introdução de antígenos

Como mencionado na seção anterior, as bactérias introduzidas também são representadas por 8 bits. Como o objetivo é mostrar a reação do sistema imune à presença de uma maior ou menor quantidade de bactérias e sua reação secundária, foi adotada uma equação simplificada para o crescimento da mesma:

$$\frac{dP_{bac}(t)}{dt} = -CTE \times \sum_{j=0}^n W_{ibac} ,$$

onde CTE é uma constante que fornece o ritmo do decréscimo populacional da bactéria e  $W_{ibac}$  representa a força estimulatória do clone  $i$  sobre a bactéria.

Por outro lado, o clone  $i$  reage à bactéria segundo a mesma equação comentada na seção anterior, ou seja, crescendo para tentar inibir o crescimento da bactéria.

Com a introdução de antígenos no sistema imunológico pode haver modificações em todos os clones da rede e, em reação à bactéria, por vezes este precisa gerar novos clones, pelo processo de hipermutação, com o intuito de obter maior especificidade. Neste processo de especialização, o próprio sistema elimina os novos clones gerados que possuem uma baixa capacidade de reconhecimento do antígeno. No nosso modelo significa dizer que os clones recém-gerados que reconhecem a bactéria com um grau menor ou igual a 2 são eliminados, por não serem específicos o suficiente, segundo a tabela 5.2:

Tabela 5.2 -- Relação entre complementaridade Clone-Bactéria e vida do clone

Complementaridade Clone - Bactéria	Situação do clone
0	Não são específicos o suficiente, por isso são eliminados
1	
2	
3	Bom grau de especificidade, portanto, sobrevivem
4	
5	
6	
7	
8	

## Capítulo 6 - Experimentos

Como já mencionado anteriormente, o objetivo primeiro deste trabalho é mostrar como a rede idiotípica de Jerne é construída com base nas relações estimulatórias e inibitórias entre as moléculas de anticorpo. Como disposto no capítulo anterior, para isso utilizamos representações de 8 bits para os clones, para o *self* e para as bactérias, introduzidas posteriormente.

### 6.1. Atingindo a estabilidade da rede

Com as configurações de *self* e de anticorpo *mãe* apresentadas, nossa simulação do sistema imunológico gera uma rede idiotípica de Jerne estável com 58 clones, como mostrado na figura 6.1, que representa uma fotografia dos clones gerados a cada 20 passos do processo, desde o primeiro passo, quando o único linfócito existente era o linfócito mãe<sup>17</sup>. Os números apresentados na primeira linha e na primeira coluna representam o número do clone; por exemplo, o clone mãe é aquele localizado na linha 0 coluna 0 e o clone 58 é aquele que está na linha 5 coluna 7. Os clones são representados por círculos, que podem assumir as seguintes cores:

- Branco: clones que atacam pouco o *self*, ou seja, reconhecem o *self* com complementaridade 0, 1 ou 2;
- Cinza: clones que atacam razoavelmente o *self*, ou seja, reconhecem o *self* com complementaridade 3 ou 4;
- Preto: clones que atacam muito o *self*, ou seja, reconhecem o *self* com complementaridade a partir de 5.

Observe que na figura 6.1 não há círculos pretos, pois o sistema não permite que clones que atacam excessivamente o *self* sobrevivam.

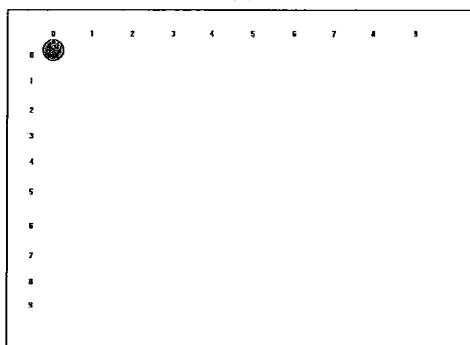
Além das cores diferentes, as circunferências também têm seus diâmetros

---

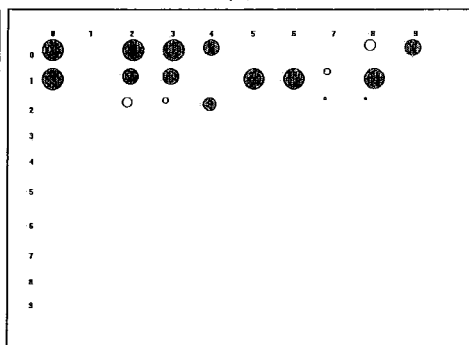
<sup>17</sup> Todas as figuras de fotografias da rede que aparecem neste capítulo possuem um intervalo de 20 passos de um item para outro, ou seja, da fotografia (a) para a fotografia (b) de uma mesma figura, o intervalo é sempre de 20 passos.

variados de acordo com a população de clones de cada qual. Assim, por exemplo, uma circunferência branca e pequena significa um clone que ataca pouco o *self* e tem uma população pequena. É possível observar também que algumas circunferências somem de um item da figura para outro, o que denota a morte do respectivo clone – como explicado nos Capítulos 2 e 3, vários linfócitos sofrem apoptose neste processo.

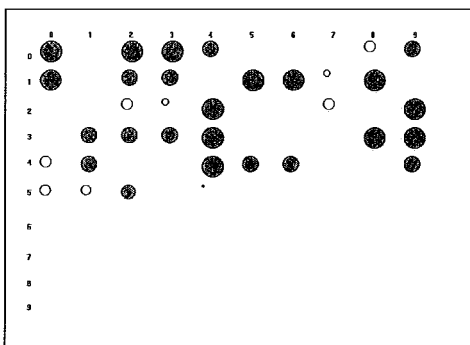
(a)



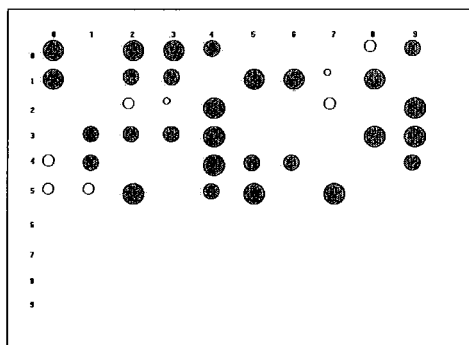
(b)



(c)



(d)





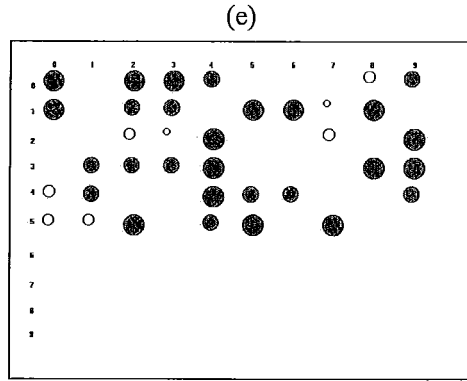


Figura 6.1 – Configuração dos clones até a rede atingir a estabilidade. As figuras (a), (b), (c), (d) e (e) apresentam ‘fotografias’ da rede a cada 20 passos, partindo do primeiro até a rede atingir a estabilidade.

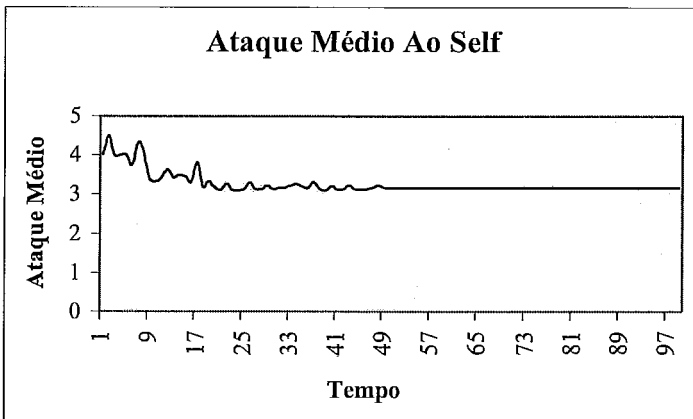


Gráfico 6.1 – Ataque médio efetuado ao *self* pelos clones

O gráfico 6.1 mostra que os clones formadores da rede estável atacam o *self* de forma moderada. Observe que o ataque médio na rede estável assume um valor um pouco superior a 3 após várias oscilações, demonstrando que o sistema não permitiu que sobrevivessem os clones que agrediam demais o *self*. O modelo elimina os clones que atacam em excesso o *self*, numa simulação do processo de seleção negativa<sup>18</sup>. Por isso o ataque médio ao *self* é moderado, como é esperado que aconteça devido à seleção negativa.

<sup>18</sup> Ver seções 3.2.1 e 5.1

## 6.2. Introdução de antígenos

Depois de atingida a estabilidade da rede, foram realizados estudos com a introdução de bactérias no sistema. As bactérias introduzidas ora tinham a mesma configuração do *self*, ora tinham configuração diferente. As bactérias foram escolhidas com essas configurações para que fosse testada a forma como a rede volta à estabilidade – a forma como o sistema volta à homeostase: se o sistema imunológico passa a agredir mais o organismo após uma infecção com a configuração parecida com a do *self* ou não. A seqüência de experimentos obedeceu à tabela 6.1.

O programa que implementa o modelo executa 400 passos desde quando existem apenas o *self* e a mãe. A introdução das bactérias sempre acontece nos passos 100 e 250, respectivamente para serem testadas a reação primária e a reação secundária.

Como explica a seção 4.2 toda a rede fica desbalanceada com a chegada de um antígeno; e no processo de eliminação desse antígeno, vários linfócitos podem nascer e outros podem morrer, o que significa que em muitos momentos a estabilidade atingida pela rede após a eliminação da infecção não é a mesma que ela possuía antes da chegada da bactéria.

Tabela 6.1 – Configuração dos experimentos realizados com antígeno

<b>Bactéria igual ao <i>self</i></b>		<b>Bactéria diferente do <i>self</i></b>	
<b>População inicial de bactérias</b>	10.000	<b>População inicial de bactérias</b>	10.000
	100.000		100.000
	200.000		200.000

### 6.2.1. Bactéria igual ao *self* com uma pequena população inicial

Nesta situação, o sistema imunológico consegue eliminar as bactérias (10.000) em poucos passos – apenas 4 – sem que qualquer clone novo seja gerado. O que acontece é que alguns clones morrem assim que a bactéria é introduzida na tentativa de eliminá-la. A figura 6.2 mostra em sua primeira fotografia – figura (a) – o instante em que a rede está estável e na segunda, o momento imediatamente posterior à introdução da bactéria e na última, a bactéria já foi eliminada e a rede está estável novamente.

Observe que os clones de cor branca morreram assim que o sistema entra em contato com as bactérias – isso pode significar falta de especificidade na eliminação deste tipo de bactéria – e depois disso a rede não se alterou até a bactéria ser eliminada (no passo 104) e permaneceu da mesma forma depois que a bactéria foi eliminada, mostrando que apenas com a morte dos linfócitos não específicos o sistema acabou com a infecção e retornou à estabilidade.

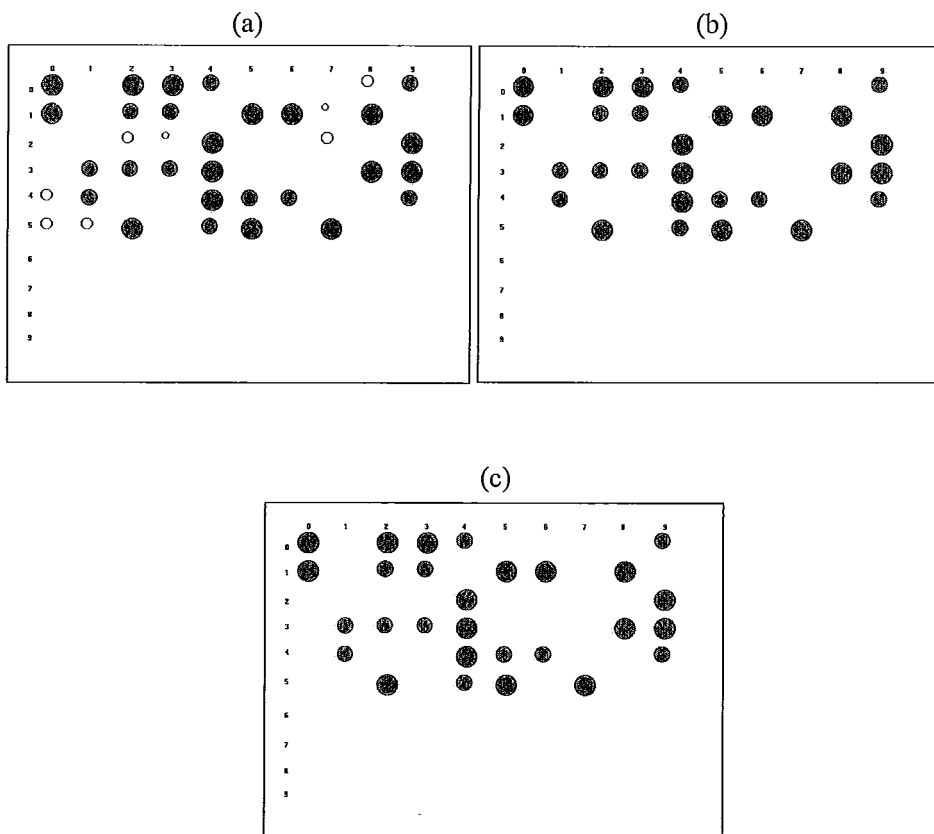


Figura 6.2– Configuração dos clones com a introdução de um antígeno igual ao self com pequena população inicial. A figura (a) mostra a rede em seu estado de equilíbrio. Na figura (b), a rede é mostrada no momento imediatamente posterior à introdução das bactérias; e a figura (c) mostra a rede 20 passos após a introdução das bactérias, em sua nova configuração de estabilidade. Os itens (b) e (c) são iguais, mostrando que apenas a eliminação dos clones não específicos foi suficiente para acabar com a infecção.

Após a primeira introdução da bactéria, é feita uma outra intervenção com um antígeno idêntico ao anteriormente aplicado, para avaliar a reação secundária do sistema imune ao antígeno. Neste caso, como a população inicial da bactéria é pequena, o

sistema imunológico reage de uma forma tal que a rede mostrada no item (c) da figura 6.2 não se altera. O sistema leva novamente 4 passos para eliminar a bactéria e sem nenhum clone adicional gerado, como mostra o gráfico 6.2, válido tanto para a reação primária quanto para a reação secundária.

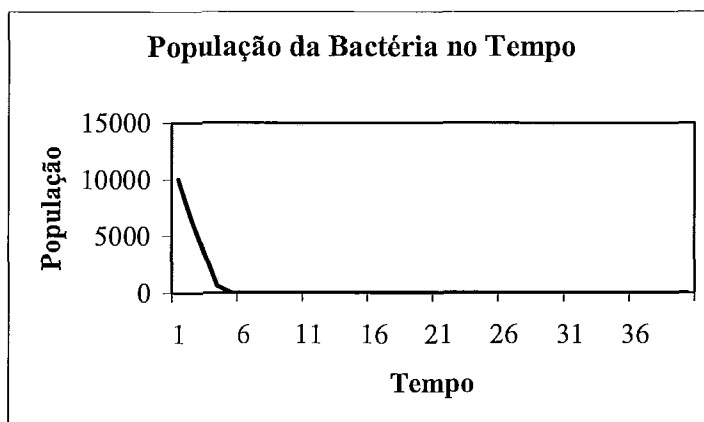


Gráfico 6.2 – Evolução da bactéria ao longo do tempo nas reações primária e secundária

Como mencionado no início desta seção, assim que a bactéria é introduzida alguns clones morrem na tentativa de eliminá-la e isto pode ser percebido no gráfico 6.3. Pode-se observar que o ataque médio ao *self* sobe ligeiramente após a introdução da bactéria, o que se deve à morte de alguns clones. Este fato pode indicar que a rede com esta configuração, embora tenha conseguido eliminar a bactéria tornou-se capaz de atacar mais fortemente o organismo do indivíduo. Ou seja, como as bactérias possuem a mesma configuração do *self*, quando o sistema imunológico tenta eliminar essa infecção ele acaba se especializando em atacar o próprio organismo. Neste caso, houve apenas a morte dos linfócitos que não eram bons reconhecedores da bactéria, logo não eram bons reconhecedores do *self*, ficando somente os que possuíam um grau maior de reconhecimento ao *self*, por isso o ataque médio ao *self* aumentou.

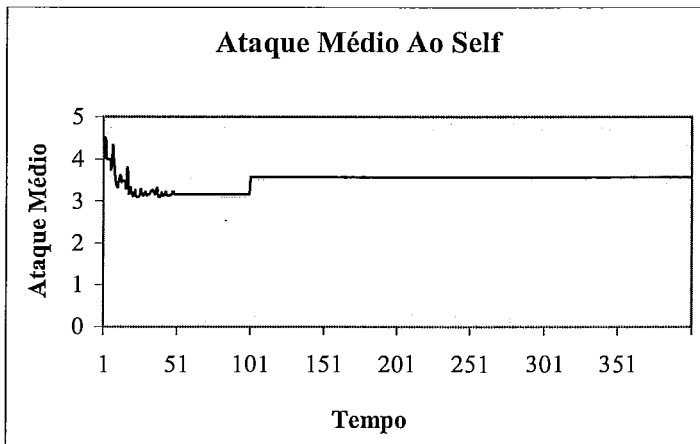


Gráfico 6.3 – Ataque médio efetuado ao *self* pelos clones

### 6.2.2. Bactéria igual ao *self* com uma população inicial mediana

Neste caso, mudando a ordem de grandeza da população inicial para 100.000 bactérias idênticas ao *self*, o sistema imunológico já apresenta reação um pouco diferente, gerando 1 único clone adicional, que morre no passo seguinte (por isso não aparece na figura 6.3), e demorando bem mais a eliminar a infecção – foram necessários 34 passos na reação primária. A figura 6.3 começa no seu item (a) mostrando a rede estável, antes da introdução da bactéria e nos próximos quadros, a cada 20 passos, uma nova fotografia do processo de eliminação é mostrada, até sua nova configuração de estabilidade, no passo 140, ou seja, 6 passos após a eliminação da infecção. Observe que os clones de cor branca morreram assim que o sistema entra em contato com as bactérias – isso pode significar falta de especificidade na eliminação deste tipo de bactéria – e depois disso a rede não se alterou até a bactéria ser eliminada e permaneceu da mesma forma depois que a bactéria foi eliminada.

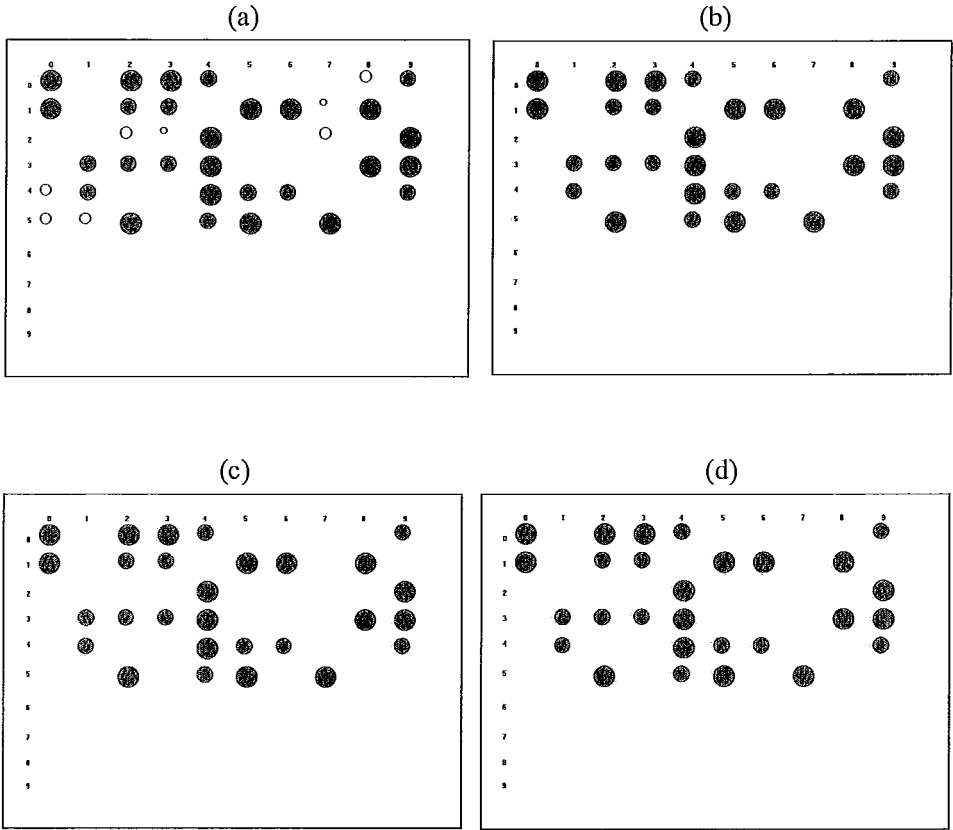


Figura 6.3– Configuração dos clones com a introdução de um antígeno igual ao *self* com população inicial mediana. O item (a) mostra a configuração da rede antes da chegada da bactéria – no passo 80. A figura (b) traz a rede no momento imediatamente posterior à introdução da bactéria. Observe a morte de todos os clones de cor branca assim que a bactéria é introduzida. As figuras (c) e (d) são iguais à figura (b) para confirmar que a rede não mais sofreu modificações nos passos 120 e 140. A infecção foi eliminada no passo 134.

Já na reação secundária, a bactéria é eliminada bem mais rapidamente – em 26 passos. Os gráficos 6.4 e 6.5 nas páginas 41 e 42 mostram a evolução da bactéria na reação primária e na reação secundária, respectivamente.

Observe que antes da introdução das bactérias em reação secundária a configuração da rede é aquela apresentada no item (d) da figura 6.3. Embora sejam utilizados menos passos para eliminar a bactéria, são necessários clones mais específicos para acabar com a infecção; são gerados mais 15 clones neste novo processo, como mostra a figura 6.4. É possível observar que no item (a) vários clones tiveram suas populações diminuídas em relação ao item (d) da figura 6.3, denotando que a bactéria da segunda vez conseguiu diminuir a população de vários anticorpos e talvez, por isso mesmo tenha sido necessária uma especialização maior da rede. Também se

pode notar o aparecimento de anticorpos capazes de atacar muito o *self*. A figura (b) mostra a rede estável novamente.

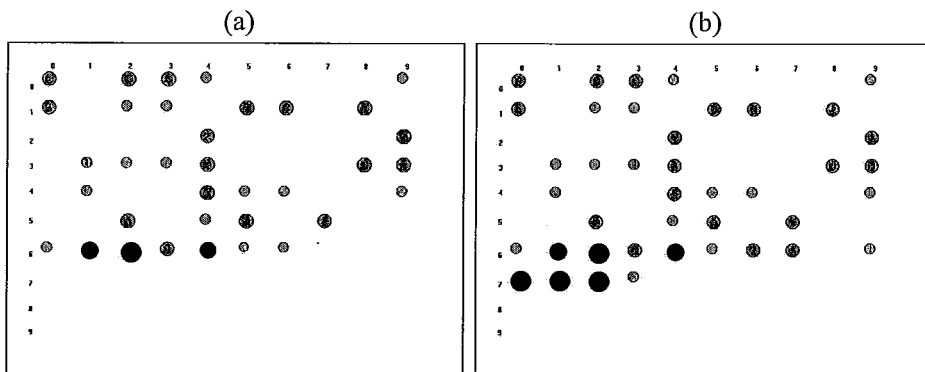


Figura 6.4– Reação secundária à bactéria. A figura (a) mostra a rede 20 passos após a introdução das bactérias. A figura (b) é igual a figura (a), mostrando que 20 passos após, a configuração continua a mesma, ou seja, a rede não se alterou, está equilibrada e a infecção já foi eliminada.

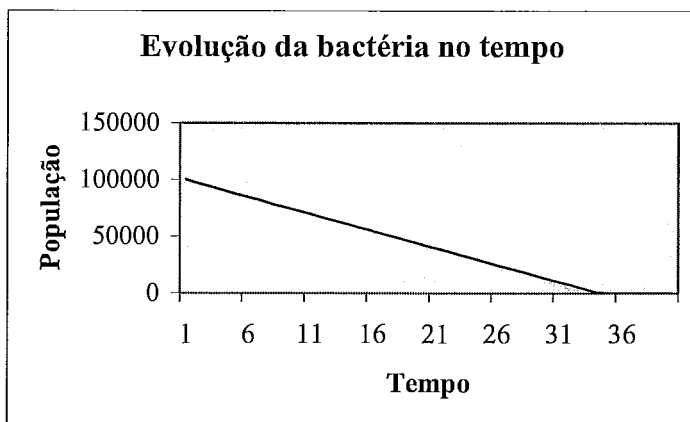


Gráfico 6.4 – Evolução da bactéria ao longo do tempo na reação primária

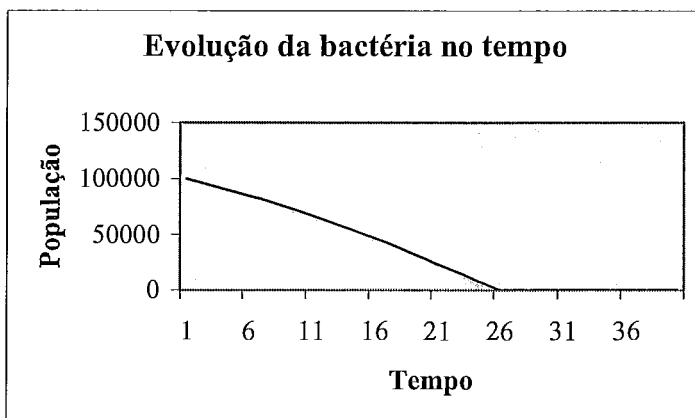


Gráfico 6.5 – Evolução da bactéria ao longo do tempo na reação secundária

O gráfico 6.6 mostra o ataque médio ao *self* ao longo do tempo. É possível perceber que após atingir a primeira estabilidade ele sofre duas oscilações. A primeira diante da reação primária e a segunda após a reação secundária. O ponto de estabilidade final consiste num ataque mais forte ainda ao *self* em relação ao ponto de estabilidade anterior, sendo construído mais uma vez um sistema com maior capacidade de atingir o organismo do indivíduo. Percebemos o sistema imunológico mais uma vez sofrendo as consequências de conseguir eliminar uma infecção com configuração igual ao *self*.

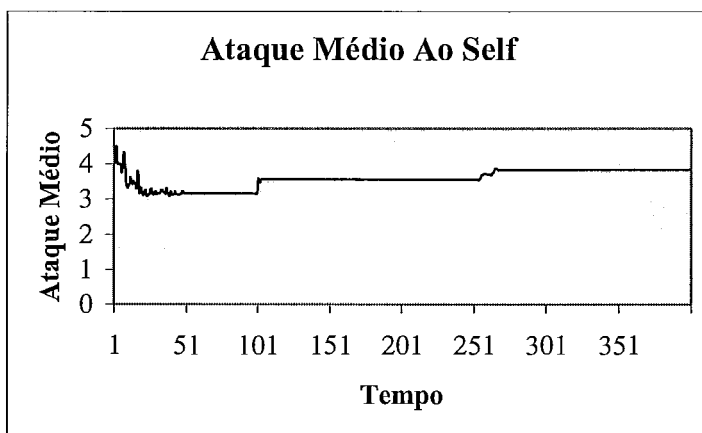
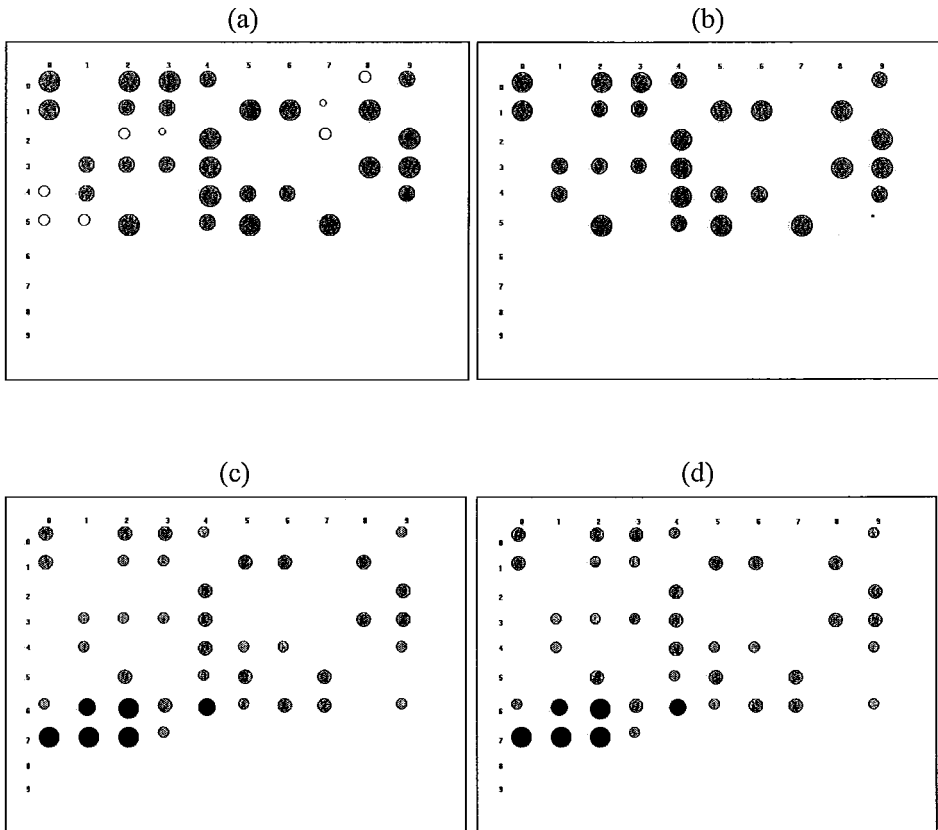


Gráfico 6.6 – Ataque médio efetuado ao *self* pelos clones



### 6.2.3. Bactéria igual ao *self* com grande população inicial

Nesta situação foi introduzida uma grande quantidade de bactérias (200.000) iguais ao *self*, em reação primária. Para eliminá-las a rede precisou gerar 16 clones novos e levou 46 passos para acabar com o agente infeccioso. O gráfico 6.7 retrata o processo de eliminação da bactéria na reação primária. A figura 6.5 mostra, respectivamente, a situação de equilíbrio anterior à chegada da bactéria; o momento de sua introdução; e, 20 passos após, a rede já equilibrada e contando com os novos clones. As dois último itens da figura 6.5 repetem o item (c) mostrando que quando o sistema elimina a infecção – 46 passos após a introdução das bactérias – a rede já havia sofrido as modificações necessárias para eliminá-las e não se modificou depois disso, mostrando-se estável. É possível observar que alguns clones morreram no processo e vários linfócitos tiveram suas populações diminuídas do item (b) para o item (c), ou seja, estes linfócitos se enfraqueceram. Por outro lado, surgiram outros linfócitos mais específicos na eliminação deste tipo de bactéria.





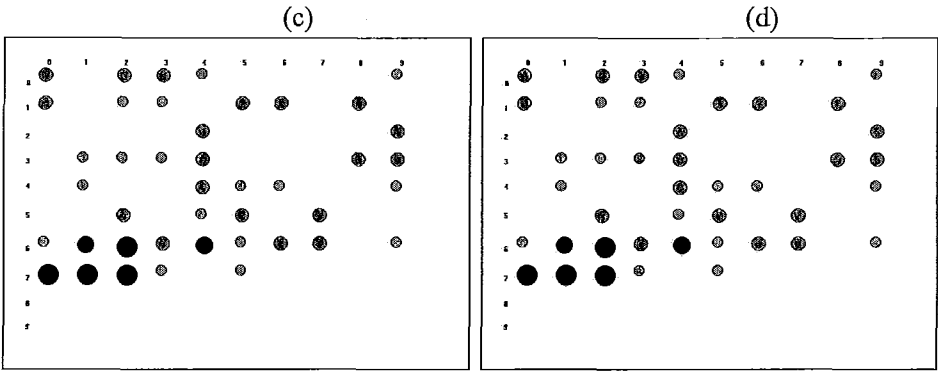


Figura 6.6 – Reação secundária às bactérias. O item (a) mostra a rede alguns passos após a chegada das bactérias, já contando com os novos clones gerados nessa reação secundária. Os itens (b), (c) e (d), com intervalos de 20 passos cada um, que aqui aparecem iguais, mostram a rede até atingir a estabilidade.

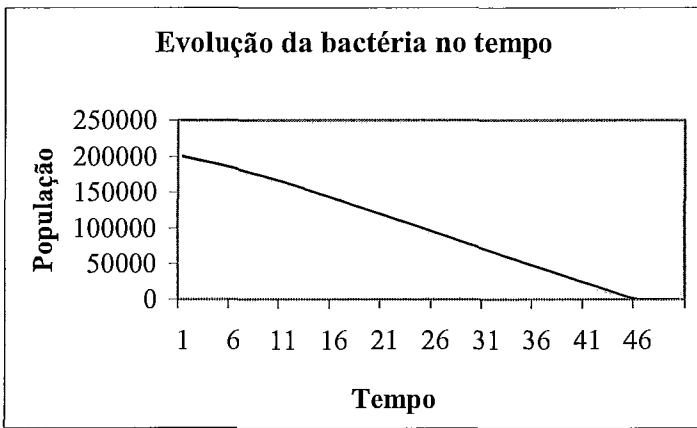


Gráfico 6.7 – Evolução da bactéria ao longo do tempo na reação primária

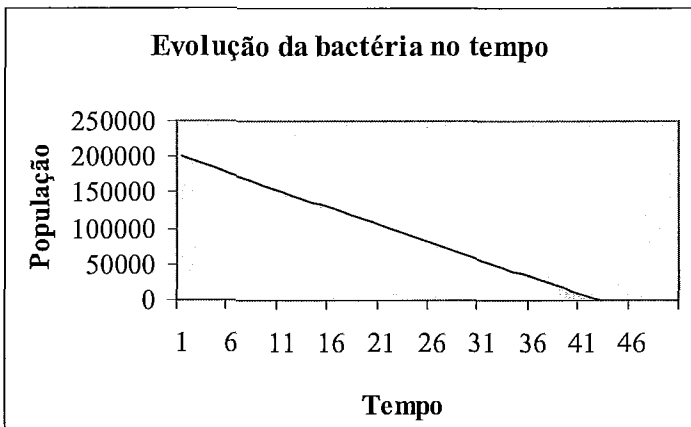


Gráfico 6.8 – Evolução da bactéria ao longo do tempo na reação secundária

O gráfico 6.9 mostra o ataque médio ao *self* ao longo do tempo. Observe que, da mesma forma que o gráfico correspondente na seção anterior, após atingir a primeira estabilidade ele sofre duas oscilações. A primeira delas na reação primária e a segunda na a reação secundária. O ponto de estabilidade final sofre uma ligeira queda em relação ao ponto de estabilidade intermediário, mais ainda assim temos uma configuração final do sistema com maior capacidade de atingir o organismo do indivíduo.

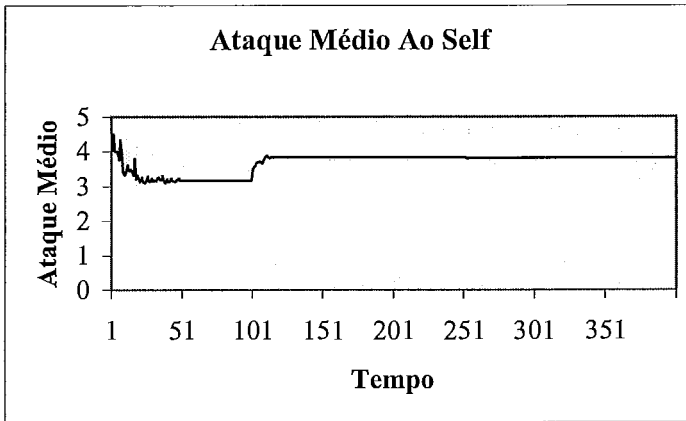


Gráfico 6.9 – Ataque médio efetuado ao *self* pelos clones

#### 6.2.4. Bactéria diferente do *self* com pequena população inicial

Ao introduzir na rede, em reação primária, uma pequena população de bactérias (10.000) com bits opostos aos do *self*, a rede se mostra adaptada a essa população e a elimina de forma extremamente rápida; são apenas 2 passos para eliminar a infecção. Na reação secundária não há alteração alguma na rede. A figura 6.7 mostra na seqüência a rede em equilíbrio, antes das bactérias; 20 passos depois no momento imediatamente posterior à introdução das bactérias; e no item (c), no passo 120, a bactéria já eliminada. A infecção foi eliminada apenas dois passos depois do seu aparecimento, ou seja, no passo 102, mas vale lembrar que essas fotografias são realizadas sempre a cada 20 passos. A rede não sofre alterações para acabar com essa infecção e como não houve alterações na rede, as figuras são iguais. O gráfico 6.10 mostra como a bactéria é eliminada. Como não houve alterações na rede, o ataque médio ao *self* mantém-se

constante tanto na primeira quanto na segunda reação; a configuração deste ataque é mostrada no gráfico 6.11.

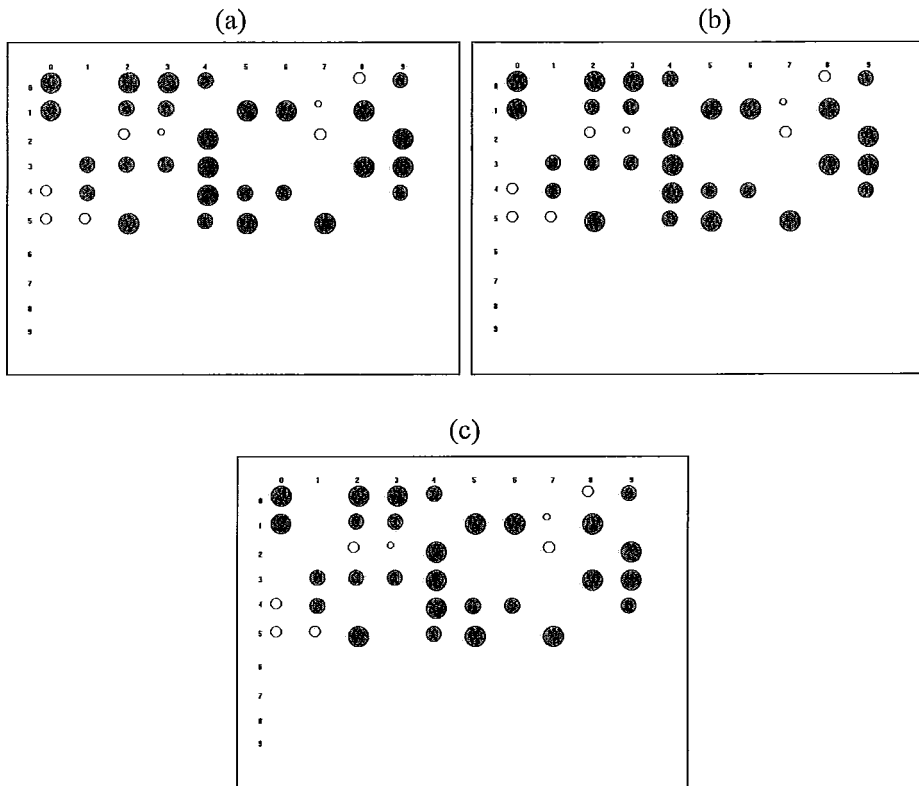


Figura 6.7– Configuração dos clones com a introdução de um antígeno diferente do *self* com pequena população inicial. Os itens (a), (b) e (c) mostram respectivamente a rede em equilíbrio antes da chegada da bactéria; o momento imediatamente posterior à introdução do antígeno; e a rede estável, depois da eliminação da bactéria. Os itens são iguais, mostrando que não houve alteração alguma na rede. O intervalo, como sempre, de uma figura para outra é de 20 passos.

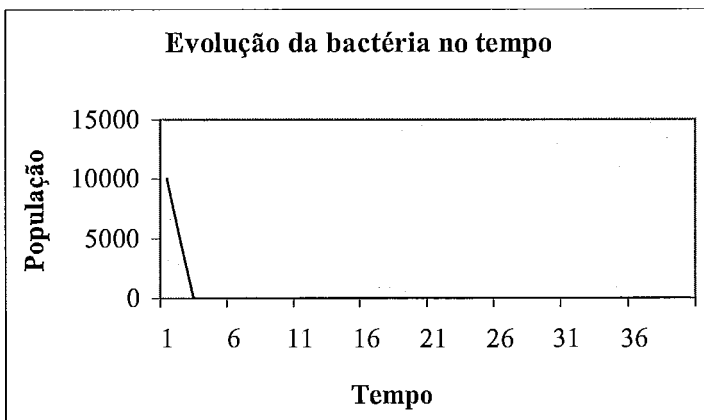


Gráfico 6.10 – Evolução da bactéria ao longo do tempo nas reações primária e secundária

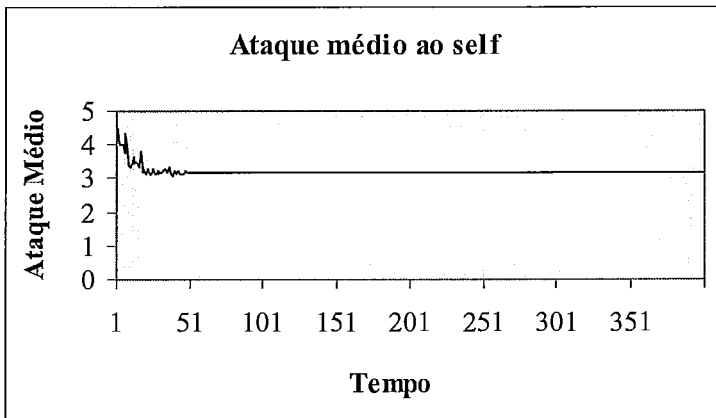


Gráfico 6.11 – Ataque médio efetuado ao *self* pelos clones

### 6.2.5. Bactéria diferente do *self* com população inicial mediana

Quando mudamos a ordem de grandeza da população inicial de bactérias opostas ao *self* para 100.000, são gerados 14 clones adicionais, e o sistema imunológico leva 16 passos para eliminar a infecção, mostrando-se mais uma vez sensível à quantidade de bactérias introduzidas; o gráfico 6.12 mostra como a bactéria é eliminada. A figura 6.8 mostra, na seqüência, desde a estabilidade anterior à chegada da bactéria até seu novo ponto de equilíbrio. Observe que na figura (b) – que retrata o momento imediatamente posterior à introdução das bactérias – já surgiram novos linfócitos (são os de número 59, 60 e 61) como população inicial muito pequena. É possível notar que na figura (c) houve o surgimento de clones com alto grau de reconhecimento para o *self*. Embora a infecção não seja composta de bactérias iguais ao *self*, podem surgir linfócitos que reconheçam bem o *self*; se esses mesmos linfócitos também tiverem um bom reconhecimento para a infecção, permanecerão vivos, que é o que acontece neste caso.

Na reação secundária, a rede eliminou a infecção também em 16 passos e as modificações nas populações dos clones foram praticamente imperceptíveis e em apenas dois clones, motivo pelo qual não serão mostradas.

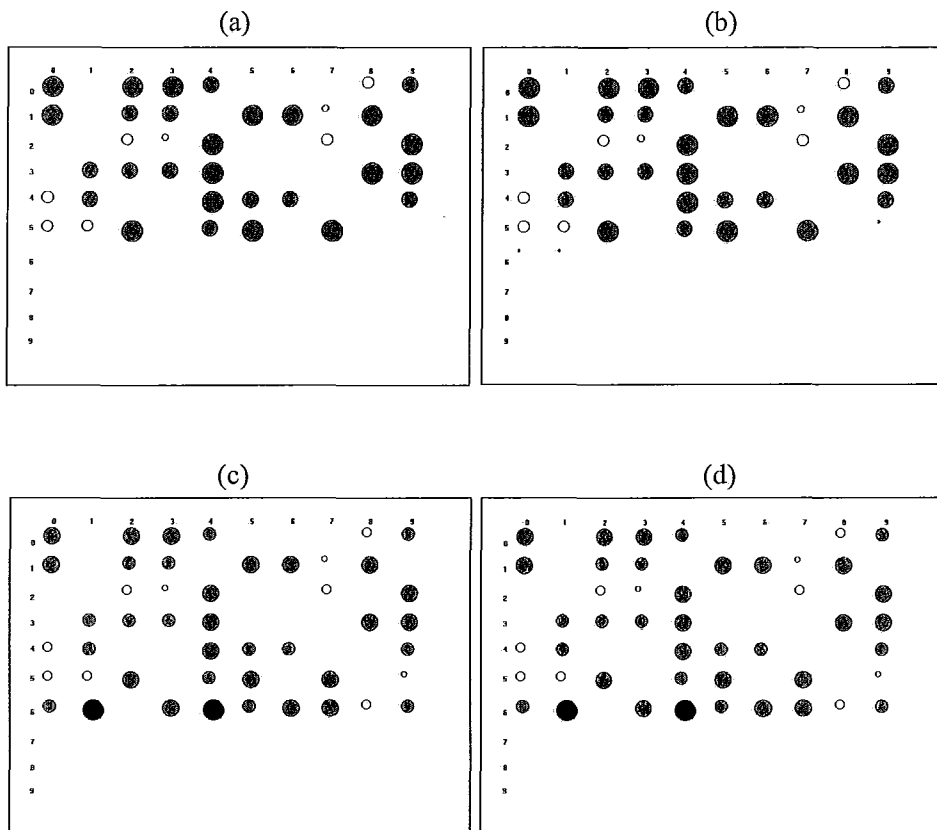


Figura 6.8– Configuração dos clones com a introdução de um antígeno diferente do *self* com população inicial mediana. A figura (a) mostra a rede estável antes da chegada das bactérias, no passo 80. A figura (b) traz a rede no momento imediatamente posterior à introdução das bactérias, já apresentando novos linfócitos. Na figura (c), retratando o passo 120, novos linfócitos surgem em relação à figura anterior. E o item (d), igual a (c), mostra que desde a eliminação da bactéria, no passo 116, até o passo 140, que o item retrata, não houve modificações na rede; está, portanto, estável.

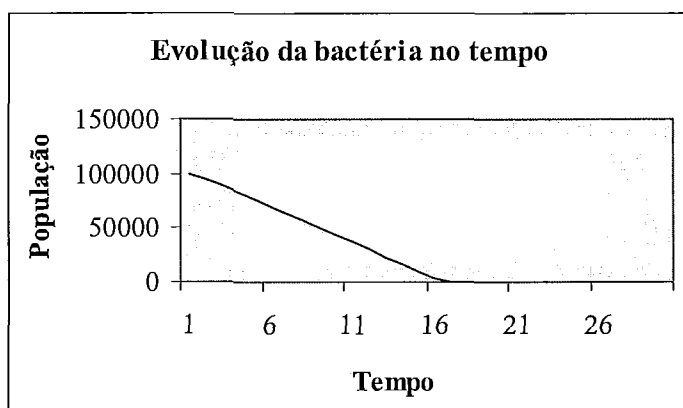


Gráfico 6.12 – Evolução da bactéria ao longo do tempo nas reações primária e secundária

O gráfico 6.13 mostra que o ataque feito pelos clones ao *self* praticamente não se alterou, o que, neste caso, mais uma vez denota não ter havido modificações no sistema após a segunda introdução de bactérias, nem com a morte dos clones já existentes nem com o surgimento de novos clones. Observe que mesmo tendo sido gerados linfócitos com alto grau de reconhecimento para o *self*, o ataque médio ao *self* quase não sofre alterações.

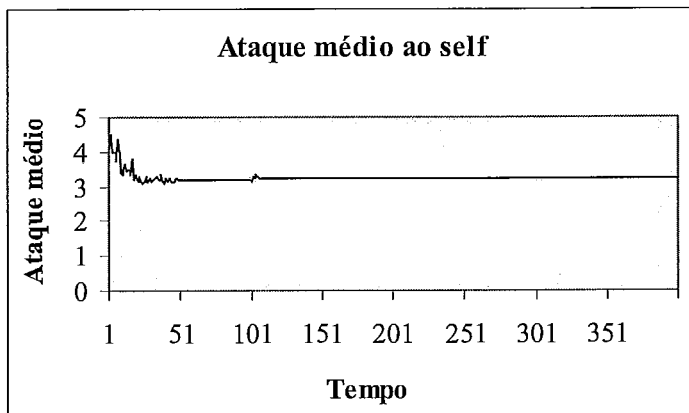


Gráfico 6.13 – Ataque médio efetuado ao *self* pelos clones

### 6.2.6. Bactéria diferente do *self* com grande população inicial

Com uma grande população inicial (200.000) de bactérias opostas ao *self*, a rede precisa gerar 21 novos clones para eliminá-las em 29 passos, como mostra o gráfico 6.14 na página 50. Na figura 6.9 são mostrados, mais uma vez, os passos desde a estabilidade anterior à bactéria até sua nova estabilidade, após a eliminação da infecção. Observe o surgimento de linfócitos com alto grau de reconhecimento para o *self*, como acontece na figura 6.8.



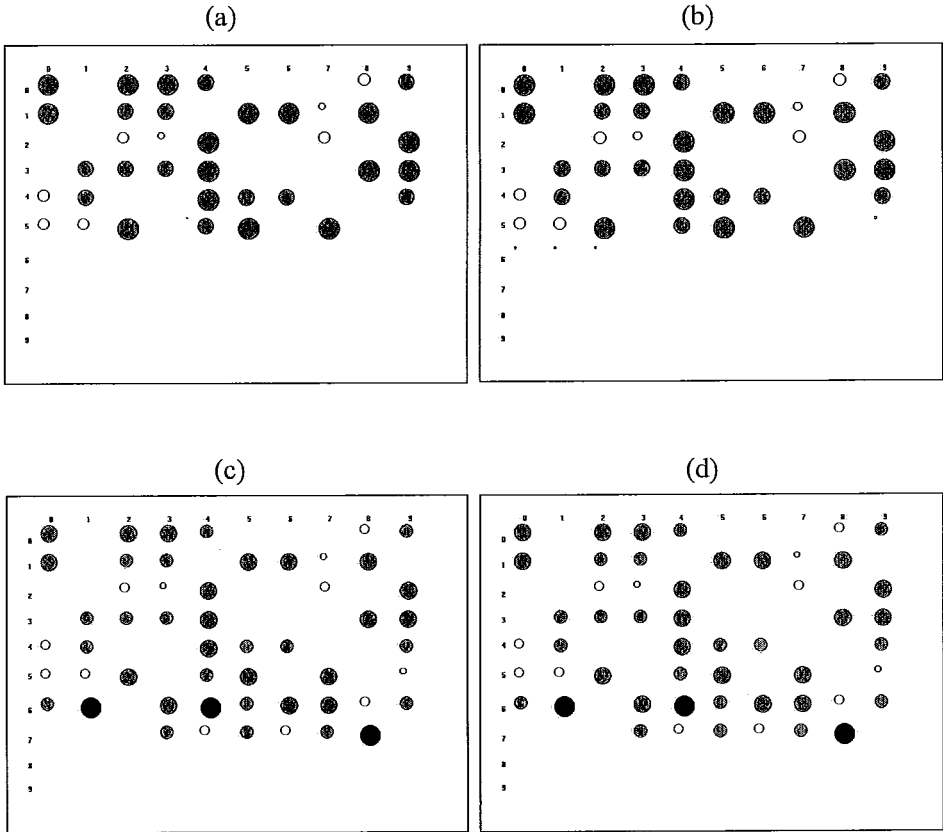


Figura 6.9– Configuração dos clones com a introdução de um antígeno diferente do *self* com grande população inicial. Na figura (a) é mostrada a rede em equilíbrio antes da chegada das bactérias. No item (b), no momento imediatamente posterior à introdução das bactérias, já aparecem novos linfócitos com população inicial bem pequena. Na figura (c) novos linfócitos surgem; e a figura (d), igual a (c), mostra que após a eliminação da infecção, que acontece no passo 129, a rede se mantém estável.

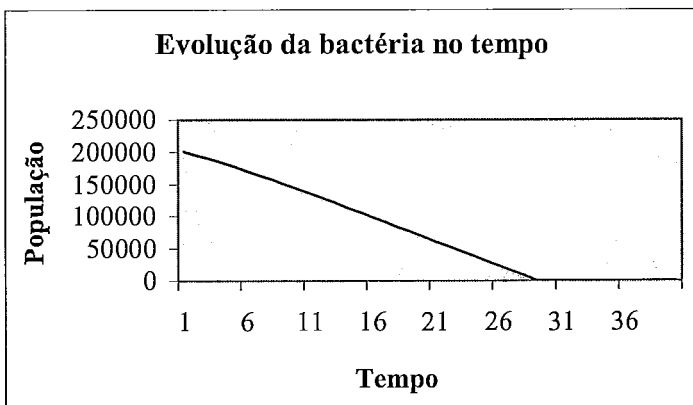


Gráfico 6.14 -- Evolução da bactéria ao longo do tempo na reação primária

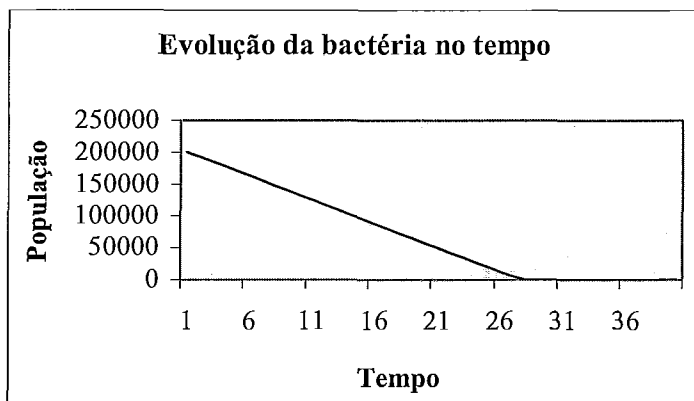


Gráfico 6.15 – Evolução da bactéria ao longo do tempo na reação secundária

Na reação secundária é gerado apenas mais um clone, em relação ao item (d) da figura 6.9, para eliminar a infecção, trabalho que é feito agora em 27 passos, como é mostrado no gráfico 6.15. O novo clone gerado, o de número 80, morre no passo seguinte e outras alterações nas populações dos clones são quase imperceptíveis graficamente, motivo pelo qual não serão mostradas.

O gráfico 6.16 abaixo mostra uma ligeira modificação do ataque médio ao *self*, com seu retorno imediato ao patamar anterior, o que pode ser devido ao novo clone que nasceu e morreu logo depois. Observe mais uma vez que mesmo com a existência de clones que atacam muito o *self*, o ataque médio ao *self* não sofreu alterações.

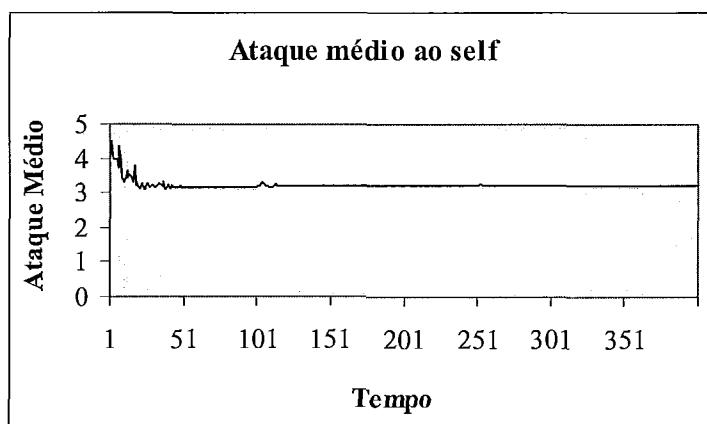


Gráfico 6.16 – Ataque médio efetuado ao *self* pelos clones

## Capítulo 7 – Considerações Finais

Neste trabalho foi estudado o modelo idiotípico de Jerne para a geração do sistema imunológico. Foi levada em consideração a principal característica da rede de Jerne, qual seja, as próprias interações sinérgicas e antagônicas entre os linfócitos levam à homeostase do sistema e muitos linfócitos morrem por apoptose no decorrer do processo.

A partir dos experimentos computacionais realizados é possível fazer as seguintes considerações e chegar às seguintes conclusões:

- A intensidade das relações sinérgicas e antagônicas não depende apenas da intensidade do estímulo enviado de um clone a outro, mas também das populações de cada clone, pois um determinado clone terá que crescer mais quanto maior for a população do clone por ele atacado;
- É sabido que o sistema em formação não pode tolerar que os próprios anticorpos reconheçam com muita intensidade o *self*, já que este fato poderia provocar a morte do *self* antes mesmo de ser completamente constituído o sistema. Os experimentos mostraram que após a formação da rede idiotípica o sistema imune já está preparado para antígenos que ataquem com maior intensidade seu organismo e o próprio sistema, com sua rede já especializada se encarrega de atingir a homeostase e “neutralizar” o efeito que o antígeno teria sobre o *self*. Falhas nesse mecanismo poderiam ser responsáveis pelas doenças auto-imunes – observe que em todos os casos onde a bactéria introduzida é igual ao *self* houve um aumento considerado do ataque médio ao *self*. Um aumento grande nesse ataque poderia fazer o sistema perder o controle e iniciar a referida doença;
- Para que o clone do anticorpo hipermute, ou seja, sinta necessidade de maior especialização é necessário que ele apresente uma taxa razoável de crescimento, que ele “lute” bastante contra o outro clone ou contra o antígeno – na formação do sistema e no combate à infecção, respectivamente. Os estudos mostraram que quando ocorre hipermutação sem que o clone tenha crescido a uma determinada taxa, o sistema não atinge o equilíbrio, havendo hipermutações infinitas; por outro lado se o clone espera crescer demais para hipermutar, pode ser eliminado precocemente. O

trabalho mostrou que 50% de crescimento em relação à população da última hipermutação são satisfatórios;

- Como disposto na rede de Jerne, ao ser introduzida uma bactéria, o sistema reage a ela com o mesmo tipo de interações utilizada para a formação do sistema imunológico. Foi observado que para atingir novamente a homeostase os clones com baixíssimo grau de reconhecimento da bactéria não podem sobreviver, o que reforça o caráter de especificidade do processo de hipermutação;
- As bactérias utilizadas ora tinham a mesma configuração do *self*, ora tinham configuração oposta a ele com o intuito de saber como a rede estava preparada para lidar com bactérias parecidas com o *self* em relação às outras. Foi observado que para uma mesma população inicial de bactérias em todos os casos a rede elimina mais rapidamente aquela bactéria diferente do *self*. Dois fatos merecem destaque. O primeiro é que isso acontece porque o sistema quando é formado rejeita os anticorpos que atacam em excesso o *self* no mecanismo de defesa já comentado nessas considerações, ao passo que está repleto de anticorpos capazes de reconhecer com grande eficiência bactérias opostas ao *self*. O segundo é que quando aumentamos a ordem de grandeza das populações iniciais da bactéria, a diferença entre os passos necessários para a eliminação das bactérias iguais ao *self* aumenta muito em relação ao tempo necessário para eliminar as outras. A união desses dois fatos talvez possa explicar o aparecimento de doenças auto-imunes, pois uma população muito grande de bactérias iguais ao *self* em uma rede minimamente preparada para este tipo de antígeno pode levar a um tempo tão grande na eliminação da infecção que ela se perca e cause a doença;
- À medida que a população inicial de bactérias aumenta, tanto para bactérias iguais quanto para bactérias opostas ao *self*, maior é a necessidade de especialização da rede, o que é comprovado pela hipermutação ocorrida em cada caso para eliminar a bactéria. Isso significa que quanto maior a infecção mais a rede adquire memória para infecções posteriores;
- A reação secundária acontece como previsto (ver figura 2.1). As respostas secundárias se apresentam em geral mais intensas – com a geração de clones adicionais – e mais rápidas – acontecem em um número menor de passos.

Aquelas que não são mais intensas também não são mais rápidas, podendo indicar que aquela quantidade de bactérias não ofereça grandes riscos ao sistema, não necessitando de maior especialização nem de maior velocidade na sua eliminação.

## Apêndice A – Considerações sobre implementação

O modelo foi implementado na linguagem C++ Builder, versão 6.0. O programa é executado em 400 passos, de 0 a 399. No passo 0 existem apenas o *self* e o anticorpo mãe e já a partir deste passo, e em todos os outros, são utilizadas as equações relativas aos clones apresentadas no Capítulo 5; são verificadas as condições para hipermutação e vida dos clones. No passo de número 99 é introduzida a primeira população de bactérias, ou seja, começa a acontecer a reação primária; a rede reage, elimina a bactéria e volta à estabilidade. Então no passo de número 249 acontece a segunda introdução das mesmas bactérias para testar a reação secundária; a rede novamente reage, elimina a bactéria e volta à estabilidade.

Para a construção da rede, o programa lê as informações relativas ao *self*, ao parátopo e idiótoto do anticorpo mãe dos seguintes arquivos texto com essas configurações:

- *self.txt* – 1 0 1 0 1 0 1 1
- *paratopoMae.txt* – 1 0 1 0 0 1 0 0
- *idiotopoMae.txt* -- 1 1 1 1 1 1 0 0

Após a execução de todo o processo, o programa gera os seguintes arquivos:

- *ams.txt* – mostra o nível de ataque médio ao *self* em cada passo da execução. É o arquivo utilizado para a construção dos gráficos de ataque médio ao *self* mostrados no Capítulo 6;
- *estatística.txt* – detalhamento de todos os clones gerados, contendo informações de quando foram gerados, se morreram e caso tenham morrido em que passo isso aconteceu e o quanto atacavam o *self*;
- *infoGraficas.txt* – contém as informações necessárias para a geração dos mapas dos clones representados por círculos, mostrados no Capítulo 6;

- tabela.txt e tabela2.txt – armazenam em cada passo as populações dos clones, contemplando portanto o quanto os clones crescem e com quais populações dos clones a rede volta a estabilidade;
- bactéria.txt – mostra o ritmo da queda das populações das bactérias, nas reações primária e secundária. É o arquivo utilizado para a construção dos gráficos da evolução da bactéria no tempo, mostrados no Capítulo 6.

O CD que acompanha esta dissertação traz o código completo, os arquivos que são lidos como entrada para a execução do programa, o arquivo executável e as bibliotecas que normalmente são pedidas na execução do programa – os arquivos que contêm as bibliotecas devem ser extraídos na pasta “windows\system”. Já no Apêndice B são mostradas todas as telas que aparecem no sistema e instruções para execução do programa.

## Apêndice B – Ilustrações do programa

Serão mostradas aqui as telas que aparecem durante a execução do programa e como preenchê-las.

A primeira tela a aparecer é a da ilustração A.1, que já aparece preenchida. Nesta tela o usuário pode visualizar os arquivos que serão lidos para execução (arquivos self.txt, paratopoMae.txt e iditótopoMae.txt) através do menu Arquivo. Não é necessário abrir os arquivos pelo menu para que o programa os leia; o menu é apenas para que os arquivos sejam visualizados. No menu Sistema o usuário pode encerrar os trabalhos do programa.

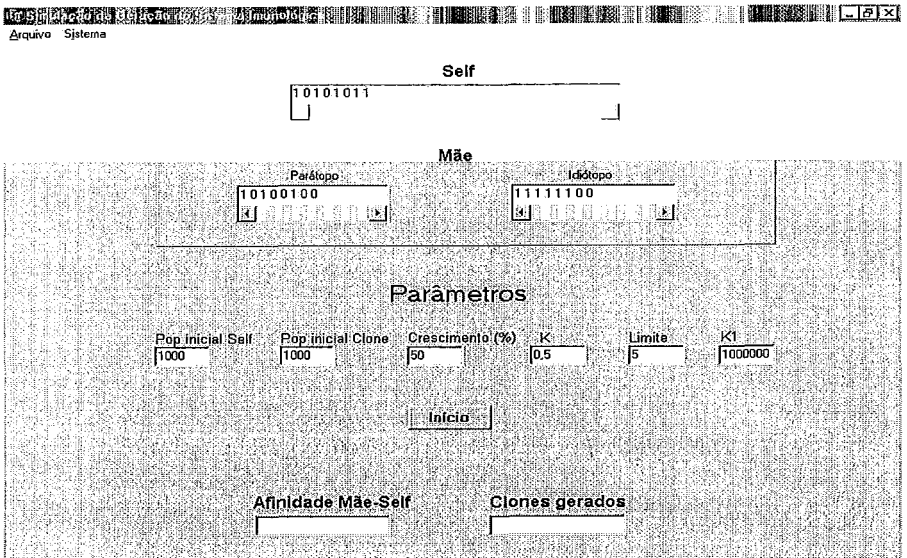


Ilustração A.1 - primeira tela apresentada no programa, já devidamente preenchida para que se inicie a execução.

Os parâmetros devem ser preenchidos da seguinte forma:

- Pop Inicial Self – deve ter o valor escolhido para ser a população assumida pelo self. No modelo estudado este valor é 1000;
- Pop Inicial Clone – deve ter o valor escolhido para ser a população inicial de cada clone que comporá a rede. No modelo este valor é 1000;





ou 200.000, de acordo com os testes feitos –; e a constante de crescimento, que é 30.

Após esse preenchimento deve ser clicado na caixa **Inicializar** e somente depois clicar no botão **Introduzir Bactéria**.

A bactéria será introduzida no sistema e ele reagirá de acordo com as equações mostradas no Capítulo 5 e a população de bactérias decairá segundo a equação mostrada no mesmo capítulo. Em um dado momento reaparecerá a tela da ilustração A.2 para que seja novamente introduzida a população de bactérias. Para testar a reação secundária basta clicar novamente no botão **Introduzir Bactéria**.

A partir daí, o programa continua sua execução e apresenta como tela final a mesma tela da ilustração A.1 com os campos ‘Afinação Mãe-Self’ e ‘Clones gerados’ preenchidos respectivamente com o valor da complementaridade entre o anticorpo mãe e o *self* e com a quantidade total de clones gerados no processo, como mostra a ilustração A.3.

Neste momento foram gerados todos os arquivos relatados no Capítulo 5.

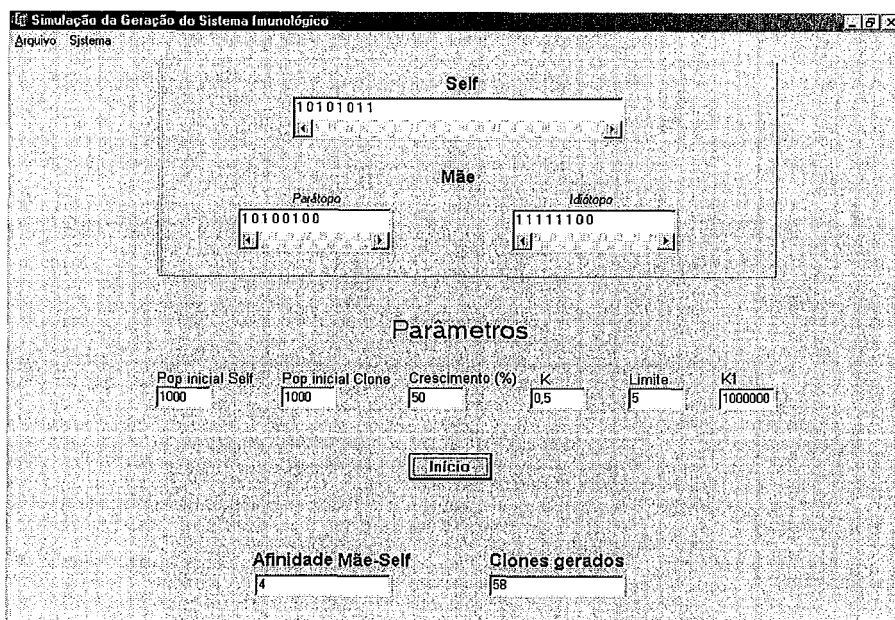


Ilustração A.3 - tela final do programa.

## Referências Bibliográficas

- [1] JERNE N. K. “Towards a network theory of the immune system”, *Ann. Immunol (Inst. Pasteur)*, v. 125 C, pp. 373-389, 1974.
- [2] PARISI, G. “A simple model of the immune network”, *Immunology* v. 87, pp. 429-433, 1990.
- [3] DETOURS, V., SULZER, B., PERELSON, A. S. “Size and connectivity of the idiotypic network are independent of the discreteness and size of affinity distribution”, *Journal of Theoretical Biology* v. 183, pp. 409-416, 1996.
- [4] CARNEIRO, J., COUTINHO, A., FARO, J., STEWART, J. “A model of the immune network with B-T cell cooperation, part I: prototypical structures and dynamics”, *Journal of Theoretical Biology* v. 182, pp. 513-529, 1996.
- [5] DEMONVEL, J. H. B., MARTIN O. C. “Memory capacity in idiotypic networks”, *Bull. of Mathematical Biology* v.57, pp. 109-136, 1995.
- [6] WEISBUCH, G., ZORZENON DOS SANTOS, M. R., NEUMANN, A. U. “Tolerance to hormones and receptors in an idiotypic network model”, *Journal of Theoretical Biology* v. 163, pp. 237-253, 1993.
- [7] ABBAS, A. K., LICHTMAN, A. H., *Cellular and molecular Immunology*. 5 ed. Philadelphia, Saunders, 2003.
- [8] RODERICK, N., HELBERT, M., *Imunologia para estudantes de medicina*. 1 Ed. Rio de Janeiro, Guanabara-Koogan, 2004.
- [9] PERELSON, A. S., OSTER, G. F. “Theoretical studies of clonal selection: minimal antibody repertoire size and reliability of self-non-self discrimination”, *Journal of Theoretical Biology* v. 81, pp. 645-670, 1979.

- [10] AGUILAR ALONSO, E. J. *Um estudo sistêmico de um modelo do sistema imune com evolução da especificidade*. M.Sc, COPPE / UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2003.
- [11] BERNARDES, A. T., ZORZENON DOS SANTOS, M. R. “Immune network at the edge of the chaos”, *Journal of Theoretical Biology* v.186, pp. 173-187, 1997.
- [12] SHOENFELD, Y. “The idiotypic network in autoimmunity: antibodies that bind antibodies that bind antibodies”, *Nature Medicine* v. 10, n. 1, pp. 72-79, Jan. 2004.
- [13] FLORES, L. E., AGUILAR ALONSO, E. J., BARBOSA, V. C., VIDAL DE CARVALHO, L. A. “A graph model for the evolution of specificity in humoral immunity”, *Journal of Theoretical Biology*, 2004.
- [14] MITRA-KAUSHIK, S., SHAILA, M. S., KARANDE, A., NAYAK, R. “Idiotypic-Anti-idiotypic cell interactions generated against a protective antigen of a morbillivirus in mice”, *Cellular Immunology* v. 209, pp. 10-18, 2001.
- [15] JERNE N. K. “Idiotypic networks and other preconceived ideas”, *Immunological Reviews*, n. 79, 1984.
- [16] ALLAERTS, W. “The biological function paradigm applied to the immunological self-non-self discrimination: critique of Tauber’s phenomenological analysis”, *Journal for General Philosophy of Science* v. 30, pp. 155-171, 1999.
- [17] FORREST, S., SMITH, R. E., JAVORNIK, B., PERELSON, A. S. “Using genetic algorithms to explore pattern recognition in the immune system”, *Evolutionary Computation* v. 1, n. 3, pp. 191-211, 1993.
- [18] HIGHTOWER, R. R., FORREST, S., PERELSON, A. S. “The evolution of emergent organization in immune system gene libraries”. In: *Proceedings of the Sixth Int. Conf. on Genetic Algorithms*, pp. 344-350, San Francisco, CA. 1995.

[19] OPREA, M., FORREST, S. "How the immune system generates diversity: pathogen space coverage with random and evolved antibody libraries". *Genetic and Evolutionary Computation Conference (GECCO)*. Real-World Applications Track (In Press), July 1999.

[20] OPREA, M., FORREST, S. "Simulated evolution of antibody gene libraries under pathogen selection". In: *Proceedings of the 1998 IEEE International Conference on Systems, Man, and Cybernetics*, Los Alamitos, CA. IEEE Press, 1998.

[21] HOFFMANN, G. W., KION, T. A., GRANT, M. D. "An idiotypic network model of AIDS immunopathogenesis", *Immunology* v. 88, pp. 3060-3064, 1991.

[22] NAYAK, R., MITRA-KAUSHIK, S., SHAILA, M. S. "Perpetuation of immunological memory: a relay hypothesis", *Immunology* v. 102, pp. 387-395, 2001.

[23] FORNI, L., COUTINHO, A., KÖHLER, G., JERNE, N. K. "IgM antibodies induce the production antibodies of the same specificity", *Immunology* v. 77, n. 2, pp. 1125-1128, 1980.

[24] RODKEY, L. S. "Autoregulation of immune responses via idiootype network iterations", *Microbiol. Rev.* v. 44, n. 4, pp. 631-659, 1980.