

XII ENCONTRO ACADÊMICO

MODELAGEM COMPUTACIONAL

DINÂMICAS DE INFECÇÃO E TRATAMENTO DO VÍRUS DA HEPATITE C UTILIZANDO MODELO MATEMÁTICO COM ESTRUTURA ETÁRIA

Jéssica Garbero da Silva¹ - jessica.garbero@ice.ufjf.br

Bárbara de Melo Quintela² - barbara@ice.ufjf.br

Rodrigo Weber dos Santos² - rodrigo.weber@ufjf.edu.br

Marcelo Lobosco² - marcelo.lobosco@ufjf.edu.br

¹Instituto de Ciências Exatas (ICE), Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF)

²Laboratório de Fisiologia Computacional (FISIOCOMP), DCC/ICE/UFJF.

Abstract. According to the World Health Organization, infectious diseases caused by pathogens remain among the main causes of death and affect mainly low income countries. Host-pathogen interaction is extremely complex and its better understanding is crucial to human health improvement. This work aims to use an age-based mathematical model, previously validated, to better understand the dynamics of hepatitis C virus (HCV). The proposed model was able to fit patient data treated with Direct-acting Antiviral Agents, DAA. However, it was not able to fully represent experimental data of patients treated with a combination of DAA drugs. The model was improved to make the parameter that represents the infected cells decay to be dependent of the age of infection. We expect to use this model to better understand the influence of host factors specifically related to immune response to HCV and improve therapy. Moreover, it is expected to benefit from this model to understand other viruses of the same family as Yellow Fever virus (YFV), Dengue Virus (DNV), Zika Virus (ZNV) and Chikungunya Virus (CHV).

Keywords: Viral Dynamics, Computational Biology, Computational Immunology, Mathematical Modeling, Differential Equations

1. INTRODUÇÃO

A hepatite C crônica é uma doença que atinge entre 130–150 milhões de pessoas no mundo e é a principal causa de cirrose e câncer no fígado (WHO, 2016). O vírus da hepatite C (HCV) é constituído de uma molécula de RNA de orientação positiva (RNA+) linear de filamento único com cerca de 9600 nucleotídeos em seu genoma e foi classificada como pertencente ao gênero *hepacivirus* e família *flaviridae* (GASTAMINZA et al., 2008).

Por muitos anos a replicação do HCV não era completamente compreendida devido a dificuldade de desenvolver um sistema de cultura in vitro do HCV. Entretanto, o desenvolvimento nas ultimas décadas de um sistema de cultura de células infectadas pelo HCV permitiu a investigação de processos que governam a replicação e outras características do ciclo de vida do HCV (APPEL et al., 2006; ELLIOT; ARMSTRONG; MCLAUCHLAN, 2009; AFZAL et al., 2015). Além disso, novos métodos de distinção e quantificação de ambas as moléculas positivas e negativas foram desenvolvidos e melhorados o que permite estudar seus comportamentos (BESSAUD et al., 2001).

O HCV afeta principalmente as células do fígado, *hepatócitos*. Após a entrada no hepatócito, o RNA+ é liberado e traduzido em uma poliproteína a partir da qual todas as proteínas necessárias para a replicação do HCV são produzidas (QUINKERT; BARTENSCHLAGER; LOHMANN, 2005). As proteínas formam complexos de replicação junto com uma cópia de RNA de orientação negativa (RNA-) que é utilizado como modelo para a replicação de novos RNA+. As cópias de RNA+ criadas podem ser usadas para serem novamente traduzidas, replicadas, criando novos complexos de replicação ou montadas em partículas virais para serem exportadas (QUINKERT; BARTENSCHLAGER; LOHMANN, 2005).

Modelos baseados em estrutura etária tem sido amplamente utilizados no estudo epidemiológico de doenças infecciosas como o HIV (THIEME; CASTILLO-CHAVEZ, 1993), hepatite C (MARTCHEVA; CASTILLO-CHAVEZ, 2003) e tuberculose (CASTILLO-CHAVEZ; FENG, 1997; THIEME; CASTILLO-CHAVEZ, 2002). Uma vantagem de usar tal abordagem é a possibilidade de considerar que indivíduos ou células com idades distintas poderiam se comportar de maneira diferente (LI; BRAUER, 2008). Usando essa abordagem na modelagem da dinâmica do vírus dentro de um hospedeiro permite uma representação realista da biologia da infecção, na qual a taxa de produção e liberação de novos vírus não é constante, mas depende do tempo que a célula está infectada. Além disso, o modelo também pode contabilizar taxa de morte de uma célula infectada que depende do tempo que a célula está infectada.

Trabalhos anteriores utilizaram um modelo baseado em estrutura etária para representar a replicação do RNA+ dentro de uma célula infectada e o seu comportamento durante o tratamento com medicamentos de ação direta (*Direct-acting antiviral agents, DAAs*) (GUEDJ et al., 2013; RONG et al., 2013; RONG; PERELSON, 2013). Foi acrescentada uma equação ao modelo intracelular para representar também o RNA- no complexo de replicação (QUINTELA, 2015). Foi mostrado que apenas as duas equações não foram suficientes para representar dados experimentais de transfecção. Para tanto, foi necessário incluir uma terceira equação para representar o RNA+ assim que entra na célula, no processo de tradução, para ajustar os parâmetros do modelo aos dados disponíveis (QUINTELA et al., 2017, 2018).

O presente trabalho apresenta uma continuidade dos trabalhos anteriores supracitados e sua principal contribuição é o estudo da influência dos parâmetros dependentes do tempo de infecção. Mais especificamente, são apresentadas as vantagens de utilizar parâmetros dependentes do tempo de infecção para melhor representar algumas características biológicas. São analisados dois parâmetros neste trabalho: ρ e δ , que respectivamente representam a taxa de exportação de vírus a partir de uma célula infectada e a taxa de decaimento de uma célula infectada. A escolha dos parâmetros se baseia em experimentos que mostra que os vírus só começam a ser exportados após 12h que o RNA do vírus entra na célula (KEUM et al., 2012) e, que mostram que a taxa de morte dos hepatócitos infectados pelo vírus da hepatite C é maior que a de células não infectadas (LIM et al., 2014; MASALOVA et al., 2017).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O modelo com três equações para a dinâmica intracelular de RNA+ e RNA- do HCV tanto disponível para tradução quanto sua dinâmica no complexo de replicação que foi utilizado no presente trabalho é apresentado a seguir.

2.1 Modelo de Infecção Intracelular

$$\begin{cases} \frac{dR_t}{dt} = \theta R_p - (\sigma + \rho(a) + \mu_t)R_t, \\ \frac{dR_p}{dt} = \alpha R_n + \sigma R_t - (\theta + \rho(a) + \mu_c)R_p, \\ \frac{dR_n}{dt} = r(1 - \frac{R_n}{R_{max}})R_p - \mu_c R_n, \end{cases} \quad (1)$$

$$R_t(0) = R_{t_0}, R_p(0) = R_{p_0}, R_n(0) = R_{n_0},$$

onde R_t representa o RNA+ em tradução, R_p representa o RNA+ no complexo de replicação e R_n representa o RNA- no complexo de replicação. Foi considerado que tanto RNA+ quanto RNA- dentro do complexo de replicação possuem mesmo decaimento μ_c . O RNA+ em tradução possui decaimento μ_t . Os parâmetros que mais influenciam na quantidade de vírus sendo produzidos são a taxa de replicação de RNA+, α e a taxa de replicação de RNA-, r , que foi considerada em um termo logístico para delimitar o número de complexos de replicação que pode ser formado, dado pelo parâmetro R_{max} . A taxa de exportação ρ também influencia na quantidade de vírus que está no plasma. Outros parâmetros menos influentes são as taxas em que o RNA+ migra entre tradução e replicação, θ e σ .

As condições iniciais dependem do cenário de simulação. Para simular uma infecção *in vivo*, considera-se que apenas um vírus é capaz de atravessar a membrada da célula e que existem mecanismos que impedem outros vírus do mesmo tipo de entrar na mesma célula (BLACKARD; SHERMAN, 2007; ALIZON, 2013). Portanto, para representar tal cenário as condições iniciais seriam $R_{t_0} = 1$, $R_{p_0} = 0$ e $R_{n_0} = 0$. Já para simular uma transfecção de vírus em uma cultura de células pode-se assumir como valor inicial de R_{t_0} a quantidade que for adotada no experimento *in vitro* e os outros valores permanecem iguais a zero.

2.2 Modelo de Infecção e Tratamento Baseado em Estrutura Etária

Para analisar os efeitos do tratamento juntamente com as dinâmicas intracelulares junta-se o modelo mostrado em 2.1 a um modelo de infecção para chegar no modelo baseado em estrutura etária mostrado abaixo:

$$\begin{cases} \frac{dT}{dt} = s - \beta VT - dT \\ \frac{dV}{dt} = (1 - \epsilon_s) \int_0^\infty \rho(a) R_s I da - cV \\ \frac{\partial I}{\partial t} + \frac{\partial R_n}{\partial a} = -\delta(a)I \\ \frac{\partial R_t}{\partial t} + \frac{\partial R_t}{\partial a} = \theta R_p - (\sigma + (1 - \epsilon_s)\rho(a) + \kappa_t \mu_t)R_t, \\ \frac{\partial R_p}{\partial t} + \frac{\partial R_p}{\partial a} = (1 - \epsilon_\alpha)\alpha R_n + \sigma R_t - \\ \quad (\theta + (1 - \epsilon_s)\rho(a) + \kappa_c \mu_c)R_p, \\ \frac{\partial R_n}{\partial t} + \frac{\partial R_n}{\partial a} = (1 - \epsilon_r)r(1 - \frac{R_n}{R_{max}})R_p - \kappa_c \mu_c R_n, \end{cases} \quad (2)$$

$$T(0) = T_0, V(0) = V_0, I(0, t) = \frac{dI}{da}, I(a, 0) = \bar{I}(a)$$

$$R_t(0, t) = R_{t_0}, R_t(a, 0) = \bar{R}_t(a),$$

$$R_p(0, t) = R_{p_0}, R_p(a, 0) = \bar{R}_p(a),$$

$$R_n(0, t) = R_{n_0}, R_n(a, 0) = \bar{R}_n(a)$$

onde os parâmetros ϵ_x representam a eficácia do medicamento em bloquear ou reduzir replicação e exportação do vírus e os parâmetros κ_x representam um fator de multiplicação para o decaimento.

Para o modelo de infecção considera-se que células alvo T se tornam infectadas I a partir do contato com vírus V a uma taxa β . Como as células do fígado se regeneram rápido adotou-se valor constante s para fonte e um decaimento d a partir de estimativas feitas em trabalhos anteriores (GUEDJ et al., 2013). A quantidade de vírus no plasma é calculada a partir de quantos vírus estão sendo exportados pelas células infectadas. Usa-se uma constante c estimada para eliminação dos vírus pelo sistema imune (GUEDJ et al., 2013).

As células infectadas apenas apresentam decaimento a uma taxa δ . As demais equações representam o RNA dentro das células infectadas e foram explicadas na seção 2.1.

Para simular o tratamento, primeiramente simulamos uma infecção com apenas as equações diferenciais ordinárias (Eq. 1) e utilizamos os valores de R_t , R_p e R_n como as condições iniciais $\overline{R_t}$, $\overline{R_p}$, e $\overline{R_n}$.

2.3 Resolução Numérica

O domínio adotado para a estrutura etária foi de 50 dias, que é considerado um tempo razoável de vida para uma célula do fígado. As simulações apresentadas no presente trabalho foram de dois dias de tratamento, por ser um período de simulação validado anteriormente com dados experimentais (QUINTELA et al., 2017). A Tabela 2.3 apresenta os parâmetros base utilizados nas simulações.

Table 1- Tabela com parâmetros que foram utilizados nas simulações. São apresentados seus nomes, valores, unidades e significado biológico.

Parâmetros	Valor	Unidade	Significado biológico
d	0.01	dia ⁻¹	decaimento de células alvo
s	$1.3e^5$	dia ⁻¹	fonte de células alvo
δ	0.62	dia ⁻¹	decaimento de células infectadas
β	$5e^{-8}$	dia ⁻¹	taxa de infecção
c	22.3	dia ⁻¹	eliminação de vírus pelo sistema imune
ρ	8.18	dia ⁻¹	exportação de vírus para o plasma
α	30	dia ⁻¹	replicação do RNA+
R_{max}	50	moléculas	limite para complexos de replicação (RNA-)
r	1.61	dia ⁻¹	replicação de RNA-
τ	0.5	dia	atraso para exportação de vírus
k	0.8	-	coeficiente da função exponencial
μ_t	0.8	dia ⁻¹	decaimento do RNA+ em tradução
μ_c	0.89	dia ⁻¹	decaimento de RNA+ e RNA- no complex. de repl.
σ	1.3	dia ⁻¹	taxa que RNA+ migra para compl. de repl.
θ	1.2	dia ⁻¹	taxa que RNA+ migra para tradução

Utilizou-se Euler explícito para as EDOs e para a resolução das EDPs foi utilizado o Método das Linhas (*Method of Lines*, MOL), e as derivadas foram aproximadas por diferenças finitas de primeira ordem. Usou-se para o tempo de simulação, o passo $\Delta t = 0.01$ e para as classes etárias (ages) $\Delta a = 0.1$, mantendo-se a relação necessária para estabilidade do método.

Para cenários de 2 dias de tratamento utilizando linguagem de programação C++ em um processador Intel core i5 2.9GHz as simulações levam menos de 40ms.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O modelo matemático baseado em estrutura etária formado pelas 6 equações foi capaz de ajustar dados de pacientes humanos para 2 dias de tratamento com drogas antivirais de ação direta (QUINTELA et al., 2018). Como não foi capaz de representar os resultados para um tempo maior de simulação investigou-se efeitos do decaimento da célula infectada que nos trabalhos anteriores foi mantido constante.

3.1 Variação de ρ

O parâmetro ρ representa a exportação dos vírus da célula infectada. A partir de observações de que os vírus só começam a ser exportados após 12h de infecção (KEUM et al., 2012), optou-se por tornar o ρ dependente da estrutura etária utilizando a função exponencial mostrada a seguir para evitar descontinuidades.

$$\rho(a) = \begin{cases} 0, & a < \tau, \\ (1 - e^{-k(a-\tau)})\rho, & a \geq \tau, \end{cases}$$

onde $k = 0.8$ foi estimado e τ representa o tempo que inicia a exportação (QUINTELA et al., 2018).

As Figuras 1(a) e (b) mostram a variação dos valores de RNA+ dentro de uma célula em diferentes passos do tempo de simulação do tratamento. A duração do tratamento são 2 dias e, portanto, é mostrado os valores nas 50 classes etárias no tempo inicial, após 12h, 24h, 36h e 48h de simulação.

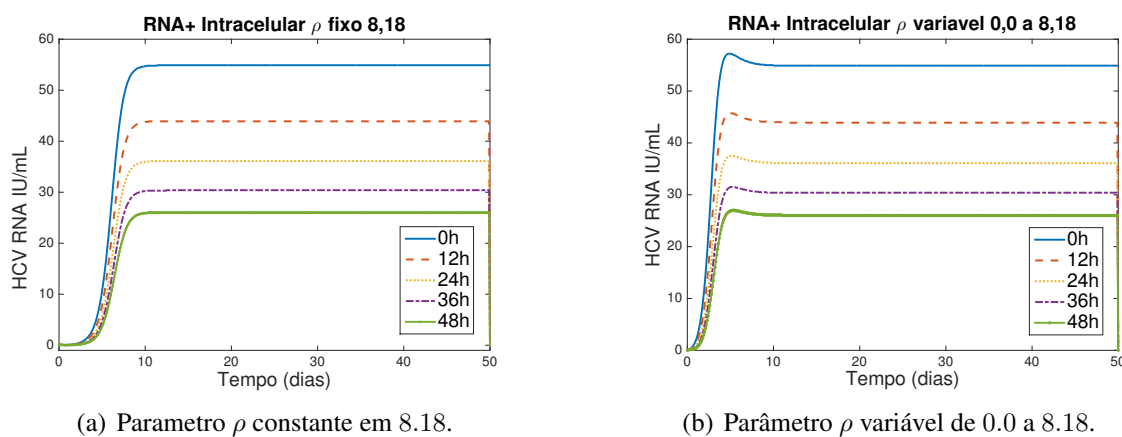


Figure 1- Diferença no perfil de RNA+ intracelular se mantiver o parâmetro ρ em um valor constante. O valor 8.18 foi estimado em trabalhos anteriores.

A influência de se manter o ρ constante ou dependente da estrutura etária na carga viral pode ser vista na Figura 2.

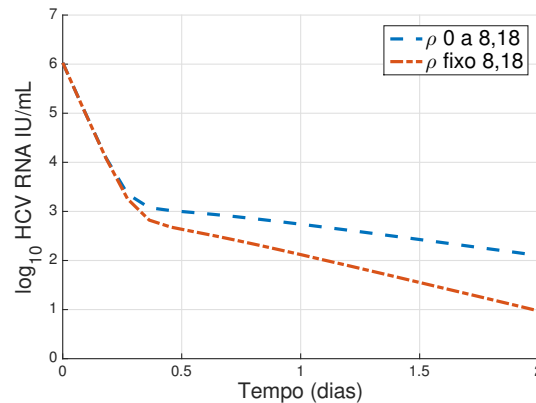


Figure 2- Variação da quantidade de vírus no plasma fazendo-se ρ constante igual a 8.18 ou variável iniciando com zero e aumentando exponencialmente a partir de 12h de simulação até atingir o valor estimado 8.18.

3.2 Variação de δ

Um hepatócito infectado pelo HCV pode ter sua morte programada (apoptose) por influência do vírus (LIM et al., 2014; MASALOVA et al., 2017). Os processos não são completamente compreendidos e se torna interessante poder utilizar o modelo para investigar o aumento da taxa de decaimento das células com o tempo de infecção.

A Figura 3 mostra os efeitos na carga viral ao tornar os valores de δ dependentes do tempo de infecção. A curva inicial não apresenta diferença assim como na variação do parâmetro ρ . Observa-se que a influência se torna maior com o tempo, conforme esperado. Ao aumentar o valor de δ , mais células morrem com o tempo o que faz com que um número menor continue exportando vírus. Com isso observa-se a diminuição dos vírus no plasma com o tempo.

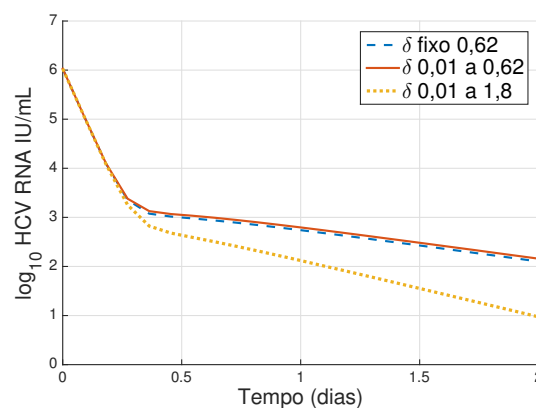


Figure 3- Variação da quantidade de vírus no plasma fazendo-se δ constante igual a 0.62 ou variável iniciando com 0.01 e aumentando exponencialmente até atingir o valor estimado 0.68 e iniciando com 0.01 e aumentando até 1.8. Usou-se o valor inicial como 0.01 por ser a taxa de decaimento usada para uma célula alvo antes de ser infectada.

É importante observar que a indução da morte da célula infectada causa danos ao fígado

principalmente a longo prazo.

4. CONCLUSÕES

O presente trabalho apresentou a influência de tornar parâmetros dependentes do tempo na representação das dinâmicas do vírus da hepatite C. Foram utilizados como exemplos a taxa de exportação de vírus e a taxa de morte de uma célula infectada em um modelo matemático de equações diferenciais com estrutura etária.

Espera-se que o mesmo modelo possa ser utilizado para melhor compreensão dos processos intracelulares da dinâmica desse vírus como também de outros vírus da mesma família *flaviridae* como os vírus da Dengue, Febre Amarela, Zika e Chikungunya. Medicamentos utilizados para tratamento da hepatite C foram utilizados em tratamentos de Zika (SACRAMENTO et al., 2017) e Chikungunya (FERREIRA et al., 2018) com sucesso. No entanto, o comportamento desses vírus e suas influências no organismo não são completamente conhecidos.

Agradecimentos

Os autores gostariam de agradecer a CAPES, CNPq, FAPEMIG e UFJF pelo apoio a execução do projeto.

REFERENCES

- AFZAL, M. S. et al. Regulation of Core Expression During the hepatitis C Virus Life Cycle. *J Gen Virol*, v. 96, p. 311–21, 2015.
- ALIZON, S. Co-infection and super-infection models in evolutionary epidemiology. *Interface Focus*, v. 3, 2013.
- APPEL, N. et al. From Structure to Function: New Insights into hepatitis C Virus RNA Replication. *J Biol Chem*, v. 281, n. 14, p. 9833–9836, 2006.
- BESSAUD, M. et al. Development of a Taqman RT-PCR assay for the detection and quantification of negatively stranded RNA of human enteroviruses: evidence for false-priming and improvement by tagged RT-PCR. *J Virol Methods*, v. 153, p. 182–9, 2001.
- BLACKARD, J. T.; SHERMAN, K. E. Hepatitis c virus coinfection and superinfection. *The Journal of Infectious Diseases*, v. 145, p. 519–24, 2007.
- CASTILLO-CHAVEZ, C.; FENG, Z. To treat or not to treat: The case of tuberculosis. *JMB*, v. 35, p. 629–56, 1997.
- ELLIOT, R. M.; ARMSTRONG, V. J.; MCLAUCHLAN, J. Struct mol virol. In: _____. [S.l.]: Intl Medical Press, 2009. (Human Virus Guides), cap. 2.
- FERREIRA, A. C. et al. Beyond members of the flaviviridae family, sofosbuvir also inhibits chikungunya virus replication. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018.
- GASTAMINZA, P. et al. Cellular Determinants of Hepatitis C Virus Assembly, Maturation, Degradation, and Secretion. *J Virol*, v. 82, n. 5, p. 2120–2129, 2008.
- GUEDJ, J. et al. Modeling Shows that the NS5A inhibitor dacatasvir has two modes of action and yields a shorter estimate of the hepatitis C virus half-life. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 110, n. 10, p. 3991–3996, 2013.

- KEUM, S. et al. The specific infectivity of hepatitis C virus changes through its life cycle. *Virology*, v. 433, p. 462–470, Nov 2012.
- LI, J.; BRAUER, F. Continuous-time age-structured models in population dynamics and epidemiology. In: BRAUER, F.; DRIESSCHE, P. van den; WU, J. (Ed.). *Math Epidemiol.* [S.l.]: Springer Berlin Heidelberg, 2008, (Lecture Notes in Mathematics, v. 1945). p. 205–227. ISBN 978-3-540-78910-9.
- LIM, E. U. et al. Hepatitis c virus-induced hepatocyte cell death and protection by inhibition of apoptosis. *Journal of General Virology*, 2014.
- MARTCHEVA, M.; CASTILLO-CHAVEZ, C. Diseases with chronic stage in population with varying size? *Math Biosci*, v. 182, p. 1–25, 2003.
- MASALOVA, O. V. et al. Modulation of cell death pathways by hepatitis c virus proteins in huh7.5 hepatoma cells. *International Journal of Molecular Science*, 2017.
- QUINKERT, D.; BARTENSCHLAGER, R.; LOHMANN, V. Quantitative Analysis of the Hepatitis C Virus Replication Complex. *J Virology*, v. 79, p. 13594–13605, 2005.
- QUINTELA, B. de M. *Acoplamento de Modelos Computacionais de Doenças Infecciosas*. Tese (Doutorado) — Programa de Pós-Graduação em Modelagem Computacional, Juiz de Fora-MG, 3 2015.
- QUINTELA, B. M. et al. An Age-based Multiscale Mathematical Model of the Hepatitis C Virus Life-cycle During Infection and Therapy: Including Translation and Replication. In: TORRES, I. in.; BUSTAMANTE, J.; SIERRA, D. (Ed.). *VII Latin American Congress on Biomedical Engineering CLAIB 2016*. Bucaramanga, Santander, Colombia: IFMBE Proceedings, 2017. v. 60, p. 508–511.
- QUINTELA, B. M. et al. A new age-structured multiscale model of the hepatitis c virus life-cycle during infection and therapy with direct-acting antiviral agents. *Frontiers in Microbiology*, v. 9, 2018.
- RONG, L. et al. Analysis of Hepatitis C Virus Decline during Treatment with the Protease Inhibitor Danoprevir Using a Multiscale Model. *PLOS Comput Biol*, v. 9, n. 3, p. e1002959, 2013.
- RONG, L.; PERELSON, A. S. Mathematical analysis of multiscale models for hepatitis C virus dynamics under therapy with direct-acting antiviral agents. *Math Biosci*, v. 245, n. 1, p. 22 – 30, 2013. ISSN 0025-5564. {SI} : {BIOCOMP} 2012. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0025556413001223>.
- SACRAMENTO, C. Q. et al. The clinically approved antiviral drug sofosbuvir inhibits zika virus replication. *Scientific Reports*, 2017.
- THIEME, H.; CASTILLO-CHAVEZ, C. How may infection-age-dependent infectivity affect the dynamics of HIV/AIDS? *SIAM J Appl Math*, v. 53, p. 1337–79, 1993.
- THIEME, H.; CASTILLO-CHAVEZ, C. A two-strain tuberculosis model with age infection. *SIAM J Appl Math*, v. 62, p. 1634–56, 2002.
- WHO. *Guidelines for the screening, care and treatment of persons with chronic hepatitis C infection*. 2016. Date accessed: July, 2016. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs164/en/>.