



O Papel do Sistema Imunológico Humano na Processo de envelhecimento: um modelo matemático de ativação de células e citocinas

Kian Talaei, Steven A. Garan, Elliott K. Suen, Joshua W. Cho, Julia R. Jahansooz, Puneet Bhullar, Walter Piszker, Nuno Martins



INTRODUÇÃO

As simulações permitem a modelagem matemática eficiente de sistemas biológicos complexos e têm o potencial de elucidar muitas das intrincadas vias biológicas dentro do corpo humano. A pesquisa do sistema imunológico, que envolve relações elaboradas entre várias citocinas e células, poderia se beneficiar de uma simulação matemática da resposta imune. À medida que os modelos de computador do sistema imunológico continuam a melhorar, o potencial para testes aprimorados de medicamentos pode permitir a descoberta acelerada de medicamentos. Além disso, uma simulação mais abrangente da resposta imune pode avançar no campo da pesquisa do envelhecimento, uma vez que o sistema imunológico desempenha um papel importante no processo de envelhecimento.

Normalmente, à medida que se envelhece, o sistema imunológico sistema deve trabalhar mais para manter o corpo vivo e saudável. A produção de citocinas pró-inflamatórias, como TNF-alfa, IL-6 e IL-10, geralmente também aumenta com a idade. De fato, a fragilidade foi estudada e mostrou estar associada ao aumento dos níveis de TNF-alfa e IL-6 em humanos mais velhos. A resposta inflamatória acaba mudando à medida que envelhecemos, portanto, a pesquisa do envelhecimento entre essas citocinas específicas pode ajudar a simular as várias maneiras pelas quais o sistema imunológico responde às bactérias introduzidas no sistema humano.

MÉTODO

A simulação atual consiste em um série de PDE's para simular os componentes espaciais e temporais do sistema imunológico: *S. aureus* bactérias (A), Macrófagos em repouso (MR) e Macrófagos ativados (MA). Além disso, a simulação incorpora EDO's de: Anticorpos (FL)

γ , Função de necrose tumoral alfa (TNF- γ), interleucina-6 (IL-6), interleucina-8 (IL-8) e interleucina-10 (IL-10).

O EDO's descrevendo as citocinas TNF- γ , IL-6, IL-8 e IL-10 foram retirados de Brady et al. Este trabalho incorpora ensaios clínicos *in vivo* usando LPS, encontrado em bactérias Gram-negativas, a fim de modelar equações matemáticas que descrevem as relações entre essas citocinas e macrófagos ativos. Embora *S. aureus*, uma bactéria Gram-positiva, não contenha LPS, as equações extraídas de Brady et al descrevem as relações entre os macrófagos ativos e as citocinas indicadas (Figura B). As relações entre as citocinas e o patógeno não estão diretamente ligadas, mas sim através da concentração de macrófagos ativos (Figura C). Enquanto a concentração de macrófagos ativados muda devido à concentração do patógeno, as próprias citocinas são dependentes apenas das concentrações de macrófagos ativos e, portanto, independentes em relação à mudança na concentração do patógeno. Como os macrófagos ativos já estão incorporados na simulação criada por Quintela et al (Figura A), as relações entre *S. aureus* e a concentração de macrófagos ativos foram retiradas da simulação de Quintela et al e as relações entre os macrófagos ativos e citocinas foram retiradas de Brady et al.

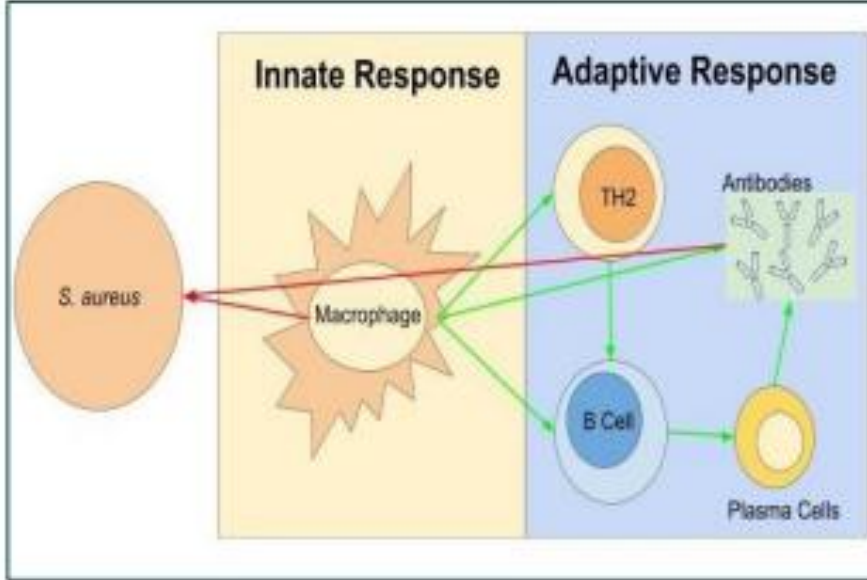


Figura A. A representação visual da simulação criada por Quintela et al. 1 Todas as relações entre *S. aureus* e as diferentes células da resposta imune foram incorporadas. As setas verdes e vermelhas indicam uma resposta positiva (regulação ascendente) e negativa (regulação negativa), respectivamente.

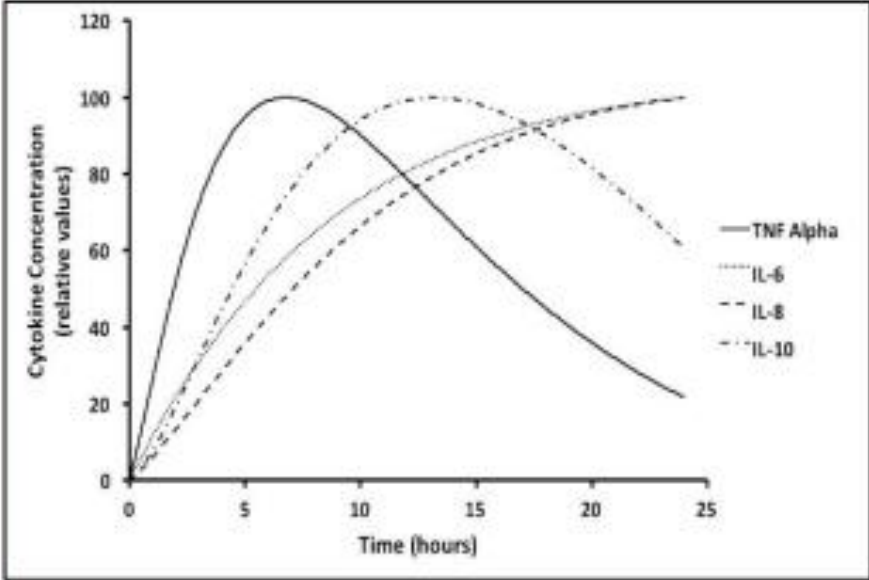


Figura B. Concentrações de citocinas em um período de 24 horas na simulação atual.

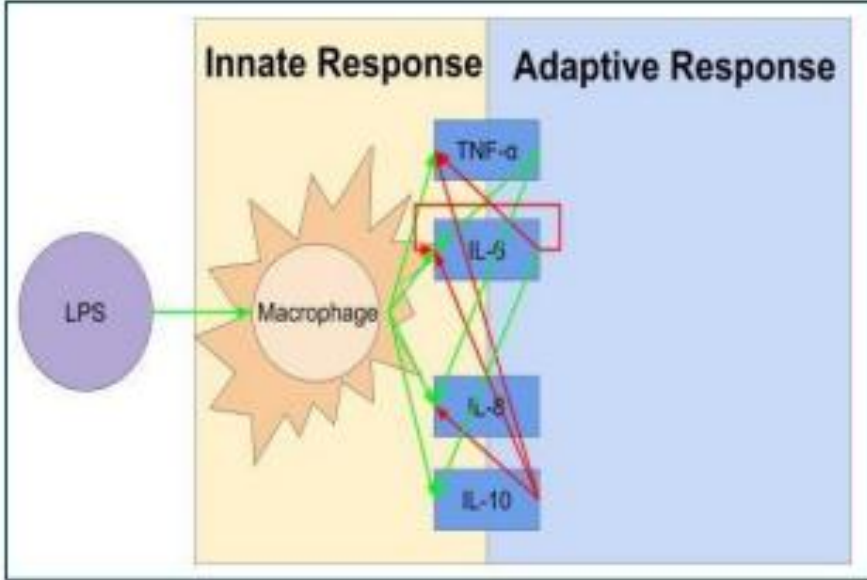
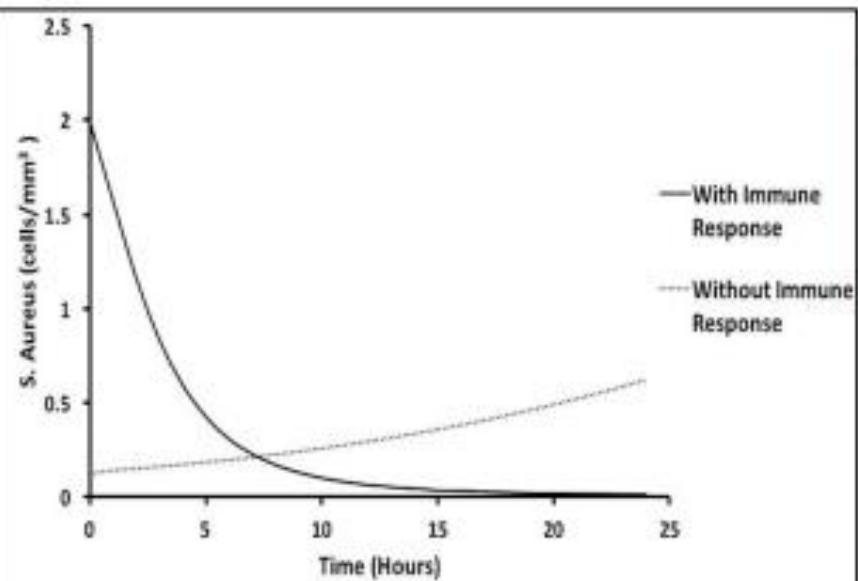


Figura C. Uma representação visual do modelo matemático conforme descrito por Brady et al 2 Essas relações foram inseridas na simulação usando as relações que as citocinas tinham com os macrófagos ativos, em vez do próprio patógeno (consulte a Figura C).



A Figura D. *S. aureus* simulou a concentração média de células no tecido com e sem resposta imune durante um período de 24 horas.

$$\frac{\partial A}{\partial t} = \beta_A A \left(1 - \frac{A}{k_A}\right) - \mu_A A - \lambda_{MR} M_R A - \lambda_{MA} A M_A - \lambda_{AF|MR} A_F M_R - \lambda_{AF|MA} A_F M_A + D_A \Delta A, \\ A(x_0, y_0, z_0, 0) = A_0, \quad \frac{\partial A}{\partial t}(\cdot, t)|_{\partial \Omega} = 0.$$

Figura E. Esta equação descreve a taxa de crescimento e a taxa de eliminação da bactéria, *S. aureus* (A).

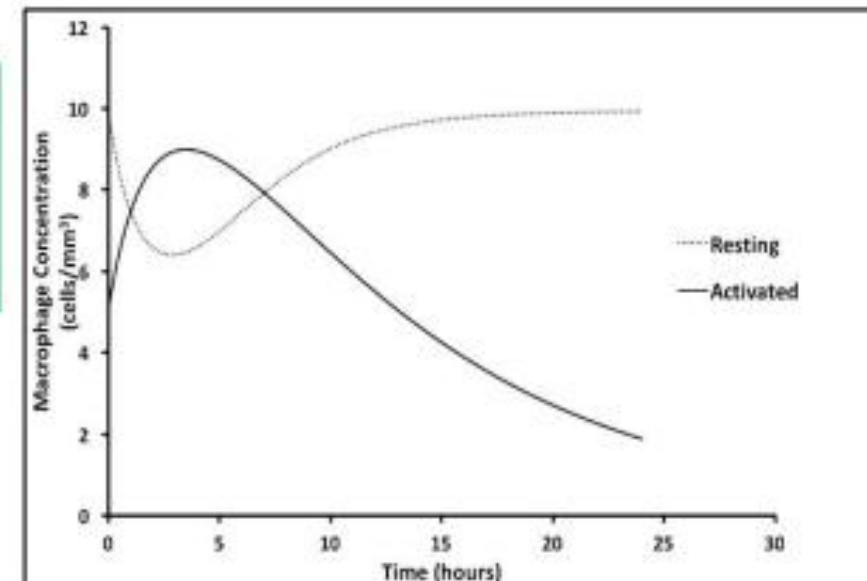
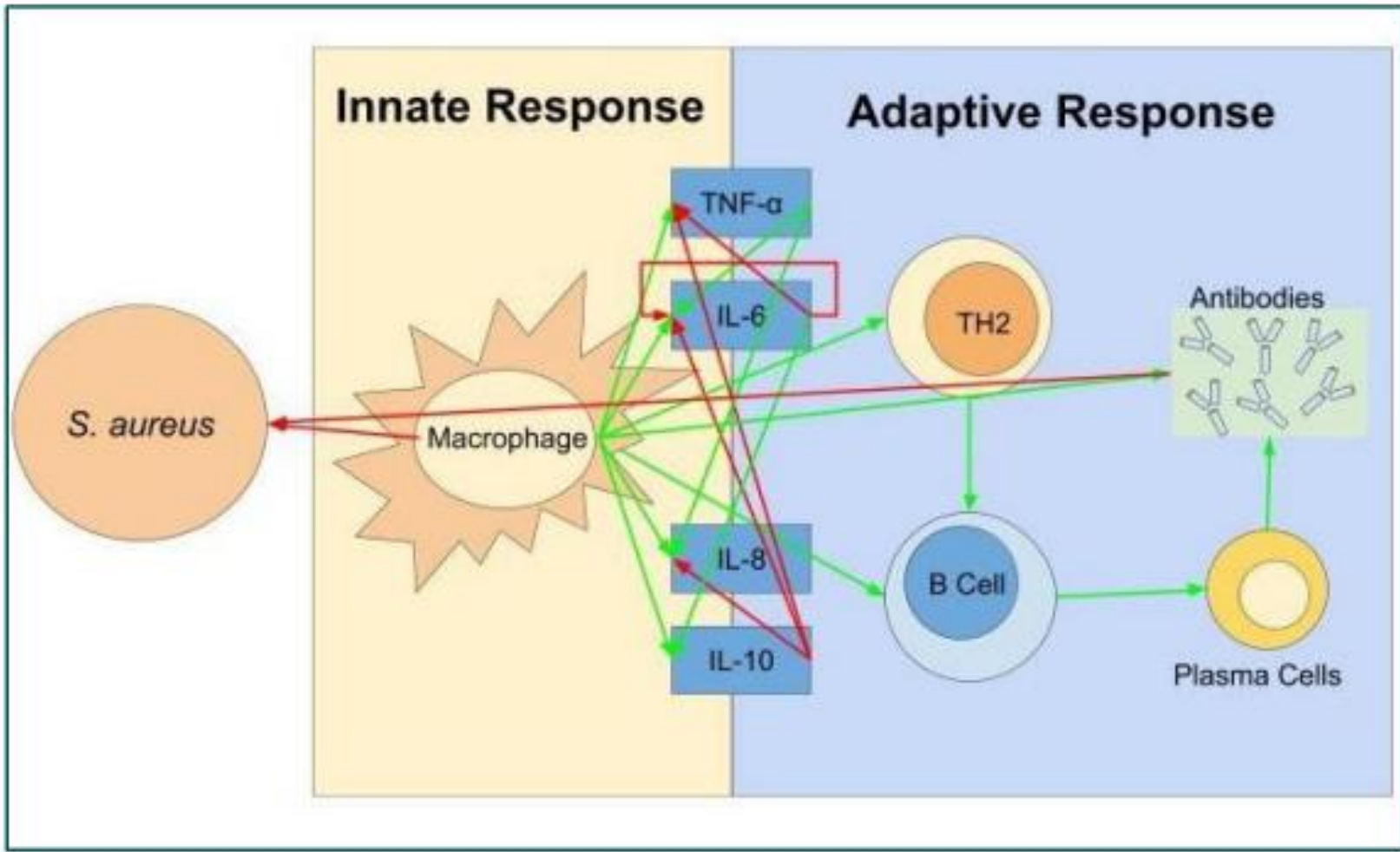


Figura F. Concentração de macrófagos ativados e em repouso durante um período de 24 horas na simulação.

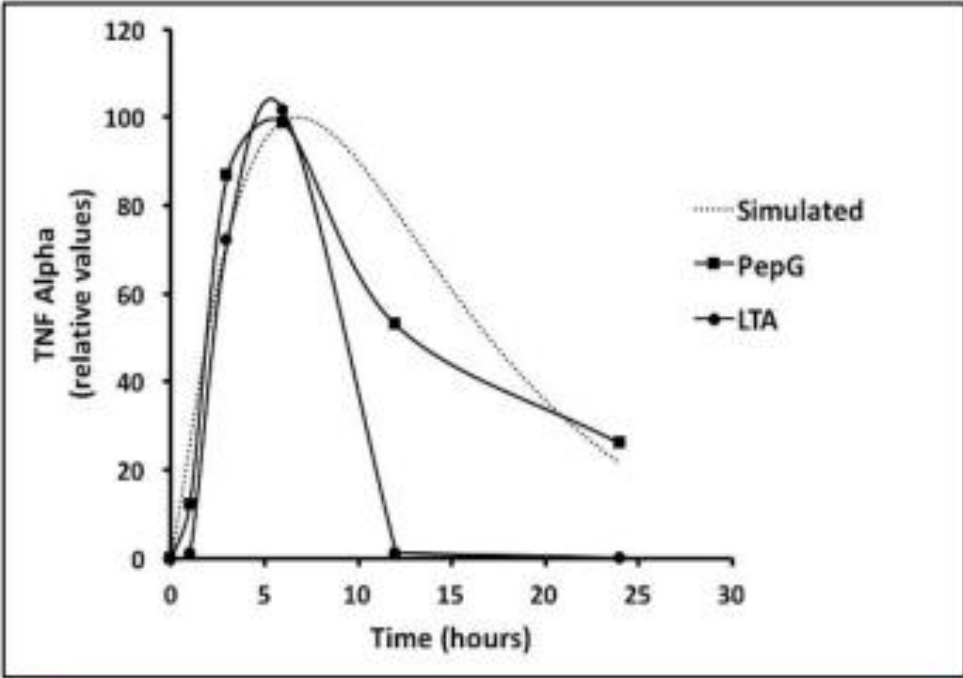


$$\frac{\partial M_A}{\partial t} = -\mu_{MA} M_A + \gamma_{MA} M_R A + D_{MA} \Delta M_A - \alpha_M \theta_{LV}(x, y, z) (M_A - M_A^I), \\ M_A(x, y, z, 0) = M_{A0}, \quad \frac{\partial M_A}{\partial t}(\cdot, t)|_{\partial \Omega} = 0.$$

Figura H. Esta equação descreve a resposta dos macrófagos ativados (MA) devido à infecção pelo patógeno, *S. aureus* (A).

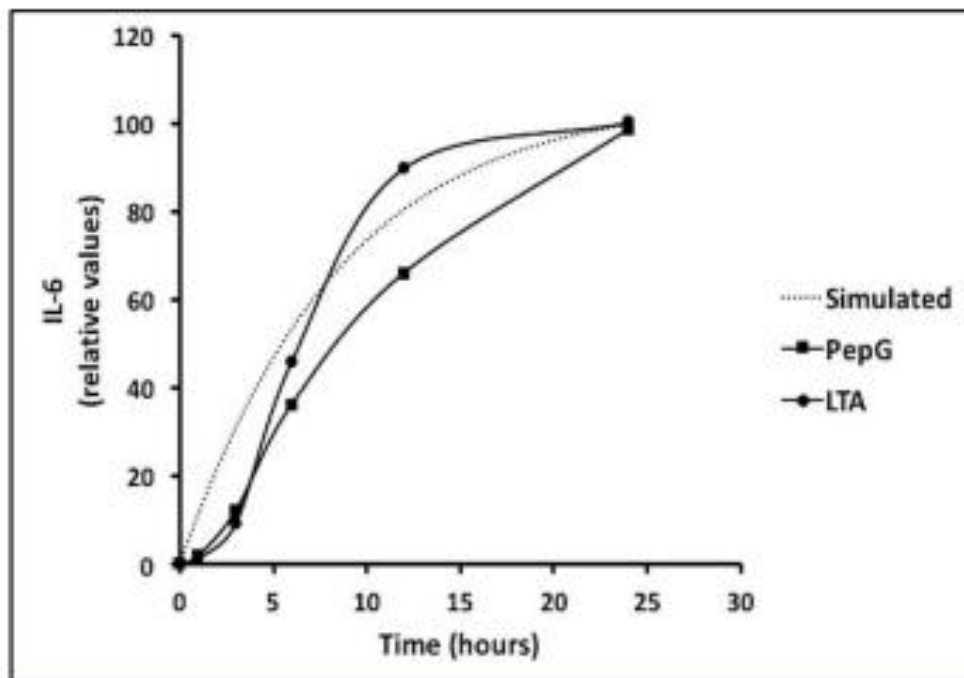
$$\frac{\partial M_R}{\partial t} = -\mu_{MR} M_R - \gamma_{MA} M_R A + \alpha_{MR} \theta_{BV}(x, y, z) (M_R^I - M_R) + D_{MR} \Delta M_R, \\ M_R(x, y, z, 0) = M_{R0}, \quad \frac{\partial M_R}{\partial t}(\cdot, t)|_{\partial \Omega} = 0.$$

Figura I. Esta equação descreve a ativação de macrófagos em repouso (MR) devido ao patógeno, *S. aureus* (A).



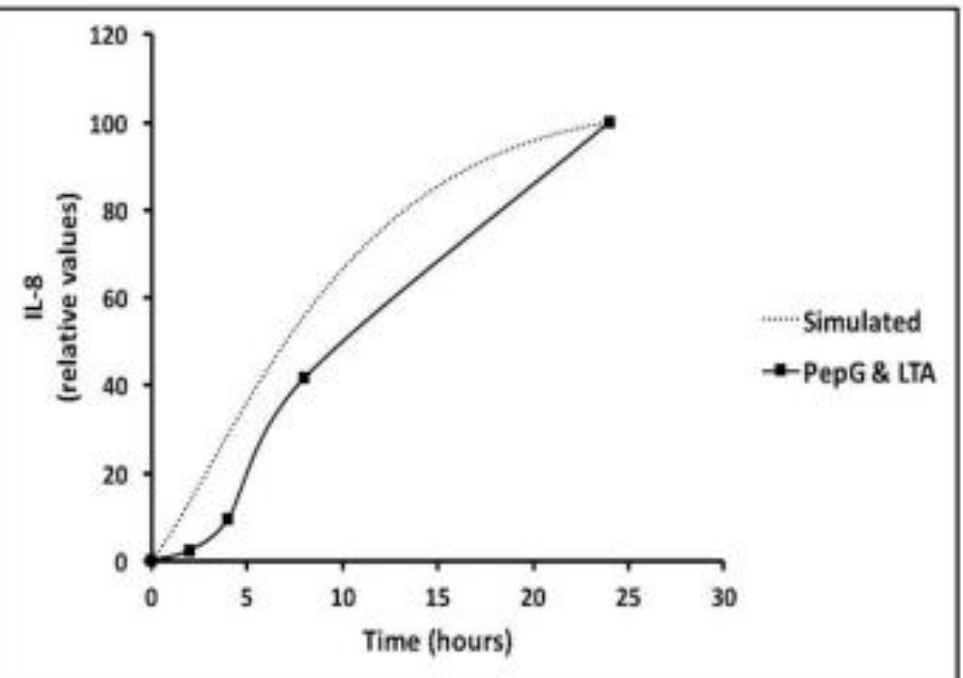
$$\frac{dTNF}{dt} = k_{TNFM} H_{TNF}^P(IL6) H_{TNF}^P(IL10) M_A - k_{TNF}(TNF - q_{TNF})$$

Figura J. Este gráfico mostra a comparação da atividade simulada de TNF- γ e TNF- γ clínica durante um período de 24 horas. Esta equação descreve a ativação de TNF- γ devido à ativação de macrófagos.



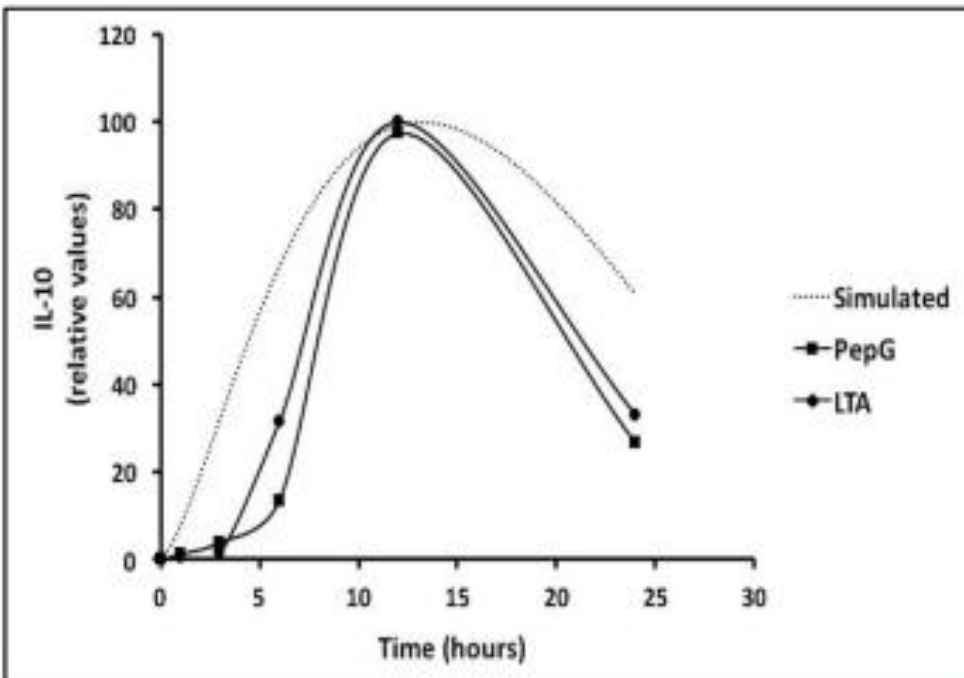
$$\frac{dIL6}{dt} = (k_{IL6M} + k_{IL6TNF} H_{IL6}^P(TNF)) H_{IL6}^P(IL6) H_{IL6}^P(IL10) M_A - k_{IL6}(IL6 - q_{IL6})$$

Figura K. Este gráfico mostra a comparação da atividade simulada de IL-6 e IL-6 clínica durante um período de 24 horas. Esta equação descreve a ativação de IL-6 devido a TNF- γ e regulação negativa da ativação de IL-10 e loop de feedback negativo de IL-6.



$$\frac{dIL8}{dt} = (k_{IL8M} + k_{IL8TNF} H_{IL8}^P(TNF)) H_{IL8}^P(IL10) M_A - k_{IL8}(IL8 - q_{IL8})$$

Figura L. Este gráfico mostra a comparação da atividade simulada de IL-8 e IL-8 clínica durante um período de 24 horas. Esta equação descreve a ativação de IL-8 devido à regulação positiva de TNF- γ e regulação negativa de IL-10.



$$\frac{dIL10}{dt} = (k_{IL10M} + k_{IL10IL6} H_{IL10}^P(IL6)) M_A - k_{IL10}(IL10 - q_{IL10})$$

Figura M. Este gráfico mostra a comparação da atividade simulada de IL-10 e IL-10 clínica durante um período de 24 horas. Esta equação descreve a ativação de IL-10 devido à ativação de macrófagos de IL-6

RESULTADOS

As concentrações de citocinas são simuladas durante um período de 24 horas após a introdução de uma bactéria, *S. aureus*. Conforme ilustrado na figura B, nossa simulação mostra duas citocinas, TNF- γ e IL-10 atingem seu pico de concentração nas primeiras 24 horas, enquanto IL-6 e IL-8 continuam a aumentar além do período de 24 horas. Esses resultados são afirmados com base nos dados experimentais *in vitro* ilustrados ao lado dos valores simulados nas figuras JM. As endotoxinas sépticas causam flutuações na resposta de citocinas e células imunes devido ao dano tecidual e são omitidas da simulação e das configurações experimentais.

Conforme mostrado na figura D, as bactérias crescem exponencialmente dentro de 24 horas período, na ausência de funções do sistema imunológico. Através das várias interações entre os macrófagos e as citocinas, as bactérias são eventualmente eliminadas da simulação. Ao introduzir a bactéria na simulação do sistema imunológico, o sistema imunológico simulado elimina a bactéria e observamos um aumento gradual dos macrófagos ativados até atingir sua concentração máxima em 5 horas.

A contagem de macrófagos em repouso inversamente proporcional diminui gradualmente até atingir sua concentração mínima em 5 horas (figura F).

DISCUSSÃO

Interação célula-citocina. O modelo acoplado neste estudo é a combinação do modelo celular apresentado por Quintela et al. e o modelo de citocinas apresentado por Brady et al. através da sua ligação em

os papéis semelhantes dos macrófagos ativados.

Ajuste de parâmetro. A simulação validada contra os ensaios experimentais *in vitro* encontrados em Wang et al. e Yao et al. ai. Certos parâmetros nas EDOs afetam a sensibilidade dos resultados simulados, que são posteriormente modificados para oferecer uma melhor comparação com os dados *in vitro*. Além disso, as concentrações iniciais das bactérias e citocinas eram muito baixas para efeitos observáveis nos resultados simulados; as concentrações foram, portanto, recalibradas para gerar dados significativos.

Efeito da droga. As drogas farmacêuticas desempenham um papel significativo no controle dos efeitos e concentrações das células e citocinas neste modelo. Por exemplo, o FOM degrada as bactérias Gram positivas enquanto amplifica IL-6 e IL-10, enquanto o DEX reduz a produção de IL-6 e IL-10.

Extrapolar os efeitos para testes em humanos pode permitir que drogas farmacêuticas sejam utilizadas para auxiliar a resposta imune humana a infecções e explicar o processo de envelhecimento a longo prazo.

Modificações de modelo em
comparar resultados observados e previstos usando valores relativos e objetivos futuros na simulação abrangente. No processo de acoplamento dos modelos, certas modificações nas simulações originais foram críticas. As unidades utilizadas na simulação foram dimensionadas para modelar mais de perto as condições dos dados experimentais *in vitro*, que tinham diferentes parâmetros de partida. Além disso, o modelo atual de citocinas de células acopladas não leva em consideração os efeitos da atividade da endotoxina. Futuras expansões do modelo podem incluir esses efeitos.

Divulgação Financeira

Este estudo foi financiado pelo Centro de Pesquisa e Educação em Envelhecimento, UC Berkeley.