

Título: Modelo Matemático Personalizado Prevendo Respostas Inflamatórias Induzidas por Endotoxinas em homens jovens

Autores: Renee Brady¹ , Dennis O. Frank-Ito² , Hien T. Tran¹ , Susanne Janum³ , Kirsten Møller ⁴ , Susanne Brix⁵ , Johnny T. Ottesen⁶ , Jesper Mehlsen³ , e Mette S. Olufsen¹

1Departamento de Matemática, North Carolina State University, Raleigh, NC,

2Departamentos de Cirurgia, Duke University Medical Center, Durham, NC,

3Coordinating Research Centre, Frederiksberg Hospital, Frederiksberg, Dinamarca

4Department of Neurointensive Care, Rigshospitalet, University of Copenhagen, Dinamarca

5Departamento de Biologia de Sistemas, Universidade Técnica da Dinamarca, Lyngby, Dinamarca

6Departamento de Ciência e Meio Ambiente, Universidade de Roskilde, Roskilde, Dinamarca

Mette S. Olufsen, Departamento de Matemática da NCSU, Box 8205, Raleigh, NC 27695, Email: msolufse@ncsu.edu, Tel: (919) 515-2678

Fontes de apoio

Olufsen e Brady foram apoiados em parte pelo NSF-DMS Award 1246991 e Olufsen foi apoiado em parte pelo NIH-NIGMS subaward para NCSU 1P50GM094503-01A0. Møller foi responsável por estudos experimentais apoiados pela Fundação Grosserer Ehrenreichs, Fundação Aase e Ejnar Danielsens, Sociedade Dinamarquesa de Anestesiologia e Medicina Intensiva (DASAIM), Sociedade Médica de Copenhague e Fundação King Christian the X.

Cabeça de corrida: modelo de inflamação personalizado para homens jovens

RESUMO – A reação inicial do organismo à infecção microbiana patogênica ou trauma tecidual grave é uma resposta inflamatória aguda. A magnitude de tal resposta é de importância crítica, uma vez que uma resposta descontrolada pode causar mais danos nos tecidos, sepse e em última análise, a morte, enquanto uma resposta insuficiente pode resultar em eliminação inadequada de patógenos. Uma resposta inflamatória normal ajuda a aniquilar as ameaças representadas por agentes patogênicos microbianos. Ligantes, como as endotoxinas, e assim, restaurar o corpo a um estado saudável. Usando um personalizado modelo matemático, compreensão e uma descrição detalhada das interações entre pro e citocinas anti-inflamatórias podem fornecer informações importantes na avaliação de um paciente com sepse ou um paciente suscetível em cirurgia. Nosso modelo é calibrado para dados experimentais obtidos de experimentos medindo citocinas pró-inflamatórias (interleucina-6 (IL-6), necrose tumoral fator (TNF-) e ligante de quimiocina-8 (CXCL8)) e a citocina anti-inflamatória interleucina-10 (IL-10) ao longo de 8 horas em 20 indivíduos jovens saudáveis do sexo masculino, recebendo uma dose baixa injeção intravenosa de lipopolissacarídeo (LPS), resultando em inflamação. Através do processo de calibração, criamos um modelo matemático personalizado que pode determinar com precisão as diferenças individuais entre os sujeitos, bem como identificar aqueles que apresentou uma resposta anormal.

PALAVRAS-CHAVE – Citocinas, LPS, TNF- , IL-6, IL-10, CXCL8

INTRODUÇÃO

A invasão por doença ou lesão desencadeia uma resposta inflamatória aguda que é vital no repulsão dos patógenos e a indução de um mecanismo de reparo em tecidos danificados. Um típico A resposta inflamatória consiste no seguinte: 1) células fagocitárias são ativadas, 2) pró e mediadores anti-inflamatórios são acionados, 3) o patógeno invasor é eliminado, 4) o tecido é reparado se necessário, e 5) a resposta é contida. Uma resposta insuficiente pode levar a lesão tecidual persistente, resultando em condições como doenças autoimunes, câncer e transtornos relacionados ao estilo de vida [1]. Uma produção descontrolada e excessiva de pró-inflamatórios citocinas de células imunes e tecidos traumáticos podem causar resposta inflamatória sistêmica síndromes como sepse e, em casos com risco de vida, choque séptico [2]. A Agência de Healthcare Research and Quality lista sepse como a condição mais cara tratada nos EUA hospitais, custando mais de US\$ 20 bilhões em 2011 [3]. Sinalização do receptor tipo Toll-4 (TLR4), responsável pela produção dos mediadores inflamatórios, pode ser uma via chave na Fisiopatologia da sepse. Assim, entender a sinalização TLR4 e os mediadores produzidos é fundamental na avaliação de pacientes com sepse e aqueles submetidos a cirurgia, como joelho ou artroplastia de quadril, que pode ser mais suscetível à sepse.

Os experimentalistas estudaram a resposta inflamatória em camundongos e humanos por meio de a administração de patógenos específicos, particularmente através de endotoxina, um componente da parede celular de bactérias gram-negativas. Em camundongos, esses estudos forneceram uma grande visão sobre a resposta inflamatória. No entanto, devido a diferenças fisiológicas entre camundongos e humanos Ativação de TLR4 [4], uma via chave na fisiopatologia da sepse, bem como sensibilidade aos efeitos da endotoxina, avanços semelhantes não foram feitos na compreensão da resposta inflamatória aguda em humanos. Para quantificar as diferenças na inflamação respostas entre camundongos e humanos, Copeland et al. [5] realizaram um experimento no qual camundongos e humanos receberam doses equivalentes de endotoxina e os níveis de citocinas circulantes TNF- γ e IL-6 foram medidos e comparados. O estudo descobriu que os humanos experimentaram uma rápida resposta fisiológica, consistindo em febre, taquicardia e hipotensão leve, que não foi evidente em camundongos. Assim, concluiu-se que o sistema de controle autônomo é afetado pela resposta inflamatória em humanos, mas provavelmente não em camundongos.

Modelos matemáticos generalizados da resposta inflamatória aguda em humanos propõem que a resposta à endotoxina consiste em um instigador e um conjunto de fatores pró e anti-inflamatórios.

mediadores trabalhando em uníssono para restaurar a homeostase [6, 7]. Esses modelos são formulados como sistema de equações diferenciais ordinárias criado para integrar pressupostos biológicos conhecidos. Modelos simples têm a vantagem de permitir análises matemáticas rigorosas e suposições biológicas simplificadas. Modelos de ordem superior [8, 9] foram desenvolvidos para prever o resposta inflamatória generalizada em camundongos. Estes incluem a complexidade biológica que prevê a dinâmica de citocinas individuais. No entanto, esses modelos são muito complexos, tanto conceitualmente quanto e computacionalmente devido à não linearidade inerente e ao grande número de entradas desconhecidas para o modelo para analisar matematicamente.

Nosso estudo foi motivado pelo modelo de ordem superior proposto por Clermont et. al. [9] prever a resposta inflamatória em camundongos. O modelo inclui neutrófilos e macrófagos ativado diretamente por endotoxina bacteriana (*lipopolissacarídeo de E. coli* (LPS)) e indiretamente via estímulos sistêmicos produzidos por trauma e hemorragia. As células fagocitárias ativadas promovem a produção de citocinas pró-inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF-) e interleucinas 6 e 12 (IL-6, IL-12) e citocinas anti-inflamatórias como IL-10. Este modelo foi usado para reproduzir resultados qualitativos de três cenários separados em camundongos (trauma, cirurgia trauma/hemorragia e 3 e 6 mg/kg de endotoxina). Expandindo esses resultados, Chow et al. [8] desenvolveram um modelo de 15 estados da resposta inflamatória aguda em camundongos à endotoxina, hemorragia e trauma cirúrgico. Os camundongos receberam endotoxina em níveis de 3, 6 ou 12 mg/kg e dados experimentais foram coletados - incluindo TNF- γ , IL-6, IL-10 e óxido nítrico subprodutos. A inserção de uma cânula induziu trauma cirúrgico e choque hemorrágico foi estimulada pela retirada de sangue. O modelo matemático foi calibrado para dados experimentais de cada um desses cenários.

Embora o modelo proposto por Chow et al. [8] forneceu informações perspicazes sobre modelando a dinâmica de mediadores pró e anti-inflamatórios, seu modelo foi projetado para capturar esse fenômeno em camundongos. Além disso, a maioria dos modelos matemáticos e análises sobre a sinalização induzida por endotoxinas e produção de citocinas em monócitos e macrófagos foram feitos em camundongos por causa da capacidade de calibrar esses modelos para *in vivo* dados experimentais. Pelo contrário, tais experimentos não podem ser feitos facilmente em humanos, pois desafios de endotoxina são imunoestimuladores potentes e são altamente regulados em estudos humanos, especialmente nos EUA.

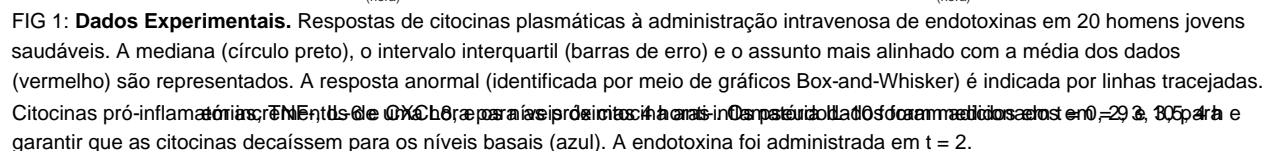
Neste estudo, desenvolvemos um modelo matemático personalizado da doença aguda resposta inflamatória ao desafio de endotoxina, com base na biologia em humanos e na interações entre citocinas pró e anti-inflamatórias. Este modelo tem potencial para avançar a compreensão atual na avaliação de pacientes durante os estágios iniciais de recuperação após cirurgia, quando muitos são encorajados a recuperar a mobilização o mais rápido possível [10]. Nosso modelo é calibrado para dados experimentais de 20 homens jovens saudáveis que receberam um intravenosa (iv) dose de endotoxina de 2 ng/kg de peso corporal. Concentrações das citocinas IL 6, CXCL8, TNF- α , e IL-10 foram medidos de hora em hora durante 8 horas. Nosso modelo pode com precisão prever a dinâmica dessas citocinas até 8 horas após a introdução do agente em uma base individual, incluindo aqueles indivíduos que exibem uma resposta anormal.

MATERIAIS E MÉTODOS

Dados experimentais

Participantes do estudo. Vinte voluntários saudáveis, jovens do sexo masculino, com idade entre 20 e 33 anos (mediana de 24,3 anos), foram recrutados por meio de publicidade pública da população em geral em Copenhague, Dinamarca para participar deste estudo. Os critérios de inclusão foram os seguintes: (i) sexo masculino, idade 18-35, (ii) bom estado geral de saúde, demonstrado pela história médica e exame, (iii) Índice de Massa Corporal (IMC) < 30 kg/m² e (iv) consentimento informado por escrito antes de inscrição. Os critérios de exclusão foram os seguintes: (i) ingestão diária de medicamentos (excluindo anti-histamínicos durante a estação polínica), (ii) tabagismo ou uso de substitutos da nicotina, (iii) reação alérgica a absorventes de nicotina e (iv) esplenectomia prévia. O protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê Regional de Ética em Pesquisa em Saúde (protocolo-ID H-3-2012-011) e o Conselho Regional de Monitoramento de Dados (ID j-2007-58-0015, local 30-0766) e relatado a Clinicaltrials.gov (NCT01592526).

Procedimento/Design Experimental. Este foi um estudo aberto, randomizado e cruzado em quais participantes receberam um bolus de endotoxina na dose de 2 ng/kg de peso corporal 2 horas após o início do experimento. Amostras de sangue foram coletadas antes da infusão de endotoxina (no = 0) e depois em = 2, 3, 3,5, 4 horas e em incrementos de uma hora para um total de 8 horas.



Análise de dados. A literatura mostra que em humanos, as citocinas demoram entre 6 e 8 horas retornar aos níveis basais após a introdução de um agente patogênico [5]. Assim, os pseudodados foram adicionado em = 9 e 10, para garantir que as citocinas decaíssem adequadamente. Dados experimentais de todos os 20 sujeitos são mostrados na **Fig. 1**; pseudodados são mostrados em azul. Os conjuntos de dados marcados em vermelho representam a dinâmica média da população e as simulações personalizadas subsequentes são mostrados contra este conjunto de dados. Gráficos de caixa e bigode [11] foram usados para identificar os sujeitos exibir uma resposta anormal entre os conjuntos de dados.

O modelo matemático desenvolvido aqui incorpora vários componentes-chave da resposta inflamatória, incluindo o gatilho inflamatório, aqui chamado de ligante patogênico

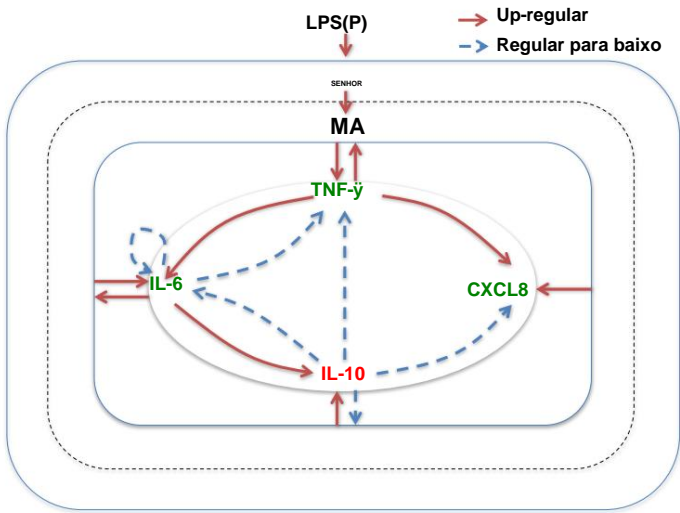


FIG 2: **Interações inflamatórias.** A injeção intravenosa de LPS ativa os monócitos circulantes (MR), transformando-os em monócitos ativados (MA). Isso inicia a produção de TNF- γ . Ao mesmo tempo, IL-6 e CXCL8 são produzidas. As citocinas funcionam em um feedback positivo, amplificando a resposta inflamatória ao ativar mais monócitos para estimular a produção de IL-6, CXCL8 e TNF- γ . Além disso, o estímulo LPS, bem como os níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias aumentam a regulação para cima de IL-10, que inibe a produção prolongada de citocinas pró-inflamatórias. As linhas sólidas representam a regulação para cima, enquanto a linha tracejada representa a regulação para baixo.

(), monócitos em repouso e ativados (e) e citocinas circulantes (TNF- γ , IL-6, CXCL8 e IL-10). Esses componentes particulares foram analisados por serem considerados como principais impulsionadores da resposta pró-inflamatória precoce (TNF- γ), o passo intermediário entre pró- e anti-inflamatório (IL-6), ativação de neutrófilos (CXCL8) e o anti-inflamatório tardio (IL-10). O papel específico de cada componente é descrito na **Tabela 1**. O modelo é formulado como um sistema de sete equações diferenciais ordinárias que descrevem a dinâmica do ligante patogênico, monócitos e citocinas circulantes e 43 parâmetros que quantificam suas interações, ilustradas na **Fig. 2**.

Ligando patogênico. Após a injeção de endotoxina, o ligante patogênico é ligado ao receptor 4 (TLR4) [12, 13] em monócitos circulantes em repouso que irão mediar sua depuração do corpo. Neste modelo, o ligante patogênico foi modelado como exponencialmente decaindo com um valor inicial de 2 ng/kg.

Monócitos. Os monócitos em repouso são formados na medula óssea e são liberados na circulação como um meio de ativação imune em curso. Os monócitos circulantes são

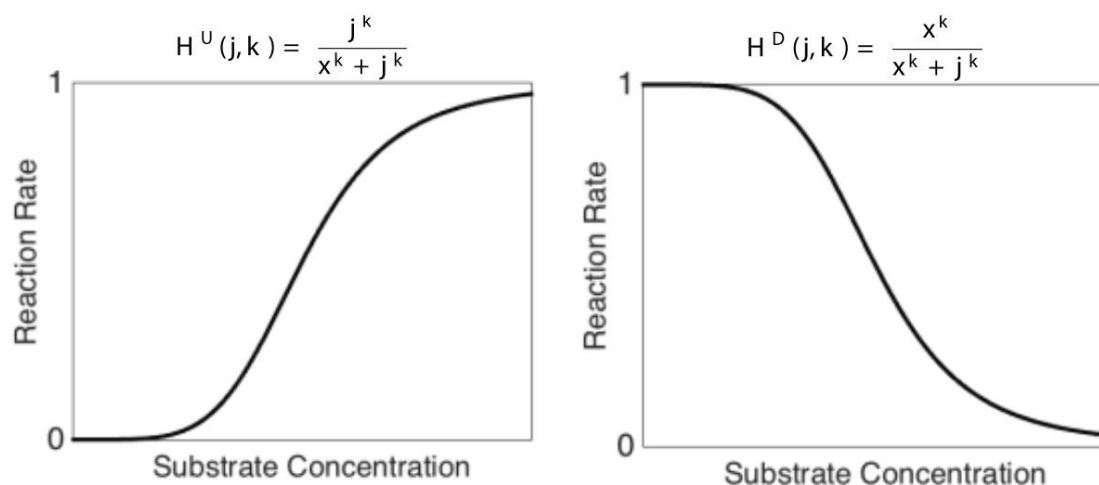


FIG 3. **Funções de Hill.** Funções de regulação para cima e para baixo (esquerda e direita, respectivamente). A taxa de reação, r , é uma função do valor de meia saturação, j , e a concentração do substrato, x .

ativado por endotoxina via desencadeamento de TLR4. Os monócitos ativados circulantes desencadeiam a produção de TNF- α , que é responsável pelos sinais reconhecidos de inflamação, como calor, aumento da permeabilidade vascular e inchaço local e reações de vermelhidão [14]. O TLR4-ativação mediada também leva à produção de IL-6, CXCL8 e IL-10. Além disso, vários existem alças autócrinas onde o TNF- α amplifica a resposta inflamatória ativando ainda mais monócitos para liberar citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e CXCL8. TNF- α também estimula os monócitos ativados a produzir citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, que exercem feedback negativo sobre o sistema.

As interações entre os componentes que atuam nos monócitos em repouso são descritas pela seguinte equação

$$\dot{y} = \gamma(y) \left(1 + H^U(j, k) \right) + \left(1 - H^D(j, k) \right) \gamma(y), \quad (1)$$

onde $\gamma \in \{\text{TNF-}\alpha, \text{IL-6, CXCL8, IL-10}\}$ e a regulação para cima e para baixo são representados por funções de Hill crescentes e decrescentes, $H^U(j, k)$ e $H^D(j, k)$, respectivamente; cada função Hill varia entre zero e um (ver **Fig. 3**). Os monócitos em repouso são regulados positivamente por TNF- α e regulado negativamente por IL-10. O feedback positivo dos monócitos em repouso sobre si mesmos é contabilizado pelo adicional $\gamma(y)$ no primeiro termo da equação. O termo final da **Eq. (1)** é o recrutamento natural e decaimento dos monócitos em repouso modelados com um termo de crescimento logístico.

Os termos são constantes de taxa que descrevem taxas de ativação ou eliminação e γ é o número máximo de monócitos presentes.

Os monócitos ativados são representados por

$$\dot{M}_a = (\lambda_1 + \lambda_2 M) M - \gamma M^4, \tag{2}$$

que é quase idêntica à **Eq. (1)**, porém o primeiro termo é positivo e o último termo é o decaimento natural dos monócitos ativados.

Citocinas. A taxa de mudança das citocinas pode ser descrita como uma combinação dos número de monócitos ativos presentes e a influência dos efeitos pró e anti-inflamatórios citocinas. Matematicamente, essas interações podem ser descritas por equações da forma

$$\dot{C} = (\lambda_5 + \lambda_6 C) C - \gamma(-), \tag{3}$$

onde, como antes, os termos são constantes de taxa que descrevem taxas de ativação ou eliminação. o regulação negativa pela citocina anti-inflamatória IL-10 (assim como IL-6, que exibe uma efeito anti-inflamatório no TNF- [15, 16]) é modelado por um produto de diminuição de Hill funções em . A fonte natural e o decaimento de cada citocina, ou seja, o comportamento da citocina sem a presença de um ligante patogênico, é representado pelo último termo na **Eq. (3)**. A quantidade de citocina presente na ausência de um patógeno é representada pelo termo fonte, . Para obter uma lista completa de equações, consulte o APÊNDICE.

TABELA 1: Variáveis de estado do modelo matemático

Componente	Função	Ref.
Lipopolissacarídeo (P)	Derivado de bactérias gram-negativas; induz a inflamação.	[12]
Monócitos em repouso (MR)	Formam-se na medula óssea e são transportados especificamente para o sangue, de onde são recrutados para os locais de inflamação; envolvidos no reconhecimento, fagocitose e destruição de LPS e/ou patógenos.	[32, 33]
Monócito ativado (MA)	Produce citocinas quando ativado por LPS.	[32, 33]
Fator de necrose tumoral (TNF-)	Pró-inflamatório. Produzido por monócitos ativados e outros fagócitos; amplifica cascatas inflamatórias; indutor de febre; cedo.	[8, 12, 15, 32, 34]
Interleucina-6 (IL-6)	Pró-inflamatório. Produzido por monócitos ativados e outros fagócitos; indutor de febre; cedo.	[8, 12, 15, 16]
Ligando de Quimiocina 8 (CXCL8)	Pró-inflamatório. Atrai os glóbulos brancos para o local da inflamação; cedo.	[12, 18, 35]
Interleucina-10 (IL-10)	Anti-inflamatório. Limita a resposta inflamatória; essencial para a homeostase do sistema imunológico; tarde.	[8, 33, 36, 37]

O modelo matemático é composto pelas 7 equações diferenciais ordinárias. As variáveis de estado são listadas na primeira coluna. A implicação biológica de cada componente e suas respectivas referências são mostradas nas colunas 2 e 3.

Parametrização

Para garantir que nossas entradas de modelo fossem fisiologicamente viáveis, estudamos as relações entre os utilizados por Chow et. al, observando as diferenças fisiológicas significativas entre ratos e humanos. Por exemplo, camundongos e humanos diferem em seu reconhecimento de superfície celular de LPS e transdução de sinal a jusante [12]. Essas diferenças impediram um simples dimensionamento para mudar o modelo de um adequado para camundongos para um para humanos. Mantendo essas diferenças em mente, estimamos um conjunto de parâmetros inicial.

Parâmetros iniciais. As constantes de tempo do conjunto de parâmetros inicial foram estimadas para alcançar a saída do modelo para cada citocina e monócitos que variaram entre zero e um. Então os valores máximos dos monócitos humanos, obtidos de [17], foram incorporados através de escala para obter a magnitude desejada.

Os valores semi-máximos da função Hill foram definidos usando dados experimentais para o citocinas, bem como dados relatados na literatura [5, 17-20]. Em uma abordagem semelhante a Clermont et. al. [9], para cada equação, se a citocina estivesse regulando positivamente as citocinas e , então a mesma metade o valor máximo foi escolhido para representar esta interação na equação correspondente. Ou seja, se a interação entre as citocinas (&) e entre (&) são representadas por

$$\frac{\tilde{y}}{\tilde{y} + \tilde{y}} \quad \text{e} \quad \frac{\tilde{y}}{\tilde{y} + \tilde{y}},$$

respectivamente, então = . Para encontrar tal valor, inicialmente foi escolhido ser aproximadamente 60% do valor máximo de citocina dos dados. Foi então ligeiramente ajustado, para cima ou para baixo, para que a dinâmica estivesse mais alinhada com os dados. Uma abordagem semelhante foi usada para encontrar os valores semi-máximos para as interações de regulação negativa. Observe que os expoentes em cada equação sigmoidal foram capazes de variar entre as interações; isto é, $\tilde{y}^{\alpha} \tilde{y}^{\beta}$. Essas iniciais os valores dos parâmetros são mostrados na **Tabela A2** do APÊNDICE.

Análise do modelo

Para criar um modelo personalizado, uma formulação de mínimos quadrados inversos foi usada para encontrar um conjunto de parâmetros que minimizou o quadrado do erro entre os valores calculados e medidos das citocinas. O vetor residual e o custo dos mínimos quadrados são definidos por

$$= , \quad \text{onde} = \frac{1}{\tilde{y} [\text{modelo} - \tilde{y} \text{ dados}]^2}, \quad (4)$$

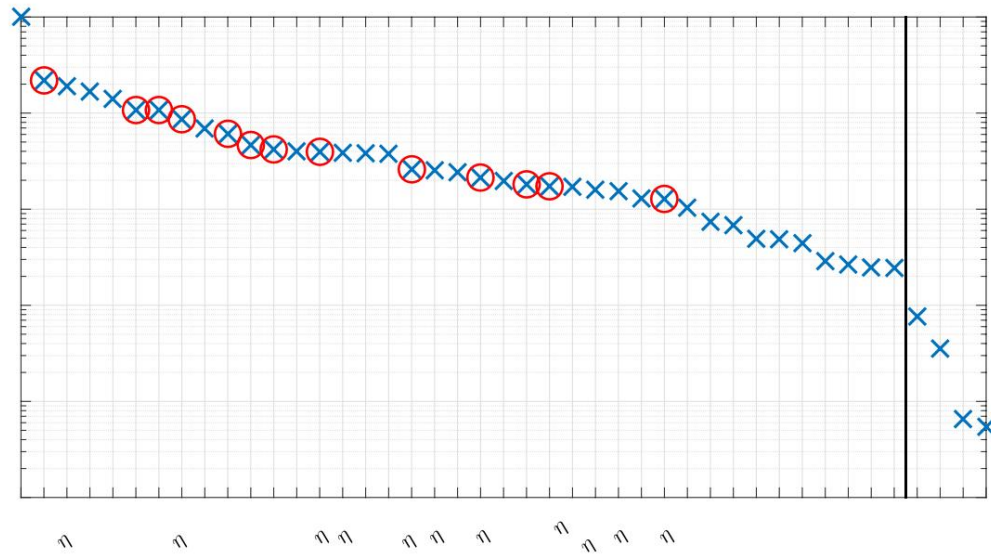


FIG 4: **Sensibilidades Classificadas.** Sensibilidades de parâmetros classificadas da mais para a menos sensível. A linha preta mostra o corte entre os parâmetros sensíveis e insensíveis. Os círculos vermelhos indicam parâmetros que foram otimizados (ou seja, sensíveis e identificáveis).

e , modelo, dados e dados são o número total de pontos de dados, a saída do modelo, o modelo dados e a média dos dados do modelo, respectivamente.

Análise de sensibilidade e seleção de subconjunto. A análise de sensibilidade separa um conjunto de parâmetros em os parâmetros sensíveis e insensíveis e é usado para diminuir a complexidade da otimização problema reduzindo o conjunto de parâmetros. Geralmente, um parâmetro é *sensível* se a saída do modelo for grandemente afetado após uma ligeira perturbação do referido parâmetro. Um parâmetro é *insensível* se o modelo não é afetado por grandes perturbações no valor do parâmetro. Isso pode ser resultado da estrutura das equações, bem como o valor nominal do parâmetro. Uma diferença para a frente aproximação, descrita em [21], foi usada para calcular as sensibilidades relativas, que foram então classificados do mais para o menos sensível. As sensibilidades classificadas são mostradas na **Fig. 4**.

Usando análise de sensibilidade, concluímos que 39 dos 43 parâmetros eram sensíveis. Analisando os gráficos das funções de Hill, mostradas na **Fig. 3**, bem como suas respectivas equações,

mostrou que para \tilde{y} , $\frac{(\tilde{y})}{\tilde{y} + \tilde{y}} e$ aproximou de 0, enquanto $\frac{(\tilde{y})}{\tilde{y} + \tilde{y}}$ aproximou 1. Por outro lado, para \tilde{y} , $\frac{(\tilde{y})}{\tilde{y} + \tilde{y}}$ aproximou-se de 1, enquanto $\frac{(\tilde{y})}{\tilde{y} + \tilde{y}}$ se aproximou de 0. Sem limites adequados em \tilde{y} , tentando encaixar o modelo para os dados experimentais forçou esses valores a se tornarem muito grandes ou muito pequenos, dependendo da equação. Encontrar tais limites não é trivial para essas equações e nosso

determinado modelo. Assim, optamos por manter a semi-máxima e seus respectivos expoentes fixados pelos seus valores nominais. Além disso, \tilde{y} e os termos de origem da **Equação 3** foram fixados em seus valores nominais, uma vez que foram fixados com base em valores encontrados na literatura.

Com base nesses ajustes, nosso conjunto de parâmetros foi reduzido ainda mais de 39 para 14 parâmetros sensíveis. A seleção de subconjuntos, por meio do método de correlação [22], foi usada para separar os definidos em parâmetros identificáveis e não identificáveis. Um parâmetro não é *identificável* se for linearmente dependente dos valores dos outros parâmetros no modelo. Esta análise produziu um conjunto de 13 parâmetros sensíveis e identificáveis.

Estimativa de Parâmetros. Como mencionado anteriormente, o objetivo era encontrar um conjunto de parâmetros que minimizou o erro de mínimos quadrados dado na **Equação 4**. Os parâmetros foram estimado usando a função de otimização interna do MATLAB *fminsearch*, um otimizador irrestrito que usa o método de busca direta Nelder-Mead [23, 24]. Mantendo o outros parâmetros fixos, os 13 parâmetros identificados por meio de análise de sensibilidade e seleção de subconjunto foram estimados. Os valores ótimos dos parâmetros, bem como suas médias e desvios padrão, são mostrado na **Tabela A3** do APÊNDICE.

Intervalos de Previsão e Confiança. Após obter os valores dos parâmetros otimizados, predição e intervalos de confiança foram usados para quantificar a quantidade de variação no modelo otimizado. O *intervalo de previsão* prevê onde uma única nova medição será com uma probabilidade $(1-\hat{y})$ em um determinado ponto de tempo. Fornece informações sobre a distribuição do valores de saída do modelo, não a incerteza associada à determinação da média populacional. Para encontre um intervalo de predição, seja \hat{y} seja uma estimativa da resposta do modelo no tempo = t , seja o matriz de sensibilidade obtida por meio de uma aproximação de diferença direta [21] nos momentos em que os dados foi coletado = $(0, 1, \dots, t)$, \hat{y} ser um estimador de \hat{y}^2 , onde os parâmetros estimados são distribuído normalmente com variância $\hat{y}^2 (\hat{y}^1)$, e seja o \hat{y} linha da matriz de sensibilidade avaliado no momento = $(\hat{y}_0, \hat{y}_1, \dots, \hat{y}_t)$. Observe que, em geral, $(\hat{y}_0, \hat{y}_1, \dots, \hat{y}_t) \cdot \tilde{y} (\hat{y}_0, \hat{y}_1, \dots, \hat{y}_t)$; isso é, a hora em que o intervalo de previsão está sendo calculado é diferente da hora em que os dados foram coletados. O intervalo de previsão é então dado por

$$PI = \hat{y} \pm \sqrt{\hat{y}^2 (1 + (\hat{y}^1)^2)}^{1/2}, \quad (5)$$

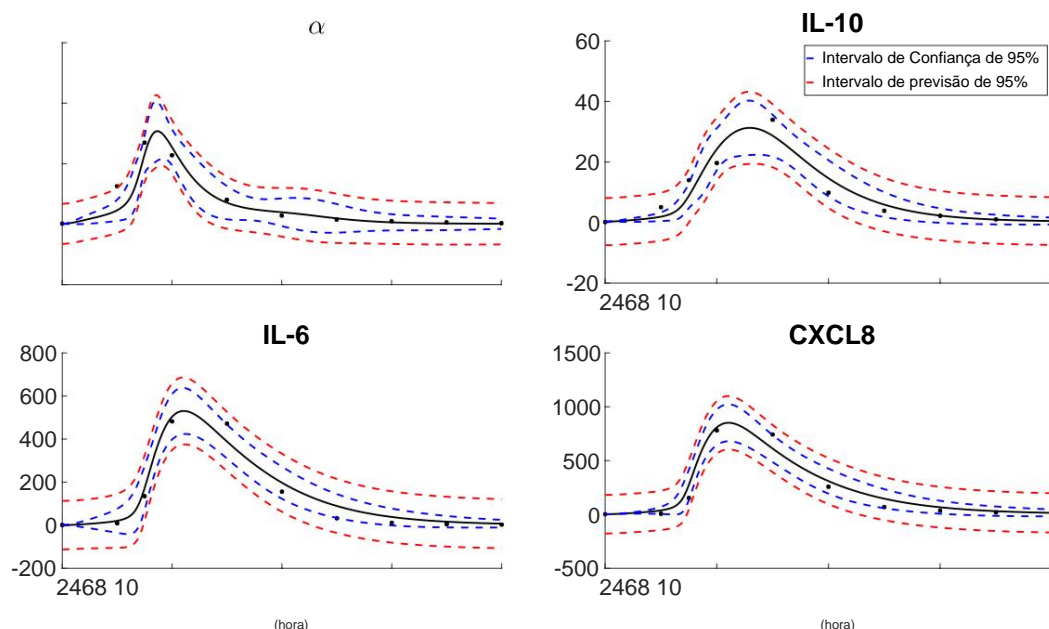


FIG 5. **Dados experimentais, previsões de modelos e intervalos de previsão e confiança.** Previsões de dados e modelos para um sujeito após administração intravenosa de endotoxina (preto). Os intervalos de confiança (azul) e de previsão (vermelho) também são mostrados. O participante recebeu 2 ng/kg de peso corporal de endotoxina em = 2, e os níveis de citocinas foram medidos = 2, 3, 3,5, 4 e de hora em hora pelas próximas 4 horas. Os pseudodados foram adicionados em = 9 e = 10 para garantir que as citocinas tivessem tempo apropriado para decair.

onde n é o número total de pontos de dados, p é o número de parâmetros que estão sendo estimados, e

$t_{\alpha/2, n-p}$ é o quantil $(1 - \alpha/2)$ de uma distribuição t de Student com $n-p$ graus de liberdade. Por nossa análise, estávamos interessados no intervalo de previsão de 95%, então $\alpha = 0,05$.

O *intervalo de confiança* mede a incerteza do modelo em prever a média resposta e é dada pela seguinte expressão

$$IC = \hat{y} \pm t_{\alpha/2, n-p} \sqrt{\hat{\sigma}^2 \left(\frac{1}{n} + \frac{(\hat{x} - \bar{x})^2}{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \right)} \quad (6)$$

Comparando as Eqs. (5) e (6), nota-se que o intervalo de predição é maior que o intervalo de confiança. A derivação das Eqs. (5) e (6) podem ser encontrados em [25]. Observe que na Eq. (6), o segundo termo será 0 em $\hat{x} = \bar{x}$ pois $\bar{x} = 0$, devido às condições iniciais. Na Fig. 1, nós destacou os dados do sujeito que representavam a dinâmica média da população. As previsões do modelo juntamente com os intervalos de confiança e previsão para este assunto são mostrado na Fig. 5. Observe que, devido à natureza das equações, a previsão e a confiança intervalo pode ser negativo, mas na prática os níveis de citocinas são sempre positivos.

RESULTADOS

Conforme ilustrado na **Fig. 5**, a injeção intravenosa de LPS dá origem à rápida produção de citocinas mensuráveis na corrente sanguínea. Esta resposta foi observada em 45 minutos para uma hora para ocorrer. Observe que a **Fig. 5** mostra a dinâmica das citocinas após a injeção de LPS. Cada sujeito recebeu LPS em $t = 2$, portanto, os gráficos também começam em $t = 2$. Os monócitos compõem o principal subconjunto de células dentro do sangue para responder à estimulação LPS [26]. Após a ligação do LPS ao TLR4, os monócitos serão ativados e responderão com a produção de citocinas onde alguns serão secretados rapidamente após a ativação, enquanto outros requerem biossíntese *de novo*, e têm um tempo de resposta mais longo. Os monócitos ativados circulantes induzem a produção de TNF- α , 1,5 a 2 horas após a injeção inicial de LPS. Os monócitos ativados também começam produção de IL-6 e CXCL8 em 2 a 2,5 horas após a injeção. O anti-inflamatório citocina IL-10 aparece mais tarde [12] do que as citocinas pró-inflamatórias, sendo mensurável em 2,75 a 3 horas após a exposição ao LPS. Esta produção inibe a contínua inflamação. Prova disso é o fato de que o momento em que o pró-inflamatório citocinas começaram a diminuir coincide com o momento em que a IL-10 atingiu o pico, em torno de 2,25 a 2,75 horas. Uma vez que o LPS é eliminado da corrente sanguínea, as citocinas retornarão à sua linha de base níveis.

Os valores dos parâmetros otimizados são mostrados na **Tabela A3**. Usamos a previsão e intervalos de confiança mostrados na **Fig. 5** para quantificar a precisão do modelo e os parâmetros capacidade de representar os dados. Os dados de resposta individual que distinguem do conjunto de dados médios são identificadas como linhas tracejadas na **Fig. 1**. A previsão do modelo para um indivíduo mostrando uma anormalidade resposta juntamente com o conjunto de dados médio é mostrado na **Fig. 6**.

Avaliação Estatística

O R^2 estatística foi usada para quantificar a capacidade do modelo para descrever com precisão o dados. Ao ajustar o modelo à média dos dados disponíveis, obtivemos R^2 valores de 0,91, 0,9, 0,97 e 0,97 para TNF- α , IL-10, IL-6 e CXCL8 respectivamente. Assim, podemos concluir que o modelo apresenta um bom ajuste geral aos dados. A previsão e os intervalos de confiança mostrados na **Fig. 5** mostram que o modelo retrata com precisão a resposta média e que a resposta otimizada os valores dos parâmetros fornecem uma previsão razoável dos dados.

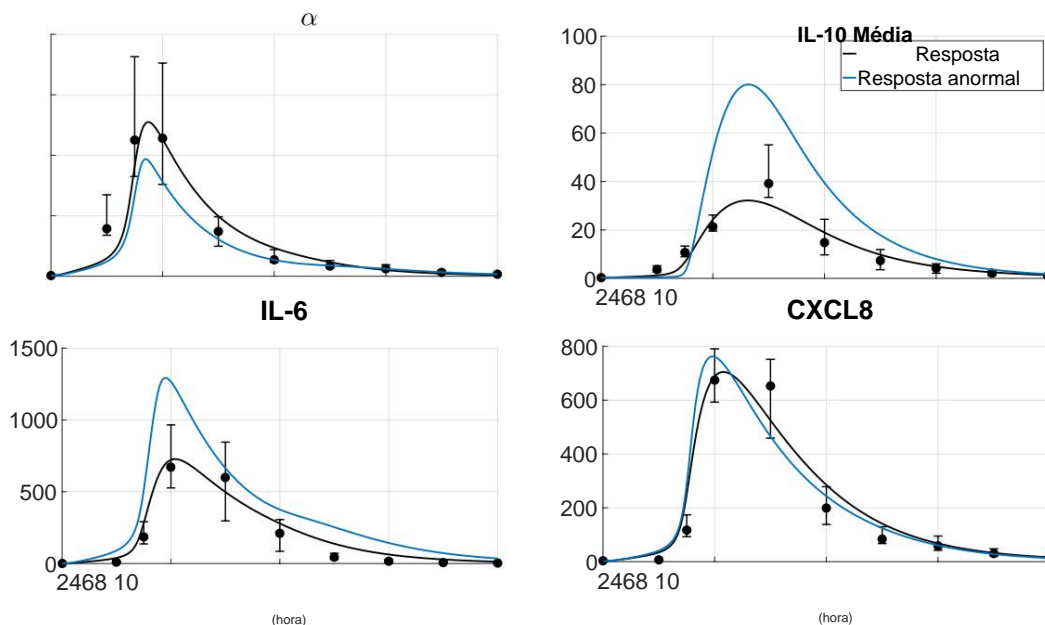


FIG 6. Previsões de modelo para o conjunto de dados médio e um conjunto de dados de resposta individual anormal. O conjunto de dados médio (círculos pretos), as previsões do modelo para o conjunto de dados médio (linha preta), o intervalo interquartil (barras de erro) e as previsões do modelo para um conjunto de dados anormal (linha azul) são mostrados. Os participantes receberam 2 ng/kg de peso corporal de endotoxina em = 2, e os níveis de citocinas foram medidos = 2, 3, 3,5, 4 e de hora em hora pelas próximas 4 horas. Os pseudodados foram adicionados em = 9 e = 10 para garantir que as citocinas tivessem tempo apropriado para decair.

DISCUSSÃO

Neste estudo, geramos um modelo personalizado de resposta de citocinas baseado em medidas da produção de citocinas após a injeção intravenosa de endotoxina de baixa dose em homens saudáveis. As restrições específicas relacionadas aos níveis de resposta individual tornaram necessário construir um modelo personalizado. Variações biológicas como a vista no conjunto de dados mostrado na **Fig. 6** são um fenômeno comum em indivíduos que respondem ao LPS e, portanto, é de grande importância ser capaz de modelar todos os tipos de resposta individuais. É claro que a resposta na anormalidade sujeito é significativamente diferente do conjunto de dados médio para TNF-, IL-10 e IL-6. Este pode ser devido ao fato de que a IL-6 tem um efeito anti-inflamatório no TNF- [2, 16], então uma alta nível de IL-6 pode resultar em níveis mais baixos de TNF-. Além disso, TNF- e IL-10 têm propriedades opostas. papéis na resposta inflamatória, o que pode levar a um alto nível de IL-10 quando o TNF- está baixo. Tais diferenças nos padrões de resposta de citocinas em monócitos à estimulação de LPS foram estudados a nível molecular em ensaios de estimulação *ex vivo*. Com base nesses estudos, parece que as diferenças individuais na expressão e regulação do fator regulador do interferon 3

pode desempenhar um papel na regulação do nível de produção de citocinas específicas após LPS ativação [27].

Essas diferenças nas respostas também causaram contrastes notáveis no parâmetro valores. Por exemplo, θ_6 , a taxa responsável pela quantidade de up-regulation de IL-6 do monócitos ativados, foi muito maior para dados de resposta anormais (conjuntos médios: 0,293, conjunto: 1,33). Como esperado, isso resultou em níveis muito mais altos de IL-6. Por outro lado, θ_6 , a taxa responsável pela quantidade de TNF- secretado pelos monócitos ativados, foi menor no conjunto de resposta anormal (conjuntos médios: 1, conjunto anormal: 0,342). Isso pode explicar os níveis mais baixos de TNF- medido neste indivíduo.

Uma das limitações do modelo foi a escassez dos pontos de dados disponíveis. a maioria das mudanças na dinâmica do sistema ocorre entre 1 e 3 horas após a administração do LPS. Assim, ter mais pontos de dados disponíveis durante esses tempos, talvez a cada 15 minutos, pode ter fornecido resultados mais precisos. Por exemplo, esperamos que o TNF- pico 1,5 a 2 horas após o sujeito receber LPS. No entanto, como os dados foram coletados com intervalos de 30 minutos, às vezes $t = 1, 1,5, 2$ horas, não podemos prever exatamente quando o nível de citocinas picos. Além disso, ter dados para o número de monócitos em repouso e ativados circulantes pode ter fornecido informações sobre por que um determinado sujeito tem uma resposta específica à endotoxina versus outro, uma vez que os monócitos são responsáveis pela cascata de citocinas medida. Outro limitação foi estimar os parâmetros nas funções de Hill. Para personalizar o modelo, podemos exigir valores e expoentes de meia-máxima diferentes para cada assunto. No entanto, nós foram incapazes de encontrar uma maneira eficaz de estimá-los sem que as funções Hill operassem no final da cauda (próximo de um ou zero).

Além da modelagem do desencadeamento direto da produção de IL-10 após a ligação de TLR4 por LPS, modelos anteriores [8] também incluíram uma interação entre IL-10 e TNF- na qual A IL-10 é regulada positivamente pelo TNF-. No entanto, as evidências biológicas que apoiam esta afirmação não encontrado, o que nos leva a acreditar que pode não ser uma interação direta. Em vez disso, poderia ser que a regulação positiva de IL-6 a partir de TNF- [15, 28] induz um aumento nos níveis de IL-10. Para investigar isso, análise de sensibilidade, seleção de subconjunto e otimização foram realizadas em um novo modelo contendo a interação entre IL-10 e TNF-. Uma vez que um parâmetro adequado definido e ajuste do modelo, o Akaike Information Criterion (AIC), uma ferramenta de seleção de modelo usada para comparar diferentes modelos quantitativamente [29], foi usado para medir a qualidade do ajuste com e

sem essa interação. AIC mede a quantidade de informação perdida quando um determinado modelo é usado para descrever o comportamento de um sistema, portanto, quanto menor o valor, melhor. A **Tabela A4** mostra os valores calculados de AIC para o modelo com e sem IL-10 sendo regulado positivamente por TNF- α . Os valores de AIC juntamente com a previsão dos dados de cada modelo, levaram à conclusão de que seria melhor omitir este caminho hipotético/possível.

Embora tenhamos escolhido estudar TNF- α , IL-6, CXCL8 e IL-10, existem muitos outros importantes citocinas e fatores envolvidos no processo inflamatório. Por exemplo, IL-1 é considerada uma das mais importantes citocinas pró-inflamatórias liberadas de monócitos. A ativação induzida por LPS [12] e óxido nítrico promove inflamação e lesão tecidual [8, 14]. Além disso, foi demonstrado que a via de sinalização de endotoxina envolve lipopolissacarídeos proteína de ligação (LBP) e os coativadores diferenciação mielóide-2 (MD-2) e CD14, como bem como TLR4. Cada via de sinalização tem um tempo de reação específico que pode depender da dose de endotoxina, a disponibilidade de co-ativadores, bem como a citocina específica sendo ativado. Por exemplo, Blomkalns et al. [30] descobriram que a liberação de CXCL8 por PBMCs humanas que receberam uma dose baixa de endotoxina foi dependente de ambas as membranas CD14 e TLR4. Além disso, descobriu-se que o reconhecimento por um grupo específico de receptores é associada à estirpe de bactérias [31]. Para aumentar a precisão do nosso modelo, precisamos identificar as vias específicas ativadas e o tempo necessário para a produção da citocina e, em seguida, incorporar esses fatores em nosso modelo.

Em conclusão, desenvolvemos um modelo matemático personalizado da resposta inflamatória em humanos. Este modelo foi construído em medidas sequenciais de citocinas em sangue circulante, mas pode estar conectado a parâmetros altamente correlacionados que são mais facilmente monitorados em pacientes durante a mobilização pós-operatória precoce. Apesar de ter dados escassos e dificuldades em estimar determinados parâmetros, conseguimos fazer um modelo personalizado. Dentro Além dos níveis de citocinas, também temos dados de pressão arterial e frequência cardíaca disponíveis neste experimental. Esperamos expandir o modelo atual para incluir pressão arterial e frequência cardíaca, o que pode fornecer uma ideia de por que alguns pacientes desmaiam após a cirurgia, enquanto outros não. Isso pode levar ao desenvolvimento de terapia pré-operatória que pode ser usada para encurtar o hospital de um paciente estadia, reduzindo os custos de cuidados de saúde e melhorando a qualidade de vida do paciente.

APÊNDICE

Equações do modelo

Abaixo estão as equações diferenciais que modelam a dinâmica do processo inflamatório resposta; eles representam as interações representadas na Fig. 1. Cada regulação para cima ou para baixo é representado por uma função sigmoidal da forma

$$f(y) = \frac{\tilde{y}}{\tilde{y} + 1} \quad \text{ou} \quad f(y) = \frac{\tilde{y}}{\tilde{y} + 1},$$

respectivamente. Aqui, y é a citocina (ou ligante patogênico, no caso dos monócitos) responsável pelo componente de regulação para cima ou para baixo. A metade do valor máximo é representado por \tilde{y} e o expoente associado é \tilde{y} . Essas funções são adimensionais e intervalo entre zero e um. Os valores e unidades nominais dos parâmetros são mostrados na Tabela A2.

TABELA A1: Variáveis de estado e equações do modelo matemático

Patógeno	$\frac{dP}{dt} = \lambda - \mu P$
Em repouso Monócitos	$\frac{dM_0}{dt} = \gamma (1 - f(TNF)) + \delta (1 - f(IL10)) - \mu M_0$
ativado Monócitos	$\frac{dM_1}{dt} = \gamma f(TNF) + \delta f(IL10) - \mu M_1$
Interleucina-6	$\frac{dIL6}{dt} = \alpha_6 + \beta_6 (M_1) - \gamma_6 (IL6) - \delta_6 (IL6 - IL6)$
Tumor Necrose Fator	$\frac{dTNF}{dt} = \alpha_{TNF} + \beta_{TNF} (IL6) - \gamma_{TNF} (TNF) - \delta_{TNF} (TNF - TNF)$
CXCL8	$\frac{dIL8}{dt} = \alpha_8 + \beta_8 (M_1) - \gamma_8 (IL8) - \delta_8 (IL8 - IL8)$
Interleucina-10	$\frac{dIL10}{dt} = \alpha_{10} + \beta_{10} (M_1) - \gamma_{10} (IL10) - \delta_{10} (IL10 - IL10)$

TABELA A2: Valores e unidades nominais dos parâmetros

Nº. Un	Unidade de valor	do parâmetro	ỹ	Nº	Valor do Parâmetro	ỹ106	Unidade
1	10	0,8	ỹ ¹	23		3,68	-
2	10	0,0191	ỹỹỹ#ỹ ¹	24	ỹ6	2	-
3	6	0,66		25	ỹ66	1	-
4	6	0,81	ỹỹỹ#ỹ ¹	26	ỹ610	4	-
5	8	0,66	ỹ	27	ỹ8	3	-
6	8	0,56	ỹỹỹ#ỹ ¹	28	ỹ810	1,5	-
7		1		29	ỹ 10	3	-
8		0,6	ỹỹỹ#ỹ ¹	30	ỹ 6	2	-
9		2,51		31	ỹ 10	0,3	-
10		0,006	ỹ ¹	32	ỹ	3,16	-
11		1,01	ỹ ¹	33	ỹ	1	-
12	610	34,8		34		1,08	
13	66	560		35	10	0,248	
14	6	185		36	8	1,42	
15	810	17,4		37	6	0,317	////
16	8	185		38		0,0414	ỹ ¹
17	106	560	/////	39	ỹ	30000	#
18	10	17,4	/	40	6	0,81	ỹỹỹ#
19	6	560	/	41	8	0,56	ỹỹỹ#
20		3.3	/	42	106	0,0191	ỹỹỹ#
21	10	4.35		43		8,65	ỹ ỹ ¹
22		100	//				

TABELA A3: Valores ótimos de parâmetros.

Parâmetro	Média Otimizada	Nominal Valor	± Valor Padrão Desvio
	0,019	0,028	0,017 ± 0,011
	0,8	1,10	0,899 ± 0,230
	0,66	0,903	0,947 ± 0,315
	0,81	0,295	0,481 ± 0,282
	0,66	0,857	0,883 ± 0,258
	1	2,22	1,74 ± 0,524
	0,6		0,798 ± 0,276
	2,51	1	2,88 ± 1,37
	1,01	2,32 0,631	0,641 ± 0,331
	0,81		1,18 ± 0,581
	0,56	1 1,50	0,830 ± 0,697
	0,0191	3.65e-4	0,012 ± 0,020
	8,65	2,97	7,69± 9,97

Valores de parâmetros ideais e desvio padrão médio mais/menos excluindo conjuntos de dados anormais mostrados na **Figura 1**.

TABELA A4. Resultados do Critério de Informação Akaike.

	sem interação 99.435	com interação
TNF-	105.887 110.812	108.977
IL-6	77.648	114.929
IL-8		118.333
IL-10		87.4316

Valores de AIC para modelo sem IL-10 reguladora de TNF (coluna 2) e um modelo com a interação (coluna 3). Os valores mostrados em negrito indicam o valor mais baixo para uma determinada variável de estado e modelo.

REFERÊNCIAS

1. Janeway, CA, Travers, P., Walport, M., Shlomchik, M., *Imunobiologia: O Sistema Imunológico na Saúde e na Doença*. 5ª edição. 2001: Taylor & Francis, Inc.
2. Schulte W., BJ, Bucala R., *Citocinas em Sepse: Imunoreguladores potentes e alvos terapêuticos potenciais —uma visão atualizada*. Mediadores da Inflamação, 2013. **2013**: p. 16.
3. Torio, CM e RM Andrews, *National Hospital Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2011: Statistical Brief #160*, em *Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs*. 2006, Agência para Políticas de Saúde e Pesquisa (EUA): Rockville (MD).
4. Park, BS, et al., *A base estrutural do reconhecimento de lipopolissacarídeos pelo TLR4-complexo MD-2*. Nature, 2009. 458(7242): p. 1191-5.
5. Copeland, S., et al., *Acute inflamatório resposta à endotoxina em ratinhos e humanos*. Clin Diagn Lab Immunol, 2005. 12(1): p. 60-7.
6. Kumar, R., et al., *A dinâmica da inflamação aguda*. J Theor Biol, 2004. 230(2): p. 145-55.
7. Reynolds, A., et al., *Um modelo matemático reduzido da resposta inflamatória aguda: I. Derivação do modelo e análise da anti-inflamação*. J Theor Biol, 2006. 242(1): p. 220-36.
8. Chow, CC, et al., *A resposta inflamatória aguda em diversos estados de choque*. Choque, 2005. 24(1): p. 74-84.
9. Clermont, G., et al., *Desenho in silico de ensaios clínicos: um método vindo da idade*. Crit Care Med, 2004. 32(10): p. 2061-70.
10. Epstein, NE, *Um artigo de revisão sobre os benefícios da mobilização precoce após cirurgia da coluna vertebral e outros procedimentos médicos/cirúrgicos*. Surg Neurol Int, 2014. 5(Supl 3): p. S66-73.
11. Chambers, JM, *Métodos Gráficos para Análise de Dados*. 1983, Belmont, Califórnia: Wadsworth International Group.
12. Rossol, M., et al., *produção de citocinas induzida por LPS em monócitos e macrófagos humanos*. Crit Rev Immunol, 2011. 31(5): p. 379-446.
13. Palsson-McDermott, EM e LA O'Neill, *Transdução de sinal pelo receptor de lipopolissacarídeo, Toll-like receptor-4*. Imunologia, 2004. 113(2): p. 153-62.
14. Tracey, KJ, *O reflexo inflamatório*. Nature, 2002. 420(6917): p. 853-9.
15. Schulte, W., J. Bernhagen e R. Bucala, *Citocinas na sepse: potentes imunoreguladores e potenciais alvos terapêuticos - uma visão atualizada*. Mediadores Inflamm, 2013. **2013**: p. 165974.
16. Starkie, R., et al., *Exercício e infusão de IL-6 inibem a produção de TNF-alfa induzida por endotoxina em humanos*. FASEB J, 2003. 17(8): p. 884-6.
17. van Deventer, SJ, et al., *Endotoxemia experimental em humanos: análise da liberação e coagulação de citocinas, vias fibrinolíticas e do complemento*. Sangue, 1990. 76(12): p. 2520-6.
18. Martich, GD, et al., *Detecção de interleucina 8 e fator de necrose tumoral em humanos normais após endotoxina intravenosa: o efeito de agentes antiinflamatórios*. J Exp Med, 1991. 173(4): p. 1021-4.
19. Pajkrt, D., et al., *Modulação da liberação de citocinas e função de neutrófilos pelo fator estimulador de colônias de granulócitos durante a endotoxemia em humanos*. Sangue, 1997. 90(4): p. 1415-24.

20. van der Poll, T., et al., *Respostas de citocinas antiinflamatórias durante a sepse clínica e endotoxemia experimental: medições sequenciais do receptor de interleucina solúvel no plasma (IL)-1 tipo II, IL-10 e IL-13*. J Infect Dis, 1997. 175(1): p. 118-22.
21. Kelley, CT, *Métodos Iterativos para Otimização*. 1999, Filadélfia, PA: SIAM.
22. Olufsen, MS e JT Ottesen, *Uma abordagem prática para estimativa de parâmetros aplicada ao modelo de regulação da frequência cardíaca*. J Math Biol, 2013. 67(1): p. 39-68.
23. Bancos, HT, Tran, HT, *Modelagem Matemática e Experimental de Processos Físicos e Biológicos*. 2009, Boca Raton, Flórida: CRC Press.
24. Mathews, JH e KD Fink, *Métodos Numéricos Usando MATLAB*. 3ª edição. 1998: Simão & Schuster.
25. Seber, GAF e CJ Wild, *regressão não linear*. 2003, John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, NJ.
26. Consórcio, *Projeto Genoma Imunológico IG*. [citado em 2016; Disponível em: <https://www.immgen.org/>]
27. Lissner, MM, et al., *Age-Related Gene Expression Differences in Monocytes from Human Neonates, Young Adults, and Older Adults*. PLoS One, 2015. 10(7).
28. Steensberg, A., et al., *IL-6 aumenta IL-1ra, IL-10 e cortisol no plasma em humanos*. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2003. 285(2): p. E433-7.
29. Akaike, H., *A extensão Bayesiana do procedimento AIC mínimo de ajuste de modelo autorregressivo*. Biometrika, 1979. 66(2): p. 237-242.
30. Blomkalns, AL, et al., *A endotoxina bacteriana de baixo nível activa duas vias de sinalização distintas em células mononucleares do sangue periférico humano*. J Inflamm (Londres), 2011. 8: p. 4.
31. Hirschfeld, M., et al., *Signaling by toll-like receptor 2 and 4 agonists resulta em expressão gênica diferencial em macrófagos murinos*. Infect Immun, 2001. 69(3): p. 1477-82.
32. de Waal Malefyt, R., et al., *Interleukin 10(IL-10) inibe a síntese de citocinas por monócitos humanos: um papel autorregulador de IL-10 produzido por monócitos*. J Exp Med, 1991. 174(5): p. 1209-20.
33. Parameswaran, N. e S. Patial, *Sinalização do fator de necrose tumoral-alfa em macrófagos*. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2010. 20(2): p. 87-103.
34. Chai, Z., et al., *A expressão do gene da interleucina (IL)-6 no sistema nervoso central é necessária para a resposta da febre ao lipopolissacarídeo ou IL-1 beta: um estudo em camundongos deficientes em IL-6*. J Exp Med, 1996. 183(1): p. 311-6.
35. Harada, A., et al., *Envolvimento essencial da interleucina-8 (IL-8) na inflamação aguda*. J Leukoc Biol, 1994. 56(5): p. 559-64.
36. Hodge, S., et al., *Metil-prednisolona regula a produção de interleucina-10 de monócitos em sangue total estimulado*. Scand J Immunol, 1999. 49(5): p. 548-53.
37. Sanjabi, S., et al., *Papéis anti-inflamatórios e pró-inflamatórios de TGF-beta, IL-10 e IL-22 na imunidade e autoimunidade*. Curr Opin Pharmacol, 2009. 9(4): p. 447-53.

LEGENDAS DE FIGURAS

FIG 1. **Dados Experimentais.** Respostas de citocinas plasmáticas à administração intravenosa de endotoxinas em 20 homens jovens saudáveis. A mediana (círculo preto), o intervalo interquartil (barras de erro) e o assunto mais alinhado com a média dos dados (vermelho) são representados. A resposta anormal (identificada por meio de gráficos Box-and-Whisker) é indicada por linhas tracejadas. Citocinas pró-inflamatórias, TNF-, IL-6 e CXCL8, e os níveis inflamatórios IL-10 foram medidos em $t = 0, 2, 3, 3.5, 4$ h e em incrementos de uma hora para as próximas 4 horas. Os pseudodados foram adicionados em $t = 9$ e 10 para garantir que as citocinas decaíram para níveis basais (azul). A endotoxina foi administrada em $t = 2$.

FIG 2: **Interações inflamatórias.** A injeção intravenosa de LPS ativa os monócitos circulantes (MR), transformando-os em monócitos ativados (MA). Isso inicia a produção de TNF-

- Ao mesmo tempo, os monócitos são ativados para produzir IL-6 e CXCL8. Todas as três citocinas funcionam em um ciclo de feedback positivo, amplificando a resposta inflamatória ativando mais monócitos para estimular a produção de IL-6, CXCL8 e TNF-. Além disso, o estímulo do LPS, bem como citocinas pró-inflamatórias, regulam positivamente a produção de IL-10, que inibe a produção prolongada de citocinas pró-inflamatórias. As linhas contínuas representam a regulação para cima, enquanto a linha tracejada representa a regulação para baixo.

FIG 3. **Funções de Hill.** Funções de regulação para cima e para baixo (esquerda e direita, respectivamente). A taxa de reação, v , é uma função do valor de meia saturação, K_m , e a concentração do substrato, S .

FIG 4: **Sensibilidades Classificadas.** Sensibilidades de parâmetros classificadas da mais para a menos sensível. Preto linha mostra o corte entre os parâmetros sensíveis e insensíveis. Os círculos vermelhos indicam parâmetros que foram otimizados (ou seja, sensíveis e identificáveis).

FIG 5. **Dados experimentais, previsões de modelos e intervalos de previsão e confiança.**

Previsões de dados e modelos para um sujeito após administração intravenosa de endotoxina (preto).

Os intervalos de confiança (azul) e de previsão (vermelho) também são mostrados. O participante recebeu 2 ng/kg de peso corporal de endotoxina em $t = 2$, e os níveis de citocinas foram medidos $t = 2, 3, 3.5, 4$ e de hora em hora pelas próximas 4 horas. Os pseudodados foram adicionados em $t = 9$ e 10 para garantir que as citocinas tivessem tempo apropriado para decair.

FIG 6. **Previsões de modelo para o conjunto de dados médio e um conjunto de dados de resposta individual anormal.** O conjunto de dados médio (círculos pretos), as previsões do modelo para o conjunto de dados médio (linha preta), o intervalo interquartil (barras de erro) e as previsões do modelo para um conjunto de dados anormal (linha azul) são mostrados. Os participantes receberam 2 ng/kg de peso corporal de endotoxina em $t = 2$, e os níveis de citocinas foram medidos $t = 2, 3, 3.5, 4$ e de hora em hora pelas próximas 4 horas. Os pseudodados foram adicionados em $t = 9$ e 10 para garantir que as citocinas tenham tempo apropriado para decair.