



Um modelo matemático da Dinâmica da expressão de citocinas e ativação de células imunes humanas em resposta ao patógeno

Staphylococcus aureus

Kian Talaei 1,2,3*, Steven A. Garan1,2, Barbara de Melo Quintela4 Mette S. Olufsen5, Joshua Cho1,2,6, Julia R. Jahansooz 1,3, Puneet K. Bhullar 1,7, Elliott K. Suen1,8, Walter J. Piszker 1,6, Nuno RB Martins Matheus1,6,4, Moreira de Paula4 e Marcelo Rodrigo Weber dos Santos 4

OPEN ACCESS

Editado por:

Luciana Balboa,

Academia Nacional de Medicina,

Argentina

Revisados pela:

Maria Cernada,

Hospital Universitario La Fe, Espanha

Surya Prakash Pandey,

Universidade de Pittsburgh, Estados Unidos

*Correspondência:

Kian Talaei

Kian_t97@berkeley.edu

Seção de especialidades:

Este artigo foi submetido a

Micróbios e Imunidade Inata, uma seção

da revista

Fronteiras no celular

e Microbiologia de Infecções

Recebido: 18 de maio de 2021

Aceito: 14 de outubro de 2021

Publicado: 10 de novembro de 2021

Citação:

Talaei K, Garan SA, Quintela BM,

Olufsen MS, Cho J, Jahansooz JR,

Bhullar PK, Suen EK, Piszker WJ,

Martins NRB, Moreira de Paula MA,

dos Santos RW e Lobosco M

(2021) Um modelo matemático do

Dinâmica da expressão de citocinas e

ativação de células imunes humanas

em resposta ao patógeno

Staphylococcus aureus.

Fronte. Célula. Infectar. Microbiol. 11:711153.

doi: 10.3389/fcimb.2021.711153

1 Centro de Pesquisa e Educação em Envelhecimento, Universidade da Califórnia, Berkeley, Berkeley, CA, Estados Unidos, 2 Lawrence

Laboratório Nacional de Berkeley, Berkeley, CA, Estados Unidos, 3

Departamento de Biologia Integrativa, Universidade da Califórnia,

Berkeley, Berkeley, CA, Estados Unidos, 4

Departamento de Ciência da Computação, Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora,

Brasil, 5 Departamento de Matemática, North Carolina State University, Raleigh, Carolina do Norte, Estados Unidos, 6

Faculdade de Química,

Universidade da Califórnia, Berkeley, Berkeley, CA, Estados Unidos, 7

Mayo Clinic Alix School of Medicine, Scottsdale, AZ, Estados Unidos

Estados, 8 Departamento de Biologia Molecular e Celular, Universidade da Califórnia, Berkeley, Berkeley, CA, Estados Unidos

Modelos matemáticos baseados em células foram desenvolvidos anteriormente para simular o sistema imunológico em resposta a patógenos. Papéis de **modelagem matemática** que estudam a resposta imune humana a patógenos **previram concentrações de uma variedade de células**, incluindo macrófagos ativados e em repouso, células plasmáticas e anticorpos. **Este estudo visa criar um modelo matemático abrangente que possa prever os níveis de citocinas em resposta a uma bactéria gram-positiva, S. aureus**, acoplando modelos anteriores. Para isso, as citocinas Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 8 (IL-8) e Interleucina 10 (IL-10) são incluídas para quantificar a relação entre a liberação de citocinas de macrófagos e a concentração do patógeno, *S. aureus*, ex vivo. **Equações diferenciais parciais (PDEs)** são usadas para modelar a **resposta celular e equações diferenciais ordinárias (ODEs)** são usadas para modelar a resposta de citocinas, e as interações entre ambos os componentes produzem uma compreensão mais robusta e completa do nível de sistemas da ativação imune. No modelo de celular e citocina acoplado descrito neste artigo, uma baixa concentração de *S. aureus* é usada para estimular a resposta celular medida e a expressão de citocina. Os resultados mostram que nosso modelo de ativação celular e expressão de citocinas caracterizando condições sépticas pode prever mecanismos ex vivo em resposta a bactérias gram-negativas e gram-positivas. **Nossas simulações fornecem novos insights sobre como o sistema imunológico humano responde a infecções de diferentes patógenos.** Novas aplicações desses insights **ajudam no desenvolvimento de ferramentas e protocolos mais poder**

Palavras-chave: citocinas, modelagem matemática, resposta imune, sistema imune, *Staphylococcus aureus*, resposta de citocinas, ativação celular

1. INTRODUÇÃO

O sistema imunológico humano consiste na resposta imune inata e adaptativa. A imunidade inata compreende múltiplas linhas de defesa começando com pele, saliva e várias secreções e terminando com leucócitos não específicos, enquanto a imunidade adaptativa se refere a uma resposta específica de longo prazo iniciada para eliminar um patógeno específico (Kim et al., 2007; Mirzaei et al., 2020). Os leucócitos do sistema imunológico geralmente estão na forma de neutrófilos, macrófagos, eosinófilos ou células natural killer. Sua função primária é realizar a fagocitose de patógenos e restos celulares por meio de engolfamento e degradação química (Badwey e Karnovsky, 1980). Se o sistema imune inato é insuficiente para eliminar o patógeno, ele ativa o sistema imune adaptativo, que é composto principalmente por células B e células T, conhecidas por sua especificidade na função (Zhang e An, 2007). As células B produzem e recrutam anticorpos que marcam antígenos nas células infectadas para que as células T as destruam posteriormente (Winer et al., 2011). Além disso, as células B e T desempenham um papel na produção de citocinas, que são pequenas proteínas de sinalização liberadas pelos leucócitos que facilitam a comunicação entre as células imunes.

Uma dessas proteínas sinalizadoras é o TNF- α , que é fundamental para a reação de fase aguda durante uma resposta inflamatória. Em resposta à sepse, o TNF- α , um regulador das células imunes, funciona regulando positivamente outras citocinas, incluindo IL-1 e IL-6 (Feuerstein et al., 1994). A IL-6 está envolvida em processos inflamatórios e homeostáticos, mas embora seja principalmente uma citocina pró-inflamatória, ela também pode atuar como uma citocina anti-inflamatória por meio de seus efeitos inibitórios sobre o TNF- α . Durante a inflamação e o atraso na apoptose das células T, a IL-6 é crítica para o recrutamento de células T e a produção de células B e T (Fournier e Philpott, 2005). Da mesma forma, a IL-8 também está envolvida no recrutamento de células T, bem como de basófilos e neutrófilos (Holmes et al., 1991). A IL-8 mostrou ser induzida por TNF- α e inibida por IL-10 (Yao et al., 1996; Osawa et al., 2002), que é uma citocina anti-inflamatória crítica na regulação das respostas imunes (de Waal Malefyt et al., 1991). Em particular, IL-10 limita a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-6, enquanto regula negativamente a expressão de TNF- α , citocinas T helper tipo 1 e moléculas de classe 2 do complexo principal de histocompatibilidade (Iyer e Cheng, 2012; Ip et al., 2017). Além disso, a IL-10 atua como um imunorregulador, mantendo a homeostase e prevenindo danos ao hospedeiro durante a infecção (Fournier e Philpott, 2005; Ip et al., 2017).

Em um nível fundamental, o sistema imunológico inato é capaz de reconhecer e responder a uma ampla gama de gatilhos. Para isso, evoluiu para incluir receptores de reconhecimento de padrões (PRRs) que são capazes de reconhecer padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) (Chandler e Ernst, 2017). PAMPs são características em micróbios que são vitais, comuns e, mais importante, conservadas. Presente em quase todas as paredes celulares bacterianas, o peptidoglicano (PepG) é essencial para a manutenção da estrutura e forma celular (Hergott et al., 2016). PepG protege as células de estourar devido ao turgor ou em resposta a estressores ambientais. Os componentes lipídicos das membranas celulares também contêm

marcadores reconhecíveis e estimuladores. O ácido lipoteicoico (LTA), uma marca registrada das bactérias gram-positivas, consiste em um glicolípido covalentemente ligado a um polímero hidrofílico de glicerofosfato. O componente glicolípido localiza-se na bicamada lipídica das membranas celulares. Tanto PepG quanto LTA são reconhecidos pelo sistema imunológico inato e podem desencadear a liberação sistêmica de citocinas (Hergott et al., 2016). Quando injetados em ratos durante um estudo in vivo, PepG e LTA atuaram em conjunto para desencadear a liberação de TNF- α (De Kimpe et al., 1995).

Uma designação primária na classificação de bactérias gram-negativas é a presença de lipopolissacarídeo (LPS), em vez de LTA, como parte da membrana celular externa. O LPS, também conhecido como endotoxina, é um dos imunoestimulantes mais potentes (Alexander e Rietschel, 2001) e consiste em um polímero de glicano, núcleo de oligossacarídeo e lipídio de âncora de membrana (Alexander e Rietschel, 2001; Cavaillon, 2018). O reconhecimento fisiológico do componente lipídico pelo sistema imunológico causa atividade de citocina pró-inflamatória (Alexander e Rietschel, 2001; Liu et al., 2018; Monguió-Tortajada et al., 2018; Tawfik et al., 2020). A endotoxina é o principal impulsor da ativação de citocinas pró e anti-inflamatórias em infecções bacterianas gram-negativas (Feezor et al., 2003; Tawfik et al., 2020). As condições inflamatórias induzidas por endotoxinas causam níveis de expressão de citocinas semelhantes aos encontrados em condições sépticas devido a uma bactéria gram-positiva, como *S. aureus*, uma das bactérias mais comuns encontradas na superfície da pele humana (Foster, 2004; Tawfik et al., 2020). O *S. aureus*, caracterizado por sua camada espessa de PepG e LTA, é conhecido por estimular o sistema imunológico por meio da liberação de toxinas na corrente sanguínea (Feezor et al., 2003; McNicholas et al., 2014). LTA e PepG são as principais fontes de ativação de citocinas em resposta a infecções bacterianas gram-positivas (Feuerstein et al., 1994; De Kimpe et al., 1995; Lowings et al., 2009; Cole et al., 2014) cuja níveis podem ser previstos usando modelos matemáticos.

A modelagem matemática de sistemas biológicos complexos tem o potencial de elucidar propriedades emergentes de intrincadas vias biológicas dentro do corpo humano (DiLeo et al., 2009; Möbius e Laan, 2015; Morel et al., 2017; Caudill e Lynch, 2018; Meier-Schellersheim et al., 2019). Em particular, a pesquisa do sistema imunológico pode se beneficiar de simulações in silico de respostas de drogas e patógenos, que fornecem uma compreensão mais profunda da dinâmica do sistema que pode ser aplicada para projetar melhores protocolos de diagnóstico e tratamento (Chow et al., 2005; Eftimie et al., 2016).

Em geral, a experimentação in silico fornece uma alternativa para testes que são difíceis, impraticáveis, caros ou potencialmente antiéticos para realizar in vivo (Winslow et al., 2012; Nijhout et al., 2015). Além disso, eles fornecem uma plataforma mais segura e econômica para testes clínicos de medicamentos, pois os potenciais candidatos a medicamentos podem ser "pré-selecionados" (Winslow et al., 2012). Simulações anteriores modelaram com sucesso macrófagos ativados e em repouso, plasmócitos, anticorpos, células T auxiliares, linfócitos T e linfócitos B em resposta ao patógeno *S. aureus* (Quintela et al., 2014; Alvarez et al., 2019). No entanto, eles não levaram em conta as interações entre a resposta celular e de citocinas (Altan-Bonnet e Mukherjee, 2019; Torres et al., 2019; Du e Yuan, 2020).

O modelo matemático aqui apresentado, amplia estudos anteriores, levando em consideração a interconectividade entre as respostas celulares e de citocinas e captura a dinâmica ex vivo e potencial in vivo da resposta imune (Quintela et al., 2014; Brady et al., 2016). Este estudo se concentra em examinar a resposta imune à estimulação aguda por um patógeno, que leva a uma cascata de sinais celulares que recrutam leucócitos, ou glóbulos brancos, em todo o corpo (Hoebe et al., 2004; Anderson et al., 2019; Xue e Falcão, 2019). As citocinas de interesse incluem TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-10, pois são cruciais nas vias de sinalização a jusante que afetam as respostas inflamatórias e outras dentro do sistema imunológico (Khoa et al., 2003).

Além disso, vários agentes farmacêuticos podem influenciar essas citocinas, incluindo Fosfomicina (FOM) (Michalopoulos et al., 2011), Claritromicina (CAM) (PubMedHealth, 2018), Dexametasona (DEX) e glicocorticóides (Johnson et al., 2021). FOM é um antibiótico que rompe as paredes celulares de bactérias, especificamente a bactéria gram-positiva *S. aureus*, que bloqueia a produção de IL-8 e amplifica a síntese de IL-6 e IL-10 (Morikawa et al., 1996; Lan et al., 2018; Zheng et al., 2020). CAM é um antibiótico macrolídeo que diminui a propagação de bactérias enquanto aumenta a produção de IL-10 (Morikawa et al., 1996). DEX é um esteróide que dificulta o sistema imunológico na presença de inflamação (Johnson et al., 2021) reduzindo a produção de IL-6 e IL-10 (Morikawa et al., 1996).

O modelo matemático que representa a via básica da resposta imune humana padrão ao *S. aureus* (Quintela et al., 2014) foi acoplado a um modelo matemático que prevê a resposta da citocina ao LPS (Wang et al., 2000; Brady et al., 2016). Embora os dois modelos que foram acoplados representassem respostas a diferentes patógenos (bactérias gram-positivas vs gram-negativas), em ambos os casos as concentrações de citocinas são calculadas como funções de macrófagos ativados. Assim, as interações fundamentais entre macrófagos e citocinas são semelhantes. Várias fontes da literatura explorando a resposta imune a PepG, LTA e *S. aureus* em conjunto com LPS sugerem que nossa suposição envolvendo ambos os antígenos é razoável (Fournier e Philpott, 2005; Zhang e An, 2007).

O *S. aureus* foi escolhido porque é um patógeno oportunista e, notadamente, é uma das principais causas de infecções com risco de vida, incluindo sepse (Kwiecinski e Horswill, 2020).

O seguinte modelo matemático é formulado usando um sistema de equações diferenciais ordinárias (ODEs) e equações diferenciais parciais (PDEs) emulando as intrincadas relações entre o patógeno, citocinas e células dentro do sistema imunológico humano. Conforme descrito em detalhes abaixo, os PDEs são usados para representar as características espaciais do modelo celular, enquanto os ODEs são usados para modelar a dinâmica de ativação de citocinas. Este modelo é usado para simular a ativação celular e de citocinas induzida por uma dose baixa de *S. aureus*. Os resultados mostram que o modelo matemático de citocina celular proposto pode ser usado para prever dados experimentais ex vivo e in vivo induzidos por um determinado patógeno.

2 MÉTODOS

2.1 Dados Experimentais Nossos modelos matemáticos acoplados são validados usando dados de dois estudos. A primeira mediu as concentrações de citocinas de sangue humano total induzidas por PAMPs de *S. aureus* em machos saudáveis e a segunda mediu a expressão de citocinas de células endoteliais humanas removidas e induzidas por uma dose baixa de *S. aureus*. As descrições dos experimentos são ainda referenciadas na Tabela 1.

2.1.1 Resposta Ex Vivo do Sangue Total Humano aos PAMPs de *S. aureus* Primeiramente, incorporamos dados de estudos ex vivo que predizem a resposta aos PAMPs de *S. aureus*. Este estudo utilizou dados de sangue total coletados de voluntários saudáveis (Wang et al., 2000). O PepG foi isolado de *S. aureus*, purificado com ácido fluorídrico e armazenado a -20°C. O sangue venoso de indivíduos saudáveis foi anticoagulado com citrato de sódio e analisado após a remoção da incubação na presença ou ausência de 10 mg de PepG ou 100 mg de LTA por ml de sangue nos níveis 1, 3, 6, 12 e 24- marca de hora. O plasma removido durante esses períodos de tempo foi centrifugado a 7.000 \times g por 2 min e armazenado a -20°C para análises usando o imunoenensaio enzimático específico para TNF- α , IL-6 e IL-10.

TABELA 1 | Dados experimentais utilizados na formulação e validação dos modelos matemáticos.

Experimental Seção	Descrição	Referência
2.1.1	Usa dados de sangue humano total coletados de voluntários saudáveis. O PepG foi isolado de <i>S. aureus</i> , purificado com ácido fluorídrico e armazenado a -20°C. O sangue venoso de indivíduos saudáveis foi anticoagulado com citrato de Na e analisado após a remoção da incubação na presença ou ausência de 10 mg de PepG ou 100 mg de LTA por ml de sangue nos níveis 1, 3, 6, 12 e 24- marca de hora. O plasma removido durante esses períodos de tempo foi centrifugado a 7.000 \times g por 2 min e armazenado a -20°C para análises usando o imunoenensaio enzimático específico para TNF- α , IL-6 e IL-10.	Wang et al., 2000
2.1.2	As células endoteliais (CE) da veia umbilical humana foram removidas e mantidas em cultura de tecidos com 5,5% de CO ₂ . As CEs foram analisadas após a remoção da incubação na presença de 108 UFC de <i>S. aureus</i> por ml na marca de 1, 3, 6, 12 e 24 horas. Os ECs foram removidos da incubação e centrifugados por 30 min para análise usando ensaio imunoenzimático (ELISA) para medir os níveis de proteína IL-8 nas amostras infectadas.	Yao et al., 1996
2.1.3	Cada participante estava sob supervisão do sinal de ECG durante todo o experimento. O experimento foi iniciado com uma injeção de uma dose baixa (2 ng/kg de peso corporal) de LPS. Amostras de sangue foram coletadas antes das injeções de LPS, então em t=2, 3, 3,5, 4, 5, 6, 7 e 8 horas. O protocolo experimental foi repetido duas vezes e, para reduzir o risco de tolerância à endotoxina, os dois dias de experimentação foram espaçados de 4 semanas. Após cada dia de experimentação, as amostras foram coletadas em tubos de EDTA (Greiner bio-one, Alemanha), centrifugadas a 4°C a 3500 rpm, depois analisadas quanto às concentrações de citocinas usando ELISA. Os dados dos participantes foram então analisados para entender os efeitos das mudanças na expressão de citocinas, particularmente TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-10.	Brady et al., 2016

marca de 24 horas. O plasma removido durante esses períodos de tempo foi centrifugado a $7.000 \times g$ por 2 min e armazenado a -20°C para análises usando o imunoenensaio enzimático específico para TNF- α , IL-6 e IL-10 (Wang et al., 2000).

2.1.2 Resposta Ex Vivo das Células Endoteliais Humanas ao S. aureus No segundo estudo, as células endoteliais (CE) da veia umbilical humana foram removidas e mantidas em cultura de tecidos com 5,5% de CO_2 . As CEs foram analisadas após a remoção da incubação na presença de 108 UFC de S. aureus por ml na marca de 1, 3, 6, 12 e 24 horas. Os ECs foram removidos da incubação e centrifugados por 30 min para análise usando ensaio imunoenzimático (ELISA) para medir os níveis de proteína IL-8 nas amostras infectadas (Yao et al., 1996).

Os dados experimentais foram coletados para formular modelos matemáticos de citocinas celulares. No entanto, os dados experimentais ex vivo para cada citocina foram medidos em diferentes unidades. As experiências de sangue total para TNF- α , IL-6 e IL-10 foram medidas em concentrações relativas, enquanto as células endoteliais de uma veia umbilical para IL-8 foram medidas em ng/ml. Os experimentos de modelo baseados em citocinas de endotoxina para todas as citocinas acima mencionadas foram medidos em pg/ml. Como resultado, um fator de conversão foi implementado para comparar as citocinas entre si e com os resultados do modelo de simulação. Esse fator de conversão usou uma métrica de unidade relativa ao valor de pico dos dados de 24 horas. Uma avaliação tempo-a-tempo do valor mínimo foi dividida pela diferença entre os valores máximo e mínimo daquela instância.

concentração relativa

$$= \frac{\min (\frac{1}{2} \text{ citocina })_t}{\max (\frac{1}{2} \text{ citocina })_t - \min (\frac{1}{2} \text{ citocina })_t} \quad (1)$$

Para garantir o acoplamento adequado, as expressões matemáticas das citocinas foram inicialmente derivadas das concentrações de citocinas em machos saudáveis induzidos com baixas doses de LPS.

2.1.3 Níveis de citocinas humanas in vivo Resposta ao LPS Os dados de citocinas foram extraídos de estudos anteriores, aprovados pelo Comitê Regional de Ética em Pesquisa em Saúde (protocolo ID H-3-2012-011) e pelo Conselho Regional de Monitoramento de Dados (ID j-2007 -58-0015, local 30-0766), e relatado para clinicaltrials.gov (NCT01592526) (Brady et al., 2016). Os participantes foram recrutados por meio de publicidade pública em Copenhague, na Dinamarca, e foram obrigados a atender protocolos de segurança específicos para o estudo. O estudo utilizou dados de 20 homens adultos saudáveis com idades entre 18 e 35 anos. Os critérios de inclusão foram sexo masculino, idade entre 18 e 35 anos, bom estado geral de saúde, índice de massa corporal $< 30 \text{ kg/m}^2$ e consentimento informado do participante do estudo. Os critérios de exclusão foram ingestão diária de medicamentos, tabagismo, reação alérgica à nicotina e esplenectomia.

Cada participante estava sob supervisão do sinal de ECG durante todo o experimento. O experimento foi iniciado com uma injeção de uma dose baixa (2 ng/kg de peso corporal) de LPS. Amostras de sangue foram coletadas antes das injeções de LPS, então em $t=2, 3, 3,5,$

4, 5, 6, 7 e 8 horas. O protocolo experimental foi repetido duas vezes e, para reduzir o risco de tolerância à endotoxina, os dois dias de experimentação foram espaçados de 4 semanas.

Após cada dia de experimentação, as amostras foram coletadas em tubos de EDTA (Greiner bio-one, Alemanha), centrifugadas a 4°C a 3500 rpm, depois analisadas quanto às concentrações de citocinas usando ELISA (Brady et al., 2016). Os dados dos participantes foram então analisados para entender os efeitos das mudanças na expressão de citocinas. Esses dados in vivo que medem a resposta da citocina citocina foram usados para testar os modelos de equação diferencial (Quintela et al., 2014; Brady et al., 2016).

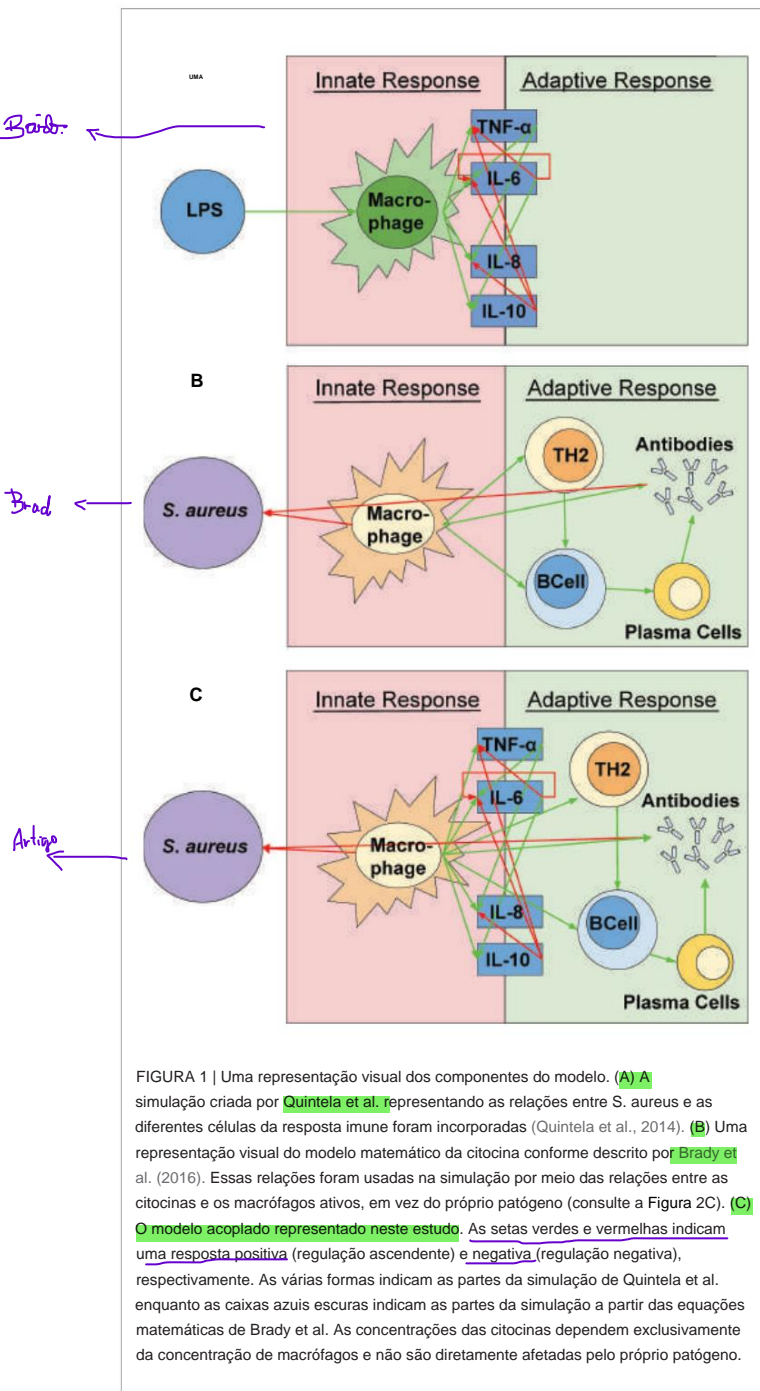
* 2.2 Modelo Matemático Um novo modelo

matemático celular-citocina (mostrado na Figura 1) combinando o modelo celular de Quintela et al. e o modelo de citocina inflamatória de Brady et al. é proposto (Quintela et al., 2014; Brady et al., 2016). O modelo celular de Quintela et al. prevê a ativação da resposta imune adquirida por macrófagos ativados atuando como células apresentadoras de antígenos para a bactéria S. aureus, presente em uma porção do tecido pulmonar. A previsão de macrófagos em repouso e ativados é usada como entrada para o novo modelo de citocina celular que prevê a resposta de citocina a um patógeno. O novo modelo celular-citocina descrito por um sistema de equações diferenciais parciais (PDEs) e ordinárias (ODEs) é resolvido em um período de 24 horas.

O modelo celular é primeiro resolvido em C++ e então usado como entrada para o novo modelo celular-citocina, cujas ODEs são resolvidas no MATLAB, e os estados previstos são comparados com os dados experimentais para as concentrações celulares e de citocinas em resposta à infecção bacteriana com S. aureus.

Conforme observado na introdução, vários estudos de pesquisa concluíram que a resposta do hospedeiro a bactérias gram-positivas e gram-negativas fornece ativação semelhante de citocinas pró e anti-inflamatórias (Feezor et al., 2003; Fournier e Philpott, 2005). Em um estudo ex vivo de 52 pacientes saudáveis, Feezor et al. concluíram que a ativação de TNF- γ , IL-8 e IL 10 induzida por LPS e S. aureus não apresentam diferença significativa na ativação celular e na expressão de citocinas. Isto é corroborado pelos estudos de De Kimpe et al., 1995; Feezor et al., 2003; Fournier e Philpott, 2005, descobriram que LTA e PepG que promovem a ativação de propriedades pró-inflamatórias, anti-inflamatórias e quimioatrativas têm efeitos semelhantes como resposta do hospedeiro ao LPS. Como resultado, a combinação de LPS de bactérias gram-negativas e PAMPs de bactérias gram-positivas é razoável devido à sua capacidade de induzir respostas inflamatórias semelhantes (Fan et al., 2007).

A inflamação generalizada e o choque séptico causados por bactérias gram-positivas, como S. aureus, são principalmente devido à função de LTA e PepG durante uma resposta inflamatória (Feezor et al., 2003; Moreillon e Majcherzyk, 2003; Fournier e Philpott, 2005). LTA e PepG trabalham em conjunto para induzir a expressão de citocinas na resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro ao S. aureus. Os mecanismos de ação no hospedeiro, incluindo fagocitose, fluxo de neutrófilos e ativação da proteína Sbi, diferem entre os componentes da parede e o próprio patógeno, mas provocam citocinas inflamatórias semelhantes.



respostas (Feezor et al., 2003; Moreillon e Majcherczyk, 2003; Fournier e Philpott, 2005). Os resultados desses estudos promovem nossa suposição de que a resposta inflamatória à bactéria gram-positiva *S. aureus*, os constituintes da parede celular de bactérias gram-positivas LTA e PepG, e o constituinte da parede de bactérias gram-negativas LPS, induzem a expressão de citocinas semelhante ex vivo (Feezor et al., 2003; Moreillon e Majcherczyk, 2003; Fournier e Philpott, 2005), mas diferem em seu mecanismo de ação e reconhecimento do hospedeiro.

Esses estudos servem como base para nosso modelo matemático acoplado combinando as PDEs celulares e as ODEs de citocinas por meio de uma variável compartilhada, representando a concentração média de macrófagos ativados no tecido inflamado.

2.2.1 Modelo Celular O

modelo celular de Quintela et al. prediz a ativação da resposta imune adquirida para *S. aureus* em função das concentrações de bactérias (A), macrófagos em repouso (M) e ativados (M), e anticorpos (F) distribuídos espacialmente em 1cm³ de tecido pulmonar ($x = (x,y,z)$), bem como concentrações de linfócitos (T,B), plasmócitos (p) e anticorpos (F) variando no tempo no linfonodo mais próximo. Neste estudo, assumimos que os macrófagos ativados atuam como células apresentadoras de antígenos e migram para o linfonodo mais próximo onde a resposta específica é desencadeada. Anticorpos específicos então viajam para o local da infecção para opsonizar o antígeno. Os macrófagos ativados são modelados como interagindo espacialmente com o antígeno no tecido (MA(x, t)) e no linfonodo (ML A(t)) interagindo com os linfócitos com concentrações variando apenas no tempo. O modelo é formulado usando um sistema de equações diferenciais parciais e ordinárias com as seguintes variáveis dependentes:

Variáveis espaciais (pg/mm³):

- Bactéria *S. aureus* (A(x,t))
- Macrófagos em repouso (MR(x,t))
- Macrófagos ativados (MA(x,t))
- Anticorpos Específicos (F(x,t))

Variáveis temporais (pg/mm³):

- Média de Macrófagos Ativados (ML A(t))
- Linfócitos T (T(t))
- Linfócitos B (B(t))
- Células plasmáticas (P(t))
- Anticorpos (FL (t))

Os detalhes das equações do modelo celular e o acoplamento do tecido e do linfonodo mais próximo estão disponíveis em Quintela et al. (2014). O novo modelo de citocina celular que se baseia tanto na parte de ativação de macrófagos deste modelo celular quanto no modelo de citocina inflamatória de Brady et al, é descrito abaixo.

2.2.2 Novo Modelo Celular-Citocina A dinâmica

celular e de citocinas são descritas usando ODEs. Preveamos as concentrações de TNF-α, IL-6, IL-8 e IL-10 em função dos macrófagos em repouso (MR(t)) e ativados (MA (t)) considerando a concentração tecidual média obtida a partir do modelo como condição inicial. Este modelo foi originalmente desenvolvido para estudar a resposta de citocinas ao LPS, mas como LPS e PAMPs induzem respostas pró e anti-inflamatórias semelhantes, acoplamos o modelo de citocinas ao modelo baseado em células descrito na Seção 2.2.1. Isso é apoiado pelos achados de Fan et al. que descobriram que as proteínas Gi presentes em bactérias gram-negativas e gram-positivas contribuem para a

Explicação Modelo

regulação de várias citocinas e quimiocinas em resposta a estímulos bacterianos (Fan et al., 2007). No modelo de citocinas, as variáveis dependentes incluem:

Variáveis temporais:

- Bactérias: $A(t)$
- Macrófagos em repouso: $MR(t)$
- Macrófagos ativados: $MA(t)$
- Fator de necrose tumoral α (pró-inflamatório): $TNF(t)$
- Interleucina-6 (pró-inflamatória): $IL6(t)$
- Interleucina-8 (pró-inflamatória): $IL8(t)$
- Interleucina-10 (anti-inflamatório): $IL10(t)$

Para cada citocina, a regulação para cima e para baixo é modelada usando funções sigmoidais dadas por

$$H_{US}(X) = h \frac{X^h}{Y_X + X^h} \text{ ou } H_{DS}(X) = h \frac{hY_X}{Y_X + X^h}, \quad (2)$$

onde X representa a regulação ascendente indutora da citocina (U sobrescrito) ou regulação negativa (D sobrescrito) da citocina Y . A metade do valor máximo é representada por h . Essas funções sigmoidais são incorporadas em todas as equações de citocinas para descrever as relações entre cada uma das citocinas. Os valores de parâmetros específicos são fornecidos na Tabela 2.

A porção celular do modelo aqui proposto, prevê concentrações (pg/mm³) de bactérias (A), macrófagos em repouso (MR) e ativados (MA) variando ao longo do tempo.

A taxa de crescimento e a taxa de declínio da bactéria *S. aureus* ($A(x, t)$) são modeladas como:

$$\begin{cases} \frac{dA}{dt} = bAA - \frac{1}{kA} - \gamma MA - \gamma IMR - \gamma MA - \gamma IMA - \gamma MA \\ A(0) = A_0, \\ A(x, 0) = A_0, \gamma \frac{dA}{dt}(-, t) dW = 0 \end{cases} \quad (3)$$

onde o primeiro termo representa o crescimento logístico da bactéria, a constante kA representa a capacidade de transporte e bA a taxa de replicação. O segundo termo dá a taxa de decaimento natural das bactérias na ausência de qualquer processo do sistema imunológico através do coeficiente de decaimento natural, mA . O terceiro e quarto termos descrevem a fagocitose de *S. aureus* através de macrófagos ativados e em repouso, com as constantes IMA e IMR representando a taxa de declínio causada por macrófagos ativados e em repouso, respectivamente.

A resposta de macrófagos $MR(t)$ em repouso ao patógeno *S. aureus* são modelados como:

$$\begin{cases} \frac{dMR}{dt} = mMR - \frac{1}{MR_{MAX}} - \gamma MR - \gamma (gMA + kMTNFHU M(TNF)HD M(IL10))MRA \\ MR(0) = MR, \end{cases} \quad (4)$$

onde o primeiro termo na Eq (3) representa a taxa de influxo constante do macrófago em repouso (mMR até MR_{MAX}) e o segundo termo representa a taxa de ativação gMA em resposta à bactéria e taxa de ativação $kMTNF$ considerando

a influência das citocinas TNF e $IL-10$. A condição inicial é dada pela média de macrófagos em repouso no tecido (MR) como resultado da simulação do modelo celular ao longo de 24h.

Macrófagos ativados $MA(t)$ são modelados como:

$$\begin{cases} \frac{dMA}{dt} = (gMA + kMTNFHU M(TNF)HD M(IL10))MRA - \gamma mMAMA, \\ MA(0) = MR, \end{cases} \quad (5)$$

onde o primeiro termo na Eq (4) representa a ativação dos macrófagos na taxa gMA e $kMTNF$ considerando a influência das citocinas TNF e $IL-10$, e o último termo representa a taxa de decaimento dos macrófagos ativados (mMA). A condição inicial é dada pela média de macrófagos ativados no tecido (MA) como resultado da simulação do modelo celular ao longo de 24h. A concentração inicial de macrófagos em repouso e ativados é constante (MR_0 e MA_0) e na fronteira do tecido nem a concentração de macrófagos em repouso ou ativados muda.

Em resposta à ativação de macrófagos, a Necrose Tumoral A dinâmica do fator alfa ($TNF-\alpha$) pode ser modelada como:

$$\begin{cases} \frac{dTNF}{dt} = kTNFMHD TNF(IL6)HD TNF(IL10)MA - \gamma kTNF(TNF) \\ - \gamma qTNF, \end{cases} \quad (6)$$

onde o primeiro termo representa as interações de regulação negativa que as citocinas $IL-6$ e $IL-10$ têm com o crescimento de $TNF-\gamma$ (na taxa $kTNFM$) mediado pela concentração média de macrófagos ativados. O segundo termo descreve a taxa na qual o $TNF-\gamma$ decai naturalmente ao longo do tempo. Conforme observado na equação, a taxa de mudança de $TNF-\alpha$ depende dos macrófagos ativados, o que é previsto a partir do modelo celular. No modelo celular, MA depende de x e t . Esta resposta está integrada aqui e descrita mais detalhadamente na Seção 2.2.3.

A ativação da interleucina 6 ($IL-6$) é modelada como:

$$\begin{cases} \frac{dIL6}{dt} = (kIL6M + kIL6TNFHU IL6(TNF))HD IL6(IL6)HD IL6(IL10)MA \\ - \gamma kIL6(IL6 - \gamma qIL6), \end{cases} \quad (7)$$

onde o primeiro termo representa as interações entre $TNF-\gamma$ (regulação positiva) e $IL-10$ (regulação negativa) afetando a produção de $IL-6$ a uma taxa ($kIL6TNF$) e uma $IL-6$, que também induz feedback auto-negativo. O segundo termo representa o decaimento natural (na taxa k_{IL6}) de $IL-6$ em direção a um nível de repouso ($qIL6$).

A ativação da interleucina 8 ($IL-8$) é modelada como:

$$\begin{cases} \frac{dIL8}{dt} = (kIL8M + kIL8TNFHU IL8(TNF))HD IL8(IL10)MA \\ - \gamma kIL8(IL8 - \gamma qIL8), \end{cases} \quad (8)$$

onde o primeiro termo representa as interações entre os efeitos opostos de $TNF-\gamma$ (regulação positiva) a uma taxa ($kIL8TNF$) e $IL-10$ (regulando negativamente) a uma taxa ($kIL8M$) estimulando o crescimento de $IL-8$ a uma taxa proporcional à concentração média de

TABELA 2 | Parâmetros, valores e unidades para as variáveis nas equações diferenciais parciais e ordinárias encontradas na simulação (6, 7).

Parâmetro	Valor	Unidade	Referência
kMTNF	8,65	h-1	Brady et al., 2016
kTNF	200	dia-1	Brady et al., 2016
kTNFM	1,5	<u>concentração relativa de citocinas</u> dia · nº de células	Brady et al., 2016
k6	4,64	dia-1	Brady et al., 2016
k6M	0,01	<u>concentração relativa de citocinas</u> dia · nº de células	Brady et al., 2016
k6TNF	0,81	<u>concentração relativa de citocinas</u> dia · nº de células	Brady et al., 2016
k8	0,464	dia-1	Brady et al., 2016
k8M	0,056	<u>concentração relativa de citocinas</u> dia · nº de células	Brady et al., 2016
k8TNF	0,56	<u>concentração relativa de citocinas</u> dia · nº de células	Brady et al., 2016
k10	1,1	dia-1	Brady et al., 2016
k10M	0,19	<u>concentração relativa de citocinas</u> dia · nº de células	Brady et al., 2016
k106	0,0191	<u>concentração relativa de citocinas</u> dia · nº de células	Brady et al., 2016
qTNF	0,14	concentração relativa	Brady et al., 2016
qIL6	0,6	concentração relativa	Brady et al., 2016
qIL8	0,2	concentração relativa	Brady et al., 2016
qIL10	0,15	concentração relativa	Brady et al., 2016
hTNF6	560	concentração relativa	Brady et al., 2016
hTNF10	17,4	concentração relativa	Brady et al., 2016
h610	34,8	concentração relativa	Brady et al., 2016
h66	560	concentração relativa	Brady et al., 2016
h6TNF	185	concentração relativa	Brady et al., 2016
h810	17,4	concentração relativa	Brady et al., 2016
h8TNF	185	concentração relativa	Brady et al., 2016
h106	560	concentração relativa	Brady et al., 2016
h106	3,68	sem dimensão	Brady et al., 2016
h6TNF	2	sem dimensão	Brady et al., 2016
h66		sem dimensão	Brady et al., 2016
h610	14	sem dimensão	Brady et al., 2016
h8TNF		sem dimensão	Brady et al., 2016
h810	3 1,5	sem dimensão	Brady et al., 2016
hTNF10		sem dimensão	Brady et al., 2016
hTNF6		sem dimensão	Brady et al., 2016
DA	3 2 3,7-10-15	<u>mm3</u> dia	Quintela et al., 2014
DMR	4,32-10-2	<u>mm3</u> dia	Quintela et al., 2014
DMA	0,3	<u>mm3</u> dia	Quintela et al., 2014
bA	2,0	<u>célula</u>	Quintela et al., 2014
kA	50,0	<u>do dia 1</u> <u>mm3</u>	Quintela et al., 2014
mA	0,1	dia-1	Quintela et al., 2014
mMR	0,033	dia-1	Quintela et al., 2014
mMA	0,07	dia-1	Quintela et al., 2014
gMA	8,3-10-2	<u>mm3</u> célula · dia	Quintela et al., 2014
IMR	5,98-10-3	<u>mm3</u> célula · dia	Quintela et al., 2014
IMA	5,98-10-2	<u>mm3</u> célula · dia	Quintela et al., 2014
IAFMR	1,66-10-3	<u>mm6</u> célula2 · dia	Quintela et al., 2014
IAFMA	7.14-10-2	<u>mm6</u> célula2 · dia	Quintela et al., 2014
aMA	10-3	dia-1	Quintela et al., 2014
aMR	4,0	dia-1	Quintela et al., 2014

Esses parâmetros podem ser ajustados para representar as condições in vivo.

produção de macrófagos ativados, enquanto o segundo termo representa a taxa de decaimento natural de IL-8.

A ativação da interleucina 10 (IL-10) é modelada como:

$$\frac{dIL10}{dt} = (k_{IL10M} + k_{IL10IL6HU} IL10(IL6))MA - \gamma_{IL10}(IL10) \quad (9)$$

onde o primeiro termo descreve a regulação positiva de IL-10 devido a IL-6 (a uma taxa $k_{IL10IL6}$) e concentração média de macrófagos ativados (a uma taxa k_{IL10M}), enquanto o segundo termo descreve a taxa de decaimento natural de IL-10.

2.2.3 Solução Numérica do Modelo Acoplado Primeiro

resolvemos o modelo espaço-temporal celular (durante um período de 24 horas) prevendo as concentrações médias de macrófagos em repouso e ativados em resposta a uma dose baixa de *S. aureus* no tecido. Supõe-se que os movimentos de patógenos e macrófagos podem ser representados como difusão de acordo com a Lei de Fick (Crank, 1975). Portanto, cada PDE inclui um termo de difusão com um coeficiente de difusividade específico ($D_i = MR, MA$) estimado por Quintela et al. com base em observações experimentais para o patógeno e as células que estão incluídas neste estudo. O termo de difusão que representa a taxa de transferência de células de um local para outro é proporcional ao seu gradiente de concentração. Por simplicidade, assume-se que o meio é isotrópico e possui o mesmo coeficiente de difusão para todas as direções (Quintela et al., 2014), ou seja, modelamos a difusão através do termo $DiDM_j$, $i = MR, MA$ e $j = R$. A denota a difusão dos macrófagos no tecido, novamente D refere-se à derivada de segunda ordem no espaço. No início da simulação não há macrófagos ativados no tecido ($MA_0 = 0$), ou seja, os macrófagos em repouso que estão igualmente distribuídos pelo domínio na concentração MR_0 . O modelo celular é resolvido em C++ usando o método de diferenças finitas.

Seguindo a simulação do modelo celular, calculamos o número médio de macrófagos em repouso e ativados integrando as concentrações resultantes de cada um sobre o domínio discretizado de 1 cm cúbico como:

$$M(t) = \frac{1}{VZ} \int W M dW \quad (10)$$

As concentrações médias para M em repouso R , e ativado M R , macrófagos são usados como condição inicial para o novo modelo de citocina celular. As EDOs ((1) - (8)) são então resolvidas no MATLAB usando a função `ode45`.

2.3 Parâmetros do modelo Os

parâmetros do modelo incluem coeficientes de difusão e replicação, decaimento, ativação, fagocítica e taxas de migração de bactérias e macrófagos celulares do modelo celular e constantes de taxa de citocinas, termos de origem e expoentes de valores meio máximos do modelo de citocinas. Para simplificar a complexidade da resposta imune humana, os parâmetros do modelo celular, o valor semi-máximo da citocina e os parâmetros do expoente da função Hill são mantidos constantes. Eles podem ser ajustados para especificações do modelo, incluindo a representação de condições sépticas in vivo.

Coeficientes de difusão: D_i denota a difusão de uma determinada bactéria ou célula no tecido. Os valores de todos os parâmetros do modelo celular foram obtidos de pesquisa na literatura (Marchuk, 1997; Sarah e Richard, 2009; Pigozzo et al., 2013).

DA - Coeficiente de difusão de bactérias

DMR - Coeficiente de difusão de macrófagos em repouso

DMA - Coeficiente de difusão de macrófagos ativados

Taxas de replicação, decaimento, ativação e fagocitária: Os parâmetros a seguir denotam as diferentes taxas de crescimento e decaimento para as bactérias e células.

bA - Taxa de replicação das bactérias kA -

Capacidade de carga das bactérias mA -

Taxa de decaimento natural das bactérias

mMR - Taxa de decaimento natural dos macrófagos em repouso

mMA - Taxa de decaimento natural dos macrófagos ativados gMA -

- Taxa em que os macrófagos em repouso se tornam ativos IMR -

Ativação dos macrófagos IMA - Taxa de destruição das bactérias

por macrófagos ativados $IAF\gamma MR$ - Taxa de destruição de bactérias

opsonizadas por macrófagos em repouso $IAF\gamma MA$ - Taxa de destruição de bactérias opsonizadas por macrófagos ativados

Taxa de migração celular: O a_i denota a taxa de migração dos macrófagos para o local da infecção.

aMA - Taxa de migração de macrófagos ativados aMR -

Taxa de migração de macrófagos em repouso

Constantes de taxa: k_i denota taxas de ativação ou eliminação de citocinas, e k_{ij} determina a taxa de mudança na taxa de regulação positiva de uma citocina secretada por macrófagos ativados. Esses parâmetros têm valores iniciais baseados nas condições previstas do nosso modelo ativado com uma dose baixa de *S. aureus*.

$kMTNF$ - Taxa de ativação de macrófagos em repouso influenciada por TNF- α

$kTNF$ - Taxa de ativação (por hora) de TNF- α $kTNFM$

- Upregulation de TNF- α pelos macrófagos ativados k_6 - Taxa de ativação

(por hora) de IL-6 k_6M - Upregulation de IL-6 pelos macrófagos ativados

k_6TNF - Upregulation de IL-6 por TNF- α k_8 - Taxa de ativação (por hora)

de IL-8 k_8M - Upregulation de IL-8 pelos macrófagos ativados k_8TNF -

Upregulation de IL-8 por TNF- α k_{10} - Taxa de ativação (por hora) de IL-10

k_{10M} - Regulação positiva de IL-10 pelos macrófagos ativados k_{106} -

Regulação positiva de IL-10 por IL-6

Parâmetros de origem: q_i representa a concentração de base de cada citocina na ausência de estimulação do patógeno. q_i também são usados para definir as condições iniciais para cada citocina. Esses parâmetros

TABELA 3 | Regressões LLS de resultados simulados para cada citocina versus dados experimentais de resposta imune a LTA e PepG.

Citocina Indutor	Var.	Husa.	valor St.	Errar. 95% Con.	Int.	t-stat	p-val.	RMSE R2	R2 Adj.	F-stat vs. Const.	p-val.
TNFa-LTA	c1	-11,51	11,85	11,6	-0,97131	0,4339	14,6	0,946	0,919	34,9	0,0275
	c2	1,117	0,189	0,185	5,908	0,0275					
TNFa-PepG	c1	-1,995	11,187	8,95	-0,178	0,867	16	0,875	0,844	28	0,00612
	c2	0,969	0,183	0,15	5,291	0,00612					
IL6-LTA	c1	-10,686	7,094	5,68	-1,506	0,206	10,7	0,955	0,944	85,8	0,000756
	c2	1,125	0,121	0,10	9,262	0,000756					
IL6-PepG	c1	-9,645	6,001	4,80	-1,605	0,184	9,04	0,958	0,948	92,2	0,000657
	c2	0,988	0,102	0,08	9,604	0,000657					
IL8- PepG/LTA c1 c2	c1	-10,534	6,512	5,71	-1,618	0,204	9,73	0,96	0,947	72,2	0,00342
	c2	1,043	0,123	0,11	8,497	0,00342					
IL10-LTA	c1	-13,236	11,900	9,52	-1,112	0,328	18	0,827	0,784	19,1	0,0120
	c2	0,923	0,211	0,17	4,371	0,0120					
IL10-PepG	c1	-12,852	15,080	12,07	-0,852	0,442	22,8	0,704	0,63	9,52	0,0367
	c2	0,825	0,267	0,21	3,086	0,0367					

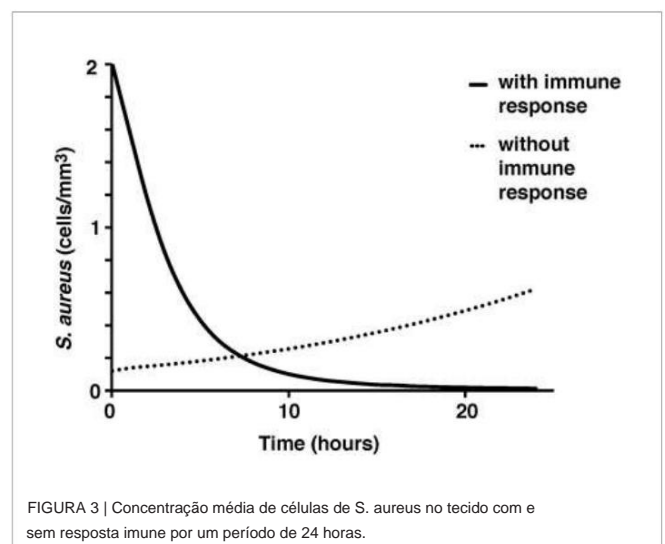
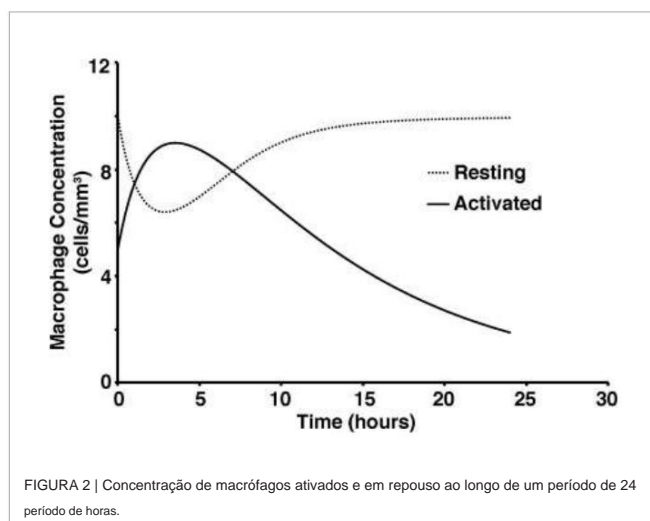
Para testar a validade do modelo em macroescala, o modelo foi usado para simular uma resposta a uma infecção por *S. aureus*. Como esperado, havia indicações claras do sistema imunológico resposta. Desde o início da infecção, macrófagos simulados e As concentrações de citocinas aumentam proporcionalmente às macrófagos até atingir uma concentração máxima em cinco horas (Figura 2). Uma vez que as bactérias foram eliminadas pelo sistema imunológico resposta do sistema na simulação, os macrófagos e citocinas começaram a voltar aos seus valores basais (Figura 3).

A validade em microescala da simulação foi testada por meio de comparação próxima da simulação com os estudos de ex vivo estimulação conduzida por Wang et al. e Yao et al. (Yao et al., 1996; Wang et al., 2000; Wang e Deisboeck, 2014). Citocina resposta por estimulação de LTA e PepG em amostras de sangue total desses estudos se assemelham muito à citocina simulada resposta aqui descrita (Yao et al., 1996; Wang et al., 2000). Os picos de TNF- α , IL-10, IL-6 e IL-8 coincidem entre os resultados do modelo e dados de amostras de sangue ex vivo (Yao et al., 1996; Wang et al., 2000) (Figura 4).

Devido às diferentes magnitudes das concentrações de citocinas na simulação acoplada e dados de amostra de sangue, uma conversão

fator para converter as concentrações em valores relativos foi introduzido para comparação significativa (Wang et al., 2000). Devido às limitações nas amostras de sangue total, TNF- γ , IL-6, IL-8 e IL-10 foram estudados em resposta a baixas concentrações de PepG e LTA. Ao contrário, a simulação acoplada estudou a resposta imune às concentrações de antígenos em concentrações significativamente mais altas. Assim, a citocina inicial, antígeno e as concentrações de macrófagos foram modificadas para combinar as condições experimentais para uma mais precisa comparação (Figura 5).

Além disso, foram realizadas análises de sensibilidade para validar os dados experimentais ex vivo com os resultados simulados. Cada parâmetro nas equações de citocinas foram testados através de seu número de dobras de concentração em tempo real, adquirido pela divisão os parâmetros estimados por sua concentração inicial e integrado ao longo de um período de 24 horas (Figuras 4, 5). A sensibilidade índice de 50 parâmetros no modelo após 24 horas simulação foi realizada implementando o parâmetro 10% variações em cada citocina (Figura 6, 7). Os parâmetros qTNF e kTNF na equação TNF- γ , qIL8 e k8 na equação IL-8,



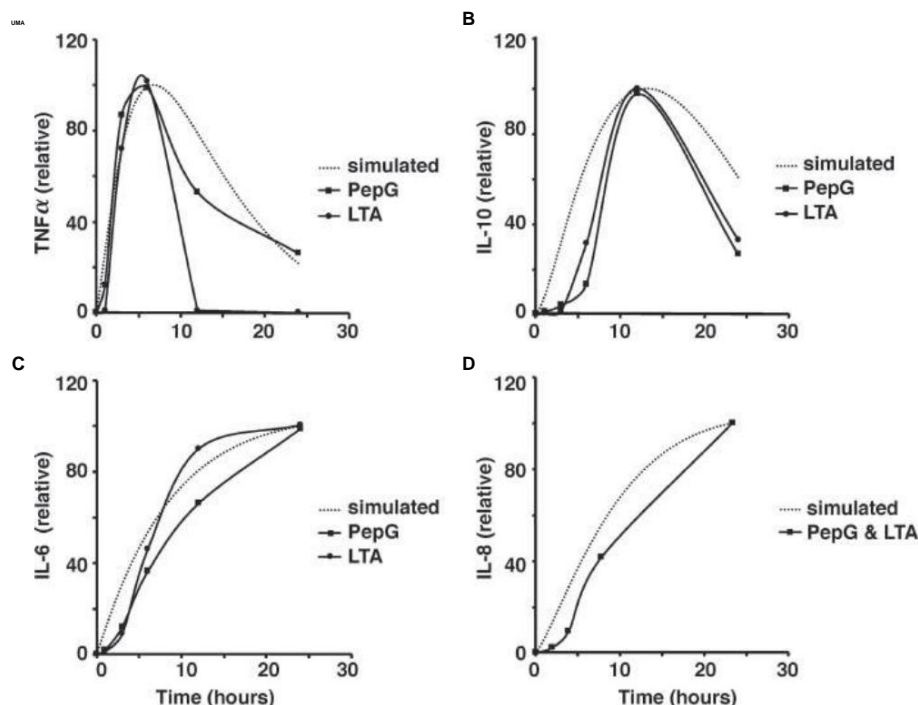


FIGURA 4 | Comparação da atividade simulada de TNF- γ e experimental de TNF- γ em resposta à introdução de 10 mg de PepG/mL ou 100 mg de LTA/mL de sangue humano durante o período de 24 horas (A). Comparação da atividade simulada de IL-6 e IL-6 experimental com base na introdução de 10 mg de PepG/mL ou 100 mg de LTA/mL de sangue humano em um período de 24 horas (B). Comparação da atividade simulada de IL-10 e IL-10 experimental com base na introdução de 10 microgramas de PepG/mL ou 100 mg de LTA/mL de sangue humano durante o período de 24 horas (C). Comparação da atividade simulada de IL-8 e IL-8 experimental com base na introdução de células endoteliais infectadas por *S. aureus* contendo 10 mg de PepG/mL e 100 mg de LTA/mL no período de 24 horas (D). Todas as concentrações de citocinas são valores relativos conforme discutido nos métodos.

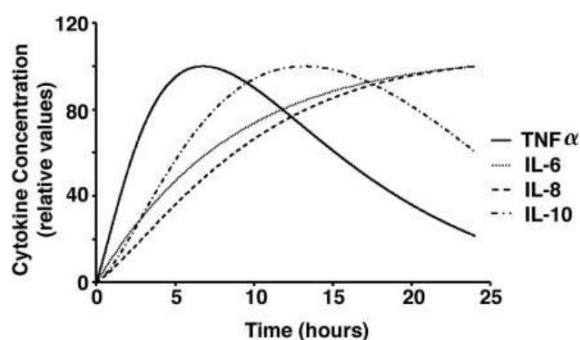


FIGURA 5 | Concentrações de citocinas em um período de 24 horas em resposta a estímulos com baixa dose de *S. aureus* em nosso modelo.

qIL6 na equação IL-6 e k10M na equação IL-10 foram determinados como os mais sensíveis e, portanto, adequados para uso no ajuste das condições dos dados experimentais.

Para avaliar o desempenho do modelo, uma regressão linear de mínimos quadrados (LLS) em cada citocina foi utilizada para comparar os resultados simulados com os estudos de resposta imune baseados em LTA e Pep-G. Os resultados das regressões e correspondentes

os parâmetros de validação da regressão são fornecidos na Tabela 3. Um teste F foi realizado em cada regressão para testar o ajuste do modelo de regressão linear. Cada teste F resultou em um valor p significativo para o nível $\gamma = 0,05$ para todas as comparações de dados simulados e experimentais para interações citocina-indutor, exceto para a interação TNF- γ e LTA (significativo para $\gamma =$ nível 0,10). Essa inconsistência foi atribuída a um outlier nos dados experimentais de TNF- γ LTA, levando a uma regressão com menor coeficiente de determinação. Com base na saída do modelo estatístico, o modelo matemático celular e de citocina formulado sob condições sépticas prevê com precisão condições ex vivo de sangue humano total. Mais desenvolvimento e dados de ensaios clínicos permitirão que algoritmos estatísticos de validação cruzada adicionais sejam executados dividindo os sujeitos em conjuntos de treinamento, validação e teste para modelagem regressiva.

Os modelos de regressão linear são fornecidos com intervalos de confiança de 95% com inclinação de 1 indicativa de um ajuste perfeito entre as concentrações simuladas e os resultados experimentais. Dentro de um desvio padrão, todas as citocinas se encaixam no modelo, exceto IL-6 induzida por LTA. A raiz quadrada do erro quadrático médio (RMSE), o coeficiente de determinação R^2 e o ajustado também foram calculados para estimar a distribuição do erro e a variabilidade de cada regressão (Tabela 3). Os resultados da análise estatística indicam um modelo significativo

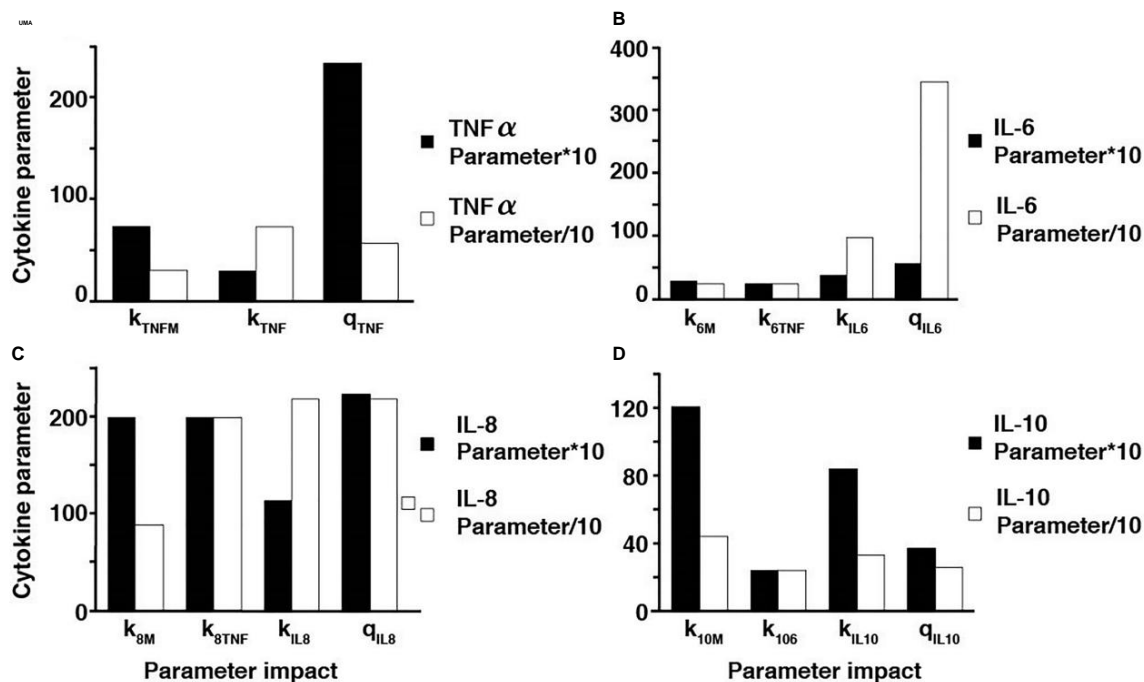


FIGURA 6 | Ajustes de parâmetros das citocinas individuais. Um aumento e diminuição de dez vezes nos parâmetros de TNF- γ (A), parâmetros de IL-6 (B), parâmetros de IL-8 (C) e parâmetros de IL-10 (D).

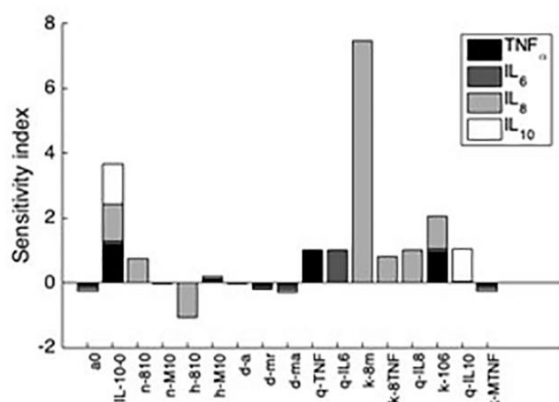


FIGURA 7 | Índices de sensibilidade que denotam os parâmetros mais influentes para cada citocina após simulação de 24h. São mostrados os primeiros 10 parâmetros que influenciam uma mudança de pelo menos 10% no valor resultante de pelo menos uma das quatro variáveis analisadas. Índices de sensibilidade negativos indicam produção reduzida de citocinas, enquanto os parâmetros omitidos afetaram trivialmente a produção de citocinas.

semelhanças com os resultados experimentais ex vivo e assim validar a precisão da simulação através de dados clínicos.

Para garantir ainda mais a autenticidade da simulação em um ambiente biológico, os domínios espaciais e a difusão dentro do período de 24 horas foram medidos a partir da injeção inicial do

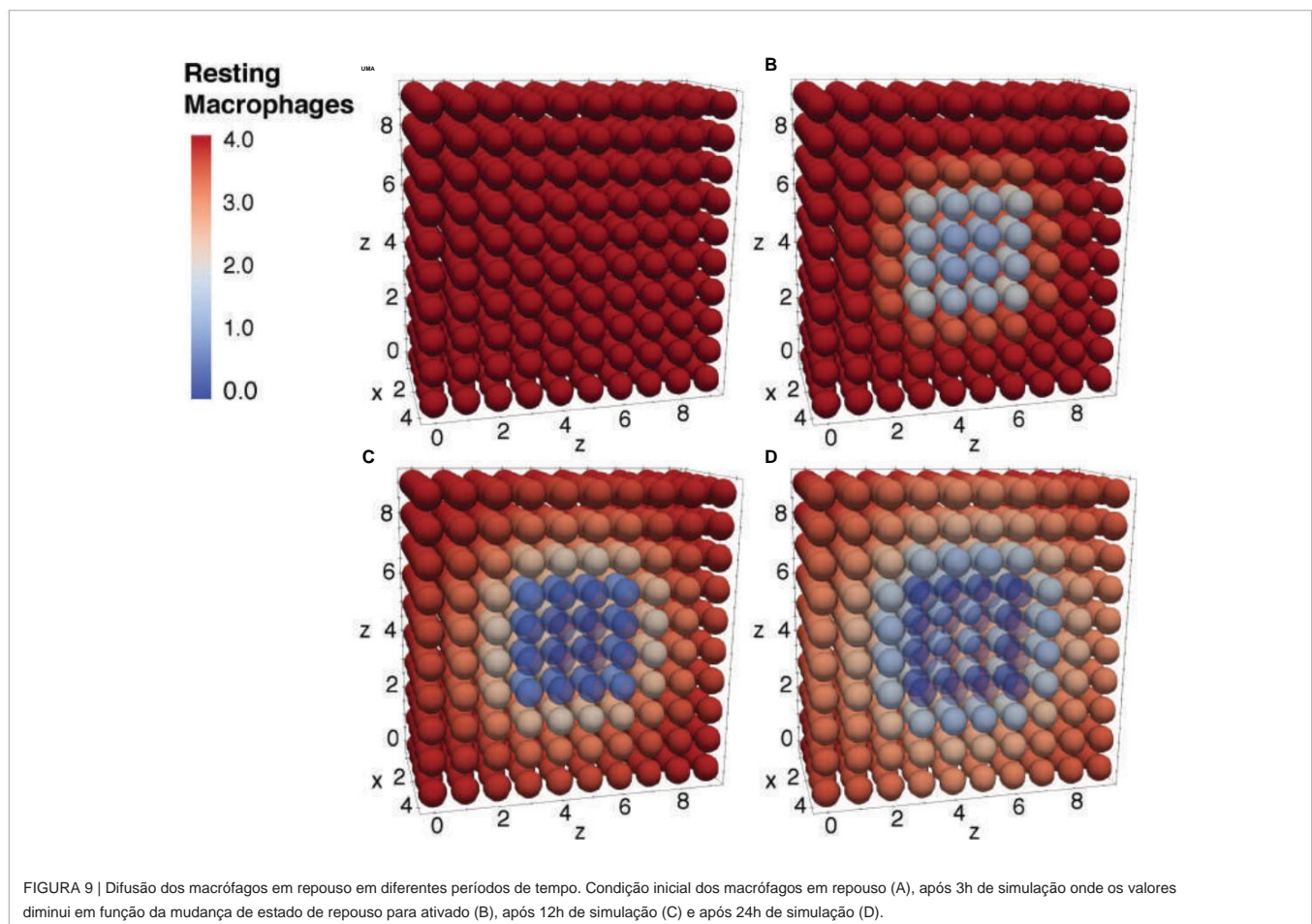
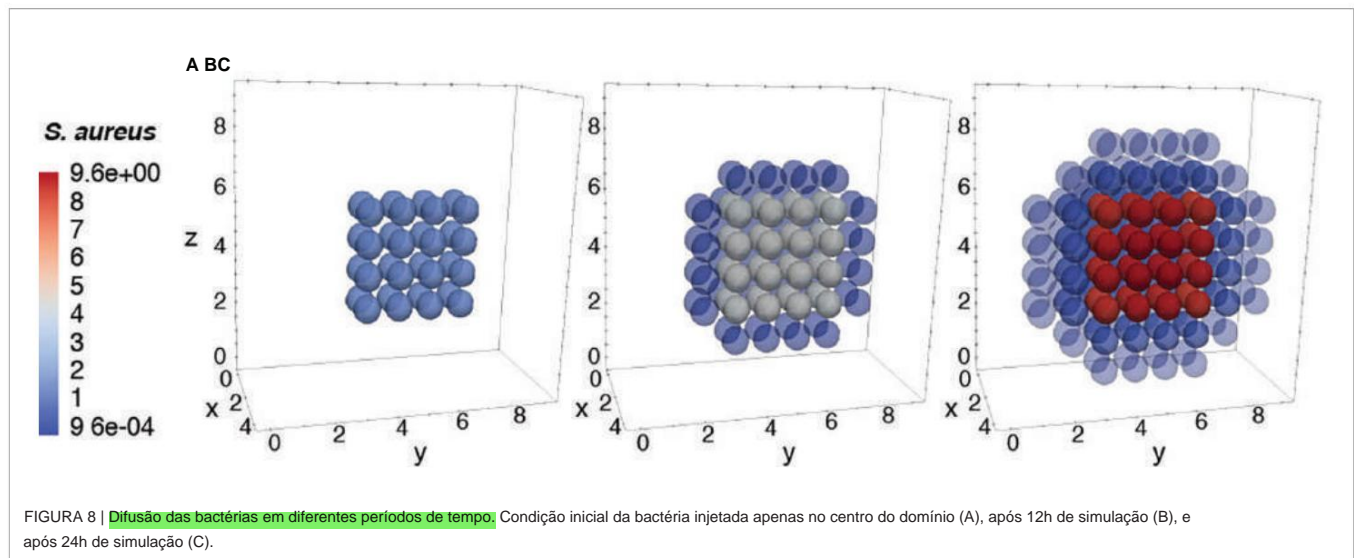
antígeno em uma pequena porção de tecido. A mudança geral nos níveis de bactérias, macrófagos em repouso e macrófagos ativados são mostradas nas Figuras 8-10. Este domínio discretizado do modelo de difusão 3-D é um hexaedro

representando 10 mm³ de tecido. Esta injeção inicial de antígeno foi representada no centro do domínio hexaédrico de simulação (entre 3 mm e 7 mm sobre os eixos). Inicialmente, a presença de macrófagos é distribuída igualmente pelo tecido. Após sua interação inicial com *S. aureus* ou seus componentes da parede celular, os macrófagos em repouso são ativados, resultando na produção de citocinas e quimiocinas. Atuando como células apresentadoras de antígenos, os macrófagos ativados viajam para o linfonodo mais próximo e apresentam o antígeno aos linfócitos, que iniciam a ativação e diferenciação de linfócitos T e linfócitos B em linfócitos T auxiliares 2 e plasmócitos, respectivamente. Todas as imagens mostram uma visão de corte do volume ao longo do eixo x para melhor visualizar tanto a condição inicial quanto a concentração e difusão de bactérias

e macrófagos (Figuras 8-10).

4. DISCUSSÃO

Neste estudo, exploramos as relações celular-citocinas de TNF- γ , IL-6, IL-8 e IL-10 em resposta a *S. aureus*, utilizando modelagem matemática para prever os níveis de citocinas in silico, e literatura clínica e estatística análise para validar os resultados da simulação.



Interação célula-citocina. O modelo celular da Quintela et al. descreve as relações entre *S. aureus* (A), ativado macrófagos (MA), macrófagos em repouso (MR) e anticorpos (F) enquanto o modelo de citocinas de Brady et al. combina ativado

e macrófagos em repouso com TNF- γ , IL-6, IL-8 e IL-10 (Quintela et al., 2014; Brady et al., 2016). Este modelo procura combinar esses modelos pela associação de macrófagos ativados.

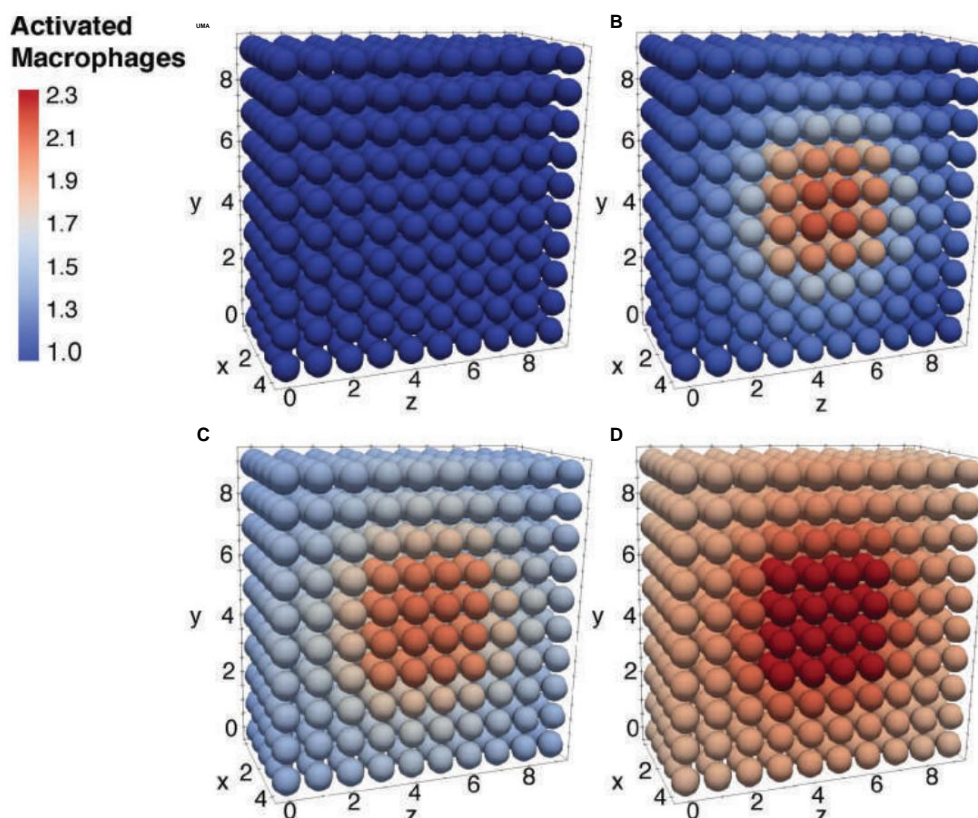


FIGURA 10 | Difusão dos macrófagos ativados em diferentes períodos de tempo. Condição inicial dos macrófagos em repouso (A), após 3h de simulação onde os valores aumentam como resultado da mudança de repouso para ativado (B), após 12h de simulação (C), e após 24h de simulação (D).

Análise de sensibilidade e estimação de parâmetros. Esta simulação valida a experimentação clínica de Wang et al. e Yao et al. (Yao et al., 1996; Wang et al., 2000). Para dimensionar os resultados dos resultados clínicos, os parâmetros para cada EDO foram analisados e modificados usando uma otimização não linear de pesquisa mínima para produzir uma comparação significativa.

Suposições e limitações do modelo. As limitações na exatidão e precisão do modelo são discutidas. Essa simulação não leva em conta fatores como fluxo de neutrófilos, resposta do complemento, efeitos da resposta imune humoral ou variação entre indivíduos, entre outros fatores muito complexos para modelar matematicamente e validar usando dados clínicos.

Estudos futuros. Embora este modelo busque expandir a profundidade dos modelos atuais do sistema imunológico, o modelo permanece incompleto devido às limitações na pesquisa matemática do sistema imunológico. As futuras expansões do modelo abrem novos caminhos para novas pesquisas sobre o sistema imunológico e podem facilitar testes farmacêuticos in silico em larga escala.

4.1 Interação Celular-Citocina Este modelo combina o modelo celular de Quintela et al. e o modelo de citocinas de Brady et al. (Quintela et al., 2014; Brady et al., 2016). O modelo celular prevê as relações entre *S. aureus* (A), macrófagos ativados (MA), macrófagos em repouso

(MR) e anticorpos (F), enquanto o modelo de citocinas estuda como as mudanças nos macrófagos ativados e em repouso afetam a dinâmica das citocinas para TNF- γ , IL-6, IL-8 e IL-10 (Quintela et al., 2014; Brady et al., 2016).

Para conciliar a diferença entre o modelo celular, previsto em função do tempo e do espaço, e o modelo de citocinas, que só varia com o tempo, os macrófagos ativados foram integrados em macrófagos ativados médios e implementados no modelo de citocinas. Para garantir que ambos os modelos funcionem no mesmo período de tempo, as concentrações das bactérias iniciais e macrófagos ativados relacionadas por Brady et al.

(Brady et al., 2016) foram dimensionados para corresponder aos relatados nos estudos ex vivo de Wang et al. e Yao et al. (Yao et al., 1996; Wang et al., 2000). Os resultados dessa escala de parâmetros demonstraram que fomos capazes de combinar o modelo com todas as métricas de dados com significância estatística (valores de $p < 0,05$) (Tabela 3) (Yao et al., 1996; Wang et al., 2000).

Para estudos futuros, uma abordagem semelhante pode ser usada para adaptar o modelo a outras configurações experimentais, por exemplo, para estudar o efeito da destruição, fluxo e fagocitose de macrófagos variados em indivíduos específicos (Emam et al., 2019). Embora a simulação atual não tenha a capacidade de prever com precisão a resposta individual da citocina, ela tem a capacidade de modelar uma resposta média ao *S. aureus* e tem o potencial de ter

um impacto mais profundo com expansão contínua em estudos futuros.

4.2 Análise de Sensibilidade e Estimativa de Parâmetros A análise de sensibilidade

é uma ferramenta interpretável e adaptável usada para fornecer informações sobre estudos **de imunologia computacional que investigam diferentes componentes do sistema imunológico para entender a extensão das variáveis e parâmetros espaço-temporais em jogo**. Este procedimento demonstrou fornecer informações em estudos de imunologia computacional investigando diferentes componentes do sistema imunológico e sua ativação em resposta a um patógeno (Chen et al., 2019; Faro et al., 2019).

Esta simulação acoplada é o produto da análise de sensibilidade usando estimativa de parâmetros e ajuste de modelo para dados ex vivo de Wang et al. e Yao et al. (Yao et al., 1996; Wang et al., 2000). Os resultados desta análise indicaram que k8m, que descreve a regulação positiva de IL-8 pelos macrófagos ativados, como o parâmetro mais influente e foi posteriormente modificado para espelhar os dados clínicos. Ao longo da análise, as concentrações iniciais de *S. aureus* e as citocinas foram dimensionadas para produzir uma comparação significativa.

4.3 Suposições e limitações do modelo Embora um modelo abrangente seja poderoso em escala global, **a simulação atual é limitada pela falta de modelos matemáticos clinicamente comprovados do sistema imunológico humano.**

A reconciliação da utilização de *S. aureus* (uma bactéria gram-positiva), a partir do modelo celular, e LPS (um componente em bactérias gram-negativas), usado no modelo de citocinas, é discutida anteriormente. A resposta do corpo às bactérias pode mudar com base no dano infligido pelo patógeno, incluindo sepse e choque séptico. **Do ponto de vista matemático e de propriedade clínica, existem diferenças mínimas na ativação das células do sistema imunológico e expressão de citocinas entre *S. aureus* e LPS, permitindo um acoplamento de modelo matemático simplificado** (Feezor et al., 2003; Fournier e Philpott, 2005). No entanto, estudos futuros investigando cada PAMP independentemente ajudariam a confirmar ou validar ainda mais nossos achados e, além disso, podem precisar incorporar os efeitos complementares de LTA e PepG em *S. aureus* e LPS em bactérias gram-negativas para modelar a matriz de pró-inflamatórios (TNF- α e IL-6), respostas anti-inflamatórias (IL-10) e quimioatraentes de neutrófilos (IL-8) sob condições sépticas (De Kimpe et al., 1995; Fournier e Philpott, 2005).

Embora os resultados da simulação prevejam com precisão os dados ex vivo, deve-se notar que várias suposições foram necessárias ao longo do projeto do modelo. As concentrações de *S. aureus*, LTA e PepG são consideradas proporcionais em doses baixas com base na ativação de citocinas na resposta imune humana. Além disso, os receptores toll-like (TLRs) encontrados na membrana e no citosol dos macrófagos são as sentinelas primárias dos PAMPs, e assumimos uma relação proporcional entre a concentração de macrófagos e o reconhecimento de PAMP. **Nosso modelo considera elementos imunológicos circulatórios**

e não considera aspectos regulatórios intercelulares ou genéticos da resposta imune. (De Kimpe et al., 1995; Fournier e Philpott, 2005; Pigozzo et al., 2013).

Embora o modelo de rede de citocinas autorreguladoras possa responder a maiores concentrações de *S. aureus* (6), esta simulação utilizou baixas concentrações de *S. aureus* semelhantes às

encontradas em condições experimentais ex vivo. Concentrações mais altas de *S. aureus* causam aumentos rápidos nas citocinas e nas respostas celulares devido ao dano tecidual correspondente à endotoxicidade de bactérias gram-positivas. No entanto, essas situações foram omitidas devido às baixas concentrações de *S. aureus* simuladas neste trabalho e dados insuficientes para validar concentrações aumentadas.

O fluxo de neutrófilos no tecido também foi omitido nesta simulação devido à falta de experimentos clínicos e presença de alta variabilidade entre os sujeitos (Spaan et al., 2013). As interações de neutrófilos de *S. aureus* são específicas para humanos e podem influenciar a forma como este modelo prevê os níveis médios de citocinas. Futuras simulações podem incorporar os efeitos de neutrófilos na equação diferencial ordinária IL-8 à medida que surgem estudos adicionais e experimentos ex vivo com foco em suas interações (Fournier e Philpott, 2005).

Para simplificar a complexidade da resposta do complemento bacteriano, este modelo não incorpora as proteínas relevantes do complemento. A resposta complementar do corpo humano a patógenos como *S. aureus* desempenha um papel na capacidade do corpo humano de ativar quimioatraentes para fagocitose da bactéria (Fournier e Philpott, 2005; Laarman et al., 2010). A resposta do complemento tem efeitos variáveis de citocinas na resposta imune humana com base na extensão e tipo de condição inflamatória, o que complica ainda mais seu papel na produção e mediação de citocinas (Fournier e Philpott, 2005). Além disso, as respostas de complemento, citocinas e quimiocinas têm efeitos biológicos sobrepostos no corpo sob condições sépticas e, portanto, são omitidas deste modelo (Charchafieh et al., 2012).

O efeito do *S. aureus* na resposta imune humoral é outra limitação deste estudo, devido aos achados insuficientes de como esse mecanismo pode ser modelado (Smith et al., 2011). O patógeno é conhecido por suprimir a resposta imune humoral por meio da proteína Sbi e, portanto, pode permitir a sobrevivência prolongada da bactéria (Smith et al., 2011). Os efeitos da proteína Sbi na concentração de bactérias introduzidas no sistema foram omitidos deste modelo para solidificar as interações celulares de citocinas dentro do modelo celular.

A destruição e o fluxo de macrófagos são usados como constantes como generalização neste modelo. Embora esses termos sejam específicos de humanos e variem em resposta à infecção por *S. aureus*, este modelo simula a resposta média. Além disso, muitos componentes da resposta imune humana variam entre as populações. Este complexo problema de variabilidade apresenta um desafio para a modelagem matemática e não é abordado neste modelo. Portanto, certas variabilidades, como destruição e fluxo de macrófagos, foram generalizadas para um valor médio para simplificar a complexidade de um modelo humano. Compreender as diferentes fontes e mecanismos de ação permite simulações

para serem usados como modelos preditivos para limitar o escopo das suposições. Uma possível solução para levar em conta a variação específica do paciente pode ser através da estimativa de parâmetros individualmente para cada conjunto de dados, conforme discutido em detalhes em Brady et al. (2016).

Embora esta simulação possa prever a resposta média de citocinas ao *S. aureus*, ela não leva em conta todas as variabilidades individualizadas dentro de cada resposta imune. Este modelo visa simplificar a dinâmica das citocinas e se tornar uma base para a futura expansão do sistema imunológico com o aumento da pesquisa do sistema imunológico. O modelo permanece confinado pelo número limitado de modelos matemáticos relevantes do sistema imunológico e pela disponibilidade de dados experimentais para validar modelos mais complexos. A pesquisa contínua in vivo e ex vivo sobre o papel do sistema imunológico humano em resposta a um patógeno fornecerá dados adicionais para validação e expansão deste modelo.

4.4 Estudos Futuros O sistema

imunológico humano, assim como muitos outros sistemas do corpo, é afetado negativamente pelo processo de envelhecimento. Estudos mostraram alterações associadas à idade nos mecanismos do sistema imunológico, como diminuição da ativação de células T, eficiência reduzida de neutrófilos e expressão alterada do receptor 1 semelhante a toll (TLR1) (Oh et al., 2019) limitam a capacidade do sistema imunológico de eliminar patógenos estranhos reduzindo a expressão e a efetividade da superfície (Khoa et al., 2003). Em particular, os níveis de citocinas e quimiocinas do corpo mudam com a idade, levando a inflamação crônica e progressão de outras doenças degenerativas (Ponnappan e Ponnappan, 2011). Este modelo aprimorado, juntamente com outros modelos matemáticos que simulam as funções do sistema imunológico, podem facilitar uma melhor compreensão das respostas inflamatórias e dos mecanismos que levam à degradação do sistema imunológico humano e podem levar a soluções eficazes para preservar as funções do sistema imunológico durante o processo de envelhecimento.

Modelos matemáticos e de computador das relações complexas dentro do sistema imunológico podem abrir caminhos maiores para pesquisas farmacêuticas e bioquímicas que podem ser usadas para combater doenças do sistema imunológico (Wang e Deisboeck, 2014). Ao incorporar equações diferenciais ordinárias e parciais, esta simulação é capaz de fornecer uma representação mais realista das relações complexas dentro do sistema imunológico e, com maior expansão, pode servir como um veículo para testes de drogas in silico.

Embora não incorporados a este modelo, fármacos como FOM (Michalopoulos et al., 2011), CAM, (PubMedHealth, 2018) e DEX (Johnson et al., 2021) podem alterar significativamente os resultados desta simulação. A FOM inibe a produção de PepG na parede celular de bactérias gram-positivas, como *S. aureus*, enquanto também aumenta a produção de IL-6 e IL-10. Isso pode alterar a taxa de produção de citocinas neste modelo, pois a produção diminuída de *S. aureus* elimina a necessidade de outras citocinas na resposta imune. Com FOM, a produção de IL-6 e IL-10 pode aumentar.

O antibiótico, CAM, regula negativamente a produção de TNF- γ , IL-6 e IL-8, o que levaria a uma diminuição mensurável na produção de citocinas. Este inibidor de citocinas pode afetar significativamente os resultados da simulação, causando deslocamentos para baixo de vários valores de citocinas. Por fim, DEX, um esteróide que prejudica o sistema imunológico na presença de inflamação, reduz a produção de IL-6 e IL-10, resultando em concentrações reduzidas de TNF- γ , IL-6, IL-8 e IL-10.

Futuras expansões deste modelo podem fornecer uma imagem mais clara das várias interações dentro do sistema imunológico, facilitar uma melhor compreensão dos mecanismos que levam à degradação do sistema imunológico durante o processo de envelhecimento e pode se tornar um veículo para ensaios clínicos in silico (Swain e Nikolich-Zugich, 2009). Este modelo é fundamental e pesquisas clínicas futuras são incentivadas para caracterizar citocinas adicionais e comportamento celular para criar uma compreensão mais abrangente e precisa do sistema imunológico. Em particular, a IL-12 é uma citocina pró-inflamatória que forma um elo vital entre o sistema imunológico inato e adaptativo e trabalhos futuros se beneficiariam muito com a modelagem precisa do comportamento da IL-12 (Trinchieri, 2003).

DECLARAÇÃO DE DISPONIBILIDADE DE DADOS

As contribuições originais apresentadas no estudo estão incluídas no artigo. Outras perguntas podem ser dirigidas ao autor correspondente.

DECLARAÇÃO DE ÉTICA

Os estudos envolvendo participantes humanos foram revisados e aprovados pelo Comitê Regional de Ética em Pesquisa em Saúde (protocolo ID H-3-2012-011) e pelo Conselho Regional de Monitoramento de Dados (ID j-2007-58-0015, local 30-0766), e relatado para clinicaltrials.gov (NCT01592526). Os pacientes/participantes forneceram seu consentimento informado por escrito para participar deste estudo.

CONTRIBUIÇÕES DO AUTOR

KT contribuiu para a concepção, análise, rascunhos, formato, simulação e produção geral do artigo. SG contribuiu para a concepção e concepção do estudo. BQ, RS e ML contribuíram para a modelagem matemática e os aspectos de codificação do estudo. MO contribuiu para a modelagem matemática, redação e revisão do artigo. JC contribuiu para a concepção, análise e rascunhos do artigo. JJ contribuiu para a coleta da pesquisa, revisão e edição principal do artigo. PB contribuiu para a coleção de pesquisa e referências do artigo. ES contribuiu para a coleção de pesquisa do artigo. WP contribuiu para o

análise estatística e simulação do artigo. NM contribuiu para a revisão da equação e parâmetros gerais do modelo. MM contribuiu para a análise de sensibilidade e modelo de difusão PDE. Todos os autores contribuíram para o artigo e aprovaram a versão submetida.

FINANCIAMENTO

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

REFERÊNCIAS

Alexander, C., e Rietschel, ET (2001). Lipopolissacarídeos Bacterianos e Imunidade Inata. *J. Endotoxina Res.* 7 (3), 167-202. doi: 10.1179/096805101101532675

Altan-Bonnet, G., e Mukherjee, R. (2019). Comunicação Mediada por Citocinas: Uma Avaliação Quantitativa da Complexidade Imune. *Nat. Rev. Immunol.* 19 (4), 205-217. doi: 10.1038/s41577-019-0131-x

Alvarez, RF, Barbuto, JAM e Venegeroles, R. (2019). Um modelo matemático não linear de resposta imune mediada por células para heterogeneidade fenotípica tumoral. *J. Theor. Biol.* 471, 42-50. doi: 10.1016/j.jtbi.2019.03.025

Anderson, LS, Reynolds, MB, Rivara, KR, Miller, LS e Simon, SI (2019). Um modelo de camundongo para avaliar a resposta imune inata à infecção por *Staphylococcus Aureus*. *J. Vis. Exp.* 144, 1-15. doi: 10.3791/59015

Badwey, JA, e Karnovsky, ML (1980). Espécies Ativas de Oxigênio e as Funções dos Leucócitos Fagocíticos. *Anu. Rev. Biochem.* 49 (1), 695-726. doi: 10.1146/annurev.bi.49.070180.003403

Brady, R., Do, F.-I., Tran, HT, Janum, S., Møller, K., Brix, S., et al. (2016). Modelo Matemático Personalizado Prevendo Respostas Inflamatórias Induzidas por Endotoxinas em Homens Jovens. *Matemática. Modelo. Nat. Fenômeno.* 13 (42), 1–20. doi: arXiv:1609.01570.

Brennan, K. e Zheng, J. (2007). Interleucina 8. Elsevier Inc Xpharm: The Comprehensive Pharmacology Reference. *xFarm* 1, 1–4. doi: 10.1016/B978-008055232-3.61916-6

Caudill, L., e Lynch, F. (2018). Um modelo matemático da resposta inflamatória ao desafio de patógenos. *Touro. Matemática. Biol.* 80 (8), 2242-2271. doi: 10.1007/s11538-018-0459-6

Cavaillon, JM (2018). Exotoxinas e Endotoxinas: Indutores de Citocinas Inflamatórias. *Tóxico* 149, 45-53. doi: 10.1016/j.toxicon.2017.10.016

Chandler, CE, and Ernst, RK (2017). Lipídios bacterianos: modificadores poderosos da resposta imune inata. *F1000Res* 6, 1–11. doi: 10.12688/f1000research.11.388,1

Charchafli, J., Wei, J., Labaze, G., Hou, YJ, Babarsh, B., Stutz, H., et al. (2012). O Papel do Sistema Complemento no Choque Séptico. *Clin. Dev. Immunol.* 2012:407324. doi: 10.1155/2012/407324

Chen, X., Wang, W., Xie, G., Hontecillas, R., Verma, M., Leber, A., et al. (2019). Análise de Sensibilidade Multi-Resolução do Modelo de Resposta Imunológica à Infecção por *Helicobacter Pylori* via Metamodelagem Espaço-Temporal. *Front. Appl. Math.* Estado. 5, 4 (4). doi: 10.3389/fams.2019.00004

Chow, CC, Clermont, G., Kumar, R., Lagoa, C., Tawadrous, Z., Gallo, D., et al. (2005). A resposta inflamatória aguda em diversos estados de choque. *Choque* 24 (1), 74–84. doi: 10.1097/01.shk.0000168526.97716.f3

Cole, J., Aberdein, J., Jubrail, J., e Dockrell, DH (2014). O Papel dos Macrófagos na Resposta Imune Inata ao *Streptococcus Pneumoniae* e *Staphylococcus Aureus*: Mecanismos e Contrastes. *Av. Microb. Fisiol.* 65, 125-202. doi: 10.1016/bs.ampbs.2014.08.004

Crank, J. (1975). *Matemática da Difusão* (Londres: Oxford & Clarendon Imprensa).

De Kimpe, SJ, Kengatharan, M., Thiernemann, C., and Vane, JR (1995). Os componentes da parede celular Peptidoglicano e ácido lipoteicoico de *Staphylococcus aureus* agem em sinergia para causar choque e falência múltipla de órgãos. *Proc. Nacional Acad. Sci. EUA* 92 (22), 10359–10363. doi: 10.1073/pnas.92.22.10359

AGRADECIMENTOS

Agradecemos os esforços dos seguintes: Judith Segall, Paul Segall, Biotime, The Center for Research and Education in Aging, Renee Brady [Moffitt Cancer Center], Hal Sternberg, Ivan Labat e George A. Brooks [Departamento de Biologia Integrativa, Universidade da Califórnia, Berkeley]. Também gostaríamos de agradecer às seguintes pessoas por seus esforços e pela pesquisa que conduziram: Jasmine Cisneros, Cassandra Chung e Leanne Peres da Silva.

de Waal Malefyt, R., Haanen, J., Spits, H., Roncarolo, MG, te Velde, A., Figdor, C., et al. (1991). A interleucina 10 (IL-10) e a IL-10 viral reduzem fortemente a proliferação de células T humanas específicas de antígeno, diminuindo a capacidade de apresentação de antígeno dos monócitos por meio da regulação negativa da expressão do complexo de histocompatibilidade principal de classe II. *J. Exp. Med.* 174 (4), 915-924. doi: 10.1084/jem.174.4.915

DiLeo, MV, Kellum, JA, e Federspiel, WJ (2009). Um modelo matemático simples de captura de citocinas usando um dispositivo de hemoadsorção. *Ana BioMed. Eng.* 37 (1), 222-229. doi: 10.1007/s10439-008-9587-8

Du, SQ e Yuan, W. (2020). Modelagem matemática da interação entre respostas imunes inatas e adaptativas no COVID-19 e implicações para a patogênese viral. *J. Med. Virol.* 92 (9), 1615-1628. doi: 10.1002/jmv.25866

Eftimie, R., Gillard, JJ, and Cantrell, DA (2016). *Modelos Matemáticos para Imunologia: Estado Atual da Arte e Direções de Pesquisa Futura*. Touro.

Matemática. *Biol.* 78 (10), 2091-2134. doi: 10.1007/s11538-016-0214-9

Emam, M., Tabatabaei, S., Sargolzaei, M., Sharif, S., Schenkel, F., and Mallard, B. (2019). O efeito da genética do hospedeiro no desempenho in vitro de macrófagos derivados de monócitos bovinos. *J. Dairy Sci.* 102 (10), 9107-9116. doi: 10.3168/jds.2018-15960

Fan, H., Williams, DL, Zingarelli, B., Breuel, KF, Teti, G., Tempel, GE, et al. (2007). Regulação Diferencial da Produção de Citocinas e Quimiocinas Induzidas por Lipopolissacarídeos e Bactérias Gram-positivas em Macrófagos por Proteínas Gai. *Imunologia* 122 (1), 116-123. doi: 10.1111/j.1365-2567.2007.02619.x

Faro, J., von Haeften, B., Gardner, R., e Faro, E. (2019). Uma Comparação de Análise de Sensibilidade de Três Modelos para a Dinâmica de Centros Germinais. *Front. Immunol.* 10:2038 (2038). doi: 10.3389/fimmu.2019.02038

Feezor, RJ, Oberholzer, C., Baker, HV, Novick, D., Rubinstein, M., Moldawer, LL, et al. (2003). Caracterização Molecular da Resposta Inflamatória Aguda a Infecções por Bactérias Gram-Negativas Versus Gram-positivas. *Infecção Imun.* 71 (10), 5803-5813. doi: 10.1128/IAI.71.10.5803-5813.2003

Feuerstein, GZ, Liu, T. e Barone, FC (1994). Citocinas, Inflamação e Lesão Cerebral: Papel do Fator de Necrose Tumoral- α . *Cerebrovasc Brain Metab. Rev.* 6 (4), 341–360.

Foster, TJ (2004). O *Staphylococcus Aureus* “Superbactéria”. *J. Clin. Investir.* 114 (12), 1693-1696. doi: 10.1172/JCI23825

Fournier, B., e Philpott, DJ (2005). Reconhecimento de *Staphylococcus Aureus* pelo Sistema Imunológico Inato. *Clin. Microbiol. Rev.* 18 (3), 521-540. doi: 10.1128/cmr.18.3.521-540.2005

Hergott, CB, Roche, AM, Tamashiro, E., Clarke, TB, Bailey, AG, Laughlin, A., et al. (2016). Peptidoglicano da microbiota intestinal governa a vida útil dos fagócitos circulantes na homeostase. *Sangue* 127 (20), 2460-2471. doi: 10.1182/sangue-2015-10-675173

Hoebe, K., Janssen, E., e Beutler, B. (2004). A interface entre imunidade inata e adaptativa. *Nat. Immunol.* 5 (10), 971-974. doi: 10.1038/ni1004

Holmes, WE, Lee, J., Kuang, WJ, Rice, GC, and Wood, WI (1991). Estrutura e Expressão Funcional de um Receptor Humano de Interleucina-8. *Ciência* 253 (5025), 1278-1280. doi: 10.1126/science.1840701

Ip, WKE, Hoshi, N., Shouval, DS, Snapper, S., and Medzhitov, R. (2017). Efeito Antiinflamatório da IL-10 Mediado pela Reprogramação Metabólica de Macrófagos. *Ciência* 356 (6337), 513-519. doi: 10.1126/science.aal3535

- Iyer, SS, e Cheng, G. (2012). Papel da Regulação Transcricional da Interleucina 10 na Inflamação e Doença Autoimune. *Crítico. Rev. Immunol.* 32 (1), 23-63. doi: 10.1615/critrevimmunol.v32.i1.30
- Johnson, DB, Lopez, MJ e Kelley, B. (2021). Dexametasona (StatPearls. (Treasure Island (FL: StatPearls Publishing Copyright © 2021, StatPearls Publishing LLC).
- Khoa, ND, Montesinos, MC, Williams, AJ, Kelly, M., and Cronstein, BN (2003). As citocinas Th1 regulam os receptores de adenosina e seus elementos de sinalização a jusante em células endoteliais microvasculares humanas. *J. Immunol.* 171 (8), 3991-3998. doi: 10.4049/jimmunol.171.8.3991
- Kim, J., Bentley, P., Aiklelin, U., Greessmith, J., Tedesco, G., and Twycross, J. (2007). Abordagens do sistema imunológico para detecção de intrusão - uma revisão. *Computação Natural. Computação Natural.* 6, 413-466. doi: 10.1007/s11047-006-9026-4
- Kwiciński, JM, e Horswill, AR (2020). Infecções da Corrente Sanguínea por *Staphylococcus Aureus*: Patogênese e Mecanismos Reguladores. atual Opinião. *Microbiol.* 53, 51-60. doi: 10.1016/j.mib.2020.02.005
- Laarman, A., Milder, F., van Strijp, J., e Rooijakkers, S. (2010). Inibição do Complemento por Patógenos Gram-positivos: Mecanismos Moleculares e Implicações Terapêuticas. *J. Mol. Med. (Berl)* 88 (2), 115–120. doi: 10.1007/s00109-009-0572-y
- Lan, F., Zhang, N., Holtappels, G., De Ruyc, N., Krysko, O., Van Crombruggen, K., et ai. (2018). *Staphylococcus aureus* induz uma resposta imune da mucosa tipo 2 por meio de citocinas derivadas de células epiteliais. *Sou. J. Respir. Crítico. Cuidado Med.* 198 (4), 452-463. doi: 10.1164/rccm.201710-2112OC
- Liu, X., Yin, S., Chen, Y., Wu, Y., Zheng, W., Dong, H., et al. (2018). Expressão de citocinas pró-inflamatórias induzidas por LPS em células epiteliais de vias aéreas humanas e macrófagos via ativação de NF-kb, STAT3 ou AP-1. *Mol. Med. Rep.* 17 (4), 5484-5491. doi: 10.3892/mmr.2018.8542
- Lowings, KM, Christodoulides, M., e Warner, JA (2009). Resposta de Citocinas a *Staphylococcus Aureus* (SA) em Pulmão Humano, Pele e Tecido Nasal. *J. Allergy Clin. Immunol.* 123 (2), S51. doi: 10.1016/j.jaci.2008.12.161
- Marchuk, GI (1997). Modelagem Matemática da Resposta Imunológica em Doenças Infecciosas (Holanda: Springer).
- McNicholas, S., Talento, AF, O'Gorman, J., Hannan, MM, Lynch, M., Greene, CM, et ai. (2014). As respostas das citocinas à infecção da corrente sanguínea por *Staphylococcus Aureus* diferem entre as coortes de pacientes que têm diferentes cursos clínicos de infecção. *BMC Infect. Des.* 14, 580. doi: 10.1186/s12879-014-0580-6
- Meier-Schellersheim, M., Varma, R., and Angermann, BR (2019). Modelos Mecanicistas de Sinalização Celular, Citocina Crosstalk e Comunicação Célula-Célula em Imunologia. *Fronte. Immunol.* 10, 2268 (2268). doi: 10.3389/fimmu.2019.02268
- Michalopoulos, AS, Livaditis, IG e Gougoutas, V. (2011). O Renascimento da Fosfomicina. *Int. J. Infectar. Des.* 15 (11), e732–e739. doi: 10.1016/j.ijid.2011.07.007
- Mirzaei, R., Ranjbar, R., Karampoor, S., Goodarzi, R. e Hasanvand, H. (2020). O sistema imunológico humano em relação ao *Staphylococcus aureus*. *Abriu Microbiol. J.* 14, 164-170. doi: 10.2174/1874285802014010164
- Möbius, W., e Laan, L. (2015). Modelagem Física e Matemática em Artigos Experimentais. *Célula* 163 (7), 1577-1583. doi: 10.1016/j.cell.2015.12.006
- Mongiú-Tortajada, M., Franquesa, M., Sarrias, MR, e Borrás, FE (2018). Baixas doses de LPS exacerbam a resposta inflamatória e desencadeiam a morte em monócitos humanos iniciados com TLR3. *Morte celular Dis.* 9 (5), 499. doi: 10.1038/s41419-018-0520-2
- Moreillon, P., e Majcherczyk, PA (2003). Atividade pró-inflamatória de constituintes da parede celular de bactérias Gram-positivas. *Digitalizar. J. Infectar. Des.* 35 (9), 632-641. doi: 10.1080/00365540310016259
- Morel, PA, Lee, REC e Faeder, JR (2017). Desmistificando a rede de citocinas: modelos matemáticos apontam o caminho. *Citocina* 98, 115-123. doi: 10.1016/j.cyto.2016.11.013
- Morikawa, K., Watabe, H., Araake, M. e Morikawa, S. (1996). Efeito Modulatório de Antibióticos na Produção de Citocinas por Monócitos Humanos. *vitro.* Antimicrobiano. *Agentes Chemother.* 40 (6), 1366-1370. doi: 10.1128/aac.40.6.1366
- Nijhout, HF, Best, JA, e Reed, MC (2015). Usando modelos matemáticos para entender o metabolismo, genes e doenças. *BMC Biol.* 13 (1), 79. doi: 10.1186/s12915-015-0189-2
- Oh, S.-J., Lee, JK e Shin, OS (2019). Envelhecimento e o Sistema Imunológico: O Impacto da Imunosenesência na Infecção Viral, Imunidade e Imunogenicidade da Vacina. *Rede Imunológica* 19 (6), e37–e37. doi: 10.4110/in.2019.19.e37
- Osawa, Y., Nagaki, M., Banno, Y., Brenner, DA, Asano, T., Nozawa, Y., et al. (2002). A produção de interleucina-8 induzida pelo fator de necrose tumoral alfa via NF-kappaB e vias de fosfatidilinositol 3-quinase/Akt inibe a apoptose celular em hepatócitos humanos. *Infecção Imun.* 70 (11), 6294-6301. doi: 10.1128/IAI.70.11.6294-6301.2002
- Pigozzo, AB, Macedo, GC, dos Santos, RW, e Lobosco, M. (2013). Sobre a Modelagem Computacional do Sistema Imunológico Inato. *BMC Bioinf.* 14 (6), S7. doi: 10.1186/1471-2105-14-S6-S7
- Ponnappan, S., e Ponnappan, U. (2011). Envelhecimento e Função Imunológica: Mecanismos Moleculares para Intervenções. *Antioxidantes Redox Signaling* 14 (8), 1551-1585. doi: 10.1089/ars.2010.3228
- PubMedHealth (2018). Claritromicina (pela boca). *Jornal Internacional de Agentes Antimicrobianos.*
- Quintela, BDM, dos Santos, RW, e Lobosco, M. (2014). Sobre o acoplamento de dois modelos de resposta imune humana a um antígeno. *BioMed. Res. Int.* 2014, 410457. doi: 10.1155/2014/410457
- Sarah, DH, e Richard, BB (2009). *Pneumonia Causada por Staphylococcus Aureus.* atual *Respire Med. Rev.* 5 (1), 62-67. doi: 10.2174/157339809787354056
- Smith, EJ, Visai, L., Kerrigan, SW, Speziale, P., and Foster, TJ (2011). A Proteína Sbi é um Fator de Evasão Imune Multifuncional de *Staphylococcus Aureus*. *Infecção Imun.* 79 (9), 3801-3809. doi: 10.1128/IAI.05075-11
- Spaan, AN, Surewaard, BG, Nijland, R., and van Strijp, JA (2013). Neutrófilos Versus *Staphylococcus Aureus*: Um cabo de guerra biológico. *Anu. Rev. Microbiol.* 67, 629-650. doi: 10.1146/annurev-micro-092412-155746
- Swain, SL, e Nikolich-Zugich, J. (2009). Principais oportunidades de pesquisa no envelhecimento do sistema imunológico. *Revistas Gerontologia. Ser. Um Biol. Sci. Med. Sci.* 64 (2), 183-186. doi: 10.1093/gerona/gln068
- Tawfik, DM, Lankelma, JM, Vachot, L., Cerrato, E., Pachot, A., Wiersinga, W. J., et ai. (2020). Comparação das respostas imunes do hospedeiro ao LPS em humanos usando um painel de perfil imunológico, endotoxemia in vivo versus estimulação ex vivo. *Sci. Rep.* 10 (1), 9918. doi: 10.1038/s41598-020-66695-2
- Torres, M., Wang, J., Yannie, PJ, Ghosh, S., Segal, RA, and Reynolds, AM (2019). Identificando parâmetros importantes no processo inflamatório com um modelo matemático de influxo de células imunes e polarização de macrófagos. *Computação Plos. Biol.* 15 (7), e1007172. doi: 10.1371/journal.pcbi.1007172
- Trinchieri, G. (2003). Interleucina-12 e a Regulação da Resistência Inata e Imunidade Adaptativa. *Nat. Rev. Immunol.* 3 (2), 133-146. doi: 10.1038/nri1001
- Wang, Z., e Deisboeck, TS (2014). Modelagem matemática na descoberta de medicamentos contra o câncer. *Drug Discovery Today* 19 (2), 145–150. doi: 10.1016/j.drudis.2013.06.015
- Wang, JE, Jørgensen, PF, Almlöf, M., Thiemermann, C., Foster, SJ, Aasen, A. O., et ai. (2000). Peptidoglicano e ácido lipoteicoico de *Staphylococcus aureus* induzem a produção de fator de necrose tumoral alfa, interleucina 6 (IL-6) e IL-10 em células T e monócitos em um modelo de sangue total humano. *Infectar. Imun.* 68 (7), 3965-3970. doi: 10.1128/iai.68.7.3965-3970.2000
- Winer, DA, Winer, S., Shen, L., Wadia, PP, Yantha, J., Paltser, G., et al. (2011). As células B promovem a resistência à insulina através da modulação das células T e da produção de anticorpos IgG patogênicos. *Nat. Med.* 17 (5), 610-617. doi: 10.1038/nm.2353
- Winslow, RL, Trayanova, N., Geman, D., and Miller, MI (2012). *Medicina Computacional: Traduzindo Modelos para Cuidados Clínicos.* *Sci. Trad. Med.* 4 (158), 158rv111. doi: 10.1126/scitranslmed.3003528
- Xue, X., e Falcão, DM (2019). O papel das células imunes e citocinas na cicatrização de feridas intestinais. *Int. J. Mol. Sci.* 20 (23), 6097. doi: 10.3390/ijms20236097
- Yao, L., Lowy, FD e Berman, JW (1996). Expressão do gene de interleucina-8 em células endoteliais infectadas por *Staphylococcus Aureus*. *Infecção Imun.* 64 (8), 3407-3409. doi: 10.1128/iai.64.8.3407-3409.1996
- Zhang, JM, e An, J. (2007). Citocinas, Inflamação e Dor. *Int. Anestesiol. Clin.* 45 (2), 27-37. doi: 10.1097/AIA.0b013e318034194e
- Zheng, Y., Q., C., Zhang, X., Zhu, Y., Li, A., Wang, M., et ai. (2020). A ilha de patogenicidade do *Staphylococcus Aureus* associada ao gene Tst facilita sua patogênese promovendo a secreção de citocinas inflamatórias e

Induzindo Supressão Imunológica. *Patogênese Microbiana* 138, 1-27. doi: 10.1016/j.micpath.2019.103797

Conflito de interesse: Os autores declaram que a pesquisa foi realizada na ausência de qualquer relação comercial ou financeira que pudesse ser interpretada como um potencial conflito de interesse.

Nota do editor: Todas as reivindicações expressas neste artigo são exclusivamente dos autores e não representam necessariamente as de suas organizações afiliadas, ou as do editor, dos editores e dos revisores. Qualquer produto que possa ser avaliado em

este artigo, ou reclamação que possa ser feita por seu fabricante, não é garantido ou endossado pelo editor.

Copyright © 2021 Talei, Garan, Quintela, Olufsen, Cho, Jahansooz, Bhullar, Suen, Piszker, Martins, Moreira de Paula, dos Santos e Lobosco. Este é um artigo de acesso aberto distribuído sob os termos da Creative Commons Attribution License (CC BY). O uso, distribuição ou reprodução em outros fóruns é permitido, desde que o(s) autor(es) original(is) e o(s) proprietário(s) dos direitos autorais sejam creditados e que a publicação original nesta revista seja citada, de acordo com a prática acadêmica aceita. Não é permitido nenhum uso, distribuição ou reprodução que não esteja em conformidade com estes termos.