

UM ESTUDO SISTÊMICO DE UM MODELO DO SISTEMA IMUNE COM
EVOLUÇÃO DA ESPECIFICIDADE

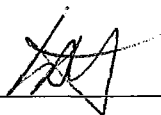
Eduardo José Aguilar Alonso

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

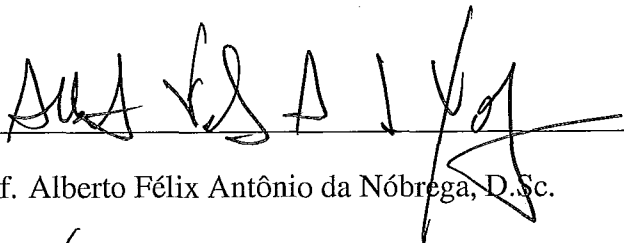
Aprovada por:



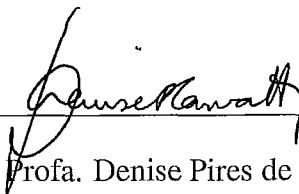
Prof. Valmir Carneiro Barbosa, Ph.D.



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



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



Profa. Denise Pires de Carvalho, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ - BRASIL

MARÇO DE 2003

AGUILAR ALONSO, EDUARDO JOSÉ

Um estudo sistêmico de um modelo do Sistema Imune com Evolução da Especificidade.
[Rio de Janeiro] 2003

XII, 93 p. 29,7 cm (COPPE/UFRJ, M.Sc., Engenharia de Sistemas e Computação, 2003)

Tese – Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE

1. Modelo do Sistema Imune.
2. Evolução da Especificidade.

I. COPPE/UFRJ II. Título (série)

*Dedicado à memória do meu avô Nicola Donangelo
e do meu padrinho Angel Sánchez.*

Agradecimentos

O presente trabalho é o fecho de um projeto composto de muitas tarefas: mudar de país e me instalar numa cidade desconhecida para mim, aprender uma língua com semelhanças traiçoeiras, além de satisfazer os requisitos curriculares que o mestrado exige. Todas essas tarefas foram completadas com a ajuda de muitas pessoas que de um modo ou outro colaboraram para que eu saísse bem sucedido em tudo. Vou seguir uma ordem histórica para me referir a alguns dos nomes daqueles aos que estou agradecido.

Ao meu pai Eduardo Aguilar, a minha mãe Irma Alonso, a minhas irmãs Mercedes e Cecilia, ao meu cunhado Daniel Lorenzo, a Teresita Abellá e a Daniel Lacuesta. Todos eles me deram o seu apoio afetivo tanto no início quanto ao longo do processo.

Aos meus colegas do Departamento de Instrumentos da Facultad de Química, Luis Mussio e Alvaro Gancharov por suportar a sobrecarga de trabalho que decorreu de minha vinda para o Brasil.

A Raúl e Carmen Donángelo que se constituíram na minha família no Brasil. Sem a orientação e o suporte inicial deles eu não teria conseguido fazer com sucesso a mudança de cidade.

Ao meu orientador Luís Alfredo Vidal de Carvalho a quem devo o convite de vir fazer a pós-graduação na COPPE. As suas orientações foram além do acadêmico e hoje estou feliz de contar com a sua amizade.

Aos funcionários do Programa de Sistemas da COPPE que tiveram muita amabilidade e paciência comigo, sobretudo com o meu portuNHOL do início. E não vou esquecer de Lourdes pela sua simpatia e por seu café gostoso de todos os dias.

Todos os meus colegas de turma fizeram da minha estada uma experiência prazerosa além de enriquecedora. Em especial quero agradecer a Ana Paula Wauke, a Rodrigo Weymar Fonseca e Marina Petric pelo presente das suas amizades.

Uma das tarefas mais difíceis é conseguir orientação. Nesse sentido mais uma vez o Brasil foi generoso comigo e me permitiu ser co-orientado pelo professor Valmir Carneiro Barbosa. Agradeço a ele a honra de ter me aceito, e o prazer de trabalhar com ele.

Esta tese deve sua corretude em grande medida aos esforços de Nicolau Maluf e de Luciana Ferrari, que transformaram o escrito original neste trabalho, que espero seja de leitura agradável. Tanto Nicolau com a sua “Terapia de Tese”, quanto Luciana com a

edição das figuras, são co-responsáveis pela qualidade desta obra.

Aos professores Denise Pires de Carvalho e Alberto Nóbrega agradeço terem aceito fazer parte da minha banca.

Finalmente, agradeço ao CNPq e à Facultad de Química de la Universidad de la República pelo apoio financeiro.

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

UM ESTUDO SISTÊMICO DE UM MODELO DO SISTEMA IMUNE COM
EVOLUÇÃO DA ESPECIFICIDADE

Eduardo José Aguilar Alonso

Março/2003

Orientadores : Valmir Carneiro Barbosa

Luís Alfredo Vidal de Carvalho

Programa: Engenharia de Sistemas e Computação

Nesta tese apresentamos um estudo sistêmico do modelo do sistema imune com evolução da especificidade criado por Flores e Barbosa. Sobre este modelo são consideradas a evolução da estrutura do grafo subjacente, as variações nas populações de linfócitos e a distribuição de probabilidades do grau dos nós. Além disso, são levantadas as possíveis relações entre os padrões de estruturas do grafo e a realidade biológica. É sugerida ainda a possibilidade de que este modelo seja da categoria dos sistemas criticamente auto-organizados.

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

A MODEL OF THE IMMUNE SYSTEM WITH EVOLUTION OF SPECIFICITY: A
SYSTEMIC ANALYSIS.

Eduardo José Aguilar Alonso

March/2003

Advisors: Valmir Carneiro Barbosa

Luís Alfredo Vidal de Carvalho

Department: Computing Systems Engineering

In this thesis we present a systemic approach to the model of the immune system with evolution of the specificity created by Flores and Barbosa. The evolution of the structure of the underlying graph, the variations in the populations of lymphocytes and the distribution of probabilities of the degree of the nodes are considered. The possible relations between the structures of the graph and the biological reality are indicated. There is an evaluation of the possibility that the system shows a self-organized criticality condition.

Sumário

1	Introdução	1
2	Fundamentos teóricos	4
2.1	Anatomia e funções do sistema imune	5
2.1.1	Imunidade inata	6
2.1.2	Imunidade específica (ou adquirida)	7
2.1.3	Órgãos	14
2.1.4	Funções do sistema imune	21
2.2	Hipóteses sobre o sistema imunológico	28
2.2.1	Teoria da seleção clonal	28
2.2.2	Teoria da rede funcional	30
2.3	Modelos do sistema imunológico	33
2.3.1	O <i>shape space</i> (SS)	33
2.3.2	O grafo	35
2.3.3	O modelo B	35
3	Descrição do modelo	38
3.1	O modelo de FLORES-BARBOSA (FBM)	38
3.1.1	Hipóteses e mecanismos gerais	38
3.1.2	Equações	40
3.2	Considerações relativas ao presente estudo	47
3.2.1	O critério para a avaliação do grau	48
3.2.2	Modelagem do envelhecimento	50

4	Comportamento do sistema isolado	51
4.1	Metodologia	51
4.1.1	Os gráficos de variáveis	51
4.1.2	Os desenhos de grafos	52
4.1.3	Os parâmetros e as condições iniciais	52
4.2	Estágios da topologia do grafo	53
4.2.1	O sistema jovem	54
4.2.2	O sistema maduro	54
4.2.3	O sistema velho	58
4.3	Evolução dos graus dos nós	60
4.3.1	Caso geral da evolução	60
4.3.2	Caso de um nó com baixa especificidade	61
4.4	Evolução da população e dos campos	64
4.4.1	Evolução da população	64
4.4.2	Evolução dos campos estimulatório e inibitório	71
5	Comportamento do Sistema perante Perturbações	73
5.1	A presença de antígenos	73
5.1.1	Resposta da rede jovem	74
5.1.2	Resposta da rede madura	76
5.2	O efeito do envelhecimento	82
5.2.1	O efeito sobre a estrutura do grafo	82
5.2.2	O efeito sobre a população	83
6	Conclusões	87

Lista de Figuras

2.1	Composição de um anticorpo.	9
2.2	Rearranjo do DNA para criar os genes responsáveis pelas Ig.	10
2.3	Ligação do linfócito T ao MHC. (Adaptado de [2].)	12
2.4	Resumo dos tipos de leucócito.	14
2.5	Medula óssea.	15
2.6	Hematopoiese. (Adaptado de [2].)	16
2.7	O timo. (Adaptado de [2].)	17
2.8	Distribuição dos linfonodos no corpo humano.	18
2.9	Desenho de um linfonodo. (Adaptado de [2].)	19
2.10	Esquema do baço. (Adaptado de [2].)	21
2.11	Fases da resposta imune. (Adaptado de [2].)	23
2.12	Resumo dos tipos de resposta imune. (Adaptado de [2].)	24
2.13	Respostas primária e secundária. (Adaptado de [2].)	25
2.14	Seleção clonal. (Adaptado de [2].)	30
2.15	Rede funcional do sistema imune.	32
2.16	O <i>Shape Space</i>	34
2.17	Funções de ativação.	37
3.1	Lei do fator de crescimento.	46
4.1	O grafo no passo 100.	55
4.2	O grafo no passo 10 000.	56
4.3	Decomposição do grafo do passo 10 000.	57
4.4	O grafo do sistema para o passo 100 000.	59
4.5	Superfície do grau.	60

4.6	Evolução do grau do nó 5.	61
4.7	Evolução do grau do nó 83.	62
4.8	Distribuição de frequências para o grau do nó 83 com escalas logarítmicas.	63
4.9	Distribuições do grau para redes de 20 e 200 nós.	64
4.10	Superfície da população.	65
4.11	Evolução da população do nó 0.	66
4.12	Evolução da população do nó 7.	68
4.13	Evolução da população do nó 83.	70
4.14	Influências dos campos sobre a população do nó 0.	72
5.1	Resposta da rede jovem perante injeções de antígenos no nó 0.	74
5.2	Grafo no passo 10 000 após a injeção de antígenos.	75
5.3	Resposta do sistema maduro à injeção de antígenos.	77
5.4	Resposta do sistema perante antígenos num nó de baixa especificidade.	80
5.5	Grafo no passo 25 000 após a injeção de antígenos.	81
5.8	Efeito do envelhecimento sobre o grau do nó 0.	83
5.6	Estrutura do grafo no passo 25 000 sem envelhecimento.	84
5.7	Estrutura do grafo no passo 25 000 com envelhecimento.	85
5.9	Efeito do envelhecimento sobre a população do nó 0.	86

Lista de Tabelas

3.1	Comparação do sistema imune com o processamento de sinais.	42
4.1	Valores dos parâmetros das redes.	53

Capítulo 1

Introdução

"It is clear that a science that advances as rapidly as immunology requires a continuous revision of its theoretical foundations as well as a continuous expansion of the theoretical framework in order to encompass phenomena that older theories did not have to deal with." N. K. JERNE, 1974

O estudo do sistema imune tem adotado duas estratégias gerais para organizar os dados recolhidos e assim compreender as funções imunológicas. A primeira das estratégias, largamente aceita pelos imunologistas, consiste numa visão reducionista segundo a qual supõe-se que as questões ainda sem resposta serão resolvidas com a descoberta de detalhes novos no nível biomolecular. A outra modalidade de conhecimento é do tipo sistêmico. JERNE, em 1974, fez a primeira tentativa de visão sistêmica com a proposta da rede funcional ou rede idiotípica. Ela contou com a aceitação entusiasmada de um setor importante da comunidade da imunologia. No entanto, após quase trinta anos do seu enunciado, só existem alguns vestígios daquele entusiasmo inicial. São muitas as causas por trás da perda de interesse, entre as quais podem ser incluídas as limitações das técnicas de laboratório que impedem uma verificação conclusiva da utilidade da Rede. Porém, ela continua a atrair o interesse dos cientistas da física e da matemática, entre outros, pela sua elegância e pela intuição de que o belo é mais verdadeiro.

O objetivo do presente trabalho é seguir uma visão sistêmica como a proposta por

JERNE, empregando para isso um modelo do sistema imune desenvolvido por FLORES e BARBOSA. Ele constitui um sistema dinâmico complexo, no qual determinadas propriedades de auto-organização *emergem* como resultado das fortes interações locais entre muitos elementos. Na tese de mestrado de LUIS FLORES foi mostrado que a rede descrita pelo modelo imita algumas das funções classicamente associadas ao sistema imune adquirido, entre elas, a remoção de antígenos com uma eficácia cada vez maior. Porém aquele trabalho carece de um análise ao longo prazo da evolução dessas funções, assim como falta explorar as características estruturais do grafo subjacente. É o nosso objetivo continuar com o estudo do modelo mas considerando uma rede de tamanho vinte vezes maior à considerada por FLORES, durante períodos "prolongados", a fim de pôr em evidência aquelas propriedades emergentes do sistema. Foram simulados vários tipos de experimentos, tanto no caso onde a rede evolui sem influência do "exterior", quanto naqueles casos nos quais a rede é confrontada com perturbações tais como injeção de antígenos ou o envelhecimento. Graças a essas simulações, foram reconhecidos padrões estruturais estáveis no grafo, assim como as relações que eles mantêm com o tipo de comportamento que o sistema adota perante uma perturbação. A formação desses padrões está relacionada com estágios na evolução do sistema, assim como está estreitamente ligada com a história de perturbações que puderam acontecer durante o desenvolvimento. Foram identificados alguns tipos de nós cujo comportamento faz pensar nos sistemas criticamente auto-organizados, e que se mostram como fundamentais para a manutenção das funções cognitivas da rede. Finalmente, são feitas algumas conjeturas sobre como podem estar relacionadas essas características emergentes do sistema com a dinâmica dos sistemas imunes reais.

A tese está organizada da seguinte forma. No Capítulo 2 são apresentados os fundamentos teóricos necessários para a compreensão deste trabalho. É incluída uma breve descrição dos componentes do sistema imune, um resumo das principais teorias sobre a sua organização e a apresentação daquelas modelagens subjacentes ao presente estudo. No Capítulo 3 é descrito o modelo criado por LUIS FLORES e VALMIR BARBOSA e são assinaladas as possíveis interpretações biológicas que os parâmetros têm. São também apresentadas as modificações feitas a fim de explorar o comportamento do sistema modelado quando é considerado o envelhecimento. No Capítulo 4 é estudada a evolução do sistema isolado, ou seja, o que JERNE chamou de *eigen-behaviour* do sistema imune.

Serão do nosso interesse as mudanças que aparecem na estrutura do grafo associado, assim como as variações a longo prazo do grau e das populações dos nós. No Capítulo 5 o sistema é confrontado com "perturbações"; ali são abordadas questões tais como o que acontece com a rede quando ela entra em contato com antígenos em diferentes estágios da sua evolução, ou como afeta o envelhecimento a homeostase do sistema. Finalmente, o Capítulo 6 contém as conclusões obtidas a partir dos experimentos descritos nos dois capítulos anteriores.

Capítulo 2

Fundamentos teóricos

O sistema imunológico foi reconhecido apenas recentemente como o terceiro maior sistema regulador do corpo, em igualdade com o sistema nervoso autônomo e o sistema endócrino. Neste capítulo iremos salientar apenas aquelas características necessárias para a compreensão do presente trabalho.

Como definir o que é o sistema imune (SI)? O caminho normalmente utilizado para responder a esta pergunta é apresentar uma definição funcional classicamente aceita: o SI é o encarregado de proteger o corpo contra os agentes estranhos e possivelmente nocivos que o tentam invadir. Esta definição envolve uma suposição quase universal que pode induzir a deixar de lado aspectos fundamentais do fenômeno estudado. Há evidências da participação determinante do SI em funções como a diferenciação celular e portanto, na morfogênese. Por exemplo, o processo de cicatrização é coordenado pelos fatores de crescimento liberados por células T. EDWARD GOLUB [3] chama de *funções geradoras* do SI a todos esses processos nos quais células do SI participam como efetoras ou coordenadoras de tarefas que não são estritamente defender o corpo de agressões. Vejamos um exemplo do tipo de paradoxo ocasionado pelo desconhecimento de tais funções: tradicionalmente supõe-se que um tumor é uma agressão e esperamos que o SI o suprima. A visão clássica do que ocorre quando um tumor se instala no corpo explica que o SI não reconheceu a tempo a agressão e a "dinâmica de crescimento" do tumor superou a capacidade de resposta do SI, que daí em diante sofre quase que passivamente as conseqüências da enfermidade. No entanto há evidências que mostram que o SI pode estar envolvido no crescimento de alguns tipos de tumores, por exemplo estimulando a angiogênese (au-

mento no suprimento sanguíneo para o tumor nutrir seu posterior crescimento) [3].

No estudo da imunologia achamos muitos casos de tais paradoxos. O caminho geralmente escolhido para solucioná-los implica em buscar um fator até então oculto que tenha provocado o comportamento "errado" do SI. No final desse caminho acham-se respostas tais como: "foi isolada a molécula X que modifica o comportamento local dos linfócitos...", ou "foi descoberto o gene GZY que codifica um mensageiro para que os mastócitos...". O grau de detalhe é assim acrescentado mas não é obtida compreensão nenhuma de por quê o corpo teve uma mudança no seu comportamento; seria até provável que aquela molécula também fosse achada em outros lugares do corpo sem que acontecesse doença nenhuma, e então o paradoxo voltou a se manifestar, mas com outra aparência.

Um caminho alternativo seria mudar a maneira de olhar para o SI para dar a essa cadeia de eventos uma estrutura coordenada e integrada. Porém, para criar essa estrutura é necessário estabelecer uma hierarquia entre os protagonistas (moléculas, células, órgãos) e as interações que eles mantêm.

A seguir vamos fazer um inventário resumido desses protagonistas (estritamente só faremos uma descrição dos mais conhecidos) e das relações mais estudadas. Um estudo mais aprofundado poderia começar pela referência [2].

2.1 Anatomia e funções do sistema imune

O sistema imune tem evoluído filogeneticamente tanto no que diz respeito à sua eficácia quanto à sua complexidade. Desde o início da história da vida, seres como protozoários coloniais já possuíam a capacidade de distinguir o que era próprio daquilo que era estranho, sem a qual a vida colonial e a reprodução sexual não seriam possíveis. Sabe-se que os organismos das esponjas, talvez os metazoários mais antigos, atacam enxertos de outras esponjas, o que prova que estes antigos organismos apresentam também tal capacidade. Entretanto, a resposta imunológica nas esponjas e nos demais invertebrados não é idêntica à dos vertebrados, nos quais, devido à memória imunológica, se um enxerto de um doador é rejeitado, um segundo enxerto do mesmo doador poderá ser rejeitado mais rapidamente. A ordem seguida na apresentação dos principais protagonistas do sistema imune começa por aqueles que apareceram primeiro na evolução (os seus descendentes

atuais compõem a chamada imunidade inata) para logo introduzir os componentes mais jovens na escala evolutiva (integrantes da imunidade específica).

2.1.1 Imunidade inata

A imunidade inata proporciona uma defesa não-específica, geral, contra todos os invasores. O termo inata se refere ao fato de ela estar presente mesmo que o organismo não tenha sido atacado por nenhum agente. Ela é não-específica porque seu modo de agir não leva em conta a história de confrontos que o corpo possa ter tido contra agentes agressores, e portanto seu comportamento não muda para se adaptar e lutar mais eficazmente.

Na primeira linha de proteção estão a pele, as secreções ácidas junto com as enzimas digestivas do estômago, e as membranas mucosas. A segunda linha de defesa está dentro do sangue, onde há células sanguíneas brancas (leucócitos) e numerosas moléculas, que podem atacar e destruir muitos tipos de invasores patogênicos.

O tempo médio de vida de várias moléculas desse tipo de imunidade está numa faixa entre segundos e horas, enquanto a maioria de suas células tem uma duração de até dias.

As moléculas

O complemento do plasma é um sistema de proteínas funcionalmente ligadas que interagem entre si de maneira altamente regulada para executar muitas das funções efetoras da *imunidade humoral* (ver Seção 2.1.4) e da inflamação [2].

Um tipo especial de moléculas são as citocinas (ou *citoquinas*). Entre elas destacamos o TNF (*tumor necrose fator*) que é uma proteína que pode atacar diretamente as células cancerígenas bem como os tecidos. Existem também as citocinas derivadas de macrófagos como os interferons alfa e beta, que são proteínas mensageiras produzidas toda vez que uma célula é atacada por um vírus. Veremos mais adiante que outras citocinas são produzidas por células participantes da imunidade específica.

As células.

As principais células envolvidas na imunidade inata são os *fagócitos*. Duas grandes subcategorias são consideradas: os *neutrófilos* e os *monócitos*.

Os primeiros são leucócitos maduros que circulam no sangue e cuja função é atacar e destruir as bactérias e os vírus presentes na circulação sanguínea. Já os monócitos são células imaturas que enquanto circulam no sangue não possuem uma boa capacidade efectora. Porém, quando elas chegam até os tecidos próximos às áreas de ferimento, elas quintuplicam o seu tamanho e adquirem um grande poder bactericida.

Outro tipo de leucócito que atua de maneira não específica é a célula matadora natural (NK). Ela é um tipo de linfócito grande, com numerosos grânulos citoplasmáticos capazes de lisar várias células tumorais e infestadas por vírus.

A imunidade inata não é considerada no estudo do presente trabalho, porém é impossível não levar em conta que em algum nível da hierarquia do sistema imune esses componentes serão os protagonistas da execução final das estratégias geradas nos níveis superiores de coordenação.

2.1.2 Imunidade específica (ou adquirida)

Alguns dos componentes da imunidade inata podem ser achados em seres vivos tão primitivos quanto os protozoários. Porém as primeiras formas de imunidade específica só irão aparecer numa etapa filogenética bem mais tardia, nos elasmobrânquios (tubarões, arraias) [4]. Na imunidade específica também são envolvidos mecanismos de defesa induzidos ou estimulados pela exposição a substâncias estranhas, mas são peculiarmente específicos para macromoléculas distintas, e aumentam em magnitude as capacidades defensivas com cada exposição sucessiva a uma macromolécula em particular [2]. As substâncias estranhas que induzem as imunidades específicas são chamadas *antígenos*.

As moléculas

Na imunidade específica podemos classificar as moléculas participantes como coordenadoras das ações dos integrantes do SI, ou como envolvidas diretamente na interação com os antígenos.

As moléculas do primeiro tipo são as chamadas *citocinas*, algumas das quais já foram apresentadas junto com a imunidade inata. Na literatura é usado o termo *linfocinas* pra designar aquelas citocinas que atuam na imunidade específica. Elas atuam mediando respostas imunes e inflamatórias e são de produção rápida e auto-limitante; estimulam o

crescimento e diferenciação de leucócitos imaturos. Pertencem a este conjunto as *interleucinas* e os *interferons* (e.g. interferon gama).

O segundo tipo de moléculas são as conhecidas pelo nome geral de *anticorpos*. Elas constituem um conjunto muito diverso de glicoproteínas e estão presentes em vários fluidos do corpo (sangue, linfa, lágrimas, leite, mucosas), mas principalmente no soro do sangue. Mais especificamente, sabe-se que elas estão na fração das globulinas do soro e por isso os anticorpos são conhecidos por imunoglobulinas. Empregando técnicas de eletroforese é possível subclassificar as imunoglobulinas em cinco classes: IgG, IgM, IgA, IgE e IgD. Cada uma delas corresponde a uma faixa da corrida eletroforética e portanto os conjuntos são separados segundo a parte mais pesada das moléculas (elas correspondem as cadeias CH3 e CH4 da Figura 2.1).

O anticorpo em maior concentração no sangue é o IgG (75%), que pode facilmente sair dos vasos em processos inflamatórios. Suas funções são aglutinar e opsonizar antígenos, por exemplo para neutralizar vírus e ativar o complemento do plasma.

Segue em importância o IgM que é o principal anticorpo em respostas imunes primárias; geralmente está confinada ao ambiente intravascular e suas funções são análogas às da IgG.

Finalmente assinalaremos que a IgE está ligada à luta contra helmintos (parasitas do tipo vermes) e ela tem um papel importante no surgimento de alergias. As funções da IgD não são ainda muito bem conhecidas. Na Figura 2.1 está representado o esquema de um anticorpo; nela, a região variável V-J da cadeia leve e a região variável V-D-J da cadeia pesada correspondem ao domínio variável. A região constante CL da cadeia leve corresponde a um domínio constante. A região constante da cadeia pesada comporta 3 (ou 4) domínios constantes CH1 a CH3; os domínios CH1 e CH2 estão separados por uma dobradiça (cadeias delta, gama e alfa).

Quando uma molécula de imunoglobulina encontra um antígeno eles podem ligar-se ou não. A ligação depende da complementaridade físico-química entre as moléculas; no caso de a ligação acontecer, fala-se que o anticorpo tem afinidade ou especificidade pelo antígeno¹. Estudos feitos sobre o tamanho razoável que deveria ter a parte do antígeno

¹Especificidade (ou Afinidade) vs. avididade – As interações entre antígenos e anticorpos são comparáveis às interações enzima-substrato, definindo-se uma afinidade para cada tipo de anticorpo e para o antígeno que ele reconhece, medida em unidades de l/mol (M-1). As IgMs têm em geral uma baixa afinidade (K_a da ordem dos 10^7 M-1), enquanto as IgGs têm geralmente uma alta afinidade (10^9 M-1). Mas a medição das

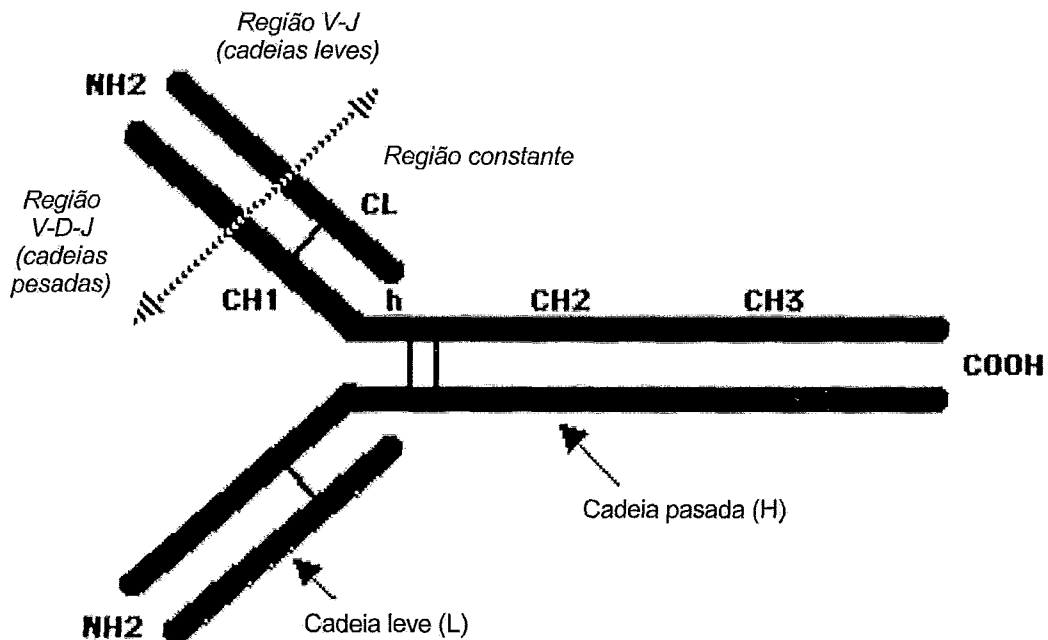


Figura 2.1: Composição de um anticorpo.

que é empregada pelo anticorpo para ligar-se, levam a estimar que o repertório mínimo de anticorpos num organismo inclui 10^7 tipos diferentes de anticorpos. No caso dos humanos, o tamanho do repertório é estimado na ordem de 10^{12} tipos diferentes de Igs. Cabe se perguntar: como é possível que sejam produzidos tantos tipos diferentes de moléculas?[4] Duas teorias foram sugeridas para explicar este fenômeno:

- A Teoria Germinativa: ela supunha que existe um gene específico para sintetizar cada molécula diferente de Ig (1 gene = 1 cadeia de Ig). Porém atualmente sabe-se que o genótipo humano não possui uma quantidade tão grande de genes.
- A Teoria das Mutações Somáticas: neste caso, somente alguns genes seriam implicados, mas numerosas mutações somáticas deveriam acontecer para produzir a

constantes de afinidade. Ka requer antígenos e anticorpos purificados, o que no caso destes últimos só é possível com anticorpos monoclonais. Para soros policlonais, em vez de se falar de afinidade fala-se de avididade, que é uma medida global da força das interações entre o antígeno (purificado) e os diversos anticorpos que o reconhecem, presentes nesse soro (em condições experimentais padronizadas). Se for viável extrapolar dos resultados experimentais para situações *in vivo*, a avididade tem um grande significado fisiológico, pois permite avaliar a imunidade do indivíduo para o antígeno com que se fez a medição. Nestas situações, a avididade mede-se em termos relativos (ao contrário da afinidade que é em medidas universais), sendo o padrão o soro pré-imune: do mesmo indivíduo ou estirpe quando sem contato prévio com o antígeno.

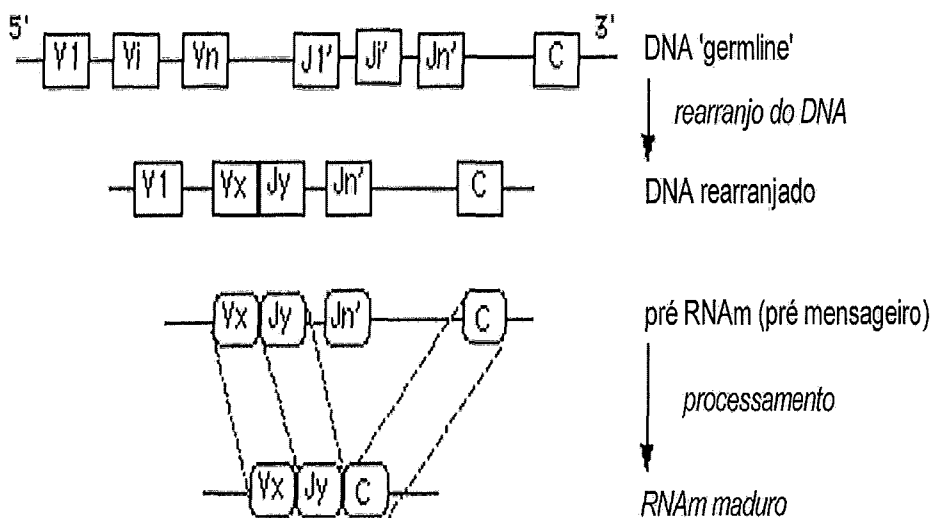


Figura 2.2: Rearranjo do DNA para criar os genes responsáveis pelas Ig.

diversidade de imunoglobulinas já mencionada; portanto este modelo estaria contra os princípios gerais aceitos pela genética.

Na atualidade sabe-se que as duas teorias têm uma parte da verdade. A resposta de como um repertório tão grande é gerado está no conceito de *Rearranjo do DNA*. Na Figura 2.2 aparece um esquema de como os genes encarregados da codificação das proteínas das Igs² são montados durante o processo de amadurecimento dos linfócitos (ver Seção 2.1.2), que são as células responsáveis pela secreção das Ig. É muito importante observar que somente os genes de imunoglobulinas e de receptores de células T (tratados em 2.1.2) passam pelos rearranjos de DNA.

²Para ser mais exatos, esse genes vão codifi car a parte variável das moléculas de imunoglobulina. Outros mecanismos semelhantes são os responsáveis pela criação das partes constantes. Todos esses mecanismos atuam em conjunto para provocar a *exclusão alélica*, ou seja, cada célula B só poderá produzir um tipo de molécula de imunoglobulina.

As células

As células do sistema imune envolvidas na imunidade específica são principalmente os *linfócitos*. Entre eles distinguimos dois tipos principais: os linfócitos B e os linfócitos T.

Os linfócitos B são os principais responsáveis pela chamada *imunidade humoral* (ela será tratada na Seção 2.1.4). Eles circulam na linfa e no sangue (com uma proporção de 10 % do total de linfócitos). Na superfície da sua membrana celular está presente uma molécula chamada *parátopo* que confere a cada célula B a capacidade de se ligar a um conjunto determinado de antígenos. Por sua vez esses antígenos possuem um *epítopo* (parte da molécula antigênica que determina uma resposta imunológica), que se corresponde em forma complementar com o parátopo do linfócito. Quando um linfócito B é produzido e encontra-se num estado virgem, é necessário que ele encontre um antígeno com o epítopo afim (*fase cognitiva*) para que ele comece a atuar (*fase de ativação*). Como consequência dessa etapa de ativação, os linfócitos B (com ajuda dos linfócitos T) começam a se multiplicar, virando a maior parte deles *células plasmáticas* (*plasmócitos*), os quais começam a secretar anticorpos (*fase efetora*). Esses anticorpos terão a mesma estrutura dos parátomos do linfócito B que os gerou e irão se ligar aos antígenos presentes. A multiplicação de linfócitos B ativados acontece com uma taxa de mutação muito grande que os caracteriza: esse fenômeno é conhecido pelo nome de *hipermutação*.

Segundo a Hipótese da Seleção Clonal (que veremos na Seção 2.2.1), alguns dos linfócitos B que passaram pela fase de ativação não se transformam em plasmócitos mas virarão um tipo especial de célula chamada *linfócito de memória*. Segundo essa hipótese, esse tipo especial de célula teria uma vida média muito longa (da ordem de anos) e seria responsável pela memória que a imunidade específica apresenta ao "refinar" sua capacidade de resposta em encontros sucessivos com o mesmo tipo de antígeno [13].

Uma segunda função importante dos linfócitos B resulta da sua capacidade para *apresentar antígenos* aos linfócitos T. Isso acontece devido ao fato de que os linfócitos B colocam na sua membrana celular amostras das partes suscetíveis de serem reconhecidas dos antígenos.

Os linfócitos T são os protagonistas principais da *imunidade celular*, pois eles só interatuam com partes muito específicas da membrana celular de outra célula qualquer. Essas regiões específicas são as proteínas do *complexo maior de histocompatibilidade* (MHC). Todas as células do corpo possuem o MHC tipo I, enquanto que só as células apresenta-

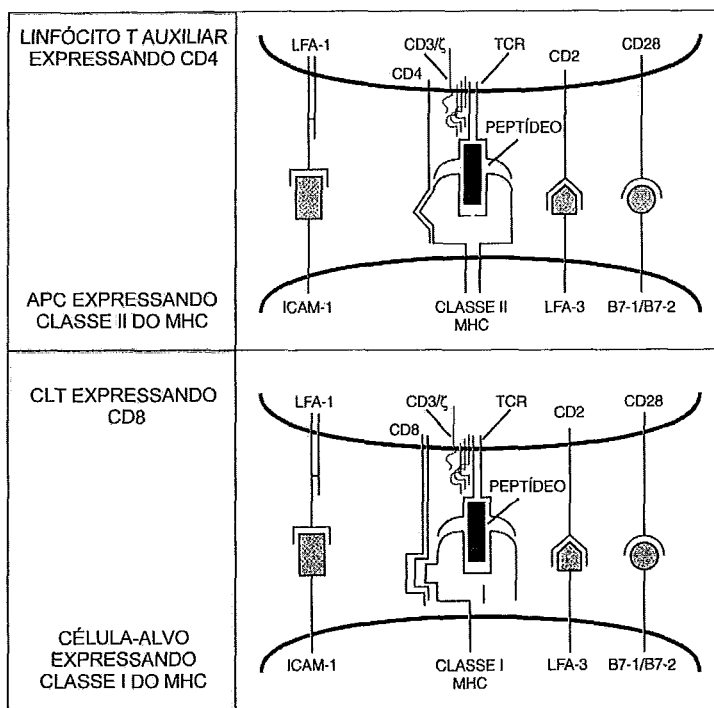


Figura 2.3: Ligação do linfócito T ao MHC. (Adaptado de [2].)

doras de antígenos possuem um MHC tipo II . Para que um linfócito T fique estimulado ele deverá entrar em contato com um epítipo localizado num MHC (Figura 2.3). Cada linfócito T tem um receptor único (parátipo) de complexo MHC-peptídeo (que é o próprio epítipo) e portanto pode reconhecer apenas um desses complexos. Destarte, existe somente uma pequena quantidade de linfócitos T no nosso organismo com capacidade de reconhecer um complexo em particular de MHC-peptídeo. O linfócito T somente será ativado para responder se além deste complexo a célula apresentadora de antígeno fornecer sinais co-estimuladores adicionais. Esses sinais são essenciais e determinarão se o linfócito T será ativado ou permanecerá "dormindo". As células apresentadoras de antígeno (além dos linfócitos B existem as células dendríticas e os macrófagos) podem não fornecer esses sinais importantes se os fragmentos de epítopos patogênicos estranhos não estão sendo apresentados. As células apresentadoras de antígeno também enviam vários mensageiros (citocinas), os quais podem aumentar ainda mais o processo de ativação da célula T.

Existem três tipos de linfócitos T: linfócitos T auxiliares (Th), linfócitos T citotóxicos

(Tc) e os linfócitos T reguladores (Tr, antes conhecidos por supressores). O avanço mais importante na identificação e análise destes subgrupos de linfócitos T foi a descoberta de que populações funcionalmente distintas expressam diferentes proteínas de membrana. Estas proteínas servem como marcadores dos fenótipos de diferentes populações de linfócitos³. Por exemplo, a maioria dos linfócitos Th expressam uma proteína de superfície denominada CD4, e em sua maioria os Tc expressam um marcador diferente, denominado CD8. Portanto, anticorpos contra tais marcadores podem ser usados na identificação e isolamento das diversas populações linfocitárias. Além disso, após uma análise mais aprofundada, foi demonstrado que muitas das proteínas de superfície, que foram inicialmente reconhecidas como marcadores fenótipos para vários linfócitos, desempenhavam papéis importantes nas funções biológicas destas células.

Os linfócitos Th liberam várias citocinas no ambiente local se eles reconhecem uma célula apresentadora de antígeno exibindo um fragmento de peptídeo estranho no seu complexo protéico maior de histocompatibilidade juntamente com moléculas de co-estimulação. Essas citocinas sinalizarão ao linfócito Th para se dividirem e aumentarem em número e também para enviar sinais para a ativação de outras células. Essas células são essenciais para orientar as características da resposta imune. Por exemplo, a liberação de certos mensageiros pela célula Th resultará no desenvolvimento de mais de uma resposta ao agente patogênico estranho associada a anticorpos, ou mais de uma resposta de linfócito Tc ao agente patogênico.

Os linfócitos T citotóxicos também necessitam do complexo MHC-peptídeo junto com sinais de co-estimulação para serem ativados. Uma vez ativados, eles se expandirão e se tornarão preparados para causar dano às células que expressam o patógeno estranho que causou a ativação. Essas células são particularmente importantes para lutar contra células normais do nosso corpo que foram infectadas por vírus. Além disso, acredita-se que essas células sejam críticas para reconhecer e lutar contra células neoplásicas que possam ter se desenvolvido no nosso corpo. Embora esses linfócitos possam freqüentemente reconhecer fragmentos de antígeno associado a tumor que são exibidos nas proteínas do MHC pelo câncer, eles usualmente não se ativam para lutar contra as células que apresen-

³CD (*cluster of differentiation*): conjunto de anticorpos monoclonais (de murganho quase sempre) que reconhecem epítomos de uma molécula cuja presença à superfície de certas células do sistema imune contribui para a discriminação (a sua diferenciação) em relação a outros tipos celulares. Emprega-se a notação CD4⁺ para indicar que um tipo de linfócito pertence ao quarto *cluster of differentiation*.

tam esses complexos porque esses antígenos associados a tumor são reconhecidos como proteínas próprias do organismo. Células cancerosas usualmente não apresentam os sinais de co-estimulação que são necessários para a ativação desses linfócitos. Estratégias para reverter essa anergia e ativar esses linfócitos T citotóxicos são críticas para a criação de estratégias de vacinação eficazes contra o câncer. Na Figura 2.4 é apresentado um resumo dos diferentes tipos de células do sistema imune.

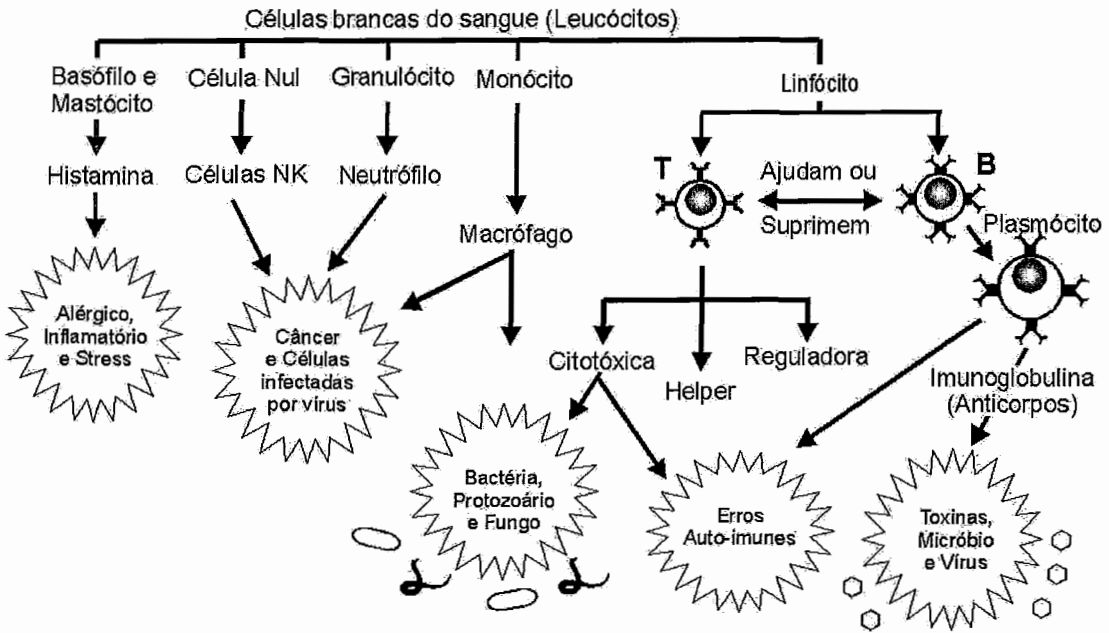


Figura 2.4: Resumo dos tipos de leucócito.

2.1.3 Órgãos

Os principais órgãos envolvidos na operação do sistema imune são a medula óssea, o timo, os linfonodos e o baço. Faremos uma breve descrição de cada um deles assim como do seu funcionamento.

A medula óssea

A medula óssea (ver figura 2.5) é constituída por um tecido esponjoso mole localizado no interior dos ossos longos. É nela que o organismo produz praticamente todas as células do sangue: glóbulos vermelhos (hemácias), glóbulos brancos e plaquetas. Estes componen-

tes dos sangue são renovados continuamente e a medula óssea é quem se encarrega desta renovação. Trata-se portanto de um tecido de grande atividade evidenciada pelo grande número de multiplicações celulares.

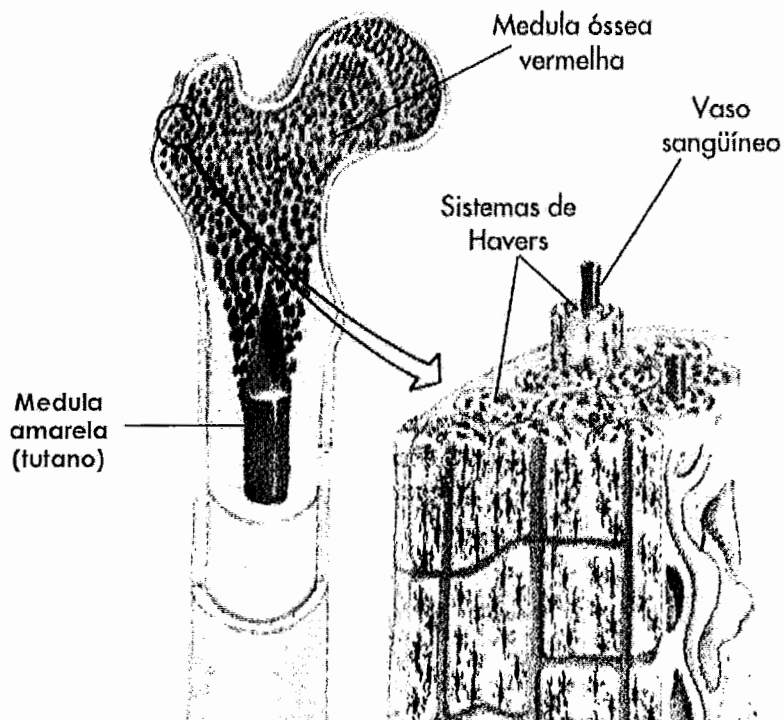


Figura 2.5: Medula óssea.

Todas as células do sangue se originam numa célula indiferenciada comum (ver figura 2.6).

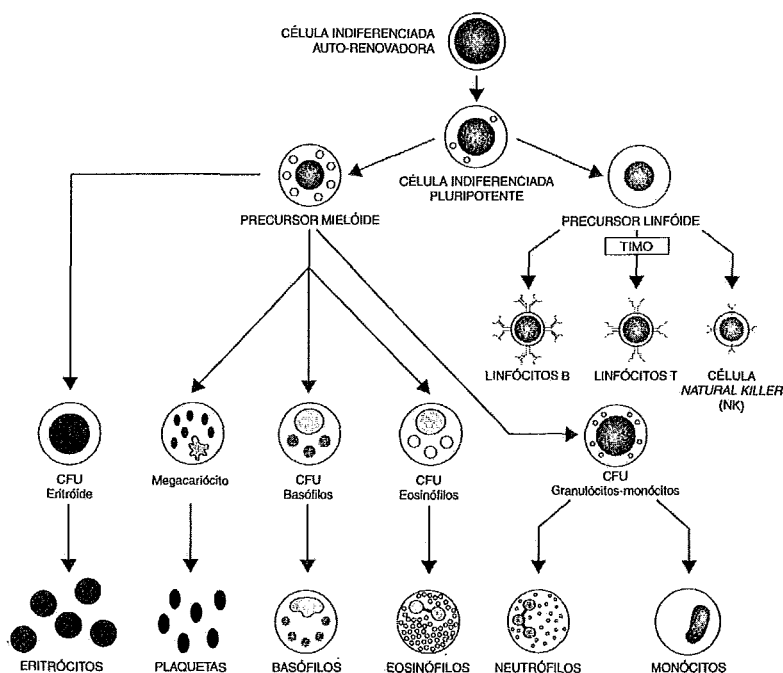


Figura 2.6: Hematopoiese. (Adaptado de [2].)

A proliferação e maturação das células precursoras na medula óssea é estimulada pelas citocinas. Em particular podem ser secretadas por linfócitos T estimulados por antígenos assim fornecendo o microambiente para hematopoiese, necessária para reabastecer os leucócitos que são consumidos durante reações imunes e inflamatórias [2].

A medula contém linfócitos B maduros que se desenvolveram de células progenitoras. Há também numerosos plasmócitos secretores de anticorpos, que se desenvolveram nos tecidos linfóides periféricos em consequência da estimulação antigênica de células B e depois migram para a medula. A maturação dos linfócitos T não ocorre na medula óssea, mas no timo.

O timo

O timo é um órgão bilobado situado no mediastino anterior. Após a puberdade o timo entra em involução mas não desaparece. Pode-se distinguir um córtex externo e uma medula interna.

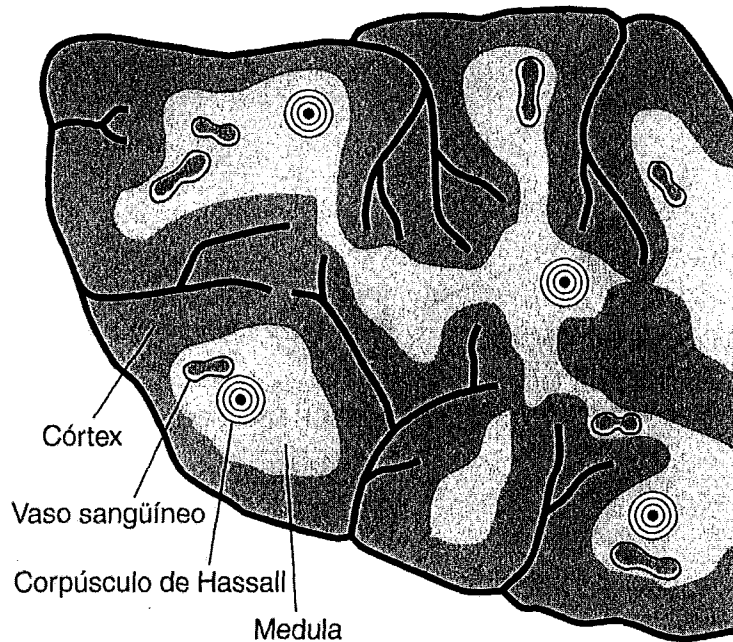


Figura 2.7: O timo. (Adaptado de [2].)

O córtex contém uma coleção densa de linfócitos T, enquanto a medula de coloração mais clara é mais escassamente povoada por linfócitos. Os linfócitos do timo, também chamados timócitos, são linfócitos T em vários estágios de maturação. A medula contém a maioria das células T maduras e somente as Th ou Tc maduras saem do timo e entram no sangue, na linfa e nos tecidos linfóides periféricos.

A partir do grande número de células T primitivas que entram no timo, muitas células que poderiam reconhecer autoantígenos não sobrevivem, enquanto as células cujos receptores são específicos para antígenos estranhos são estimuladas a amadurecer. Este processo de seleção é crítico para a capacidade do sistema imune de discriminar entre o próprio e não-próprio.

Os linfonodos

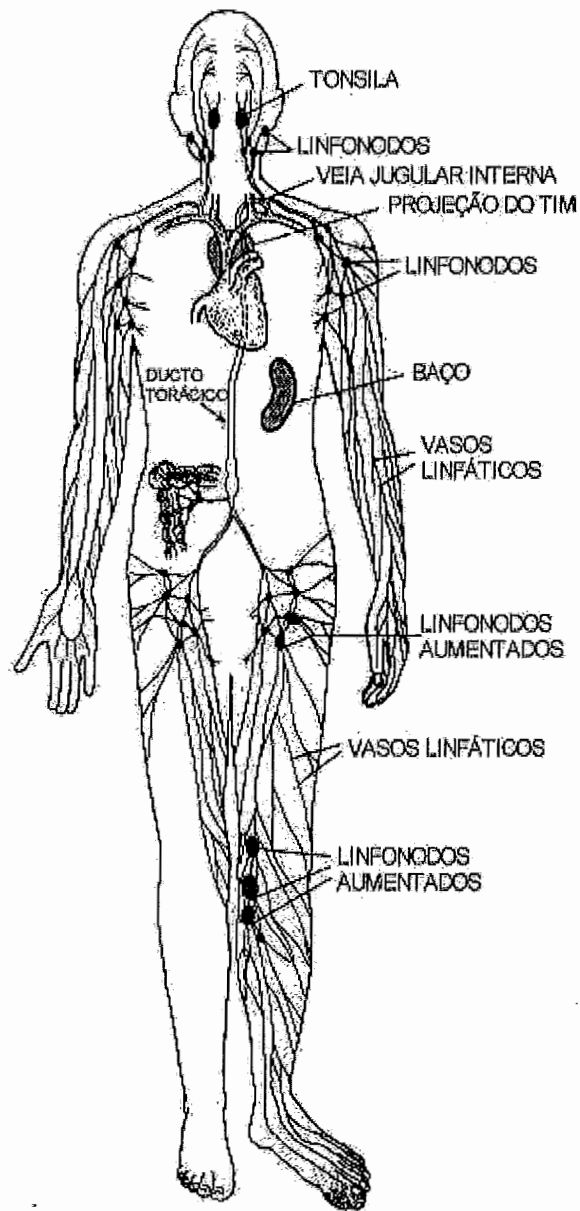


Figura 2.8: Distribuição dos linfonodos no corpo humano.

Os linfonodos são pequenos agregados nodulares de tecidos linfóide situados ao longo de canais linfáticos em todo o corpo [2].

Os epitélios, como a pele e a mucosa dos tratos gastrintestinal e respiratório, bem como os tecidos conjuntivos e a maioria dos órgãos, têm uma drenagem linfática. Os antígenos que entram por quaisquer destes portais terminam nos vasos linfáticos e são transportados aos linfonodos. Desta forma, o sistema linfático fornece um mecanismo para coleta de antígenos e as células nos linfonodos "tiram uma amostra" da linfa e pesquisam a presença de material antigênico estranho.

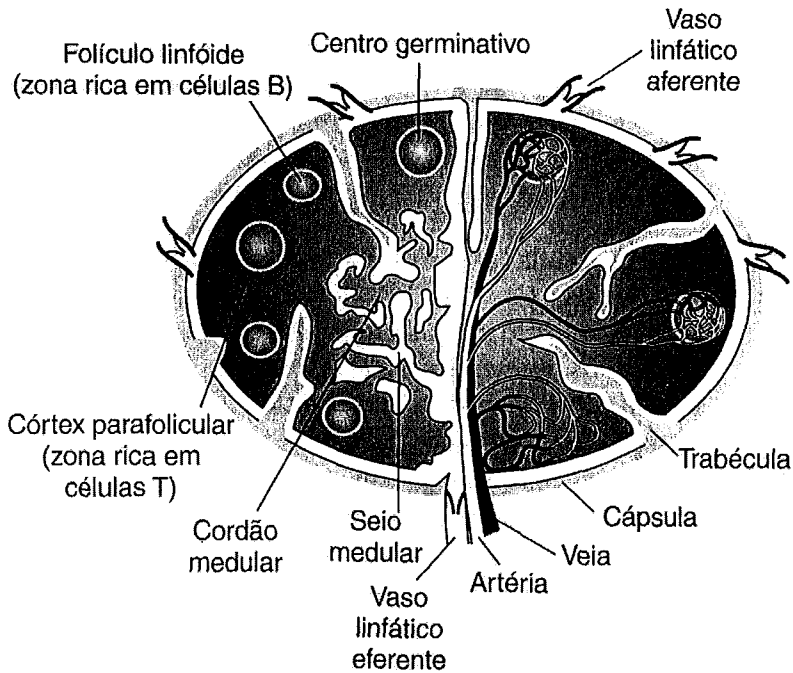


Figura 2.9: Desenho de um linfonodo. (Adaptado de [2].)

Os folículos primários contém linfócitos B predominantemente maduros, aparentemente não estimulados recentemente por antígenos. Os centros germinativos, que se desenvolvem em resposta à estimulação por antígenos protéicos dependentes da célula Th, contém numerosos grandes linfócitos. Os centros germinativos são os locais onde as células B estimuladas por antígeno proliferam e dão origem à progênie que produz anticorpos com altas afinidades pelo antígeno. Assim, plasmócitos inteiramente diferenciados desenvolvem-se fora dos centros germinativos e podem migrar dos linfonodos para outros tecidos. Os linfócitos T estão localizados predominantemente entre os folículos e na parte profunda do córtex. A maioria destas células T são auxiliares CD4⁺, entreme-

adas com células Tc (ou seja, CD8⁺) relativamente esparsas. Aí as células T encontram antígenos estranhos que foram transportados na linfa até o linfonodo. Células dendríticas interdigitantes, também abundantes nas áreas ricas em linfócitos T, apresentam os antígenos às células auxiliares. Desta forma, os linfonodos são os locais onde são iniciadas as respostas dos linfócitos T aos antígenos protéicos originados na linfa.

A estrutura dos linfonodos não é fixa, mas sim muda com a exposição aos antígenos. Por exemplo, os centros germinativos se desenvolvem no tempo de uma semana depois da imunização e gradualmente regridem depois que o estímulo antigênico for eliminado.

O baço

O baço é um órgão localizado no quadrante superior esquerdo do abdômen. É irrigado por uma artéria esplênica única que se divide em ramos progressivamente menores. As pequenas arteriolas são cercadas por bainhas de linfócitos, chamadas bainhas linfóides periarteriolares, às quais os folículos linfóides aderem, alguns dos quais contendo centros germinativos. Estes tecidos linfóides constituem a polpa branca do baço. As arteriolas terminam em sinusóides vasculares, entre os quais ficam espalhados hemácias, macrófagos, células dendríticas, linfócitos esparsos e plasmócitos; estes constituem a polpa vermelha.

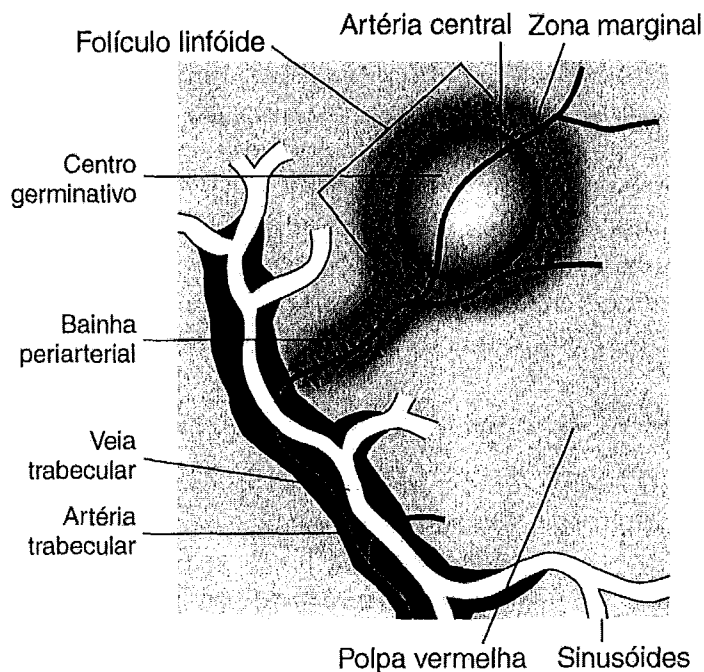


Figura 2.10: Esquema do baço. (Adaptado de [2].)

Em princípio, a função do baço e suas respostas a antígenos são muito semelhantes à dos linfonodos, sendo a diferença essencial que o baço é o principal local de respostas imunes a antígenos originados no sangue, enquanto os linfonodos estão envolvidos em respostas a antígenos da linfa. O baço também é importante "filtro" para o sangue; os macrófagos de sua polpa vermelha são responsáveis por limpar o sangue de hemácias senis e de substâncias estranhas indesejáveis, mesmo na ausência de imunidade específica. A remoção do baço pode ser feita sem que hajam maiores danos ao sistema pois o fígado e a medula óssea assumem seu papel.

2.1.4 Funções do sistema imune

É comum achar na literatura a classificação de resposta imunológica inata e resposta imunológica adquirida. Porém essa classificação induz a pensar que elas poderiam ocorrer em forma independente, o que sobretudo não é o caso. Na hora de apresentar os "protagonistas principais" foi assinalado que evolutivamente uns aparecem mais cedo do que outros

mas já nos vertebrados todos eles trabalham em cooperação nessa tarefa de defender o organismo das possíveis agressões. Destarte, denominaremos de resposta imune (sem fazer distinções) ao conjunto de ações coordenadas cujo objetivo é neutralizar e eliminar aqueles agentes que suponham um perigo para o organismo.

As respostas humoral e celular

As respostas imunes específicas são classificadas em dois tipos, com base nos componentes do sistema imune que mediam a resposta:

humoral: ela é mediada pelos anticorpos circulantes no sangue. Ela pode ser transferida para indivíduos não imunizados pela parte acelular do sangue, ou seja, o plasma ou o soro; fala-se nesse caso de *imunização passiva*, pois o hóspede não tem nele próprio os meios para produzir mais anticorpos do mesmo tipo aos injetados. O caso contrário acontece quando o hóspede, depois da imunização, fica apto para a produção dos anticorpos específicos de um antígeno dado: fala-se então de *imunização ativa*. A estratégia seguida neste caso é a *vacinação*, isto é, expor ao organismo a uma versão inócua do antígeno.

celular: ela é mediada pelos linfócitos T. Pode ser transferida a indivíduos desprotegidos por células de um indivíduo imunizado, mas não pelo plasma ou o soro.

Todas as respostas imunes são iniciadas pelo reconhecimento de antígenos estranhos. Isto leva à ativação dos linfócitos que reconhecem especificamente o antígeno e culmina no desenvolvimento de mecanismos que mediam o efeito fisiológico da resposta, a saber, a eliminação do antígeno. Desta forma, as respostas imunes que envolvem protagonistas da imunidade específica podem ser divididas em: uma fase cognitiva, uma fase de ativação e uma fase efetora. As três aparecem resumidas na Figura 2.11.

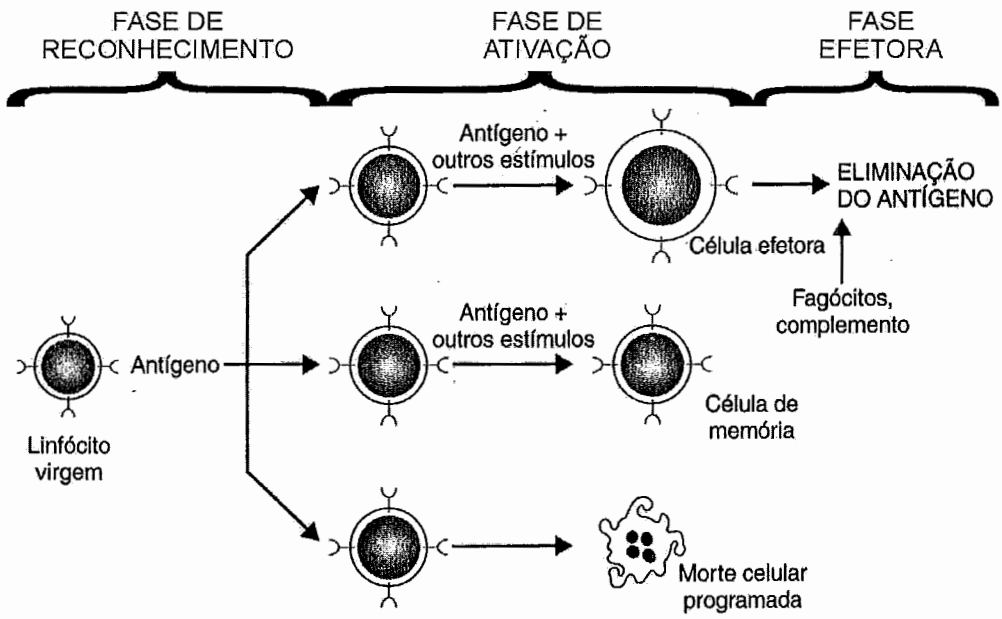


Figura 2.11: Fases da resposta imune. (Adaptado de [2].)

Na figura 2.12 estão resumidas as relações de colaboração entre os protagonistas da imunidade natural (ou inata) e da imunidade específica (ou adquirida), tanto no caso da imunidade humoral quanto no caso da imunidade celular.

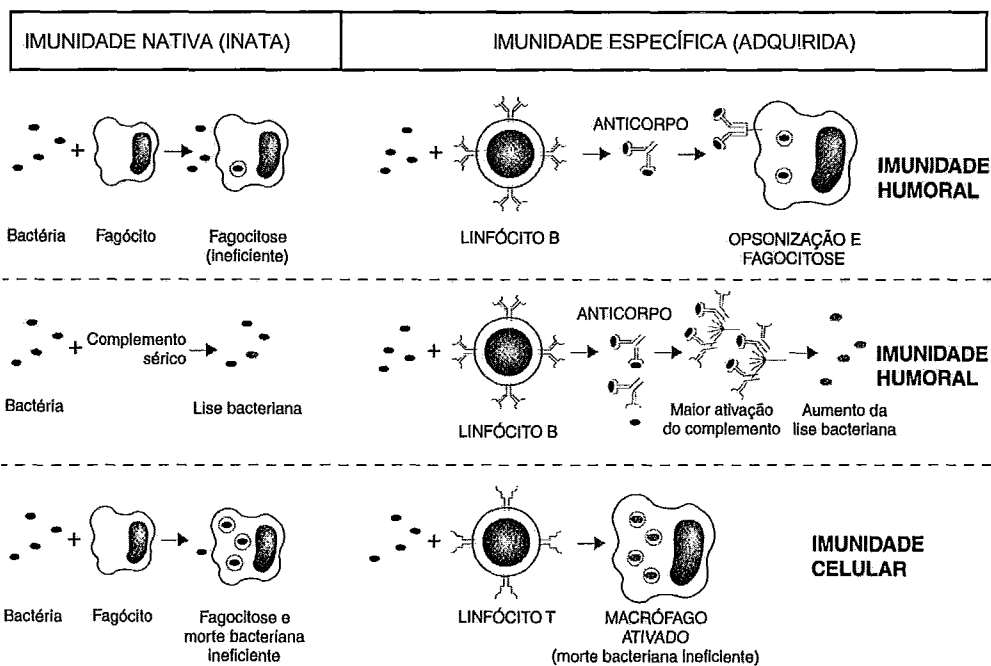


Figura 2.12: Resumo dos tipos de resposta imune. (Adaptado de [2].)

A memória imunológica

A exposição do sistema imune a um antígeno estranho intensifica sua capacidade de responder novamente àquele antígeno. Desta forma, a resposta à segunda exposição (e às subsequentes) chamada *resposta imune secundária*, é geralmente mais rápida, maior e costuma ser qualitativamente diferente da *resposta primária* (ver Figura 2.13). Esta propriedade dos sistemas imunes que contam com os agentes da imunidade específica é chamada *memória imunológica*.

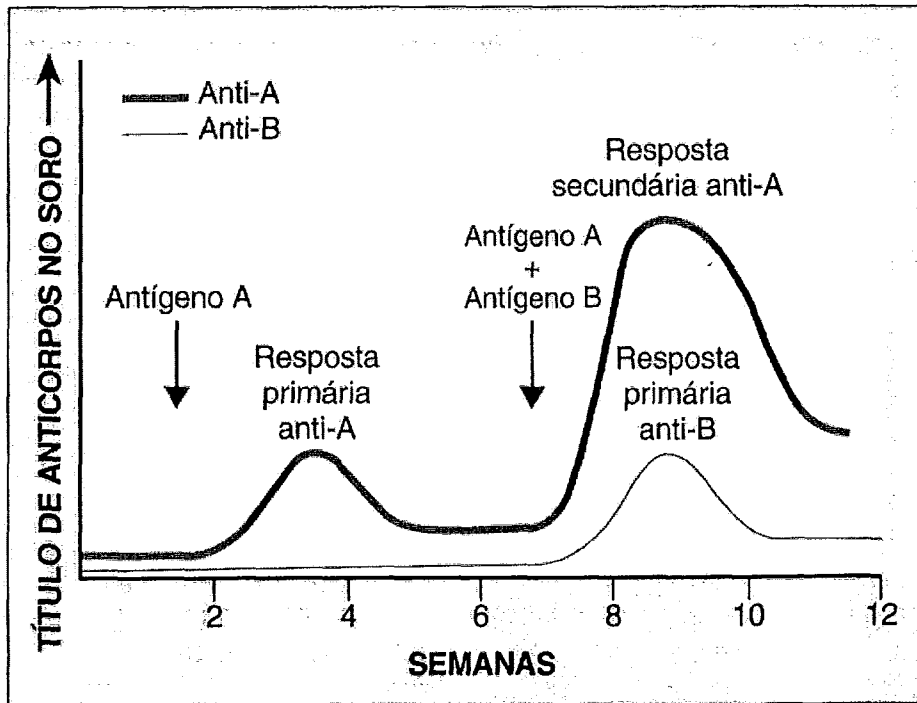


Figura 2.13: Respostas primária e secundária. (Adaptado de [2].)

Dois mecanismos não exclusivos um do outro explicam como o sistema imune é capaz de "lembrar" um encontro com um antígeno estranho:

- Após terem sido estimulados pelo encontro com um antígeno, os linfócitos que se diferenciam em *células de memória* sobrevivem por períodos prolongados. Desta forma, as células de memória estão preparadas para responder rapidamente à perturbação antigênica. No caso das células B de memória, tem-se comprovado experimentalmente que elas respondem a concentrações mais baixas de antígenos e produzem anticorpos que se ligam ao antígeno com afinidade mais alta do que as células B previamente não estimuladas. RAJEWSKY *et al.* [13] demonstraram a persistência desses linfócitos B de memória, mesmo na ausência do antígeno.
- O clone de linfócitos específico para um antígeno prolifera quando é estimulado por uma infecção. Segundo a Teoria da Rede Funcional (ver a Seção 2.2.2), a expansão do clone afeta a dinâmica da rede que se adaptará à perturbação antigênica. Essa é a base da explicação da memória imunológica que é sustentada pelos seguidores de

uma visão sistêmica da imunologia [9, 14].

A discriminação entre próprio e não-próprio

Na Seção 2.1.3 falou-se sobre a eliminação dos linfócitos T auto-reativos. O mecanismo de discriminação entre próprio e não-próprio é ainda mal conhecido pois até agora todas as explicações dadas encontram rapidamente um contra-exemplo, tirando portanto sua generalidade. Falhas nesse (ou nesses) mecanismo levam às chamadas doenças auto-imunes (exemplos: artrite reumatóide, dermatite herpetiforme, tireoidite auto-imune, etc.), a maioria delas (senão todas) tratadas sintomaticamente mas sem expectativa de cura definitiva. Segundo COUTINHO [9], as redes imunológicas podem trazer alguma visão que permita compreender esse conjunto de fenômenos que resistem a uma visão reducionista.

Se consideramos um indivíduo com o sistema imune "virgem", ele tem potencialmente a capacidade de enfrentar qualquer antígeno. É preciso que o sistema imune seja "treinado"⁴ para que ele não responda aos chamados auto-antígenos. Na realidade tem-se comprovado experimentalmente a existência de auto-anticorpos em qualquer organismo sadio, porém as doenças auto-imunes acontecem com uma frequência baixa. Os quatro mecanismos conhecidos e geralmente aceitos para explicar a supressão da auto-reatividade são os seguintes:

1. **Supressão Clonal:** este mecanismo foi proposto inicialmente por BURNET(1959) para complementar a teoria da seleção clonal. A idéia é muito simples: em alguma etapa da embriogênese todos os linfócitos auto-reativos são apagados (apoptose, ou morte celular natural). No caso dos linfócitos T, esse mecanismo de eliminação continua no timo, onde as células apresentadoras de antígenos (APC) teriam a tarefa de manter uma amostragem da maioria dos auto-antígenos do organismo: quando um *timócito* (célula T imatura) se liga ao MHC de uma célula dendrítica com um auto-peptídeo, aquele timócito é induzido à apoptose. Mas o que acontece com aqueles auto-antígenos que não estão presentes no timo (por exemplo, peptídeos originados em células especializadas como as presentes nos folículos de cabelo)? Essa situação não é pouco frequente, porém nem todo organismo adoece. No caso

⁴Estamos aqui tomando emprestada terminologia própria da área das Redes Neurais, no entanto isso decorre naturalmente pois estamos tratando das características cognitivas do sistema imune.

das células B a supressão clonal aconteceria na medula óssea, mas o mecanismo ainda é mal conhecido.

2. **Anergia Clonal:** este mecanismo faz com que células T maduras fiquem inibidas (não respondam) perante um antígeno mas sem implicar na morte dessas células. A anergia clonal parece acontecer quando uma célula T liga-se a um MHC apresentando um auto-peptídeo, mas na ausência de um sinal co-estimulador (adjuvante): o linfócito ficará inativado e bloqueado para outros possíveis encontros com o mesmo complexo MHC-peptídeo. Na figura 2.3 foi apresentado o esquema do mecanismo de ativação de um linfócito T. No caso dos linfócitos B a anergia pode resultar da ausência das citocinas secretadas por linfócitos T auxiliares auto-reativos, tendo estes sido suprimidos no timo.
3. **Supressão Ativa:** neste caso, as células T auto-reativas são apagadas pela ação direta dos chamados linfócitos T *supressores* ou *reguladores*. Eles seriam os responsáveis por limitar a resposta do sistema imune perante um antígeno, afim de prevenir danos maiores em tecidos.
4. **Ocultação (*hiding*):** os tecidos de órgãos tais como o cérebro, a córnea e os testículos (parte deles), não são vistos nunca pelos integrantes do sistema imune por existirem barreiras que impedem a sua passagem. Por exemplo, no caso da córnea, não existem vasos sanguíneos que a irriguem e portanto nenhum linfócito pode chegar até essa região do organismo. Os auto-antígenos pertencentes a esses tecidos foram "ocultados" ao sistema imune, o que implica numa tolerância tácita. Outro caso de ocultação acontece com peptídeos intracelulares que não são apresentados nunca nos MHC.

A questão básica que tentam responder todos esses mecanismos, a discriminação do próprio e do não-próprio, foi revista por MATZINGER (1994) e numa série de três artigos aparecidos na revista *Nature* no ano 1998 [17, 18, 19], que dão suporte à Teoria do Perigo (*Danger Theory*). O conceito básico é o seguinte: os linfócitos T precisam que duas condições sejam satisfeitas para se ativar, a saber, sua ligação a um complexo MHC-peptídeo e uma sinal adicional de *perigo*. Esse sinal de perigo, que co-estimula a célula T ligada à APC, poderia ter sua origem em fragmentos de células vizinhas que morreram em con-

dições fora do natural⁵, por exemplo, em consequência da infecção por um vírus. Desta maneira, o sistema imune decide se deve responder ou não ao antígeno baseando-se na presença do sinal de perigo. É fácil ver que o risco desta visão é transformar a dualidade próprio / não-próprio na outra dualidade perigoso / não-perigoso, porém a teoria do perigo constitui um grande avanço na compreensão da auto-tolerância.

2.2 Hipóteses sobre o sistema imunológico

As muitas limitações que a imunologia apresenta na hora de explicar alguns dos seus comportamentos põem em evidência a necessidade de uma abordagem sistêmica a fim de dar conta das múltiplas interações existentes entre os seus componentes. Porém, esse tipo de abordagem ainda está longe de ser integrada em larga escala na hora de compilar os resultados das inúmeras pesquisas que são feitas nessa área. As duas maiores grandes visões de como o sistema imune funciona são "antigas" se comparadas com todos os outros avanços (técnicas de laboratório, biologia molecular, etc) que têm acontecido nesse campo. A seguir, vamos apresentá-las brevemente:

2.2.1 Teoria da seleção clonal

A tradição dá ao australiano F. MACFARLANE BURNET a primeira enunciação completa da Teoria da Seleção Clonal (CST), feita no ano 1957 (ver a referência clássica [6]). É muito interessante conhecer a gênese de uma idéia que até hoje estrutura o pensamento da maioria dos imunologistas, pois nela estão envolvidos outros nomes muito conhecidos nesta área do conhecimento, tais como JERNE (a quem voltaremos na seção 2.2.2). Nesse sentido o trabalho de FORSDYKE [7] faz um pequeno resumo de como outros pesquisadores, por exemplo TALMAGE ou ERLICH, já tinham a intuição do mecanismo operante na imunidade específica.

De um modo simplificado, a hipótese indica que um antígeno seleciona entre uma variedade de linfócitos aqueles cujos parátomos são capazes de se ligar com alguma parte do antígeno. Como resultado dessa interação, esses linfócitos específicos são ativados

⁵No caso da morte natural de uma célula (apoptose), o seu material intracelular é reduzido antes de a membrana celular falir. No caso de mortes prematuras, esse material vaza direto para a vizinhança, e ele pode ser capturado pelas células dendríticas (caso especial de APC).

e proliferam (expansão clonal). Eles poderão secretar moléculas de anticorpos que se combinarão com o antígeno. Se o epítopo reconhecido fica na superfície de um vírus ou uma bactéria, então o anticorpo o etiqueta como um organismo estranho ("not-self"). Esse organismo será posteriormente fagocitado e degradado⁶.

Nessa descrição estão implícitas hipóteses que naquela época foram muito audaciosas⁷:

1. Todo o repertório imunológico se desenvolve espontaneamente no hospede (portanto, não há qualquer informação fornecida pelo antígeno)
2. Cada parátipo (anticorpo) é o produto específico de uma célula e ele é apresentado na superfície da célula.
3. O antígeno reage com qualquer uma das células que tenham o parátipo adequado e assim provoca a proliferação e diferenciação dessa células.
4. Algumas das células filhas virarão produtoras de anticorpos clones (plasmócitos), enquanto que outras irão sobreviver como clones não diferenciados (células de memória).

Quando as hipóteses foram enunciadas não eram conhecidos os mecanismos responsáveis pela geração da grande diversidade de parátipos (descritos na Seção 2.1.2) e portanto parecia inverossímil que o organismo estivesse preparado *a priori* para reagir perante antígenos com que nunca tivesse entrado em contato. Por isso a visão que dominava o cenário prévio era a chamada *hipótese instrucional* para a qual as células imuno-competentes e os anticorpos adquiriam sua especificidade *depois* da introdução de antígeno. Portanto não era menos audacioso atribuir ao antígeno o papel de protagonista na ativação do componente adequado do sistema imune.

A hipótese da Seleção Clonal tem sofrido muitas críticas nestes últimos tempos pois, segundo os seus detratores, ela não consegue explicar muitos dos problemas da imunologia atual. Silverstein [8] faz um análise dessas críticas e tenta resgatar aqueles aspectos da CST que às vezes são confundidos por engano com as suas conseqüências.

⁶Trabalho que fi ca sob a responsabilidade dos integrantes da imunidade inata descritos na Seção 2.1.1

⁷Vou empregar os termos atuais para designar os protagonistas referenciados nas hipóteses. Palavras tais como epítopo ou parátipo não foram empregadas até anos depois.

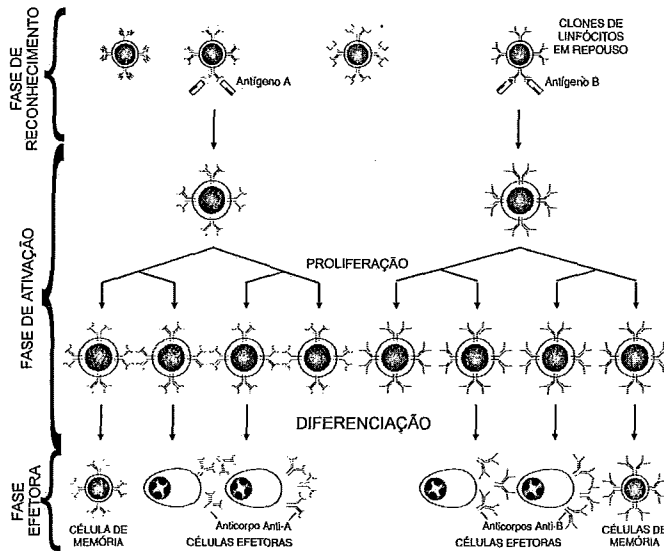


Figura 2.14: Seleção clonal. (Adaptado de [2].)

2.2.2 Teoria da rede funcional⁸

Uma pergunta (entre muitas) aparece naturalmente quando é aceita a primeira hipótese da CST: como é regulado o repertório de linfócitos B antes da aparição dos antígenos? Em outras palavras: qual é o mecanismo que permite chegar num equilíbrio nas populações dos diferentes clones de linfócitos, antes que os antígenos ingressem no hospedeiro para provocar a proliferação? Segundo COUTINHO [9], essa pergunta inquietou JERNE⁹ desde 1955 e a sua tentativa por respondê-la fez com que ele usasse a frase "The essence of society is repression of the individual" (extraído de *Life against Death* de NORMAN O. BROWN) no seu conhecido trabalho de 1974 [10]. Segundo JERNE, as células do sistema imune interagem entre si para formar uma rede de relações que regulam a dinâmica do todo. Essa dita Rede Funcional se baseia no que JERNE identifica com três grandes dualismos:

⁸Também conhecida como Rede Idiotípica.

⁹"What precedes clonal selection?" é o título de um trabalho do Jerne aparecido no Ciba Foundation Symposium: Ontogeny of acquired immunity. Amsterdam: Assicated Scientific Publishers 1972:1-5.

- Os linfócitos T e B interagem ora sinergeticamente, ora antagonicamente¹⁰.
- Os parátomos dos linfócitos B e T são empregados para reconhecer epítomos, mas por sua vez eles apresentam epítomos que podem ser reconhecidos pelos parátomos de outros clones.
- Um linfócito pode reagir positivamente ou negativamente após ter reconhecido um antígeno. No primeiro caso, a célula proliferará, se ativar e secretará anticorpos, enquanto que no segundo caso haverá tolerância e supressão.

Vários experimentos mostraram que as regiões variáveis dos parátomos apresentam fragmentos de moléculas que são reconhecidos pelos parátomos de outros clones: em outras palavras, os parátomos dos linfócitos possuem epítomos. JERNE chamou esses epítomos de *idiótopos*, e designou com o termo de *idiótipo*¹¹ ao conjunto de *idiótopos* que um receptor possui. Destarte, nasce em JERNE a intuição que esses *idiótipos* apresentam um papel funcional na conformação da rede. Se levamos em conta os dois últimos dualismos decorre qual é a estrutura da rede funcional proposta por JERNE, apresentada na Figura 2.15 na próxima página.

Na figura pretende-se mostrar a dinâmica auto-regulada das relações parátomo-idiótipo no sistema imune de um indivíduo, assim como a maneira como a rede se adapta à interação perante um antígeno exógeno. Os círculos com a legenda p_n representam clones de linfócitos com parátomos semelhantes; por sua vez esses linfócitos terão um conjunto de *idiótipos* que ficam representados pelos círculos com legenda i_n . No esquema estão representadas por setas as influências estimulatórias que um conjunto linfócitos com *idiótipos* i_a tem sobre outro conjunto de linfócitos com parátomos p_b . Se revertemos o sentido das setas teremos a interpretação complementar, isto é, um diagrama de relações inibitórias entre grupos de linfócitos. A leitura que deve ser feita do esquema é a seguinte: se a população de linfócitos p_1 aumentar, então, por causa do efeito estimulatório do seu *idiótipo* i_1 , a população de linfócitos p_3 também crescerá compensando assim a perturbação inicial. A grande contribuição de JERNE foi assinalar que os linfócitos p_1 podem por sua vez receber influências estimulatórias (provocadoras de aumento de população)

¹⁰Na Seção 2.1.2 assinalamos que as células B podem atuar como apresentadoras de antígenos para as células T. Por sua vez, os linfócitos Th enviam citocinas para que os linfócitos B fiquem ativados após a fase cognitiva.

¹¹Estritamente falando, o termo *idiótipo* foi introduzido por OUDIN.

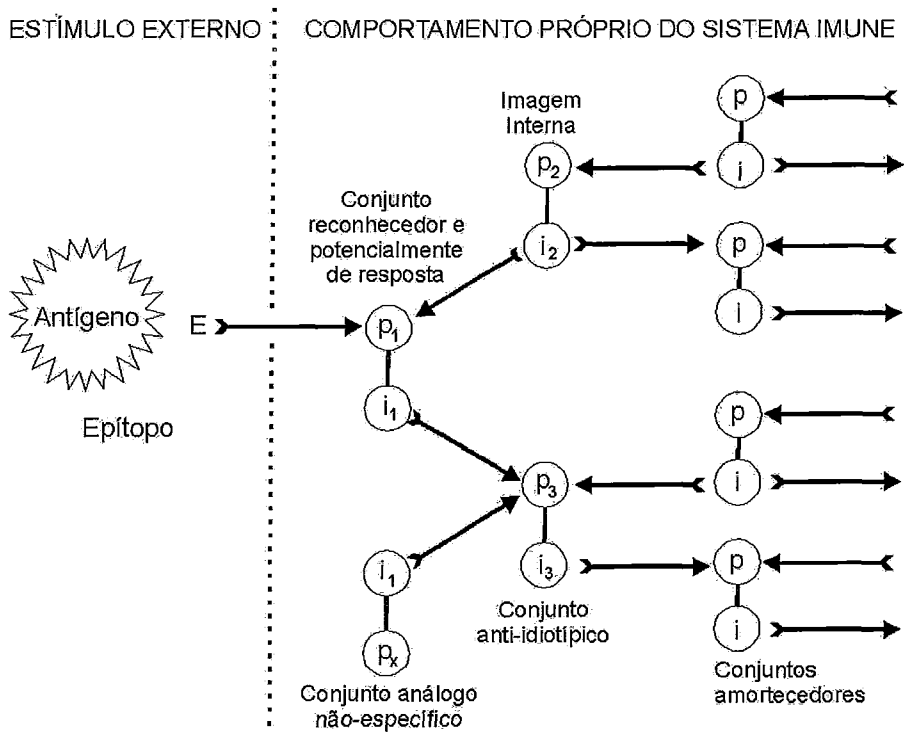


Figura 2.15: Rede funcional do sistema imune.

tanto de um antígeno vindo do exterior ao organismo, quanto de uma população p_2 de linfócitos cujo idiótipo i_2 apresente características semelhantes ao epítipo E do antígeno. Se uma rede assim existir, então ficaria explicado de modo geral como o sistema imune pode responder perante antígenos e voltar logo a um equilíbrio dinâmico por meio das relações estimulatórias / inibitórias pré-existentes entre clones de linfócitos. Para obter uma descrição mais abrangente do modelo, que inclui a explicação de outros aparentes paradoxos do comportamento do sistema imune que ficaram fora do escopo do presente trabalho, recomenda-se a leitura de [10].

Segundo COUTINHO [9], a atual perda de interesse da comunidade científica da imunologia pelo modelo de JERNE deve-se em parte ao fato de ela ter mantido uma visão "centrada no antígeno" e por isso não obter resultados que já não fossem explicados pela Teoria da Seleção Clonal. Só estudos mais recentes que abordam o desenvolvimento do sistema imune em animais que não tiveram contato com antígenos externos estão devolvendo a importância que a Rede Funcional tem para a compreensão do sistema imune. O presente trabalho, empregando um modelo simples de uma parte muito restrita do sis-

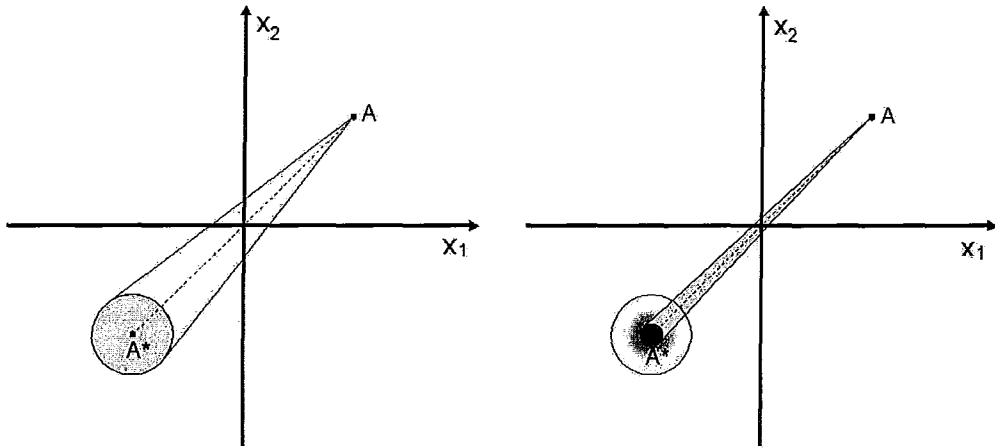
tema imune, pretende explorar as características auto-organizadoras que a idéia de JERNE fornece. No capítulo seguinte faremos uma explicação detalhada da ligação com esta hipótese.

2.3 Modelos do sistema imunológico

O sistema imune, pela sua complexidade e pela riqueza das suas características, é um terreno fértil para muitos tipos de abstrações que se focalizam em uma (ou várias) das propriedades. PERELSON [15] apresenta uma longa lista de exemplos. A seguir apresentaremos duas abstrações gerais e um modelo específico que estão na base do presente trabalho.

2.3.1 O *shape space* (SS)

O nosso interesse em estudar a dinâmica das relações entre epítomos (ou idiótopos) e parátomos faz necessário adotar uma abstração que inclua os diferentes graus de afinidade com os quais as moléculas envolvidas podem inter-atuar. A afinidade que o receptor de um clone de linfócito tem com o idiótipo de outro clone depende (entre muitas outras características físico-químicas) da complementaridade geométrica (consideradas no espaço de três dimensões) e da complementaridade elétrica entre essas moléculas. PERELSON e OSTER [16] sugeriram organizar as magnitudes das características consideradas significativas num vetor de n dimensões (x_1, x_2, \dots, x_n) , onde por exemplo a coordenada x_i representa a carga elétrica e x_j descreve uma dimensão geométrica. Cada ponto desse espaço n -dimensional representa então uma descrição morfo-elétrica de uma molécula. Se considerarmos dois pontos simétricos num plano *Shape Space* (ver Figura 2.16), eles se coresponderão com duas moléculas totalmente complementares, entre as quais se espera que exista uma afinidade máxima. Fixemos um ponto A do espaço e consideremos uma vizinhança de raio r centrada no seu complementar A^* . Os pontos pertencentes à vizinhança correspondem a moléculas que terão também uma afinidade grande com a molécula representada por A , no entanto menor que a afinidade existente entre A e A^* . Quanto mais afastado do centro este ponto da vizinhança, menor será a força com que essa molécula e A se ligarão. Na Figura 2.16 (a) está representada uma vizinhança contendo uma



(a) Distribuição uniforme de população.

(b) Distribuição não-uniforme de população.

Figura 2.16: O *Shape Space*.

distribuição uniforme de linfócitos, cujos parátomos têm características correspondentes com os pontos da vizinhança; o promédio da força de ligação dos linfócitos da vizinhança com a molécula A está representado pelo cone em cinza claro. Se a distribuição de população muda e, por exemplo, aparecem muitos linfócitos com parátomos semelhantes a A^* , então a força média também muda (ver Figura 2.16 (b)). No exemplo apresentado, o novo cone aparece em cinza escuro para evidenciar que a intensidade aumentou. Esta mudança nas forças promédio é a chamada *evolução da especificidade* referida no modelo estudado nesta dissertação.

No presente trabalho serão do nosso interesse vizinhanças nesse SS. Elas representam conjuntos de clones com pares de parátomos e idiótipos semelhantes. Este conceito será empregado, junto com outros que descreveremos mais adiante, na construção do modelo estudado. Existem muitas variantes do SS, algumas das quais consideram cadeias de bits e a afinidade é representada por a distância de HAMMING entre elas. Para o nosso estudo é suficiente supor que exista uma maneira de estabelecer uma correspondência entre moléculas e pontos do espaço n -dimensional, e que além disso seja possível definir uma métrica de distância que se vincule com o grau de afinidade.

2.3.2 O grafo

O repertório de clones de linfócitos de um sistema imune foi estimado (no mínimo) na ordem de 10^7 tipos de clones diferentes. Mesmo que esta quantidade seja muito grande, ela é limitada e teoricamente seria possível fazer um cadastro deles. Como já assinalamos anteriormente, é do nosso interesse estudar as interações entre esses clones na hipótese de existir uma rede que os vincule. Para isso é útil considerar que tal rede seja representada por um grafo, no qual cada nó corresponde a um clone, e onde as arestas que ligam os nós simbolizam as afinidades entre os pares parátipo-idiótipo. Na verdade, na proposta original de JERNE [10] está implícita a estrutura de um grafo, no qual as arestas representam as influências estimuladoras que um grupo de clones p_a - i_a exerce sobre outro grupo de clones p_b - i_b . O estímulo nasce da afinidade existente entre os parátipos p_b e o idiótipo i_a . No caso geral, a relação entre esses dois grupos de clones não é simétrica, pois *a priori* não existem motivos para que os idiótipos i_b estimulem da mesma maneira os parátipos p_a . Portanto, o grafo decorrente tem arestas orientadas com valores de estimulação diferentes segundo o sentido considerado.

No modelo considerado neste trabalho empregaremos um grafo semelhante ao descrito por JERNE mas sem fazer explícita a decomposição de parátipos e idiótipos. As influências de estimulação entre os nós do grafo serão representadas por arestas dirigidas visto que no caso geral a estimulação entre clones não é simétrica.

2.3.3 O modelo B

Na sua tese de doutorado [11], DE BOER apresenta um modelo (que depois será aprimorado em [12]) muito simples do sistema imune, no qual são apenas considerados os linfócitos B, deixando de lado as demais células e moléculas. O seu objetivo (que nós compartilhamos) é estudar a dinâmica da rede imunológica, e para isso ele supõe que as células B são as únicas protagonistas da resposta imunológica, sem precisar dos linfócitos Th para sua ativação nem da secreção de anticorpos para a eliminação dos antígenos. Isto está longe do comportamento do sistema imune real, mas a simplificação feita permite concentrar-se nas interações idiotípicas destacadas por Jerne e comprovar que elas são suficientes para gerar uma rede auto-regulada.

Como só são considerados os linfócitos B, o modelo apresenta só um tipo de equações

que descrevem a evolução das populações dos clones considerados. Para o clone i a sua equação é a seguinte:

$$\frac{dx_i}{dt} = b + [pf(h_i) - m]x_i \quad (2.1)$$

Em 2.1, temos:

- x_i corresponde à população do clone i ;
- b é a taxa de inserção de novos clones pela medula óssea;
- m representa a taxa de morte dos linfócitos do clone;
- p é a taxa de proliferação dos linfócitos do clone;
- f corresponde à função de ativação e
- h representa o campo estimulatório exercido pelo restante dos clones, que depende das suas populações e dos respectivos graus de afinidade.

A expressão que relaciona o campo estimulatório com as populações e as afinidades é a seguinte:

$$h_i = \sum_j \omega_{ij} x_j \quad (2.2)$$

onde ω_{ij} é o elemento i, j da chamada *matriz de estimulação*, e representa a afinidade entre os parátomos do clone i e o idiótipo do clone j .

A função de ativação modela os três possíveis estados de ativação de um clone: o estado *virgem*, quando ainda não ficou estimulado; o estado *imune*, no qual acontece a proliferação (e a diferenciação, que não é levada em conta no modelo pois os anticorpos foram deixados de lado); e por último, o estado *inibido* ou *suprimido*, no qual não acontece nenhuma resposta. A forma dessa função pode ser uma gaussiana (esse é o caso do modelo original) como a apresentada na figura 2.17(a), ou simplesmente uma função janela do tipo mostrado na figura 2.17(b). Qualquer que seja a função de transferência escolhida, os limiares l_1 e l_2 separam os valores de estimulação correspondentes aos três estados descritos previamente. O estado imune é o compreendido entre ambos os limiares,

enquanto que valores menores que l_1 deixam o clone no seu estado virgem, e os valores maiores que l_2 o inibem. O máximo das funções corresponde a uma complementaridade total entre o parátopo e o idiótipo de um par de clones diferentes¹².

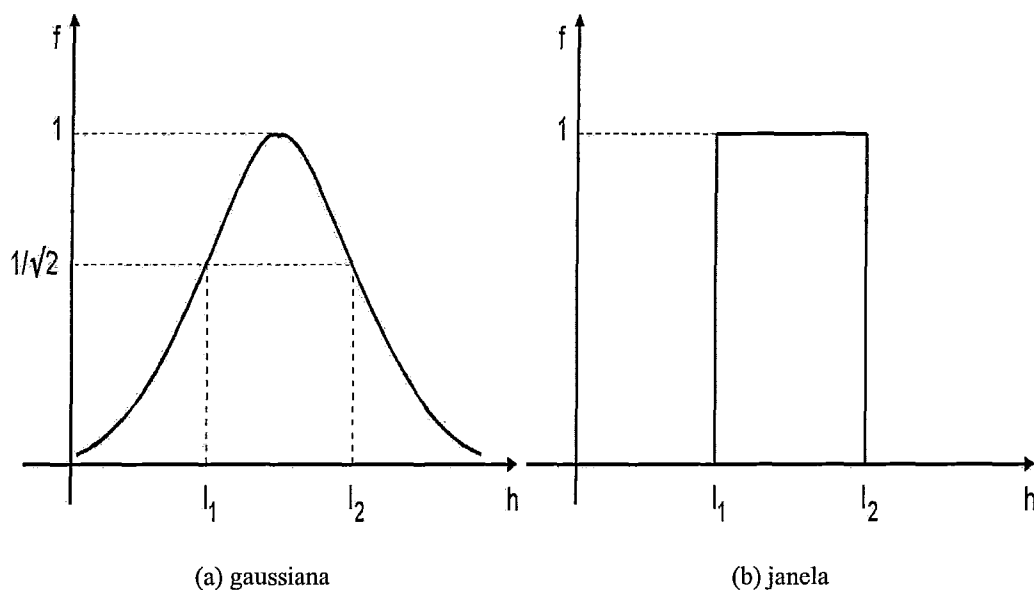


Figura 2.17: Funções de ativação.

No presente trabalho é empregada uma variante do modelo de DE BOER aplicada a um grafo e usando uma versão discreta das equações apresentadas. PERELSON [15] descreve outras modificações ao modelo, algumas delas usando o Shape Space (no caso contínuo, como o modelo original, ou discreto) e outras aplicadas a grafos.

¹²No SS esses clones teriam associados dois pontos simétricos com respeito à origem de coordenadas.

Capítulo 3

Descrição do modelo

O modelo estudado no presente trabalho pertence à linha que começa com a proposta de DE BOER [11], e segue a contribuição feita por FLORES-BARBOSA [1] ao introduzir a evolução da especificidade entre *clusters*. No capítulo anterior foi apresentado brevemente o modelo de DE BOER e a seguir faremos uma descrição das mudanças feitas por FLORES-BARBOSA. Finalmente serão apresentadas as modificações introduzidas no presente estudo.

3.1 O modelo de FLORES-BARBOSA (FBM)

3.1.1 Hipóteses e mecanismos gerais

Vamos apresentar a seguir as hipóteses (algumas das quais são herança do trabalho de DE BOER) que estão na base da abstração feita ao modelar:

- De todos os protagonistas do sistema imune conhecidos até agora (incluindo moléculas, células e órgãos) só serão considerados os linfócitos B e a medula óssea.
- Como resultado das interações diretas entre linfócitos, eles poderão ficar estimulados ou inibidos / suprimidos. A estimulação de um linfócito implicará na sua proliferação. As etapas de diferenciação em plasmócitos e em células de memória, assim como a secreção de anticorpos pelos plasmócitos não são levadas em conta.

- As células B são as únicas responsáveis pela parte da resposta imunológica que corresponde à remoção dos antígenos que entrem no sistema.
- O repertório de parátomos (e o seu idiótipo associado) é fixado desde o início da vida do sistema considerado, mas é possível que a população de algum clone seja zero.

As hipóteses são coerentes com o objetivo do modelo: estudar as conseqüências dinâmicas do comportamento de uma rede do tipo descrito por JERNE. Elas deixam de lado propositalmente todas as outras relações com os protagonistas restantes do sistema imune, e também com o resto do organismo (por exemplo, o sistema endócrino ou o sistema nervoso). Vamos supor que as influências do meio no qual o sistema está inserido estão concentradas nos parâmetros que descreveremos a seguir; no entanto, no presente estudo todos os parâmetros foram considerados constantes ao longo da evolução do sistema.

No modelo do SS (cf. Seção 2.3.1), pontos simétricos (e.g. A e A^*) se correspondem com moléculas que apresentam afinidade máxima entre elas, enquanto que pontos contidos numa vizinhança de A também terão uma alta afinidade por A^* . Na Rede Funcional de JERNE (figura 2.15 na página 32), os conjuntos p_x se correspondem com vizinhanças no Shape Space, pois estão compostos por aqueles parátomos capazes de se ligar com sucesso a um epítipo / idiótipo dado. No FBM emprega-se um grafo cujos nós têm exatamente essa interpretação, ou seja, eles representam vizinhanças do Shape Space. FLORES-BARBOSA utilizam o termo *cluster* para se referir a essas vizinhanças pois elas se compõem de clones cujos parátomos são muito semelhantes (e portanto, os seus idiótipos). Assim os termos nó, *cluster* e vizinhança se referem à mesma entidade.

A população de cada um dos clones dentro de um nó pode variar por três mecanismos:

- A medula óssea produz linfócitos com idiótipos ao acaso. No entanto todos eles pertencem a algum dos nós do grafo. Dito de outro modo, supomos que a medula só cria novos clones que já estiveram incluídos na representação inicial do modelo. Como a medula não tem "preferências" por algum tipo de clone, o aporte de novas células é modelado como um *ruído branco de fundo*¹.
- Quando um clone passa ao seu estado imune, ele se multiplica por meio de mitose

¹Este conceito será explicado quando apresentarmos o significado dos parâmetros das equações.

e portanto acrescenta à população de linfócitos do nó. Este mecanismo tem a sua origem na Teoria da Seleção Clonal (Seção 2.2.1)

- Devido à hipermutação dos linfócitos B (Seção 2.1.2 na página 11), as mutações ocorrentes na divisão celular são muito freqüentes e nem todos os linfócitos filhos terão exatamente o mesmo parátipo / idiótipo. Porém vamos supor que as novas células, ainda que diferentes do pai, ficam na vizinhança dele.

Destarte, mesmo que no modelo se contabilize a população total da vizinhança sem fazer distinções entre os clones nela incluídos, quando um clone se multiplica por ter sido estimulado, a distribuição de população de linfócitos dentro da vizinhança muda.

Uma consequência da mudança da distribuição da população no interior de um nó é que a relação dele com o seu estímulo² também vai variar: o nó fica mais suscetível ao estímulo, ou seja, a especificidade do nó por seu estímulo aumentou. Reciprocamente, se o estímulo diminui (ou desaparece), o clone inicialmente estimulado vai deter sua proliferação enquanto os seus linfócitos continuarão a morrer. Novos linfócitos serão aportados à vizinhança pela medula mas, devido à falta de "preferência" por algum dos clones, eles terão um efeito homogenizador sobre a distribuição de população; enfim, a especificidade do nó pelo estímulo diminuirá. Em resumo, no FBM existem dois mecanismos contrapostos atuando sobre as especificidades entre os nós do grafo:

1. A proliferação do clone com a maior afinidade pelo estímulo também torna mais específico o nó a qual este pertence.
2. Os novos linfócitos introduzidos ao acaso pela medula diminuem a especificidade.

Por último, enquanto o modelo original de DE BOER faz uma modelagem no tempo contínuo, o FBM trabalha com equações diferenças.

3.1.2 Equações

A seguir vamos apresentar as equações que se derivam das hipóteses e dos mecanismos descritos na seção anterior. A primeira equação a ser introduzida corresponde à popula-

²A hipótese de "universo fechado" implica em que todos os estímulos têm a sua origem num outro nó do grafo.

ção³ do nó i do grafo:

$$x_i[t + 1] = x_i[t] + b + [pf(h_i^+[t]) - m]x_i[t] - uh_i^-[t] \quad (3.1)$$

onde

- x_i representa a população do nó i ;
- b é a taxa de produção de linfócitos da medula óssea;
- p é a taxa de proliferação;
- h_i^+ é o campo estimulatório exercido sobre o nó i pelos nós restantes;
- f é a função de ativação;
- m é a taxa de mortalidade dos linfócitos;
- u é a taxa de inibição e
- h_i^- é o campo inibitório exercido sobre o nó i pelos restantes nós.

Esta equação apresenta um termo que não está presente na equação 2.1 na página 36: ele reflete o efeito inibitório que os linfócitos pertencentes a outros nós podem ter sobre os linfócitos do nó considerado. Esse efeito já foi introduzido por JERNE [10] quando referia-se aos clones anti-idiotípicos, porém ele não foi levando em conta na modelagem feita por DE BOER. Chama a atenção que no termo não aparece a população do clone i , mas isso é devido a dois motivos:

- A força inibitória dos clones anti-idiotípicos pode continuar a existir, mesmo se todos os linfócitos pertencentes ao nó morressem, pois os nós inibidores ainda poderiam ter linfócitos vivos.
- Consideremos uma situação na qual a população do nó i tivesse um súbito acréscimo na sua população (por exemplo, ao simular uma imunização passiva). Se o termo fosse proporcional a x_i , as populações dos nós inibidores também deveriam sofrer súbitos acréscimos para poder gerar o efeito inibidor representado pelo

³Desde que a população só pode ter valores positivos, o valor de $x_i[t + 1]$ será zero no caso em que o membro direito da equação 3.1 resulte negativo.

termo. Porém, os mecanismos para modificar as populações implicam numa inércia que impede mudanças súbitas desse tipo. Só no caso do modelo incluir a presença de anticorpos seria possível gerar uma inibição dessa magnitude pois eles são produzidos em quantidades maciças pelos plasmócitos.

O parâmetro b , que modela o efeito da medula óssea, é o mesmo para todos os nós. Isto supõe um mecanismo gerador de linfócitos que atua aleatoriamente (sem influência do resto do organismo) na hora de fazer o rearranjo do DNA (Seção 2.1.2 na página 10) dos genes dos parátomos. Porém, quando fizemos a descrição da medula óssea (Seção 2.1.3 na página 14) explicamos que os linfócitos Th podem secretar citocinas que incentivam a criação daqueles leucócitos envolvidos na luta contra um antígeno. Portanto, no caso de um clone ser envolvido na luta contra um antígeno (ou mesmo vários clones), a medula teria uma realimentação deste evento e adotaria um comportamento compensatório. Num modelo mais acurado, essa realimentação poderia ser modelada substituindo o parâmetro global b por uma função do campo estimulatório sobre o *cluster*. Na seção anterior nos referimos ao parâmetro b como ruído branco de fundo: este pode ser modelado pelas analogias resumidas na Tabela 3.1.

Sistema Imune	Processamento de Sinais
repertório de clones	espectro de frequências
clone (tipo de parátomo)	frequência
população de linfócitos	potência

Tabela 3.1: Comparação do sistema imune com o processamento de sinais.

No caso da taxa de proliferação p , o efeito modulador dos linfócitos Th é determinante, pois os linfócitos B requerem o co-estímulo das citocinas secretadas pelos Th para começar a se multiplicar (Seção 2.1.3 na página 18). Este é um exemplo da hierarquia existente no SI na hora de coordenar uma resposta do sistema perante uma perturbação. O FBM modela a ação dos Th com o parâmetro p , e supõe que essa influência permanece constante mesmo nos comportamentos transitórios que aparecem após uma perturbação qualquer. Quase todas estas observações podem ser feitas com respeito à taxa de morte m . A remoção das células B acontece principalmente no baço (Seção 2.1.3 na página 20).

No FBM a função de ativação escolhida foi a janela (Figura 2.17(b)) pela simplicidade da sua implementação. Os limiares l_1 e l_2 (cujas interpretações foram feitas na

Seção 2.3.3 na página 35) têm a mesma interpretação que JERNE tinha assinalado: os linfócitos B nem sempre entram na fase de ativação após ter entrado em contato com um antígeno reconhecido por eles. Na Seção 2.1.4 na página 26 foram apresentados alguns dos mecanismos envolvidos na discriminação entre o próprio e o não próprio. O limiar superior da janela pode ser ligado com a supressão no timo dos Th auto-reativos: a célula B que se ligou ao antígeno carece do sinal de ativação do Th e portanto ela fica inibida. O limiar inferior está relacionado com a dinâmica de detecção de antígenos que acontece no baço e nos linfonodos: é preciso que o antígeno alcance uma concentração mínima para que, por exemplo, um centro germinativo num linfonodo comece a ser criado.

Os campos estimulatório e inibitório

Na base da Rede Funcional está a influência recíproca que seus integrantes mantêm entre si. Quando o idiótipo de um clone estimula um conjunto de outros clones, estes reagem inibindo o primeiro. No FBM as variáveis h_i^+ e h_i^- contêm o efeito condensado, estimulatório e inibitório respectivamente, que a rede toda tem sobre o nó i . O parâmetro u (taxa de inibição) permite ajustar o efeito proporcional que o campo inibitório tem sobre a população do *cluster* i . Este parâmetro, junto com a taxa de proliferação p , concentram as diferenças existentes entre o mecanismo de ativação (*ação*) provocado pelo campo estimulatório h_i^+ , e o mecanismo de inibição (*reação*) provocado pelo campo inibitório h_i^- . A seguir são apresentadas as equações que modelam ambos os campos:

$$h_i^+[t] = \sum_{j=1}^N \omega_{ij}^+[t](x_j[t] + a_j[t]), \quad (3.2)$$

$$h_i^-[t] = \sum_{j=1}^N \omega_{ij}^-[t]x_j[t]. \quad (3.3)$$

onde

- x_j corresponde à população de linfócitos do nó j ;
- a_j representa a população de antígenos cujos epítopos são do mesmo tipo que os idiótipos dos linfócitos do *cluster* j ;
- ω_{ij}^+ é o elemento i, j da chamada *matriz de estimulação*, e representa a afinidade

que os parátomos dos linfócitos do *cluster* i tem pelos epítomos / idiótopos do *cluster* j .

ω_{ij}^- é o elemento i, j da chamada *matriz de inibição*, e representa a afinidade que os parátomos dos linfócitos do *cluster* j tem pelos epítomos / idiótopos do *cluster* i .

N é o número total de nós da rede.

Estas equações merecem várias explicações adicionais. A simetria entre elas é quebrada pelo fato de (3.2) ter o termo a_j que não aparece em (3.3). Isso deve-se a que o efeito estimulador sobre um linfócito do *cluster* i que acontece quando seus parátomos ligam-se a um idiótopo na membrana celular de um linfócito de outro *cluster* j , ou quando ligam-se ao epítomo na superfície de um antígeno. Tanto o idiótopo da célula B quanto o epítomo do antígeno terão características físico-químicas semelhantes para que a ligação com o mesmo tipo de parátomo aconteça; ou seja, ambas as moléculas terão pontos vizinhos nas respectivas representações no SS. Daí decorre que ambas fontes de estímulos estejam agrupadas no mesmo nó j do grafo. No caso de (3.3) não aparece a contribuição dos antígenos porque o mecanismo inibidor é exercido só pelos linfócitos.

A afinidade ω_{ij}^+ tem uma interpretação análoga à feita na Seção 2.3.3, mas com a diferença de que agora trata-se dos linfócitos de um *cluster* (que agrupa vários clones), e não se restringe aos linfócitos de um clone como no modelo de DE BOER; esta afinidade está associada às arestas dirigidas do grafo subjacente no FBM e se corresponde com o efeito estimulador descrito por JERNE ao descrever a Rede Idiográfica. Quando dois linfócitos ficam ligados, um deles fica estimulado (aquele que possui o parátomo) e o outro fica inibido (aquele que conta com um idiótopo afim com o parátomo do outro linfócito); portanto o elemento ω_{ij}^- da matriz de inibição corresponde à consequência da ligação sobre o segundo dos linfócitos citados. A especificidade é uma propriedade recíproca (simétrica) que quantifica a maneira como dois linfócitos⁴ se ligam, no entanto o efeito dessa ligação é anti-simétrico. Por isso é preciso introduzir uma polaridade que reflita as consequências diferentes do mesmo evento; daí decorre que os elementos das duas matrizes do modelos se relacionem pela seguinte equação:

⁴Em termos gerais, deveria-se falar de clones.

$$\omega_{ij}^+ = -\omega_{ji}^- \quad (3.4)$$

Assim, a matriz de estimulação tem associado um grafo orientado, cujas arestas possuem um peso igual ao valor de ω_{ij}^+ , enquanto o grafo da matriz de inibição possui as mesmas arestas (portanto, o mesmo peso) mas com o sentido oposto.

A evolução da especificidade

A Equação (3.4) vincula as matrizes de estimulação e de inibição, e portanto os grafos correspondentes. Na exposição a seguir ficará subentendido que trata-se da matriz de estimulação, pois o caso da inibição é inferido de maneira direta.

Na Seção 3.1.1 foi explicado por quê faz sentido falar que a afinidade (ou especificidade) entre *clusters* muda como consequência das variações na distribuição da população no interior dos *clusters*. A seguir serão apresentadas as equações que modelam os efeitos dessas variações sobre os pesos das arestas do grafo⁵. A lei de mudança dos pesos é, segundo o FBM:

$$\omega_{ij}^+[t+1] = g_{ij}[t]\omega_{ij}^+[t] + r \quad (3.5)$$

onde

- g_{ij} representa o *fator de crescimento* (ou diminuição) do peso no instante t , e
- r corresponde aos efeitos da hipermutação sobre a proliferação das células B, modelado neste caso como um ruído aleatório com distribuição uniforme.

O fator de crescimento segue uma lei do tipo Aprendizado Hebbiano, e decorre de uma escolha, mesmo que arbitrária, feita no FBM para modelar um processo de maneira análoga ao que acontece com as Redes Neurais. Para descrever o modo como esse fator é calculado no FBM é conveniente introduzir a seguinte variável auxiliar:

$$\eta_{ij}[t] = \omega_{ij}^+[t](x_j[t] + a_j[t]) \quad (3.6)$$

⁵Ou seja, os elementos da matriz de estimulação.

que designa o efeito estimulador que o nó j tem sobre o nó i . A expressão para o fator de crescimento fica:

$$g_{ij}[t] = \frac{\delta \eta_{ij}[t]}{\max_{j=1 \dots N}(\eta_{ij}[t])} + 1 - \frac{\delta}{2} \quad (3.7)$$

onde δ fixa a amplitude máxima permitida entre o maior crescimento e a maior diminuição do peso de uma aresta. Na linguagem das Redes Neurais, o parâmetro δ se corresponde com o Taxa de Aprendizado (*Learning Step*), que regula a rapidez com que a rede aprende; no contexto do FBM este parâmetro regula a rapidez com que a rede modifica o peso das arestas. Na Figura 3.1 está representada a forma como os pesos são modificados para acompanhar as mudanças nas populações de linfócitos do sistema.

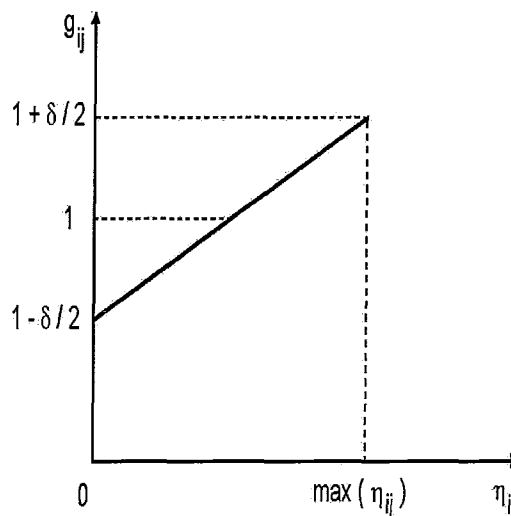


Figura 3.1: Lei do fator de crescimento.

A interpretação biológica deste parâmetro é muito difícil pois ele envolve a rapidez com que o organismo reage contra as mudanças, sejam estas consequência da maturação da rede ou o produto de uma perturbação vinda do exterior. Do ponto de vista do sistema dinâmico que as equações descrevem, o efeito sobre o comportamento que δ tem se contrapõe com o efeito do parâmetro r (ruído).

Os antígenos

O FBM conta com um sistema de equações que modelam a evolução da população de antígenos que poderiam ter ingressado no sistema. Segundo JERNE, os linfócitos B se

ligam com qualquer molécula desde que ela apresente uma região afim com o seu parátipo. Já foram introduzidos os termos epítipo e idiótipo para designar aquelas regiões determinantes. Do ponto de vista do reconhecimento entre moléculas nada diferencia um epítipo de um idiótipo, mas a localização deles faz a diferença nas conseqüências que a ligação tem. Já foram analisados os efeitos recíprocos de estimulação / inibição que acontecem ao se ligar um parátipo com um idiótipo, mas no caso do epítipo os eventos que decorrem são de natureza totalmente diferente pois eles pertencem a agentes que não são as células B. Considerando essa diferença de natureza entre linfócito B e antígeno, o FBM modela a maneira com que o sistema reage perante uma população de antígenos por meio da seguinte equação:

$$a_i[t + 1] = a_i[t] - \tau \sum_{j=1}^N \omega_{ij}^- [t] x_j[t] \quad (3.8)$$

onde

a_i representa a quantidade de antígenos no *cluster* i e

τ é a *taxa de remoção* de antígenos do sistema.

O epítipo do antígeno tipo i tem uma estrutura muito parecida com parte dos idiotipos contidos na vizinhança i . Nesta equação o efeito inibitório dos restantes nós da rede (representado pela soma) é modulado pelo parâmetro τ . A interpretação biológica dele está relacionada com os efeitos para o antígeno decorrente do fato de estar ligado a um linfócito B (ou vários). Na realidade, durante a fase efetora os antígenos e os linfócitos B já não interagem diretamente (Figuras 2.11 na página 23 e 2.12 na página 24); cabe aos anticorpos liberados pelos plasmócitos serem os protagonistas (junto com agentes da imunidade inata) da supressão dos antígenos. Porém, o FBM herda a hipótese do modelo de DE BOER de que os únicos agentes do sistema imune a serem considerados são os linfócitos B.

3.2 Considerações relativas ao presente estudo

Nesta seção são apresentados alguns pontos referentes à maneira como a análise do modelo foi feita. É explicado o critério empregado para avaliar o grau dos nós do grafo, e a

modificação feita no modelo para estudar os efeitos do ruído sobre o sistema.

3.2.1 O critério para a avaliação do grau

Um dos parâmetros empregados para estudar a topologia de um grafo é o grau de cada um dos seus nós. Define-se o grau de um nó como a quantidade de arestas conectadas com ele. Como já foi indicado anteriormente, o FBM tem associados dois grafos orientados: o grafo que considera as influências estimulatórias e o grafo das influências inibitórias. Seguindo a proposta do JERNE, o presente trabalho se concentra nas propriedades do grafo estimulatório, mas a estrutura do grafo inibitório decorre diretamente da aplicação da anti-simetria que liga as matrizes de incidência respectivas (ver 3.1.2 na página 43). Assim, o grau estudado corresponde à contagem das arestas entrantes para um nó dado do grafo estimulatório.

Do ponto de vista biológico, o grau de um nó é um indicador da sua especificidade pois um *cluster* com muitas arestas é capaz de reconhecer a muitos nós, ou seja, ele está representando um conjunto de linfócitos com capacidade para se ligar a muitos tipos de epítomos / idiótopos. No outro extremo, um nó com uma única aresta corresponde a um grupo de células B que só reconhecem um tipo de linfócitos com idiótipos muito semelhantes.

As arestas têm um peso associado cujo valor é o elemento respectivo na matriz de estimulação. Em princípio só aquelas arestas com peso diferente de zero deveriam ser contabilizadas na hora de calcular o grau de um nó particular. Mas os pesos têm o significado biológico de serem proporcionais à afinidade entre moléculas (parátomos e epítomos / idiótopos); na prática de laboratório essa afinidade tem limiares que separam os casos onde há reatividade entre as moléculas, daqueles casos nos quais não acontece uma quantidade significativa de ligações. Por esse motivo foi necessário escolher um critério para estabelecer quando uma aresta representa uma afinidade biologicamente significativa e portanto, quando ela deve ser levada em conta na hora de calcular o grau.

Podem ser considerados dois critérios para avaliar a relevância de uma aresta. O primeiro consiste em fixar um limiar global para todas as arestas do grafo. Este critério tem a vantagem de ser análogo ao critério empregado na prática de laboratório (ver Nota 1 na página 8), onde os limiares são definidos em termos absolutos. Porém ele tem a desvan-

tagem de aplicar-se a moléculas específicas enquanto o FBM trabalha com o conceito de *cluster*, que abrange um conjunto de moléculas diferentes. Este critério tem um efeito indesejado para os fins deste estudo: ele oculta as peculiaridades do comportamento de cada *cluster* ao evoluir sua especificidade.

O segundo critério, o escolhido no presente trabalho, busca destacar as características locais de cada nó. Por isso, ao invés de empregar um limiar global para todos os nós do grafo, ele avalia a importância relativa que uma aresta tem com respeito às restantes arestas conectadas com o nó. Mais especificamente, o critério escolhe entre todas as arestas incidentes aquela com peso maior. Emprega-se assim um limiar local que corresponde a uma fração do valor associado à aresta mais pesada. Para que uma aresta seja levada em conta na hora de calcular o grau do nó ela deve ter um peso maior que o limiar local. A porcentagem usada para determinar o limiar local é um parâmetro do estudo que foi escolhido depois de várias tentativas: os valores altos implicam em que todos os nós tenham um grau baixo (e portanto uma especificidade elevada), enquanto que valores muito baixos (da ordem de um por cento) resultam num grafo muito conectado. Estudos feitos sobre a evolução dos pesos das arestas mostraram que passada uma etapa de maturação da rede, na maioria dos nós constata-se uma diferença muito grande entre o valor da aresta mais pesada e o valor do peso para a aresta que segue em ordem decrescente. Esses estudos levaram a escolher uma fração de dez por cento como um valor adequado para o estudo da evolução da especificidade.

Em resumo, para calcular o grau de um nó em cada passo da evolução, é adotado o procedimento seguinte:

1. Determina-se valor do peso da aresta mais pesada.
2. Calcula-se o limiar local como uma porcentagem do valor anterior.
3. Para as restantes arestas, compara-se seu peso com o limiar: se for maior, a aresta é considerada significativa e levada em conta na contagem do grau. Caso contrário, essa aresta é desconsiderada.

3.2.2 Modelagem do envelhecimento

É freqüente achar na literatura estudos que modelam o envelhecimento de um sistema biológico como um aumento progressivo do nível de ruído em alguma de suas variáveis. No FBM o ruído aparece na Equação (3.5 na página 45). No presente trabalho essa equação foi modificada a fim de incrementar gradativamente o valor desse termo. A seguir apresentamos a nova forma adotada:

$$\omega_{ij}^{\pm}[t + 1] = g_{ij}[t]\omega_{ij}^{\pm}[t] + \nu r \quad (3.9)$$

onde ν representa uma *taxa de aumento*⁶ *do ruído por envelhecimento*. No presente trabalho havia a possibilidade de fixar no início do experimento o valor dessa taxa, bem como o momento a partir do qual ela começaria a atuar. Deixamos para o Capítulo 5 a avaliação das conseqüências sobre o comportamento do sistema que essa variante do modelo teve.

⁶O valor mínimo considerado para ν é 1.

Capítulo 4

Comportamento do sistema isolado

Neste capítulo estudaremos como evolui o sistema representado pelo modelo, começando por condições iniciais escolhidas ao acaso, até atingir um estado que qualificaremos de maduro. Os fenômenos aqui observados correspondem ao interesse original de JERNE ao se perguntar o que acontecia com o sistema imune antes deste se encontrar com um "antígeno do exterior".

4.1 Metodologia

No estudo da evolução do sistema foram empregadas duas ferramentas de análise: a primeira é o desenho do grafo, e a segunda é o gráfico da evolução dos valores de alguma variável de interesse. Uma variante da última ferramenta é o gráfico da distribuição de frequências no caso do grau de alguns nós especiais.

4.1.1 Os gráficos de variáveis

Os tipos de gráficos que são empregados no presente estudo são do mesmo tipo que os usados por FLORES [1]. Salvo indicação contrária, todos os gráficos representam no eixo das abscissas o tempo, expresso em passos de simulação. A unidade do eixo das ordenadas varia segundo o caso: quando a variável representada é a população de linfócitos ou de antígenos, então o valores apresentados podem ser milhares ou milhões de agentes.

No caso dos gráficos da intensidade dos campos a unidade não é óbvia pois ela é derivada da multiplicação uma afinidade (cuja unidade é conhecida) por uma população. Portanto na análise nos concentraremos mais nas variações relativas dos valores do que em achar uma relação direta com a realidade.

4.1.2 Os desenhos de grafos

Os desenhos dos grafos têm algumas características que explicamos a seguir. Na Figura 4.1 é apresentado o desenho do grafo no passo 100 desde o começo do experimento. Uma aresta qualquer representa a ação estimulatória, portanto ela tem na sua origem o nó estimulador e ela acaba no nó estimulado. Existem dois tipos de arestas: as de traço contínuo representam a relação de afinidade principal entre dois nós, enquanto que as arestas tracejadas correspondem a afinidades de intensidade menor. Também existem dois tipos de nós: aqueles que têm forma retangular e os de forma circular. Os primeiros estão associados a nós que recebem estímulo de uma fonte só. Dito de outro modo, os nós retangulares reconhecem especificamente só um outro nó da rede, ou seja, eles têm uma especificidade alta. Em contraste, os nós circulares correspondem àqueles *clusters* que são estimulados por mais de um tipo de idiótipo; a especificidade deles é menor que no caso dos nós retangulares. No desenho, os nós circulares têm uma aresta contínua e pelo menos uma aresta tracejada acabando nele. Quanto maior é a quantidade de arestas chegando num nó, menor será sua especificidade.

Olhando para o grafo em seu conjunto, é interessante observar quantos nós de baixa especificidade (circulares) existem, assim como é importante notar a densidade de arestas secundárias (tracejadas). É importante também observar a presença de ciclos e de sub-grafos isolados. Estas propriedades topológicas do desenho do grafo dão uma idéia qualitativa do que acontece com a rede ao ir evoluindo. Nas seções seguintes são analisados os grafos em diferentes etapas da evolução do sistema.

4.1.3 Os parâmetros e as condições iniciais

No presente trabalho foi empregada uma rede de cem nós para estudar a evolução de um sistema regulado pelas hipóteses e equações apresentadas no capítulo anterior. No entanto, redes com 20 e 200 nós também foram levadas em conta na hora de estudar a

Parâmetro	Símbolo	100 nós	20 nós	200 nós
Taxa de Inserção	b	0.08	0.09	0.08
Taxa de Morte	m	0.05	0.03	0.05
Taxa de Proliferação	p	0.001	0.001	0.001
Taxa de Inibição	u	0.002	0.002	0.002
Taxa de Variação na Especificidade	δ	0.1	0.001	0.1
Ruído na Especificidade	r	0.05	0.06	0.05
Limiar de Ativação	l_1	0.1	0.1	0.1
Limiar de Inibição	l_2	250.0	20.0	280.0
Taxa de Remoção de Antígenos	τ	0.05	0.01	0.09
Limiar Local da Especificidade		0.1	0.1	0.1

Tabela 4.1: Valores dos parâmetros das redes.

distribuição de probabilidade do grau dos nós com baixa especificidade. A escolha dos parâmetros foi feita de acordo aos critérios estabelecidos por FLORES [1]. Na Tabela 4.1 apresentamos os valores dos parâmetros usados em cada uma das redes.

No estudo foram usadas várias condições iniciais, ou seja, foram geradas ao acaso vários conjuntos de valores iniciais para as populações dos nós e para os elementos da matriz de estimulação¹. O ruído inserido na evolução da especificidade foi simulado usando um gerador de número aleatórios com distribuição uniforme. No entanto no presente trabalho, tanto as condições iniciais quanto a seqüência de números aleatórios são os mesmos para todos os experimentos; desta maneira as comparações ficam facilitadas pois as mudanças registradas terão como "causa" a perturbação introduzida.

4.2 Estágios da topologia do grafo

Apresentaremos a seguir uma seqüência de desenhos de grafos correspondentes a diferentes estágios na evolução do sistema. Levando em conta as observações feitas em 4.1.2 na página precedente, é simples obter uma idéia qualitativa das relações entre a evolução da especificidade e a estrutura do grafo.

¹Como já vimos no capítulo anterior, a matriz inibição é a transposta da matriz de estimulação com o sinal dos elementos trocado; portanto escolhendo os valores da última implica na escolha dos valores da primeira.

4.2.1 O sistema jovem

No início do experimento as relações da afinidade entre os *clusters* são aleatórias. O desenho do grafo inicial é de uma complexidade tal que fica ilegível. Por isso apresentamos o grafo no passo 100, onde o processo de simplificação inerente ao sistema já tornou o desenho mais simples. Chama a atenção o grande número de nós com baixa especificidade (NBE) e a densidade de arestas secundárias (AS). Do ponto de vista biológico isso estaria representando um sistema onde os *clusters* contém clones com uma diversidade suficiente para que vários idiótipos possam ser reconhecidos ao mesmo tempo. A Seleção Clonal ainda não teve tempo de restringir essa diversidade e devido a isso é que qualificamos o sistema como jovem. Neste estágio ainda é difícil de identificar ciclos. Por exemplo o NBE 4 é afim aos *clusters* 0 e 21, mas com este último a intensidade é menor. Por sua vez, o nó 4 é reconhecido com especificidade significativa pelos nós 35 e 63. O caso do nó 87 (na base do desenho) é interessante pois ele não é reconhecido com afinidade significativa por nenhum dos clones nos outros *clusters*. Se a medula não insere um tipo de clone afim a 87, a população deste fica sem controle (em termos da rede de JERNE). Mas veremos que na dinâmica da rede existe um equivalente à lei de Say na economia: toda oferta cria sua própria demanda. Em resumo, é importante notar as seguintes características de uma rede jovem:

- Existem vários *clusters* com baixa especificidade (muitas arestas chegando).
- Existem vários *clusters* sem arestas chegando desde outro nó da rede.
- Não é simples reconhecer ciclos no desenho do grafo.

4.2.2 O sistema maduro

Comparemos o grafo no passo 10000 apresentado na Figura 4.2 na página 56 com aquele do passo 100. Uma relativa ordem começa a ficar evidente. As arestas principais (AP) são bem menos numerosas, assim como os NBE. Chamam a atenção nós como o 83, que aparece com uma especificidade muito baixa, pois ele mantém conexões com muitos outros nós da rede.

É interessante decompor o desenho do grafo em duas figuras, assim como as apresentadas em 4.3a e b. Na primeira estão presentes só as AP e fica evidente a presença de

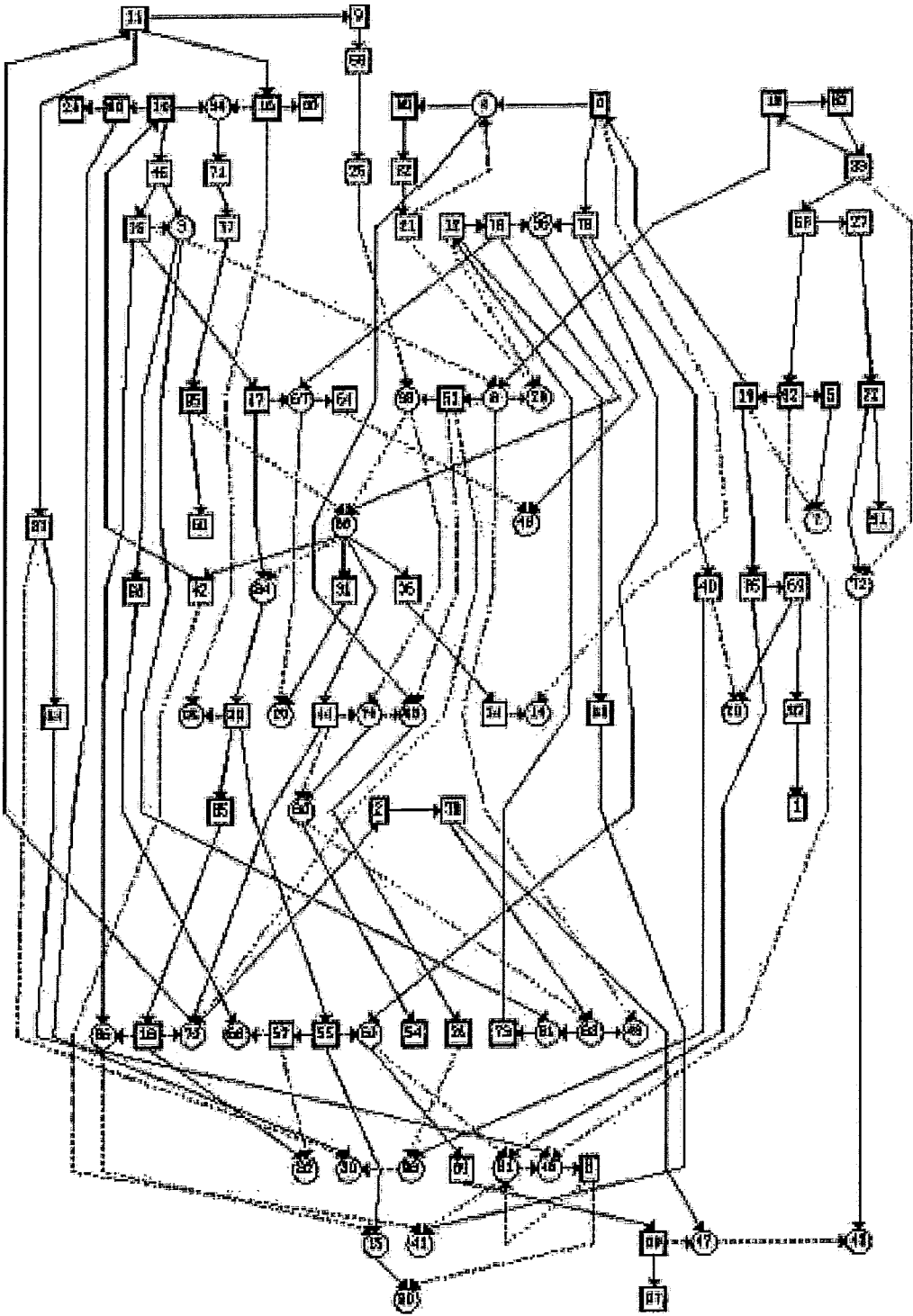


Figura 4.1: O grafo no passo 100.

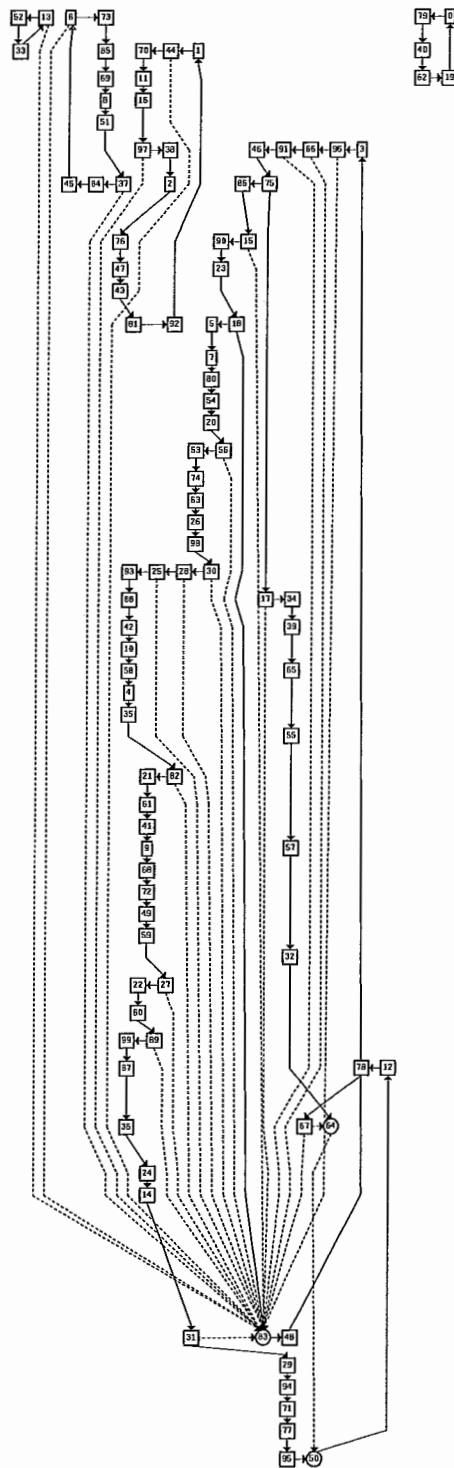
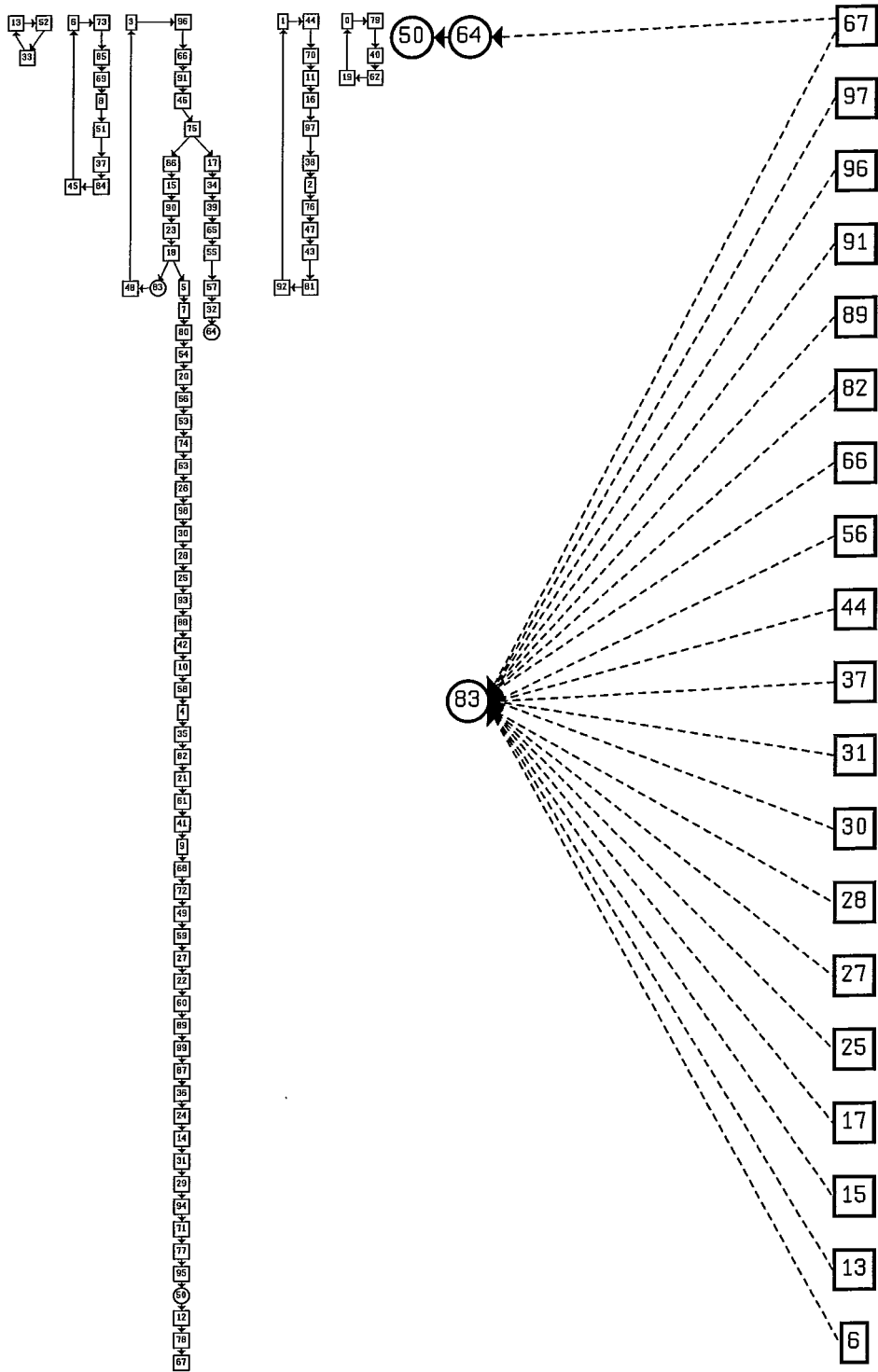


Figura 4.2: O grafo no passo 10 000.



(a) Grafo das Arestas Principais.

(b) Grafo das Arestas Secundarias.

Figura 4.3: Decomposição do grafo do passo 10 000.

ciclos de diferentes tamanhos. Na segunda figura estão representadas só as AS. Os NBE aparecem destacados e o comportamento do nó 83 é deixado em evidência: ele é capaz de ficar estimulado por uma grande variedade de idiótipos. A quantidade de idiótipos ao quais ele pode se ligar está relacionada com o estudo do grau nesse *cluster*. Deixamos para uma seção posterior o estudo aprofundado do que acontece com a conectividade desse tipo de nó.

Em resumo, como resultado de comparar os grafos dos passos 100 e 10000, podem ser apresentadas as seguintes conjeturas:

- A conectividade da rede diminui ao longo da evolução do sistema. Dito de outro modo, a quantidade total de arestas tende a diminuir com o passar do tempo.
- A quantidade de NBE diminui ao longo da vida do sistema. Ou seja, os *cluster* tendem "naturalmente" a ficar mais específicos.
- Os ciclos aparecem claramente, separando o grafo das AP em subconjuntos não conexos.

4.2.3 O sistema velho

O último caso que consideraremos é o grafo no passo 100 000, apresentado na Figura 4.4 na próxima página. Fica claro a partir do desenho que a evolução da especificidade segue as conjeturas feitas no parágrafo anterior. Todos os nós pertencem a ciclos e todos eles têm uma especificidade alta por algum outro *cluster* da rede. Não existem mais nós que sejam afins a mais de um idiótipo. Esta configuração do grafo, dependendo das condições iniciais, pode acontecer mais cedo ou mais tarde. Também é possível que com estas condições iniciais, um nó perca especificidade e volte transitoriamente a receber estímulo de dois (ou mais) nós. Essas flutuações são conseqüências dos efeitos combinados do ruído e da medula óssea, ambos os quais contribuem para diminuir o valor das afinidades. Porém, independentemente das condições iniciais e do ruído, constata-se que a tendência de a rede a se auto-organizar em ciclos estáveis é uma propriedade emergente do sistema dinâmico considerado.

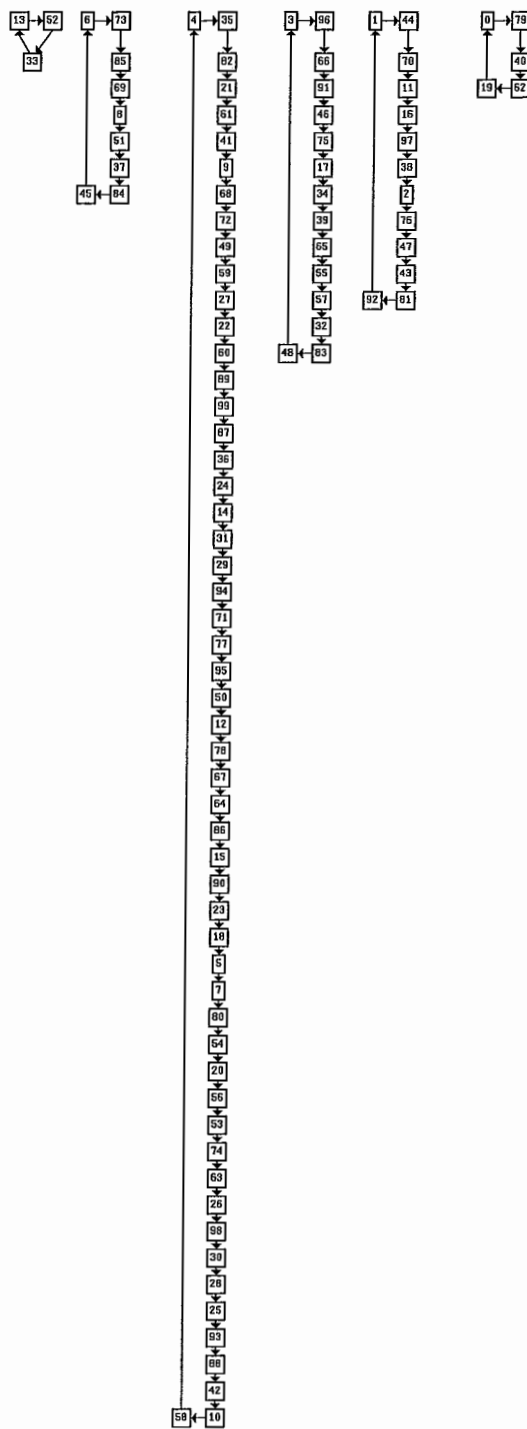


Figura 4.4: O grafo do sistema para o passo 100 000.

4.3 Evolução dos graus dos nós

Nesta seção vamos analisar como evolui o grau dos nós ao longo da evolução. Assim como falamos no início do capítulo, o grau de um nó é um indicador da sua especificidade. A análise qualitativa feita na seção anterior sugere que o grau de um nó qualquer começa com um valor relativamente alto que diminuirá com o passar do tempo até atingir um valor baixo estável (um ou dois). Porém, a Figura 4.3(b) mostra um caso de nó que merece um estudo em detalhe. Na Figura 4.5 está representada a superfície do grau. A seguir faremos uma análise da sua morfologia.

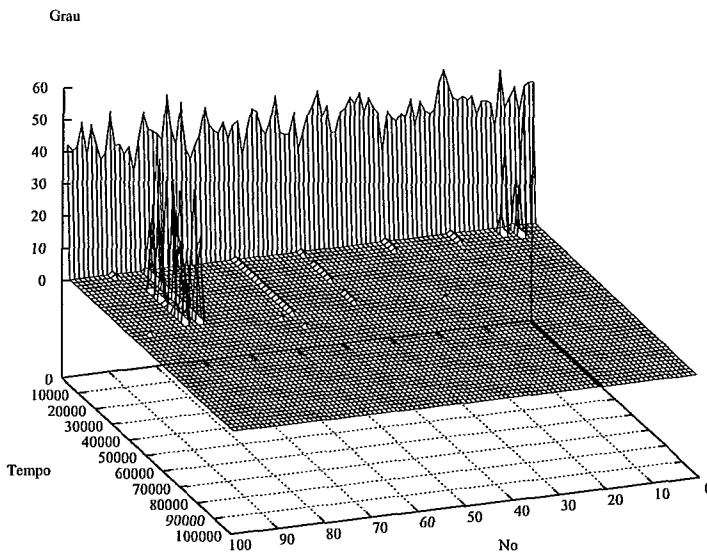


Figura 4.5: Superfície do grau.

4.3.1 Caso geral da evolução

A superfície do grau se apresenta plana na sua maior parte, ou seja, o grau é o mesmo para a maior parte dos nós por todo o tempo. Escolhamos por exemplo o nó 5 para representar o gráfico do valor do grau ao longo do tempo (Figura 4.6 na próxima página). Depois de um período de amadurecimento durante o qual o grau apresenta oscilações, o nó entra numa etapa na qual ele fica com uma alta especificidade. Este caso geral pode apresentar variações segundo o nó considerado. Por exemplo, existem nós para os quais o período

de amadurecimento é bem curto, o seja, logo após do início do experimento, o grau fica com valor 1 e fica estável a vida toda. Daí decorre que um possível critério para avaliar quando uma rede amadureceu consiste em medir a fração do total de nós com grau baixo; assim, quando essa fração permanece maior do que 75 por cento durante um lapso, então poder-se-ia dizer que a rede chegou a uma configuração estável.

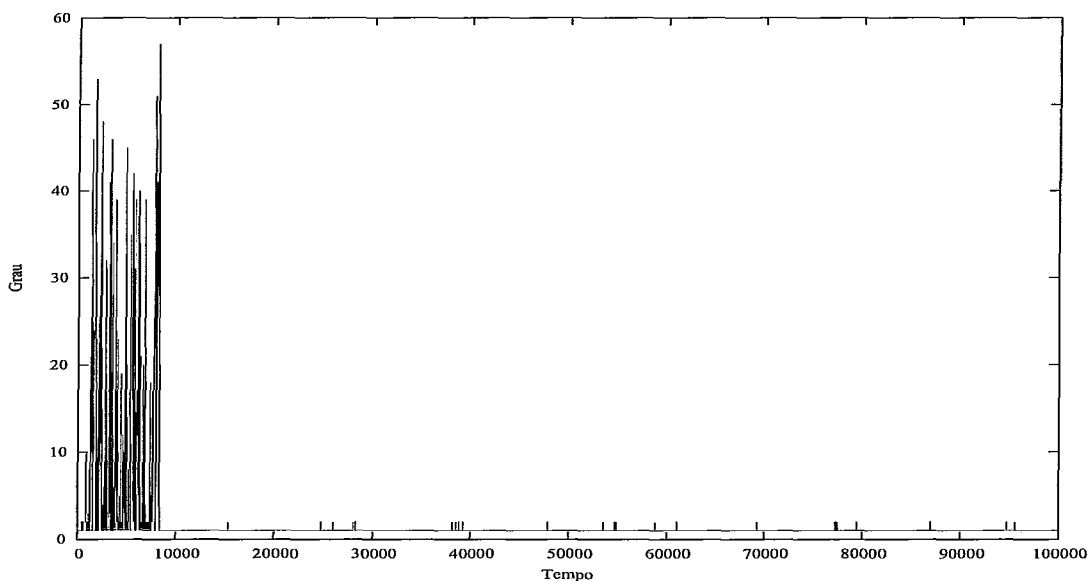


Figura 4.6: Evolução do grau do nó 5.

4.3.2 Caso de um nó com baixa especificidade

Na superfície do grau pode-se perceber que existe um nó que mantém um grande número de conexões até bem depois que os restantes nós já tenham estabilizado sua configuração. O nó 83, que já foi considerado ao analisar qualitativamente a evolução do grafo, tem o seu grau representado na Figura 4.7 na página seguinte. Considerando outros conjuntos de condições iniciais é freqüente achar nós com um comportamento similar ao deste nó, assim como também é freqüente achar que o período de "instabilidade" prolonga-se além do passo 100 000. Com condições iniciais diferentes foi achado um nó que ficou com baixa especificidade inclusive até o passo 1 000 000. No entanto não foi observado nenhum caso onde depois de atingir um alta especificidade, o grau voltasse a ter grandes variações

como as apresentadas².

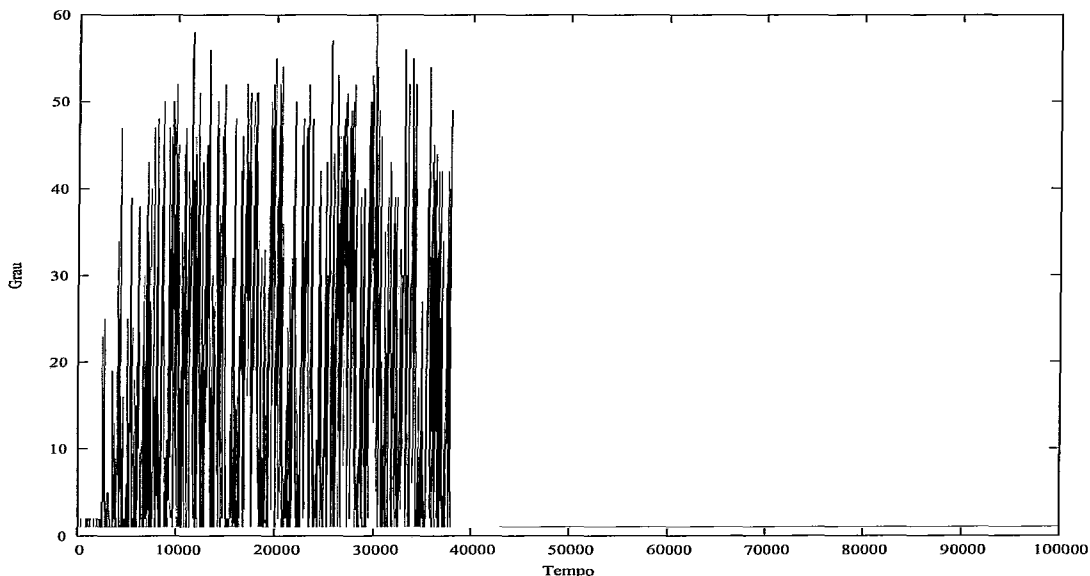


Figura 4.7: Evolução do grau do nó 83.

Com o objetivo de caracterizar a distribuição de probabilidade associada às variações do grau, foi estudado o histograma de freqüências. Na Figura 4.8 na próxima página está representado o histograma dos valores do grau, com escala logarítmica nos dois eixos. A forma da curva sugere que a distribuição de freqüências segue uma lei de potências³, mas seria preciso fazer um estudo estatístico aprofundado para estar em condições de estimar o valor do expoente. ANDREAS WAGNER, do Santa Fe Institute, no seu trabalho relativo às redes metabólicas sugere que distribuições deste tipo fazem as redes mais robustas perante às perturbações.

No entanto, as leis de potência constituem uma das características dos sistemas criticamente⁴ auto-organizados [20, 21]. Para conferir se a rede estudada poderia entrar nessa

²No entanto, quando são inseridas perturbações no sistema, pode acontecer que um nó perca sua especificidade e portanto, o seu grau comece a ter grandes variações.

³A distribuição de probabilidade que segue uma lei de potências tem a forma seguinte: $P(g) = kg^\alpha$ onde g é o grau de um nó, $P(g)$ é a probabilidade do nó ter grau g e α representa o expoente que caracteriza o sistema. Para o modelo estudado uma primeira estimativa do expoente é -0.75 . É possível mostrar que a existência da lei de potências equivale à independência da escala do problema tratado.

⁴Este tipo de sistema auto-organiza-se num estado de estrutura semelhante à dos sistemas termodinâmicos em equilíbrio nos seus pontos críticos. Num sistema termodinâmico qualquer, é preciso controlar uma variável externa (e.g. temperatura) para leva-lo ao seu ponto crítico; no entanto, nos sistemas criticamente auto-organizados a configuração crítica é atingida sem necessidade de influência externa. Uma configuração é designada crítica quando as perturbações locais afetam ao sistema todo.

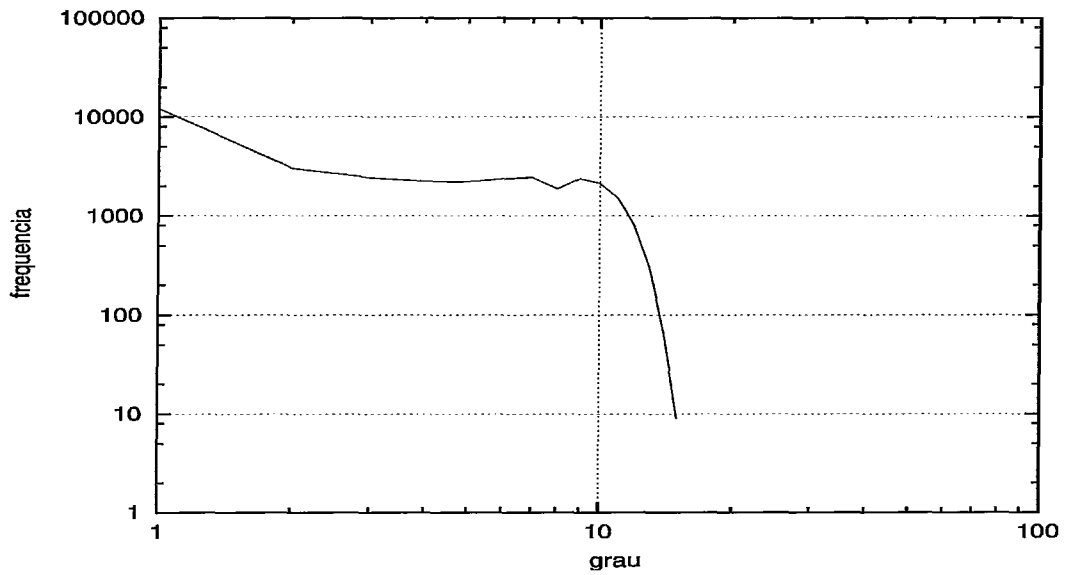


Figura 4.8: Distribuição de frequências para o grau do nó 83 com escalas logarítmicas.

categoria, foram estudadas as distribuições dos graus de NBE numa rede de 20 nós e numa outra de 200 nós (ver Figura 4.9). A curva com traço contínuo corresponde à rede de 200 nós. É interessante a presença de efeitos de borda que dependem do tamanho do sistema, e portanto a distribuição do grau seria independente da escala. Fica para um estudo mais aprofundado confirmar a conjetura (sugerida pelas Figuras 4.8 e 4.9) que a rede do modelo corresponde a um sistema criticamente auto-organizado.

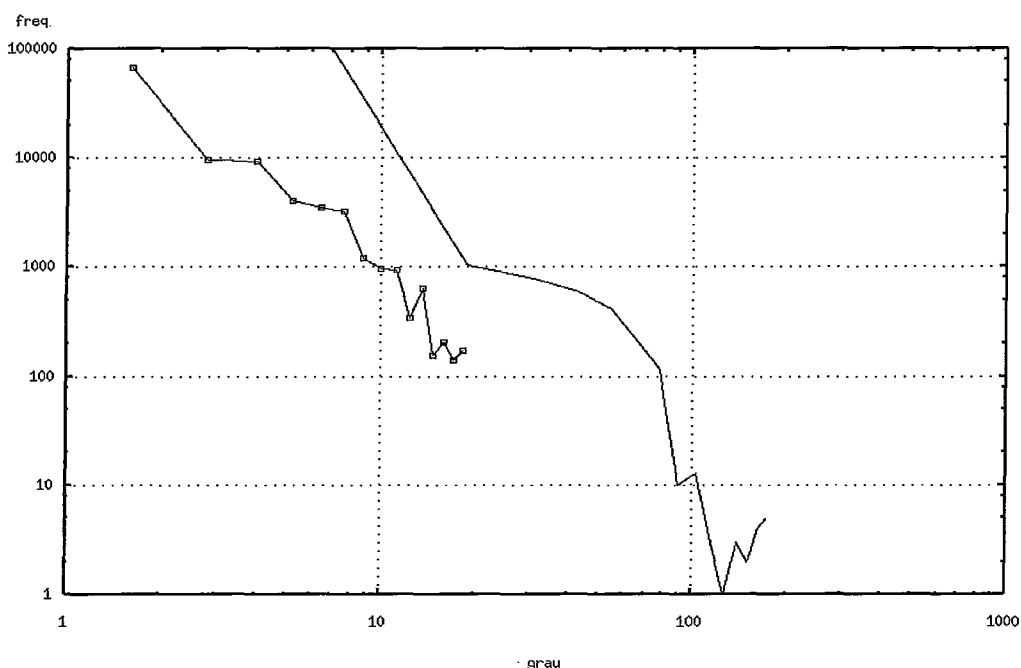


Figura 4.9: Distribuições do grau para redes de 20 e 200 nós.

4.4 Evolução da população e dos campos

Um problema que aparece nos modelos que representam redes funcionais é a possibilidade de que a população de algum clone fique sem controle, com a conseguinte saturação do sistema. A seguir vamos considerar a variação das populações dos clones assim como sua relação com os campos estimulatório e inibitório.

4.4.1 Evolução da população

Para todas as condições iniciais consideradas constatou-se que a população de todos os *clusters* permaneceu limitada ao longo do experimento. Na Figura 4.10 na página seguinte aparece representada a superfície da população, na qual pode-se constatar que os valores apresentam variações do tipo caótico. A unidade do eixo vertical representa proporcionalmente os milhares de células num sistema imune real.

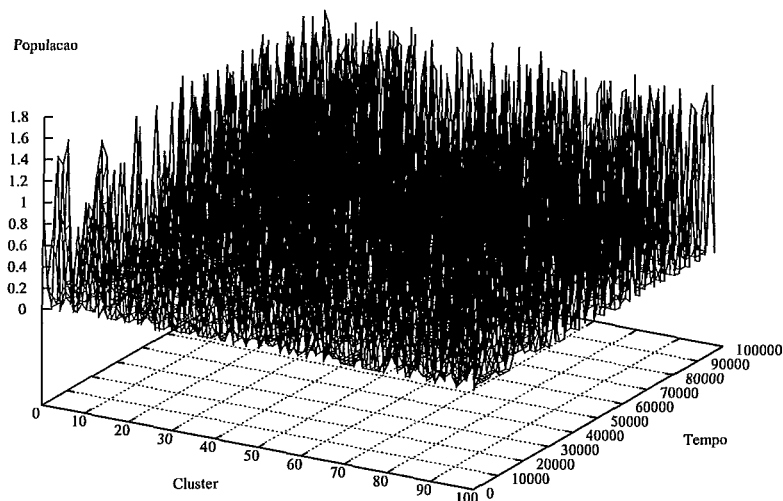
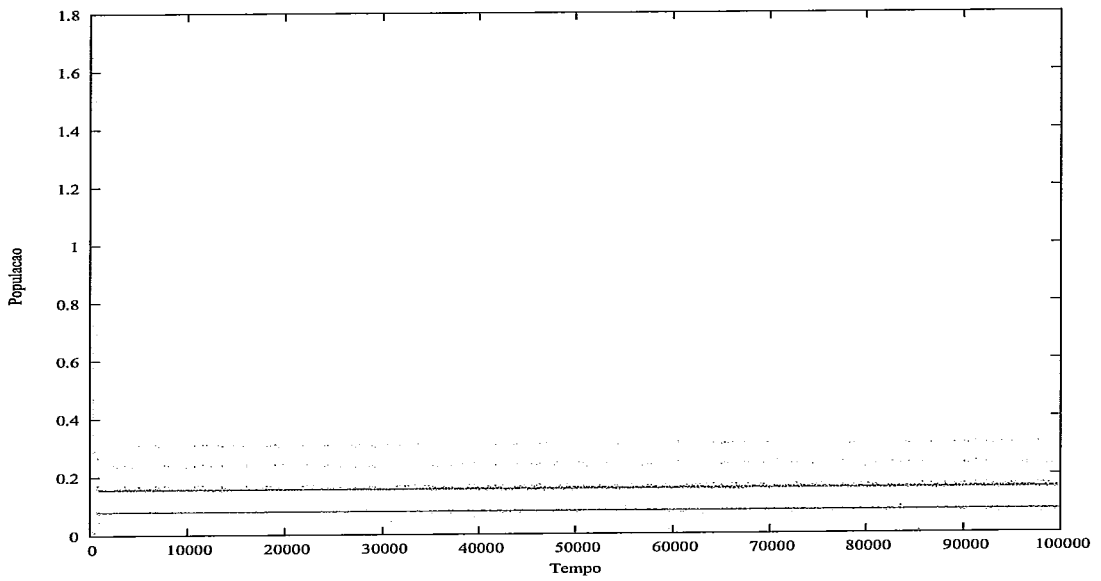


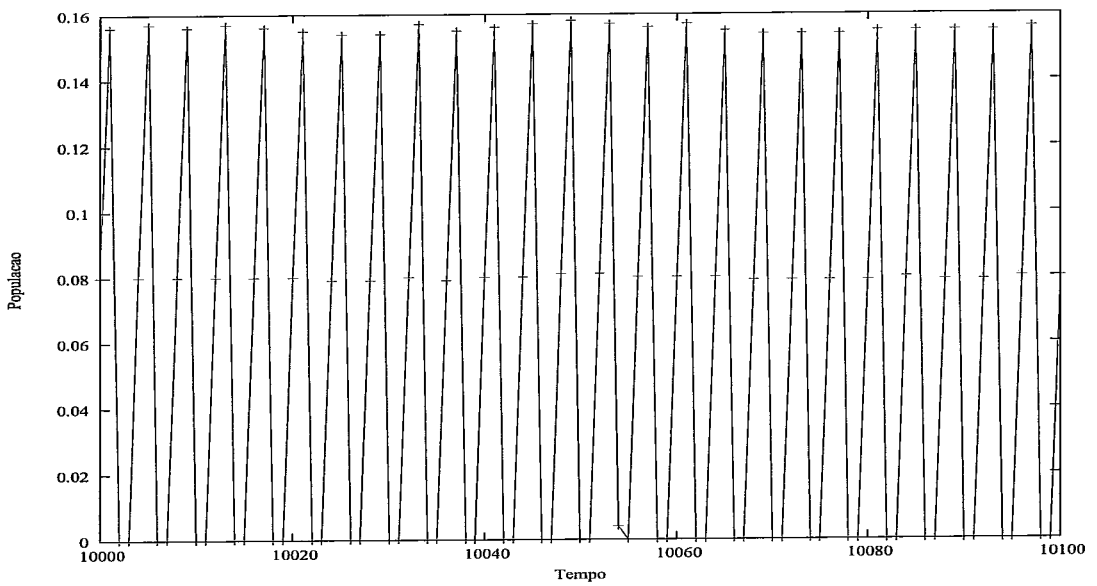
Figura 4.10: Superfície da população.

Caso de um nó dentro de um ciclo

Nas Figuras 4.1 e 4.3 percebe-se que o nó 0 pertence desde cedo a um ciclo. É interessante observar quais são as implicações que isso tem sobre o comportamento da população. Na Figura 4.11(a) aparece a evolução ao longo do experimento todo, enquanto que na sub-figura (b) é feita uma ampliação do que acontece perto do passo 10 000. Passados os 200 primeiros passos, a população parece oscilar de maneira periódica entre níveis de valores. O fato de o nó pertencer a um ciclo parece implicar num comportamento periódico já que as influências estimulatórias e inibitórias propagam-se através dos restantes membros do ciclo. Mesmo que durante alguns lapsos o *cluster* fique sem linfócitos, o sistema considerado atua de tal maneira que uma nova geração de células é criada sem a necessidade de nenhuma influência do exterior. Comentaremos mais sobre o assunto em 4.4.2.



(a) O experimento todo.

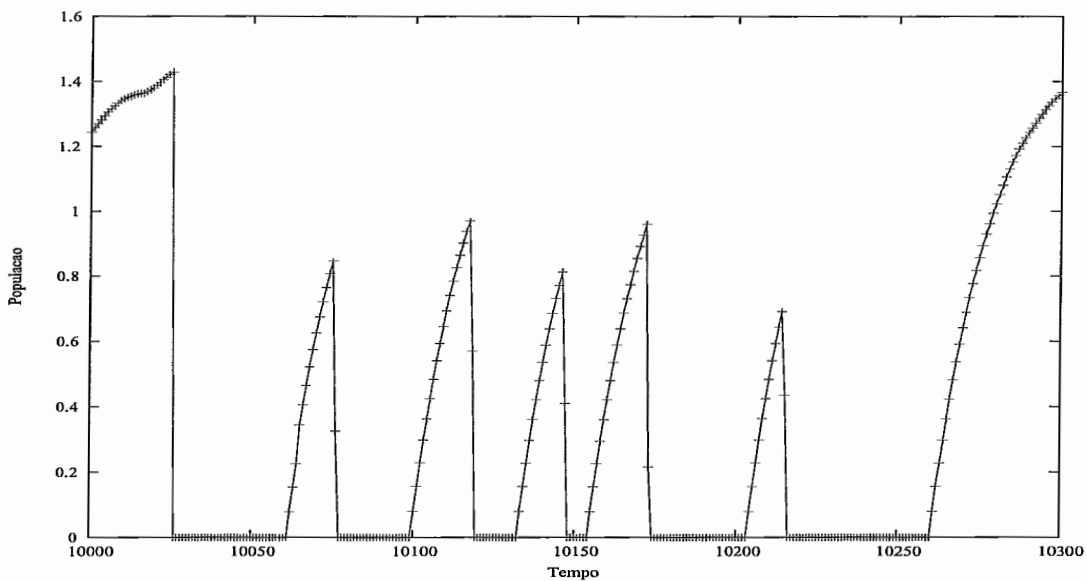


(b) Ampliação perto do passo 10 000.

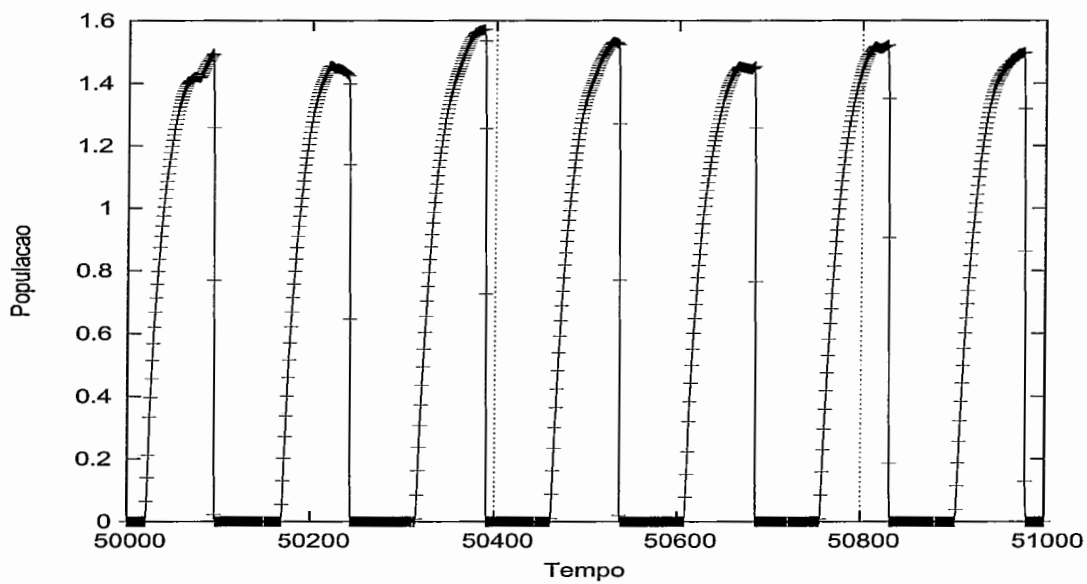
Figura 4.11: Evolução da população do nó 0.

Caso de um nó de cadeia

Qual será o comportamento esperado da população de um nó enquanto ele não fica preso a um ciclo? Escolhemos (entre muitas opções) o nó 7 para observar as variações nos valores (Figura 4.12 na próxima página). Próximo ao passo 10 000, quando a rede já está madura, os valores da população aparecem sem um padrão oscilatório definido. No entanto, já no passo 50 000, o nó ficou integrado a um ciclo e a população passou a ter um comportamento periódico, tendo as oscilações com uma amplitude quase constante.



(a) Ampliação perto do passo 10 000.

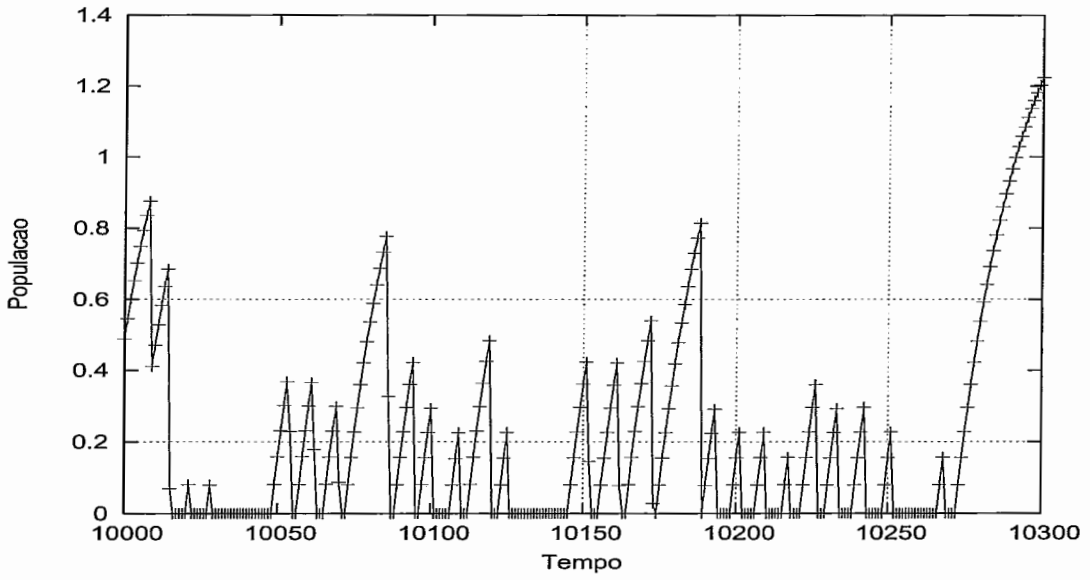


(b) Ampliação perto do passo 50 000.

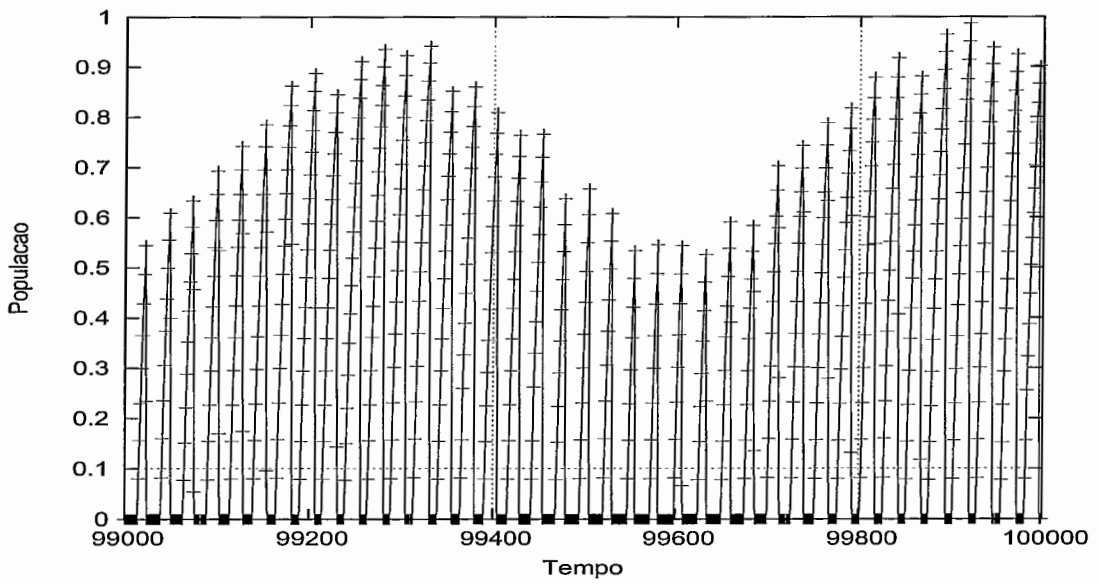
Figura 4.12: Evolução da população do nó 7.

Caso de um nó com baixa especificidade

Consideremos o caso do nó 83 de cujo grau já vimos uma evolução atípica (Figura 4.13). A população desse *cluster* tem variações parecidas com as do nó 7, estudadas no parágrafo anterior. A diferença principal está no fato de que mesmo que no final do experimento este nó esteja integrado num ciclo, sua população tem um comportamento oscilatório que parece estar "modulado". As amplitudes têm por sua vez valores que mudam seguindo um padrão quase periódico. De modo geral, concluímos que as populações dos *clusters* no sistema isolado evoluem até atingir alguma classe de comportamento quase-periódico, e que este comportamento coincide com o fato de os nós ficarem integrados a algum ciclo. Resta estudar quais são os fatores que condicionam diretamente as frequências das oscilações (por exemplo, um fator possível é o tamanho do ciclo).



(a) Ampliação perto do passo 10 000.



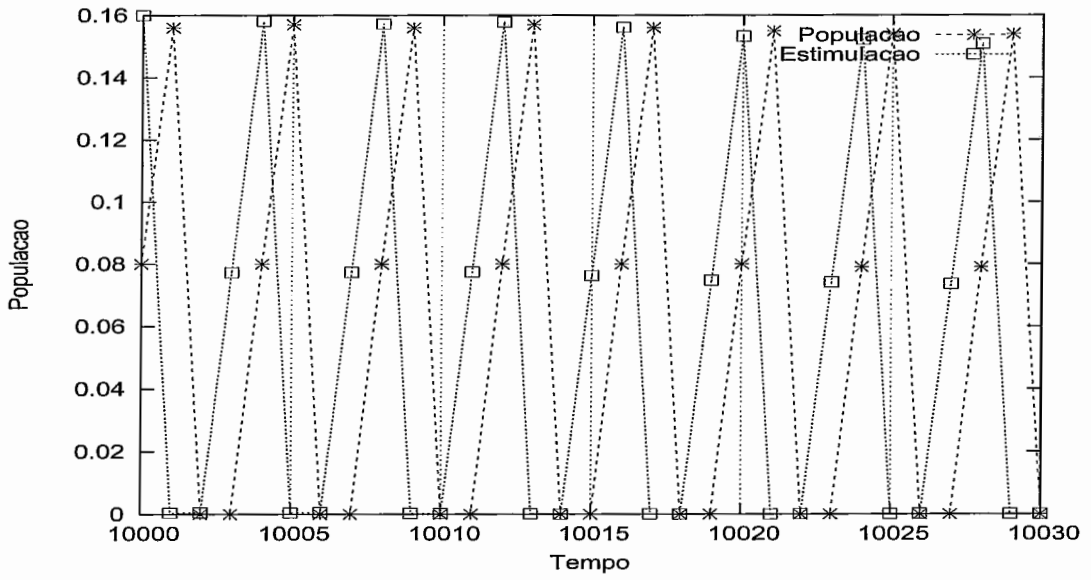
(b) Ampliação perto do passo 90 000.

Figura 4.13: Evolução da população do nó 83.

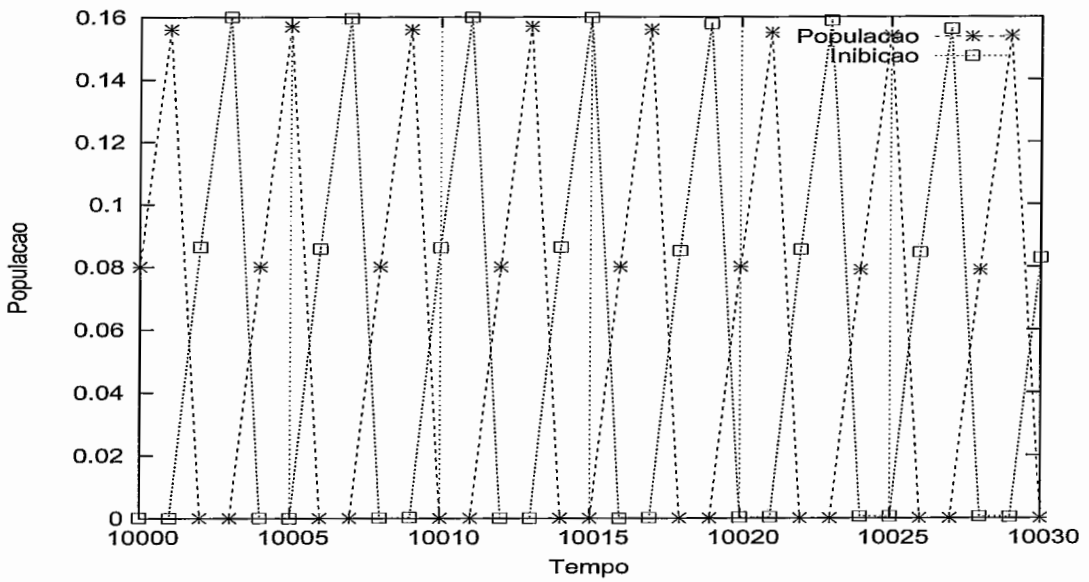
4.4.2 Evolução dos campos estimulatório e inibitório

Vimos no Capítulo 3 onde apresentamos o modelo de FLORES-BARBOSA que os campos estimulatório e inibitório concentram os efeitos que o sistema inteiro tem sobre uma vizinhança de clones. Na Figura 4.14 na página seguinte aparecem as variações desses campos junto com a evolução da população do nó 0, em circunstâncias nas quais a rede se supõe madura. Fica claro na sub-figura (a) que acréscimos na intensidade da estimulação correspondem a aumentos nos valores da população; o campo inibitório, no entanto, se contrapõe ao primeiro e faz com que a população regrida até atingir valores mínimos, segundo pode-se observar na sub-figura (b)⁵. Estes efeitos combinados estão na base da explicação de por quê no FBM não acontece que um clone veja a sua população sair fora de controle e saturar o sistema. Assim como Flores tinha assinalado, a homeostase do sistema é caracterizada por oscilações quase-periódicas mas de amplitude variável. Mesmo que a população do *cluster* atinja valores nulos, a ação conjunta da medula e dos restantes nós fazem com que ele volte a repopular-se. Destarte, a garantia de que o sistema não perca a sua capacidade para reconhecer um tipo de antígenos poderia estar distribuída no sistema, que assim acrescenta à sua robustez ao não ficar dependente da sobrevivência de linfócitos para manter a lembrança do encontro com um antígeno determinado. Este mecanismo sistêmico de implementar a memória imunológica não exclui a existência de linfócitos de memória, demonstrada por Rajewsky [13], mas ele se apresenta como uma alternativa nova para explicar como é controlada a resposta imunológica perante os auto-antígenos.

⁵Na sub-figura está representado o negativo do valor do campo de inibição afim de facilitar a percepção dos seus efeitos.



(a) Influência do campo estimulatório.



(b) Influência do campo inibitório.

Figura 4.14: Influências dos campos sobre a população do nó 0.

Capítulo 5

Comportamento do Sistema perante Perturbações

Abordaremos a seguir o estudo do sistema descrito pelo modelo quando o confrontamos com "perturbações". Em especial serão do nosso interesse a resposta perante o "ataque" de antígenos e o envelhecimento.

5.1 A presença de antígenos

FLORES [1] mostrou como a rede responde à presença de antígenos num nó. As respostas ficam mais eficazes a cada novo encontro com o mesmo antígeno. Concluiu-se que o sistema é capaz de aprender, o que implica em algum tipo de memória. Porém, segundo a nossa classificação, a rede ainda era jovem no estudo realizado em [1]. Todos os experimentos feitos por FLORES consistiram na injeção de antígenos antes do passo 100. Ainda que a rede considerada por FLORES só contivesse 5 nós, o tempo de amadurecimento é maior que a duração dos experimentos então realizados. Três questões serão tratadas a seguir: como afeta a evolução do grafo o fato de a rede ter sido exposta a antígenos na juventude, e será a rede sempre capaz de aprender? Sob quais condições?

5.1.1 Resposta da rede jovem

Consideremos o experimento seguinte¹: confrontemos a rede com uma injeção de antígenos num nó qualquer quando ela ainda é jovem (por exemplo no passo 20) e comparemos a estrutura do grafo quando ela atinge a maturidade com a estrutura do sistema isolado. Na Figura 5.1 conferimos os resultados achados em [1] ao injetar 3 vezes a mesma quantidade de antígeno no nó 0: a rede remove os antígenos de maneira cada vez mais eficaz. No entanto, quando o sistema chega à maturidade, ele apresenta um grafo subjacente (Figura 5.2 na próxima página) diferente daquele achado no sistema isolado (Figura 4.2 na página 56). Chama o atenção a marcante ausência de arestas secundárias que sugere uma mudança no ritmo de amadurecimento do sistema. Ou seja, o encontro com antígenos muda a evolução da especificidade de muitas arestas e portanto não tem seus efeitos limitados à relação do *cluster* 0 com aquele *cluster* que lhe é afim. Dito de outro modo, na rede jovem o fato de as especificidades ainda estarem evoluindo leva a que perturbações locais afetem ao sistema inteiro.

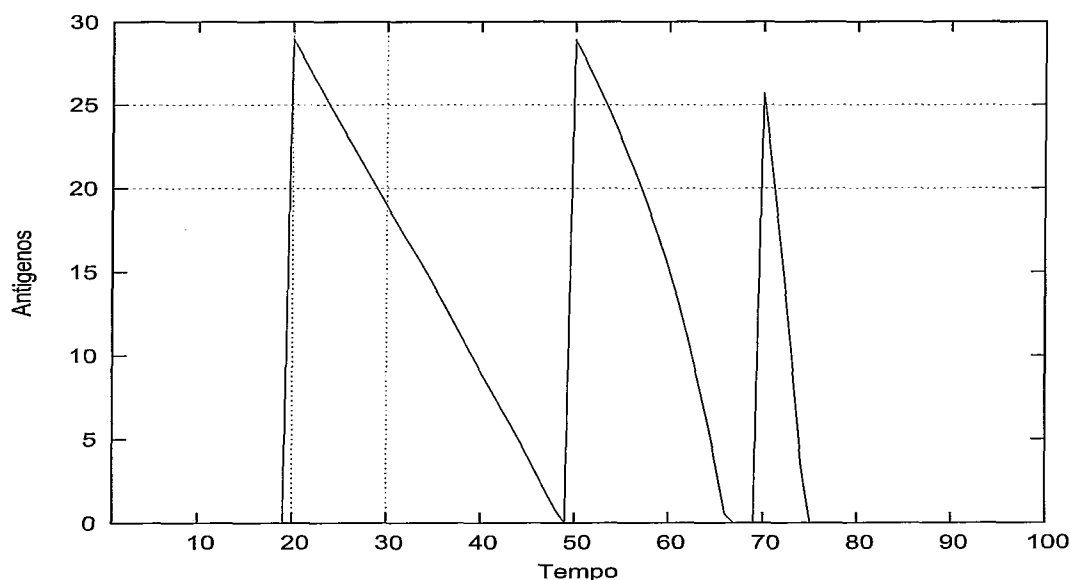


Figura 5.1: Resposta da rede jovem perante injeções de antígenos no nó 0.

¹Todas as injeções de antígenos nos experimentos a seguir têm a mesma intensidade relativa de 30.

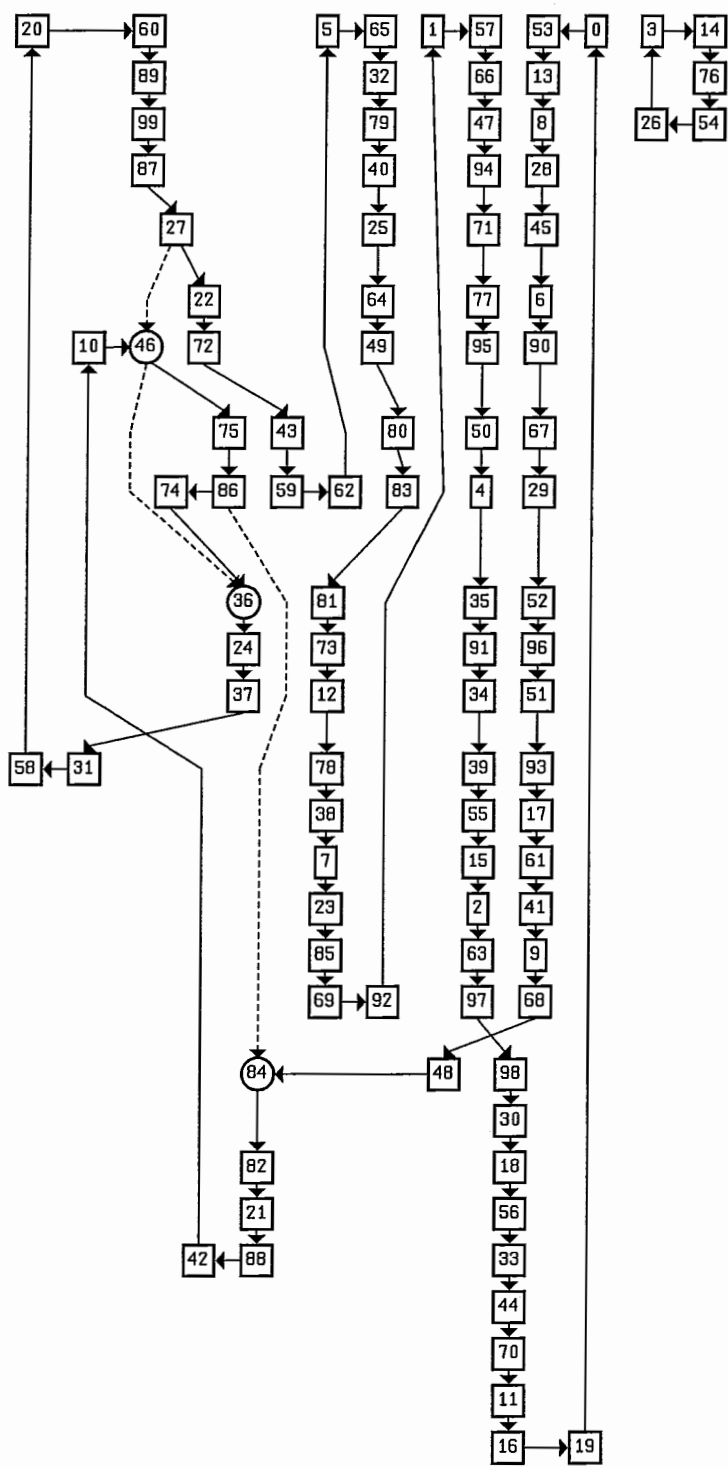


Figura 5.2: Grafo no passo 10 000 após a injeção de antígenos.

5.1.2 Resposta da rede madura

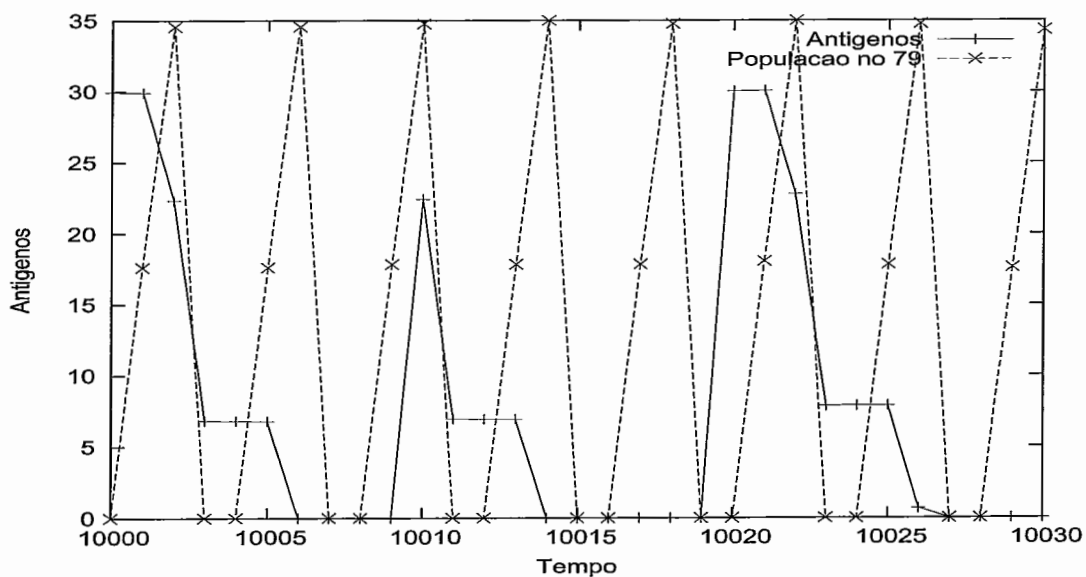
Quando a rede atinge uma relativa maturidade, a maioria das especificidades têm valores que fixam a estrutura do grafo, e portanto impõem restrições à dinâmica do sistema. Cabe então se perguntar se ainda é possível que aconteçam mudanças que permitam ao sistema aprender para ficar mais eficaz na remoção de antígenos. É razoável suspeitar que o comportamento da rede será diferente se a injeção de antígenos acontecer num nó que pertence a um ciclo, do caso em que a infecção se produz num nó de especificidade baixa. Os experimentos a seguir confrontam a rede com antígenos a partir do passo 10 000.

Caso de um nó dentro de um ciclo

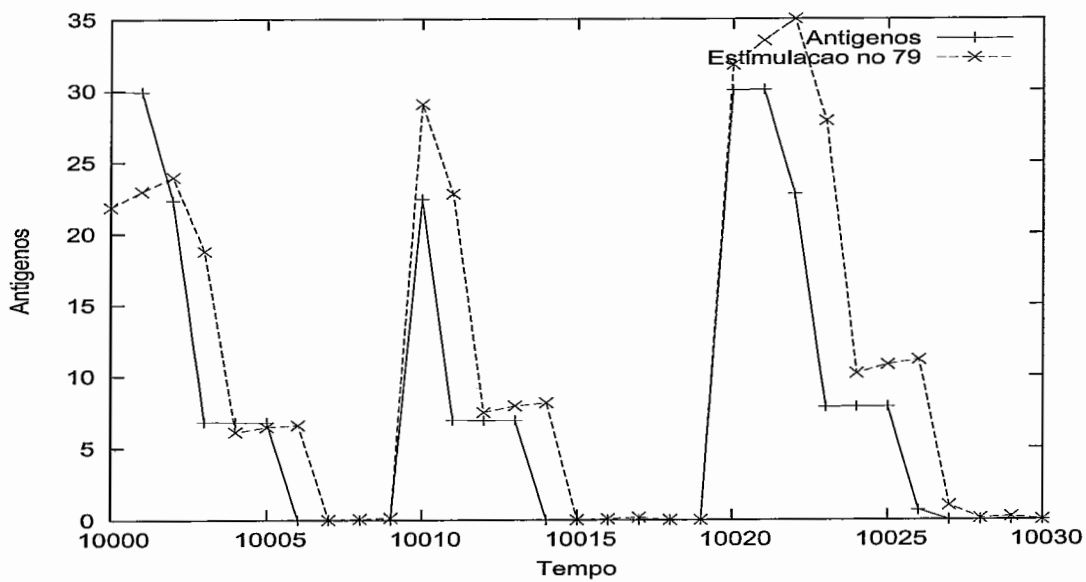
Vamos escolher mais uma vez o nó 0 que pertence desde cedo a um ciclo. Novamente são feitas consecutivamente 3 injeções de antígenos. Segundo o desenho do grafo no passo 10 000 (Figura 4.2 na página 56(a)), o *cluster* 79 fica estimulado pelo que acontece no nó 0. Por isso é interessante observar como a presença de antígenos afeta a população e o campo estimulatório do nó 79. Na Figura 5.3(a) aparece o gráfico com a evolução da população de antígenos junto com a evolução da população² do *cluster* 79; esta não é afetada pela presença do antígeno mas ela é quem determina o ritmo de remoção dos antígenos. Ou seja, o ciclo está determinando a forma como a populações dos seus nós evolui, e por sua vez, o ritmo como os antígenos são eliminados. Mesmo que a intensidade da infecção aumentasse, o tipo de resposta permaneceria igual. Neste estágio a rede não consegue mudar a sua resposta para ficar mais eficaz pois as especificidades entre os *clusters* do ciclo chegaram a um equilíbrio robusto que consegue se sobrepor às perturbações. No entanto, na sub-figura (b), vemos como é afetado o valor do campo estimulatório do nó 79. Intensidades muito grandes de infecção produzem pequenas perturbações nas populações, e essas perturbações são rapidamente amortecidas.

Por outro lado, a estrutura do grafo quase não é afetada pela infecção. Só é possível observar mudanças nas arestas secundárias, mas que não influem sobre a composição dos ciclos.

²Nas sub-figuras *a* e *b*, são usadas escalas diferentes para representar o gráfico da população e do campo estimulatório, com a finalidade de obter uma clareza maior. O mesmo critério será empregado em outras figuras a seguir.



(a) Antígenos e população do nó 19.



(b) Antígenos e estimulação do nó 19.

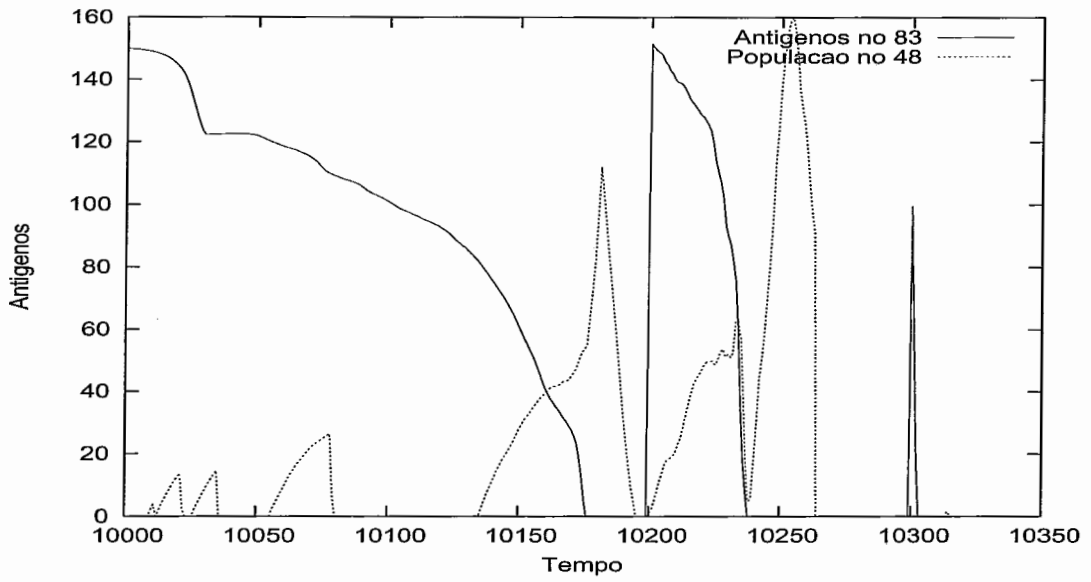
Figura 5.3: Resposta do sistema maduro à injeção de antígenos.

Caso de um nó com baixa especificidade

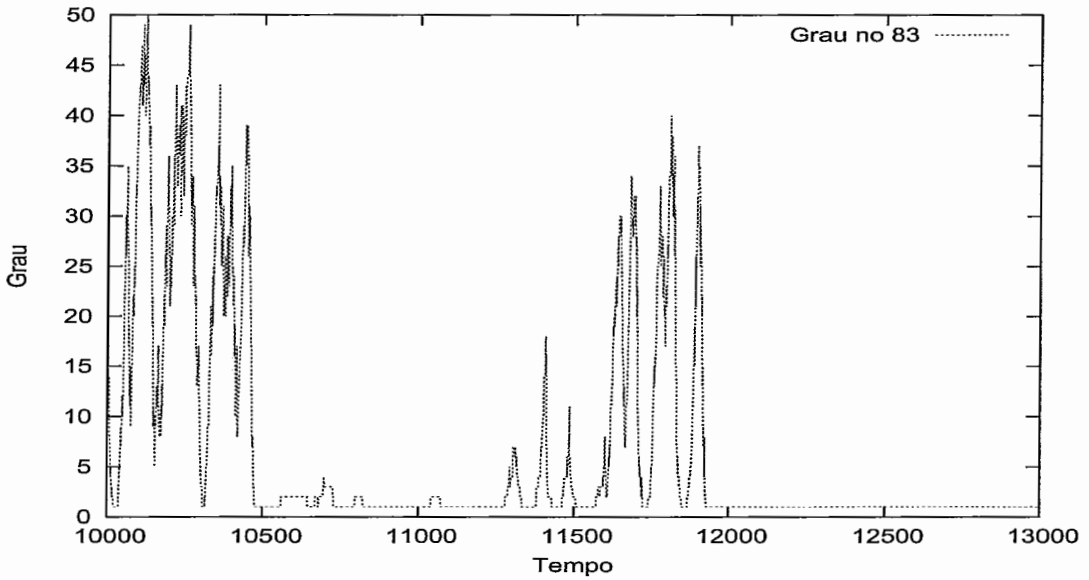
Os nós com baixa especificidade são estimulados por vários idiótipos ao mesmo tempo. Eles ainda não desenvolveram uma preferência e isso pode ser devido ao fato de que sua população tem uma distribuição esparsa entre os diferentes clones. Quando um antígeno é inserido, muda a diversidade de epítomos / idiótopos que é enxergada pelos restantes nós da rede e por conseguinte haverá uma reação daqueles *clusters* que ficarem clonalmente selecionados para proliferar. Escolhemos o NBE 83 e conferimos no desenho do grafo na página 56 que o *cluster* afim é o 48. Para acelerar as mudanças, aumentamos a intensidade da infecção, passando de um valor relativo de 30 para 150. Na Figura 5.5(a) estão representadas as variações das populações de antígenos no NBE 83 e no nó afim 48. Nenhum dos dois nós pertencem a um ciclo antes do experimento, o que faz com que seja possível que aconteçam mudanças na evolução da população do 48. A rede, mesmo num estágio de maturidade, consegue aprender a reagir aos antígenos injetados com eficácia crescente. Tanto a população do nó 48 quanto sua especificidade pelo nó 83 mudam, interagindo uma variável com a outra a fim de se adaptarem à perturbação. Destarte, quando a terceira infecção acontece, ela é muito rapidamente rejeitada sem necessidade de variações na quantidade de linfócitos do nó 48. Isso é possível porque o aumento da especificidade se traduz numa eficácia maior na remoção de antígenos.

Porém as mudanças não só acontecem no nó 48; o NBE tem a sua distribuição de população mudada e por conseguinte, muda também sua especificidade. Assim, na Figura 5.4(b) está representada a evolução do grau do 83. É possível observar que cada injeção de antígenos provoca uma mudança na distribuição de valores atingidos, para que finalmente o grau fique quase num valor constante. Portanto vemos que o mecanismo que a rede tem para aprender com os encontros com antígenos implica em mudanças não só no nó responsável pela remoção, mas também afeta o comportamento do nó no qual as injeções foram feitas. Como o NBE mantinha relações significativas com vários outros nós da rede, são esperadas também mudanças na estrutura do grafo. Para conferir como a perturbação local afeta a todo o grafo é do nosso interesse comparar os grafos que aparecem nas Figuras 5.6 na página 84 e 5.5 na página 81. Nos dois só estão desenhadas as arestas principais, e chama a atenção a reestruturação dos ciclos. O fato de que perturbações locais afetam ao sistema inteiro é uma das características dos sistemas criticamente auto-organizados. Na Seção 4.3.2 na página 61 já comentamos essa pos-

sibilidade ao considerar a distribuição de probabilidade associada ao grau de um NBE. Porém esses indícios só poderão ser confirmados num estudo estatístico aprofundado que está fora do escopo do presente trabalho.



(a) Remoção de antígenos e população do nó afi m.



(b) Evolução do grau do nó 83.

Figura 5.4: Resposta do sistema perante antígenos num nó de baixa especificidade.

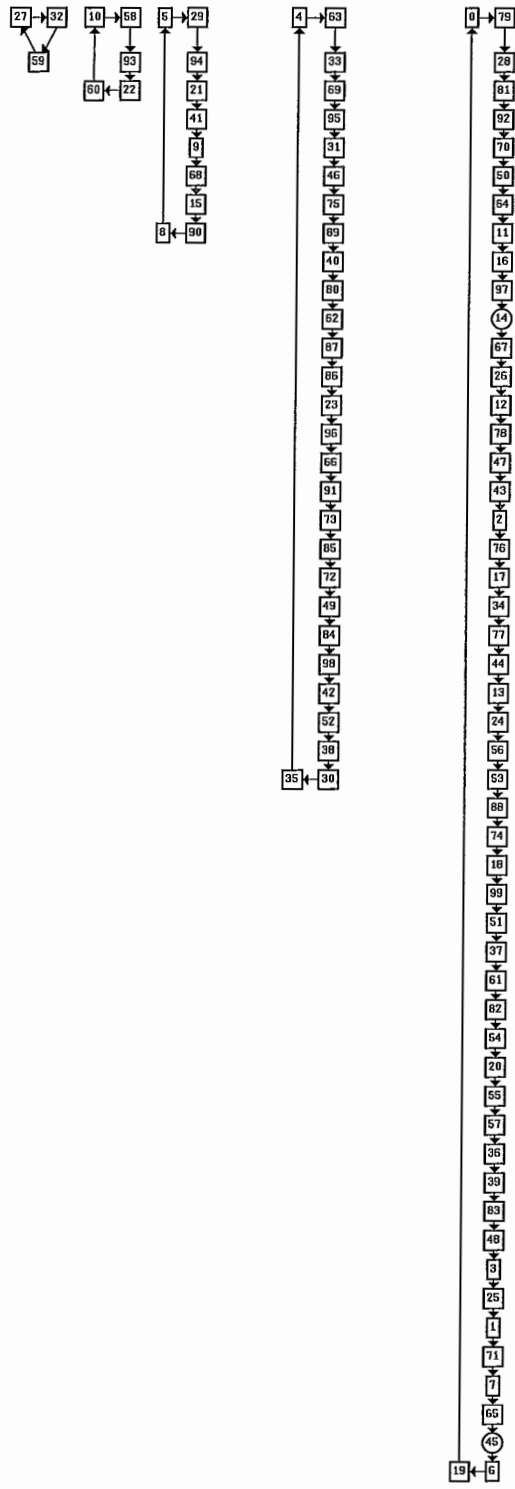


Figura 5.5: Grafo no passo 25 000 após a injeção de antígenos.

5.2 O efeito do envelhecimento

O envelhecimento de um organismo tem sido correlacionado com muitos fenômenos que vão desde erros acumulados nas divisões celulares, até a ativação de genes que seriam prejudiciais (doenças hereditárias) mas que só são expressos em idades avançadas. Qualquer que seja a causa invocada como responsável pela deterioração, é comum na literatura relacionada com a modelagem de processos biológicos considerar que ela é representada por alguma classe de ruído. Destarte, o efeito difuso da degeneração do organismo é atribuído a algum mecanismo que opera ao acaso. No presente trabalho seguiremos esta metodologia para explorar quais são as conseqüências que tem sobre a evolução da rede o fato do ruído ter sido acrescentado. Na Seção 3.2.2 na página 50 foi apresentada a forma como o ruído terá seu valor afetado. Foram feitos vários experimentos com diferentes valores de ν (ruído na especificidade) e do momento no qual o envelhecimento começa. A seguir apresentamos um exemplo representativo de tais experimentos, para o qual o valor de ν implica num acréscimo de 0.05 por cento na potência de ruído, e cujo efeito só começará a atuar a partir do passo 15 000. Na escolha do início do envelhecimento foi determinante o fato de estar diante de uma rede madura, da qual conhecemos a evolução pelo estudo apresentado no capítulo anterior.

No Capítulo 3, quando apresentamos os parâmetros do modelo, vimos que o efeito do ruído se contrapunha com o do parâmetro δ (taxa de variação na especificidade). Já que sabemos que a rede evolui para uma especificidade cada vez maior, um aumento do ruído implicará na perda de especificidade. Num organismo vivo é esperado achar um equilíbrio dinâmico entre essas duas forças, pois ambas devem estar presentes para que o sistema possa aprender a reagir mais eficazmente a invasões de antígenos.

5.2.1 O efeito sobre a estrutura do grafo

Começamos por fazer uma comparação qualitativa entre o sistema do Capítulo 4 e o experimento com ruído aumentado. Na Figura 5.6 na página 84 é apresentado o grafo do sistema sem envelhecimento; para simplificar a interpretação, só as arestas principais foram desenhadas. Podem-se distinguir vários ciclos formados por *clusters* específicos, assim como a presença de 3 NBE. Logo após 10 000 passos sob o efeito do envelhecimento, a estrutura do grafo é a apresentada na Figura 5.7 na página 85. Todos os nós

são NBE e os ciclos colapsaram. Novamente, só as arestas principais estão representadas. Este resultado confirma a nossa conjectura sobre as conseqüências do ruído aumentado: há uma perda da especificidade que se reflete num grafo quase sem ciclos.

Cabe se perguntar se o aumento da presença de NBE acontece de modo gradual ou se a transição é abrupta. Para responder a esse ponto escolhemos o nó 0 para desenhar o gráfico da evolução do grau. Na Figura 5.8 é claro que aquele nó, integrante de um ciclo desde cedo no sistema sem envelhecimento, tem uma mudança brusca na sua especificidade, ou seja, o *cluster* começa a reconhecer vários tipos de idiótipos em poucos passos. Como a especificidade do nó está ligada com a distribuição de população entre os clones no seu interior, é previsível um aumento significativo na população do *cluster*. Na seção seguinte veremos os efeitos do envelhecimento sobre a população dos nós e confirmaremos essa conjectura.

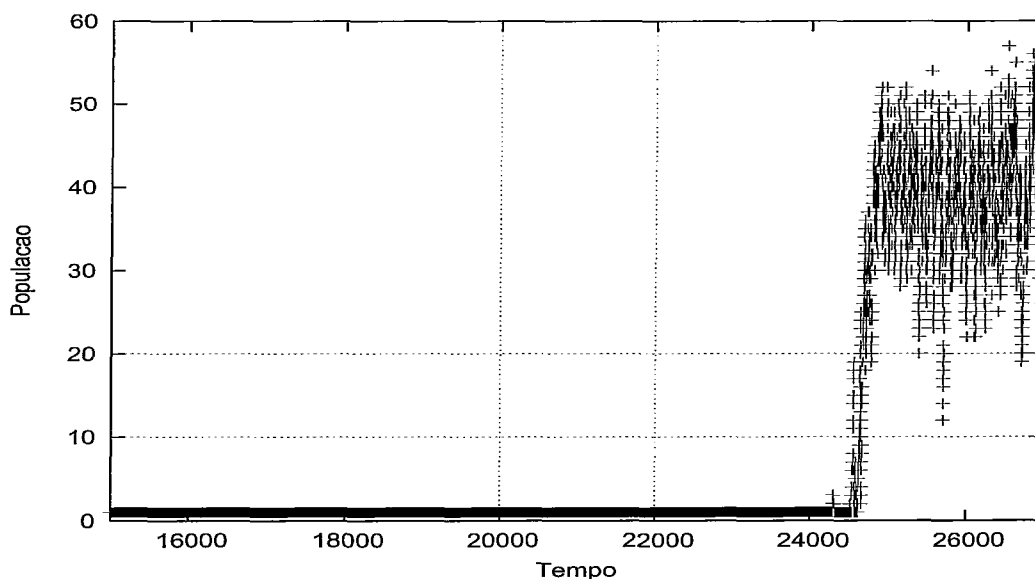


Figura 5.8: Efeito do envelhecimento sobre o grau do nó 0.

5.2.2 O efeito sobre a população

A diminuição da especificidade dos nós está relacionada diretamente com as mudanças na distribuição da população de linfócitos entre os clones incluídos no *cluster*. É interessante observar como mudanças na afinidade entre *clusters* afetam suas populações.

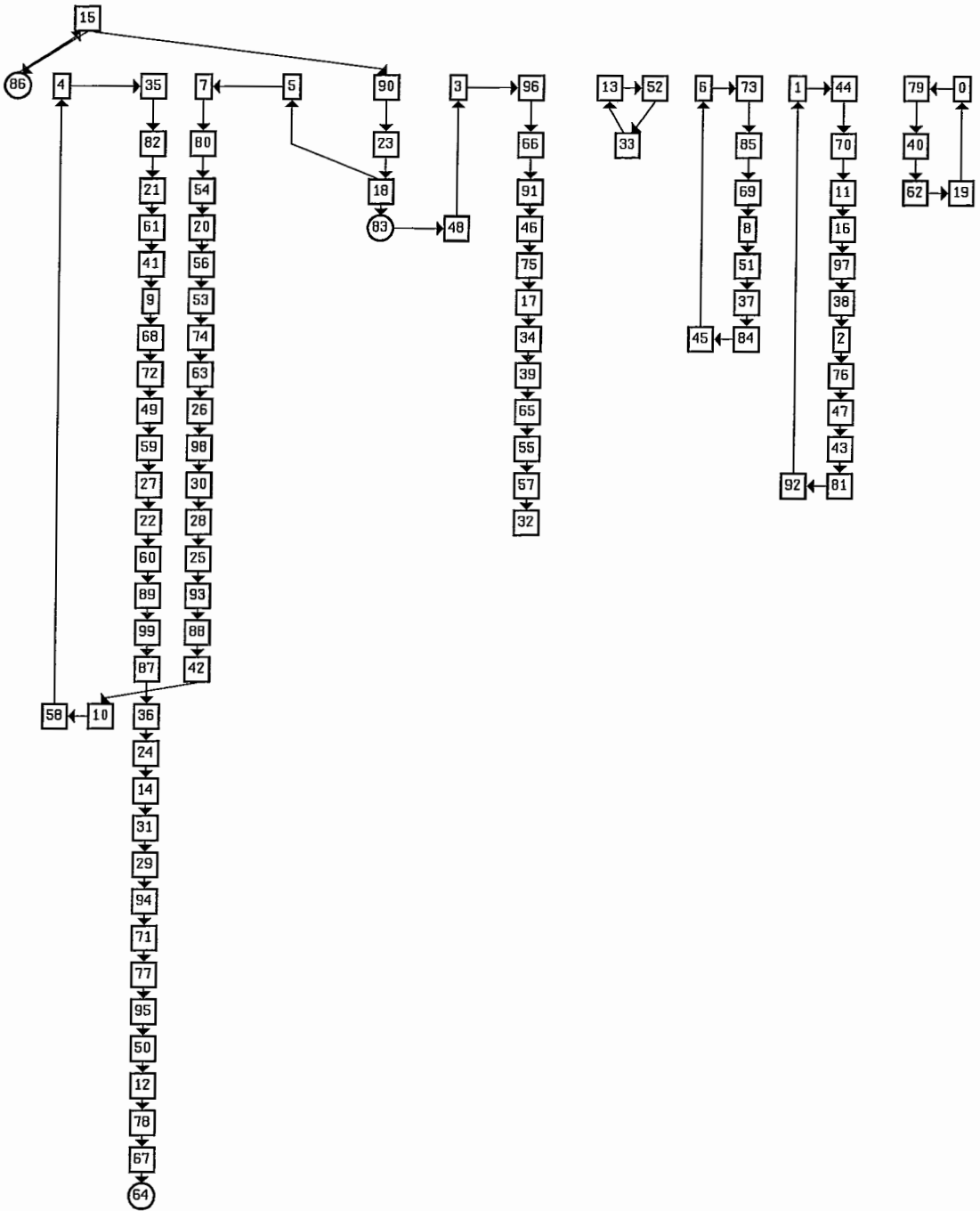


Figura 5.6: Estrutura do grafo no passo 25 000 sem envelhecimento.

Na Figura 5.9 é apresentada a evolução da quantidade de linfócitos no nó 0, desde que o envelhecimento começa, até o passo 25 500. O padrão periódico de variações é progressivamente afetado até entrar numa fase de caos, após a qual acontece uma explosão populacional que culmina na saturação do sistema. Todos os nós apresentam o mesmo tipo de comportamento, porém o aumento na população acontece antes nos NBE do que em aqueles *clusters* que formam parte de um ciclo. O efeito desorganizador de um ruído muito grande leva então ao descontrole da população de linfócitos. Num organismo vivo isso não chegaria a acontecer pois antes da explosão já outros fatores limitantes (como por exemplo, a capacidade da medula para produzir novos clones, junto com a ação dos linfonodos e do baço) estariam impedindo que a quantidade de linfócitos saísse de controle.

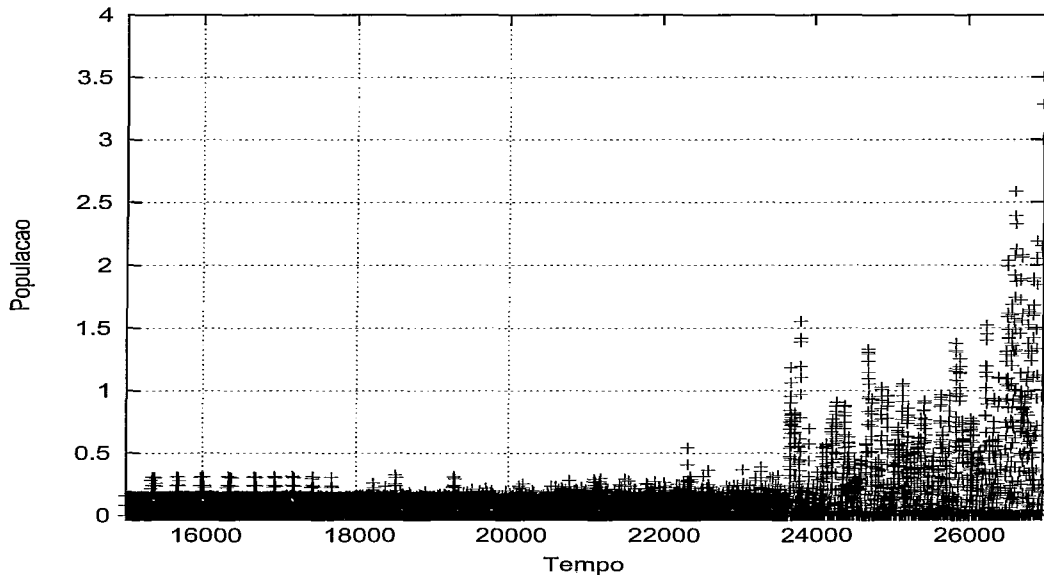


Figura 5.9: Efeito do envelhecimento sobre a população do nó 0.

Capítulo 6

Conclusões

No presente trabalho foram estudadas as características emergentes do sistema dinâmico descrito pelo modelo de FLORES-BARBOSA. Para isso foi considerada a evolução de uma rede de 100 nós durante um período de tempo prolongado. O sistema assim formado é constituído por elementos (os *clusters* de clones) com fortes interações entre si. Isso, somado ao fato que a evolução tem uma grande dependência das condições iniciais escolhidas faz da rede considerada um sistema complexo. Nele foi possível observar a aparição de estruturas no grafo subjacente à rede que põem em evidência uma tendência espontânea à auto-organização do sistema. Ao longo do estudo tentou-se compreender a ontogênese dessa organização, e com esse objetivo foram examinadas variáveis tais como as populações e os graus dos nós. Foi explorada a possibilidade de que a distribuição de probabilidade do grau dos nós com baixa especificidade seja válida também para o caso de redes com 20 e com 200 nós. O comportamento autônomo da rede (sistema isolado) foi comparado com o comportamento que resulta de confrontar o sistema com perturbações, sejam estas injeções de antígenos ou o envelhecimento. Em diversos experimentos foram avaliadas as funções imunológicas nos diferentes estágios de amadurecimento da rede. Como resultado dessas simulações e das constantes comparações entre o sistema isolado e o sistema perturbado chegamos às seguintes conclusões:

- As populações dos *clusters* e as afinidades entre eles recebem valores aleatórios no início de cada experimento. Isto implica num grafo cuja estrutura inicial tem por característica uma alta conectividade entre todos os nós da rede. Porém, são sufici-

entes poucos passos de simulação para que o grafo se simplifique enormemente, e a grande maioria de seus nós fiquem conectados com outro por uma aresta só. Essa mudança na topologia é consequência da evolução da especificidade e da seleção clonal, que por sua vez repercute no valor das populações dos *clusters*. Ou seja, as hipóteses sobre o comportamento dos linfócitos (enunciadas ao explicar o modelo) levam "naturalmente" a uma configuração onde os *clusters* viram específicos no que diz respeito à fonte de estímulo. Este fato deixa aberta a seguinte pergunta: será que o mecanismo de rearranjo do DNA que leva à criação dos genes que codificam os parátomos de uma célula B, foi evolutivamente condicionado por esta dinâmica que prefere *clusters* específicos? Dito de outro modo: a genética faz os linfócitos específicos ou eles são específicos porque a existência de uma rede idiotípica reprime a existência de células com afinidades múltiplas?

- A quantidade de linfócitos em cada *cluster* é nula (ou quase) por momentos, no entanto posteriormente novas células vêm a repovoar esses nós. Ou seja, o fato de um *cluster* ficar sem células não implica na desaparecimento definitiva desses parátomos do repertório. Isto garante que se um clone foi selecionado por ser relevante na dinâmica da rede então, mesmo quando todas suas células morrem, a rede estimulará sua proliferação desde que a medula reincorpore um representante da estirpe. Como já foi provada a existência de linfócitos de memória, será que este fenômeno está pondo em evidência um mecanismo redundante para manter a lembrança de um encontro com um antígeno? Mas, qual seria a função biológica deste mecanismo num organismo imunologicamente *naïf*? Será que o seu objetivo primário é limitar a presença de auto-anticorpos, cuja existência também foi provada?
- Muito ligada com o ponto anterior está a peculiaridade das populações de alguns *clusters* apresentarem oscilações quase periódicas. O conceito de homeostase supõe também oscilações que se mantêm limitadas em amplitude. Portanto parece razoável relacionar as oscilações observadas com uma homeostase nas populações dos linfócitos auto-reativos. No entanto, não foram achados na literatura estudos dos níveis de produção de auto-anticorpos em organismos *naïfs*, que permitam concluir se estas variações periódicas se correspondem ou não com a realidade biológica.
- O terceiro elo nesta cadeia de fenômenos é a aparição de ciclos na estrutura do

grafo. A sua formação ocorre desde cedo na evolução da rede, e eles caracterizam subconjuntos de *clusters* que mantêm relações estáveis perante as perturbações. Vimos que a dinâmica imposta pela estrutura às variações nas populações determina a eficácia na remoção dos antígenos que forem injetados num dos nós do ciclo. Independentemente da modulação que o resto do organismo possa impor ao ritmo das oscilações, será que este fenômeno está relacionado com algumas doenças infecciosas recorrentes, de remissão espontânea, como é o caso de alguns tipos de herpes? Fica para trabalhos futuros pesquisar quais parâmetros são relevantes para o valor do período.

- A estrutura e o comportamento da rede apresentam duas etapas bem diferenciadas. O estágio da juventude tem como característica a plasticidade para se adaptar às perturbações. Assim, a rede consegue aprender a remover cada vez mais eficazmente os antígenos injetados. A história de encontros com infecções determina a configuração que o grafo terá ao atingir a maturidade. Neste estágio o grafo apresenta uma grande densidade de conexões, do que decorre que as especificidades entre *clusters* ainda são fracas. Estão presentes muitos nós de baixa especificidade, os quais possuem muitas arestas secundárias. Por outro lado, observa-se um estágio de maturidade. Nele é menos freqüente achar nós de baixa especificidade e a maioria dos ciclos já estão consolidados. A resposta perante antígenos, no caso dos nós pertencentes a ciclos, está pré-estabelecida. Só há aprendizado se a infecção acontece num nó de baixa especificidade, após a qual o nó se torna específico. O efeito do envelhecimento, modelado como um ruído de potência aumentada, é reduzir indiscriminadamente as especificidades, o que acaba por produzir uma explosão nas populações de linfócitos. Fica então por saber se essas etapas de juventude e de maturidade, decorrentes das hipóteses do modelo, se correspondem com etapas análogas num organismo verdadeiro. Ou seja, será possível relacionar a ontogênese decorrente da dinâmica da Rede Idiotípica e da Seleção Clonal, com a ontogênese do sistema imune de um ser vivo? Neste último caso também é reconhecido um processo de maturação do sistema imune, mas não há evidências de que ele tenha sido ligado à dinâmica das relações entre linfócitos.
- Os nós de baixa especificidade na maturidade parecem ter uma lei de potências as-

sociada à distribuição de probabilidade dos seus graus; de modo similar acontece com as duas redes estudadas de 20 e de 200 nós. O gráfico em escalas logarítmicas dessas distribuições sugerem que os sistemas que seguem o modelo FLORES-BARBOSA correspondem a sistemas criticamente auto-organizados. Se for o caso (a prova fica para trabalhos futuros) existiria uma independência da escala nos fenômenos observados, o que implica em que as mesmas estruturas seriam observáveis num organismo com um repertório de 10^{12} anticorpos diferentes (o caso dos humanos).

- As infecções num nó de baixa especificidade na maturidade levam a grandes mudanças na estrutura do grafo, e por conseguinte nas relações entre *clusters*. Uma perturbação local traz como conseqüência mudanças quase no sistema todo. Este tipo de comportamento é também uma característica de um sistema criticamente auto-organizado. Será um mecanismo de avalanche o que está por trás de algumas doenças do sistema imune como a síndrome de HELLP¹?

Os modelos baseados na Rede Funcional de JERNE têm pela frente o desafio de explicar aqueles fenômenos de que uma visão reducionista não consegue dar conta. Temas tais como doenças auto-imunes são territórios que eles têm para explorar. No entanto é possível que a eficácia das futuras abordagens dependam de incluir no seu enfoque sistêmico a possibilidade que o sistema imune tenha uma outra função ainda mais geral: a coordenação da morfogênese. Dessa função decorrem naturalmente como casos particulares os problemas da gênese de tumores e das doenças auto-imunes.

¹Nesta síndrome, que pode acontecer durante ou logo após do parto, o sistema imune reage esmagando a população de plaquetas, com a conseguinte aparição de hemorragias. H (hemolysis, which is the breaking down of red blood cells), EL (elevated liver enzymes), LP (low platelet count). Deve ser levando em conta o fato que durante a gravidez o sistema imune da mulher tem o seu comportamento alterado.

Referências Bibliográficas

- [1] FLORES, L. *Um modelo baseado em grafos para a evolução da especificidade em sistemas imunológicos*. M.Sc. COPPE / UFRJ. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- [2] ABBAS A. K., LICHMAN A. H., POBER J. S., *Imunologia celular e Molecular*. 2 ed. Rio de Janeiro, Revinter, 1998.
- [3] GOLUB E. S., "Is the function of the immune system only to protect?". In: *Theoretical and Experimental Insights into Immunology, Series H: Cell Biology*, v 66, NATO ASI Series, pp. 15-26, 1992
- [4] STEWART J., " The immune system in an evolutionary perspective". In: *Theoretical and Experimental Insights into Immunology, Series H: Cell Biology*, v 66, NATO ASI Series, pp. 27-48, 1992
- [5] BALKWILL F., "Improving on the formula". *Nature*, 361.
- [6] BURNET, F. M., "A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection." *Australian Journal of Science*, v. 20, pp. 67-69, 1957.
- [7] FORSDYKE D. R. "The Origins of the Clonal Selection Theory of Immunity: A Case Study for Evaluation in Science", *FASEB. Journal*, v. 9, pp. 164-166, 1995.
- [8] SILVERSTEIN A. M., "The Clonal Selection Theory: what it really is and why modern challenges are misplaced.", *Nature Immunology*, v. 3, pp. 793 - 796, 2002.
- [9] COUTINHO A, "The Network Theory:21 Years Later.", *Scand. J Immunol.*, v. 42, pp. 3-8, 1995.

- [10] JERNE N. K. *Towards a network theory of the immune system*. Ann. Immunol (Inst Pasteur) 1974;125C:373-89.
- [11] DE BOER, R. J., "Symmetric idiotypic networks: connectance and switching, stability, and suppression", In: *Theoretical Immunology, Part Two*, v III, pp. 265-89, Redwood City, 1988.
- [12] DE BOER, R. J., SEGEL, L. A., PERELSON A. S., "Pattern formation in one- and two- dimensional shape-space models of the immune system", *Journal of Theoretical Biology*, v 155, pp. 295-333, 1992.
- [13] MARUYAMA, M., LAM K.P., RAJEWSKY K., "Memory B-cell persistence is independent of persisting immunizing antigen", *Nature*, v 407, pp. 636-642, 2000.
- [14] BERNARDES, A. T., ZORZENON DOS SANTOS, R. M., "Immune network at the edge of chaos", *J. Theoretical Biology*, v. 186, pp. 173-187, 1997.
- [15] PERELSON A. S., WEISBUCH G., "Immunology for physicist.", *Reviews of Modern Physics*, v. 69, n 4, pp. 1219-1267, 1997.
- [16] PERELSON A. S., OSTER G. F., "The Shape Space Model", *Journal of Theoretical Biology*, v. 81, pp 645-670, 1979.
- [17] RIDGE J. P., DI ROSA F., MATZINGER P., "A conditioned dendritic cell can be a temporal bridge between a CD4⁺ T-helper and a T-killer cell", *Nature*, v 393, pp. 474-478, 1998.
- [18] BENNETT S. R. M., CARBONE F. R., KARAMALIS F., FLAVELL R. A., MILLER J. F., HEATH W. R., "Help for cytotoxic-T-cell responses is mediated by CD40 signalling", *Nature*, v 393, pp. 478-480, 1998.
- [19] SCHOENBERGER S. P., TOES R. E. M., VAN DER VOORT E. I. H., OFFRINGA R., MELIEF C. J. M., "T-cell help for cytotoxic T lymphocytes is mediated by CD40-CD40L interactions", *Nature*, v 393, pp. 480-483, 1998.
- [20] JENSEN H. J., *Self-organized Criticality*, 1 ed. Cambridge, Cambridge University Press, 1998.

[21] BAK P., *How nature works*, 1 ed. New York, Springer-Verlag, 1999.