

WILLIAN CORDEIRO FARAGO

**SIMULAÇÃO BASEADA EM SISTEMAS MULTIAGENTES DA
INFECÇÃO DE MACRÓFAGOS PELO TRYPANOSOMA CRUZI NA
FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS: A INFLUÊNCIA DO
INÓCULO INICIAL E DO FATOR DE ESCAPE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência da Computação, para
obtenção do título de Magister
Scientiae.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2014

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da
Universidade Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

F219s
2014 Farago, Willian Cordeiro, 1989-
Simulação baseada em sistemas multiagentes da
infecção de macrófagos pelo *trypanosoma cruzi* na fase
aguda da doença de Chagas: influência do inóculo inicial e
do fator de escape / Willian Cordeiro Farago. - Viçosa, MG,
2014.

viii, 62f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Inclui apêndices.

Orientador : Alcione de Paiva Oliveira.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Viçosa.

Referências bibliográficas: f.49-54.

1. Bioinformática. 2. Sistema imunológico - Simulação
(Computadores). 3. Chagas, Doença de. 4. *Trypanosoma
cruzi*. 5. Imunologia. I. Universidade Federal de Viçosa.
Departamento de Informática. Programa de Pós-graduação
em Ciência da Computação. II. Título.

CDD 22. ed. 616.079

WILLIAN CORDEIRO FARAGO

**SIMULAÇÃO BASEADA EM SISTEMAS MULTIAGENTES DA
INFECÇÃO DE MACRÓFAGOS PELO TRYPANOSOMA CRUZI NA
FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS: A INFLUÊNCIA DO
INÓCULO INICIAL E DO FATOR DE ESCAPE**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Ciência da Computação, para
obtenção do título de Magister
Scientiae.

APROVADA: 13 de outubro de 2014.

Levi Henrique Santana de Lélis

Juliana Lopes Rangel Fietto

Alcione de Paiva Oliveira
(Orientadora)

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS	iv
LISTA DE FIGURAS	v
RESUMO.....	vii
ABSTRACT	viii
1. Introdução.....	1
1.1. Considerações Iniciais.....	1
1.2. Hipóteses	2
1.3. Objetivos.....	2
1.3.1. Objetivo Geral	2
1.3.2. Objetivos Específicos	2
2. Referencial teórico.....	3
2.1. Doença de Chagas	3
2.1.1. Ciclo de vida do T. cruzi.....	6
2.1.2. Fase aguda	8
2.1.3. Fase crônica	10
2.1.4. Quantificação do T. cruzi e do macrófago	12
2.2. Sistemas Multiagentes.....	15
2.2.1. Ambiente	16
2.2.2. Agentes	17
2.2.2.1. Agentes Cognitivos	18
2.2.2.2. Agentes Reativos	19
2.2.3. Agentes e ambiente do simulador.....	19
2.3. AutoSimmune.....	20
3. Metodologia.....	23
3.1. Modelo do Agente Macrófago.....	23

3.2. Modelo do Agente T. cruzi	25
3.3. Definição dos parâmetros	26
3.4. Análises estatísticas	28
4. Simulações e Resultados	29
4.1. Variando Inóculo e Fator de escape	29
4.2. Simulações para Análises Estatísticas	34
4.2.1 Análise do número máximo de T. cruzi	35
4.2.2 Análise do número de T. cruzi no fim	36
4.2.3 Análise do tick que o número de T. cruzi zerou	39
4.2.4 Análise do número máximo de macrófagos	40
4.2.5 Análise do número de macrófagos no fim.....	42
5. Discussão	44
6. Conclusões.....	47
7. Trabalhos futuros.....	47
8. Referências	49
APÊNDICE I	55
APÊNDICE II.....	56
APÊNDICE III	57
APÊNDICE IV	59
APÊNDICE V.....	60
ANEXO I.....	61

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Simulações com inóculo igual a 300.	29
Tabela 2. Simulações com inóculo igual a 3000.	30
Tabela 3. Dados estatísticos do número máximo de T. cruzi, para cada fator de escape.	35
Tabela 4. Dados estatísticos do número de T. cruzi no fim.	37
Tabela 5. Dados estatísticos do número máximo de macrófagos.	40
Tabela 6. Dados estatísticos do número de macrófagos no fim.	42

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Ciclos domésticos e silvestres da doença de Chagas descoberta por Carlos Chagas (1909-1912).....	7
Figura 2 - Taxonomia do <i>Trypanosoma cruzi</i>	7
Figura 3 - Distribuição de 510 casos de doença de Chagas crônica de diferentes estados do Brasil de acordo com as formas clínicas e grupos etários.	11
Figura 4 - Dinâmica da parasitemia e resposta imune humoral na doença de Chagas aguda e crônica.	12
Figura 5 - Modelo geral de um agente reativo com estado.	20
Figura 6 - Vizinhança de Moore de raio um. No centro está o agente, as oito células vizinhas são posições, possíveis, para as quais ele pode se mover.	21
Figura 7 - Máquina de estados do agente macrófago.	24
Figura 8 - Máquina de estados do agente <i>T.cruzi</i>	26
Figura 9 - Gráfico da relação entre o fator de escape e número máximo de <i>T. cruzi</i> /Número de <i>T. cruzi</i> no fim, para inóculo igual a 300.	32
Figura 10 - Gráfico da relação entre o fator de escape e número máximo de <i>T. cruzi</i> /Número de <i>T. cruzi</i> no fim, para inóculo igual a 3000.	33
Figura 11 - Gráfico da relação entre fator de escape e o número máximo de <i>T.cruzi</i> , para inóculo igual a 300.	34
Figura 12 - Gráfico da relação entre fator de escape e o número máximo de <i>T.cruzi</i> , para inóculo igual a 3000.	34
Figura 13 - Gráfico das medias, das 20 simulações, do número máximo de <i>T. cruzi</i> , para cada fator de escape.	36
Figura 14 - Gráfico das medias, das 20 simulações, do número de <i>T. cruzi</i> no fim, para cada fator de escape.	38
Figura 15 - Gráfico do número de eliminações totais de <i>T. cruzi</i> , dentre as 20 simulações, para cada fator de escape.....	39
Figura 16 - Gráfico das medias, das 20 simulações, do tick que o número de <i>T. cruzi</i> zerou, para cada fator de escape.....	40

Figura 17 - Gráfico das medias, das 20 simulações, do número máximo de macrófagos, para cada fator de escape.....	42
Figura 18 - Gráfico das medias, das 20 simulações, do número de macrófagos no fim, para cada fator de escape.	44
Figura 19 - Gráfico do número de agentes T. cruzi, ao longo dos 1825 ticks, para um inóculo de 300 e escape factor de 0,40%.	45

RESUMO

FARAGO, WILLIAN CORDEIRO, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, Outubro de 2014. **Simulação baseada em sistemas multiagentes da infecção de macrófagos pelo Trypanosoma cruzi na fase aguda da doença de chagas: a influência do inóculo inicial e do fator de escape.** Orientador: Alcione de Paiva Oliveira. Co-orientadores: Luiz Alberto Santana e Fabio Ribeiro Cerqueira.

Este trabalho apresenta uma simulação do sistema imunológico através da abordagem de sistemas multiagentes. Mais especificamente, propõe-se um estudo de simulação visando à fase aguda da doença de Chagas, relacionado à interação do macrófago com o agente etiológico Trypanosoma cruzi. A doença de Chagas apresenta ampla distribuição na América do Sul e Central. Alguns estudos epidemiológicos realizados estimam uma prevalência de 16 a 18 milhões de pessoas infectadas com a doença e 100 milhões em risco de serem infectados nessas áreas. Recentemente, devido à globalização, a doença que anteriormente era endêmica apenas em países da América Central e América do Sul, está apresentando casos em outras regiões como América do Norte e Europa. O Trypanosoma cruzi tem a capacidade de promover alterações nos tecidos do hospedeiro vertebrado com morbidade significativa, de acordo com o grau de infecção. Após a modelagem, utilizando máquinas de estados, e a implementação no simulador Autosimmune, foram realizadas simulações variando-se o inóculo, quantidade de parasitos, e o fator de escape, um dos elementos que determinam a virulência do patógeno. De acordo com a relação entre a unidade de tempo computacional e o tempo real, primordial na análise e interpretação dos resultados, foram simulados 546 anos de interações. A grande quantidade de dados gerados foi fundamental, tanto para se evidenciar estatisticamente a propriedade estocástica da ferramenta de simulação, quanto para fortalecer a importância e as vantagens quantitativas das técnicas de simulação computacional, frente aos métodos tradicionais de pesquisa in vitro e in vivo.

ABSTRACT

FARAGO, WILLIAN CORDEIRO, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, October, 2014. **Simulation based on multi-agent systems of macrophage infection by Trypanosoma cruzi in the acute phase of Chagas disease: the influence of the initial inoculum and the escape factor.** Advisor: Alcione de Paiva Oliveira. Co-advisors: Luiz Alberto Santana and Fabio Ribeiro Cerqueira.

This work presents a simulation of the immunological system by means of a multi-agent systems approach. More specifically, it is proposed a simulation study aiming at the acute phase of Chagas disease in relation to the interaction of macrophages and the etiological agent *Trypanosoma cruzi*. Chagas disease is widespread distribution in South and Central America. Some epidemiological studies estimate a prevalence in these areas of 16 million to 18 million people infected with this disease and 100 million at risk of being infected. Recently, due to globalization, this disease that previously was endemic only in countries of Central and South America is presenting cases in other regions such as North America and Europe. *Trypanosoma cruzi* is able to make changes in the vertebrate host tissues with significant morbidity according to the infection degree. After modeling using state machines and the implementation in AutoSimmune simulator, simulations were performed varying the inoculum, the amount of parasites, and the escape factor, one of the elements that determine the pathogen virulence. According to the relationship between the computational and the actual time, primary for analysis and interpretation of the results, 546 years of interactions were simulated. The large amount of generated data was essential both to statistically demonstrate the stochastic property of the simulation tool and to strengthen the importance and quantitative advantages of computer simulation techniques, when compared to traditional research methods *in vitro* and *in vivo*.

1. Introdução

1.1. Considerações Iniciais

Diante dos mais de 100 anos de pesquisa da Doença de Chagas, utilizando-se métodos tradicionais, sem se chegar à cura ou vacina eficaz, estudos que utilizam novos métodos, como a simulação computacional e a modelagem 3D de epítomos, podem se tornar importantes aliados na busca por novos medicamentos para tratamento e vacinas. Além disso, em ciência da computação, o estudo de sistemas bioinspirados é muito importante na criação de novas técnicas para resolver problemas complexos e dinâmicos. Estes estudos têm como característica principal o uso de metáforas naturais de sistemas biológicos na concepção de soluções. Tendo em vista que, a capacidade de certos sistemas naturais ou biológicos vai muito além de qualquer estratégia de tecnologia existente, elucidar e aplicar uma série de princípios gerais, que regem o comportamento dos sistemas naturais, pode levar ao desenvolvimento de novas formas de engenharia (CASTRO, 2001).

Nesta conjuntura, a simulação utilizando técnicas de sistemas multiagentes tem sido uma ferramenta importante na investigação dos fenômenos de interação entre os vários tipos de células do sistema imunológico e agentes patogênicos, tais como vírus, bactérias e protozoários, como pode ser constatado nos trabalhos de Possi et al. (2011), Folcik et al. (2007) e Borges (2012). Esses estudos levaram a projetos com uma abordagem bottom-up, ou seja, os sistemas são concebidos definindo-se os aspectos individuais dos agentes, de tal forma que o comportamento coletivo ocorre naturalmente a partir das interações entre os agentes e destes com o meio ambiente. Como resultado, é possível testar hipóteses de interesse de modo mais realista, ou seja, sem programar os cenários desejados diretamente, mas, em vez disso, obtê-los como consequência (POSSI et al., 2011).

Cientes deste cenário, o grupo de Modelagem e Simulação do Sistema Imunológico (ModeSimmune) da Universidade Federal de Viçosa, em um esforço conjunto entre o Departamento de Medicina e Enfermagem e o Departamento de Informática, está desenvolvendo um simulador do sistema

imunológico humano chamado AutoSimmune, com base no simulador inicialmente desenvolvido por Folcik (2007). O simulador é capaz de realizar diferentes simulações, especialmente em relação a infecções virais, bacterianas, causadas por protozoários e eventos envolvidos em doenças autoimunes (POSSI, 2012).

Neste trabalho, foi utilizado o AutoSimmune, mas com investigações focadas na doença de Chagas. Para executar esta simulação, foi necessário modelar e introduzir o agente T. cruzi e modificar o padrão existente do agente macrófago no simulador, para que ele fosse capaz de responder estímulos do agente T. cruzi, como descrito na literatura médica. Supondo que temos uma abstração fiel do sistema real e que os comportamentos são regidos por interações estocásticas, a análise dos resultados desta simulação pode trazer evidências *in silico* para novas teorias que podem ser estudadas gerando investigação de terapias e/ou potenciais drogas *in vivo*.

1.2. Hipóteses

O fator de escape e a eliminação total de T. cruzi estão intimamente relacionados; a quantidade de T. cruzi inoculada tem relação direta com o desfecho da doença de Chagas; o AutoSimmune é uma ferramenta de simulação estocástica.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo Geral

O objetivo geral consiste em simular a interação entre o sistema imune humano e o protozoário *Trypanosoma cruzi*, tal como ocorre na fase aguda da Doença de Chagas.

1.3.2. Objetivos Específicos

- i) Modelar e implantar o agente T. cruzi na ferramenta de simulação.
- ii) Implementar alterações nos outros agentes e no ambiente, a fim de estabelecer as interações parasito/hospedeiro.
- iii) Verificar os efeitos da variação do inóculo, bem como sua influência no desfecho da infecção;

- iv) Verificar os efeitos da variação do fator de escape.
- v) Verificar estatisticamente a relação do fator de escape com a eliminação total do *T. cruzi* e/ou proliferação da infecção.
- vi) Executar um número relevante de simulações, que permitam evidenciar, através de análises estatísticas, a propriedade estocástica do simulador.

2. Referencial teórico

O embasamento teórico biológico, que dá suporte as análises propostas por este trabalho, fundamenta-se em estudos, *in vitro* e *in vivo*, feitos ao longo dos últimos 105 anos da descoberta da Doença de Chagas. Já o referencial computacional fundamenta-se nas técnicas de Sistemas Multiagentes em Sistemas Bioinspirados e nas decisões de projeto iniciais do AutoSimune.

2.1. Doença de Chagas

A doença de Chagas (DC) foi descrita pela primeira vez por Carlos Ribeiro Justiniano Chagas, em 1909, no norte de Minas Gerais (Brasil). Recentemente, devido à globalização, a doença que era endêmica apenas em países da América Central e América do Sul está apresentando casos em outras regiões do mundo, como América do Norte e Europa, de acordo com os trabalhos de Siqueira-Batista et al. (2007), Pinheiro (2007) e Rassi et al. (2012). O *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), agente etiológico da DC, é capaz de causar danos significativos em tecidos do hospedeiro vertebrado com consequências graves, de acordo com o grau da infecção (ALCANTARA & BRENER, 1980; PARKER & SETHI, 2011). As pesquisas do Professor Carlos Chagas foram de suma importância para o reconhecimento e elucidação de uma das maiores mazelas que atinge o continente Sul americano e a América Central. Ainda nos dias de hoje não se conhece caso semelhante, na literatura médica, onde um mesmo pesquisador descobriu e descreveu todos os aspectos de uma mesma nosologia. Dentre as especulações para a não concessão do prêmio Nobel a Carlos Chagas, dois aspectos merecem destaque: primeiro, a falta de um maciço apoio da comunidade científica e acadêmica brasileira da época às indicações; segundo, o fato de a doença ser restrita a países da América Latina, fora dos interesses de

nações européias e dos Estados Unidos. Contudo, a História cuidou de engrandecer, cada vez mais, a contribuição científica de Carlos Chagas, que deve permanecer como paradigma de cientista, médico e sanitário, para nós brasileiros e para o resto do mundo (PITTELLA, 2009).

Do ponto de vista epidemiológico a DC pode ser agrupada em cinco conjuntos de países, de acordo com a transmissão, ciclos, vetores e programas de controle de transfusão (DIAS & COURA, 1997; CARLIER et al., 2002.; DIAS & MACEDO, 2005; SCHMUNIS, 2007).

Grupo I, que inclui Argentina, Bolívia, Brasil, Chile, Equador, Honduras, Paraguai, Peru, Uruguai e Venezuela, caracterizado por ciclos domésticos e peridomiciliares com zonas de alta prevalência de infecção humana; predominância de cardiomiopatia chagásica crônica; ausência ou raridade de doença do aparelho digestivo, no norte da linha equatorial; ciclos selvagens importantes em vários ambientes naturais, incluindo o *Triatoma infestans* em áreas restritas na Bolívia; programas de controle de vetores e transfusão na maioria dos países, com perspectivas de eliminar o *Triatoma infestans* (já alcançados no Brasil, Chile e Uruguai) e *Rhodnius prolixus*, que são eminentemente espécies domesticadas.

Grupo II, que inclui a Colômbia, Costa Rica e México, caracterizado por ciclos domésticos e peridomésticos, com a presença de cardiopatia chagásica crônica; ocorrências de doadores infectados; detecção de ciclos selvagens; e falta de programas de controle ou apenas de programas de controle incipiente.

Grupo III, que inclui El Salvador, Guatemala, Nicarágua e Panamá, apresenta ciclos domésticos, peridomiciliares e selvagens com pouca informação clínica sobre casos humanos e início de ações de controle na Guatemala e Nicarágua.

Grupo IV, que inclui as Antilhas, Bahamas, Belize, Cuba, Estados Unidos, Guiana, Guiana Francesa, Haiti, Jamaica e Suriname, que apresentam ciclos selvagens com casos autóctones raros e pouca informação clínica; numerosos infectados imigrantes nos Estados Unidos; e ausência de programas de

controle, com a exceção do controle de banco de sangue nos Estados Unidos, onde casos de transmissão transfusional já foram descritos.

Um novo problema epidemiológico, econômico, social e político, foi criado com a internacionalização da DC devido à migração legal e ilegal de países endêmicos da América Latina para países não endêmicos na América do Norte, Europa, Ásia e Oceania, em particular os Estados Unidos, Canadá, Espanha, França, Suíça, Japão, países emergentes da Ásia e Austrália (SCHMUNIS, 2007). Estes países formam o grupo V. Essas migrações criaram novos dados epidemiológicos e problemas de saúde pública para os países que receberam imigrantes infectados.

Nos países latino-americanos a DC é uma das enfermidades que mais oneram a economia dentre as chamadas "doenças tropicais negligenciadas" (isto é, doenças associadas à pobreza e negligenciadas pela mídia e formuladores de políticas) com um impacto negativo sobre a saúde, bem-estar e desenvolvimento socioeconômico de baixa renda em países em desenvolvimento (NUNES et al., 2013; MATHERS et al., 2007). Vários estudos têm demonstrado as vantagens econômicas de prevenção da doença através de programas de controle de vetores (CASTILLO-RIQUELME et al., 2008), uma estratégia comprovadamente eficaz em iniciativas internacionais de colaboração na América Latina (MATHERS et al., 2007).

À medida que a doença se expande para além da América Latina, há uma preocupação crescente em relação ao seu custo econômico global. Um estudo recente estima custos globais de \$ 7,19 bilhões/ano com a DC, superior a muitas doenças importantes em nível mundial, tais como o câncer do colo do útero e rotavíruses (LEE et al., 2013).

A DC é transmitida aos seres humanos e a mais de 150 espécies de mamíferos domésticos e silvestres, principalmente por grandes insetos hematófagos do filo Arthropoda, subfilo Hexapoda, ordem Hemiptera, família Reduviidae, subfamília triatomíneos; ver Figura 1. Cerca de 140 espécies de triatomíneos susceptíveis foram identificadas, porém apenas alguns são vetores competentes para *T. cruzi*. Os principais vetores são *Triatoma infestans*, *Triatoma*

brasiliensis e *Panstrongylus megistus* nos países do Cone Sul, *Rhodnius prolixus* e *Triatoma dimidiata* na região Andina e partes da América Central, e *Triatoma dimidiata* e *Triatoma barberi* no México. Aves (principalmente galinhas) são importantes fontes de alimentação de sangue para triatomíneos, que são estritamente hematófagos (RASSI et al., 2012).

A DC pode ser transmitida ao homem por mecanismos independentes de vetores. Transfusão de sangue e transmissão congênita são as principais causas de infestação em zonas urbanas e países não-endêmicos. O risco de se adquirir DC, após a transfusão de uma unidade de sangue, a partir de um doador infectado, é elevado, de 10% a 20% (RASSI et al., 2010). Como os tripomastigotas são, predominantemente, separados na fração de plaquetas, durante a centrifugação, foi relatado maior risco de transmissão na transfusão de plaquetas do que para outros componentes do sangue. Transmissão congênita ocorre em pelo menos 5% das gestações em mulheres cronicamente infectadas em algumas regiões da Bolívia, Chile e Paraguai (RASSI et al., 2010).

2.1.1. Ciclo de vida do *T. cruzi*

O ciclo de vida do *T. cruzi*, cuja taxonomia pode ser observada na Figura 2, é complexo, com várias formas de desenvolvimento nos insetos vetores e hospedeiros mamíferos (RASSI et al., 2010; RASSI et al., 2012). Seguindo o esquema da Figura 1, temos que os insetos são infectados sugando o sangue de animais ou seres humanos que têm parasitos circulantes no sangue (formas tripomastigotas). No trato digestivo dos triatomíneos, os tripomastigotas se diferenciam em epimastigotas (forma multiplicativa) e, em seguida mudam para tripomastigotas metacíclicas na parte final do intestino do inseto. A infecção de mamíferos ocorre quando eles entram em contato com as formas metacíclicas infecciosas dos parasitos eliminados com as fezes dos triatomíneos durante o ato de alimentação destes insetos (RASSI et al., 2010; RASSI et al., 2012).

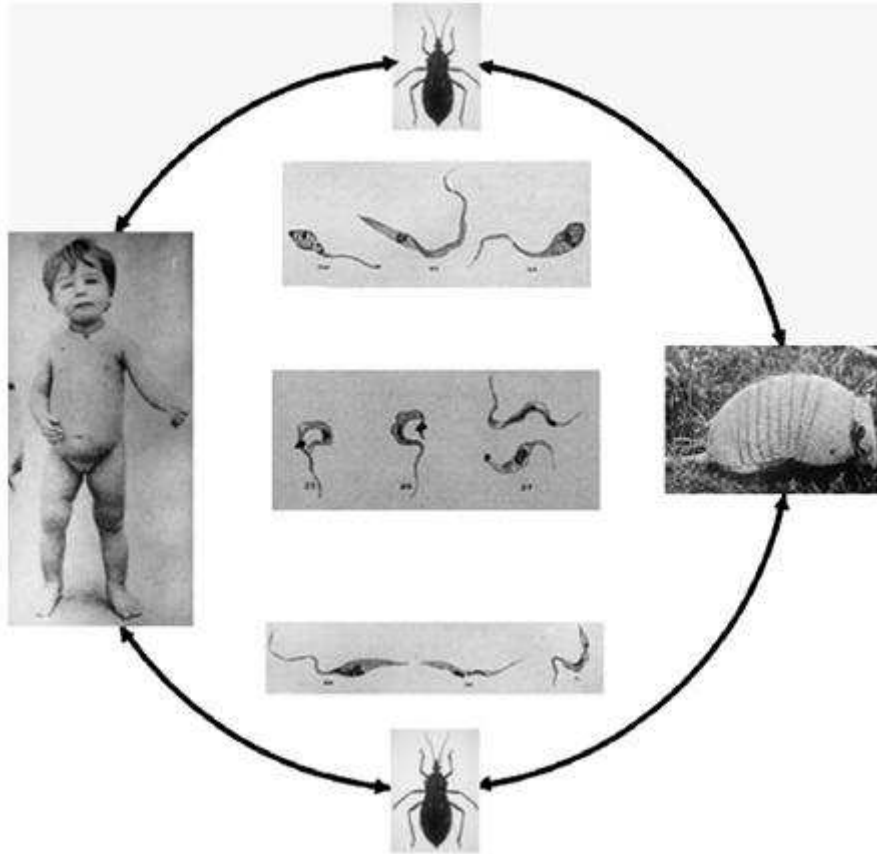


Figura 1 - Ciclos domésticos e silvestres da doença de Chagas descoberta por Carlos Chagas (1909-1912).

Fonte: (COURA & BORGES-PEREIRA, 2010).

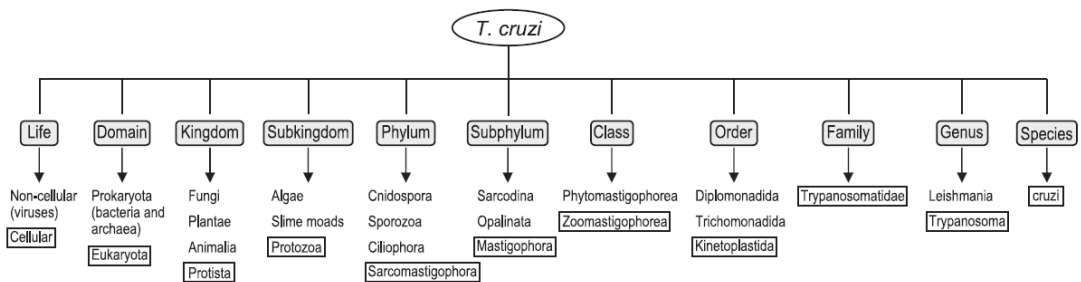


Figura 2 -Taxonomia do Trypanosoma cruzi.

Fonte: (RASSI et al., 2010).

Após o contato entre triatomíneos infectados e seres humanos, a evolução para um quadro infeccioso, vai depender de variáveis que determinam as chances de infecção (RASSI et al., 2012; COURA & BORGES-PEREIRA, 2010; COURA 2013). Alguns estudos relatam que variáveis, tais como a taxa de

infecção de triatomíneos, o tempo entre a picada e a defecação, o número de evacuações e o volume de evacuação durante este intervalo de tempo, o número de parasitos expelidos nas fezes do vetor, a percentagem de formas infectantes, a capacidade de penetração dos parasitos e a intensidade do prurido durante a picada são de grande importância para a ocorrência do processo infeccioso (COURA & BORGES-PEREIRA, 2010).

Uma vez no hospedeiro vertebrado, os tripomastigotas metacíclicos invadem o sistema reticuloendotelial e células conjuntivas, e diferenciam-se em formas amastigotas que iniciam sua replicação por divisão binária. Quando a célula está repleta com amastigotas, estas se transformam de volta em tripomastigotas. Estes tripomastigotas rompem as células, invadem tecidos adjacentes e se espalham através dos vasos linfáticos e pela corrente sanguínea para sítios distantes, principalmente células musculares, cardíacas, esqueléticas e células ganglionares, onde sofrem mais ciclos de multiplicação intracelular. O ciclo de transmissão é completado quando tripomastigotas circulantes são sugados durante refeições de sangue pelo inseto vetor (RASSI et al., 2010; RASSI et al., 2012).

2.1.2. Fase aguda

A DC apresenta uma fase inicial ou aguda, com parasitemia patente (ANEXO I) visto em métodos diretos de exames de sangue. Na maioria dos casos, é assintomática. Esta fase inicial da doença no hospedeiro vertebrado trata-se basicamente de uma infecção generalizada pelo *T. cruzi* (COURA & BORGES-PEREIRA, 2010).

Neste estágio, uma forma altamente agressiva de *T. cruzi*, o tripomastigota, está presente na corrente sanguínea. Isto desencadeia uma resposta do sistema imunológico através de mecanismos humorais e celulares da imunidade inata, tais como a lise mediada pelo complemento, células natural killer citotóxicas e fagocitose realizada pelo sistema mononuclear fagocitário (SMF), principalmente por macrófagos (COURA & BORGES-PEREIRA, 2010; RODRIGUES et al., 2010). Os casos sintomáticos podem mostrar o ponto de entrada do parasito como chagoma de inoculação ou sinal de Romana, febre, generalizada adenopatia,

edema, hepatoesplenomegalia, miocardite e meningoencefalite em casos graves (SIQUEIRA-BATISTA et al., 2007).

Por sua vez, os parasitos dispõem de mecanismos de escape para sobreviver à ação dos macrófagos e não são completamente eliminados. Logo, a doença pode evoluir para uma forma crônica, caracterizada por baixa parasitemia (ANEXO I) com a prevalência de parasitismo intracelular da forma amastigota, geralmente indeterminada (assintomática com eletrocardiograma e radiografias normais no coração, esôfago e cólon) que pode se tornarcárdica ou digestiva (megaesôfago ou megacólon) ou até mesmo uma associação de ambas as formas(BITTENCOURT, 1963; CARLIER & TORRICO, 2005; COURA, 2007; SIQUEIRA-BATISTA et al., 2007; COURA & BORGES-PEREIRA, 2010).

Em casos com imunossupressão, pode ocorrer reativação da forma aguda dadoença produzindo miocardite difusa e lesões do sistema nervoso central como encefalite grave. A fase aguda tem duração geralmente efêmera no serhumano (entre três e oito semanas), podendo ser letal em crianças de baixa idade e indivíduos imunocomprometidos ou evoluir para uma forma crônica de longa duração (COURA & BORGES-PEREIRA, 2010).

De modo geral, a maioria dos casos agudos registrados no Brasil depende de transmissão pelo triatomíneo vetor, basicamente correspondendo a quadros clínicos sintomáticos de indivíduos de baixa idade. Em geral são detectados no verão, em regiões onde se registram triatomíneos domiciliados, especialmente das espécies *Triatoma infestans*, *Panstrongylus megistus*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata* e *Triatoma sordida*. Como elemento comum, o âmbito da ocorrência é o meio rural, envolvendo populações pobres e casas de má qualidade (DIAS & COURA, 1997).

A partir dos anos 80,mediante o programa de controle pelo Ministério da Saúde, reduziu-se significativamente a densidade de triatomíneos domiciliados no país e praticamente desapareceram os registros de casos agudos por via vetorial, encontrando-se hoje a maioria dos municípios em estado devigilância epidemiológica. Ainda subsistem triatomíneos silvestres e mesmo alguns focos domésticos residuais que podem originar eventuais casos agudos. Nos casos de

transmissão vetorial, o período de maior incidência de DC vai de setembro a março para o Brasil e a Argentina, época mais quente e de maior umidade, fatores estes que favorecem maior atividade biológica dos triatomíneos domiciliados (LARANJA et al., 1956; DIAS, 1984; STORINO & MILEI, 1994; DIAS & COURA, 1997).

A transmissão transfusional foi drasticamente reduzida no Brasil desde o final dos anos 80, através de uma política nacional de controle de sangue e hemoderivados, que obriga a seleção pré-transfusional de doadores em todo o país. Por sua vez, a transmissão congênita tem apresentado reduzida incidência no Brasil (estimada em menos de 1,0% de risco de ocorrência entre gestantes chagásicas), a redução esta cada vez mais acentuada a partir do controle vetorial que tem feito diminuir as taxas de prevalência da infecção entre as novas gerações de mulheres férteis (DIAS & COURA, 1997). Em particular, a via oral tem sido registrada em episódios coletivos que pressupõe fatores causais comuns, como ocorrido em Teutônia (Rio Grande do Sul), em Catolé do Rocha (Paraíba) e em vários surtos micro-epidêmicos (geralmente familiares) registrados nos últimos lustros na Amazônia Oriental Brasileira (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2008).

2.1.3. Fase crônica

Na fase crônica da DC a infecção pode apresentar uma forma indeterminada que se caracteriza por baixíssima parasitemia (ANEXO I) e um elevado e consistente teor de anticorpos da classe IgG, como pode ser observado na Figura 4, (MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL, 2008). De acordo com a área geográfica cerca de 40-90% dos indivíduos infectados permanecem na forma indeterminada completamente assintomáticos, sem alterações aos exames radiológicos do coração, esôfago e cólon e apresentam eletrocardiogramas sem anormalidades. Embora esses pacientes sejam assintomáticos eles apresentam reações sorológicas positivas para infecção chagásica, e o xenodiagnóstico e PCR podem ser repetidamente positivos para uma grande proporção destes ao longo de um período de anos, mostrando, assim, um verdadeiro equilíbrio entre parasito e hospedeiro (DIAS & MACEDO, 2005; COURA, 2007).

A forma cardíaca é a manifestação mais grave e frequente da doença crônica (Figura 3). Desenvolve-se em 20% a 30% de indivíduos e tipicamente conduz a anomalias no sistema de condução, bradiarritmias e taquiarritmias, aneurismas apicais, insuficiência cardíaca, tromboembolismo, e morte súbita. As alterações eletrocardiográficas mais comuns são bloqueio de ramo direito, bloqueio fascicular anterior esquerdo, extra-sístoles ventriculares, alterações do segmento ST-T, ondas Q anormais e baixa tensão do QRS. A combinação de bloqueio de ramo direito e bloqueio fascicular anterior esquerdo é muito comum na DC (RASSI et al., 2000; RASSI et al., 2010; HIDRON et al., 2010).

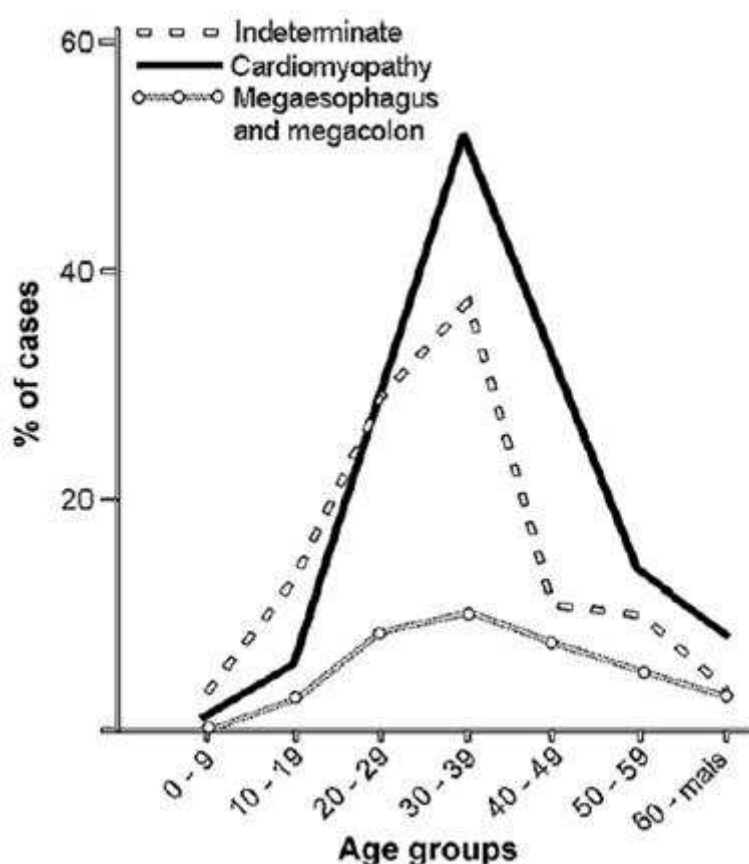


Figura 3 - Distribuição de 510 casos de doença de Chagas crônica de diferentes estados do Brasil de acordo com as formas clínicas e grupos etários.

Fonte: (COURA & BORGES-PEREIRA, 2010).

A forma digestiva da DC é caracterizada por alterações nas funções motoras, secretoras, absorptivas e digestivas do esôfago e do trato gastrointestinal. As lesões do sistema nervoso entérico são fundamentais na patogênese das mega síndromes do sistema digestivo na DC. A estrutura mais frequentemente afetada

é o plexo mioentérico deAuerbach, localizado entre as camadas musculares longitudinal e circular do trato digestivo. Embora a maioria dos danos aos neurônios deste plexo e das fibras nervosas ocorram durante a infecção aguda, a perda neuronal continua lentamente durante toda a fase crônica. Desnervação ocorre em graus variáveis e de forma irregular e descontínua e, provavelmente, depende de fatores parasitários e do hospedeiro. O esôfago e o cólon distal, por causa de sua fisiologia, são os mais frequentemente comprometidos. A desnervação leva à perda de coordenação motora e acalasia dos esfíncteres, impedindo estes segmentos de escoamento de material semi-sólido ocasionandodilatação dos mesmos levando ao megaesôfago e megacólon (RASSI et al., 2012).

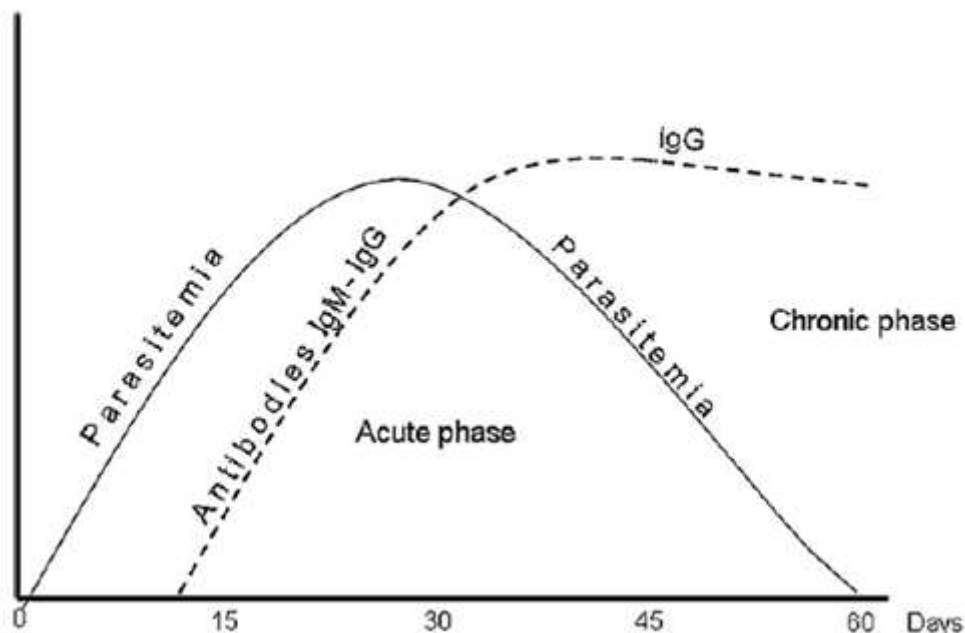


Figura 4 - Dinâmica da parasitemia e resposta imune humoral na doença de Chagas aguda e crônica.

Fonte: (COURA & BORGES-PEREIRA, 2010).

2.1.4. Quantificação do *T. cruzi* e do macrófago

A teoria descrita nesta seção foi muito importante para a definição de alguns parâmetros e para a escolha das quantidades de agentes *T. cruzi* e macrófago utilizados nas simulações.

Acredita-se que a carga de *T. cruzi* na infecção inicial é um fator importante no desenvolvimento da DC (BORGES-PEREIRA et al., 1988). Estudos

experimentais, com diferentes espécies de insetos, vetores da DC, mostraram que o número de parasitos depositados no local da infecção, e que penetram ativamente o hospedeiro no momento da sucção e defecação por estes vetores, é variável. Casos específicos com fezes de triatomíneos contendo mais de 1500 parasitos foram descritos, mas crê-se que a quantidade de *T. cruzi* necessária para provocar a infecção é muito menor que os inóculos utilizados em infecções experimentais (COURA; BORGES-PEREIRA, 2010).

Borges-Pereira et al. (1988) observaram que, dentre oito espécies de triatomíneos infectados com *T. cruzi*, o número médio de parasitos por evacuação foi de 140. Neste estudo, os autores encontraram uma média de 232 parasitos por evacuação entre as espécies *P. megistus*. Inúmeros trabalhos, *in vitro* e *in vivo*, foram realizados com o objetivo de um maior entendimento da interação *T. cruzi* hospedeiro e o envolvimento da resposta imune inata e secundária na DC. Muitos estudos utilizaram a cepa Y do *T. cruzi* (RIBEIRO et al., 2008; O'DALY et al., 1987). Alguns estudos utilizaram $2,0 \times 10^8$ epimastigotas/ml para estímulo celular e um total de $2,5 \times 10^5$ macrófagos por unidade de poço de placa (RIBEIRO et al., 2008). Pesquisadores utilizaram razão parasito por macrófago de 6:1 e 2:1 em estudo do papel de componentes da membrana do macrófago na fagocitose de formas tripomastigotas sanguíneas (ALCANTARA & BRENER, 1980). Um estudo avaliando concentrações diferentes de *T. cruzi* para estímulo proliferativo de células mononucleares no sangue periférico de pacientes chagásicos na forma indeterminada e com a forma cardíaca da doença sugere que a melhor concentração destes parasitos para este estímulo proliferativo é $1,0 \times 10^6$ parasitos por unidade de poço de placa (BARROS-MAZON et al., 2004). Existe relato de utilização de até 0,1 ml de sangue de rato contendo $25,0 \times 10^4$ tripomastigotas da cepa Y para infectar ratos saudáveis (SILVA et al., 2004). Para estudo do bloqueio experimental do TNF na cardiopatia chagásica crônica foi utilizado um inóculo de 108 cepas Y de trypanosoma em hamsters (BILATE et al., 2007). Um estudo avaliando a resposta imune em pacientes chagásicos com as formas digestiva e indeterminada da doença utilizou células

mononucleares coletadas do sangue periférico num montante de $2,0 \times 10^6$ por poço por mililitro em placas de centrifugação (RIBEIRO et al., 2008).

A grande maioria dos casos de DC aguda, no Brasil, são assintomáticos ou apresentam sintomas discretos, possivelmente devido ao baixo inóculo e/ou resposta humoral (COURA et al., 1983; COURA, 2013). Um estudo envolvendo quase três décadas de acompanhamento de pacientes mostrou que os casos de formas crônicas mais graves são originários de casos com a fase aguda grave. Assim, é possível supor que o inóculo inicial e/ou a estirpe infectante de *T. cruzi* influenciam a evolução da doença. Estudos experimentais têm demonstrado que este inóculo é geralmente baixo (DIAS, 1982).

Entre as células do SMF o macrófago apresenta papel chave na resposta do hospedeiro à infecção por *T. cruzi*. Estas células têm a capacidade tripanocida e tripanostática e muitas vezes determinam o grau de suscetibilidade do hospedeiro infectado (RUSSO; STAROBINAS, 1991). A ativação de macrófagos na fase aguda da DC tem sido descrita na literatura. Os macrófagos ativados são capazes de matar o parasito, no entanto, os macrófagos residentes não executam essa ação. A relevância dessa atividade tripanocida ainda não é totalmente conhecida (CELENTANO; CAPPA, 1993).

Os macrófagos fagocitam epimastigotas e tripomastigotas. O primeiro tipo é digerido, enquanto que o segundo escapa do vacúolo fagocitário e transforma-se em amastigota, que se multiplica no interior do macrófago. Este fenômeno ocorre na região onde há penetração de tripomastigotas, dando início a fase intracelular do parasito. Cada amastigota, por fissão binária, produz dezenas de novas amastigotas que, depois de quatro a seis dias, transformam-se em tripomastigotas que rompem a célula e alcançam outros tecidos. A divisão binária simples de amastigota se repete a cada doze horas e produz cerca de nove gerações de parasitos que se transformam em tripomastigotas e rompem o macrófago, ficando livres na circulação e atingindo outras células (REY, 2008).

A ativação dos macrófagos conduz à ativação dos linfócitos T, que secretam γ interferon, que por sua vez, induz macrófagos a produzir interleucina-1 (IL - 1), fator de necrose tumoral (TNF) e óxido nítrico (NO). O NO é extremamente

tóxico para o *T. cruzi* e parece ser responsável pela ação tripanocida exercida pelos macrófagos (REY, 2008).

Neste estudo de simulação, foi utilizado um número igual a 300 *T. cruzi* para simular as situações mais comuns, e 3000 em casos extremos, que são valores muito próximos aos encontrados no trabalho de Borges-Pereira et al. (1988).

2.2. Sistemas Multiagentes

A técnica de Sistemas Multiagentes (SMA) tem sido aplicada, com sucesso, em muitos sistemas complexos. Esta metodologia permite a exploração do comportamento macroscópico emergente de interações microscópicas. Por esta razão, SMA é considerado por muitos autores a melhor abordagem para modelar o sistema imunológico. A sua principal desvantagem, entretanto, é o alto custo computacional quando um grande número de agentes é utilizado (LI et al., 2009).

Os SMA são compostos por unidades computacionais inteligentes (em diferentes graus de inteligência) e autônomas (a existência de uma unidade não depende de outra) denominadas agentes, que podem interagir uns com os outros e executar ações baseando-se nesta comunicação ou no estado do ambiente que foram inseridos. Podemos dizer ainda que, nos SMA as unidades computacionais agem cooperando mutuamente para resolverem um problema, cuja solução está além da capacidade individual de cada componente (WEISS, 1999).

Essa disciplina vem crescendo muito nas últimas décadas, segundo WEISS (1999) por dois motivos principais: primeiro, pelo fato da evolução natural da humanidade, e conseqüentemente dos problemas com os quais ela tem que lidar. Esse desenvolvimento fez com que os sistemas computacionais se tornassem cada vez mais complexos, dinâmicos e distribuídos, e deixassem de ser programas únicos e isolados. Esse novo paradigma fez com que fosse necessário a utilização de tecnologias mais avançadas, capazes de agir de forma distribuída e autônoma, diante de problemas dinâmicos. Em segundo lugar, WEISS (1999) afirma que os SMA têm a capacidade de desempenhar um importante papel no desenvolvimento e análise de modelos e teorias. Por tudo

isso os modelos de SMA ganham, cada vez mais, espaço no mundo das pesquisas científicas.

Para proporcionar um melhor entendimento dos SMA é necessário discutir dois conceitos essenciais desta área: o ambiente onde os agentes podem atuar e o próprio conceito de agente e os tipos de agentes.

2.2.1. Ambiente

O ambiente pode ser caracterizado como um mini-mundo que determina a área de percepção dos agentes de um determinado sistema. Ou seja, uma vez inseridos em um ambiente, os agentes só podem obter informações contidas neste ambiente, como dados de outros agentes e informações pré-determinadas, características do meio.

Segundo Wooldridge (2001), os ambientes podem ser de natureza diferente e apresentar características específicas, sendo assim, ele os classifica da seguinte forma:

- **Acessível × Inacessível:** De um ambiente acessível se pode obter informações completas, precisas e atuais. No caso do inacessível isto não é possível totalmente ou é apenas parcialmente.
- **Determinístico × Não-determinístico:** Em ambientes determinísticos as ações dos agentes têm um efeito único e definem o próximo estado do ambiente, como nos jogos de tabuleiro. No caso do não-determinístico a ação de um agente não é suficiente para determinar o próximo estado do ambiente, como no tráfego urbano.
- **Estático × Dinâmico:** No caso dos ambientes estáticos, apenas a ação de um agente provoca mudanças no seu estado. Já ambientes dinâmicos, podem ser alterados por outros processos, internos ou externos.
- **Discreto × Contínuo:** Ambientes discretos têm um número finito de estados que eles podem assumir, mesmo que seja um número muito grande, como em um tabuleiro de xadrez. Já um ambiente contínuo pode assumir um número infinito de estados.

2.2.2. Agentes

Existem várias definições para agentes autônomos, podemos citar algumas para exemplificar este conceito: “um agente é um sistema computacional, situado em um ambiente, que é capaz de tomar ações autônomas nesse ambiente com a finalidade de atingir os objetivos para os quais fora construído” (WOOLDRIDGE, 2001); “significa o fato de um agente ter sua existência independente dos demais, e até mesmo do problema a ser solucionado” (HÜBNER et al., 2004); “para funcionar, um agente não precisa de outros agentes, mesmo que para alcançar seus objetivos ele eventualmente vá precisar da ajuda de outros.” (HÜBNER et al., 2004).

Apesar das divergências, na definição de agentes autônomos, as seguintes habilidades são facilmente encontradas nos trabalhos dos principais autores da área, sendo que algumas são consensos na comunidade:

- **Percepção:** Um agente pode perceber alterações no ambiente, como características do meio e de outros agentes (localização, estado).
- **Ação:** As alterações no ambiente, quase sempre, são provenientes das ações que os agentes realizam constantemente; um agente age sempre com o intuito de atingir seus objetivos (motivação), ou seja, transformar o ambiente de seu estado atual em outro estado desejado pelo agente.
- **Comunicação:** Uma das ações possíveis é a comunicação entre os agentes, que compartilham o mesmo ambiente.
- **Representação:** O agente possui uma representação simbólica explícita, daquilo que acredita ser verdade, em relação ao ambiente e aos outros agentes que compartilham o mesmo meio.
- **Motivação:** Como em SMA os agentes são (ou podem ser) autônomos, é essencial que exista não só uma representação do conhecimento do agente, mas também uma representação dos desejos ou objetivos (i.e., aspectos motivacionais) daquele agente; em termos práticos, isto significa ter uma representação de estados do ambiente que o agente almeja alcançar; como consequência, o agente age sobre o ambiente por iniciativa própria para satisfazer estes objetivos.

- **Deliberação:** Dada uma motivação e uma representação do estado atual do ambiente em que se encontra o agente, este deve ser capaz de decidir, dentre os estados de ambiente possíveis de ocorrerem no futuro, quais de fato serão os objetivos a serem seguidos por ele (BORDINI et al., 2001).
- **Raciocínio:** Para os agentes com esta característica, assume-se que o agente irá agir para alcançar seus objetivos, e não de maneira a evitar que sejam alcançados (WOOLDRIDGE & JENNINGS, 1995).
- **Aprendizagem:** Técnicas de inteligência artificial clássica para, por exemplo, raciocínio e aprendizagem, podem ser estendidas para múltiplos agentes, aumentando significativamente seu desempenho em aspectos como a deliberação. Note que nem sempre se espera estas características de quaisquer agentes. É consenso na comunidade que a criação de mecanismos de aprendizagem específicos para ambientes multiagentes é uma área de pesquisa que, ainda, requer bastante investigação.

Alguns autores classificam os agentes em vários níveis de complexidade, ou seja, para cada nova funcionalidade inserida em um agente temos uma nomenclatura diferente para defini-lo. Uma visão bilateral é defendida por Hübner et al. (2004) e Wooldridge (2001), segundo eles existem dois tipos de arquiteturas para agentes em um SMA: os agentes cognitivos (ou deliberativos) e os agentes reativos, como discutido nas seções seguinte.

2.2.2.1. Agentes Cognitivos

Os agentes ditos cognitivos ou deliberativos são sistemas computacionais complexos, geralmente possuem características mais sofisticadas como representação, motivação, raciocínio e aprendizagem. Por serem mais complexos e conseqüentemente ter um custo computacional elevado, os SMA compostos por agentes cognitivos, geralmente, têm poucos agentes.

A arquitetura mais difundida na construção de agentes cognitivos é a chamada BDI (crenças, desejos e intenções, do Inglês, belief, desire and intention) (WOOLDRIDGE, 2001; HÜBNER et al., 2004).

2.2.2.2. Agentes Reativos

Já os agentes reativos, foram criados baseados na premissa de que o comportamento inteligente dos SMA emerge da interação entre uma grande quantidade de agentes com regras simples de atuação no ambiente. Geralmente estes agentes possuem apenas as características mais básicas dos agentes como percepção, ação, comunicação e uma deliberação muito simples a respeito das suas percepções (WOOLDRIDGE, 2001; HÜBNER et al., 2004).

Sendo assim, segundo Wooldridge (2001), Hübner et al. (2004), os agentes reativos “têm comportamentos que podem ser descritos como autômatos finitos simples, possuindo um conjunto de regras que mapeiam percepções do ambiente diretamente em ações sobre este, em um tipo de esquema estímulo-resposta.” (HÜBNER et al., 2004, p. 6).

2.2.3. Agentes e ambiente do simulador

Na Figura 5 tem-se o esquema de um agente que foi usado na simulação de células do sistema imunológico. Eventualmente, em alguns sistemas que utilizam agentes reativos, é necessário acrescentar algumas funcionalidades específicas nos agentes. Noteque, existe uma função extra nos agentes deste sistema, responsáveis por guardar os estados possíveis do agente, efetuando o papel de uma máquina de estados, muito importante neste tipo de SMA.

Quanto ao ambiente em que os agentes foram inseridos, com base na classificação proposta por Wooldridge (2001), apresentada na Seção 2.2.1, e nas decisões de projeto do simulado, descritas por Possi (2012), podemos afirmar que; o ambiente é inacessível, uma vez que, os agentes não têm informações sobre todas as regiões, apenas de sua vizinhança; o ambiente é não-determinístico, pois, um agente não pode prever o próximo estado do ambiente baseado apenas em suas ações, fatos como ações de outros agentes, passagem do tempo e difusão de substâncias podem interferir no próximo estado do ambiente; dinâmico, visto que, o ambiente continua modificando seu estado, mesmo se os agentes não executarem nenhuma ação; discreto, apesar do ambiente poder assumir um número quase incalculável de estados, dado a quantidade de fatores envolvidos neste processo (número de agentes, de posições possíveis, de estados

possíveis, de substâncias, de dispersões possíveis, etc.), não se trata de um número infinito de estados.

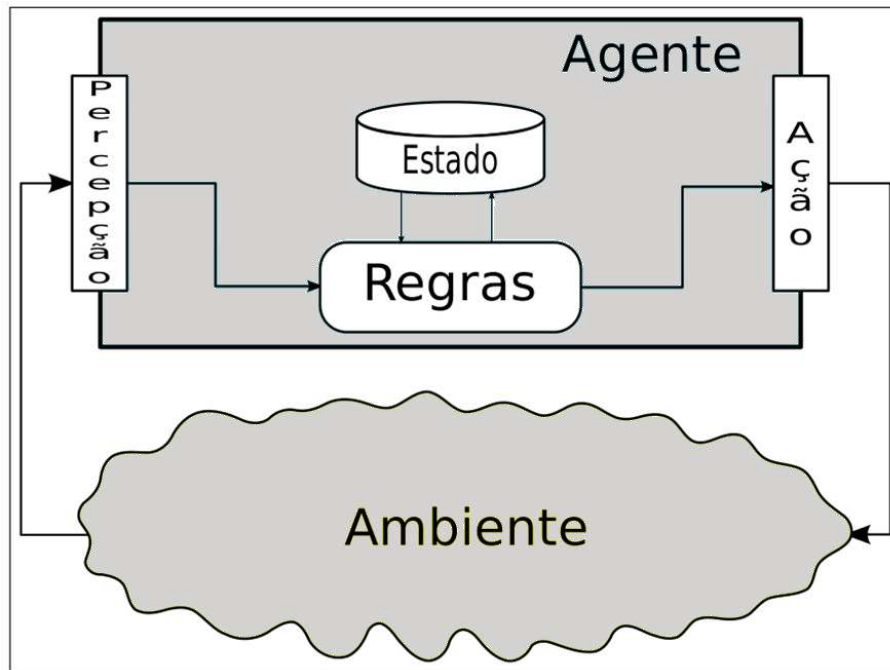


Figura 5-Modelo geral de um agente reativo com estado.

Fonte: (POSSI, 2012).

2.3. AutoSimmune

O AutoSimmune é um simulador do sistema imunológico com foco original na autoimunidade. Na sua versão básica, ele simula o tecido da medula óssea, timo, nódulos linfáticos, a circulação sanguínea e uma região do tecido parenquimatoso.

As regiões são simuladas como um espaço discreto na forma de uma matriz bidimensional, em que cada agente tem uma posição (i, j). Dois ou mais agentes podem ocupar a mesma posição simulando, parcialmente, um espaço tridimensional, ficando mais próximo ao ambiente real.

O movimento do agente é feito alterando a sua posição atual para uma posição na vizinhança de Moore (WEISSTEIN, 2014). Assim, um agente não pode "saltar" posições, ele precisa se mover uma posição de cada vez. Em uma estrutura de células sob a forma de matriz bidimensional, a vizinhança de Moore (de raio um) compreende oito células vizinhas de uma célula central como na Figura 6. Se for permitido em sua especificação, um agente pode passar de uma

região para outra por meio de elementos especiais chamados portais, como proposto por Folcik et al. (2007).

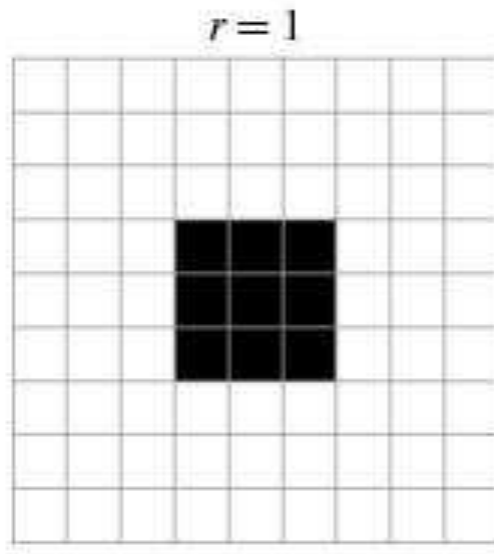


Figura 6 - Vizinhança de Moore de raio um. No centro está o agente, as oito células vizinhas são posições, possíveis, para as quais ele pode se mover.

Fonte: WEISSTEIN (2014).

A simulação de substâncias, tais como as citocinas é realizada por meio de camada de dados, denominada ValueLayer, fornecida pelo framework1 Repast¹, sobre o qual o simulador foi construído. Substâncias, como as citocinas, são liberadas por células, elas passam por um processo de difusão, espalhando-se nas imediações do local em que foram liberadas, diminuindo sua concentração, e também por um processo de "evaporação", diminuindo o seu valor com o passar do tempo (POSSI et al., 2011). O ValueLayer é um resumo de dados de camada que, no momento da sua criação, está associada com uma região de matriz bidimensional. É possível combinar múltiplas camadas de dados na mesma matriz. Assim, um agente pode reconhecer a concentração de uma ou mais substâncias para um determinado instante de tempo na posição (i, j) (POSSI et al., 2011).

A passagem de tempo no simulador é modelada utilizando-se o conceito de unidade de tempo discreta, fornecida pelo framework, chamadatick. Cada componente do simulador tem seu momento de execução, sendo necessário

¹ <http://repast.sourceforge.net>

informar a partir de qual tick começa e o intervalo de execução, de quantos em quantos ticks será executado (POSSI et al., 2011). Como resultado todos os eventos são devidamente sincronizados.

Estabelecer a relação entre o tick computacional e o tempo real é necessário para a análise e interpretação das simulações. Esta relação é difícil de determinar devido à multiplicidade de fatores a serem considerados, como o deslocamento dos agentes, velocidade e momento que são criados, tempo gasto na sua multiplicação e a inter-relação entre todos estes fatores, específicos para cada agente.

Visando melhor entendimento dos resultados, pode-se considerar a seguinte relação entre o tick e o tempo real: O T. cruzi, quando em sua forma amastigota e dentro da célula macrófago, multiplica-se por divisões binárias sucessivas, em ciclos com duração aproximada de 12 horas, de acordo com Rey (2008). Já no simulador AutoSimmune o processo de multiplicação, similar ao observado in vivo, foi programado para executar no prazo de cinco ticks. Sendo assim, para efeito de análise, podemos considerar que um tick corresponde a 2 horas e 24 minutos.

No simulador, a afinidade (a força de reconhecimento de um antígeno por um receptor) é simulada pelo número de bits correspondentes entre duas sequências de bits: Uma pertencente a um receptor celular e a outra ao antígeno. Exemplo [0, 1, 0, 1, 1, 0, 0, 1, 1] e [0, 0, 1, 1, 1, 0, 1, 1, 0]. Quanto maior o comprimento da correspondência, maior é a afinidade. Para o cálculo da afinidade foi utilizado o método sugerido por Floreano e Mattiussi (2008), chamado "comprimento da maior subsequência comum", cujo objetivo é o de calcular, dado dois padrões de sequências de bits A e B, o tamanho da maior subsequência contígua de bits que está contida em A e B ao mesmo tempo, na mesma ordem. No caso do exemplo acima, a maior subsequência contígua de bits é [1, 0, 1, 1, 0] de tamanho 5.

As demais decisões de projeto do AutoSimmune, para não desviar do foco deste trabalho, foram omitidas desta discussão. Trata-se de conceitos específicos

do simulador, que foram muito bem documentados e discutidos, detalhadamente, no trabalho de Possi (2012).

3. Metodologia

Na primeira parte desta seção é exposto e discutido o modelo do agente macrófago, o qual foi alterado para responder as perturbações causadas pelo agente *T. cruzi*. O parasitotem seu modelo apresentado e discutido na segunda parte. Posteriormente, temos uma lista de parâmetros, utilizados para definir as simulações e analisar os resultados. Por fim, é demonstrado como foram feitas as análises estatísticas.

3.1. Modelo do Agente Macrófago

O agente de software que faz o papel da célula macrófago no simulador AutoSimmune precisava ser aperfeiçoado, uma vez que, algumas características, como ser infectado, essenciais para a interação com o *T. cruzi*, não foram modeladas e implementadas nas versões anteriores do simulador. As regras deste agente estão ilustradas na máquina de estados na Figura 7.

O agente macrófago realiza suas atividades no tecido, representado no simulador pela zona Tissue, com base na "zona 1" definida por Folcik et al. (2007), que representa um corte de tecido parenquimatoso genérico microscópico. Este agente migra para o tecido quando detecta a presença de citocinas pró-inflamatórias (grupo MK1 conforme Folcik et al., 2007) e entra na zona Tissue. O agente segue a substância sinalizadora de estresse celular até encontrar o local da infecção sinalizado pela substância NECROSE liberada após a lise celular. Na presença da substância NECROSE o agente macrófago comuta para o estado Pró-inflamatório. Neste estado o agente produz e libera citocinas pró-inflamatórias MK1 e fagocita células mortas, agentes patogênicos PAMP-positivos² e complexos de antígeno-anticorpo, ou seja, os anticorpos ligados a qualquer antígeno, o que funciona como marcação para a fagocitose dos macrófagos.

² Padrões moleculares associados à patógenos positivos (PAMPs, do Inglês pathogen-associated molecular patterns) (POSSI, 2012).

As alterações no comportamento do agente macrófago, quando fagocita alguma partícula estranha, foram inseridas no modelo AutoSimmune. Neste caso, um estado de transição chamado Destruindo foi criado. Quando se fagocita o agente T. cruzi, pode ocorrer que o agente T. cruzi não é destruído e acaba infectando e se multiplicando no interior do agente macrófago. Se os microorganismos escapam do vacúolo fagocitário e infectam o macrófago, o agente macrófago passa para o estado Infectado, continuando com as suas ações até que o número de parasitos no seu interior seja suficientemente grande para rompê-lo e, conseqüentemente, destruí-lo.

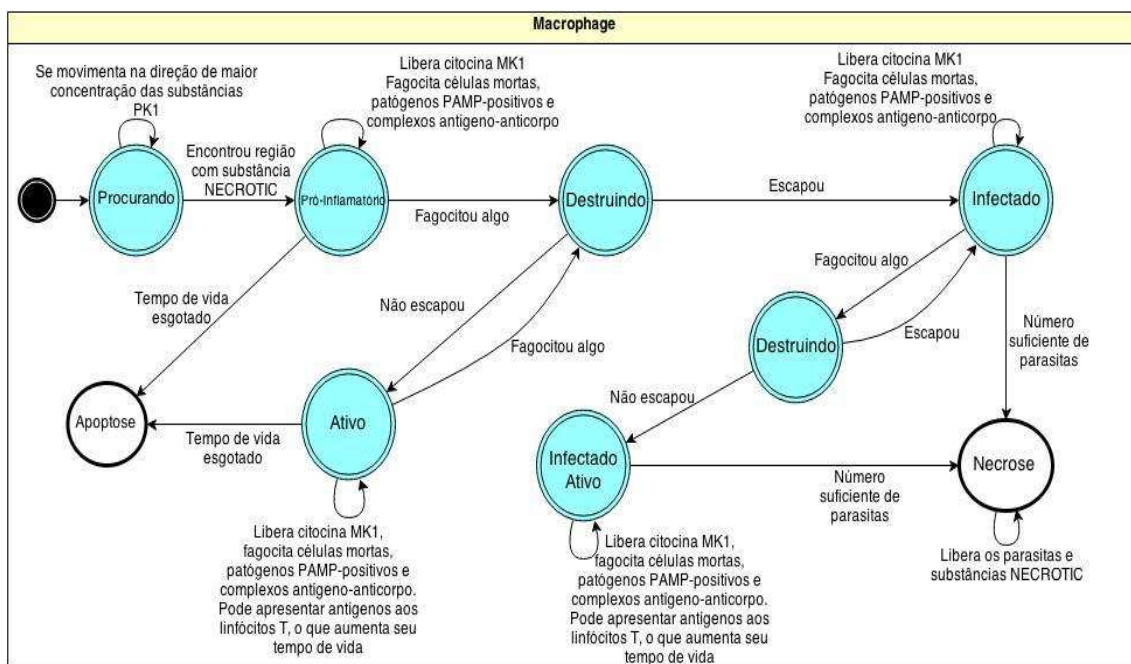


Figura 7 - Máquina de estados do agente macrófago.

Após a ruptura o agente morre e vai para o estado de Necrose. Neste momento, os parasitos são liberados para o meio e a dispersão de substância NECROSE ocorre até que o agente macrófago seja fagocitado por outra célula.

Quando se passa pelo estado Destruindo e os microorganismos ou partículas são destruídas pelo agente macrófago, este os processa, extraindo seus antígenos e os apresentando aos linfócitos T, caracterizando o estado Ativado. Macrófagos infectados, que destruírem qualquer microorganismo, mudam para o estado Infectado/Ativado com as mesmas funções do estado Ativado, mas mantendo a proliferação interna de patógenos.

3.2. Modelo do Agente T. cruzi

Inicialmente o T. cruzi infecta e se multiplica em células do sistema mononuclear fagocitário (SMF), denominadas macrófagos. Posteriormente, o T. cruzi pode migrar para outras partes do organismo e invadir outras células hospedeiras, especialmente o tecido muscular liso, esquelético e nervoso cardíaco, permitindo a sua permanência no hospedeiro (Siqueira-Batista et al. 2007). Como queremos simular a resposta imunológica primária inserimos o agente T. cruzi na zona Tissue. O agente representando o T. cruzi no AutoSimune foi modelado e implementado de acordo com as suas principais funções e características descritas na literatura biológica, mantendo a maior fidelidade possível, para que pudéssemos imitar seu comportamento e posteriormente permitir a análise real in vivo da resposta imune para o agente patogênico e suas peculiaridades. As regras deste agente são ilustradas na máquina de estados da Figura 8.

Inicialmente, o agente T. cruzi está na forma tripomastigota e se move aleatoriamente à procura de outros agentes, caracterizando o estado Circulando. Quando o agente T. cruzi encontra outro agente são feitas as verificações para determinar se há alguma afinidade entre ambos. Caso exista afinidade, este agente torna-se um possível hospedeiro, de modo que o parasito tentará invadi-lo. Após uma invasão bem sucedida, o agente T. cruzi transforma-se em amastigota e inicia um ciclo de multiplicações por sucessivas divisões binárias. Uma série decerca de nove fissões, pode produzir 50-500 parasitos, dependendo da estirpe de T. cruzi a qual o agente representa e do agente hospedeiro, tal como descrito in vivo por Rey (2008) e Siqueira-Batista et al. (2007). Após esta etapa, ainda dentro dos agentes parasitados, o agente T. cruzi sofre nova transformação e retorna à forma tripomastigota sendo libertado, a partir do hospedeiro, a fim de infectar outras células sanguíneas ou teciduais.

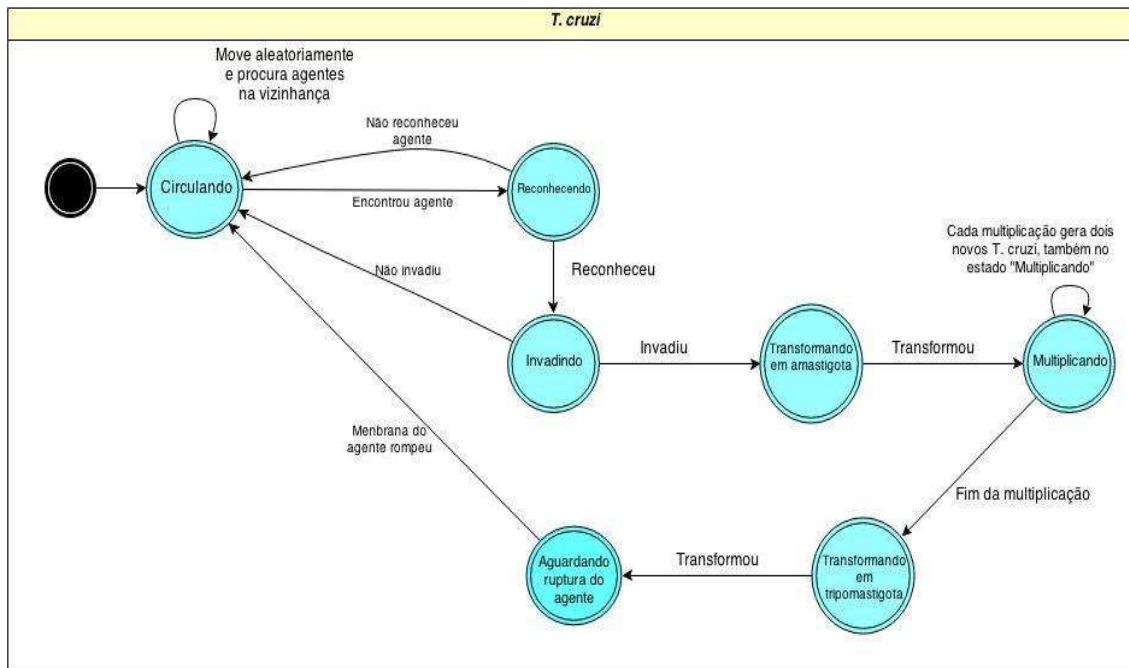


Figura 8 - Máquina de estados do agente T.cruzi.

3.3. Definição dos parâmetros

O ambiente para as interações entre os agentes durante as simulações foi a zona Tissue, com a matriz de tamanho 150 por 150 unidades de espaço. Para analisar melhor a interação do parasito com o sistema imunológico, um período de 1825 ticks foi fixado. De acordo com o valor, em tempo real, proposto para o tick na Seção 2.3, o período simulado corresponde a seis meses de infecção. Durante as simulações, foram definidos e estudados os seguintes parâmetros:

- **Número inicial de T. cruzi:** Número total de T. cruzi inseridos na zona Tissue dois ticks após o início da simulação. Biologicamente é o inóculo.
- **Número inicial de macrófagos:** Número de macrófagos presentes na zona Tissue, antes da carga de parasitos ser inserida. Baseando-se em proporções utilizadas nos estudos in vitro, descritos na Seção 2.1.4, e sabendo que, assim que a infecção tem início, mais macrófagos são rapidamente recrutados, fixou-se este valor em 300.
- **Fator de escape:** Define a chance do T. cruzi escapar do mecanismo de fagocitose dos macrófagos e se multiplicar dentro deles. Ele pode variar de zero a cem por cento de chance. Os valores escolhidos para o fator de escape foram baseados no seu relacionamento com o número de T. cruzi

no final. Cada teste tem um incremento de 0,1 ou 0,01 no valor do fator de escape do teste anterior. A gama de 0,01 foi utilizada quando os resultados mostraram um padrão mais aleatório. Por outro lado, o valor de 0,1 foi utilizado nos testes que se comportaram com um padrão mais "previsível". Valores acima de 1,00% não foram simulados, porque foi observado que, em tais casos, torna-se difícil (nenhuma ocorrência durante os testes) para os macrófagos conterem a infecção.

- **Tick:** Unidade de tempo computacional, um tick corresponde a 2 horas e 24 minutos.
- **Infecção ativa:** É a chance do *T. cruzi* entrar e infectar ativamente o macrófago, neste caso, há um gasto de energia pelo parasito e não ocorre fagocitose do mesmo. Como o principal mecanismo de invasão é a fagocitose, a chance do *T. cruzi* conseguir infectar ativamente foi fixada em 0,10 por cento. Pode ser que, quando ocorrer o encontro com o macrófago, o *T. cruzi* seja fagocitado antes mesmo de tentar penetrar ativamente, mas estes eventos são totalmente estocásticos.
- **Limite de rompimento:** O número máximo de parasitos comportados pelo macrófago, no seu interior, após o ciclo de multiplicações. Neste caso, o limite é de 500 parasitos. Este número foi fixado por se tratar do valor aproximado que normalmente é encontrado na natureza, de acordo com Rey (2008). Quando o número de *T. cruzi* atinge esse limite a célula se rompe e os parasitos são liberados.
- **Tick em que o número de *T. cruzi* zerou:** O momento da simulação, na contagem de ticks, que o número de parasitos chega à zero.
- **Número máximo de *T. cruzi*:** É o número máximo de parasitos na zona Tissue em um dado momento. Geralmente, in vivo, este momento ocorre na fase aguda da doença, durante as primeiras semanas de infecção.
- **Número máximo de macrófagos:** A maior ocorrência de macrófagos na zona Tissue. Embora, inicialmente, exista um número fixo de macrófagos, quando os parasitos são introduzidos, infectando e destruindo células, mais macrófagos são recrutados para o local da infecção. As células

fagocitárias são atraídas pelas substâncias liberadas durante a batalha contra o parasito e migram pelos portais. A quantidade depende de como a infecção se espalha pela zona Tissue e não necessariamente da quantidade de T. cruzi existente, visto que, os portais têm um limite de fluxo, quanto mais portais ativados, maior será a entrada de macrófagos no tecido.

- **Número de T. cruzi no fim:** Quantidade de T. cruzi na zona Tissue, ao término dos 1825 ticks.
- **Número de macrófagos no fim:** Quantidade de macrófagos na zona Tissue, ao término dos 1825 ticks.

3.4. Análises estatísticas

Para a análise individual dos parâmetros, foram calculados a média, mediana e o desvio padrão. Já para analisar comparativamente e correlacionar os parâmetros estudados nas simulações, foi utilizado o coeficiente de correlação de Pearson. O software utilizado para os cálculos foi o Library Office.

O coeficiente de correlação é utilizado quando se deseja estudar a consistência em que duas variáveis mudam em conjunto. Apesar da existência de uma correlação não significar que uma variável é causa ou consequência da outra, neste caso, podemos dizer que há uma correlação ou uma covariação, cuja direção e magnitude podem ser quantificadas. Este coeficiente é um número puro, podendo classificar a correlação em perfeita ($=1$), forte ($>0,75$), média ($>0,5$), fraca ($<0,5$) e inexistente ($=0$) em função de seu afastamento do zero, nos dois sentidos (positivo e negativo) (DORIA FILHO, 1999).

4. Simulações e Resultados

Com o intuito de validar o modelo e para estudar as interações na infecção por *T. cruzi* e o sistema imunológico foram realizadas duas sequências de simulações variando o fator de escape, uma com o número inicial de *T. cruzi* igual a 300 e outra com este parâmetro igual 3000. Posteriormente, para análises estatísticas, o inóculo de 300 foi fixado e as sequências de simulações foram repetidas mais 19 vezes. Como cada sequência de simulações é composta por 52 variações do fator de escape, no total das duas etapas, foram realizadas 1092 simulações.

4.1. Variando Inóculo e Fator de escape

As Tabelas 1 e 2 mostram os resultados obtidos após 104 simulações, 52 para o número inicial de *T. cruzi* igual a 300, outras 52 para o número inicial de *T. cruzi* igual a 3000.

Tabela 1. Simulações com inóculo igual a 300.

fator de escape (%)	#tick (T. cruzi=0)	#max. T. cruzi	#T. cruzi (tick 1825)	#Mø (tick 1825)	#max. Mø
0,00	248	1001	0	364	369
0,10	166	1020	0	438	440
0,20	208	1000	0	348	352
0,21	259	3779	0	396	403
0,22	208	830	0	340	342
0,23	123	813	0	353	354
0,24	345	1000	0	343	348
0,25	316	1115	0	374	376
0,26	195	804	0	336	337
0,27	-	6526	6	373	399
0,28	121	799	0	349	349
0,29	419	1269	0	330	339
0,30	-	23064	7	1395	1396
0,31	-	4330	14	854	854
0,32	279	1555	0	426	430
0,33	1205	1221	0	475	477
0,34	1766	2085	0	489	494
0,35	322	832	0	424	430
0,36	-	25272	3655	2230	2248
0,37	1757	1204	0	443	446
0,38	-	33981	8406	1526	1537
0,39	-	95795	30648	1086	1479
0,40	-	34447	3782	1674	1674
0,41	723	1556	0	419	426
0,42	-	124231	38481	3078	3097
0,43	-	88893	26064	1020	1471

0,44	144	798	0	308	310
0,45	-	95426	11837	1267	1267
0,46	425	868	0	287	300
0,47	-	20003	3433	1804	1804
0,48	-	85131	17386	1092	1515
0,49	-	11000	427	1221	1236
0,50	-	122758	60693	2659	3030
0,51	-	61358	15387	1928	2069
0,52	358	799	0	310	311
0,53	-	105997	22354	2842	3627
0,54	-	132487	30863	1870	2698
0,55	-	186631	101125	4574	5874
0,56	-	91251	39787	2590	2590
0,57	-	132072	47724	4837	5743
0,58	-	60626	18765	1128	1194
0,59	-	67964	24631	746	1531
0,60	-	6432	1425	823	831
0,61	-	2206	47	602	608
0,62	-	149570	90749	2478	3332
0,63	-	59905	27439	3927	3966
0,64	-	117307	15611	678	2239
0,65	-	9386	3829	1474	1474
0,70	-	174423	32523	3182	3589
0,80	-	107358	46055	2627	2900
0,90	-	147222	68838	3034	3806
1,00	-	148243	133889	4332	5149

Tabela 2. Simulações com inóculo igual a 3000.

fator de escape (%)	#tick (T. cruzi=0)	#max. T. cruzi	#T. cruzi (tick 1825)	#Mø (tick 1825)	#max. Mø
0,00	179	5502	0	425	425
0,10	211	3869	0	343	343
0,20	471	4019	0	491	507
0,21	1168	4516	0	406	419
0,22	959	5830	0	450	463
0,23	1247	4030	0	319	341
0,24	-	4290	3	518	523
0,25	413	3640	0	386	391
0,26	955	3803	0	525	525
0,27	1174	4601	0	630	650
0,28	1477	4414	0	615	620
0,29	-	11574	10	726	746
0,30	-	18928	1	981	981
0,31	1815	5269	0	629	636
0,32	-	3574	1	498	499
0,33	-	5183	4	607	638
0,34	1624	4503	0	606	624
0,35	-	69472	5421	1345	1424
0,36	-	36352	283	2794	2845
0,37	648	3595	0	408	409

0,38	-	114117	6382	733	1736
0,39	-	123258	64354	2442	3649
0,40	-	9987	334	1917	1917
0,41	-	87750	7292	2533	2533
0,42	-	127525	10635	1755	1755
0,43	-	120302	10790	1148	1696
0,44	-	102800	43675	3173	3471
0,45	-	93822	20017	1319	1514
0,46	-	137813	14931	2579	2591
0,47	-	87098	15687	1420	1585
0,48	-	7586	840	1712	1735
0,49	-	50139	5537	3423	3423
0,50	-	86034	24686	1803	2327
0,51	-	145739	12674	1523	2187
0,52	-	184655	96294	5319	6856
0,53	-	25522	9219	1627	1651
0,54	-	181202	68261	6731	6731
0,55	-	58513	22986	2233	2511
0,56	-	62830	15419	890	1115
0,57	-	156409	60189	2914	4690
0,58	-	127694	25559	930	2776
0,59	-	188053	58005	1406	2919
0,60	-	117632	17953	1412	2113
0,61	-	87890	13474	787	1441
0,62	-	85169	85169	6838	6875
0,63	-	106039	45118	1980	2198
0,64	-	129197	79346	5794	5911
0,65	-	91751	28611	2663	2663
0,70	-	113388	51583	4487	4781
0,80	-	130328	72959	4799	5046
0,90	-	158986	88700	2710	4788
1,00	-	109838	63082	3380	3427

Com inóculo de 300 agentes T.cruzi, os macrófagos eliminaram todos eles em 20 simulações, e o fator de escape máximo em que isto ocorreu foi 0,52%, no tick 358, os gráficos da variação de parasitos e macrófagos, durante esta simulação, podem ser vistos no APÊNDICE II. Para o inóculo de 3000, em 52 simulações, a eliminação total dos agentes parasitários ocorreu 13 vezes com fator de escape máximo de 0,37%. Quando ocorre a eliminação total dos agentes parasitários, a zona Tissue passa a conter apenas os agentes macrófagos, que foram recrutados e sobreviveram ao ataque, e as células do tecido parenquimatoso (APÊNDICE I).

Em simulações com inóculo de 3000 agentes T. cruzi, o menor fator de escape onde o número destes agentes não zerou foi 0,24% e o maior fator de

escape em que o número de parasitos no final zerou foi 0,37 %. Este é um intervalo estreito (cerca de 0,13%), em que os resultados do desfecho da infecção variaram.

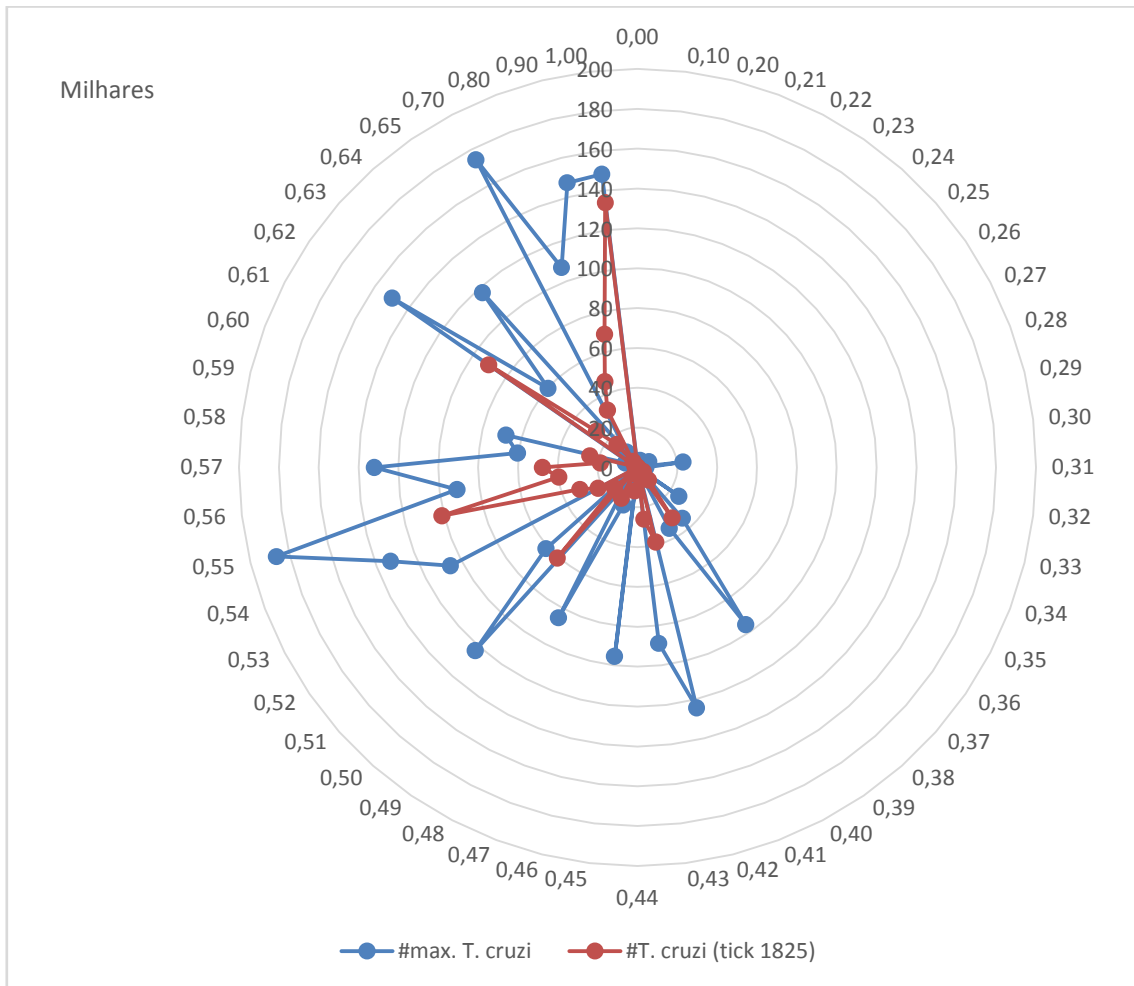


Figura 9 - Gráfico da relação entre o fator de escape e número máximo de *T. cruzi*/Número de *T. cruzi* no fim, para inóculo igual a 300.

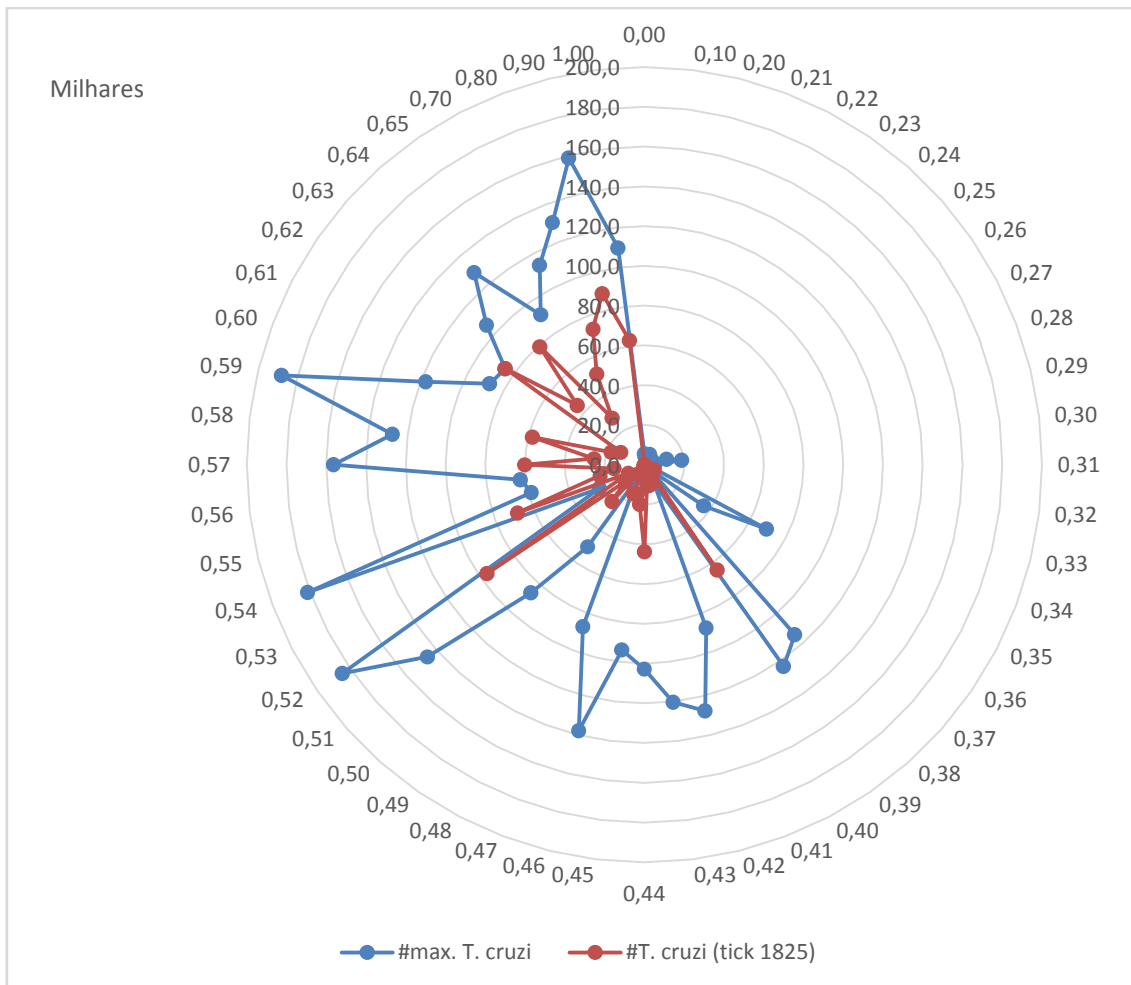


Figura 10 - Gráfico da relação entre o fator de escape e número máximo de T. cruzi/Número de T. cruzi no fim, para inóculo igual a 3000.

Nas simulações com inóculo de 3000, o menor número máximo de T. cruzi foi 3574 e ocorreu com fator de escape de 0,32%, enquanto o maior número de agentes T. cruzi foi 188053, com fator de escape de 0,59%. Já pra o inóculo de 300, o menor número máximo de T. cruzi foi 798 e ocorreu com fator de escape de 0,44%, enquanto o maior número de agentes T. cruzi foi 186631, com fator de escape de 0,55%.

Para o inóculo de 3000, o maior número de T. cruzi no fim foi 96294, e ocorreu para o fator de escape de 0,52%. Uma imagem da zona Tissue, neste momento, está presente no APÊNDICE III, assim como um gráfico da variação de agentes T. cruzi. Já para o inóculo de 300, o maior número de T. cruzi no fim foi 133889, e ocorreu para o fator de escape de 1,00%.

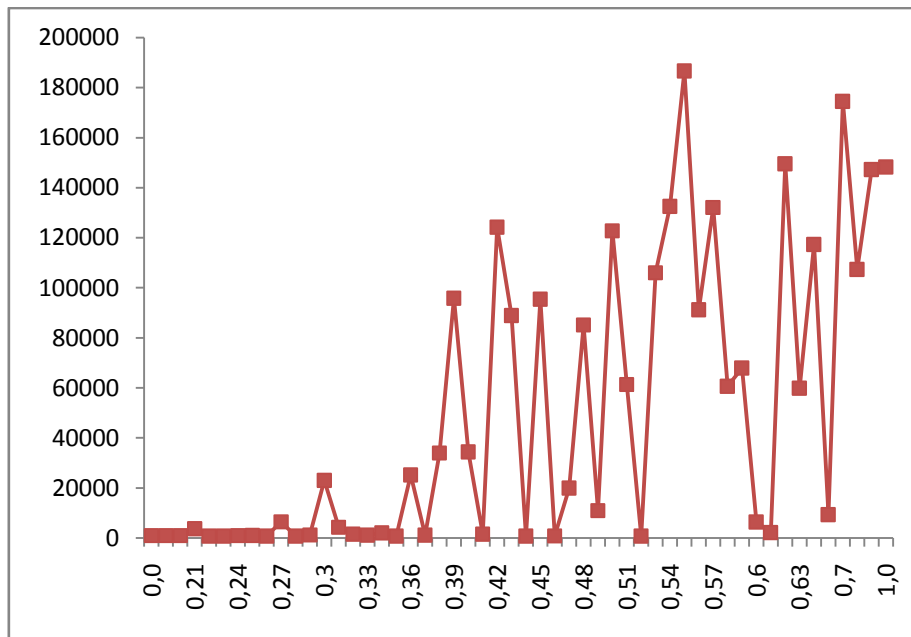


Figura 11 - Gráfico da relação entre fator de escape e o número máximo de T.cruzi, para inóculo igual a 300.

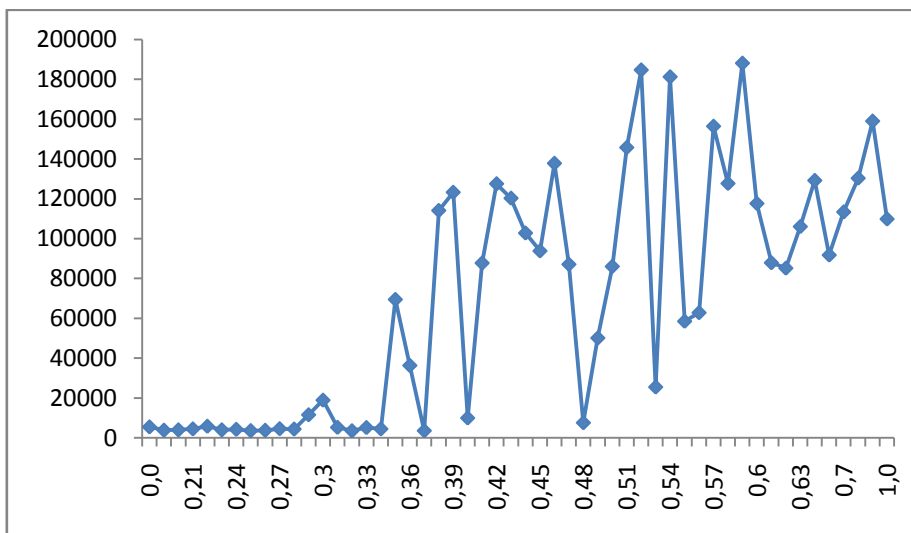


Figura 12 - Gráfico da relação entre fator de escape e o número máximo de T.cruzi, para inóculo igual a 3000.

4.2. Simulações para Análises Estatísticas

Partindo do pressuposto de que o simulador é estocástico, as mesmas simulações, para inóculo igual a 300, foram repetidas mais 19 vezes para cada fator de escape, totalizando 20, e gerando um acumulado de simulações, nestas condições similares, igual a 1040. Cada simulação representa um período de seis meses, sendo assim, todas as simulações analisadas, para inóculo de 300, representam uma soma total de 520 anos simulados.

Nas subseções abaixo segue análise, separada e inter-relacionada, dos cinco parâmetros que tiveram seus valores capturados durante as simulações, são eles: número máximo de T. cruzi, número de T. cruzi no fim, tick que o número de T. cruzi zerou, número máximo de macrófagos e número de macrófagos no fim.

4.2.1 Análise do número máximo de T. cruzi

O menor número máximo de T. cruzi observado foi 796 e ocorreu com fator de escape igual a 0,34% e 0,39%, já o maior, foi 226628 e ocorreu com fator de escape igual a 0,80% (APÊNDICE IV). A média geral, para todos os valores defator de escape, foi 45664,23 com desvio padrão de 51093,63. Em 26 casos, o desvio padrão foi maior que a média.

Tabela 3. Dados estatísticos do número máximo de T. cruzi, para cada fator de escape.

Fator de escape (%)	Média	Mediana	Desvio Padrão
0,00	992,55	915,50	199,55
0,10	2383,90	1111,00	3287,10
0,20	1982,45	1214,50	2211,96
0,21	3545,35	1279,00	5627,98
0,22	5513,60	1241,50	10906,14
0,23	14876,95	1340,00	31419,30
0,24	5152,80	1210,50	14423,18
0,25	9460,25	1220,50	21849,59
0,26	4618,90	1437,00	6656,90
0,27	7139,85	1084,00	19704,89
0,28	6233,50	1536,00	14142,00
0,29	6522,80	1988,50	13275,95
0,30	18864,05	5112,00	29016,59
0,31	7870,80	1875,00	15912,41
0,32	15112,15	2479,00	26466,33
0,33	19755,35	1490,50	33590,82
0,34	12035,55	1457,00	27912,64
0,35	12508,25	1977,00	22225,16
0,36	27157,75	2184,00	40745,68
0,37	15692,45	2025,50	26031,18
0,38	32606,10	11339,00	46922,67
0,39	20637,75	2431,00	34177,14
0,40	28789,30	2783,00	43029,63
0,41	33128,35	11327,50	35570,05
0,42	24635,75	3764,50	38966,07
0,43	48523,60	30187,50	45381,72
0,44	39680,50	27414,00	44813,58

0,45	53307,25	57383,50	43129,17
0,46	45324,55	50000,50	36970,16
0,47	56295,50	45240,50	52751,76
0,48	29184,90	4357,00	37580,30
0,49	43521,55	40097,50	39473,45
0,50	67991,00	87174,50	43611,18
0,51	58929,80	63519,00	48289,84
0,52	48472,75	45740,50	41317,02
0,53	78701,35	89515,00	41148,37
0,54	75756,00	82762,00	43629,62
0,55	84121,35	84672,50	45226,77
0,56	81675,85	82118,50	39178,69
0,57	77921,30	84973,50	64216,54
0,58	92691,30	87869,50	30504,79
0,59	90620,50	89444,00	43713,41
0,60	93892,30	86003,00	46213,61
0,61	76790,45	88955,50	45916,99
0,62	85630,80	80984,50	48923,95
0,63	88003,10	80326,00	50775,55
0,64	88101,65	90040,00	56284,61
0,65	93941,75	103647,00	49033,34
0,70	104797,65	94560,00	49013,25
0,80	115297,25	103147,50	41654,71
0,90	103742,65	103787,50	36369,10
1,00	114409,40	111349,00	44456,98

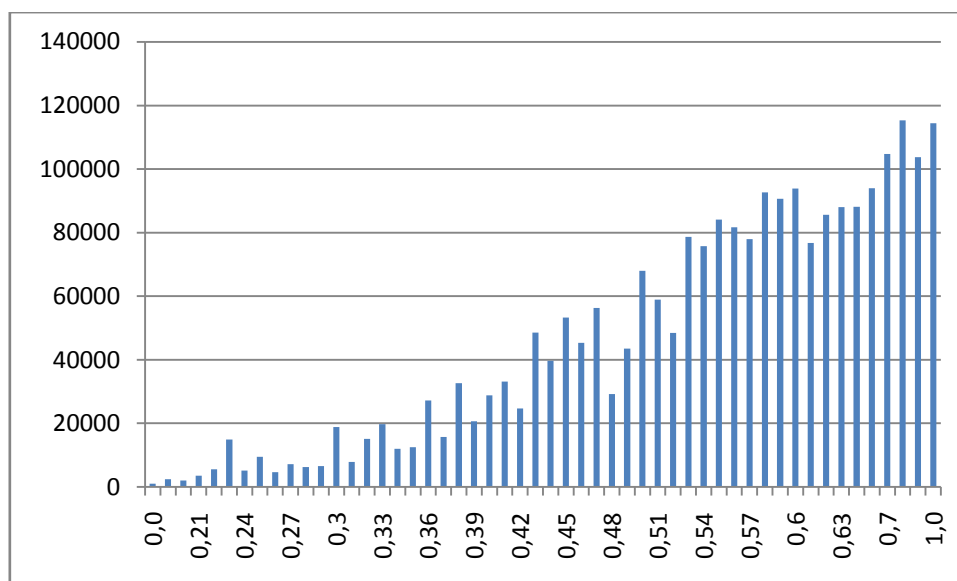


Figura 13 - Gráfico das médias, das 20 simulações, do número máximo de T. cruzi, para cada fator de escape.

4.2.2 Análise do número de T. cruzi no fim

Em 418 das 1040 simulações o número de T. cruzi no fim foi zero (eliminação total), dos casos em que não zerou o maior valor observado foi

147784,00 e ocorreu com fator de escape igual a 0,62%. A média geral, para todos os valores de fator de escape, foi 14340,85 com desvio padrão de 22298,61. Em 28 casos, o desvio padrão foi maior que a média.

Tabela 4. Dados estatísticos do número de T. cruzi no fim.

Fator de escape (%)	Média	Mediana	Desvio Padrão	Eliminações totais
0,00	0,00	0,00	0,00	20
0,10	0,00	0,00	0,00	20
0,20	0,00	0,00	0,00	20
0,21	0,10	0,00	0,45	19
0,22	0,30	0,00	1,13	18
0,23	965,50	0,00	4246,93	17
0,24	30,55	0,00	136,62	19
0,25	793,40	0,00	3498,02	17
0,26	7,20	0,00	27,89	17
0,27	169,35	0,00	755,95	18
0,28	248,20	0,00	1109,28	18
0,29	4,05	0,00	17,18	17
0,30	2083,00	0,00	7005,67	13
0,31	551,70	0,00	2415,34	14
0,32	797,20	0,00	2674,13	14
0,33	2930,20	0,00	8052,13	13
0,34	1621,60	0,00	5916,66	12
0,35	1451,90	0,00	4920,20	12
0,36	8590,10	1,00	17967,73	9
0,37	4051,15	0,00	11045,92	12
0,38	4667,30	517,00	8285,60	6
0,39	4693,05	0,00	9141,51	11
0,40	6005,75	17,00	10893,02	8
0,41	5672,45	205,50	7279,13	8
0,42	5524,45	22,00	10520,16	9
0,43	13211,45	6349,00	19797,20	4
0,44	8333,25	2970,00	11128,50	9
0,45	16438,95	11550,50	19374,49	5
0,46	11647,35	12466,50	10431,83	4
0,47	10975,20	6091,00	15315,50	4
0,48	4749,80	409,50	6687,15	7
0,49	12689,65	10422,00	12464,93	3
0,50	20047,70	14633,50	19490,34	2
0,51	14292,95	13603,00	13848,42	5
0,52	12206,55	12892,00	10757,96	2
0,53	19744,90	18163,00	14408,55	1
0,54	26455,10	18723,00	21523,52	2
0,55	25244,15	19166,50	23999,70	0
0,56	29575,45	25642,50	21738,56	1
0,57	24281,50	16741,00	24582,10	2
0,58	32065,25	29039,50	21221,52	0
0,59	36222,80	27241,00	32458,49	1
0,60	33882,20	30100,00	25374,18	0

0,61	22597,00	22482,50	16685,49	1
0,62	41702,55	31371,50	36929,76	0
0,63	32887,25	27208,50	25241,30	1
0,64	33961,60	25871,50	28765,35	2
0,65	38751,55	32467,00	27250,95	0
0,70	29916,55	27622,50	17324,77	1
0,80	45895,55	42687,50	28686,15	0
0,90	44189,50	31263,00	31324,52	0
1,00	52899,70	41090,00	35276,72	0

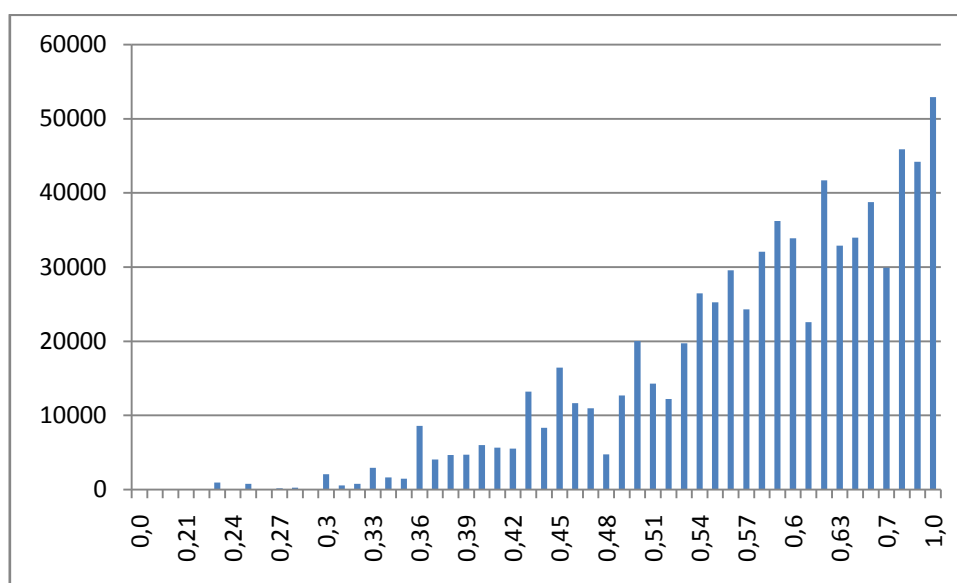


Figura 14 - Gráfico das medias, das 20 simulações, do número de T. cruzi no fim, para cada fator de escape.

O coeficiente de correlação entre as médias do número máximo de T. cruzi e as eliminações totais de T. cruzi, exibidas na Tabela 4 e no gráfico da Figura 15, encontra-se um valor igual a -0,92.

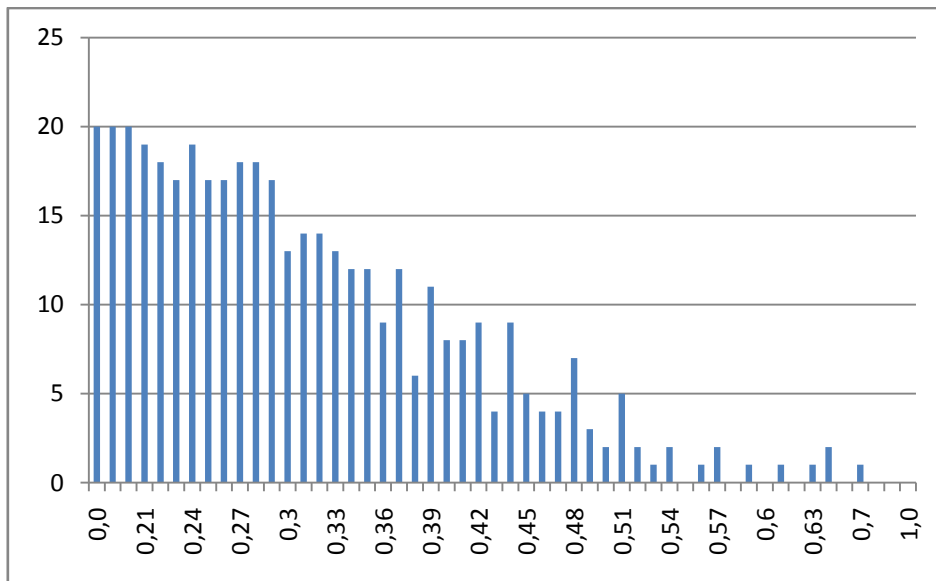


Figura 15 - Gráfico do número de eliminações totais de T. cruzi, dentre as 20 simulações, para cada fator de escape.

4.2.3 Análise do tick que o número de T. cruzi zerou

O menor tick que o número de T. cruzi zerou foi 97 e ocorreu com fator de escape igual a 0,00% e 0,10% já o maior, foi 1819 e ocorreu com fator de escape igual a 0,21%. A média geral, para todos os valores defator de escape, foi 700,12 ticks com desvio padrão de 489,34.

Para os valores defator de escape, em todas as 20 simulações, onde o número de T. cruzi zerou (0,00%, 0,10% e 0,20%), os ticks médios em que isto ocorreu foram, respectivamente 200,65, 331,3 e 476,6. Já as médias do tick que o número de T. cruzi zerou, descartando as simulações onde não zerou, podem ser vistas graficamente na Figura 16, neste gráfico os casos em que o número de T. cruzi não zerou foram desconsiderados, sendo assim, as falhas no gráfico representam fator de escape onde não ocorreu, nas 20 simulações, nenhum caso onde o número de T. cruzi fosse igual a zero no tick 1825.

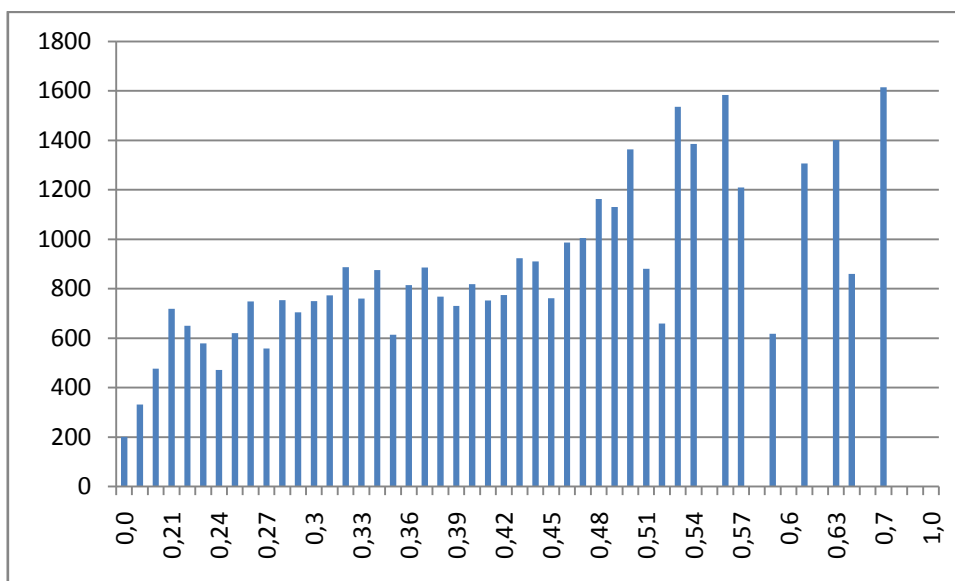


Figura 16 - Gráfico das médias, das 20 simulações, do tick que o número de T. cruzi zerou, para cada fator de escape.

4.2.4 Análise do número máximo de macrófagos

O menor número máximo de macrófagos observado foi 300 e ocorreu com fator de escape igual a 0,00%, 0,20%, 0,21%, 0,27%, 0,29%, 0,31%, 0,36%, 0,44% e 0,46%, já o maior, foi 7484 e ocorreu com fator de escape igual a 0,65% (APÊNDICE V). A média geral, para todos os valores defator de escape, foi 1475,82 com desvio padrão de 1329,90. Em apenas um caso, para os valores de fator de escape igual a 0,42%, o desvio padrão foi maior que a média.

Calculando o coeficiente de correlação entre as médias do número máximo de T. cruzi e as médias do número máximo de macrófagos, exibidas na Tabela 5 e na Figura 17, encontra-se um valor igual a 0,96. Também foi calculado o coeficiente de correlação entre o número de eliminações totais de T. cruzi e as médias do número máximo de macrófagos, resultando em -0,93.

Tabela 5. Dados estatísticos do número máximo de macrófagos.

Fator de escape (%)	Média	Mediana	Desvio Padrão
0,00	352,10	338,50	41,57
0,10	378,40	356,50	45,45
0,20	415,80	380,50	144,97
0,21	427,70	379,50	129,60
0,22	437,30	369,00	166,62
0,23	617,50	406,00	520,78

0,24	463,70	369,00	349,42
0,25	655,75	434,00	565,80
0,26	549,20	394,00	420,99
0,27	481,55	362,00	390,97
0,28	544,10	375,50	432,27
0,29	518,35	417,00	287,91
0,30	780,55	462,50	524,72
0,31	635,50	448,00	424,85
0,32	830,85	470,00	706,65
0,33	731,40	419,50	655,40
0,34	810,20	435,50	638,75
0,35	760,00	463,00	659,31
0,36	957,35	502,50	747,29
0,37	801,55	480,50	593,86
0,38	1302,95	1251,50	805,32
0,39	844,85	514,00	623,79
0,40	1029,50	656,00	692,38
0,41	1262,15	1122,00	1078,59
0,42	997,25	568,50	1003,31
0,43	1846,25	1730,00	1193,17
0,44	1389,35	1178,50	1063,98
0,45	1710,15	1629,00	1250,11
0,46	1643,45	1658,00	1102,44
0,47	1582,45	1617,50	891,60
0,48	1053,95	888,00	760,15
0,49	1956,85	1567,50	1351,57
0,50	1551,90	1327,00	722,89
0,51	1360,20	1505,00	799,52
0,52	1941,95	1862,50	1509,41
0,53	2022,85	1911,50	1093,19
0,54	2652,70	2499,50	1355,39
0,55	2004,50	1764,00	1245,77
0,56	2504,70	2641,50	1185,98
0,57	2432,35	2143,50	1724,88
0,58	2224,60	2030,50	1030,03
0,59	2586,20	1987,50	1643,41
0,60	3304,75	2793,50	1896,23
0,61	2195,80	1751,50	1496,99
0,62	2745,50	2557,50	1563,25
0,63	2652,75	2181,50	1649,26
0,64	2294,75	2222,00	1384,13
0,65	2526,90	1983,50	1713,55
0,70	2471,35	2679,00	1100,33
0,80	2688,20	2456,50	1351,56
0,90	2795,25	2758,00	1414,78
1,00	3017,60	2697,00	1577,92

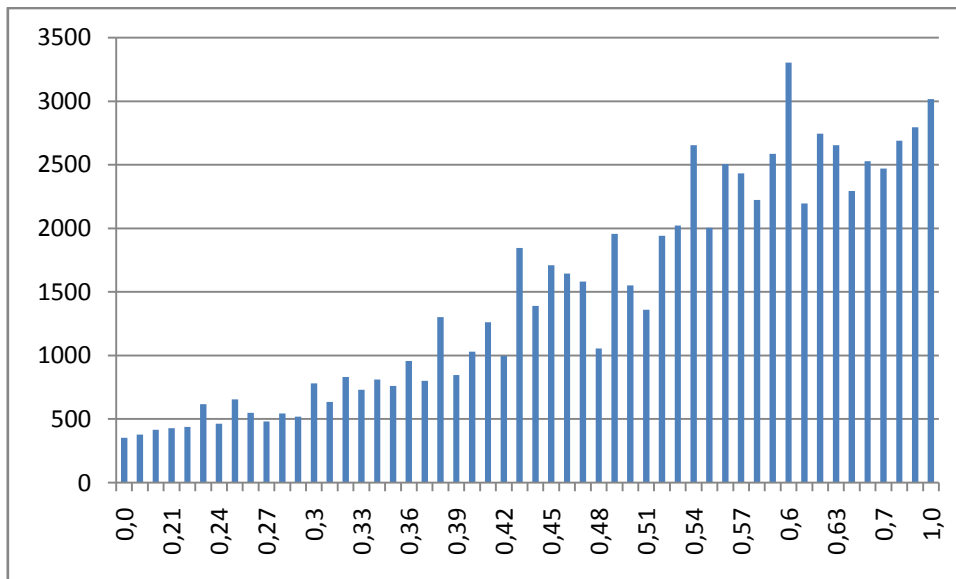


Figura 17 - Gráfico das médias, das 20 simulações, do número máximo de macrófagos, para cada fator de escape.

4.2.5 Análise do número de macrófagos no fim

O menor número de macrófagos no fim observado foi 281 e ocorreu com fator de escape igual a 0,29% e 0,45%, já o maior foi 7458 e ocorreu com fator de escape igual a 0,65%. A média geral, para todos os valores defator de escape, foi 1281,93 com desvio padrão de 1217,20. Em apenas um caso, para os valores de fator de escape igual a 0,42%, o desvio padrão foi maior que a média.

Para comparar as médias do número de T. cruzi no fim e as médias do número de macrófagos no fim, exibidas na Tabela 6 e na Figura 18, foi calculando o coeficiente de correlação entre ambas, resultando em 0,89.

Tabela 6. Dados estatísticos do número de macrófagos no fim.

Fator de escape (%)	Média	Mediana	Desvio Padrão
0,00	349,60	336,00	41,86
0,10	374,80	354,00	46,06
0,20	411,40	375,00	145,87
0,21	420,80	375,00	130,41
0,22	431,30	363,50	166,75
0,23	609,45	398,50	514,01
0,24	455,85	362,00	343,95
0,25	649,60	431,50	563,25
0,26	542,80	387,50	419,48
0,27	467,75	354,50	364,63
0,28	532,00	369,50	413,96
0,29	506,35	410,50	285,04

0,30	762,50	457,50	512,49
0,31	622,00	448,00	417,58
0,32	822,60	467,00	705,22
0,33	703,20	401,00	642,65
0,34	788,80	431,50	624,65
0,35	743,45	460,00	653,87
0,36	888,95	498,50	683,15
0,37	780,45	477,50	583,04
0,38	1238,45	1216,00	743,52
0,39	759,45	503,50	553,95
0,40	912,05	575,50	664,04
0,41	1190,15	912,00	1047,37
0,42	932,20	548,50	974,41
0,43	1727,45	1440,00	1181,96
0,44	1200,00	940,00	1018,32
0,45	1560,70	1288,50	1234,73
0,46	1536,15	1328,50	1098,93
0,47	1319,30	1434,00	789,62
0,48	957,85	658,50	707,62
0,49	1808,95	1376,00	1429,55
0,50	1356,05	1191,00	653,82
0,51	1041,10	895,00	587,06
0,52	1753,90	1374,50	1531,01
0,53	1673,90	1223,00	1107,62
0,54	2237,90	2174,50	1379,22
0,55	1580,00	1538,00	991,54
0,56	2260,95	2312,00	1196,22
0,57	2149,40	1640,00	1622,81
0,58	1846,90	1812,00	893,15
0,59	2227,15	1404,00	1638,06
0,60	3020,45	2759,00	1985,80
0,61	1778,00	1194,50	1543,19
0,62	2406,90	2093,00	1600,55
0,63	2301,05	1845,50	1775,55
0,64	1554,10	1270,50	1064,62
0,65	2239,45	1748,50	1796,95
0,70	1909,15	1567,50	1184,46
0,80	2064,20	1705,00	1389,39
0,90	2079,50	1751,00	1479,77
1,00	2173,95	1658,00	1544,04

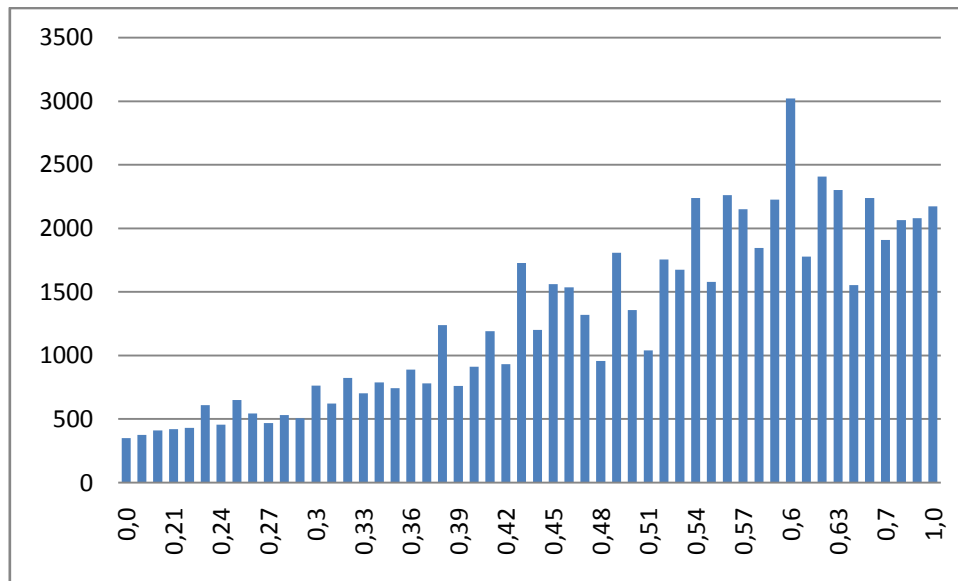


Figura 18 - Gráfico das medias, das 20 simulações, do número de macrófagos no fim, para cada fator de escape.

5. Discussão

Estudos semelhantes, sobre a simulação in silicodas interações entre oT. cruzi e os macrófagos, próprias da DC, não foram encontrados após uma ampla pesquisa no PubMed.Porém, comparando com os estudos in vivo, observou-se que nestas simulações os resultados não diferiram significativamente.

Observando os resultados para o número inicial de T. cruzi igual a 300 e 3000, percebemos a importância da quantidade de cepas inoculadas sobre o desfecho da DC. Como em Borges (2012), observou-se que, a carga de parasitos no tecido está diretamente relacionada com o inóculo utilizado para a infecção.

Os resultados obtidosapóiam a hipótese de que o fator de escape e a eliminação total de T. cruzi estão intimamente ligados, uma vez que, as variações de décimos e até centésimos no fator de escape, tiveram um efeito significativo sobre os resultados das simulações das interações T. cruzi - macrófago na fase aguda da DC.

Na situação simulada, de acordo com as decisões de modelagem, a reação imunológica não deveria acontecer de forma eficaz, uma vez que a resposta imune secundária (com participação de linfócitos e anticorpos) ainda não foi implementada e desencadeada, sendo esta, essencial para conter os níveis de parasitos no hospedeiro(Siqueira-Batista et al. 2007). Fato este que realmente

ocorreu, como era de se esperar, a resposta imune secundária mostrou-se muito importante no combate a infecção pelo parasito causador da DC, uma vez que, na maioria das simulações, apenas a ação tripanocida dos macrófagos não foi suficiente para deter a proliferação e a ação dos patógenos. Ainda assim, mesmo não sendo suficientes, os macrófagos foram capazes (nos casos em que o fator de escape era muito baixo, menos de 1%) de eliminar os parasitos, e em outros casos deter a propagação da infecção estabilizando a quantidade de parasitos, como pode ser observado na Figura 19, onde temos o gráfico do número de parasitos, ao longo dos 1825 ticks, para um inóculo de 300 e escape factor de 0,40%. Neste caso, os agentes T.cruzi, apesar de não proliferarem com êxito (número máximo de T. cruzi igual a 3544), não foram totalmente eliminados pelos agentes macrófagos (número de T. cruzi no fim igual a 30). Isto exemplifica a importância do macrófago na modulação da resposta imune a esta doença, principalmente na fase aguda.

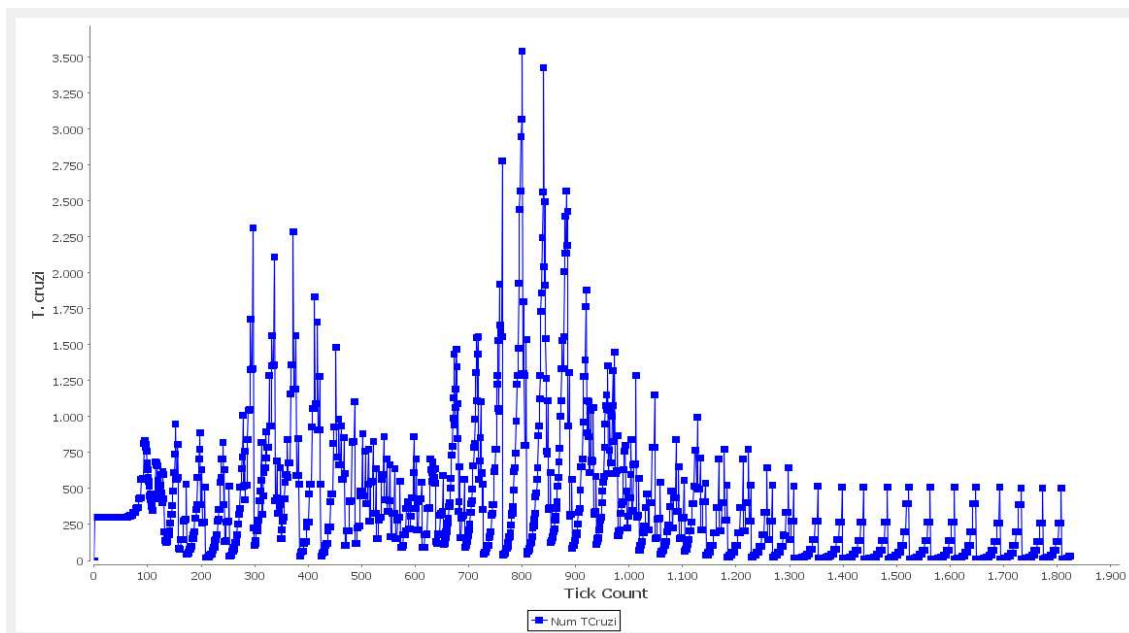


Figura 19 - Gráfico do número de agentes T. cruzi, ao longo dos 1825 ticks, para um inóculo de 300 e escape factor de 0,40%.

Ao calcular o coeficiente de correlação, na Seção 4.2.2, entre as médias do número máximo de T. cruzi e as eliminações totais de T. cruzi, encontrou-se um valor igual a -0,92. Neste caso, podemos dizer que existe uma forte correlação negativa entre esses dados, de modo que, se interpretados à luz da biologia,

podem indicar que quanto maior o pico de parasitemia menores são as chances de se eliminar completamente o parasito. Seguindo a mesma linha, calculando o coeficiente de correlação entre as médias do número máximo de *T. cruzi* e as médias do número máximo de macrófagos, na Seção 4.2.4, encontrou-se um valor igual a 0,96, já entre o número de eliminações totais de *T. cruzi* e as médias do número máximo de macrófagos, o coeficiente encontrado foi -0,93. Logo, pode-se dizer que existe uma forte correlação entre os parâmetros analisados, e esta correlação indica que quanto maior o pico de parasitemia maior a quantidade de macrófagos recrutados para o local da infecção, e sugere também que, quanto maior o número de macrófagos menores são as chances de se eliminar completamente os parasitos. Apesar da última afirmação parecer estranha, ela é facilmente explicada, pelo fato de que, um número maior de macrófagos vem de uma maior proliferação dos agentes *T. cruzi*, daí tem-se a relação negativa com a eliminação total dos parasitos.

Diante dos dados pouco uniformes, como demonstrado na Seção 4.1 e nos gráficos das Figuras 9 e 10, de grandes desvios padrões, em muitos casos maiores que a média, como aludido nas tabelas da Seção 4.2, e apesar da variação dos parâmetros ter gerado resultados que, na maioria das vezes, seguiram a tendência biológica, pode-se constatar que, a propriedade estocástica, para a qual o simulador foi projetado e implementado, se faz presente.

Como observado por Possi (2012), o AutoSimmune ainda está em desenvolvimento. No entanto, o simulador tem sido utilizado na investigação de outras moléstias com resultados promissores, Da Silva et al. (2012) e Bastos et al. (2013), o que aumenta a expectativa de que será possível refinar o modelo, permitindo a criação de uma ferramenta que suporta, cada vez mais, testes de hipóteses em biologia, indicando novas perspectivas para pesquisas *in vitro* e *in vivo*.

Como a modelagem e implementação do AutoSimmune evoluiu com este trabalho, e foram obtidos resultados satisfatórios e consistentes com o descrito na literatura para o ambiente real, o estudo reforçou a validação da abordagem,

utilizando SMA, para modelar e simular as diversas situações que envolvem o sistema imunológico.

Analisando o volume de simulações e comparando com o tempo real, chegamos a uma marca considerável, 546 anos de interações simulados, em 1092 simulações distintas. Caso fossem experimentos em seres vivos, no mínimo, seriam necessárias 1092 cobaias para realizá-lo. Esses dados fortalecem, ainda mais, a importância das técnicas de simulação computacional para a pesquisa científica. Frente aos métodos tradicionais, as simulações mostram-se mais atraentes quantitativamente, pois permitem um elevado número de repetições, e não sofre embargos do ponto de vista ético, pois não utilizam vida animal.

6. Conclusões

Podemos concluir que: o agente *T. cruzi* e as devidas modificações no agente macrófago, foram modelados e implementados, possibilitando o estudo das relações entre estes agentes e destes com as regiões simuladas; o modelo proposto é uma boa aproximação do observado no ambiente real; o nicho e o fator de escape estão diretamente relacionados com o nível de parasitos no decorrer do tempo e, conseqüentemente, com o desfecho da infecção; pequenas variações no fator de escape, têm um grande impacto na fase aguda da DC; foi possível evidenciar a propriedade estocástica do AutoSimmune.

7. Trabalhos futuros

Como possíveis trabalhos futuros, pode-se apontar:

- Seria pertinente pesquisar *in silico/in vitro*, com uma possível análise adicional *in vivo*, o valor real do fator de escape. De posse deste valor, refazer as simulações presentes neste trabalho e comparar os resultados.
- A ativação da resposta imune secundária, tendo em vista a sua importância (SIQUEIRA-BATISTA et al., 2007).
- Após simular a resposta imune secundária, pode-se modelar a fase crônica da DC, com uma possível ação do *T. cruzi* no tecido cardíaco e com foco na autoimunidade. De acordo com o trabalho de Possi et al. (2011), o AutoSimmune comportaria, de forma

satisfatória, estes processos biológicos. Tendo em vista também que, segundo Siqueira-Batista et al. (2007), a Teoria Imunoalérgica/Teoria Auto-Imune, proposta inicialmente por Magarinos Torres, em 1929, seria uma das possíveis causas da DC.

- Quanto ao desempenho do simulador, técnicas como a programação paralela, tanto para melhorar a utilização dos núcleos dos processadores atuais, quanto no caso de uma possível migração para um cluster (com preferência por clusters em nuvem, devido à maleabilidade, escalabilidade, baixo custo e fácil manutenção), tornam-se necessárias para simulações com maior variedade e quantidade de agentes e regiões.
- Ainda visando o desempenho, uma boa opção seria a otimização do processo de difusão de substâncias, utilizando microprocessadores especializados em processamento gráfico, as GPUs (Graphics Processing Unit). Devido às características homogêneas do processo de difusão, descritas detalhadamente por Possi (2012), a utilização de GPUs parece ser um caminho interessante para se alcançar um melhor desempenho.
- Com relação à usabilidade do software AutoSimmune, durante o processo de simulação, ficou visível a necessidade de uma biblioteca para captura de dados. Tarefas como, a captura de imagens das regiões em determinados estágios, geração de gráficos da variação do número de agentes e tabelar alguns parâmetros para todas as simulações, mostraram-se muito demoradas e cansativas. Um mecanismo configurável, que pudesse automatizar este processo, seria essencial em trabalhos com grande quantidade de simulações.

8. Referências

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. **Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico**. [S.l.]: Revinter, 2003. ISBN 85-7309-729-9, 2003.

ALCANTARA, A.; BRENER, Z. **Trypanosoma cruzi: Role of Macrophage Membrane Components in the Phagocytosis of Bloodstream Forms**. EXPERIMENTAL PARASITOLOGY 50, 1-6, 1980.

BARROS-MAZON, S.; GUARIENTO, M. E.; SILVA, C. A.; COFFMAN, R. L.; ABRAHAMSOHN, I. A. **Differential regulation of lymphoproliferative responses to Trypanosoma cruzi antigen in patients with the cardiac or indeterminate form of Chagas disease**. Clinical Immunology. 111, 137– 145, 2004.

BASTOS, C. A.; OLIVEIRA, A. P.; GOMES, A. P.; POSSI, M. A.; SANTANA, L. A.; CERQUEIRA, F. R.; SIQUEIRA-BATISTA, R. **Simulação do sistema imunológico por meio de sistemas multiagentes: um estudo da resposta imune na glomerulonefrite pós-infecciosa (GnPE) por Streptococcus pyogenes**. In: WIM 2013 - XIII Workshop de Informática Médica - XXXIII Congresso da Sociedade Brasileira de Computação, Maceió. Anais do XXXIII Congresso da Sociedade Brasileira de Computação. p. 1093-1102, 2013.

BILATE, A. M. B.; SALEMI, V. M.; RAMIRES, F. J.; BRITO, T.; RUSSO, M.; FONSECA, S. G.; FAE, K. C.; MARTINS, D. G.; SILVA, A. M.; MADY, C.; KALIL, J.; CUNHA-NETO, E. **TNF blockade aggravates experimental chronic Chagas disease cardiomyopathy**. Microbes and Infection 9: 1104e1113, 2007.

BITTENCOURT, A. L. **Placenta chagásica e transmissão da doença de Chagas**. Rev.Inst. Med. Trop. São Paulo 5, 62–67, 1963.

BORDINI, R. H; VIEIRA, R.; MOREIRA, A. F. **Fundamentos de Sistemas Multiagentes**. In: JORNADA DE ATUALIZAÇÃO EM INFORMÁTICA, JAI, 20, Fortaleza. Anais... Fortaleza: Sociedade Brasileira de Computação. v.2, p. 3-41, 2001.

BORGES, D. C. **Diferentes Inóculos Parasitários Determinam a Modulação da Resposta Imune e o Desenvolvimento da Infecção Experimental por Trypanosoma Cruzi**. Universidade Federal do Triângulo Mineiro. Curso de Pós-graduação em Patologia, 2012.

BORGES-PEREIRA, J.; PESSOA, I.; COURA, J. R. **Observações sobre as dejeções e o número de T. cruzi eliminados por diferentes espécies de**

triatomíneos durante a alimentação. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 83 (Suppl. I), 7, 1988.

CARLIER, V.;TORRICO, F. **Colóquio Internacional Infección Congênita por Trypanosoma cruzi:** desde los mecanismos de transmisión hasta uma estratégia de diagnóstico y control. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 38 (Suppl. II),5–128, 2005.

CARLIER, Y.; DIAS, J.C. P.; LUQUETTI, A. O.; HONTEBEYRIE, M.; TORRICO, F.; TRUYENS, C. **Trypanosomiase Americaine ou maladie de Chagas.** Enciclop. Med. Chirurg 8, 505–520, 2002.

CASTILLO-RIQUELME, M.; GUHL, F.; TURRIAGO, B.**The costs of preventing and treating Chagas disease in Colombia.** PLoS Negl Trop Dis. 2:e336, 2008.

CELENTANO, A. M.;CAPPA, S. M. G. **In vivo macrophage function in experimental infection with Trypanosoma cruzi subpopulations.** Acta Tropica, 55, 171-180, 1993.

COURA, J. R. **Chagas disease: what is known and what is needed:** a background article. Mem Inst Oswaldo Cruz 102 (Suppl. I): 113-122, 2007.

COURA, J. R.; ANUNZIATO, N.; WILLCOX, H. P. F. **Morbidade da doença de Chagas. I.Estudo de casos procedentes de vários estados do Brasil, observados no Rio de Janeiro.** Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 78: 362-372, 1983.

COURA, J. R.; BORGES-PEREIRA, J. **Chagas disease: 100 years after its discovery.** A systemic review. Acta Tropica, 115: 5–13, 2010.

COURA, J. R. **Chagas Disease: Control, elimination and eradication. Is it possible?** Mem Inst. Oswaldo Cruz, 108: 962-967,2013.

DA SILVA, C. C.;OLIVEIRA, A. P.;POSSI, M. A.;CERQUEIRA, F. R.;GOMES, A. P.;SANTANA, L. A.;SIQUEIRA-BATISTA, R. **Immune system simulation: Modeling the mast cell.** In Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), IEEE International Conference on (pp. 1-4), 2012.

DIAS, J. C. P. Doença de Chagas em Bambuí, Minas Gerais, Brasil. **Estudo clínico-epidemiológico a partir da fase aguda, entre 1940 e 1982.** PhD Thesis. Universidade Federal de Minas Gerais, 376 pp, 1982.

DIAS, J. C. P. **Acute Chagas Disease.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 79: 85–79, 1984.

- DIAS, J. C. P.; COURA, J. R. **Clínica e Terapêutica da doença de Chagas**. Uma abordagem prática para o clínico geral. Rio de Janeiro, Editora FIOCRUZ, pp. 33-64, 1997.
- DIAS, J.C. P.; MACEDO, V. O. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, pp. 557–593, 2005.
- DORIA FILHO, U. **Introdução à bioestatística: para simples mortais**. 7ª reimpressão. São Paulo: Elsevier, p. 121-129, 1999.
- FIGUEREDO, G. P.; AICKELIN, U.; SIEBERS, P. O. **Investigating mathematical models of immuno-interactions with early-stage cancer under an agent-based**. BMC Bioinformatics 14(Suppl 6), S6, 2013.
- FLOREANO, D.; MATTIUSI, C. **Bio-inspired artificial intelligence: theories, methods, and technologies**. [S.l.]: MIT Press. (Intelligent robotics and autonomous agents series), 2008.
- FOLCIK, V.; AN, G.; OROSZ, C. **The basic immune simulator: an agent-based model to study the interactions between innate and [6] adaptive immunity**. Theoretical biology & medical modelling, v. 4, p. 39, 2007.
- GUTIERREZ, F. R. S.; MINEO, T. W. P.; PAVANELLI, W. R.; GUEDES, P. M. M.; SILVA, J. S. **The effects of nitric oxide on the immune system during Trypanosoma cruzi infection**. Mem Inst Oswaldo Cruz 104 (Suppl. I): 236-245, 2009.
- HIDRON, A.; VOGENTHALER, N.; SANTOS-PRECIADO, J. I. **Cardiac involvement with parasitic infections**. Clin Microbiol Rev. 23:324–49, 2010.
- HÜBNER, J. F.; BORDINI, R. H.; VIEIRA, R. **Introdução ao Desenvolvimento de Sistemas Multiagentes com Jason**. [S.l.], 2004. Disponível em: <<http://www.das.ufsc.br/~jomi/pubs/2004/Hubner-eriPR2004.pdf>>. Acesso em: 15/01/2013.
- HUA LI, X.; XUAN WANG, Z.; YANG LU, T.; JIU CHE, X. Modelling immune system: Principles, models, analysis and perspectives. **Journal of Bionic Engineering** 6 (1) (2009) 77 { 85. doi:[http://dx.doi.org/10.1016/S1672-6529\(08\)60101-8](http://dx.doi.org/10.1016/S1672-6529(08)60101-8)}.
- LARANJA, F. S.; DIAS, E.; NÓBREGA, G.; MIRANDA, A. **Chagas' Disease. A clinical, epidemiologic and pathologic study**. Circulation 14: 1035-1060, 1956.

LEE, B. Y.; BACON, K. M.; BOTTAZZI, M. E.; HOTEZ, P. J. **Global economic burden of Chagas disease: a computational simulation model.** *Lancet Infect Dis.* 13:342–8, 2013.

MATHERS, C. D.; EZZATI, M.; LOPEZ, A. D. **Measuring the burden of neglected tropical diseases: the global burden of disease framework.** *Negl Trop Dis*;1:e114, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE DO BRASIL. Secretaria Nacional de Vigilância em Saúde. Sistema de Notificação de Agravos de Notificação (SINAN). **Doença de Chagas Aguda.** Manual Prático de Subsídio à Notificação Obrigatória no SINAN, 2008.

NUNES, M. C. P.; DONES, W.; MORILLO, C. A.; ENCINA, J. J.; RIBEIRO, A. L. **Chagas Disease: An Overview of Clinical and Epidemiological Aspects.** Council on Chagas Disease of the Interamerican Society of Cardiology. *J Am Coll Cardiol*; 62:767–76, 2013.

O'DALY, J. A.; RODRIJEZ, M. B.; GARLIN, G. **Trypanosoma cruzi: Growth Requirements at Different Temperatures in Fetal Bovine Serum or Peptide Supplemented Media.** *Experimental Parasitology.* 64, 78-87, 1987.

PARKER, E. R.;SETHI, A. **Chagas Disease: Coming to a Place Near You.** *Dermatol Clin* 29, 53–62, 2011.

PINHEIRO, V. M. **Respostas imunes primária e secundária de células mononucleares do sangue periférico, in vitro, de indivíduos não infectados e de pacientes com doença de Chagas, estimuladas com antígenos de Trypanosoma cruzi.** Faculdade de Medicina. Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

PITTELLA, J. E. H. **O processo de avaliação em ciência e a indicação de Carlos Chagas ao prêmio Nobel de Fisiologia ou Medicina.** *Rev Soc Bras Med Trop.* 42(1):67-72, 2009.

POSSI, M. A.;OLIVEIRA, A. P.;CHAVES, C. M. G.; CERQUEIRA, F. R.; ARROYO, J. E. C. **An in-silico immune system model for investigating human autoimmune diseases.** In: XXXVII Conferencia Latinoamericana de Informática (XXXVII CLEI). [S.l.: s.n.], 2011.

POSSI, M. A. **Uma Ferramenta Para Simulação Do Sistema Imunológico, Através De Sistemas Multiagentes: Um Caso De Estudo Da Autoimunidade.** Departamento de informática da Universidade Federal de Viçosa, 2012.

RASSI, A. Jr.;RASSI, A.;REZENDE, J. F. **American Trypanosomiasis (ChagasDisease)**. Infect Dis Clin N Am 26, 275–291, 2012.

RASSI, A. Jr.; RASSI, A.; MARIN-NETO, J. A. **Chagas disease**. Lancet. 375:1388–402, 2010.

RASSI, A. Jr.;RASSI A.;LITTLE, W. C. **Chagas' heart disease**. Clin Cardiol. 23:883–9, 2000.

REY, L. **Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais/** Luís Rey. – 4.ed. – Rio de Janeiro: Guanabara koogan. II, 2008.

RIBEIRO, B. M.; CREMA, E.; RODRIGUES, Jr. V. **Analysis of the cellular immune response in patients with the digestive and indeterminate forms of Chagas' disease**. Human Immunology. 69, 484-489, 2008.

RODRIGUES, W. F.; MIGUEL, C. B.; CHICA, J. E. L.; NAPIMOGA, N. H. **15d-PGJ modulates acute immune responses to Trypanosoma cruzi infection**. Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 105 (2): 137-143, March, 2010.

RUSSO, M.;STAROBINAS, N. **Macrophage activation and resistance to Trypanosoma cruzi infection**. Research in Immunology. V. 142, Issue 2, P. 144–146, 1991.

SCHMUNIS, G. A. **Epidemiology of Chagas disease in non-endemic countries: therole of international migration**. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 102 (Suppl. I), 75–85, 2007.

SILVA, G. C.; NAGIB, P. R. A.; CHIARI, E.; ROOIJEN, N. V.; MACHADO, C. R. S.; CAMARGOS, E. R. S. **Peripheral macrophage depletion reduces central nervous system parasitism and damage in Trypanosoma cruzi-infected suckling rats**. Journal of Neuroimmunology. 149, 50–58, 2004.

SIQUEIRA-BATISTA, R.;CORRÊA, A. D.;GOMES, A. P.;GELLER, M. **Moléstia de Chagas**.2^a ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2007.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; GELLER, M. **Role of TCD4+ and TCD8+ lymphocytes in the immune response to Trypanosomacruzi**.Revista Brasileira de Medicina (Rio de Janeiro), v. 65, p. 219-222, 2008.

STORINO, R.; MILEI, J. **Enfermedad de Chagas**. Buenos Aires, Mosby Editora, 652 p., 1994.

WEISSTEIN;ERIC, W. “**Moore Neighborhood.**” From MathWorld—A Wolfram Web Resource. c1999-2014 [updated 2014 jan 13; cited 2014 jan 16]. Available from: <http://mathworld.wolfram.com/MooreNeighborhood.html>.

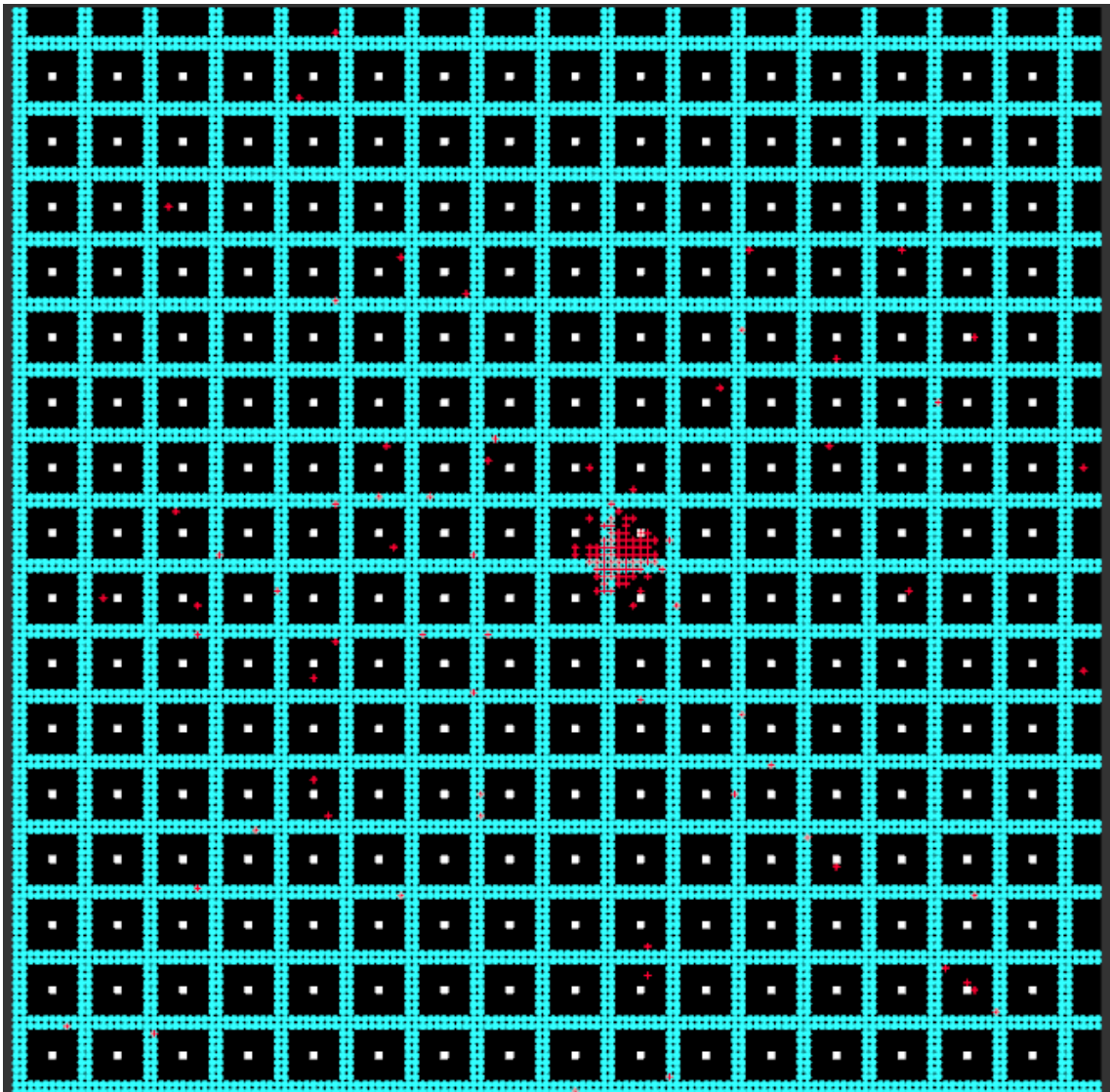
WEISS, G. (Ed.). **Multiagent systems: a modern approach to distributed artificial intelligence.** [S.l.]: The MIT Press, 1999. ISBN 0-262-23203-0.

WOOLDRIDGE, M. J. **An introduction to multiagent systems.** 1. ed. [S.l.]: John Wiley & Sons, 2001. ISBN 047149691X.

WOOLDRIDGE, M. J.; JENNINGS, N. R. **Intelligent Agents: theory and practice.** The Knowledge Engineering Review, Cambridge, v.10, n.2, p.115-152, 1995.

APÊNDICE I

Imagem da zona Tissue no tick 1825 em uma simulação com número inicial de T. cruzi igual a 300 e fator de escape igual a 0,52%. Neste caso, todos os agentes T.cruzi já haviam sido eliminados, restando apenas os agentes macrófagos (representados por uma cruz vermelha), células do tecido parenquimatoso (círculos verdes) e os portais de migração (quadrados brancos).



APÊNDICE II

Gráfico da variação de agentes T. cruzi, simulação com número inicial de T. cruzi igual a 300 e fator de escape igual a 0,52%. Neste caso, a eliminação total dos agentes T.cruzi ocorreu no tick358.

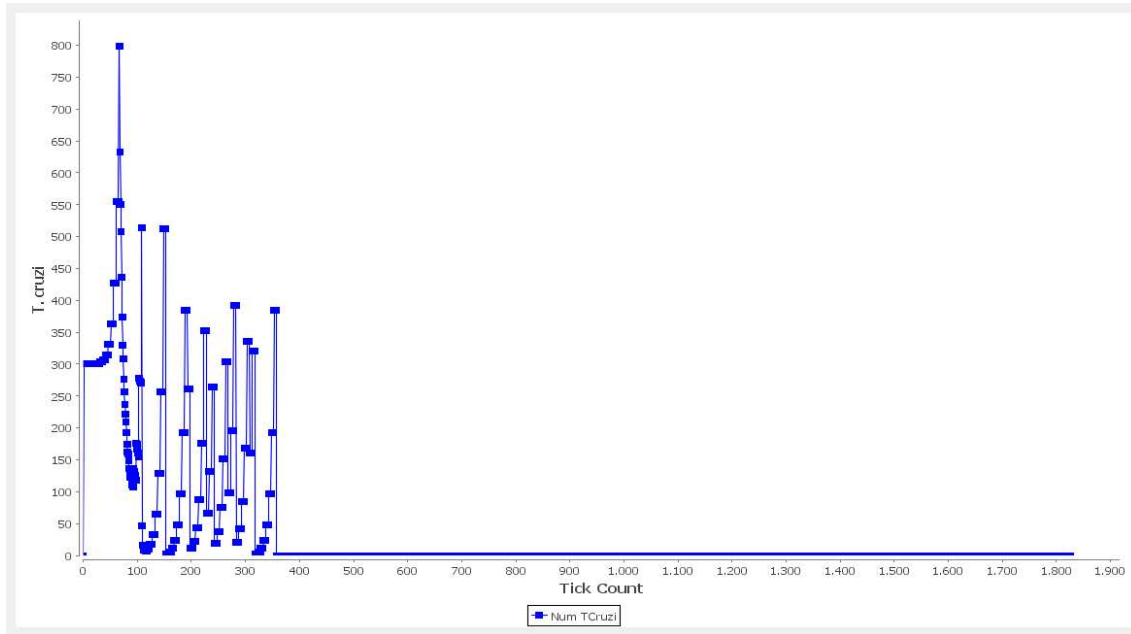
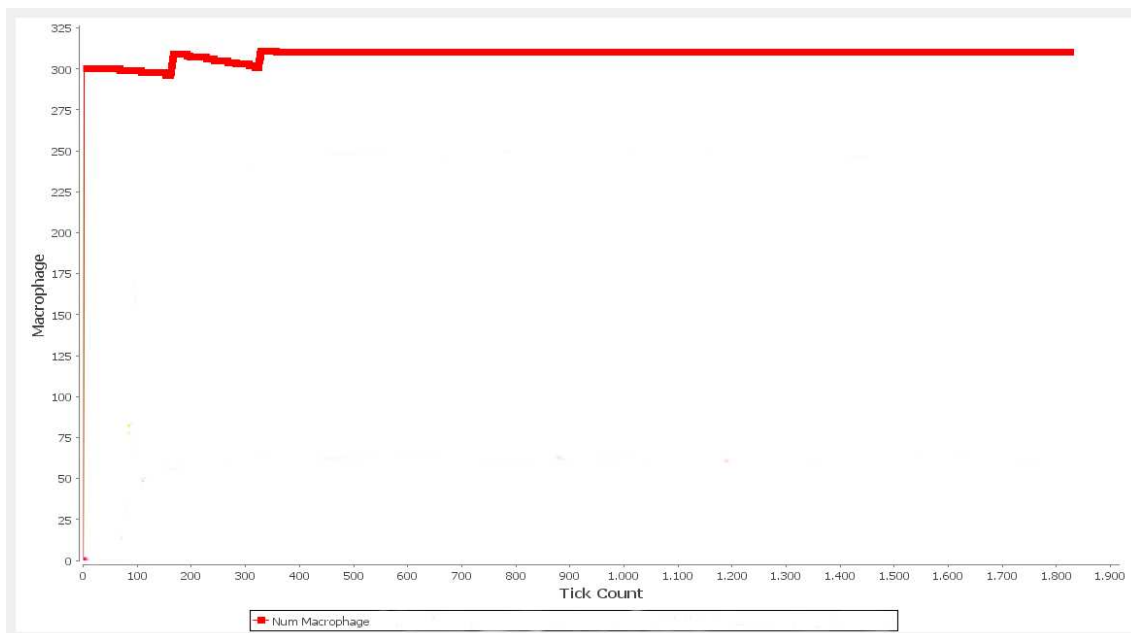
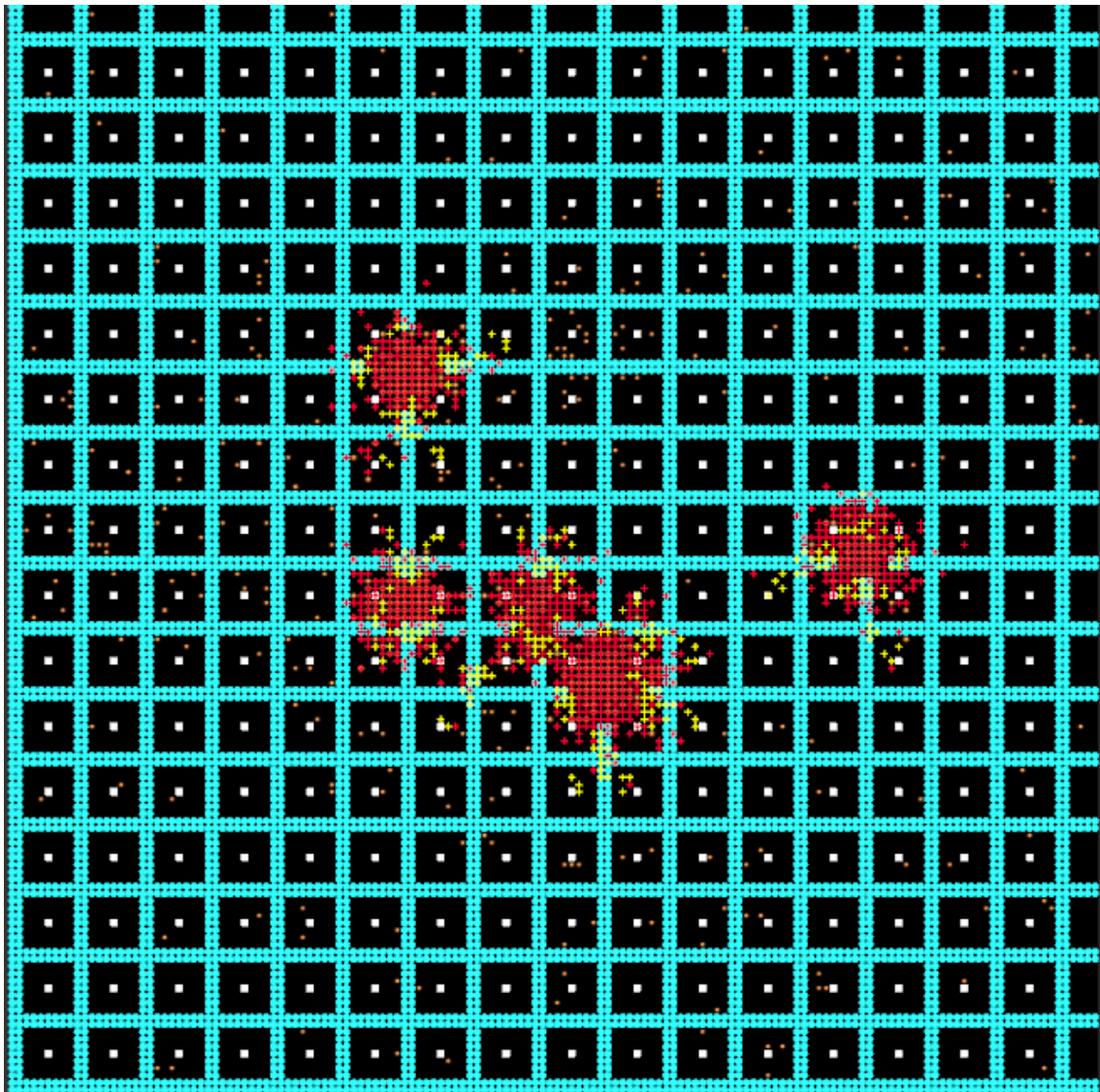


Gráfico da variação de agentes macrófagos, simulação com número inicial de T. cruzi igual a 300 e fator de escape igual a 0,52%. Neste caso, o número máximo foi 311, no tick 1825 eram 310 macrófagos.

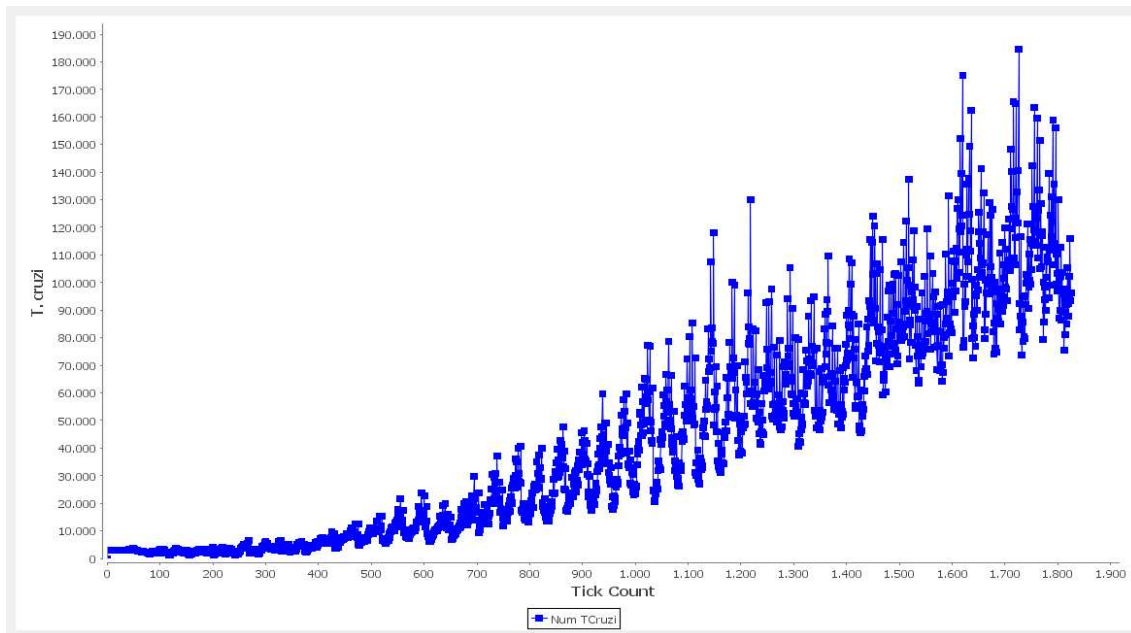


APÊNDICE III

Imagem da zona Tissue no tick 1825 em uma simulação com número inicial de T. cruzi igual a 3000 e fator de escape igual a 0,52%. Neste caso, o número de T. cruzi no fim foi 96294. Os agentes T. cruzi estão representados por pontos laranja, agente macrófagos por cruces vermelhas, células do tecido parenquimatoso por círculos verdes e portais de migração por quadrados brancos. Neste caso, também podemos observar agentes que representam células natural killer citotóxicas (cruces amarelas), seu modelo foi proposto e discutido por Possi (2012).

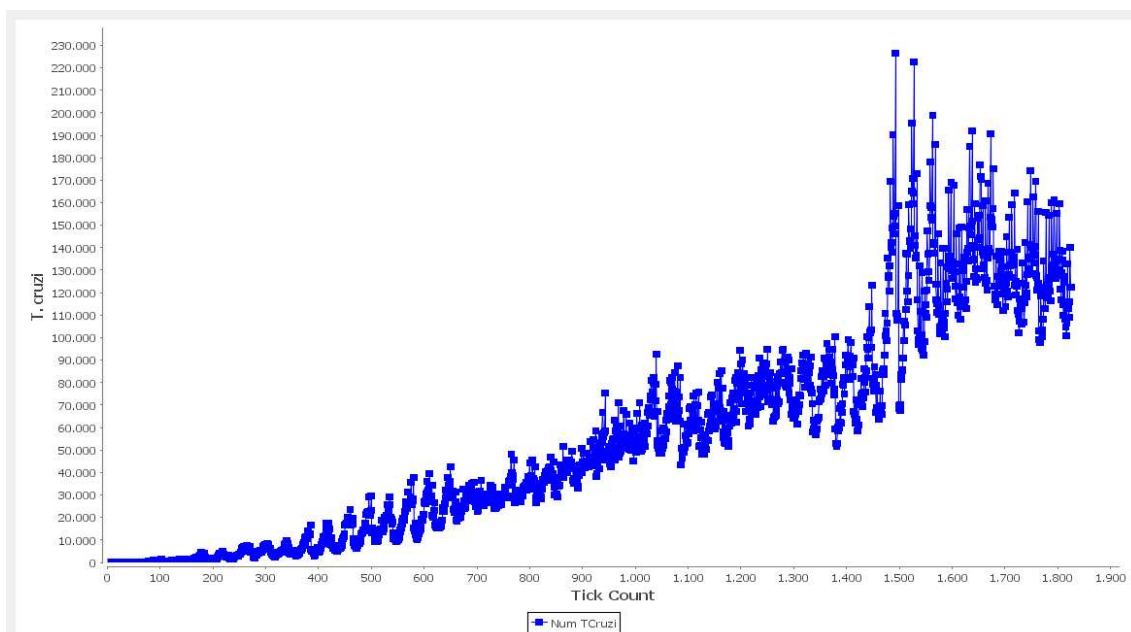
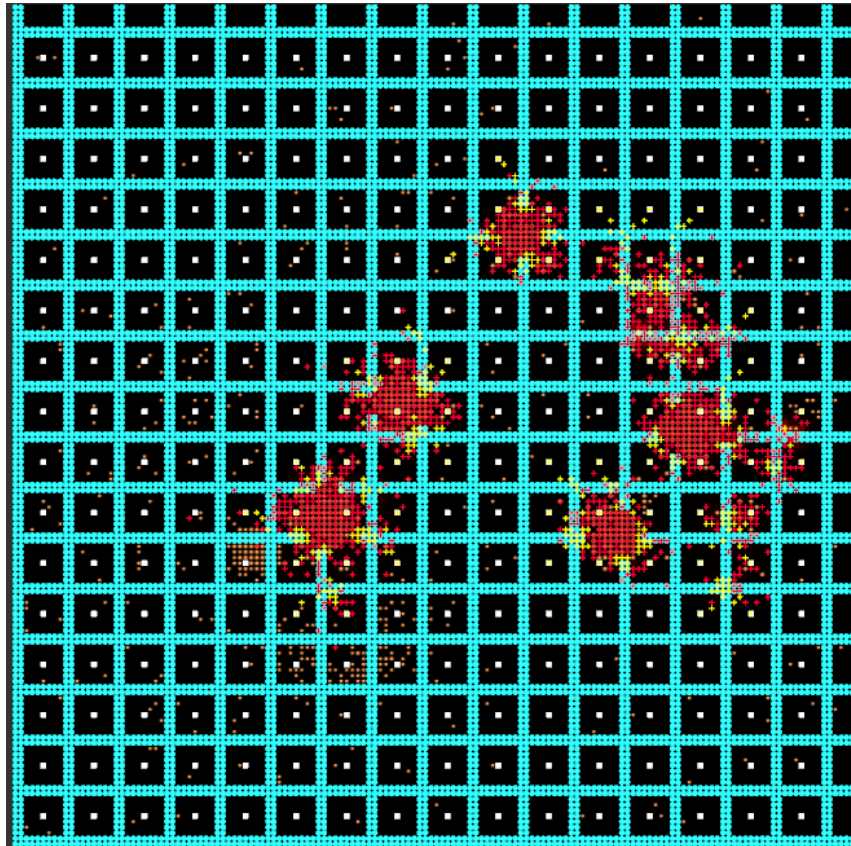


Abaixo temos um gráfico da variação de agentes T. cruzi, simulação com número inicial de T. cruzi igual a 3000 e fator de escape igual a 0,52%. Neste caso, o número máximo de T.cruzifoi 184655.



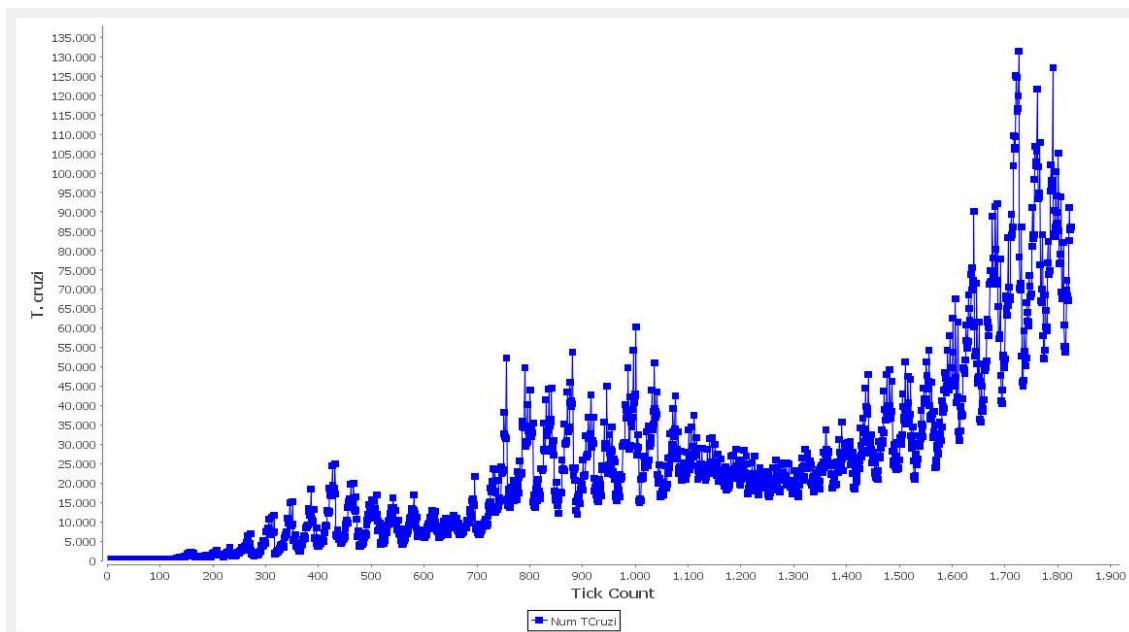
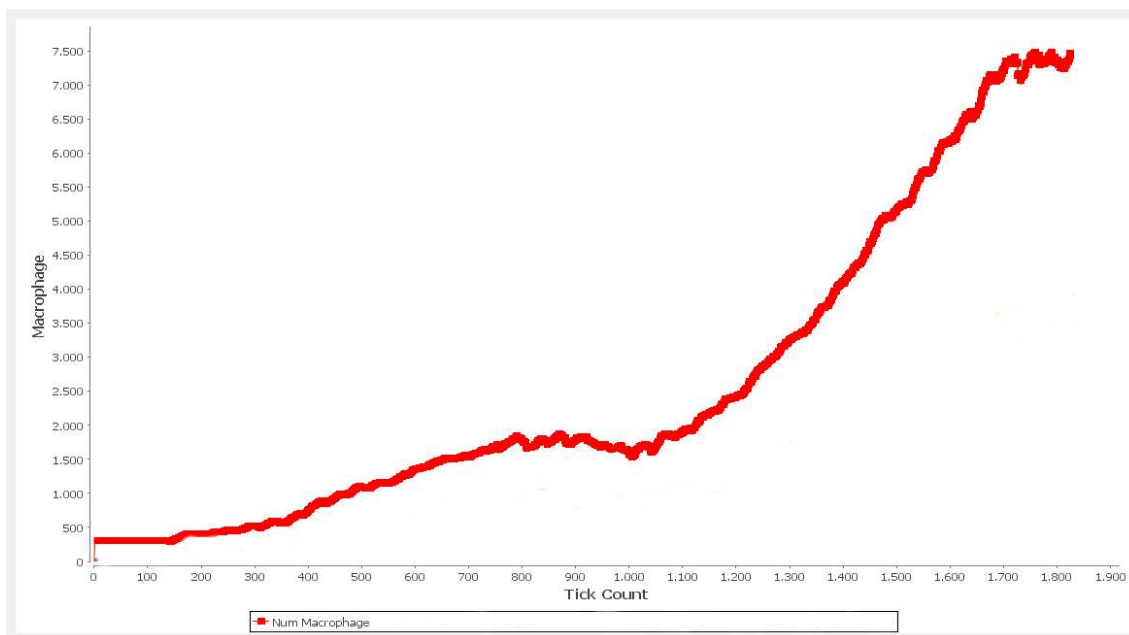
APÊNDICE IV

Imagens da zona Tissue, no tick 1825, e do gráfico de variação dos agentes T.cruzi, em uma simulação com número inicial de T. cruzi igual a 300 e fator de escape igual a 0,80%. Neste caso, o número máximo de T. cruzi foi 226628 e o número de T. cruzi no fim é igual a 122328.



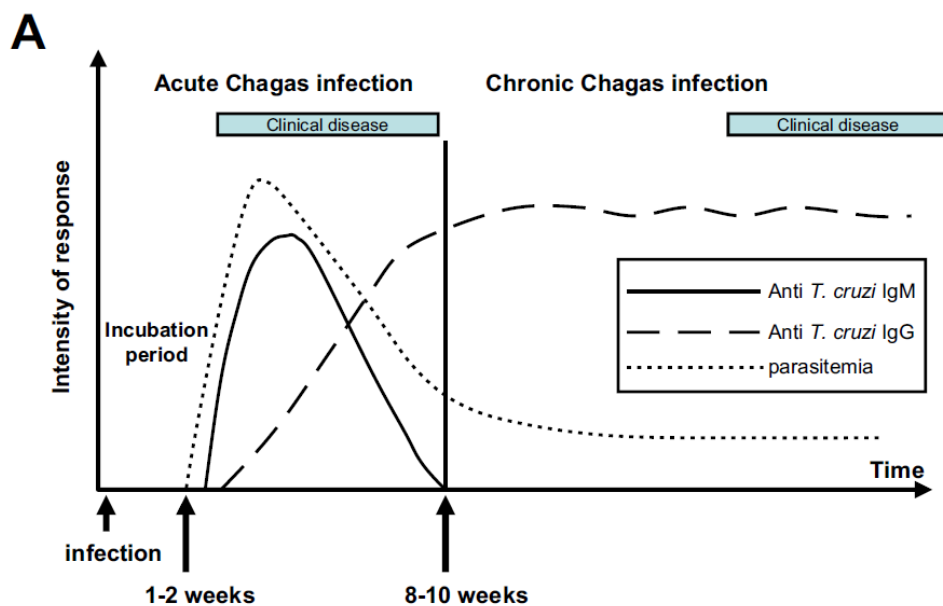
APÊNDICE V

Gráficos da variação de agentes macrófagos e agentes T. cruzi, simulação com número inicial de T. cruzi igual a 300 e fator de escape igual a 0,65%. Neste caso, o número máximo de macrófagos foi 7484, já o número de macrófagos no fim foi de 7458. O número máximo de T. cruzi foi 131527 e o número de T. cruzi no fim foi 86116.

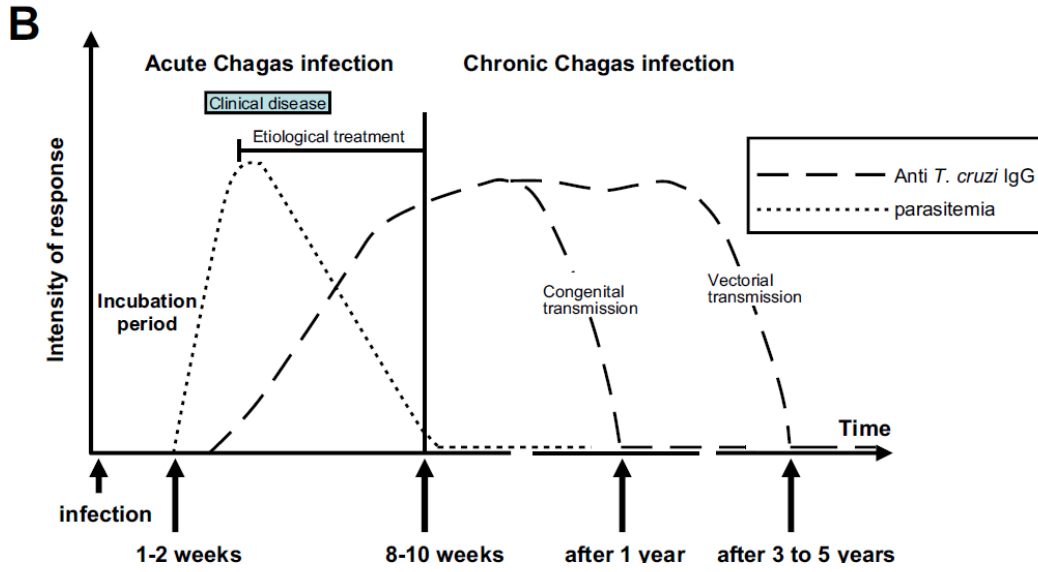


ANEXO I

Gráficos da evolução sorológica e parasitológica na infecção chagásica aguda. O gráfico A, pacientes não tratados uma a duas semanas após a infecção por *T. cruzi*, passam por uma fase aguda que durar cerca de dois meses, e é caracterizada por parasitemia intensa, níveis elevados de anti-*T. cruzi* anticorpos IgM e níveis crescentes de G (IgG) de imunoglobulina; com a resolução da infecção aguda, parasitemia e anticorpos IgM atingem o seu nível máximo, persistindo elevada ao longo da vida. Já o gráfico B, pacientes tratados e curados. A resolução da fase aguda é acompanhada por remoção da parasitemia, que pode ocorrer imediatamente após tratamento etiológico e por conversão para negatividade da sorologia, que ocorre depois de cerca de um ano para a forma congênita e após 3 a 5 anos para a forma transmitida por vetores. Pacientes tratados e não curados apresentam resposta semelhante à dos pacientes não tratados.



Fonte: (RASSI et al., 2012).



Fonte: (RASSI et al., 2012).