

ADEMIR NUNES RIBEIRO JÚNIOR

**SISTEMA IMUNE ARTIFICIAL: MODELAGEM COMPUTACIONAL DA
INFECÇÃO POR *Plasmodium falciparum* NA MALÁRIA TRANSFUSIONAL**

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

Orientador: Luiz Alberto Santana

Coorientadores: Andréia Patricia Gomes
Rodrigo Siqueira Batista

**VIÇOSA – MINAS GERAIS
2019**

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

T

Ribeiro Junior, Ademir Nunes, 1989-
R484s Sistema imune artificial : modelagem computacional da
2019 infecção por *plasmodium falciparum* na malária transfusional /
Ademir Nunes Ribeiro Junior. – Viçosa, MG, 2019.
58f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Luiz Alberto Santana.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Malária. 2. Sistema imunológico. 3. Inteligência Artificial. 4. Plasmodium. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Medicina e Enfermagem. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. II. Título.

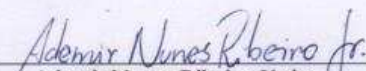
CDD 22 ed. 616.9362

ADEMIR NUNES RIBEIRO JÚNIOR


**SISTEMA IMUNE ARTIFICIAL: MODELAGEM COMPUTACIONAL DA
INFECCÃO POR *Plasmodium falciparum* NA MALÁRIA TRANSFUSIONAL**

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

APROVADO: 19 de junho de 2019.



Ademir Nunes Ribeiro Júnior
Autor



Luiz Alberto Santana
Orientador

**Aos amores, expressos em Deus, família e amigos
em cada beijo, abraço e carinho. Aos amores!**

AGRADECIMENTOS

Não há palavras que sejam capazes de expressar toda minha gratidão aos que, de perto ou longe, me deram o suporte para concluir esse trabalho.

Agradeço à Deus pelo dom da vida. Agradeço aos meus pais, Ademir e Ecy, que sempre acreditaram em mim e, em toda minha vida, incentivaram aos estudos. Agradeço às irmãs Glayzi e Aline e irmãos Cristiano e Naor, por me darem esperança na família. Aos sobrinhos Lara, Hugo e aqueles que virá, que me abastecem de carinho e amor. À tantos amigos, os que sofreram de perto essa fase tão intensa, os que dividem o teto, os que dividem café, os que dividem sonhos e planos, ao que divide amor – com o receio de não citar todos os que merecem estar aqui, destaco, apenas alguns nomes – Jean, Anderson, Brenda e Pamela. Em especial, agradeço ao mentor Rodrigo, que me fez amar a ciência.

RESUMO

RIBEIRO JÚNIOR, Ademir Nunes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2019. **Sistema imune artificial: modelagem computacional da infecção por plasmodium falciparum na malária transfusional.** Orientador: Luiz Alberto Santana. Coorientadores: Andréia Patrícia Gomes e Rodrigo Siqueira-Batista.

A malária é uma das doenças infecciosas parasitárias de maior relevância a nível mundial, tendo como agente causador, o protozoário Plasmodium. A forma mais comum de infecção por malária se dá pela picada do mosquito Anopheles, entretanto essa não é a única forma de contágio, uma vez que também pode ser transmitida pela transfusão de sangue infectado. Esse estudo tem o intuito de desenvolver um modelo computacional da malária utilizando o AutoSimmune – software com sistema baseado em agentes – para simulação da resposta imune ao Plasmodium falciparum. O Software utilizado para realizar a simulação foi devidamente programado para conter ambiente, tempo, espaço, zonas com migrações e agentes que respondessem de modo a se comportar similarmente ao Sistema Imunológico. Os agentes foram construídos para simular o comportamento das células e estruturas orgânicas: macrófagos, linfócitos TCD4, linfócitos B, eritrócitos, anticorpos e Plasmodium falciparum. Tendo as quantidades reais dessas estruturas como base de estudo, foram modelados sistemas com valores equivalentes que tentassem promover uma simulação similar ao comportamento orgânico. A simulação gerou gráficos que permitiu observar o comportamento dos agentes diante da evolução da infecção. Apesar de alguns valores extremos, o comportamento dos agentes foi condizente com o fenômeno real. Os resultados desse trabalho podem apoiar o desenvolvimento e aprimoramento de um simulador que responda de maneira equiparável à uma resposta imune à infecção por malária falcípara e que seja capaz de, até mesmo, investigar formas terapêuticas para tal doença.

Palavras chaves: Malaria. Sistema Imune. Inteligência Artificial. Plasmodium.

ABSTRACT

RIBEIRO JÚNIOR, Ademir Nunes, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2019. **Artificial immune system: computer modeling of plasmodium falciparum infection in transfusional malaria.** Adviser: Luiz Alberto Santana. Co-advisor: Rodrigo Siqueira-Batista and Andréia Patrícia Gomes.

Malaria is one of the most important parasitic infectious diseases in the world, with the protozoan Plasmodium as its causative agent. The most common form of malaria infection is by the bite of the Anopheles mosquito, though this is not the only form of infection, it can also be transmitted by transfusion of infected blood. This study aims to find an alternative in malaria research through the development of a computer simulation using artificial intelligence with a multi-agent system that is capable of achieving responses comparable to the real phenomena of Plasmodium falciparum infection. The software used to perform the simulation was properly programmed to contain environment, time, space, zones with migrations and agents that responded to behave similarly to the Immune System. The agents were made to simulate the behavior of the cells and organic structures: macrophages, TCD4 lymphocytes, B lymphocytes, erythrocytes, antibodies and Plasmodium falciparum. Equations were used to quantify the agents and to promote a simulation equivalent to the organic behavior. The simulation generated graphs that allowed to observe the behavior of the agents before the evolution of the infection. Despite some extreme values, the behavior of the agents was consistent with the real phenomena.

Keywords: Malaria. Immune System. Artificial Intelligence. Plasmodium.

LISTA DE ABREVIATURAS

IAD – inteligência artificial distribuída

CAS – Sistemas Adaptativos Complexos

SI – Sistema Imunológico

SMA – Sistemas Multiagentes

MTT – Malária Transmitida por Transfusão

LISTA DE QUADROS

IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM: IN SILICO
STUDY

Table 1. Environment Characterization in AutoSimmune.....	44
Table 2. Agents and their characteristics.....	48

LISTA DE FIGURAS

BREVE ESTUDO SOBRE A SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL COM SISTEMAS MULTIAGENTES

Figura 1. Ilustração da estrutura do espaço definido por uma projeção de Grid.....	20
Figura 2. Vizinhança de Moore.....	20
Figura 3. Ilustração de um espaço toroidal.....	21

INVESTIGAÇÃO IN SILICO DA MALÁRIA FALCÍPARA: ESTADO ATUAL E PERSPECTIVAS

Figura 1. Máquina de estados do Plasmodium falciparum.....	33
Figura 2. Máquina de estados do eritrócito.....	34
Figura 3. :Experiemento 1 - Simulação de eritrócito sem nenhum agente etiológico: Comportamento de eritrócito no baço nas contagens de 100 mil (a) e 500 mil (b). Comportamento de eritrócito no cérebro nas contagens de 100 mil (c) e 500 mil (d). Comportamento de eritrócito na circulação nas contagens de 100 mil (e) e 500 mil (f).	35
Figura 4. : Simulação do comportamento de Plasmodium na circulação com as contagens de 5(a), 10 (b) e 25 (c).....	36
Figura 5. Simulação da infecção com $n = 187.500$ eritrócitos e $n = 6$ Plasmodium no baço (a), cérebro (b) e circulação (c).	37

IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM: IN SILICO STUDY

Figure 1. Illustration of the space structure defined by a Grid-type projection.....	45
Figure 2. Moore's neighborhood.....	45
Figure 3. Illustration of a toroidal space.....	46
Figure 4. Graph of spleen representation.....	51
Figure 5. Graph of spleen representation.....	52

SUMÁRIO

1- APRESENTAÇÃO	11
2- INTRODUÇÃO GERAL	12
3- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	15
4- OBJETIVO:	16
5- PRODUTOS FINAIS	17
BREVE ESTUDO SOBRE A SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL COM SISTEMAS MULTIAGENTES	17
INVESTIGAÇÃO IN SILICO DA MALÁRIA FALCÍPARA:	22
ESTADO ATUAL E PERSPECTIVAS	22
IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED Plasmodium falciparum:	37
IN SILICO STUDY	37
6- CONCLUSÃO	57
ANEXO A - Comprovante de submissão do artigo	58

1- APRESENTAÇÃO

A presente dissertação foi elaborada de acordo com as normas estabelecidas pela Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação da Universidade Federal de Viçosa – UFV. O corpo do trabalho compreende uma introdução geral, objetivo, dois artigos científicos e uma conclusão geral. O artigo “**INVESTIGAÇÃO IN SILICO DA MALÁRIA FALCÍPARA: ESTADO ATUAL E PERSPECTIVAS**” foi publicado pela revista **Atualidades Médicas** no Volume 2 – Número 3, maio e junho de 2018. O artigo “**IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM: IN SILICO STUDY**” foi formatado de acordo com as normas da revista **international journal of medical informatics**, (Qualis B1 – Medicina I), para a qual o artigo foi submetido.

INTRODUÇÃO GERAL

A malária é uma das doenças parasitárias de maior relevância a nível mundial, tendo como agente causador, o protozoário Plasmodium. Cinco espécies diferentes desse protozoário são responsáveis pela ocorrência de todos os episódios de malária em humanos, são esses: Plasmodium falciparum, Plasmodium vivax, Plasmodium malariae, Plasmodium knowlesi e Plasmodium ovale (GARCIA, 2010). O vetor que transmite essa infecção é a fêmea do mosquito do gênero Anopheles e esse processo se dá no momento em que um inseto infectado pica um ser humano e nesse ato acontece a inoculação do parasito, que irá desencadear ações e reação, nesse indivíduo, causando a moléstia. (WHITE, 2014; GOMES et al., 2018)

Essa doença foi transmitida em mais de 100 países no ano de 2016 e estima-se que tenham acontecido cerca de 216 milhões de casos, com aproximadamente 445 mil mortos em todo o mundo, desses aproximadamente 90% em países africanos. Em regiões distintas, as espécies do Plasmodium, que causam a doença, possuem uma distribuição diferente, como pode ser observado ao avaliar que o causador mais importante da malária na África é o P. falciparum com 99,7% dos eventos, diferente das Américas, que têm o P. vivax com 64%. (WHO, 2017).

A forma mais comum de infecção pelo Plasmodium se dá pela picada do mosquito Anopheles, entretanto essa não é a única forma de contágio, pois também pode ser transmitida pela transfusão de sangue infectado. As espécies mais frequentemente associadas à infecção transfusional são o P. falciparum, P. malariae e o P. vivax (ABDULLAH, 2016)

A malária transmitida por transfusão (MTT) é um quadro raro em regiões não endêmicas, entretanto, em países da África Subsaariana existe uma probabilidade relativamente alta da transmissão por transfusão. Uma avaliação de 33.029 amostras sanguíneas de doadores, analisando através de gota espessa, estabeleceu uma mediana da prevalência de malária de 10,2% - com mínima de 0,7% no Quênia e máxima de 55% na Nigéria. É importante destacar que diferenciar os casos de malária natural da transfusional, em países com elevadas taxas de ocorrência, é um trabalho desafiador, resultando em grande subnotificação de MTT, o que faz acreditar que esse seja um problema maior do que se tem registrado (OWUSU-OFORI, 2010).

Ainda que em regiões não endêmicas a MTT seja uma raridade, ela deve ser tratada como um fenômeno importante, visto que pode resultar em letalidade, principalmente em pacientes de maior vulnerabilidade como é o caso das gestantes, bebês e pacientes

imunocomprometidos. Além disso, é conveniente destacar que nessas regiões, pela baixa ocorrência da doença, é possível que haja um despreparo dos profissionais, inclusive na identificação da infecção, o que compromete o tratamento (ABDULLAH, 2016).

Alguns fatores importantes tornam a infecção por transfusão ainda mais complicada, um deles é que a infusão do sangue contaminado libera, imediatamente, uma quantidade alta de parasitas diretamente na corrente sanguínea. Outro ponto de destaque é que, normalmente, o receptor do sangue é uma pessoa que já se encontra em um quadro debilitado de saúde, o que pode causar em um maior risco de complicações e morte (ABDULLAH, 2016).

O rastreio de infecção nas doações sanguíneas, em locais de fragilidade econômica, é um fator complicador para o avanço da MTT. Há serviços limitados para o gerenciamento de sangue que fazem o rastreamento mínimo (ABDULLAH, 2016). Com o intuito de favorecer o acesso ao diagnóstico, onde a microscopia não é acessível, testes rápidos de detecção de antígenos foram inseridos em países com malária endêmica. Entretanto, esses métodos possuem baixa sensibilidade em amostras com densidade parasitária menor que 100 parasitas por microlitro (MANGANO et al., 2019).

Diante da complexidade de se estudar o Plasmodium, seu comportamento, a doença causada por ele e a resposta dos organismos infectados; a experimentação *in silico*, ou computacional, tem sido um método utilizado para realizar ensaios voltados para a compreensão, simulação e tratamento da malária (GOMES et al., 2018; RODRIGUES-DASILVA et al., 2016; PHAIPHINIT et al., 2016)

Para promover estudos e testes que contribuam com a evolução científica, novos métodos têm surgido. A partir da década de 1980, a Inteligência Artificial Distribuída (IAD) evoluiu e se fortaleceu, tornando-se hoje um tema científico extremamente promissor para a pesquisa e para o avanço tecnológico. Essa área se destaca, também, pela sua propriedade de estabelecer laços multidisciplinares, à medida que traz consigo pluralidade de conhecimentos como Ciência da Computação, Economia, Sociologia, Biologia e outras mais (POSSI, 2012).

Uma das principais técnicas da IAD é o modelo denominado Sistema Multiagente (SMA), que opera entidades com comportamentos autônomos e inteligentes. A modelagem computacional embasada em Agentes tem se tornado um grande método para simular, estudar, compreender e até mesmo prever possíveis ações e reações proveniente de Sistemas Adaptativos Complexos (CAS), como por exemplo o Sistema Imunológico (SI). Esse método utiliza uma abordagem que arquiteta um sistema em que cada agente é a representação de um

ser real. Esses podem ser heterogêneos, onde cada um possui características particularidades, com suas regras e estados individuais, e ainda assim, interagir com os outros agentes (LI, 2009).

Para esse estudo, foi utilizado uma ferramenta denominada AutoSimmune, um software que permite realizar simulações computacionais de algumas interações do sistema imunológico. Esse programa, através de inteligência artificial por sistema multiagentes, usa de elementos que se comportam de modo reativo a outros agentes considerando suas características específicas, o estado em que se encontram e as condições do meio, o que possibilita simular reações próximas ao real. (RIBEIRO JÚNIOR et al., 2018)

Com isso, esse estudo tem o intuito de buscar uma alternativa nas pesquisas de malária por meio do desenvolvimento de simulação computacional utilizando inteligência artificial com sistema multiagentes que seja capaz de atingir respostas equiparáveis com os fenômenos reais e que possa demonstrar parte do comportamento da resposta do sistema imune de um ser humano após ser infectado pelo *Plasmodium falciparum*, buscando uma melhor compreensão da doença.

2- REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- GARCIA, L. S. Malaria. **Clinics in Laboratory Medicine**. v.30, n.1, p. 93-129, 2010
- WHITE N. J. et al., Malaria. **Lancet**. v.383, n.9918, p.723-735, feb, 2014
- GOMES, Andréia Patricia et al. A infecção pelo gênero Plasmodium: epidemiologia, profilaxia e controle no Brasil. **Vitalle - Revista de Ciências da Saúde**, v. 30, p. 47-58, 2018
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2017**. World Health Organization, 2017
- ABDULLAH, Saleh; KARUNAMOORTHY, Kaliyaperumal. Malaria and blood transfusion: major issues of blood safety in malaria-endemic countries and strategies for mitigating the risk of Plasmodium parasites. **Parasitology research**, v. 115, n. 1, p. 35-47, 2016.
- OWUSU-OFORI, Alex K.; PARRY, Christopher; BATES, Imelda. Transfusion-transmitted malaria in countries where malaria is endemic: a review of the literature from sub-Saharan Africa. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. 10, p. 1192-1198, 2010.
- MANGANO, Valentina D. et al. Risk of transfusion-transmitted malaria: evaluation of commercial ELISA kits for the detection of anti-Plasmodium antibodies in candidate blood donors. **Malaria journal**, v. 18, n. 1, p. 17, 2019.
- POSSI, M. A. **Uma ferramenta para simulação do SI através de sistemas multiagentes: um caso de estudo da autoimunidade**. 106 f. Thesis (Master) - Departamento de Informática, Universidade Federal de Viçosa. 2012
- LI, X.; WANG, Z.; LU, T.; CHE, X. Modelling immune system: Principles, models, analysis and perspectives. **Journal of Bionic Engineering**, v. 6, n. 1, p. 77–85, 2009.
- RODRIGUES-DA-SILVA, Rodrigo Nunes et al. In silico identification and validation of a linear and naturally immunogenic B-cell epitope of the Plasmodium vivax malaria vaccine candidate merozoite surface protein-9. **PLoS one**, v. 11, n. 1, p. e0146951, 2016.
- PHAIHINIT, Suthat et al. In silico multiple-targets identification for heme detoxification in the human malaria parasite plasmodium falciparum. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 37, p. 237-244, 2016.
- RIBEIRO JÚNIOR, Ademir Nunes et al. Investigação in silico da malária falcípara: estado atual e perspectivas. **Atualidades Médicas**. v.2, n.3, p.129-136, 2018

3- OBJETIVO:

▪ GERAL

Desenvolver um modelo computacional da malária utilizando o AutoSimmune – sistema baseado em agentes – para simulação da resposta imune ao *Plasmodium falciparum*.

▪ Específicos

- Revisar a literatura acerca da resposta imune ao *Plasmodium falciparum*;
- Identificar os requisitos para a extensão do modelo do sistema AutoSimmune, para simulação da resposta imune na malária falcípara;
- Simular a resposta imune ao *Plasmodium falciparum* no AutoSimmune, que seja capaz de atingir respostas equiparáveis com os fenômenos reais.

4- PRODUTOS FINAIS

BREVE ESTUDO SOBRE A SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL COM SISTEMAS MULTIAGENTES

Um dos benefícios de se utilizar da modelagem computacional baseada em Agentes é que ela possibilita investigar fenômenos complexos, macroscópicos e determinísticos resultantes de relações microscópicas estocásticas. Por isso se torna possível analisar hipóteses acerca de comportamentos celulares e de como esses influenciam e resultam em outros eventos. (POSSI, 2012)

Sistemas Multiagentes podem ser descritos como um sistema constituído por uma determinada quantidade de componentes autônomos que são capazes de exercer interação entre si, em um determinado universo, colaborando reciprocamente para solucionar um problema cuja solução vai adiante da competência de cada membro. O SMA vem com o intuito de estudar o coletivo, focando nas interações das entidades que compõem esse todo. Logo, a essência está no ponto de vista dos agentes, suas relações e a repercussão dessas na emergência do evento maior. (HÜBNER et al., 2004; POSSI, 2012)

Criando Modelos Baseados em Agentes

A essência para criar, com êxito, uma simulação computacional utilizando de Sistema Multiagentes é identificar e caracterizar bem essas entidades autônomas inteligentes. É de suma importância defini-las, tipificando suas ações, reações e interações, de maneira apropriada e objetiva. A fim de que os agentes sejam claramente estabelecidos, é necessário que haja um forte embasamento teórico para definir suas regras comportamentais, como é o caso de simulação do sistema imunológico. (MACAL, NORTH, 2009; POSSI, 2012)

Para o desenvolvimento e criação de uma simulação que se utiliza desse método de modelagem computacional, além de conhecer bem o comportamento esperado de cada agente a ser simulado, precisa-se estabelecer alguns conceitos e defini-los corretamente, para garantir o funcionamento ideal. Sendo assim, foi utilizado as definições estipuladas por Possi (2012) no Autosimmune, para a execução desse trabalho, onde temos:

1- Ambiente

O ambiente trata-se do contexto, o meio, onde os agentes estarão dispostos. Para os agentes esse é seu universo, e eles assumem que não há nada além dessa realidade. Analisando, especificamente, a realidade do Autosimmune, temos um ambiente com características descritas abaixo:

- Inacessível - Os agentes ali inseridos não possuem referência sobre o ambiente em sua totalidade, apenas no que está em sua vizinhança.
- Não-determinístico - O agente não é capaz de prever as próximas fases e características que o ambiente irá assumir, alicerçado unicamente em sua ação individual. O comportamento dos demais agentes, assim como ações externas, como por exemplo a passagem do tempo, podem influenciar no próximo estágio.
- Dinâmico - Ainda que o agente faça uma escolha ou não seja capaz de tomar nenhuma ação, o ambiente permanece transformando seu estado.
- Discreto - Apesar da grande capacidade de alteração de estados que o ambiente é capaz de apresentar, considerando o alto número de agentes e de possibilidades de posições, dispersões e interações, essas possibilidades não são infinitas.

2- Tempo

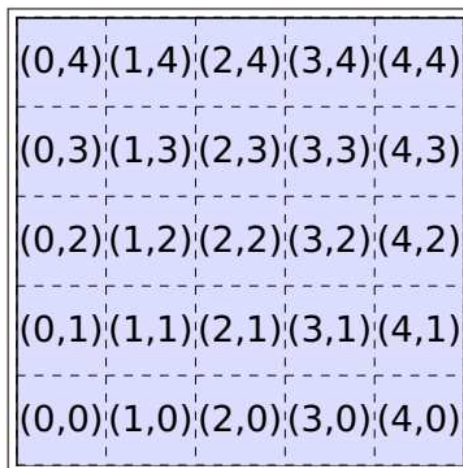
A passagem de tempo no simulador é modelada utilizando-se de um conceito denominado Tick, que se comporta de modo diferente da contagem de tempo real.

O tick é o período de tempo necessário pra que ocorra a mudança de um estágio para outro do ambiente. Desse modo, todos os eventos determinados para esse momento devem ser realizados e finalizados para, somente então, o próximo tick ocorrer. Sendo assim, no curso de um tick, todos os agentes vão poder tomar suas decisões, alternando seus posicionamentos, liberando substâncias, verificar a sua vizinhança, tendo como informação a realidade do tick anterior. Somente quando cada um dos agentes executar e concluir sua ação, o tick finaliza e esses dados são processados. Assim sendo, cria-se uma realidade em que, sob a ótica do agente, todos os acontecimentos estão ocorrendo concomitantemente.

3- Espaço

Para formar o espaço, o Autosimmune utiliza de projeção Grid, onde é possível criar células espaciais – locais – bem precisos através da junção de fileiras verticais e horizontais. Essas fileiras possuem coordenadas espaciais em que as linhas – projeções horizontais – são codificadas com i e as colunas – projeções verticais – são codificadas com j , tendo em sua junção a formação da célula com a coordenada (i,j) . A Figura X.1 demonstra uma estrutura de projeção do tipo Grid.

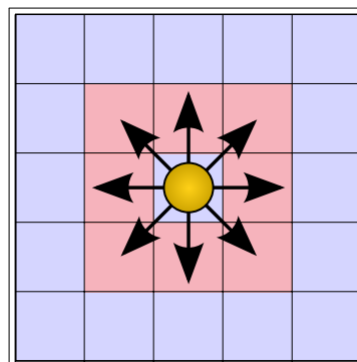
Figura 1. Ilustração da estrutura do espaço definido por uma projeção do tipo Grid



Fonte: POSSI, 2012

Por meio desse tipo de projeção, o agente dentro do sistema passa a possuir uma localização (i,j) , e seu deslocamento é feito modificando sua atual posição para uma outra em sua Vizinhança de Moore. Sendo assim, um agente não pode seguir para uma posição diferente da sua, sem que passe por uma célula adjacente. Na Figura X.2 está ilustrado a estrutura da Vizinhança de Moore.

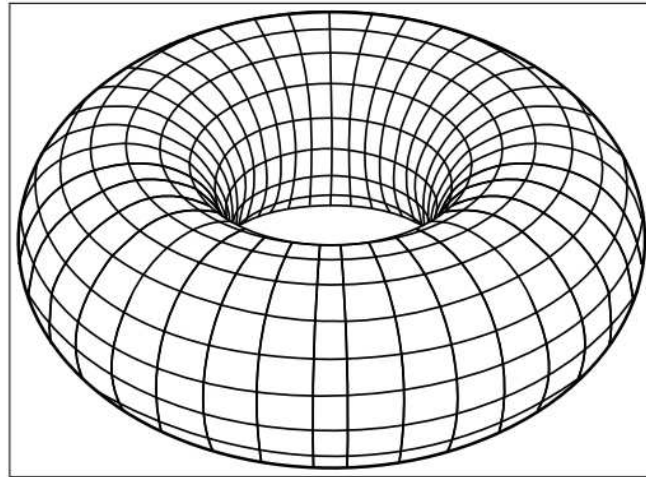
Figura 2. Vizinhança de Moore



Fonte: POSSI, 2012

Com o intuito de simular um espaço maior, que se aproxime mais da realidade, porém, sem ampliar o ambiente de modo que pudesse sobrecarregar o simulador, foi definido uma superfície toroidal. Desse modo, quando um agente ultrapassa a borda direita, por exemplo, ele surge na mesma linha, porém na borda esquerda. A ilustração de um espaço toroidal pode ser vista na Figura X.3.

Figura 3. Ilustração de um espaço toroidal



Fonte: POSSI, 2012

Outra característica do espaço criado no Autosimmune é que quando um agente tenta se deslocar para uma célula que já está “ocupada”, foi determinado que esse movimento é aceito, pois simularia a passagem do agente “por cima” ou “por baixo” do outro, o que tenta estabelecer um espaço tridimensional sobre uma Grid.

4- Zonas

As zonas são descritas como um local, tendo o seu contexto, sua projeção Grid, suas camadas e todas suas variáveis que caracterizarão e especificarão essa área de habitação para os agentes.

No atual modelo, as zonas correspondem à regiões do organismo humano, onde as células ou parasitas desenvolvem suas ações e reações. Cada uma desses locais possuem características específicas como o seu tamanho, os agentes e substâncias capazes de circular por ela, como podem se comportar nesse meio, etc.

5- Migrações entre Zonas – Portais

Como existem mais de uma zona para os agentes se inserirem e percorrermos, é importante que haja condições deles perpassarem e circularem entre elas. Para que

ocorra essa transição, foram criados agentes singulares chamados de Portais (portais), que são a representação de vasos linfáticos e sanguíneos que interligam órgãos e regiões do corpo.

Todas as zonas possuem portais que estão conectados entre si, de modo que, quando um agente está se deslocando aleatoriamente e passa por um Portal ele é direcionado para a região que está associada a esse conector.

6- Agentes

Os agentes foram arquitetados como sendo reativos, tomando suas decisões segundo o seu estado atual e da sua percepção do meio, desse modo, se assemelhariam ao comportamento existente no organismo vivo. As diretrizes comportamentais dos agentes são fundamentadas em literatura das ciências biológicas e da saúde, que descrevem sobre imunologia, histologia, parasitologia e infectologia.

Cada um dos agentes é programado com o método de Step, em que possui regras que planejam suas ações a cada tick após avaliar o ambiente, e assim reagir de acordo com suas características predeterminadas, simulando a reação do organismo.

**INVESTIGAÇÃO IN SILICO DA MALÁRIA FALCÍPARA:
ESTADO ATUAL E PERSPECTIVAS**

**IN SILICO RESEARCH OF FALCIPARUM MALARIA:
CURRENT STATUS AND PERSPECTIVES**

Ademir Nunes Ribeiro Júnior – Professor substituto e Mestrando em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Romário Brunos Will – Graduando em Medicina, Faculdade Governador Ozanam Coelho (FAGOC).

Lucas Borges Gomes Ferreira Pinto – Graduando em Medicina, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Moises Henrique Pereira – Graduando em Ciência da Computação na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Mateus de Lana Orlovski – Graduando em Ciência da Computação na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Maurilio de Araujo Possi – Mestre em Ciência da Computação e Analista de Tecnologia da Informação, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Paulo Sérgio Balbino Miguel – Mestre e Doutor em Microbiologia, Universidade Federal de Viçosa; Técnico do Laboratório de Agentes Patogênicos da Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Daniela Moreira Rezende – Graduanda em Medicina na Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Luiz Alberto Santana – Doutor em Ciências da Saúde / Infectologia e Medicina Tropical pela Universidade Federal de Minas Gerais; Professor Adjunto, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

Andréia Patrícia Gomes – Mestre em Medicina Tropical Instituto Oswaldo Cruz e Doutora em Ciências pela Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ); Professora Adjunta, Universidade Federal de Viçosa (UFV).

RESUMO

A malária é tida como uma doença de grande magnitude, sendo considerada uma das doenças parasitárias de maior importância em âmbito global, logo ampliação da compreensão da fisiopatologia da entidade nosológica é de extrema importância no contexto das doenças transmitidas por artrópodes. Assim, diante da necessidade de entender, mais pormenorizadamente, e de aferir, tanto o comportamento do inóculo quanto das células sanguíneas, como a resposta imunológica do organismo humano na interação com o patógeno, optou-se pela investigação com base na simulação computacional, com a utilização de simulador do sistema imunológico (AutoSimmune), que tem por base a modelagem de agentes reativos e máquinas de estado, propiciando a simulação de interações celulares em um ambiente virtual, com precisão. A partir desse estudo, *in silico*, novas proposições e levantamento de hipóteses acerca da complexa interação microrganismo-hospedeiro humano podem ser levantadas, criando espaço para intervenções e pesquisas *in vitro* e *in vivo* na busca do desenvolvimento de estratégias efetivas na prevenção, controle e tratamento da infecção.

PALAVRAS-CHAVE: Biologia Computacional, Informática Médica, Plasmodium, Malária.

ABSTRACT: Malaria is considered a widespread disease and one of the most important parasitic diseases, therefore a better understanding of such morbidity is of the utmost importance. Due to the need for better understand and assess the behavior of the inoculum as well as the blood cells and the responses of the human organism, it was decided to use an immune system simulator (AutoSimmune), which uses artificial intelligence based on reactive agents and modeled by state machine capable of simulating real cellular interactions in a virtual environment-quite accurately. From this study (*in silico*), new propositions and hypotheses about the complex interaction among microorganism and human host can be raised, creating space for interventions and research for the development of infection prevention, control and treatment strategies.

INTRODUÇÃO

A malária é uma doença infecciosa e tem como vetor de transmissão o mosquito fêmea do gênero *Anopheles*. Quando um mosquito infectado pelo parasita pica o ser humano, ocorre

a inoculação, o que gera alterações clínicas no indivíduo causando a moléstia. É considerada uma das doenças parasitárias mais importantes do mundo, tendo como agente o protozoário *Plasmodium*, sendo cinco espécies as responsáveis por acarretar todas as infecções de malária humana: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium knowlesi* e *Plasmodium ovale* (WHITE, 2014; GOMES et al., 2018).

A doença é transmitida em mais de 100 países e em 2016 calcula-se que tenha ocorrido 216 milhões de casos em todo o mundo, 90% desses em países da África. O agente etiológico responsável pela doença se distribui de maneira diferente em regiões distintas, sendo o *P. falciparum* principal causador na África com 99,7% dos casos e o *P. vivax* aparece em 64% nas Américas (WHO, 2017).

Em escala global, de 2010 a 2016, a taxa de incidência de malária teve uma queda de 18%, passando de 76 para 63 casos por 1000 habitantes em situação de risco. Apesar disso, o número de mortes ainda é muito alto, estima-se que haja 445 mil mortes em todo o mundo e 407 mil, cerca de 91%, só na região africana (WHO, 2017).

O ciclo biológico do *Plasmodium* começa na ingestão de sangue humano infectado com gametócitos, pelo mosquito fêmea do gênero *Anopheles*. No interior do intestino do inseto, essas estruturas emergem das hemácias na forma de gametas masculinos e femininos e se unem, diferenciando-se em oocinetos, adentram à parede do trato gastrointestinal e se transformam em oocitos – que pode comportar mil esporozoítos. Após esse processo de maturação, o mesmo é transportado para as glândulas salivares, por meio da hemolinfa, de onde será capaz de ser expelido posteriormente (REY, 2008).

Durante a picada do mosquito no ser humano, os esporozoítos são inoculados, e levam cerca de horas para perpassar pelo tecido dérmico e pelas barreiras celulares até alcançar o sistema linfático e o sangue, sendo deslocado até ao fígado e infectando os hepatócitos. Dentro das células do fígado, o parasita se diferencia em criptozoita, passa por um processo de divisão por esquizogonina e se diferencia em merozoítos. Cada hepatócito chega a comportar uma quantia de 10.000 a 30.000 merozoítos e ainda assim. Apesar da quantidade maciça de parasitos, não são observadas manifestações clínicas. Essa fase pode demorar de uma a duas semanas para o *P. falciparum* e *P. malariae*, enquanto que para outras espécies como o *P. vivax* e *P. ovale* podem se diferenciar em hipnozoítos e perdurar por meses ou anos numa forma de latência até que atinja a corrente sanguínea, manifestando-se tardiamente como recaída de doença (NAGARAJ et al., 2013).

Ao atingir a circulação sanguínea, após sair dos hepatócitos, o patógeno se move em direção à hemácia e adentra, iniciando o ciclo intra-eritrocítico. No interior da célula vermelha do sangue o merozoíta se modifica em trofozoíta, proliferando-se em um processo de esquizogonia. Após a maturação do esquizonte, esse se diferencia, rompe o eritrócito colocando na circulação cerca de 8 a 18 novos merozoítas, no caso do *P. vivax* e aproximadamente 32 numa infecção por *P. falciparum*, que repetirão esse processo (REY, 2008; COURA, 2013).

As características desse processo cíclico propiciam a formação de uma biomassa parasitária significativa e de um aumento exponencial, provocando febre e outros processos patológicos, como por exemplo anemia e obstrução de vasos sanguíneos (BUFFET et al., 2011).

Nessa sequência de fenômenos, algumas células e estruturas possuem relações diretas e determinantes no curso da doença. Os macrófagos são células originadas dos monócitos e que executam papéis imprescindíveis durante a infecção malárica. De fato, estão em diferentes órgãos, envolvidos no controle da infecção por *Plasmodium*, sejam esses no fígado (células de Kupffer), baço (macrófagos esplênicos) e medula óssea. Os mecanismos de atuação dessas células em um processo infeccioso por malária são diversos, realizando fagocitoses, produção de citocinas e inibição celular dependente de anticorpo. A fagocitose pode ser independente de opsonização, que é o que ocorre com alguns eritrócitos infectados devido às alterações estruturais, entretanto, muitas vezes, esse comportamento celular é em decorrência do encontro com estruturas opsonizadas por anticorpos ou mesmo complemento, seja o eritrócito infecto pelo parasita ou o próprio merozoíta circulante (CHUA, 2013; COURA, 2013).

Apesar de algumas informações sobre as respostas do corpo humano diante da infecção, elas ainda são limitantes. O sistema imune é tido como um dos sistemas de extrema complexidade do organismo e uma função defectível pode acarretar em riscos severos para a vida do indivíduo. Mesmo com décadas de estudo (in vivo e in vitro), investimentos em pesquisas e avanços tecnológicos, a imunidade ainda é considerada um desafio para os pesquisadores, devido ao conhecimento lacunar do seu comportamento, mecanismos e interações enigmáticas. Diante disso, uma outra abordagem para esse estudo é a pesquisa in silico, realizada computacionalmente (POSSI, 2012).

Por se tratar de um estudo in silico, a pesquisa pode ser realizada de modo a atingir resultados de extrema relevância sem precisar de altos recursos materiais e financeiros, além de ser possível simular uma situação e fazer análise com uma amostra significativa de modo

rápido, pois meses de infecção podem ser simulados em poucas horas no sistema. Além disso, a pesquisa não se trata de uma investigação envolvendo seres humanos, e por consequência disso não há implicações éticas de acordo com os termos da Resolução nº 466, de 12 de dezembro de 2012. Com isso, esse estudo busca uma alternativa nos estudos de malária através do desenvolvimento de uma simulação computacional com multi-agentes capaz de resultar em respostas equiparáveis com os fenômenos reais e que demonstre parte do comportamento da resposta imunológica de um ser humano após ser infectado por *Plasmodium falciparum*, visando uma melhor compreensão da doença (POSSI, 2012; GOMES et al., 2016).

SIMULAÇÃO DA INFECÇÃO POR *Plasmodium falciparum*

Neste estudo, utilizamos uma ferramenta chamada AutoSimmune, que se trata de um programa que utiliza de inteligência artificial por sistemas multi-agente, ou seja, usa de elementos reativos que se comportam de modo a reagir com outros agentes, as condições do meio e o estado em que se encontram, o que permite simular interações próximas às reais. O comportamento de cada agente é definido por máquinas de estado, isto é, regras que determinam todas as possíveis ações em diferentes condições. (POSSI, 2012). Todos os agentes do sistema são implementados através de uma máquina de estados, dessa forma pode-se descrever suas ações por meio de seus estados e transições entre eles, sendo que um estado atual é o resultado de uma sequência de estados anteriores (GOMES et al., 2016).

O tempo é definido como tick, unidade necessária para a mudança de estado do ambiente. O espaço usa linhas verticais e horizontais para formação das células, criando um conceito de Grid. Devido às características desse espaço, os agentes nele imersos movimentam-se apenas em sua vizinhança, seguindo a formulação de Moore, onde se garante que terão que percorrer caminhos, evitando que ocorra “saltos”, até seus destinos (se o tiverem). Outras características importantes desse espaço são: a simulação de um espaço toroidal, onde suas extremidades opostas estão interligadas, permitindo o trânsito dos agentes; e a simulação de um espaço 3D em ambiente 2D, o que permite que múltiplos agentes estejam sobrepostos em uma mesma posição do Grid (POSSI, 2012).

Outro ponto que precisa ser caracterizado é o ambiente em que os agentes estarão inseridos, denominados zonas. As zonas são a representação de área do organismo em que os agentes irão reagir e desempenhar suas funções. Cada zona possui características específicas

como tamanho, quais agentes podem estar e passar por ela e todas as informações necessárias para a coerência da simulação (POSSI, 2012).

O agente etiológico *Plasmodium palciparum* foi implementado como um agente reativo que executa os seguintes passos: iniciando na zona Tissue o agente permanece durante um período de tempo, determinado por um número específico de ticks, no estágio Pré Eritrócito; ao fim desse período, o agente então começa a circular aleatoriamente pelo ambiente até encontrar uma célula; ao encontrar, tenta identificá-la como um glóbulo vermelho; caso reconheça, entra e permanece em estado de “infectante” por um número de ticks; caso a infecção seja bem sucedida, o agente passa para o estado de “reprodução assexuada”, executando assim o processo de replicação; porém, se a tentativa de infectar a célula falhar, ele retorna ao estado de movimento aleatório, até que encontre outra célula e tente infectá-la (podendo ou não ter sucesso) ou até que seu “tempo de vida” se esgote e ele seja eliminado (vide Figura 1) (GOMES et al., 2016).

Sobre o agente Eritrócito: sua criação se dá na zona Bone Marrow e logo em seguida segue para a zona Circulation onde fica no estado de movimento aleatório; nesse período o agente pode ou não ser infectado pelo agente *Plasmodium*; caso infectado, o agente continua se movendo aleatoriamente até o fim de sua meia vida, quando então é direcionado para o baço, onde é descartado; se não for infectado, permanece circulando normalmente até seu tempo limite, quando também é descartado (vide Figura 2) (GOMES et al., 2016).

EXPERIMENTOS

Depois de concluir que o AutoSimmune é capaz de fornecer experimentos que mostram resultados consistentes com a literatura médica, foi realizado experimentos que simulassem a infecção de células vermelhas do sangue por *Plasmodium Falciparum* demonstrando esse comportamento na circulação sanguínea, cérebro e no baço (GOMES et al., 2016).

De modo a validar o ensaio, primeiramente, foram realizados experimentos para autenticar a simulação do comportamento dos eritrócitos e do *Plasmodium* e suas atuações nos ambientes virtuais (zonas). O Experimento 1 foi realizado apenas com eritrócitos na ausência do agente etiológico, como pode ser observado na figura 3. Nele, foram realizados 6 testes, onde é feita duplicata com números diferentes de eritrócitos – 100 mil e 500 mil – num contexto com três ambientes (zonas) – baço, cérebro e circulação. Com isso, pode-se observar que o

número de eritrócitos fica constante ao longo de todo o seu tempo de vida – 50 ticks – na ausência de interferências externas, como a do patógeno da malária, tendo apenas leves alterações nas distribuições das células nas diversas zonas, o que demonstra que a circulação sanguínea é preservada sem perda celular.

O Experimento 2 foi realizado sob uma ótica diferente, nesse caso, foram incluídos no sistema, apenas o agente Plasmodium na zona Circulação. Para tal, foi feita triplicata com diferentes contagens de agente – cinco, dez e vinte e cinco. Averiguou-se que na ausência de eritrócitos para serem infectados, não ocorre reprodução e expansão da quantia desses patógenos. Desse modo, o número de agentes permanece constante até que se encerre o seu tempo de vida – 5 ticks – demonstrado na figura 4. Esse ensaio pode ser analisado de duas formas, a primeira, corresponde a incapacidade de um merozoíta intra-hepático iniciar o ciclo eritrocítico na ausência de hemácias, no entanto, essa situação é inviável e incompatível com a vida humana. Entretanto, esse resultado pode ser pensando na perspectiva da ausência de receptores nas hemácias para certas espécies de Plasmodium (REY, 2008) como ocorre na malária por *P. vivax* que é dependente de receptores do sistema Duff.

Para o Experimento 3 foi realizada a análise da interação Plasmodium e eritrócitos, num contexto em que as células vermelhas do sangue percorrem circulação, baço e cérebro. Para realizar tal simulação, partiu-se do conceito que o sangue humano apresenta cerca de 5.000.000 glóbulos vermelhos por mm^3 , com variações devido à idade e sexo. O esporozoíta de Plasmodium falciparum (que é a espécie mais virulenta, portanto escolhido para a simulação) tem seu ciclo de desenvolvimento no fígado e chega a produzir até o quinto ou sexto dias após a inoculação de esporozoítos, aproximadamente 40.000 esporozoítos (REY, 2008). A partir desse ponto, eles penetram nas células vermelhas do sangue e continuarão o ciclo biológico, estabelecendo a esquizogonia do sangue e liberando novos merozoítos, cada ciclo dentro de um intervalo de 36 a 48 horas. Neste momento - quando há a destruição das células vermelha e liberação dos novos agentes na circulação - existem pigmentos que agem como exógenos pirogênico, desencadeando a resposta imune e consequente produção e liberação de pirogênios endógenos (REY, 2008; SCHOLZEN; SAUERWEIN, 2016). Assim, a febre é um sinal característico da malária, conhecido por paroxismo febril (GOMES et al., 2016).

Como nos seres humanos, o vetor Anopheles spp. geralmente inocula uma média de 20 esporozoítos, no final do ciclo hepático; pode-se obter quantitativos 800.000 merozoítos, considerando que cada esporozoíta que inicia o ciclo de esquizogonia do fígado aumentará para 40.000 merozoítos. Um ser humano tem cinco milhões de glóbulos vermelhos por microlitro

de sangue, em um litro de sangue teria por volta de 5.000.000.000.000 (cinco trilhões) de glóbulos vermelhos; então em cinco litros (média volume de sangue considerado), teríamos um total de 25 trilhões de glóbulos vermelhos a serem infectados (GOMES et al., 2016). Assim, temos uma relação de 1 Plasmodium para 31.250.000 eritrócitos, no entanto devido às limitações no simulador quanto ao número de agentes, a quantidade de eritrócitos precisou ser dividida por 1000, o que leva a um resultado mais acelerado. Tendo estabelecido a equivalência Plasmodium/eritrócito em 1:31.250, foi realizado um ensaio com 187.500 glóbulos vermelhos a serem infectados por seis parasitas. Como é demonstrado na Figura 5 os resultados da simulação realizada mostram que a medida que a infecção avança, o número de parasitas aumenta e o de eritrócitos diminui. Tal achado se explica pelo rompimento e morte das células sanguíneas e pela liberação de novos Plasmodium. Ao chegar no Tick 50, foi determinado que todas as hemácias seriam eliminadas, por alcançarem seu tempo máximo de vida. Com o desaparecimento dos eritrócitos, pode-se observar que os parasitas não conseguem se reproduzir e gerar novos agentes e, conseqüentemente, morrem após alcançar seu tempo máximo de vida (3 Ticks). O aprimoramento do AutoSimmune com o redimensionamento dos tempos de vida e das interações entre as células – protistas e hemácias – poderá aproximar, ainda mais, o modelo computacional dos eventos fisiopatológicos que ocorrem na malária falcípara.

PERSPECTIVAS

A malária é uma doença de grande abrangência, provocando a morte de centenas de milhares de pessoas por ano. Com efeito, o melhor entendimento dessa doença poderia significar uma contribuição imensa à humanidade. Grandes avanços aconteceriam em termos da prevenção, caso uma vacina fosse desenvolvida, ainda que tal empreitada seja bastante complexa, devido às diferentes formas evolutivas do Plasmodium (BUCHALLA et al., 2003), com a participação de diferentes antígenos nos díspares estágios do ciclo de vida do protozoário (SIQUEIRA-BATISTA et al., 2012a).

Nesse âmbito, a experimentação *in silico* permite a testagem de novas hipóteses para o entendimento da fisiopatologia da moléstia, destacando-se que o AutoSimmune é ferramenta útil à simulação da malária, por tornar possível a realização de inúmeros ensaios em tempo hábil – sem os riscos associados à experimentação em animais humanos e não humanos –, o que poderá produzir avanços científicos.

Em um futuro próximo, espera-se aumentar o nível de complexidade nas simulações da infecção malárica no AutoSimune, incluindo novas células, citocinas, entre outros, o que favorecerá e ampliará as possibilidades de estudos investigativos da malária.

AGRADECIMENTOS

Os autores são gratos ao Professor Rodrigo Siqueira-Batista, Laboratório de Agentes Patogênicos da Universidade Federal de Viçosa, pela leitura do texto e pelas sugestões apresentadas.

REFERÊNCIAS

BUCHALLA, C. M.; WALDMAN, E. A.; LAURENTI, R. A mortalidade por doenças infecciosas no início e no final do século XX no Município de São Paulo. **Revista Brasileira Epidemiologia**, v. 6, n. 4, p. 335–44, dez. 2003.

BUFFET, P. A. et al. The pathogenesis of Plasmodium falciparum malaria in humans: insights from splenic physiology. **Blood**, v. 117, n. 2, p. 381-392, 2011.

CHUA, Caroline Lin Lin et al. Monocytes and macrophages in malaria: protection or pathology? **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 1, p. 26-34, 2013.

COURA J.R., editor. Dinâmica das doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2013.

GOMES, Andréia Patricia et al. Plasmodium falciparum Infection: In Silico Preliminary Studies. **Abakós**, v. 5, n. 1, p. 63-83, 2016.

GOMES, Andréia Patricia et al. A infecção pelo gênero Plasmodium: epidemiologia, profilaxia e controle no Brasil. **Vitalle - Revista de Ciências da Saúde**, v. 30, p. 47-58, 2018

NAGARAJ, V. A. et al. Malaria parasite-synthesized heme is essential in the mosquito and liver stages and complements host heme in the blood stages of infection. **PLoS pathogens**, v. 9, n. 8, 2013.

POSSI, Maurílio A. Uma ferramenta para simulação do SI através de sistemas multiagentes: um caso de estudo da autoimunidade. 2012. 106f. Dissertação (Mestrado) — Departamento de Informática, Universidade Federal de Viçosa.

REY, L. **Parasitologia**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

SIQUEIRA-BATISTA, R. et al. Plasmodium Falciparum malaria: proteomic studies. **Revista Brasileira de Terapia Intensiva**, v. 24, p. 394–400, 2012a.

WHITE N. J. et al., Malaria. **Lancet**. v.383, n.9918, p.723-735, feb, 2014

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **World malaria report 2017**. World Health Organization, 2017.

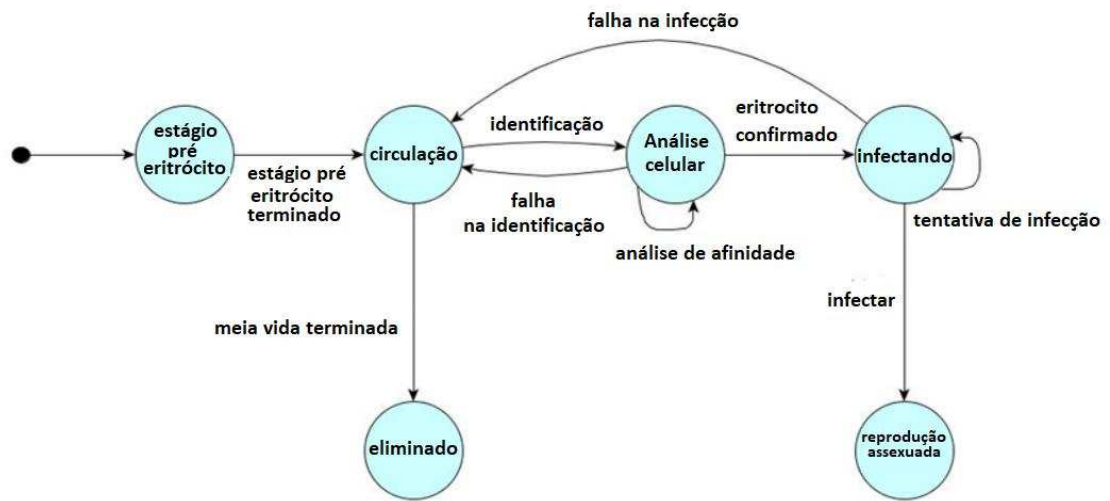


Figura 6. Máquina de estados do Plasmodium falciparum.

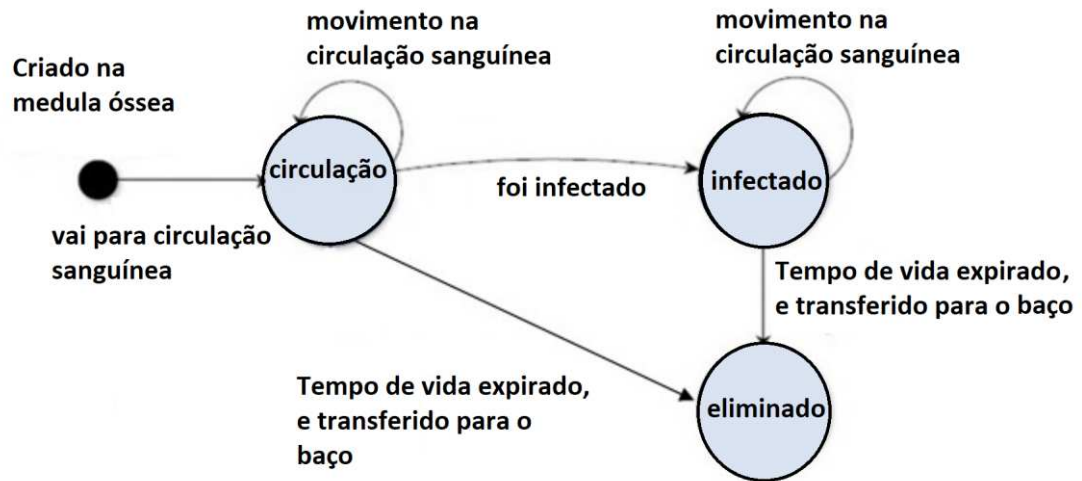


Figura 7. Máquina de estados do eritrócito.

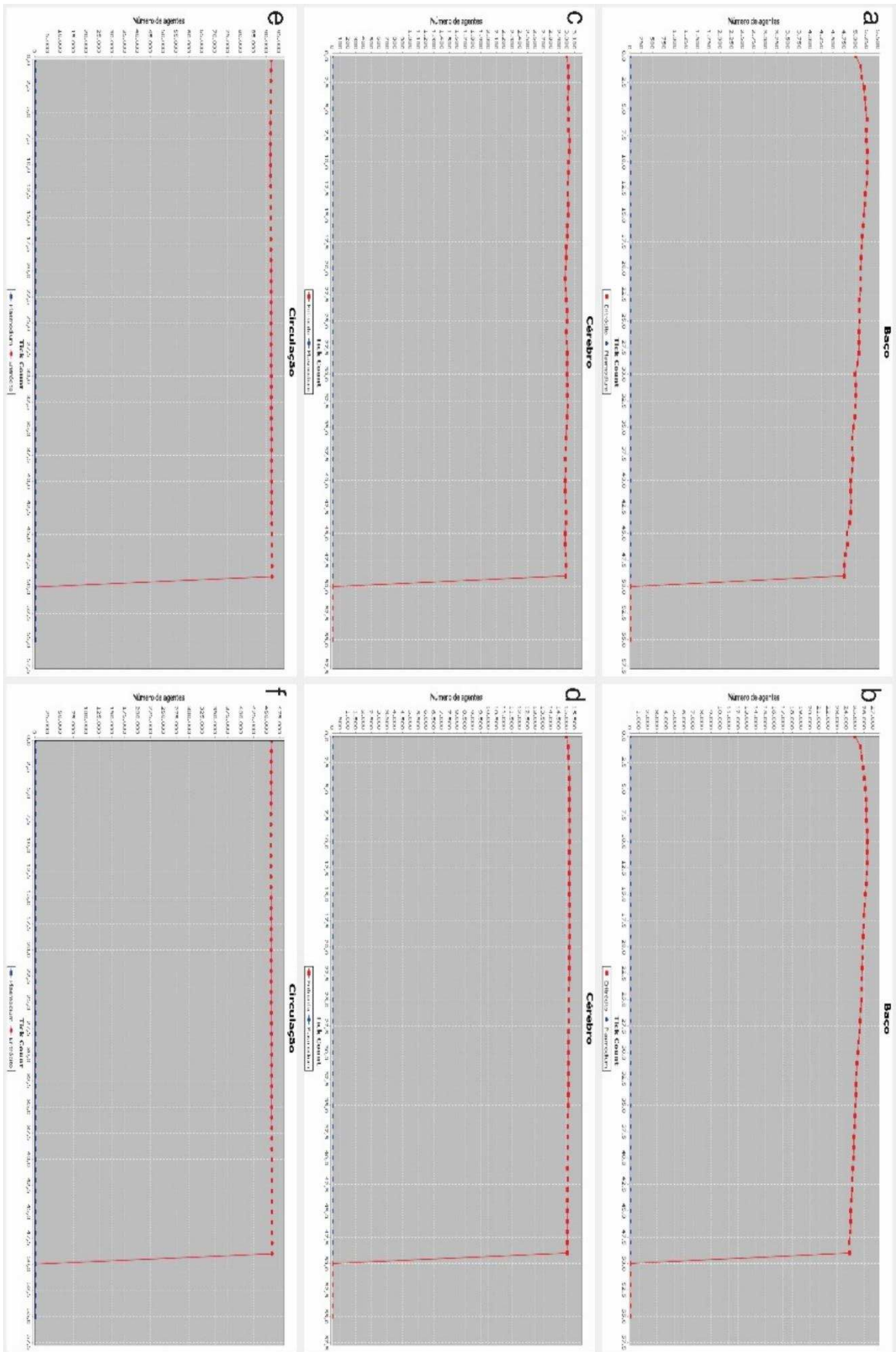


Figura 8: Experimento 1 - Simulação de eritrócito sem nenhum agente etiológico: Comportamento de eritrócito no baço nas contagens de 100 mil (a) e 500 mil (b). Comportamento de eritrócito no cérebro nas contagens de 100 mil (c) e 500 mil (d). Comportamento de eritrócito na circulação nas contagens de 100 mil (e) e 500 mil (f).

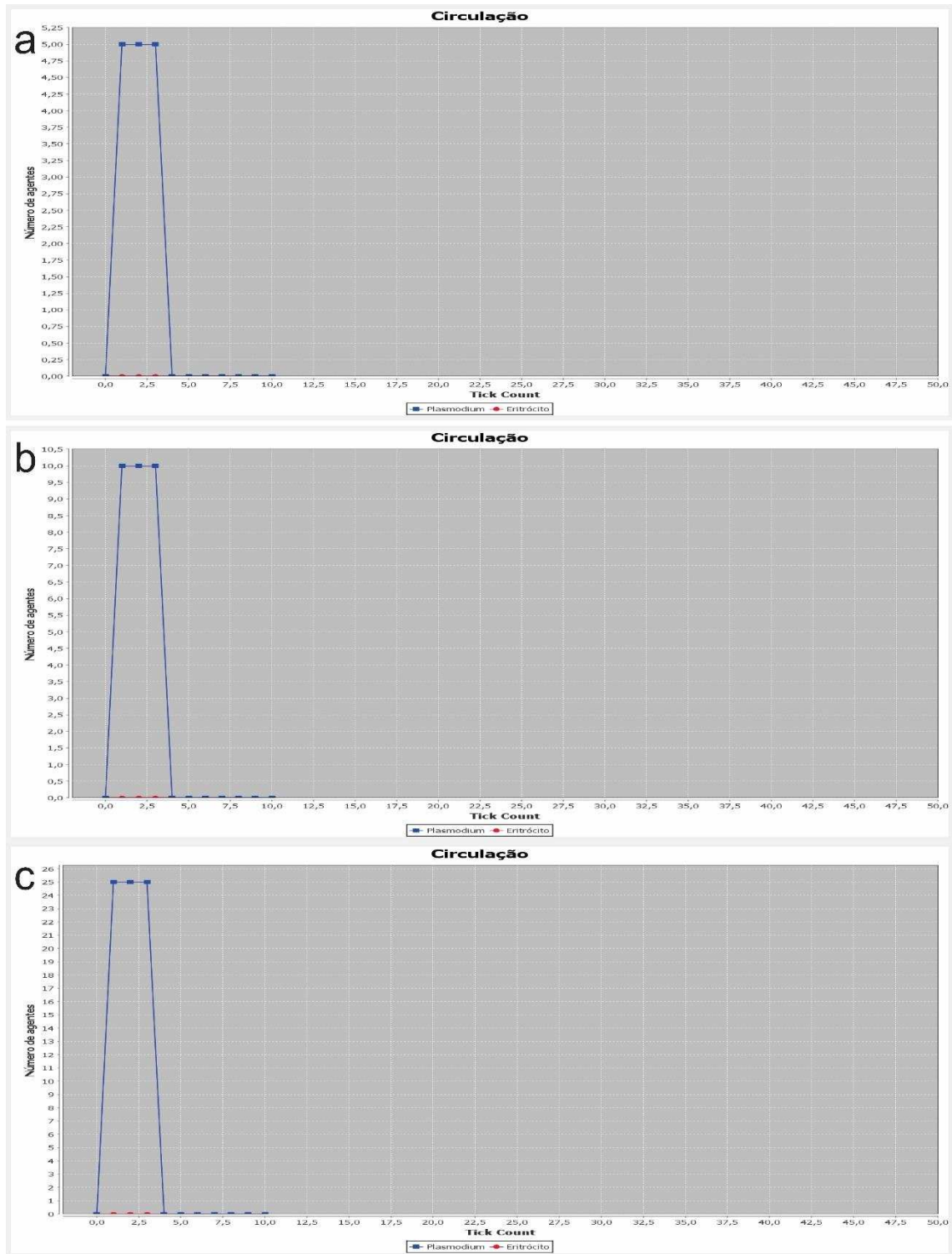


Figura 9: : Simulação do comportamento de Plasmodium na circulação com as contagens de 5(a), 10 (b) e 25 (c)

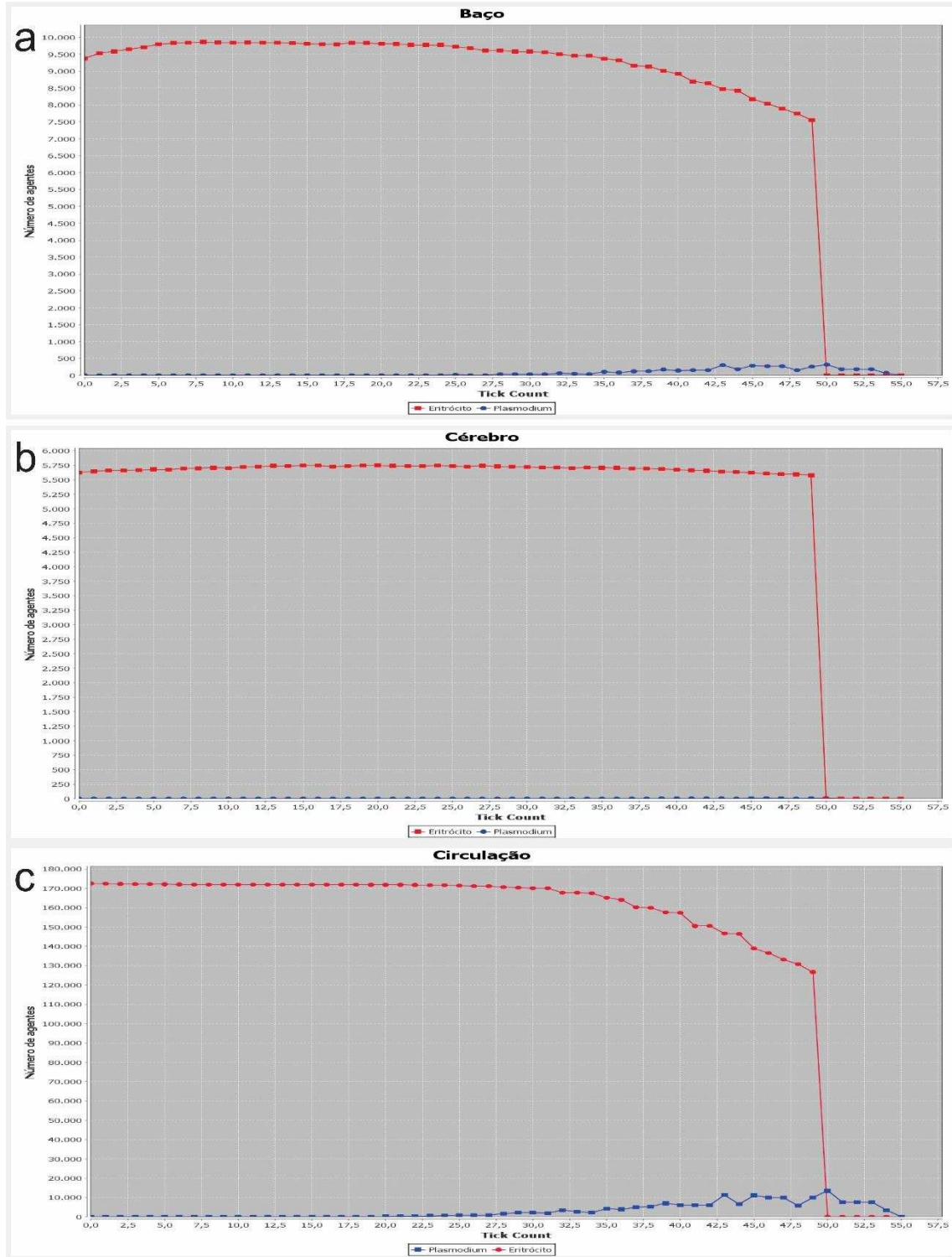


Figura 10: Simulação da infecção com $n = 187.500$ eritrócitos e $n = 6$ Plasmodium no baço (a), cérebro (b) e circulação (c).

**IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM:
IN SILICO STUDY**

Ademir Nunes Ribeiro Júnior

Romário Brunes Will

Luiz Alberto Santana

Paulo Sérgio Balbino Miguel

Andréia Patrícia Gomes

Rodrigo Siqueira-Batista

IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM: IN SILICO STUDY

ABSTRACT

Malaria is one of the most important parasitic infectious diseases in the world, with the protozoan *Plasmodium* as its causative agent. The most common form of malaria infection is by the bite of the *Anopheles* mosquito, though this is not the only form of infection, it can also be transmitted by transfusion of infected blood. This study aims to find an alternative in malaria research through the development of a computer simulation using artificial intelligence with a multi-agent system that is capable of achieving responses comparable to the real phenomena of *Plasmodium falciparum* infection. The software used to perform the simulation was properly programmed to contain environment, time, space, zones with migrations and agents that responded to behave similarly to the Immune System. The agents were made to simulate the behavior of the cells and organic structures: macrophages, TCD4 lymphocytes, B lymphocytes, erythrocytes, antibodies and *Plasmodium falciparum*. Equations were used to quantify the agents and to promote a simulation equivalent to the organic behavior. The simulation generated graphs that allowed to observe the behavior of the agents before the evolution of the infection. Despite some extreme values, the behavior of the agents was consistent with the real phenomena.

Keywords: Malaria; Immune System; Artificial Intelligence; *Plasmodium*

INTRODUCTION

Malaria is one of the most important parasitic infectious diseases in the world, with the protozoan *Plasmodium* as its causative agent. Five different species of this

protozoan are responsible for the occurrence of all malaria episodes in humans: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium knowlesi* and *Plasmodium ovale* (GARCIA, 2010). The vector that transmits this infection is the female mosquito of the genus *Anopheles* and this process occurs when an infected insect stings a human being and in this act happens the inoculation of the parasite, which will trigger clinical actions and reaction in that individual causing the disease (White et al., 1991).

This disease was transmitted in more than 100 countries in 2016. An estimated 216 million cases have occurred, with approximately 445,000 deaths worldwide, and of these victims about 90% are from African countries. In different regions, the species of *Plasmodium* that cause the disease have a different distribution, as can be observed when evaluating that the most important cause of malaria in Africa is *P. falciparum* with 99.7% of the events, different from the Americas, that has *P. vivax* with 64%. (WHO, 2017).

The most common form of malaria infection is by the bite of the *Anopheles* mosquito, however this is not the only form of infection, it can also be transmitted by transfusion of infected blood. The species most frequently associated with the transfusional infection are *P. falciparum*, *P. malariae* and *P. vivax* (ABDULLAH, 2016)

transfusion-transmitted malaria (TTM) is a rare condition in non-endemic regions, however, in sub-Saharan African countries there is a relatively high probability of transfusion transmission. An assessment of 33,029 blood donor samples, analyzed through thick smears, established a median prevalence of malaria of 10.2% - with a minimum of 0.7% in Kenya and a maximum of 55% in Nigeria. It is important to note that differentiating cases of natural malaria from transfusion in countries with high occurrence rates is a challenging task, resulting in a large underreporting of MTT,

which suggests that this is a bigger problem than it has been reported. (OWUSU-OFORI, 2010)

Even in non-endemic regions, TTM is a rarity, it should be treated as a phenomenon of high importance, since it can result in a higher mortality, especially in patients of greater vulnerability as is the case of pregnant women, infants and immunocompromised patients. In addition, it should be noted that in these regions, due to the low occurrence of the disease, it is possible that there is a lack of preparation of the professionals, including the identification of the infection, which compromises the treatment. (ABDULLAH, 2016)

Some important factors make transfusion infection even more complicated, one of which is that the infusion of contaminated blood immediately releases a high amount of parasites directly into the bloodstream. Another important point is that, normally, the recipient of the blood is a person who is already in a weakened state of health, which can cause a greater risk of complications and death. (ABDULLAH, 2016)

The screening of infection in blood donations, in places of economic fragility, is a complicating factor for the progression of TTM. Because there are limited blood management services that do the minimum screening (ABDULLAH, 2016). In order to facilitate access to the diagnosis where microscopy is not available, rapid antigen detection tests were inserted in countries with endemic malaria. However, these methods have low sensitivity in samples with parasite density less than 100 parasites per microliter. (MANGANO et al., 2019).

To promote studies and tests that contribute to scientific evolution, new methods have emerged. Since the 1980s, Distributed Artificial Intelligence (DAI) has evolved and strengthened, becoming today an extremely promising scientific topic for research and technological advancement. This area also stands out for its property of

establishing multidisciplinary ties, as it brings with it a plurality of knowledge such as Computer Science, Economics, Sociology, Biology and others. (POSSI, 2012)

One of the main techniques of DAI is the Multi-agent System (MAS) model, which operates entities with autonomous and intelligent behavior. Computer modeling based on Agents has become a great method to simulate, study, understand and even predict possible actions and reactions coming from Complex Adaptive Systems (CAS), such as the Immune System (IS). This method uses an approach that designs a system in which each agent is the representation of a real being. These can be heterogeneous, where each has particular characteristics, with its individual rules and states, and yet interact with the other agents. (LI, 2009)

Therefore, this study is to search for an alternative in malaria research through the development of a computer simulation using artificial intelligence with a multi-agent system that is capable of achieving responses comparable to real phenomena and that can demonstrate part of the behavior of the immune system response of a human being after being infected by *Plasmodium falciparum*, seeking a better understanding of the disease.

2. MATERIAL AND METHODS

One of the benefits of using Agent-based computational modeling is that it makes it possible to investigate complex, macroscopic and deterministic phenomena resulting from stochastic microscopic relationships. So it becomes possible to analyze hypotheses about cellular behaviors and how they influence and result in other events. (POSSI, 2012)

Multiagent systems can be described as a system consisting of a certain amount of autonomous components that are capable of interacting with each other in a given

universe, collaborating with each other to solve a problem whose solution goes beyond the competence of each member. The MAS comes with the intention of studying the collective, focusing on the interaction of the entities that make up this whole. Therefore, the essence is in the agents' point of view, their relations and the repercussion of these in the emergence of the greater event. (HÜBNER et al., 2004; POSSI, 2012)

2.1. Creating Agent-Based Models

The essence of successfully creating a computational simulation using the Multi-Agent System is to identify and characterize these intelligent autonomous entities. It is of utmost importance to define them, typifying their actions, reactions and interactions, in an appropriate and objective way. In order for the agents to be clearly established, there must be a strong theoretical basis to define their behavioral rules, as is the case with the simulation of the immune system. (MACAL, NORTH, 2009; POSSI, 2012)

For the development and creation of a simulation that uses this computational modeling method, besides knowing well the expected behavior of each agent to be simulated, it is necessary to establish some concepts and to define them correctly, to guarantee the ideal operation. Thus, we used the definitions stipulated by Possi (2012) in AutoSimmune, for the execution of this work, where we have:

2.1.1. Environment

The environment is about the context, the environment, where the agents will be willing. For the agents this is their universe, and they assume that there is nothing beyond this reality. Analyzing, specifically, the reality of AutoSimmune, we have an environment with characteristics described in table 1

TABLE 1 - Environment Characterization in AutoSimmune

Conditions or the Environment	Definition
Inaccessible	The agents inserted therein have no reference to the environment in its entirety, only in what is in its vicinity.
Non-deterministic	The agent is not able to predict the next phases and characteristics that the environment will assume, based solely on their individual action. The behavior of other agents, as well as external actions, such as the passage of time, can influence the next stage.
Dynamic	Even if the agent makes a choice or is not able to take any action, the environment remains to transform its state.
Discreet	In spite of the great capacity of alteration of states that the environment is able to present, considering the high number of agents and possibilities of positions, dispersions and interactions, these possibilities are not infinite

Source: Prepared by authors based on POSSI, 2012

2.1.2. Time

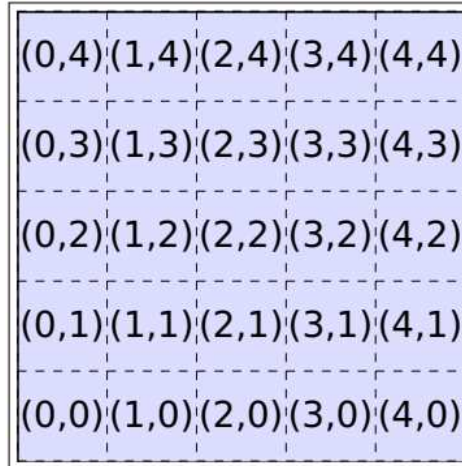
The passage of time in the simulator is modeled using a concept called Tick, which behaves differently from the real-time count. The tick is the period of time necessary for the change from one stage to another to occur in the environment. In this way, all the events determined for that moment must be performed and finalized so that only then will the next tick occur. Thus, in the course of a tick, all agents will be able to make their decisions, alternating their positions, releasing substances, checking their neighborhood, having as information the reality of the previous tick. Only when each agent executes and completes its action does the tick end, and that data is processed. Thus, a reality is created in which, from the point of view of the agent, all events are occurring concomitantly.

2.1.3. Space

To form space, Autosimmune uses a Grid projection, where you can create very precise space cells - places - by joining vertical and horizontal rows. These rows have spatial coordinates in which the lines - horizontal projections - are encoded with *i* and the columns - vertical projections - are coded with *j*, having at their junction the

formation of the cell with the coordinate (i,j) . Figure 1 demonstrates a Grid-type projection structure

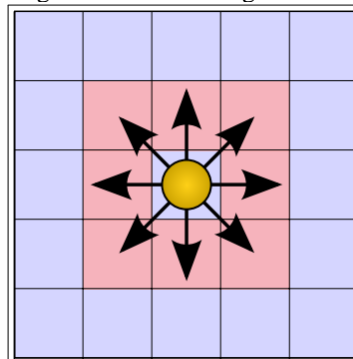
Figure 1 - Illustration of the space structure defined by a Grid-type projection



Source: POSSI, 2012

Through this type of projection, the agent within the system now has a location (i,j) , and its displacement is done by modifying its current position to another in its Moore Neighborhood. Thus, an agent can not proceed to a position other than his own, without passing through an adjacent cell. Figure 2 shows the Moore Neighborhood structure.

Figure 2. Moore's neighborhood

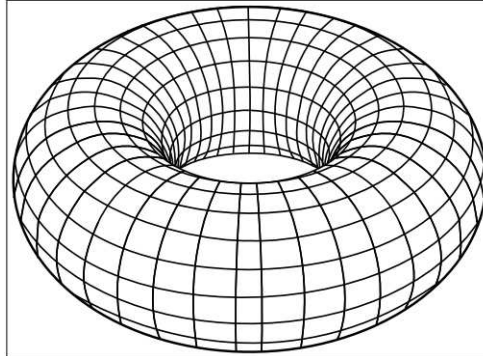


Source: POSSI, 2012

In order to simulate a larger space, which is closer to reality, however, without expanding the environment so that it could overload the simulator, a toroidal surface was defined. Thus, when an agent goes beyond the direct edge, for example, it

appears on the same line, but on the left edge. The illustration of a toroidal space can be seen in Figure 3.

Figure 3 - Illustration of a toroidal space



Source: POSSI, 2012

Another feature of the space created in AutoSimmune is that when an agent tries to move to a cell that is already "occupied", it was determined that this movement is accepted, because it would simulate the passage of the agent "above" or "under" the other, which tries to establish a three-dimensional space on a Grid.

2.1.4. Areas

The zones are described as a local, having its context, its Grid projection, its layers and all its variables that will characterize and specify this area of housing for the agents.

In the current model, the zones correspond to the regions of the human organism, where the cells or parasites develop their actions and reactions. Each of these places have specific characteristics such as their size, agents and substances able to circulate through it, how they can behave in that environment, etc.

2.1.5. Migrations between Zones - Portals

Since there are more than one zone for agents to enter and navigate, it is important that there be conditions for them to pass through and move between them. In order for this transition to take place, singular agents called portals (portals) were

created, which are the representation of lymphatics and blood vessels that interconnect organs and regions of the body.

All zones have portals that are connected to each other, so that when an agent is randomly shifting through a Portal it is directed to the region that is associated with that connector.

2.1.6. Agents

The agents were architected as being reactive, making their decisions according to their present state and their perception of the environment, in this way, they would resemble the behavior existing in the living organism. The behavioral guidelines of the agents are based on literature on the biological and health sciences, which describe immunology, histology, parasitology and infectology.

Each of the agents is programmed with the Step method, where they have rules that plan their actions at each tick after evaluating the environment, and thus react according to their predetermined characteristics, simulating the reaction of the organism. The characteristics of each simulated agent are given in Table 2

TABLE 2 - Agents and their characteristics

Agent in the AutoSimune	Simulated organic structure	Agent Feature
Plasmodium	Plasmodium falciparum	The agent initiates a process of random movement through the environment until it encounters a cell, when it finds a recognition to define if it corresponds to a erythrocyte. If it is a red blood cell, the Plasmodium enters into an "infecting" state for a certain number of ticks. If the infection has been successful, the agent goes into the "asexual reproduction" state, initiating its replication process. However, if the infection attempt fails, the agent resumes its random state of motion until it finds a new cell to try to infect (succeeds or fails) or until it reaches its maximum "lifetime" and is eliminated .
Eritrócitos	Erythrocyte	Its formation occurs in the zone Bone Marrow and later goes to the zone Circulation, that represents the blood vessels. Circulation has connections to other zones, so the Erythrocyte is in random motion, but can also migrate to other organs. While the erythrocyte moves it may or may not be infected by the Plasmodium agent, if this occurs, the erythrocyte keeps moving stochastically until it "dies" from the infection, or is eliminated in the spleen. If the infection does not occur, the cell will remain shifted until it reaches its "maximum lifetime" and is then directed to the spleen and discarded. (Gomes et al., 2016)
Macrófago	Macrophage	The macrophage agent was adapted to mimic the splenic macrophages in Plasmodium falciparum infection. The agents are randomly allocated to the spleen, distributed statically through the tissue. Throughout each tick the macrophage will "look" in its vicinity for some cell. If the cell you find is an erythrocyte, it will check whether it is in the "infected" state or not. If the identified erythrocyte is not infected by the parasite and its life time is less than 80% of the defined maximum, the macrophage does nothing. However, if the erythrocyte exceeds 80% of its maximum lifetime or is infected, it is eliminated by the macrophage instantaneously. In situations of infected cells, in addition to eliminating them, the macrophage will present the antigen related to the infecting agent through its attribute "MHCII". The macrophage, when reaching its maximum life time, is also eliminated from the simulation.
Linfócito TCD4	Lymphocyte TCD4	In the spleen, the TCD4 lymphocyte agent moves randomly through the tissue until it finds some cell in its vicinity. When this contact is established, the agent checks which cell type it has just found. If it is a macrophage manifesting an antigen, it will enter the "active" state, copy the antigen that is in the "MHCII" attribute and enter the division process. Some of these lymphocytes become memory cells, while others will continue to fight the invader, moving randomly through the tissue until it encounters B lymphocyte or exceeds its maximum lifetime and is eliminated from the simulation.
Linfócito B	Lymphocyte B	The B lymphocyte agent also stochastically moves through the splenic tissue to meet with a TCD4 lymphocyte agent. When this happens, the B lymphocyte activates, copies the antigen that has been passed from the macrophage to the TCD4 lymphocyte, enters the "plasmocyte" state and begins to produce antibodies specific for

2.2. Experiment

In Experiment, a simulation was performed with the interaction of Plasmodium in a system with erythrocytes, macrophages, B lymphocytes and TCD4, in a context where the red blood cells transit through the circulation and spleen zones. In order to perform this experiment, it was necessary to establish the actual values of each of these cells found in the body, and then convert them into values consistent with the simulator.

The human has in his blood approximately 5 million red blood cells per mm^3 , with variations according to sex and age. Starting from this value of red blood cells, we have in a liter of blood an amount of 5,000,000,000,000 (five trillion) red blood cells; in five liters of blood - average blood volume considered for an adult - we would have a total of 25 trillion circulating red blood cells in that organism. (JUNQUEIRA, 2013)

Circulating monocytes in an adult are found in the amount of 90 - 1300 cells per microliter of blood and the macrophages in the spleen are 100 times larger. For this study we established the monocyte value at 500 cells/ μL , so for macrophages in the spleen, we have 50,000 cells/ μL (JUNQUEIRA, 2013).

Lymphocytes are found in abundance in the blood with values of 800 to 4,800 cells/ μL ;, but are subdivided into different types, with B cells representing a portion of 5 to 10% of this total. In this study, the total value of lymphocytes was established in 3000 cells/ μL , considering B cells in 10%, these were quantified in 300 cells/ μL (JUNQUEIRA, 2013). For CD4 lymphocytes in healthy adults, 830 cells/ μL were considered. (VAN GEERTRUYDEN, 2006; KORENROMP, 2005)

When Plasmodium falciparum - the most virulent species and therefore the one chosen to be simulated in this study - is inoculated in humans by the vector Anopheles spp., Usually on an average of 20 parasites, it continues in its sporozoite form to the

liver and begins a cycle of development that each one produces approximately 40,000 merozoites by the fifth or sixth day after the arrival of the parasite in the hepatocyte (REY, 2008). Thereafter, they enter the red blood cells and initiate another biological cycle, where they establish schizogony in the blood and release new merozoites, from 6 to 32 for each infected erythrocyte, at intervals of around 36 to 48 hours. The conditions of this cyclic process allow the formation of a significant parasite biomass and exponential growth, which generates fever and other pathological conditions, such as blood vessel obstruction and anemia (BUFFET et al., 2011). When it comes to transfusion malaria, we have this phenomenon already starting in the erythrocyte cycle, where the parasite is ready to infect the red blood cells.

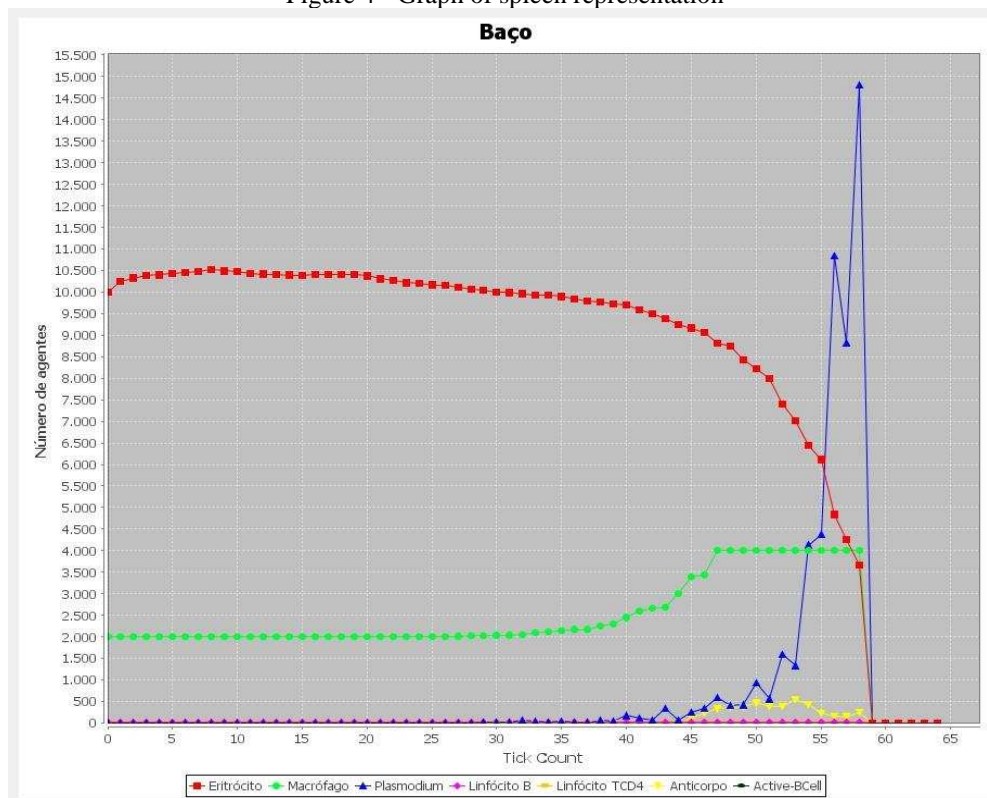
There are different serological tests to identify malaria, however many of them have low sensitivity, with a mark of 100 merozoites per microliter. (MANGANO et al., 2019) Knowing this, it is possible to state that the blood of a person with a parasitic load of up to this value can pass through the donation process and be infused into a patient.

Given these assumptions, we established an organism with the following cell numbers: 5,000,000 cells/ μ L erythrocytes; 50,000 cel/ μ L macrophages; 300 cells/ μ L B lymphocytes; 16.5 cel/ μ L TCD4 lymphocytes and an inoculation of 100 cel/ μ L merozoites. Transforming these values to acceptable and applicable amounts of agents in AutoSimmune, so that equivalence between them was not lost, we created a system where we have 200,000 erythrocytes, 2,000 macrophages, 12 B lymphocytes, 33 TCD4 lymphocytes and an inoculation of 4 merozoites .

3. RESULTS AND DISCUSSION

The simulation, referring to the parameters established, generated the graphs, expressed in figures 4 and 5, that allow us to observe the behavior of the agents in the face of the evolution of the infection. In both graphs, we can see that the multiplication of the agent "Plasmodium" is substantially aggressive, as the "erythrocyte" agent is eliminated. Despite the extreme value, the behavior of the agents is consistent with the real phenomenon, since for each erythrocyte infected with *P. falciparum*, the release of more than 30 new parasites can occur, and this species can infect erythrocytes of any age. repercussions on a more severe parasitemia (GARCIA, 2010)

Figure 4 - Graph of spleen representation



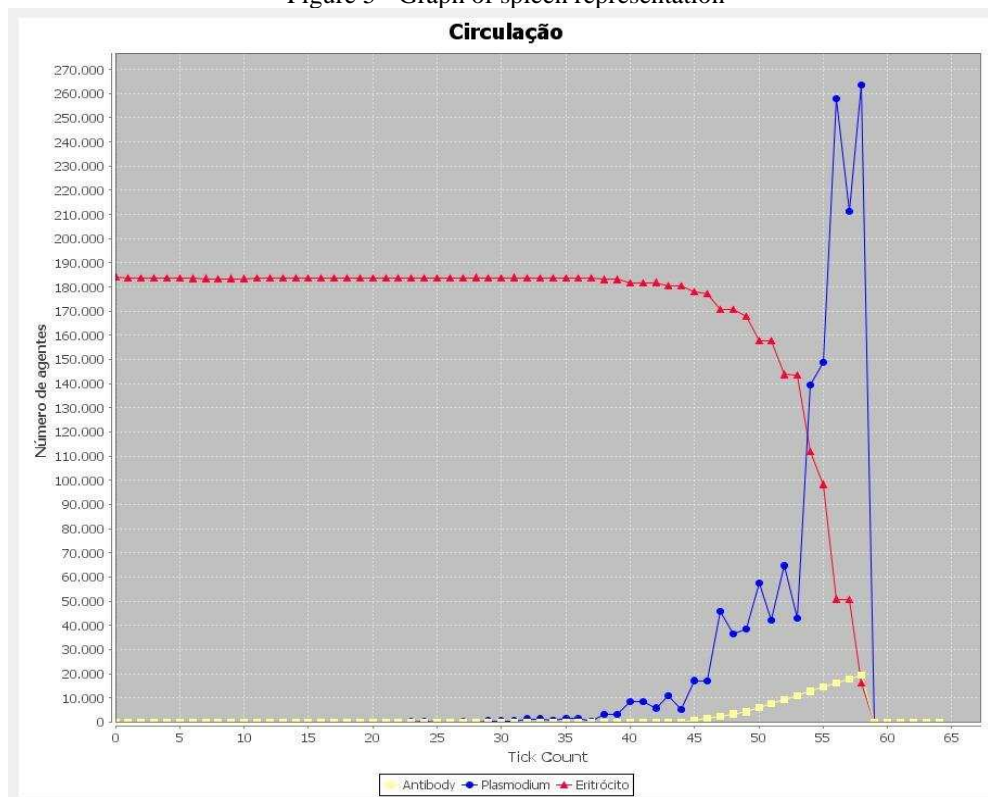
Source: Prepared by the authors

Another important aspect is the response of the agents that correspond to the immune system, as can be seen in the increase in the amount of agents corresponding to the immunological cells after the beginning of plasmodium rise. In figure 4, the first change to be observed is the increase of macrophages, doubling their amount. It is known that the normal spleen of an adult has an average longitudinal diameter of 8

cm, understanding that some infectious processes, such as malaria, can lead to an increase in size and splenomegaly - at least 16 cm in longitudinal diameter - and is It is important to consider that there is also an increase in the number of macrophages in this process (BOFFOFFI, 2016).

From this effect, we have the change in the number of lymphocytes and consequently the production of antibodies. It is observed that with the amplification of the immune response the amount of plasmodium suffers oscillations, demonstrating the attempt to neutralize the infection, although it does not impede its growth. (LONG; ZAVALA, 2017)

Figure 5 - Graph of spleen representation



Source: Prepared by the authors

An analysis of the behavior of the infection in the human being shows considerable similarities with the simulation, although it is known that there are many other cells and organic structures involved in the natural process that are not

contemplated in the AutoSimmune, which justifies the discrepancies (LONG; ZAVALA, 2017).

4. CONCLUSION

Malaria is a major disease, affecting hundreds of thousands of people every year. Better understanding of the behavior of this disease could contribute significantly to health promotion, disease prevention and rehabilitation.

The *in silico* investigation allows the verification of new hypothesis for the understanding of the pathophysiology of the disease and the AutoSimmune allows the accomplishment of numerous tests in a short time, without posing risks to humans due to the experiments. There is much to implement in the simulator, and there is a plan to refine it with new agents and parameters equivalent to other cells and organic structures. In this way, it will resemble pathophysiological phenomena and will become an even more feasible model for the simulation of the falciparum malaria immunology.

Conflict of interest: None declared

Funding: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

Author Statement:

- Manuscript Title: IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM: IN SILICO STUDY
- Contribution to the work:
 - Experimental draw (1)
 - Realization of experiments (2)
 - Article Writing (3)
 - Final critical review of the text (4)
- Authors:
 - Ademir Nunes Ribeiro Júnior (1, 2, 3)
 - Romário Brunos Will (2)
 - Luiz Alberto Santana (1)
 - Paulo Sérgio Balbino Miguel (4)
 - Andréia Patrícia Gomes (4)
 - Rodrigo Siqueira-Batista (1, 4)
- Corresponding Author:
 - Name: Ademir Nunes Ribeiro Júnior
 - E-mail: junioranrj@gmail.com
 - 1324 Ana Moura Ave, Timóteo, MG
35.180.624, Brazil

REFERENCES:

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H. *Imunologia Básica: Funções e Distúrbios do Sistema Imunológico*. 3ª. ed. [S.l.]: Elsevier, 2007

ABDULLAH, Saleh; KARUNAMOORTHY, Kaliyaperumal. Malaria and blood transfusion: major issues of blood safety in malaria-endemic countries and strategies for mitigating the risk of Plasmodium parasites. **Parasitology research**, v. 115, n. 1, p. 35-47, 2016.

BISOFFI, Zeno et al. Chronic malaria and hyper-reactive malarial splenomegaly: a retrospective study on the largest series observed in a non-endemic country. **Malaria journal**, v. 15, n. 1, p. 230, 2016.

BUFFET, Pierre A. et al. The pathogenesis of Plasmodium falciparum malaria in humans: insights from splenic physiology. **Blood**, v. 117, n. 2, p. 381-392, 2011.

FOLCIK, V.; AN, G.; OROSZ, C. The basic immune simulator: an agent-based model to study the interactions between innate and adaptive immunity. *Theoretical biology & medical modelling*, v. 4, p. 39, 2007

GARCIA, L. S. Malaria. **Clinics in Laboratory Medicine**. v.30, n.1, p. 93-129, 2010

HÜBNER, J. F.; BORDINI, R. H.; VIEIRA, R. *Introdução ao Desenvolvimento de Sistemas Multiagentes com Jason*. [S.l.], 2004.

JUNQUEIRA, Luis C. et al. **Junqueira's basic histology: text & atlas/Anthony L. Mescher**. New York [etc.]: McGraw-Hill Medical,, 2013.

KORENROMP, Eline L. et al. Malaria attributable to the HIV-1 epidemic, sub-Saharan Africa. **Emerging infectious diseases**, v. 11, n. 9, p. 1410, 2005.

LI, X.; WANG, Z.; LU, T.; CHE, X. Modelling immune system: Principles, models, analysis and perspectives. *Journal of Bionic Engineering*, v. 6, n. 1, p. 77–85, 2009.

LONG, C. A., ZAVALA, F. Immune Responses in Malaria. **Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine**, v.7, n.8, 2017

MACAL, C. M.; NORTH, M. J. Agent-based modeling and simulation. In: Proceedings of the 2009 Winter Simulation Conference. [S.l.: s.n.], 2009. p. 86–98.

MANGANO, Valentina D. et al. Risk of transfusion-transmitted malaria: evaluation of commercial ELISA kits for the detection of anti-Plasmodium antibodies in candidate blood donors. **Malaria journal**, v. 18, n. 1, p. 17, 2019.

OWUSU-OFORI, Alex K.; PARRY, Christopher; BATES, Imelda. Transfusion-transmitted malaria in countries where malaria is endemic: a review of the literature from sub-Saharan Africa. **Clinical Infectious Diseases**, v. 51, n. 10, p. 1192-1198, 2010.

POSSI, M. A. **Uma ferramenta para simulação do SI através de sistemas multiagentes: um caso de estudo da autoimunidade**. 106 f. Thesis (Master) - Departamento de Informática, Universidade Federal de Viçosa. 2012

REY, Luis. Bases da parasitologia médica / Luís Rey – 3 ed, Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2010

ROITT, I. M.; DELVER, P. J. *Roitt's Essential Immunology*. [S.l.]: Blackwell Science, 2001. ISBN 0-632-05902-8

VAN GEERTRUYDEN, Jean-Pierre et al. CD4 T-cell count and HIV-1 infection in adults with uncomplicated malaria. **JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes**, v. 43, n. 3, p. 363-367, 2006.

5- CONCLUSÃO

A malária é uma doença de grande dimensão, afetando centenas de milhares de pessoas por ano. Entender melhor o comportamento dessa doença poderia contribuir expressivamente na promoção da saúde, prevenção da doença e reabilitação.

A investigação in-silico propicia a verificação de novas hipótese para a compreensão da fisiopatologia da enfermidade e o AutoSimmune permite a realização de inúmero ensaios em curto espaço de tempo, sem acarretar riscos aos humanos devido aos experimentos.

Há muito o que implementar no simulador, e existe o planejamento de aprimorá-lo com novos agentes e parâmetros equivalentes a outras células e estruturas orgânicas. Desse modo, ele se assemelhará dos fenômenos fisiopatológicos e se tornará um modelo, ainda mais, factível para simulação da imunologia da malária falcípara.

ANEXO A - Comprovante de submissão do artigo

Successfully received: submission IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM: IN SILICO STUDY for International Journal of Medical Informatics

1 mensagem

International Journal of Medical Informatics <Evisesupport@elsevier.com>
Responder a: ijmi@elsevier.com
Para: junioranrj@gmail.com

6 de junho de 2019 20:52

This message was sent automatically.

Ref: IJMI_2019_602

Title: IMMUNE RESPONSE TO TRANSFUNDED PLASMODIUM FALCIPARUM: IN SILICO STUDY

Journal: International Journal of Medical Informatics

Dear Professor. Nunes Ribeiro Júnior,

Thank you for submitting your manuscript for consideration for publication in International Journal of Medical Informatics. Your submission was received in good order.

To track the status of your manuscript, please log into EVISE® at: http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=IJMI and locate your submission under the header 'My Submissions with Journal' on your 'My Author Tasks' view.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

International Journal of Medical Informatics

Have questions or need assistance?

For further assistance, please visit our [Customer Support](#) site. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about EVISE® via interactive tutorials. You can also talk 24/5 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

Copyright © 2018 Elsevier B.V. | [Privacy Policy](#)

Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands, Reg. No. 33156677.