



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE FÍSICA – CCEN
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA**

TESE DE DOUTORADO

**ESTUDO DA DINÂMICA DA INFECÇÃO PELO HIV SOB TERAPIA
ATRAVÉS DE MODELOS DE AUTÔMATOS CELULARES**

por

Ramón Enrique Ramayo González

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Física do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Física.

Banca Examinadora:

Prof. Sérgio Galvão Coutinho (Orientador - DF-UFPE)
Prof. Ernesto Carneiro Pessoa Raposo (DF-UFPE)
Prof. Marcelo Andrade de Filgueiras Gomes (DF-UFPE)
Prof. Marcelo Lobato Martins (DF-UFV)
Prof. Paulo Murilo Castro de Oliveira (IF-UFF)

Recife - PE, Brasil
Outubro - 2012

Catálogo na fonte
Bibliotecária Joana D'Arc L. Salvador, CRB 4-572

Ramayo González, Ramón Enrique.

Estudo da dinâmica da infecção pelo HIV sob terapia através de modelos de autômatos celulares / Ramón Enrique Ramayo Gonzalez.– Recife: O Autor, 2012.
xix, 105 p.: fig.; tab.

Orientador: Sérgio Galvão Coutinho.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Pernambuco. CCEN. Física, 2012.
Inclui bibliografia.

1. Física estatística. 2. Física médica.
3. Imunoterapia. 4. Infecções por HIV I. Coutinho, Sérgio Galvão (orientador). II. Título.

530.13

(22. ed.)

FQ 2012-047



Universidade Federal de Pernambuco
Departamento de Física – CCEN
Programa de Pós-Graduação em Física
Cidade Universitária - 50670-901 Recife PE Brasil
Fone (+ + 55 81) 2126-7640/2126-8449 - Fax (+ + 55 81) 3271-0359
<http://www.ufpe.br/ppgfisica/> e-mail: posgrad@df.ufpe.br

Parecer da Banca Examinadora de Defesa de Tese de Doutorado

Ramón Enrique Ramayo González

ESTUDO DA DINÂMICA DA INFECÇÃO PELO HIV SOB TERAPIA ATRAVÉS DE MODELOS DE AUTÔMATOS CELULARES

A Banca Examinadora composta pelos Professores Sérgio Galvão Coutinho (Presidente e Orientador), Ernesto Carneiro Pessoa Raposo, Marcelo Andrade de Filgueiras Gomes, todos do Departamento de Física da Universidade Federal de Pernambuco, Marcelo Lobato Martins, do Departamento de Física da Universidade Federal de Viçosa e Paulo Murilo Castro de Oliveira, do Instituto de Física da Universidade Federal Fluminense, consideram o candidato:

() Aprovado

() Reprovado

() Em exigência

Secretaria do Programa de Pós-Graduação em Física do Departamento de Física do Centro de Ciências Exatas e da Natureza da Universidade Federal de Pernambuco em vinte e seis de outubro de dois mil e doze.

Prof. Sérgio Galvão Coutinho
Presidente e Orientador

Prof. Ernesto Carneiro Pessoa Raposo

Prof. Marcelo Andrade de Filgueiras Gomes

Prof. Marcelo Lobato Martins

Prof. Paulo Murilo Castro de Oliveira

À memória de minha querida vovozinha, Olga Acosta... de seu "papito" ...
A minha adorada filha, Simone Samantha, a mais recente das razões que tenho para
viver...

Agradeço, em primeiríssimo lugar a meu compatriota e grande amigo, Pedro Ernesto García, por ter acreditado em mim sempre.

A minha amada esposa, por ter renunciado a tudo.

A minha insuperável mãezinha, por suas lágrimas em silêncio, provocadas por minha ausência, por seu exemplo, por existir.

Em segundo lugar, a minhas irmãs *Sastrigue* e *Coyeye* e as minhas queridas sobrinhas, *Katy* e *Kary*, a meus amigos, os de *fora*: Ernesto, por sua ajuda; Eduardo, por seu apoio; Roberto, por seu exemplo; Sérgio, por sua presença; Raiden, por sua coragem; Fernando, pela sua ajuda no impulso inicial, e os de *dentro*: Till, Tony, Ulises, Mauricio, Rogelito, Yasel, Camejo e os demais que não caberiam aqui, por sua amizade incondicional, a Victor Pino, por me mostrar, a tempo, o *valor* da sua *condicionada* amizade.

A seu Nilton, meu *papá* brasileiro.

A Freddy, meu *hermano* colombiano.

A meu orientador e amigo, Sérgio Coutinho, por seus ensinamentos, sua confiança, seu apoio e amizade.

A Pedro Hugo, por sua colaboração.

A todos meus colegas ao longo destes anos, Hans, Carlos, os *Miguelés*, etc.

A Marquinhos, amigo brasileiro de muitas farras.

A Oscar, amigo cubano das mesmas farras.

Finalmente, ao Departamento de Física, por sua ajuda financeira inicial, sem a qual não teria sido possível o meu começo, e ao CNPq, por ter contribuído financeiramente com a realização deste sonho.

”Agora sei que depois de tanto esforço tirarei da água um lindo peixe, e não um sapato velho...”

Resumo

Nesta tese, a dinâmica de infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), sob a ação de terapias antiretrovirais, é estudada usando modelos de autômatos celulares. Na primeira parte do texto, está apresentada uma revisão bibliográfica com o objetivo de introduzir a terminologia e os conceitos biológicos necessários para descrever as interações entre o HIV e o sistema imunológico. Inicialmente é apresentado um estudo preliminar das características do HIV e da maneira como se desenvolve a fase inicial da infecção primária e as fases subsequentes da dinâmica do HIV no organismo humano. Em seguida, são apresentados e discutidos os principais modelos matemáticos formulados para descrever a dinâmica da infecção pelo HIV, tanto os baseados em sistemas de equações diferenciais ordinárias quanto aqueles por meio de autômatos celulares, os quais serviram de base para dois modelos de autômatos celulares propostos nesta tese. O primeiro modelo simula a dinâmica das populações de células T do sistema imune envolvidas no processo da infecção quando sob o efeito de terapias antiretrovirais, enquanto o segundo incorpora ao primeiro um subsistema paralelo e acoplado para analisar o papel da mobilidade da população dos vírus na dinâmica da infecção. Para ambos os casos é proposto um mecanismo auto-ajustável que regula a eficácia de cada droga usada no tratamento ao longo do tempo, em função do nível de infecção em cada instante de tempo. Tal mecanismo está apoiado na hipótese de que a alta taxa de mutação do HIV em seu processo de replicação é um dos fatores intrínsecos responsável pelo desenvolvimento da *resistência* às drogas e a longa permanência do vírus. Através de ambos os modelos, os efeitos de tal mecanismo de auto-ajuste são analisados, tanto para o caso de monoterapias quanto para o caso das bem sucedidas terapias combinadas que usam duas ou mais drogas antiretrovirais. Os resultados oriundos de cada modelo são comparados com dados de estudos clínicos publicados na literatura, e reproduzem a evolução temporal das populações de células e vírus tanto em curta quanto em longas escalas de tempo após o início do tratamento. Como complemento a esses estudos, é apresentado um modelo de equações diferenciais equivalente ao modelo de autômatos celulares, o qual reproduz em curta escala de tempo a evolução das populações de células e vírus,

mostrando concordância com os resultados obtidos anteriormente. Como resultado dos estudos realizados nesta tese, conclui-se que os modelos de autômatos celulares propostos descrevem apropriadamente as fases da dinâmica da infecção pelo HIV sob regime de terapias antiretrovirais, tanto em curta como em larga escala de tempo. Além disso, esses modelos podem ser adaptados para incorporar outros mecanismos de resistência às drogas e para testar protocolos clínicos que maximizem a eficiência dos tratamentos antiretrovirais.

Palavras – chave: Autômatos celulares, dinâmica da infecção, terapias antiretrovirais, efetividade do tratamento

Abstract

In this thesis, the dynamics of infection by the human immunodeficiency virus (HIV), under the action of antiretroviral therapies, is studied using cellular automata models. In the first part of this text, a literature review is presented in order to introduce the terminology and concepts necessary for describing biological interactions between HIV and the immune system. Initially, it is presented a preliminary study of the characteristics of HIV and how it develops the early phase of primary infection and subsequent stages of the dynamics of HIV in the human body. Following, are presented and discussed the main mathematical models formulated to describe the dynamics of HIV infection, both based on systems of ordinary differential equations as those using cellular automata, which were the basis for two models of cellular automata proposed in this thesis. The first model simulates the dynamics of T cell populations of the immune system involved in the infection when under the effects of antiretroviral therapies, while the second incorporates a subsystem parallel to the first and coupled to analyze the role of mobility of virus population in the dynamics of the infection. In both cases it is proposed a self-adjusting mechanism for regulating the efficacy of each treatment antiretroviral drug, along the time depending on the level of infection in each time instant. This mechanism is supported by the hypothesis that the high mutation rate of HIV in their replication process is one of the intrinsic factors responsible for the development of *drug resistance* and long stay of the virus. Through both models, the effects of such self-adjustment mechanism are analyzed, both for the case of monotherapies, as in the case of the successful combined therapies that use two or more antiretroviral drugs. The results from each model are compared with data from clinical studies reported in the literature, and reproduce the evolution of populations of cells and viruses both in short as at long time scales after initiation of treatment. As a complement to these studies is presented a model of differential equations equivalent to the cellular automata model, which reproduces at short-time scale the evolution of populations of viruses and cells, showing accordance with results obtained previously. As a result of the studies in this thesis, it is concluded that the proposed cellular automata models appropriately describe the phases of the

dynamics of HIV infection in antiretroviral therapy regimen, both in short and large time scale. Furthermore, they can be adapted to incorporate other mechanisms of drug resistance and for testing protocols that maximize the clinical effectiveness of antiretroviral treatments.

Keywords: Cellular automata, dynamics of infection, antiretroviral therapy, effectiveness of treatment

Sumário

1	A Dinâmica da Infecção pelo HIV	1
1.1	Introdução	3
1.1.1	O Sistema Imunológico	3
1.1.2	O Vírus da Imunodeficiência Humana. O processo de infecção.	7
1.2	As Terapias Antiretrovirais	10
2	Modelos Matemáticos para a Infecção pelo HIV	14
2.1	Modelos de Equações Diferenciais	14
2.2	Modelos de Autômatos Celulares	25
2.2.1	Autômatos Celulares - definições e propriedades	25
2.2.2	Autômatos Celulares - aplicações	27
2.2.3	Modelos de Autômatos Celulares	29
2.2.4	Comparação entre o modelo HIV-CA e o modelo de Shi et al [42].	41
3	Autômato Celular para modelar as Terapias Antiretrovirais na Dinâmica do HIV	52
3.1	Modelo de Autômato Celular	52
3.1.1	Hipóteses do modelo.	52
3.1.2	Regras dinâmicas do CA	54
3.1.3	Efetividade do tratamento	58
3.1.4	Resultados das Simulações	61
3.1.5	Comparação com dados clínicos em longa escala de tempo . .	67
3.1.6	Modelo equivalente descrito por equações diferenciais	74

4	Modelo de autômatos celulares incluindo a mobilidade do vírus	79
4.1	Modelo e simulação.	80
4.1.1	Dinâmica da infecção no modelo V-CA com tratamento	85
4.2	Comparação com dados clínicos.	87
5	Conclusões e considerações finais	90

Lista de Figuras

1.1	Órgãos linfáticos centrais (fonte: www.teucorpo.com.br). A medula óssea encontra-se distribuída em todo o esqueleto.	3
1.2	Linfócito T, uma das células que compõem o sistema imunológico (Fonte: http://pt.wikipedia.org/wiki/Linfócito).	5
1.3	Microscopia eletrônica de um Linfonodo, com as ampliações 4x, 40x e 100x [8].	6
1.4	Linfonodo. a) Corte transversal de um linfonodo típico, b) Estrutura interna [8].	6
1.5	Vírus do HIV, alguns dos seus nucleotídeos mais importantes [9]. . . .	7
1.6	Esquema do ciclo de vida do HIV, mostrando desde a introdução do RNA viral no interior da célula, as 5 fases do processo de formação de novas partículas virais até a saída através da membrana [9].	8
2.1	Esquema do modelo de EDOs básico da dinâmica do vírus HIV, proposto por Nowak e May [26]	15
2.2	Comportamento da população de partículas virais (eixo y) no tempo (dias) (eixo x) para o caso em que $R_0 > 1$. Gráfico semi-logarítmico. Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$	17

2.3	Comportamento da população de células saudáveis $H(t)$ (eixo y) no tempo (dias) (eixo x). Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$	17
2.4	Comportamento da população de células infectadas $I(t)$ (eixo y) no tempo (dias) (eixo x). Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$	18
2.5	Comportamento da população das partículas virais $V(t)$ (eixo y) no tempo (dias) (eixo x). Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$	18
2.6	Comportamento da concentração das partículas virais sob tratamento (A: teoria, B: experimento), obtido na referência [26]	20
2.7	Interações entre as variáveis do modelo de Smith & Whal [28]. As variáveis R e P representam as probabilidades de interação das células e vírus com os inibidores da Transcriptase Reversa e da Protease Viral, respectivamente.	23
2.8	Úlceras ou agregado de células mortas. Acima, a figura da esquerda é uma úlcera amebóide e a da direita, dendrítica. Fonte: http://www.oculare.com/download . Abaixo: simulação do modelo de Landini et. al. [31,32] realizada nesta tese.	28
2.9	Gráfico da evolução da concentração das células CD4+T e do vírus no organismo de um paciente infectado não tratado. Quadrados abertos: CD4+T; círculos pretos: vírus. Gráfico experimental obtido originalmente por Pantaleo et. al. [40]	30
2.10	Padrões espaciais obtidos pelo modelo HIV-CA. (a): 5 semanas; (b): 18 semanas; (c): 25 semanas e (d): 200 semanas. A cor azul corresponde às células saudáveis, o amarelo, às A_1 , o verde às A_2 e o vermelho às mortas [37].	33

2.11	Microscopia eletrônica de um sincício (aglomerado de células infectadas pelo HIV) [8].	35
2.12	Evolução das espécies de células envolvidas no processo de infecção. Quadrados abertos, células saudáveis; círculos pretos, células infectadas; triângulos abertos, células mortas. Resultados das simulações feitas no trabalho da referência [37].	35
2.13	Contagem de células $CD4+T$, durante a infecção primária e latência clínica obtidos pelo modelo proposto na referência [52] para valores de $P_{HIV} = 0.05$ e $P_{HIV} = 0.005$	36
2.14	Diferentes efetividades da droga com a mesma função resposta. De cima para baixo: $N = 0$, $N = 1$, $N = 4$, $N = 7$ e sem tratamento [41].	37
2.15	Diagrama das transições entre os estados do modelo proposto em [42].	40
2.16	Dinâmica do HIV sem tratamento. Painel (a), células saudáveis (azul), infectadas (verde), mortas (vermelho) e latentes (laranja). Painel (b), na parte superior, dinâmica da carga viral, na parte inferior, dinâmica da vizinhança [42].	41
2.17	Dinâmica das células saudáveis sob monoterapia com eficiência constante. Painel (a), efeito dos inibidores da Protease Viral. Painel (d), efeito dos inibidores da Transcriptase Reversa [42].	42
2.18	Dinâmica da carga viral sob monoterapia com eficiência constante. Painel (b), efeito dos inibidores da Protease Viral. Painel (e), efeito dos inibidores da Transcriptase Reversa [42].	42
2.19	Dinâmica das células saudáveis sob efeitos da cART. Painel (a), RTI constante e PI variável. Painel (b), RTI variável e PI constante [42]. .	43
2.20	Dinâmica das células saudáveis sob efeitos da cART com eficiência variável. Painel (a), RTI. Painel (b), cART [42].	43
2.21	Comparação entre a dinâmica da concentração das células infectadas (eixo y) no tempo (semanas) (eixo x) durante a infecção primária, obtidas pelo modelo STK e o modelo HIV-CA conforme a legenda. Os círculos representam o modelo STK e os quadrados o modelo HIV-CA.	44

2.22	Fração de células infectadas (eixo y) em função do tempo (semanas) (eixo x) durante a infecção primária, obtida pelo modelo HIV-CA, para diferentes valores de P_{HIV} . Quadrados vermelhos, $P_{HIV} = 0.05$, círculos pretos, $P_{HIV} = 0.01$, quadrados pretos, $P_{HIV} = 0.005$, diamantes pretos, $P_{HIV} = 0.001$	45
2.23	Variação da posição e do valor do pico da infecção primária com P_{HIV} . Modelo HIV-CA, obtido na referência [8]	45
2.24	Variação da posição e do valor do pico da infecção primária com P_{HIV} . Simulação realizada nesta tese usando o modelo STK. O gráfico da esquerda corresponde as densidades das células infectadas e o da direita à posição do máximo.	46
2.25	Diagrama de transição de estados das espécies do modelo STK (sem tratamento).	47
2.26	Dinâmica da infecção sem tratamento obtida a partir do modelo STK. Os quadrados representam as células saudáveis, os círculos, as infectadas, os triângulos <i>para cima</i> , as células mortas e os triângulos <i>para baixo</i> , as células latentes. Na parte esquerda do gráfico temos a etapa da infecção primária, com uma duração de aproximadamente 20 semanas e na direita do gráfico, a latência clínica, com duração de aproximadamente 10 anos.	47
2.27	Acúmulo de células latentes (eixo y) ao longo do tempo (semanas) (eixo x) obtido no modelo STK durante a infecção pelo HIV.	48

- 3.1 Esquema característico das interações entre as células saudáveis e infectadas $CD4^+T$ no modelo proposto na referência [28]. H (azul) representa as células saudáveis. H_{RT} e H_P (ciano) denota as células saudáveis que absorveram as drogas inibidoras RTI e PI, respectivamente, e H_{RTP} (ciano) denota as células que absorveram os dois tipos de drogas. I (amarelo) indica as células infectadas enquanto I_P (amarelo) representam as células infectadas que absorveram o inibidor da protease viral, as quais produzem só espécies não infecciosas de vírus. Setas simples indicam a interação entre as espécies de células, setas duplas representam as transições internas entre espécies de um mesmo tipo e setas pontilhadas, a liberação de partículas de vírus. 53
- 3.2 Diagrama das transições das células $CD4^+ T$ sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células que formam os estados do CA: a cor azul representa as células saudáveis H , ciano para as saudáveis inibidas (H_{RT} , H_P e H_{RTP}) e a cor amarela, as células infectadas- A_1 . R representa o cumprimento das condições para a infecção por contágio e $(1-R)$ o caso contrário. 55
- 3.3 Diagrama das transições das células $CD4^+ T$ sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células que formam os estados do CA: a cor azul representa as células saudáveis H , ciano para as saudáveis inibidas (H_{RT} , H_P e H_{RTP}) e a cor amarela, as células infectadas- A_1 . R representa o cumprimento das condições para a infecção por contágio e $(1-R)$ o caso contrário. 56
- 3.4 Diagrama das transições das células $CD4^+ T$ sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células que formam os estados do CA: a cor azul representa as células saudáveis H , ciano para as saudáveis inibidas (H_{RT} , H_P e H_{RTP}) e a cor amarela, as células infectadas- A_1 . R representa o cumprimento das condições para a infecção por contágio e $(1-R)$ o caso contrário. 56

3.5	Diagrama das transições das células mortas-D sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células: a cor azul para as células saudáveis H, vermelho para as células mortas e amarelo para as infectadas- A_1 .	57
3.6	Diagrama global das interações incluindo o HAART	58
3.7	Efetividade $p_j(t)$ como função da concentração das células infectadas $D_I(t)$ no tempo t depois do início do tratamento. Usamos como valor máximo $p_{0j} = 0.9$ começando o tratamento em diferentes momentos correspondentes com as densidades seguintes: $D_{I0} = 0.2$ (preto), 0.4 (azul), 0.6 (vermelho) and 0.8 (verde), respectivamente	60
3.8	Dinâmica da infecção pelo HIV, obtida na simulação sem tratamento. Células saudáveis (quadrados), infectadas A_1 mais A_2 (círculos) e mortas (triângulos).	62
3.9	Evolução temporal das células saudáveis (quadrados abertos), infectadas (círculos sólidos) e mortas (triângulos abertos) [37].	62
3.10	(a) Gráficos da concentração de células saudáveis (quadrados azuis), infectadas A_1 mais A_2 (círculos amarelos) e mortas (triângulos vermelhos) para tratamento com RTI simulando baixa efetividade inicial ($p_{01} = 0.5$), começando em $t = 300$ semanas. (b) Os mesmos gráficos, para o tratamento com PI de baixa efetividade inicial começando também em $t_0 = 300$ semanas. Em ambos os casos, as linhas tracejadas definem o limiar de concentração de células saudáveis que deslancha o desenvolvimento da AIDS.	63
3.11	Gráficos das concentrações das células saudáveis (quadrados azuis), infectadas A_1 mais A_2 (círculos amarelos) e mortas (triângulos vermelhos) para as terapias combinadas RTI mais PI simulando baixa efetividade inicial ($p_{01} = p_{02} = 0.5$) começando o tratamento em $t_0 = 300$ semanas.	64

- 3.12 Gráficos das concentrações das células infectadas A_1 mais A_2 para terapias combinadas RTI mais PI para *baixa* ($p_{01} = p_{02} = 0.5$, quadrados), *média* ($p_{01} = p_{02} = 0.7$, círculos) e *elevada* efetividade inicial ($p_{01} = p_{02} = 0.9$, triângulos) começando o tratamento em $t_0 = 350$ semanas. 65
- 3.13 Gráficos das concentrações das células infectadas A_1 mais A_2 para terapias combinadas RTI mais PI, simulando *elevada* efetividade inicial ($p_{01} = p_{02} = 0.9$) começando a terapia em $t_0 = 50$ (quadrados), 150 (círculos), 250 (triângulos para cima) e 350 (triângulos para baixo) semanas. 65
- 3.14 Densidade de células saudáveis no estado estacionário no diagrama da efetividade versus a concentração inicial de células infectadas. São delimitadas três diferentes regiões de acordo com a concentração de equilíbrio de células saudáveis CD4+ T: remissão da infecção, soropositivos e desenvolvimento da AIDS, [46]. 66
- 3.15 Evolução temporal da contagem de células CD4+T reportadas em [67] em comparação com resultados do modelo, (a) dinâmica segundo o estudo clínico, (b) comparação entre o estudo clínico e o resultado das simulações. Os círculos representam os valores da simulação correspondentes aos momentos em que foi medido o número de células CD4+T no estudo clínico. 68
- 3.16 Evolução temporal da contagem de células CD4+T no sangue obtida em [68] em comparação com os resultados do modelo, (a) dinâmica segundo o estudo clínico, (b) comparação entre o estudo clínico e o resultado das simulações. Os círculos representam os valores da simulação correspondentes aos momentos em que foi medido o número de células CD4+T no sangue durante o estudo clínico. 69

- 3.17 Evolução temporal da contagem de células $CD4+T$ no tecido linfático obtida em [68] em comparação com os resultados do modelo, (a) dinâmica segundo o estudo clínico, (b) comparação entre o estudo clínico e o resultado das simulações. Os círculos representam os valores da simulação correspondentes aos momentos em que foi medido o número de células $CD4+T$ no tecido linfático durante o estudo clínico. 70
- 3.18 Medianas do número de células $CD4+T$. O gráfico da esquerda representa o estudo clínico realizado com três tipos de drogas diferentes e uma combinação [70] e o da direita, os resultados das simulações para 24 amostras considerando tratamentos com efetividade fraca, média e elevada, como indicado na legenda. 71
- 3.19 Curso da concentração de RNA do HIV-1 no plasma (carga viral) de um grupo de 42 indivíduos participantes no estudo de avaliação clínico A5055 [65]. Painel (a) durante as primeiras cinco semanas após o início do tratamento; painel (b) durante 28 semanas de estudo. Foram usadas cores para diferenciar cada indivíduo. 73
- 3.20 Curso da concentração de células infectadas $CD4^+ T$ após o início da terapia para 42 simulações independentes, considerando um parâmetro de eficácia $p_{01} = p_{02} = 0,7$ e outros parâmetros apresentados na tabela 3.1. Painel (a) cinco primeiras semanas após o início do tratamento, painel (b) 30 primeiras semanas. A inserção em ambos os painéis exibe as concentrações médias com as respectivas barras de erro indicadas. 74
- 3.21 Padrões espaciais obtidos na simulação sem tratamento. O da esquerda corresponde à infecção primária, especificamente em $t = 5$, o padrão da direita, ao período de latência clínica, especificamente em $t = 250$. A cor amarela representa as células infectadas tipo A , a cor azul, as células saudáveis H , a cor verde, as células infectadas tipo A_2 e as células mortas são representadas pela cor vermelha. 75

- 3.22 Padrão espacial de uma porção central da rede correspondente à infecção sob tratamento. A figura representa o estado da infecção em $t_0 = 350$, aproximadamente um ano depois de iniciado o tratamento. A cor amarela representa as células infectadas tipo A , a cor azul, as células saudáveis H , a cor verde, as células infectadas tipo A_2 e as células mortas são representadas pela cor vermelha. As células saudáveis sob a ação das drogas estão representadas pela cor ciano. 75
- 3.23 Comportamento da dinâmica dos diferentes tipos de células, simulação feita usando um modelo de EDOs. Painel (a), células saudáveis, painel (b), células infectadas, painel (c), células inibidas RTI, painel (d), células inibidas PI, painel (e), células resistentes RTP e painel (f), células mortas. 77
- 4.1 Diagrama das interações entre as espécies de células, os vírus e as drogas. Os retângulos brancos são as diferentes espécies de células saudáveis e inibidas. As células infectadas tipo A_1 ou A_2 , são representadas por um dos retângulos cinza claro, o retângulo escuro representa as células mortas. As partículas virais produtivas V_i , improdutivas V_{ni} e removidas pelo sistema imune, estão representadas pelos círculos cinzas [48]. 82
- 4.2 Gráfico do curso da infecção durante os períodos de infecção primária (a) e latência clínica (b). Em ambos gráficos se mostram comparações das concentrações das células $CD4^+$ T entre resultados obtidos usando o modelo V-CA (símbolos sólidos) e resultados obtidos usando o modelo HIV-CA (símbolos abertos). Células saudáveis (quadrados), células infectadas (círculos), células mortas (triângulos) e vírus (diamantes). 84
- 4.3 Gráfico da concentração do vírus para terapias iniciadas em $t_0 = 200$ semanas. Em cada painel foram plotados tratamentos com efetividade inicial $p_{0j} = 0.5$ (triângulos sólidos), 0.7 (quadrados sólidos), 0.9 (círculos sólidos) e zero ou sem tratamento (círculos abertos); (a) monoterapia (PI); (b) monoterapia (RTI); (c) terapia combinada (cART) 86

- 4.4 Gráfico das concentrações das células e o vírus para um início do tratamento em $t_0 = 200$ semanas e efetividade inicial de $p_{0j} = 0.5$. (a) terapia combinada (cART), (b) monoterapia (PI) e (c) monoterapia (RTI). Células saudáveis (quadrados sólidos), células infectadas (círculos sólidos), células mortas (triângulos sólidos) e vírus (círculos abertos) 87
- 4.5 RNA por grama em células dendríticas foliculares (FDCs do inglês), em função do tempo (em dias). Efeito da combinação de terapia anti-retroviral para dez pacientes. O gráfico inserido mostra o comportamento dos valores médios dos dados dos dez pacientes. 88
- 4.6 (a) Valores médios do RNA por grama em células dendríticas foliculares (FDCs) de dez pacientes reportados na referência [17]. Círculos sólidos indicam resultados para os dias 0, 2, 22 e 168. (b) Concentração de HIV para dez amostras das simulações para $p_{0j} = 0.9$ iniciando o tratamento em $t_0 = 300$ semanas. Círculos sólidos no painel (b) indicam os dias 2, 22 e 168, enquanto os círculos abertos indicam os valores obtidos do modelo durante o intervalo de tempo estudado. 89

Lista de Tabelas

2.1	Descrição das variáveis e probabilidades que compõem o modelo de Smith & Whal [28].	23
2.2	Principais características dos modelos baseados em equações diferenciais ordinárias (EDOs) utilizados na formulação dos modelos de autômatos celulares propostos nesta tese.	24
2.3	Comparação entre os valores dos estados estacionários das concentrações de células obtidos pelos modelos HIV-CA [37] e STK [42], ambos sem tratamento.	50
2.4	Principais características dos modelos baseados em autômatos celulares (CA) utilizados na formulação dos modelos de CA propostos nesta tese.	51
3.1	Valores dos parâmetros básicos do modelo HIV-CA [37], também adotados nas presentes simulações.	61
4.1	Comparação das concentrações no estado estacionário para células $CD4+T$ e vírus.	84

Capítulo 1

A Dinâmica da Infecção pelo HIV

A dinâmica do Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV, do inglês Human Immunodeficiency Virus) tem desafiado pesquisadores de diversas áreas do conhecimento, devido a sua patogênese extremamente complexa e a extensão do seu impacto médico e social. A Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS, do inglês Acquired Immunodeficiency Syndrome) é a última consequência clínica da infecção pelo HIV. Os primeiros casos de AIDS foram comunicados ao CDC (Control of Disease Center), Centro de Controle das Doenças, nos Estados Unidos, em 5 de junho de 1981. Incluía 16 casos de Sarcoma de Kaposi (uma espécie de câncer) e 5 casos de pneumonia em adultos jovens, sem doenças básicas relacionadas com o sistema imunológico [1]. Estas ocorrências não eram normais e estavam conectados entre si: todos os doentes eram de New York, San Francisco e Los Angeles e todos eram homossexuais masculinos. Em 1982 apareceram casos similares no Haiti, Europa Ocidental e África Equatorial. Hoje, a epidemia de HIV continua sendo um grande desafio à saúde pública global: mais de 60 milhões de pessoas foram infectadas com o vírus HIV e quase 30 milhões de pessoas morreram de AIDS, desde o início da epidemia. Dados recentes revelam que em 2010 havia cerca de 34 milhões de pessoas vivendo com o HIV, 2,7 milhões de novos infectados por ano, e 1,8 milhões de mortes relacionadas à AIDS. Este último indicador anual está em constante diminuição desde 2004, devido a alguns fatores, entre eles a maior disponibilidade das terapias antiretrovirais, introduzidas no ano de 1996 [2]. A comunidade científica, desde a época

em que foi descoberto o HIV, tem se dedicado a descrever e entender a dinâmica da infecção pelo HIV através de modelos matemáticos baseados em equações diferenciais e autômatos celulares. Atualmente, os esforços conjuntos de grupos de pesquisa multidisciplinares estão focalizados em dois objetivos altamente relacionados: a busca desesperada para o desenvolvimento de uma vacina profilática e para a realização de terapias que ofereçam, a longo prazo, a remissão em pacientes infectados pelo HIV [3–5]. Em particular, os matemáticos, bio-matemáticos e físicos têm investido grandes esforços neste assunto por meio da formulação de modelos matemáticos para descrever a evolução temporal da população do vírus e do repertório de células envolvidas no processo de infecção. O objetivo desta tese é estudar dois modelos baseados em autômatos celulares usados para o estudo da dinâmica de infecção pelo HIV sob terapias antiretrovirais. No primeiro capítulo desta tese fazemos uma descrição de todos os aspectos biológicos relacionados com o processo de infecção, assim como o sistema imunológico, as respostas do sistema imune às infecções virais, as características do HIV, o ciclo de vida dentro do organismo e as terapias mais usadas no combate à infecção. O segundo capítulo, de modo geral, contém informação acerca dos diferentes modelos matemáticos usados para descrever o processo de infecção pelo HIV, baseados em equações diferenciais e em autômatos celulares. O terceiro capítulo está dedicado à exposição de um primeiro modelo, que estuda a dinâmica através do comportamento das espécies de células que intervêm no processo de infecção, sua descrição e as comparações dos resultados da simulação com estudos clínicos relevantes. O capítulo 4 mostra os resultados obtidos nas simulações usando um segundo modelo, onde foram incluídas as diferentes espécies do vírus como variáveis no sistema, assim como o efeito da sua mobilidade. Se fazem também comparações dos resultados das simulações com diferentes resultados clínicos. Em ambos modelos foi usada uma função auto-reguladora, dependente da concentração de células infectadas em cada instante de tempo, para simular a efetividade da droga usada nas terapias.

1.1 Introdução

1.1.1 O Sistema Imunológico

O nosso corpo está sujeito a todo momento à invasão de diversos microorganismos que podem causar doenças perigosas para nossa saúde. O sistema imune ou imunológico é um sistema de defesa notavelmente adaptável que evoluiu em vertebrados para protegê-los de microorganismos patogênicos e do câncer [6]. Ele é capaz de gerar uma grande variedade de células e moléculas cuja função é a de reconhecer especificamente e eliminar uma variedade aparentemente ilimitada de invasores estranhos. Do sistema imunológico formam parte todos os mecanismos através dos quais o organismo se defende dos diferentes agentes externos. Ele está constituído por barreiras físicas, órgãos, corrente sanguínea e linfática, células e proteínas. Os constituintes celulares do sistema imune são as células conhecidas como glóbulos brancos ou leucócitos. Os leucócitos são produzidos nos órgãos linfáticos centrais, na medula óssea, etc. (figura 1.1)



Figura 1.1: Órgãos linfáticos centrais (fonte: www.teucorpo.com.br). A medula óssea encontra-se distribuída em todo o esqueleto.

De modo geral, as partículas virais, assim como qualquer agente estranho, são

sequestradas por células que tentam aniquilá-las. Os glóbulos brancos e linfócitos B e T são os encarregados desta tarefa. Estes últimos são células que secretam anticorpos que reconhecem os peptídeos específicos que ainda não estão *sequestrados*.

As respostas do sistema imunológico contra os agentes patogênicos podem ser divididas em dois tipos, a resposta imunológica inata e a resposta imunológica adaptativa. A primeira é um conjunto de mecanismos de resistência a doenças que não são específicas para um determinado patógeno. Células fagocitárias, como os macrófagos, desempenham um papel importante em muitos aspectos deste tipo de resposta [6]. A resposta inata se encarrega de destruir os patógenos sem que seja necessária uma exposição *a priori* a estes, ou seja, atua de maneira não específica. Diferentemente, a resposta adaptativa é moldada para responder de forma específica para cada patógeno independentemente.

A resposta imunológica adaptativa é encontrada somente nos vertebrados e gerada principalmente pelas células B e T. Estas células não possuem os mecanismos de fagocitose e de degradação como os encontrados nos fagócitos e atuam contra os patógenos por outros caminhos, como por exemplo, no reconhecimento e neutralização dos mesmos e no aumento de eficiência da resposta inata. A característica mais importante da resposta adaptativa é sua capacidade de responder a milhões de antígenos diferentes de uma maneira altamente específica [7].

Os linfócitos B são produzidos na medula óssea. Quando um vírus é reconhecido, os linfócitos B são ativados, eles então emitem anticorpos que marcam as partículas virais para que sejam eliminadas por outras células do sistema imune, os macrófagos, os quais digerem as estruturas marcadas pelos anticorpos. Os linfócitos T são produzidos no timo (figura 1.2). Eles são células $CD8+T$ e $CD4+T$. As primeiras são células citotóxicas e as segundas são células conhecidas como auxiliares (*helper cells*). Esses nomes são devidos às proteínas que se encontram na superfície dessas células, as quais são chamadas de receptores porque tem a função de se ligar a outras moléculas. As $CD8+T$ reconhecem e eliminam as células infectadas pelo vírus e as $CD4+T$ ajudam às $CD8+T$, que são as encarregadas de eliminar as células infectadas, e às células B, *marcadoras* das partículas virais, a *montar* um efetivo sistema de

defesa.

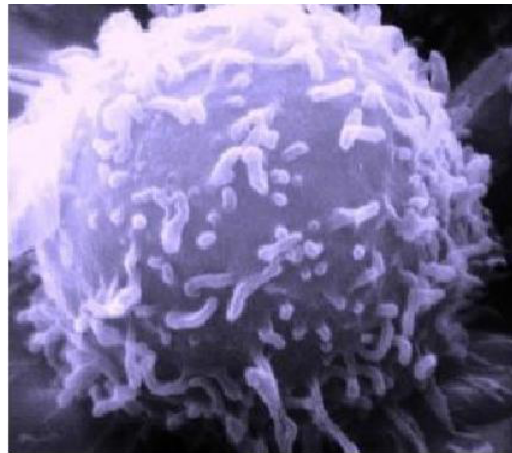


Figura 1.2: Linfócito T, uma das células que compõem o sistema imunológico (Fonte: <http://pt.wikipedia.org/wiki/Linfócito>).

O HIV se aproveita do ambiente gerado pelos tecidos linfáticos para infectar suas células alvos, ($CD4+T$ e macrófagos) já que estas se encontram, durante maior parte do tempo, localizadas nos tecidos linfáticos do que circulando no sangue e na linfa. Dentro deste padrão de distribuição estas células levam da ordem de minutos circulando no sistema imunológico periférico e da ordem de horas atravessando os tecidos linfáticos, os quais constituem os maiores reservatórios de HIV. Os linfonodos formam parte de uma rede orgânica que filtra o antígeno em sua passagem dos canais periféricos para o duto torácico. Estes possuem em geral um diâmetro que pode variar de 1 a 25 mm, um formato arredondado ou renal e uma abertura por onde os vasos sanguíneos penetram e abandonam o gânglio, como ilustrado na figura 1.3. [8]

Os linfonodos frequentemente ocorrem na junção de ramificações de vasos linfáticos, envolvidos por uma cápsula de tecido conjuntivo e organizados em três áreas: córtex (áreas de células B), paracórtex (área de células T) e medula, que contém cordões do tecido linfóide, mostrados na figura 1.4.

No paracórtex podem ser encontradas diversas células com grandes quantidades de antígenos em sua superfície. Na figura 1.4 (b) observamos uma ampliação de um linfonodo, onde podemos ver que sua estrutura interna assemelha-se à da uma esponja.

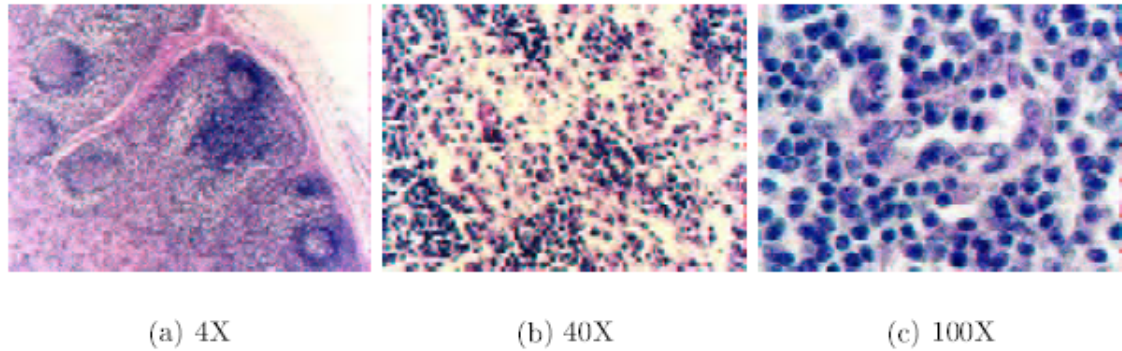


Figura 1.3: Microscopia eletrônica de um Linfonodo, com as ampliações 4x, 40x e 100x [8].

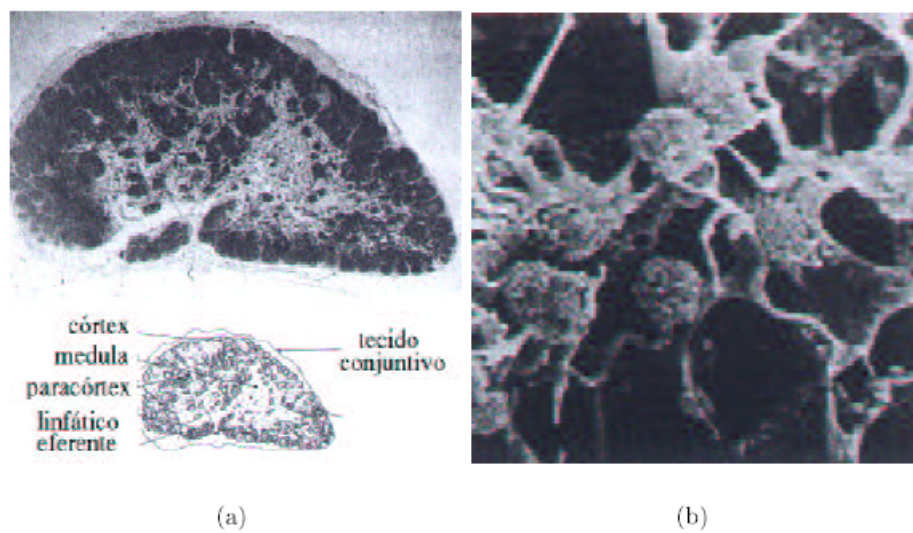


Figura 1.4: Linfonodo. a) Corte transversal de um linfonodo típico, b) Estrutura interna [8].

1.1.2 O Vírus da Imunodeficiência Humana. O processo de infecção.

O HIV é um retrovírus, o que significa que seu genoma é em forma de RNA, o qual, depois de ser convertido em DNA viral é incorporado ao interior do DNA da célula durante seu ciclo de vida. O HIV tem forma esférica com diâmetro aproximadamente igual a 110 nm. Seu genoma possui mais ou menos 9193 nucleotídeos, como esquematizado na figura 1.5.

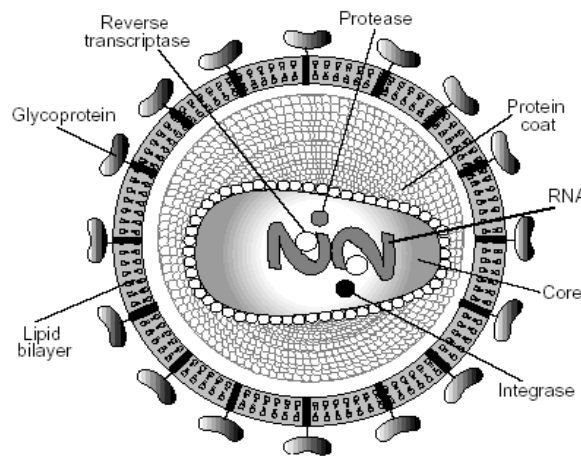


Figura 1.5: Vírus do HIV, alguns dos seus nucleotídeos mais importantes [9].

A infecção pelo HIV ocorre quando partículas virais no sangue, esperma, ou outros fluidos corporais de um indivíduo se ligam a células de outro indivíduo [9]. Na primeira etapa da infecção o vírus se liga aos receptores que reconhecem os epitopes das células $CD4+T$ e macrófagos, replica-se, o número de células $CD4+T$ diminui e os macrófagos morrem. As células infectadas perecem e muitas partículas virais novas emergem das membranas celulares [10]. Esta ligação das partículas de HIV às células $CD4+T$ ocorre mediante uma fusão direta da membrana do vírus com a da célula hospedeira e este processo é facilitado pelas moléculas de gp41 na membrana viral. A ligação da molécula gp120 na membrana da $CD4+T$ permite à gp41 a penetração do terminal hidrofóbico dentro da membrana da célula adjacente iniciando a fusão do envelope do vírus com a célula [9]. O ciclo de vida do HIV está representado na

figura 1.6.

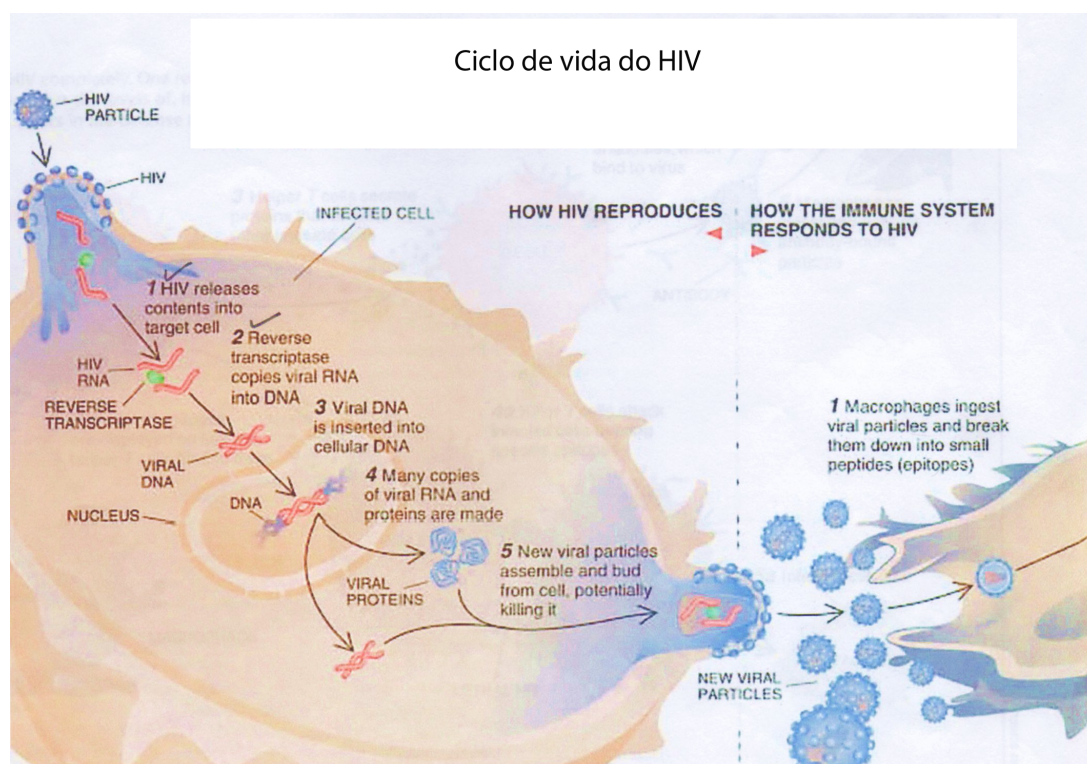


Figura 1.6: Esquema do ciclo de vida do HIV, mostrando desde a introdução do RNA viral no interior da célula, as 5 fases do processo de formação de novas partículas virais até a saída através da membrana [9].

Primeiramente, o vírus introduz o RNA viral dentro da célula, seguidamente o RNA viral transcreve-se em DNA viral, o DNA viral entra no núcleo da célula e junta-se com o DNA da célula; produzem-se então muitas cópias do RNA viral e proteínas virais. Os genes do HIV viral tem os códigos necessários para produzir proteínas estruturais virais criando uma enzima denominada protease. Quando o RNA do vírus, em forma de DNA viral, é introduzido dentro da sequência nucleotídica, essa sequência é juntada a uma longa cadeia que inclui vários genes que codificam varias proteínas individuais (reverse transcriptase, protease, integrase). A protease viral corta a longa cadeia em componentes enzimáticos individuais, o que facilita a produção de novos vírus. Finalmente o RNA viral e as proteínas associadas empacotam-se e saem da célula formando uma nova partícula viral idêntica às iniciais.

Após a infecção inicial ou primária, caracterizada por um pico nos níveis da

infecção por HIV em um intervalo da ordem de semanas, começa uma segunda etapa caracterizada pelo *bom* comportamento do sistema imunológico. Nesta segunda fase a concentração do vírus permanece relativamente baixa, crescendo gradualmente acompanhada da diminuição da população das células $CD4+T$, o que conduz a um comprometimento das funções essenciais do sistema imunológico [12]. No final desta etapa, a atividade imune se deteriora permitindo o desenvolvimento da AIDS e as pessoas raramente sobrevivem mais de dois anos. O sistema imune não é capaz de erradicar completamente o HIV, isto pode ser causado pelo *esgotamento* das células $CD4+T$ e os macrófagos.

O HIV parece estar adaptado perfeitamente para burlar ou desativar o sistema de respostas imunológicas naturais. Na primeira vez que o HIV infecta um novo hospedeiro, o vírus começa rapidamente a se reproduzir no interior de suas células, e os novos vírus assumem o comando de outras células. A replicação viral é tão intensa que, às vezes, os soropositivos chegam a apresentar 100 milhões de cópias do vírus por mililitro de plasma sanguíneo, apenas em um mês depois da infecção. Entre os linfócitos T temos os *auxiliares ou helper cells* $CD4+T$ e as células *citotóxicas* $CD8+T$, como já mencionado anteriormente. A atuação das células $CD4+T$ é vital para o alerta que desencadeia a ação do sistema imunológico e para orquestrar seu ataque. As células apresentadoras de antígeno começam exibindo as proteínas estranhas, *os antígenos*, mostradas às células auxiliares e citotóxicas. Informadas da descrição do invasor, quando as células citotóxicas recebem um sinal químico das células auxiliares, elas se multiplicam e, em seguida, se espalham numa mesma missão de busca e destruição. Essa resposta das células T citotóxicas ocorre cerca de três semanas após a infecção, e destrói a maioria das células infectadas por vírus, reduzindo o nível de virulência. Ainda assim, a resposta costuma ser modesta e tardia, permitindo que uma infecção crônica e perene se instale. O HIV alveja, desde o princípio, justamente as células T e as destrói durante o processo. O vírus busca em especial as células T auxiliares de *memória*, que registram as informações sobre exposições prévias a patógenos. Poucas semanas depois da infecção, o estoque de células T auxiliares de memória do organismo se encontra esgotado, de forma que o sistema de comando e controle geral do

sistema imunológico se torna permanentemente comprometido. No interior da célula, o HIV decodifica o material genético de seu RNA para DNA de forma rústica; sujeita a erros que levam a mutações na cópia viral. Essas mudanças são passadas adiante e acrescidas, toda vez que os vírus de sua progênie se replica. Mais ainda, se duas partículas virais infectam uma mesma célula, elas podem trocar material genético, por um processo chamado recombinação, criando uma nova variante do vírus. Toda essa crescente variedade faz com que as proteínas virais apresentadas pelas células infectadas se tornem cada vez mais irreconhecíveis às células imunológicas, instruídas a se lembrarem da versão original do vírus. Conforme as células T citotóxicas destroem todas as células que exibem anticorpos reconhecíveis, as células infectadas pelo vírus, carregando as proteínas mutantes, assumem o controle. Em grande parte e pelo mesmo motivo, os anticorpos produzidos pelo sistema imunológico, três a quatro semanas após o início da infecção, não reconhecem muitas das partículas do vírus no hospedeiro [13].

1.2 As Terapias Antiretrovirais

Ao contrário das tentativas fracassadas para a obtenção de uma vacina contra o vírus da imunodeficiência humana, os esforços para oferecer terapias medicamentosas são um sucesso. Até 2011 ou 2012, tinham sido aprovados mais de 35 agentes que, combinados corretamente, conseguem suprimir a replicação do vírus e manter sua contagem no sangue tão baixa, que chegam a escapar à detecção em testes comuns [14]. A idéia destas terapias é bloquear ou inibir diferentes funções vitais do ciclo de vida do HIV entre as quais se encontram as funções da Transcriptase Reversa (RT, do inglês Reverse Transcriptase) e a Protease viral (P). Os esforços tem se concentrado fundamentalmente no bloqueio dessas duas enzimas específicas. A RT é uma proteína cuja função é ler a sucessão de ácidos nucleicos de RNA viral que entram na célula e transcrevê-los em uma sucessão de DNA complementar. Sem esta enzima, os genomas virais não podem ser incorporados à célula hospedeira e com isso o vírus não poderá reproduzir-se. Os inibidores da RT foram os primeiros a serem usados no

tratamento contra o HIV. A rápida mutação das formas da RT fazem o vírus tornar-se resistente às drogas mais comuns usadas. A Protease viral corta a cadeia polipeptídica criando componentes enzimáticos individuais, o que facilita a reprodução do vírus. Esta enzima é fundamental para a formação da envoltória característica do HIV, aprontando este para emergir através da membrana celular. Os inibidores da protease bloqueiam a capacidade de decompor o polipeptídio funcional em enzimas e, dessa maneira, interferem na continuidade de infecção, levando à produção de espécies de vírus não infecciosas. Muitos autores de trabalhos recomendam que o tratamento comece com agentes inibidores da protease viral preferíveis para começar a terapia [15].

O tratamento com cART (do inglês Combined Antiretroviral Therapy) consiste em poderosos coquetéis de drogas [16], onde se misturam inibidores da RT (zidovudine e lamivudine) e da Protease Viral (ritonavir) [17], [18]. Este tratamento consegue em muitos casos estender o período de latência clínica do paciente, o que vem prolongando a vida e a saúde de inúmeros soropositivos. As terapias combinadas têm mudado muito a partir das contribuições de novas drogas aprovadas [19]. Lamentavelmente, os tratamentos atuais não erradicam totalmente a infecção e se, por alguma razão, a terapia for interrompida, o vírus rapidamente recrudescer. O tratamento com cART vem sendo muito usado devido aos bons resultados obtidos, apesar dos efeitos colaterais relacionados com o stress e a depressão. Se o tratamento for eficiente, a carga viral deverá diminuir cerca de 90% em relação aos valores iniciais em 8 semanas. Depois de seis meses, estes valores devem ter caído até níveis indetectáveis. Estas terapias devem ser aplicadas em diferentes momentos em função da sintomatologia do paciente. Às vezes é recomendado começar cedo e outras vezes adiar o tratamento. Também é comum que o especialista médico recomende interromper o tratamento em determinado momento para recomencá-lo depois [20],

Boa parte do fracasso do tratamento, em termos gerais, parece dever-se à persistência de células que, embora aptas geneticamente, não produzem novas partículas virais e, assim, passam despercebidas pelo sistema imunológico. Estas células são chamadas de células latentes. Durante o combate à maioria dos tipos de infecções virais,

a maior parte das células T facilitadoras (as que apresentam o vírus) morre quando não são mais necessárias. Ainda assim, um subgrupo sobrevive, agora como células T de memória duradoura, prontas a se multiplicar. São essas células T de memória que parecem produzir a maioria dos vírus em pacientes infectados com o HIV. Conforme se preparam para se dividir na luta contra patógenos conhecidos, elas duplicam seu próprio DNA e proteínas e produzem novas partículas de HIV rapidamente. A maioria das células de memória infectadas morre em decorrência do vírus, ou é atacada pelo sistema imunológico, mas umas poucas retornam a um estado de dormência. Nesse ponto, o HIV permanece vivo apenas como DNA viral. Esse DNA viral não é copiado e forma proteínas virais, logo, nenhuma porção do DNA fica aparente na superfície. Como consequência, drogas contra o HIV não agem sobre as células, e o sistema imunológico continua a ignorá-las. Estimativas baseadas no tempo de vida das células T de memória sugerem que levaria mais de 5 décadas para que todo o estoque de células infectadas com o HIV latente possa morrer naturalmente. Muitas das pesquisas sobre a AIDS se concentraram nas células T facilitadoras. Como elas circulam no sangue, são facilmente isoladas nos estudos. Contudo, os pesquisadores notaram que outras células infectadas pelo HIV - macrófagos e células dendríticas - também contribuem para o reaparecimento do vírus depois que a terapia contra o HIV é interrompida ou depois que o vírus desenvolve resistência a ela. Pouco se sabe sobre macrófagos e células dendríticas, pois eles se localizam estritamente nos tecidos, mas novos estudos sugerem que a terapia medicamentosa pode não interromper a reprodução do HIV nessas células. Então a quantidade de vírus, mesmo com nível baixo o bastante para que o vírus seja identificado no sangue é suficiente para atingir os linfócitos T e repor continuamente os estoques de células T de memória infectadas dormentes. Além disso, alguns macrófagos infectados conseguem escapar da eliminação pelo vírus em seu interior e por outros componentes do sistema imunológico. Os macrófagos, então, ficam prontos a estimular a replicação, quando interrompida a terapia com medicamentos. Aparentemente o HIV também se replica de um modo diferente em macrófagos se comparado às células T, o que representa uma vantagem extra ao vírus. Enquanto nas células T os componentes dos vírus se instalam próximo da superfície da célula

- e posteriormente se separam dela - nos macrófagos, alguns fragmentos virais ficam depositados nos vacúolos, compartimentos internos das células. Com o tempo, os vacúolos podem migrar até a superfície celular para liberar os fragmentos de vírus guardados. A estocagem do vírus em compartimentos bem fechados contribui para que o HIV burle a detecção imunológica, impedindo a exposição de antígenos na superfície da célula, que alerta o sistema imunológico sobre a presença de intrusos. Por fim, existe a necessidade de maior concentração de drogas, para suprimir a replicação viral. Embora não se saiba a razão exata disso, está claro que algumas proteínas celulares, cuja função normal é excretar substâncias biológicas da célula, podem interferir com a terapia medicamentosa impedindo a captação e retenção das drogas. Assim, é possível que nos macrófagos essas proteínas celulares sejam particularmente ativas, o que comprometeria a retenção intracelular das drogas. O mesmo pode ocorrer nas células dendríticas, embora pouco se saiba sobre como elas respondem ao HIV [14].

Capítulo 2

Modelos Matemáticos para a Dinâmica da Infecção pelo HIV

2.1 Modelos de Equações Diferenciais

Muitos trabalhos de modelos baseados em Equações Diferenciais foram publicados ao longo dos anos com o objetivo de explicar a dinâmica da infecção pelo HIV [21–25]. Martin A. Nowak e Robert M. May, em seu livro *Virus Dynamics. Mathematical Principles of Immunology and Virology* [10], consideraram um modelo que será a base de parte do que posteriormente será exposto neste trabalho. Nesse modelo são consideradas três variáveis que descrevem as populações de células não infectadas $H(t)$, células infectadas $I(t)$ e dos vírus $V(t)$. Ainda nesse modelo, a taxa de produção de novas células infectadas é proporcional ao produto da densidade de células não infectadas pela densidade das partículas do vírus livres que são produzidas pelas células infectadas. As células não infectadas, as células infectadas e os vírus são eliminados com certa probabilidade e é assumido que as células não infectadas são substituídas constantemente pelo sistema. Inicialmente o sistema é composto apenas por células não infectadas e por uma pequena quantidade de partículas virais ou de células infectadas. A partir desse estado inicial se produz uma reação em cadeia, ou seja, o vírus encontra-se com as células não infectadas produzindo novas células infectadas as quais por sua vez produzem novas partículas virais. A reação em ca-

deia ocorre da seguinte maneira: primeiro os vírus livres infectam células tornando-as células infectadas com certa taxa, como esquematizado na figura 2.1 (A). Estas por sua vez lançam novas partículas virais, segundo certa probabilidade, causando uma espécie de *explosão* a partir de cada célula infectada. Como resultado são produzidas muitas partículas virais alastrando a infecção como mostrado na figura 2.1 (B).

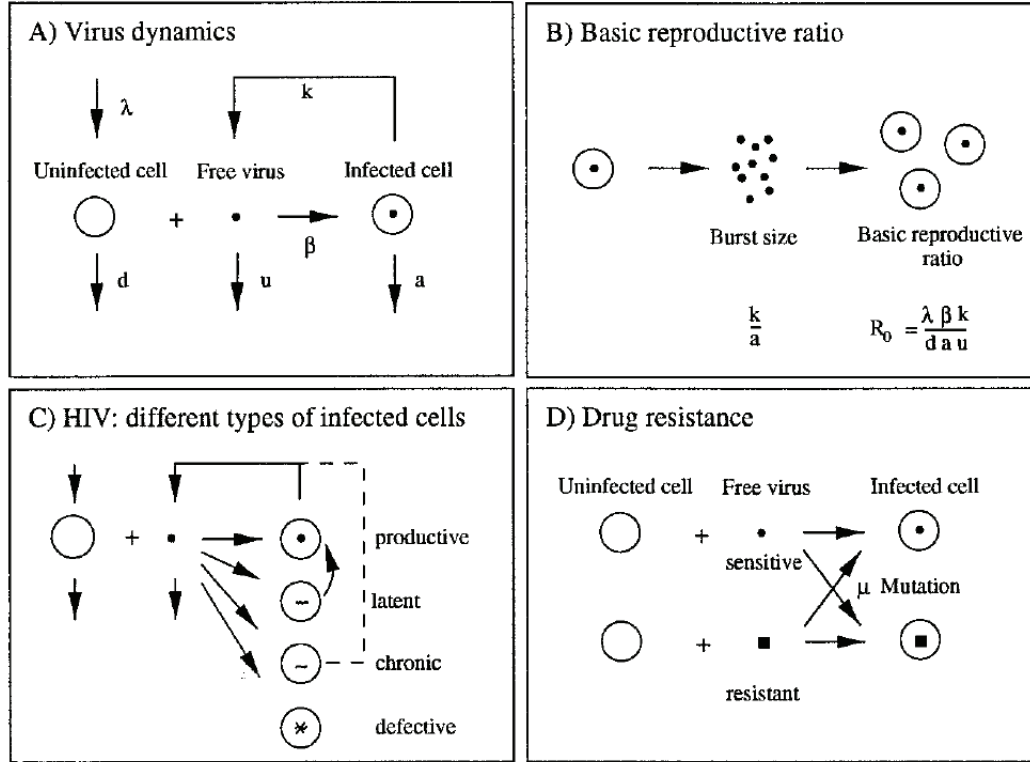


Figura 2.1: Esquema do modelo de EDOs básico da dinâmica do vírus HIV, proposto por Nowak e May [26]

A ocorrência da reação em cadeia depende de uma quantidade denominada "razão básica de reprodução da infecção" R_0 que é o número médio de células infectadas geradas a partir de uma delas no início da infecção. Se $R_0 > 1$ a reação em cadeia ocorre, a infecção se alastra e a população de vírus alcança um valor estacionário. Se $R_0 < 1$ a infecção é contida.

O modelo proposto em [10] descreve qualitativamente a fase primária da infecção pelo HIV. De fato, durante as primeiras semanas da infecção ocorre um pico

na quantidade do vírus e uma subsequente estabilidade para um estado estacionário. Este modelo ajuda a ter uma idéia do comportamento inicial do vírus. É possível fazer uma estimativa de R_0 durante esta fase da infecção, além disso é possível observar uma forte correlação entre o crescimento do vírus nas primeiras semanas e o estado estacionário após o pico na quantidade do vírus, como pode ser visto na figura 2.2, resultado da série temporal que obtivemos para o citado modelo de EDOs. As equações diferenciais acopladas que descrevem tal modelo são dadas por:

$$\begin{aligned}\frac{dH(t)}{dt} &= \lambda - qH(t) - \beta H(t)V(t) \\ \frac{dI(t)}{dt} &= \beta H(t)V(t) - aI(t) \\ \frac{dV(t)}{dt} &= kI(t) - uV(t)\end{aligned}$$

Os coeficientes $\lambda, q, \beta, a, k, u$ representam, respectivamente, a taxa de produção das células saudáveis, a taxa de eliminação das células saudáveis, a taxa de infecção das células pelo vírus, a taxa de eliminação das células infectadas, taxa de produção do vírus pelas células infectadas e a taxa de eliminação das partículas virais. Nas figuras 2.3, 2.4, 2.5 a seguir, mostramos os resultados numéricos das séries temporais obtidas usando o programa Mathematica [11], para o modelo proposto por May e Nowak [10] sem a inclusão de tratamento.

A quantidade inicial de células saudáveis usada neste cálculo foi de 10^6 . O número inicial de partículas virais usado foi de 5% da quantidade de células saudáveis. O comportamento temporal da população de células saudáveis (infectadas), mostrado nas figuras 2.3 (2.4) exibe um decréscimo (crescimento) acentuado de quase uma ordem de grandeza, em torno do dia 10, seguido da estabilização para o estado estacionário.

O gráfico na figura 2.5 mostra a carga viral. Novamente se observa um pico seguido por um decréscimo dos níveis de circulação do vírus de duas ou três ordens de magnitude após as primeiras semanas. Enquanto as respostas do sistema imune e dos anticorpos são considerados como os responsáveis pela redução fundamental da carga viral, é interessante notar que neste modelo simples para a dinâmica do vírus

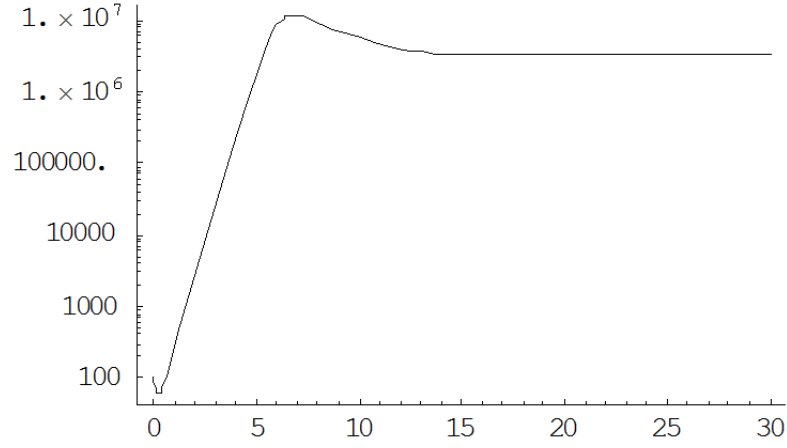


Figura 2.2: Comportamento da população de partículas virais (eixo y) no tempo (dias) (eixo x) para o caso em que $R_0 > 1$. Gráfico semi-logarítmico. Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$.

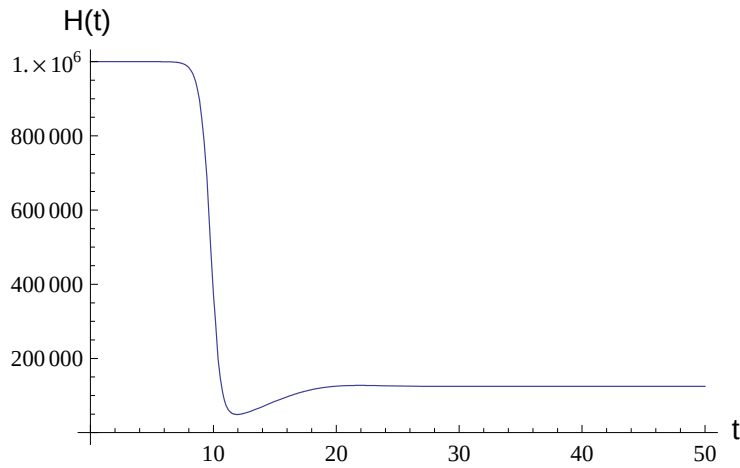


Figura 2.3: Comportamento da população de células saudáveis $H(t)$ (eixo y) no tempo (dias) (eixo x). Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$.

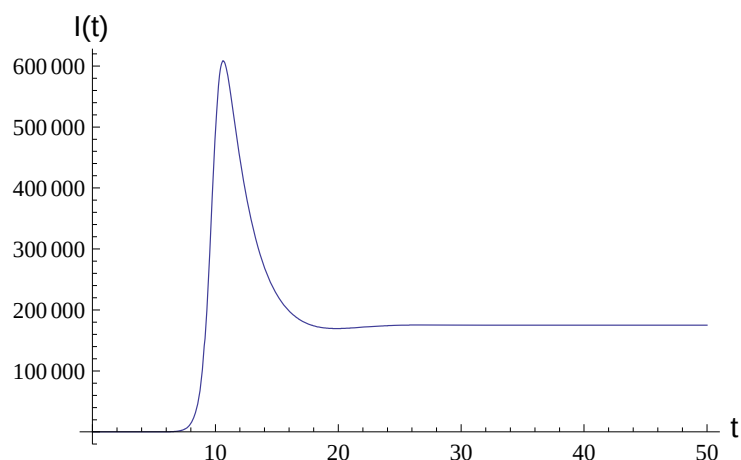


Figura 2.4: Comportamento da população de células infectadas $I(t)$ (eixo y) no tempo (dias) (eixo x). Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$.

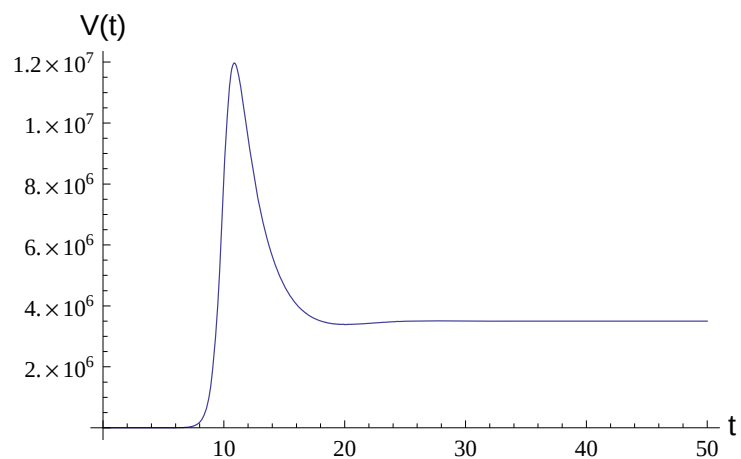


Figura 2.5: Comportamento da população das partículas virais $V(t)$ (eixo y) no tempo (dias) (eixo x). Os valores dos parâmetros usados nas simulações foram os mesmos usados pelos autores [10]: $\lambda = 10^5$, $q = 0.1$, $a = 0.5$, $\beta = 2 \cdot 10^{-7}$, $k = 100$ e $u = 5$.

não é necessário considerar explicitamente os mecanismos para as respostas imunes para observar seus efeitos. A carga viral simplesmente diminui devido à falta de células suscetíveis no sistema. O modelo prediz uma relação linear entre V_0 (carga viral no equilíbrio) e o logaritmo da carga viral no tempo t durante a fase exponencial.

Para incluir mecanismos de tratamentos antiretrovirais nesse modelo de EDOs devemos considerar que os inibidores da Transcriptase Reversa evitam a infecção de novas células. Se o inibidor é 100% efetivo, então devemos ter $\beta = 0$. Neste caso, o conjunto de equações que descreve o comportamento do sistema incluindo este inibidor fica então:

$$\begin{aligned}\frac{dH(t)}{dt} &= \lambda - qH(t) \\ \frac{dI(t)}{dt} &= -aI(t) \\ \frac{dV(t)}{dt} &= kI(t) - uV(t)\end{aligned}$$

As células infectadas têm um comportamento puramente exponencial enquanto o vírus apresenta uma queda exponencial depois de um platô inicial. Considerando que o tempo de vida médio do vírus muito menor que o das células infectadas, então o comportamento do vírus também será exponencial, como mostra a figura 2.6

Por outro lado, o inibidor da Protease viral faz com que as células infectadas não produzam novas partículas virais infecciosas. As partículas virais produzidas até o começo da terapia continuam infectando, e as células infectadas por sua vez começam então a produzir novas partículas virais.

O sistema de equações mostrado a seguir corresponde ao modelo incluindo este tipo de inibidor. Nele $W(t)$ representa o vírus não infeccioso, k a taxa de produção destes vírus pelas células infectadas inibidas. A taxa de eliminação destes vírus não

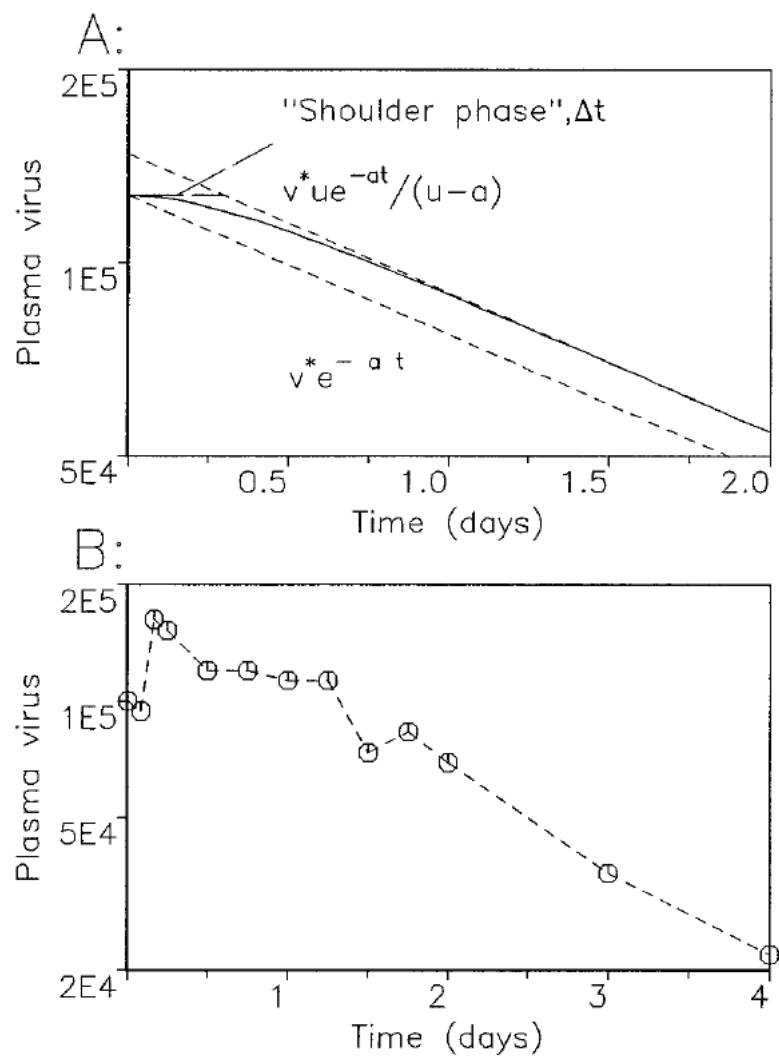


Figura 2.6: Comportamento da concentração das partículas virais sob tratamento (A: teoria, B: experimento), obtido na referência [26]

infecciosos é a mesma que a das espécies produtivas de vírus, u .

$$\begin{aligned}\frac{dH(t)}{dt} &= \lambda - qH(t) - \beta H(t)V(t) \\ \frac{dI(t)}{dt} &= \beta H(t)V(t) - aI(t) \\ \frac{dV(t)}{dt} &= -uV(t) \\ \frac{dW(t)}{dt} &= kI(t) - uW(t)\end{aligned}$$

Neste caso, a situação é um pouco mais complicada, mas se consideramos a concentração das células saudáveis aproximadamente constante no intervalo de tempo considerado, o comportamento do vírus é similar ao comportamento com o inibidor da RT.

Até aqui o modelo só considerou células *infectadas produtivas* de vida curta (I_p) (estas células constituem 99 % de todas as células infectadas). Mas além dessas células existem outras que participam da resposta imune, como esquematizado na figura 2.1 (C). Existem as células latentes (I_l) que não produzem novas partículas virais, mas podem se reativar posteriormente e dar lugar a células produtivas, as células produtivas crônicas de longa vida (I_c) as quais produzem pequenas quantidades de partículas virais durante um longo período de tempo e, ainda, as células não produtivas ou defeituosas (I_d) que não influem diretamente no processo de produção de novas partículas virais. O sistema de EDOs a seguir inclui estas outras espécies de células.

$$\begin{aligned}\frac{dH(t)}{dt} &= \lambda - qH(t) - \beta H(t)V(t) \\ \frac{dI_p(t)}{dt} &= q_1\beta H(t)V(t) - a_1I_p(t) + \alpha I_l(t) \\ \frac{dI_l(t)}{dt} &= q_2\beta H(t)V(t) - a_2I_l(t) - \alpha I_l(t) \\ \frac{dI_d(t)}{dt} &= q_3\beta H(t)V(t) - a_3I_d(t) \\ \frac{dV(t)}{dt} &= kI_p(t) - uV(t)\end{aligned}$$

As constantes q_1 , q_2 e q_3 denotam, respectivamente, a probabilidade de que no processo de infecção a célula se torne produtiva, latente ou produtora de provirus defeituosos (defeituosa). Claramente, $q_1 + q_2 + q_3 = 1$. As taxas de eliminação dessas células são a_1 , a_2 e a_3 . Normalmente a_1 é muito maior do que a_2 e a_3 . As células em estado latente se tornam produtivas com uma razão α .

Em 2008, um grupo da Universidade de Pisa na Itália [27] publicou um artigo com modificações feitas ao modelo original de Nowak e May. Nesse modelo, na sua versão *untreated*, ou seja, sem considerar o tratamento, são incluídos os linfócitos T citotóxicos, responsáveis pela resposta imune do organismo. No modelo são considerados os linfócitos T *precursores CTLp*, os quais são responsáveis pelo desenvolvimento da memória imune e os linfócitos T *efetores CTLe*, responsáveis por *eliminar* as células infectadas produtivas.

Outro trabalho importante foi publicado em 2004 por Smith e Wahl [28], no qual o modelo de EDOs formulado inclui mecanismos de tratamento que permite que as células $CD4+T$ possam, em qualquer instante, entrar em contato com uma partícula viral, com os inibidores da Transcriptase Reversa ou com os inibidores da Protease Viral. A ordem na qual ocorrem estes contatos é muito importante no processo de infecção. Se consideram também no modelo novas variáveis como as *células RTI*, células com a transcriptase reversa inibida, que entraram em contato com o inibidor da RT e possuem uma probabilidade desprezível do DNA viral ser transferido para o DNA celular. Outra nova variável importante que entra nesse modelo é a *célula PI*, célula com a Protease Viral inibida, para as quais a probabilidade de produzir novas partículas virais infecciosas é desprezível. Uma terceira variável que forma parte desse modelo é a *célula duplamente inibida*, células que absorveram quantidade suficiente de ambos os inibidores. Cada uma das novas espécies de células acima mencionadas, depois de estar certo tempo num desses estados, retorna a seu estado anterior, ou seja, uma célula RTI, e depois de um tempo característico, volta a ser suscetível, como esquematizado na figura 2.7. Essas novas variáveis para as células $CD4+T$ propostas em [28] serão posteriormente utilizadas nos modelos de

Símbolo usado	Descrição da variável e probabilidades
H	Células T suscetíveis
H_{RT}	Células T com Transcriptase Reversa (RT) inibida
H_P	Células T com Protease (P) inibida
H_{RTP}	Células T com Transcriptase Reversa e Protease inibidas
I	Células T infectadas Produtivas
I_P	Células T infectadas não Produtivas
R	Probabilidade da interação com a droga inibidora da RT
P	Probabilidade da interação com a droga inibidora da P
λ	Taxa de produção das células T suscetíveis

Tabela 2.1: Descrição das variáveis e probabilidades que compõem o modelo de Smith & Whal [28].

autômatos celulares desenvolvidos nesta tese, na tabela 2.1 mostramos as definições dessas variáveis.

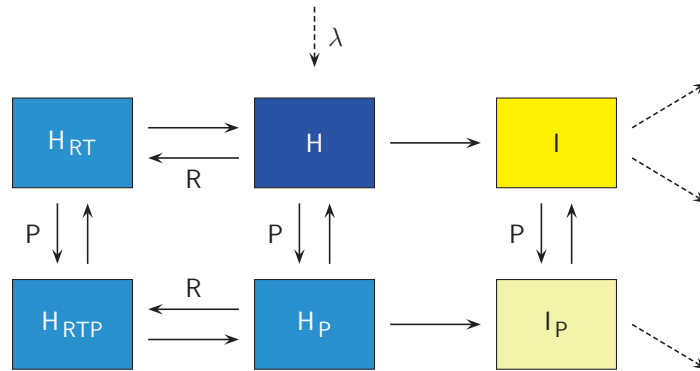


Figura 2.7: Interações entre as variáveis do modelo de Smith & Whal [28]. As variáveis R e P representam as probabilidades de interação das células e vírus com os inibidores da Transcriptase Reversa e da Protease Viral, respectivamente.

No modelo de EDOs proposto em [28] as células suscetíveis H , são produzidas com uma taxa λ , sua taxa de morte é d_S , podendo também tornar-se infectadas ou absorver um dos tipos de inibidores. As células infectadas I produzem as partículas virais infecciosas ou não infecciosas e morrem com uma taxa significativamente grande d_i . Essas células, da mesma maneira que as suscetíveis podem absorver os inibidores. As células H_{RT} são as células não infectadas que absorveram o inibidor da Transcriptase Reversa e, neste estado, segundo o modelo, podem interagir com uma partícula viral ou ainda com um inibidor da Protease Viral. Enquanto estão nesse estado,

Modelos EDOs	Populações envolvidas	Principais características
Nowak & May §3.1 [10]	H : células saudáveis; I : células infectadas; V : vírus infeccioso	Modelo básico, sem tratamento. Descreve apenas o período da infecção primária.
Nowak & May §4.1 [10]	H : células saudáveis; I : células infectadas; V : vírus infeccioso; W : vírus não infeccioso	Modelo com tratamento. Descreve a evolução temporal das populações nas primeiras semanas após o início da terapia.
Nowak & May §4.1 [10]	H : células saudáveis; I_p : células infectadas produtivas; I_l : células infectadas latentes; I_d : células infectadas defeituosas	Modelo sem tratamento. Descreve apenas o período de infecção primária. Envolve outras espécies de células infectadas.
Smith & Wahl [28]	H : células suscetíveis; H_{RT} : células com a Reverse Transcriptase (RT) inibida; H_P : células com a Protease (P) inibida; H_{RTP} : células com a RT e a P inibidas; I : células infectadas produtivas; I_P : células infectadas não produtivas	Modelo com tratamento. Descreve as interações entre as populações e a droga nas primeiras semanas após o início da terapia.

Tabela 2.2: Principais características dos modelos baseados em equações diferenciais ordinárias (EDOs) utilizados na formulação dos modelos de autômatos celulares propostos nesta tese.

estas células não podem ser infectadas. Se uma célula dessas absorve o inibidor da Protease Viral, então, torna-se uma célula duplamente inibida H_{RTP} . As células H_P são as células não infectadas que absorveram o inibidor da Protease. Elas podem entrar em contato com uma partícula viral ou ainda com inibidores da Transcriptase Reversa. Se interagirem com uma partícula viral, elas se tornam infectadas com a protease viral inibida, I_P . Caso essas células interajam com o inibidor da protease, elas se tornarão do tipo H_{RTP} . Também nesse modelo existem mais duas variáveis representando as espécies de vírus, o infeccioso V_I e o não infeccioso V_{NI} .

O modelo básico proposto por Nowak e May [10] e o modelo com tratamento proposto por Smith e Wahl [28] forneceram as idéias básicas para os modelos de autômatos celulares com tratamento incluído estudados e propostos nesta tese.

Os modelos de EDOs que forneceram as idéias básicas para a formulação dos modelos de autômatos celulares utilizados nesta tese se encontram resumidos na tabela 2.2.

2.2 Modelos de Autômatos Celulares

2.2.1 Autômatos celulares, características, propriedades, regras e aplicações

Os autômatos celulares (CA, do inglês Cellular Automata) foram introduzidos por John von Neumann nos anos 50, levando em conta sugestões de Stanislaw Ulam, na tentativa de modelar processos naturais de auto-reprodução [29]. São modelos matemáticos constituídos por um grande número de componentes idênticas onde o tempo e o espaço são variáveis discretas. O modelo é definido em uma rede onde cada sítio ou célula do espaço discreto se constitui em um *autômato celular* ao qual está associado uma ou mais variáveis ou estados que podem assumir um conjunto finito de valores. Os autômatos são dispostos regularmente ao longo de uma rede e podem interagir entre si via acoplamentos locais ou não locais. A evolução temporal do estado de um autômato irá depender do seu estado e dos estados dos autômatos de sua vizinhança pré-estabelecida no passo de tempo anterior, criando um processo Markoviano. A evolução temporal é realizada em passos de tempo discretos e definidos com base na atualização simultânea de todos os estados dos autômatos [8, 30].

Em resumo, os modelos de autômatos celulares possuem as seguintes características gerais: [29]

- Rede discreta: o substrato do sistema consiste em uma rede que pode ter uma, duas ou mais dimensões.
- Homogeneidade: todas as células ou autômatos são equivalentes.
- Estados discretos: o estado de cada célula corresponde a um número finito de variáveis que assumem valores discretos.
- Interações locais: cada célula interage somente com células que se encontram em uma vizinhança local pré-estabelecida.
- Dinâmica discreta: a cada passo de tempo discreto, cada célula atualiza seu estado atual de acordo com regras de transição levando em conta o seu estado e os estados das outras células na sua vizinhança, no passo de tempo anterior.

Por meio da segunda lei da Termodinâmica sabemos que sistemas físicos macroscópicos isolados e reversíveis tendem, com o passar do tempo, a estados de máxima entropia. Por outro lado, sistemas *dissipativos* que envolvem irreversibilidade ou sistemas abertos podem, sob dadas condições, partir de estados de maior entropia e se *auto-organizarem*. Tais estados finais apresentam, com frequência, características complexas. Através dos autômatos celulares podemos estudar modelos gerais capazes de extrair os comportamentos de auto-organização e, talvez, características universais comuns a estes sistemas. [8]

Um conceito muito importante na teoria dos autômatos celulares é o conceito de *Classes de Comportamento*, introduzido por Wofram [11]. Para entender esse conceito vamos considerar um modelo unidimensional de autômato celular, onde o valor do sítio i no tempo t , denotado por $C_i(t)$ evolui no tempo de acordo com a regra F que é função de $C_i(t)$ e dos outros sítios numa região do espaço de alcance r à direita e à esquerda de $C_i(t)$.

$$C_i(t) = F(C_{i-r}(t-1), C_{i-r+1}(t-1), \dots, C_{i+r-1}(t-1), C_{i+r}(t-1))$$

Cada sítio pode ter k possíveis valores, ou seja, $C_i(t) \in \{0, 1, 2, \dots, k\}$. A regra F é completamente definida especificando-se os valores associados a um sítio da rede para cada um dos k^{2r+1} possíveis estados de sua vizinhança.

Dado um número de estados k e a vizinhança k^{2r+1} para um dado r , o número de regras de atualização possíveis cresce com k^{2r+1} . Cada ponto no espaço de fases representa uma única configuração do conjunto de autômatos e sua evolução no tempo descreve uma trajetória [29].

A aplicação recursiva das regras de transição que definem um dado modelo geram padrões espaço-temporais característicos desses modelos. Uma propriedade importante dos modelos de CA é que uma pequena variação nas regras de transição tem consequências drásticas em sua evolução temporal. Além disto, as regras podem ser determinísticas se dependem apenas da configuração de uma dada vizinhança bem definida e probabilísticas, se a regra de transição é uma função que não tem um

resultado exato para cada configuração da vizinhança, mas permite vários resultados com uma probabilidade associada. A utilização de regras probabilísticas é muito importante para o estudo de diversos problemas, tendo em vista que a maioria dos sistemas reais apresentam algum tipo de ruído [30].

Por razões computacionais é necessário considerar redes finitas. Nesse caso, as condições de contorno adotadas têm um papel muito importante na definição da vizinhança dos sítios na borda da rede. Como exemplos mais usados de condições de contorno temos as periódicas, fixas e reflexivas.

As condições iniciais correspondem à configuração inicial de estados dos autômatos celulares na rede e são muito importantes porque a partir delas se aplicam recursivamente as regras do modelo ao longo do tempo. Tais condições podem também ser fixas ou aleatórias.

2.2.2 Exemplo de autômatos celulares em sistemas biológicos: dinâmica de infecção por vírus.

Alguns trabalhos importantes baseados em modelos de CA foram publicados referentes à formação de úlceras produzidas pelo vírus do Herpes Simples (HSV-1) [31–33]. Para exemplificar esta aplicação, comentaremos brevemente o modelo de Landini, Misson e Murray [31,32] e os resultados obtidos por nós na reprodução desse modelo durante a preparação prévia à realização desta tese. Os autores do trabalho original utilizaram um CA para descrever a dinâmica de formação das úlceras do HSV-1. As variáveis do modelo são os estados possíveis das células que ocupam os sítios de uma rede quadrada de 100x100. Os estados são: saudável permissiva, saudável resistente, infectada e morta. A configuração inicial consiste em células saudáveis permissivas e resistentes distribuídas aleatoriamente na rede com certa proporção. Uma célula infectada é introduzida no centro da rede e a partir desta, a infecção se espalha propagando-se por contiguidade. As células infectadas morrem e uma úlcera se forma seguindo determinadas regras. A condição de contorno usada neste modelo é a aberta, o que acarreta dois momentos possíveis para o término da simulação:

quando uma célula infectada atinge a borda da rede (condição irrestrita) ou quando as células infectadas não conseguem mais infectar nenhuma célula na sua vizinhança (condição autolimitada). A primeira destas condições dá lugar a úlceras ameboides e a segunda, a úlceras dendríticas mostradas na figura 2.8.

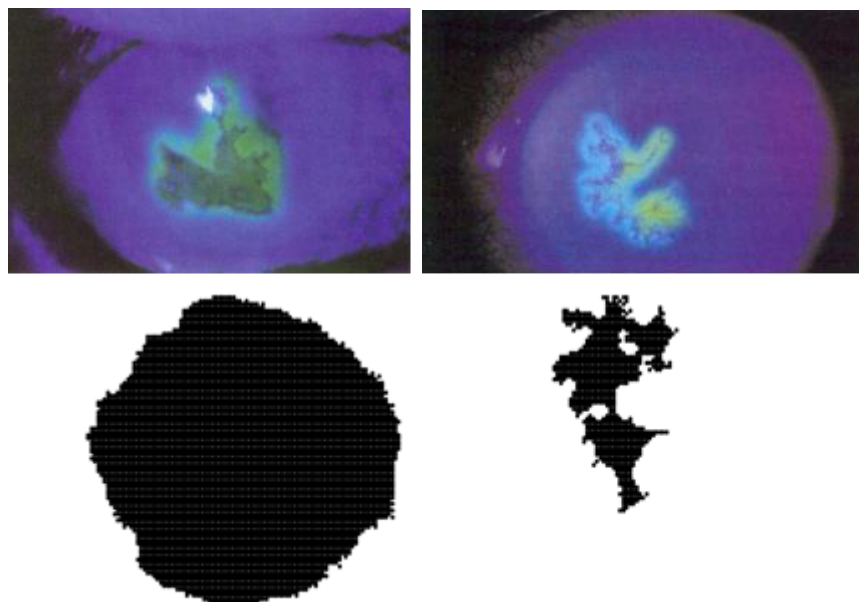


Figura 2.8: Úlceras ou agregado de células mortas. Acima, a figura da esquerda é uma úlcera ameboide e a da direita, dendrítica. Fonte: <http://www.oculare.com/downloads/OFTALMOLOGIA.pdf> Abaixo: simulação do modelo de Landini et. al. [31, 32] realizada nesta tese.

As regras usadas na simulação da formação das úlceras, que foram as mesmas do trabalho de Landini et.al. [32], são dadas a seguir:

Regra 1: existem dois tipos de células epiteliais: as permissivas e as resistentes. As células são distribuídas aleatoriamente numa rede quadrada. O parâmetro p (índice de percolação: medida da conectividade em sistemas aleatórios, se $p = 1$, a conectividade é máxima, podendo, uma rede, ser *atravessada*) determina a proporção entre estas células inicialmente.

Regra 2: uma célula permissiva se torna infectada se na sua vizinhança de Moore (*oito vizinhos*) existem uma ou mais células infectadas, e uma célula resistente se torna infectada somente se possui 5 ou mais células vizinhas infectadas ou mortas.

Regra 3: uma célula infectada, resistente ou permissiva, morre depois de um ciclo da simulação.

2.2.3 Modelos de Autômatos Celulares para a Dinâmica do HIV

Os Autômatos Celulares são modelos muito importantes para o estudo dos comportamentos espaço-temporais característicos de fenômenos complexos, como vimos anteriormente. No caso da infecção pelo HIV esta abordagem tem sido menos explorada que as dos sistemas de EDOs, mas têm sido utilizada, desde início da década do 90, para descrever alguns aspectos interessantes da infecção pelo HIV [34–36].

Em 2001, Zorzenon dos Santos e Coutinho [37] propuseram um modelo CA para descrever a dinâmica da infecção pelo HIV em pacientes sem tratamento, cujos resultados reproduziram com sucesso as escalas de tempo das três fases da infecção sem necessidade de se fazer qualquer ajuste dos parâmetros ao longo das simulações. Posteriormente, outros trabalhos exploraram a robustez desses resultados com relação à variação dos parâmetros do modelo [38, 39]. Além disso, estudos inspirados nesse modelo foram propostos para investigar outros aspectos da dinâmica de infecção pelo HIV incluindo, em alguns casos, as terapias antiretrovirais [41, 42, 49–51, 60].

Nesta tese, o modelo proposto em [37] será estendido para incluir os mecanismos de terapia antiretroviral a partir de determinado instante, e explorado para investigar tanto a evolução das concentrações de células $CD4+T$ como da carga viral. Doravante, nos referiremos ao modelo proposto em [37] como modelo HIV-CA.

O modelo HIV-CA parte da premissa de que as escalas de tempo envolvidas na resposta imunológica de um indivíduo saudável, combinada com a alta taxa de replicação e mutação do vírus e a localização espacial gerada nos linfonodos são fatores relevantes para a explicação dos três estágios típicos observados na infecção pelo HIV como mostrado na figura 2.9. Nessa figura, vemos que durante as primeiras semanas ocorre um dramático aumento na concentração do vírus, concomitante com uma diminuição significativa na contagem das células $CD4+T$. Na fase seguinte (fase de

latência clínica ou crônica, que pode durar de 1 a 10 anos ou mais) o sistema imune elimina quase totalmente a carga viral e a produção de novas partículas virais diminui, variando de paciente em paciente. Um aparente bom estado físico é característico desta etapa mas; com o tempo, a concentração de células $CD4+T$ sofre uma nova diminuição acentuada acompanhada de um aumento explosivo da carga viral. A última fase é caracterizada pelo desenvolvimento da AIDS quando a ação de doenças oportunistas agravam a situação do paciente, levando-o a óbito.

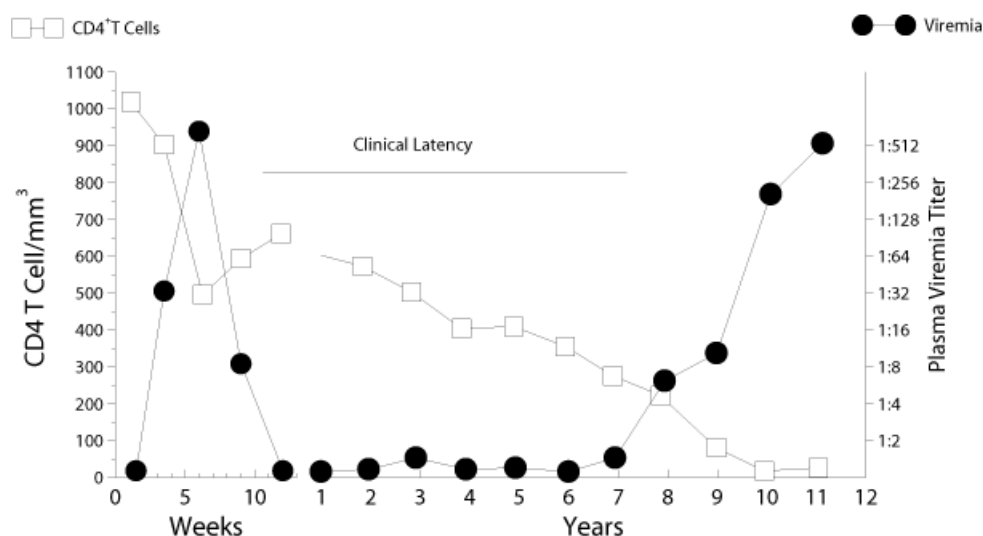


Figura 2.9: Gráfico da evolução da concentração das células $CD4+T$ e do vírus no organismo de um paciente infectado não tratado. Quadrados abertos: $CD4+T$; círculos pretos: vírus. Gráfico experimental obtido originalmente por Pantaleo et. al. [40]

Modelo HIV-CA, regras do autômato, características principais e simulação.

Para explicar a dinâmica dos três estágios observados em pacientes infectados, o modelo HIV-CA leva em conta os elementos essenciais do sistema e as interações fundamentais entre eles usando regras predeterminadas que formam parte do autômato. Considerando que as interações entre as células nos linfonodos podem ser descritas por este tipo de regra e que a superfície do linfonodo pode ser aproximada por uma superfície plana sem perda de generalidade, então, os autores do modelo HIV-CA propuseram a simulação em uma rede quadrada bidimensional com condições de contorno

periódicas e vizinhança de Moore.

No modelo, cada sítio da rede é associado a uma célula $CD4+T$. O autômato tem quatro estados, correspondentes às diferentes espécies de células $CD4+T$ encontradas no tecido pelo sistema imune no momento de armar o mecanismo de defesa. Cada célula pode estar num dos estados seguintes: a) saudável H ; b) infectada A_1 , correspondente às células infectadas *produtivas*, ou seja, aquelas com capacidade de espalhar a infecção; c) infectadas A_2 , o estágio final de uma célula infectada depois de ser detectada pelo sistema imune e, finalmente, d) mortas D , as células que foram *destruídas* pelos mecanismos de defesa da resposta imunológica. [37]

Inicialmente na rede original, aleatoriamente se distribuem células saudáveis com uma pequena fração P_{HIV} de infectadas que representa a contaminação inicial. Em cada passo de tempo a rede é atualizada seguindo o conjunto de regras determinísticas e estocásticas dadas a seguir:

Regra 1: Atualização das células saudáveis (H):

Células saudáveis (H) com pelo menos uma célula vizinha, dentro da sua vizinhança de Moore, no estado infectada A_1 ou pelo menos $2 \leq R \leq 8$ células vizinhas no estado infectada A_2 , torna-se infectada A_1 no próximo passo de tempo, em caso contrário, permanece saudável H .

Regra 2: Atualização das células infectadas (A_1):

Uma célula infectada A_1 permanece nesse estado durante τ passos de tempo, tornando-se infectada A_2 no passo de tempo seguinte.

Regra 3: Atualização das células infectadas (A_2):

Células infectadas A_2 são eliminadas pelo sistema imune e viram mortas no próximo passo de tempo.

Regra 4: Atualização das células mortas (D):

Células mortas são substituídas por células saudáveis com probabilidade $P_{reg}(1 - P_{infec})$ ou por células infectadas A_1 com probabilidade $P_{reg}P_{infec}$ ou permanecem mortas com probabilidade $1 - P_{reg}$.

A primeira regra simula o espalhamento da infecção por contato, antes do sistema imune desencadear a resposta contra o vírus. Representa, junto com isso, o fato

de que as células já detectadas pelo sistema imune podem infectar antes de serem eliminadas, mesmo sendo, sua infectabilidade, muito menor que a das infectadas A_1 . Na regra 2, as células infectadas A_2 previamente *marcadas* pelo sistema imunológico, tem sua capacidade de espalhar a infecção reduzida, como já foi explicado anteriormente. A variável τ representa o tempo durante o qual as células A_1 permanecem espalhando a infecção, até serem detectadas pelo sistema imunológico. A terceira regra simula a remoção das células infectadas *marcadas* pela resposta imune. A última das regras descreve a grande capacidade do sistema imune de se recuperar da imunossupressão gerada pela infecção e simula também a difusão das células no tecido. Além de tudo isso, esta regra representa a introdução de novas células infectadas no sistema, provenientes de outros compartimentos do sistema e/ou da ativação das células infectadas latentes, como sugere a literatura.

O espalhamento da infecção, segundo a simulação, gera padrões espaciais característicos mostrados na figura 2.10, a seguir.

A partir da configuração inicial a infecção começa a se propagar até atingir o valor máximo de infectabilidade (a) após 5 passos de tempo (semanas). Neste instante, as células infectadas começam a ser eliminadas pelo sistema imunológico e substituídas por novas células saudáveis produzidas na medula ou por células infectadas ou latentes ativadas provenientes de outros compartimentos. A evolução dinâmica durante a infecção primária é ditada basicamente, pela configuração inicial e pela localização relativa entre as células gerando-se *frentes de ondas* de células infectadas (painéis (b) e (c)). Estas frentes provocam a diminuição da concentração das células saudáveis durante o período de latência. Durante esta etapa se formam dois tipos de estruturas, a *compacta* ou *estrutura de fontes*, e a não compacta, mostradas na figura 2.10. A onda gerada pela estrutura não compacta se extingue ao colidir com outras estruturas. Por outro lado, a estrutura de fontes gera periodicamente novas fontes de ondas. No regime representado em (d), as densidades das espécies atingem o estado estacionário correspondendo aos últimos anos da evolução das concentrações de células. Este padrão corresponderia biologicamente ao comportamento do tecido em estados avançados da doença, como tem sido observado experimentalmente. O

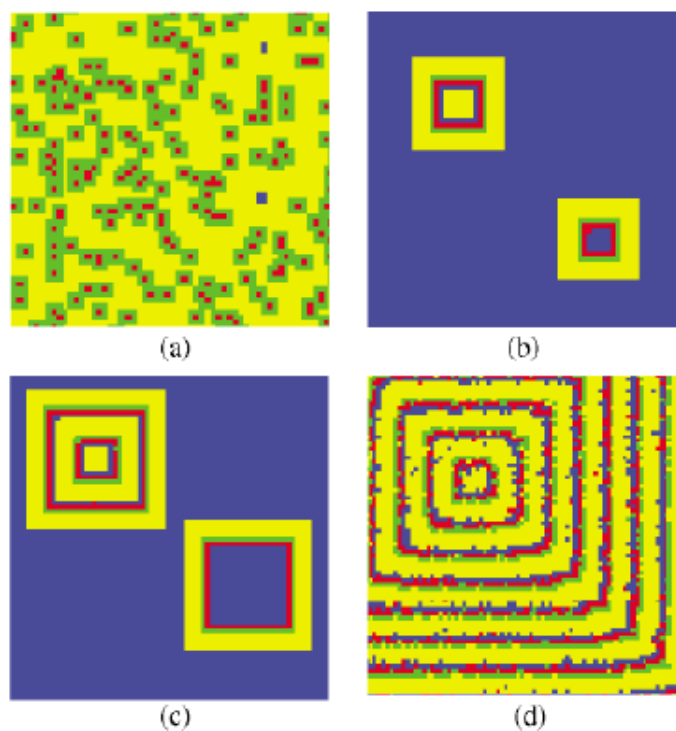


Figura 2.10: Padrões espaciais obtidos pelo modelo HIV-CA. (a): 5 semanas; (b): 18 semanas; (c): 25 semanas e (d): 200 semanas. A cor azul corresponde às células saudáveis, o amarelo, às A_1 , o verde às A_2 e o vermelho às mortas [37].

período de latência é caracterizado pela coexistência das duas estruturas já mencionadas que geram frentes de ondas que são criadas a partir de células remanescentes da colisão das frentes de onda que recobriram a rede durante as doze semanas iniciais e das novas células infectadas que entram no sistema devido a outros processos. As frentes de ondas simples (não compactas) se formam com maior frequência, enquanto a formação de estruturas compactas é menos frequente. Elas dependem das configurações específicas na vizinhança das novas células infectadas introduzidas cuja probabilidade de ocorrência está relacionada com P_{reg} e P_{infec} .

O período de latência depende diretamente da distância média entre as fontes geradoras das frentes compactas e, por conseguinte, do inverso da raiz quadrada da probabilidade de sua ocorrência. Estas estruturas compactas podem ser associadas com os sincícios (ver figura 2.11), cuja estrutura se forma quando células se fundem para dar lugar a um aglomerado com a presença de muitos núcleos. Esta aglomeração de células infectadas, observadas experimentalmente, pode ser responsável pelo prolongamento da infecção até o desenvolvimento da AIDS. A figura 2.11 pode ser comparada com o painel (d) da figura 2.10, quando as densidades atingem o estado estacionário. Estes aglomerados são observados em experimentos *in vitro* tais como os testes sorológicos onde sangue de um indivíduo não infectado é misturado com sangue de um paciente infectado. A quantidade de aglomerados formados fornece uma estimativa do tempo de vida do paciente [8].

Como resultado das simulações feitas em [37] os autores também obtiveram o gráfico correspondente à dinâmica das espécies de células envolvidas no processo de infecção (figura 2.12), onde se observam claramente, as três escalas de tempo mostradas no gráfico experimental obtido originalmente por Pantaleo et al. [40]. Além disso, constata-se uma grande flutuação nas concentrações durante a fase de latência clínica, indicando uma grande variabilidade entre as amostras, tal qual se observa nos dados clínicos.

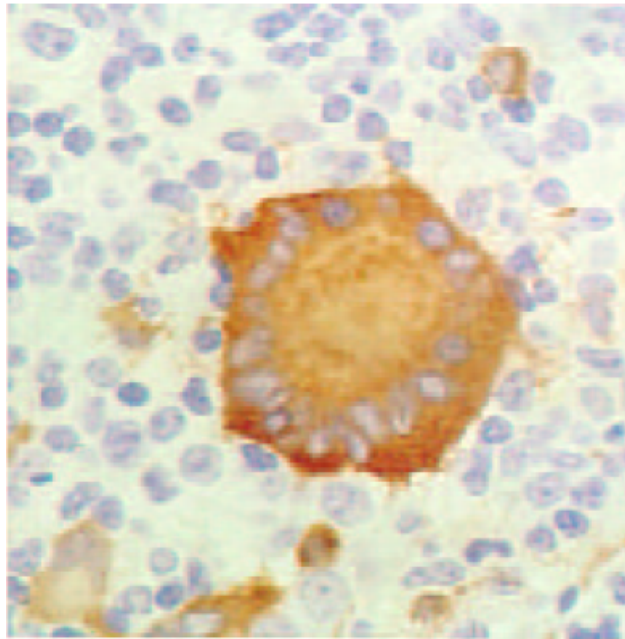


Figura 2.11: Microscopia eletrônica de um sincício (aglomerado de células infectadas pelo HIV) [8].

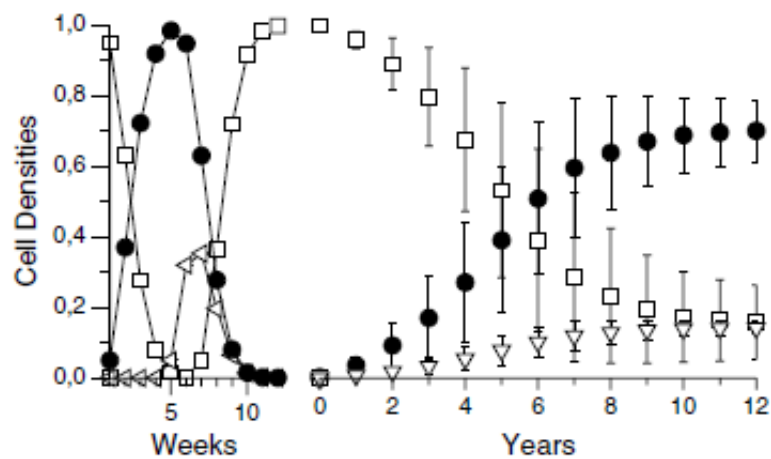


Figura 2.12: Evolução das espécies de células envolvidas no processo de infecção. Quadrados abertos, células saudáveis; círculos pretos, células infectadas; triângulos abertos, células mortas. Resultados das simulações feitas no trabalho da referência [37].

Modelos de CA para a infecção pelo HIV com terapia

A seguir serão discutidos alguns dos modelos posteriores ao modelo HIV-CA e nele baseados os quais estão conectados com os modelos propostos nesta tese.

O modelo proposto por Peter Slood, Fan Chen e Charles Boucher [41] estuda a dinâmica da infecção com e sem terapia. Esse trabalho está dividido em duas partes, correspondentes ao estudo de dois modelos. O primeiro modelo (HI), estuda o processo sem tratamento fazendo modificações no modelo HIV-CA. Nele são introduzidas novas variáveis ao problema, tais como a mobilidade das células. O segundo modelo (DTHI) trata do problema com tratamento, monoterápico e com terapia combinada, adicionando também o efeito da mobilidade das células. A principal contribuição desse trabalho é mostrar uma modelagem adequada das fases da infecção pelo HIV com diferentes escalas de tempo, assim como a integração dos três procedimentos diferentes de terapia.

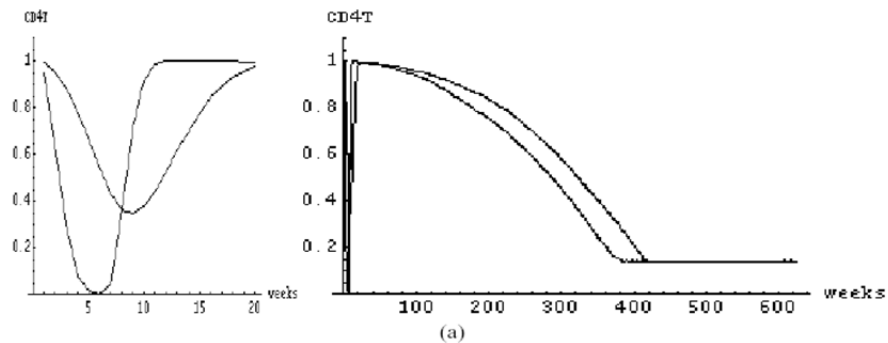


Figura 2.13: Contagem de células $CD4+T$, durante a infecção primária e latência clínica obtidos pelo modelo proposto na referência [52] para valores de $P_{HIV} = 0.05$ e $P_{HIV} = 0.005$.

No modelo HI foi considerado o movimento dos linfócitos, a partir de vizinhanças variáveis no tempo, modelado de duas maneiras diferentes. Este movimento provoca a ruptura das estruturas sólidas e ondulatórias e a rede fica preenchida parcialmente de partículas infectadas. Consequentemente se formam novos centros *espalhadores* de vírus. Depois de várias semanas as células infectadas ficam *presas* em *armadilhas* de um ou dois sítios de largura, eventualmente estes centros de *colônias* de

células preencherão a rede toda. Com a inclusão da dinâmica (migração dos linfócitos) no modelo HI, as estruturas regulares e bem definidas obtidas no modelo HIV-CA não mais ocorrerão. Depois de iniciada a terapia tais estruturas são destruídas. O vírus remanescente tende então, a formar novas fontes de infecção.

No modelo DTHI o tratamento é incluído a partir de uma variável (N) que representa a efetividade da droga, ficando assim limitado o poder de infecção das células infectadas produtivas. Quanto maior é o valor dessa variável, menor é a efetividade do tratamento. Isto simula em princípio que as drogas previnem a replicação resultando em uma menor infectabilidade. No gráfico da figura 2.14 mostramos o comportamento temporal da densidade de células saudáveis para diferentes valores da efetividade da droga. As diferentes terapias estão relacionadas com funções que representam respostas do organismo às terapias, com efeito nas células infectadas A_1 após o começo do tratamento. Com isto, os autores simularam o fato de que a terapia não influencia imediatamente todas as células infectadas A_1 e sim, parte delas a cada passo de tempo. Isto também representa o conceito da resistência do vírus ao tratamento.

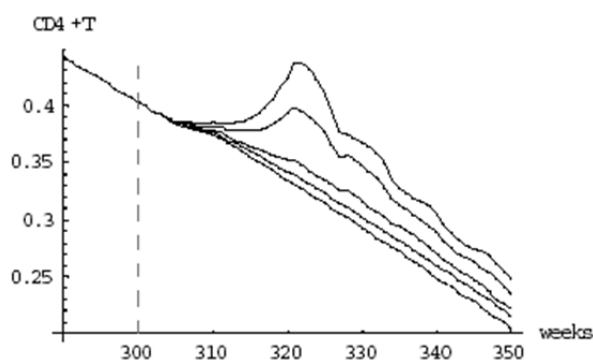


Figura 2.14: Diferentes efetividades da droga com a mesma função resposta. De cima para baixo: $N = 0$, $N = 1$, $N = 4$, $N = 7$ e sem tratamento [41].

A parte interessante do modelo DTHI é o fato de que se inclui a eficiência da droga (variável) como aspecto fundamental para a extensão da sobrevivência. Uma alta qualidade da droga impede em certa medida a replicação do vírus e consequentemente a aparição de espécies resistentes aos medicamentos. Esta questão do

desenvolvimento da resistência às drogas será incluída também nos modelos propostos nesta tese. Há porém um aspecto negativo nos resultados do modelo DHTI. Mesmo quando um tratamento com alta efetividade é simulado a concentração de células saudáveis permanece decrescendo aproximadamente à mesma taxa após ter sofrido um crescimento logo após o início do tratamento, como evidenciado na figura 2.14.

Outro trabalho importante é o de Shi et al [42], o qual está baseado nos trabalhos anteriores de Zorzenon dos Santos e Coutinho [37] e de Peter Slood, Fan Chen e Charle Boucher [41]. Em relação ao modelo de Slood, Chen e Boucher [41], na opinião dos autores do trabalho da referência [42], o modelo descrito em [41] apresenta vários pontos fracos como:

- Não se mostra relação quantitativa direta entre o número de vizinhos que se infectarão e a eficácia do tratamento.
- O número de vizinhos é fixado no início da simulação e não muda durante o progresso da infecção.
- O modelo não está baseado nos princípios dos tratamentos e não diferencia os diversos tipos de droga.

No modelo proposto em [42] foram incluídos muitos aspectos referentes à compatibilidade biológica relacionados com a dinâmica da infecção. Entre outros, destacam-se o fato de que a carga viral está muito relacionada com o progresso da doença e que o princípio básico da terapia é interromper a replicação do vírus. Estudos feitos e publicados [26, 53–59] mostram que durante a fase inicial da infecção surgem células *latentes*. Elas são células infectadas em *repouso* que podem ser ativadas depois de um longo período de tempo e produzir novas partículas virais. Levando em conta isto, um novo estado (latente) e uma nova regra foram adicionados ao modelo HIV-CA: a célula saudável pode se tornar infectada ou latente em função de certa probabilidade.

Uma das inovações no modelo de Shi et al [42] foi a adição do efeito da carga viral no processo de infecção.

Nos modelos anteriores baseados em autômatos celulares, as regras descrevem as transições de estados das células saudáveis e infectadas mas não incluem a carga viral. Nos modelos baseados em EDOs assume-se que a carga viral é simplesmente proporcional ao número de células infectadas, ignorando o papel das partículas livres de vírus no progresso da infecção. Também nesse modelo foi introduzido um conceito de vizinhança variável de acordo com a carga viral. A carga viral, calculada no modelo através de uma equação recursiva, atualizada em cada passo de tempo do autômato, é usada para ajustar o número de células no domínio da vizinhança que podem afetar o estado da célula central no próximo passo de tempo. Isto afeta diretamente a taxa de infecção a cada passo de tempo.

Para simular o efeito do inibidor da Transcriptase Reversa, foi incluído no modelo uma variável representando o estado no qual a célula é invadida pelo vírus mas permanece saudável devido ao tratamento. A eficiência da droga foi simulada através de uma probabilidade P_{RT} que *decide* quando uma célula pode se tornar infectada ou permanecer nesse novo estado *immune*. As células, uma vez nesse estado, podem permanecer assim durante um curto período de tempo antes de se tornarem saudáveis novamente devido à degradação do RNA viral ou a mutações. A eficiência do inibidor da Protease Viral, por sua vez, é representada pelo valor numérico P_{PI} que representa a porcentagem de vírus não infecciosos.

A simulação do cART (terapia antiretroviral combinada) foi feita então incluindo as duas probabilidades no modelo, P_{RT} e P_{PI} em níveis que representam a eficácia dos inibidores individualmente ou dos dois juntos. A resistência do sistema às drogas foi modelada garantindo uma diminuição da eficácia da droga, expressado matematicamente como um decaimento exponencial das variáveis que representam as probabilidades, como segue:

$$P_{RT} = P_{RT_0} \exp\left\{-k \frac{(t - t_s)}{t_s}\right\}$$

O esquema mostrado na figura 2.15 ilustra um diagrama em blocos da transição de estados durante o processo de infecção no modelo de Shi et al [42]. Alguns dos

parâmetros usados nas simulações foram os mesmos do modelo HIV-CA.

O perfil da dinâmica do processo de infecção, sem tratamento, obtido pelo modelo de Shi et al [42] está mostrado na figura 2.16. À esquerda da figura aparece a dinâmica das células envolvidas no processo. À direita, a dinâmica do vírus e da vizinhança ao longo do tempo. Nas figuras 2.17 e 2.18, são mostrados os comportamentos das células saudáveis e carga viral para simulações feitas com monoterapias para diferentes efetividades constantes. Em cada figura, o gráfico da esquerda representa o inibidor da Protease Viral e o da direita, o da Transcriptase Reversa. O gráfico da figura 2.19, representa o comportamento das concentrações das células com a combinação de ambos tratamentos (cART) e com efetividade constante e na figura 2.20, a efetividade varia de acordo à expressão vista anteriormente (exponencial), para diferentes valores iniciais de efetividade.

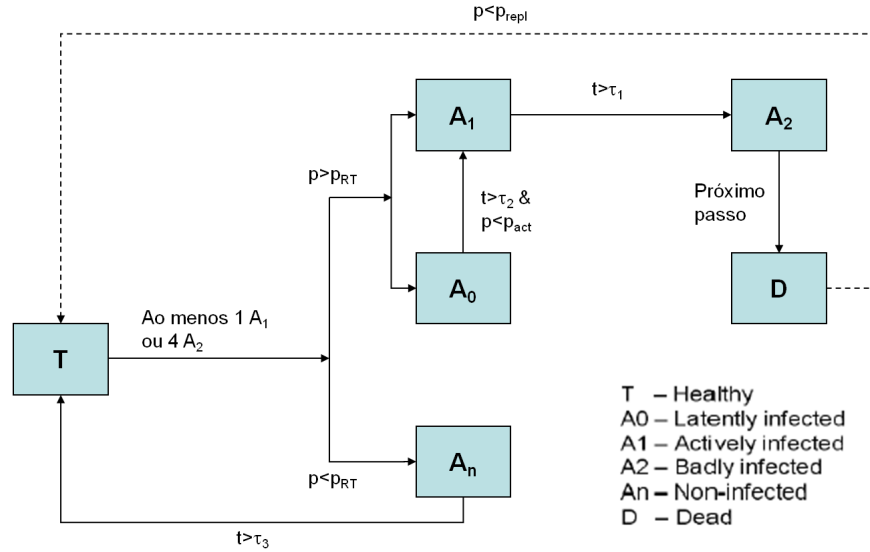


Figura 2.15: Diagrama das transições entre os estados do modelo proposto em [42].

Nas figuras 2.16 a 2.20 nos gráficos da dinâmica das concentrações das células, a cor azul representa as células T saudáveis, a cor verde, representa as células infectadas, a cor vermelha são as células mortas e a laranja, as latentes.

Nos gráficos correspondentes às monoterapias, foram usados valores de efetividade entre 50% (cyan) e 90% (vermelho). No caso do cART com efetividades constantes, a combinação de efetividades foi feita da seguinte maneira: primeiro,

usando uma efetividade de 70% para o RTI e variando, entre 50% e 90% para o PI, e depois o contrário. Já no caso das efetividades variáveis, foram obtidos dois comportamentos, o do inibidor da RT e o da terapia combinada. No primeiro, a distribuição de cores no gráfico é igual a dos gráficos das monoterapias. No segundo, igual a dos gráficos para o cART com efetividades variáveis.

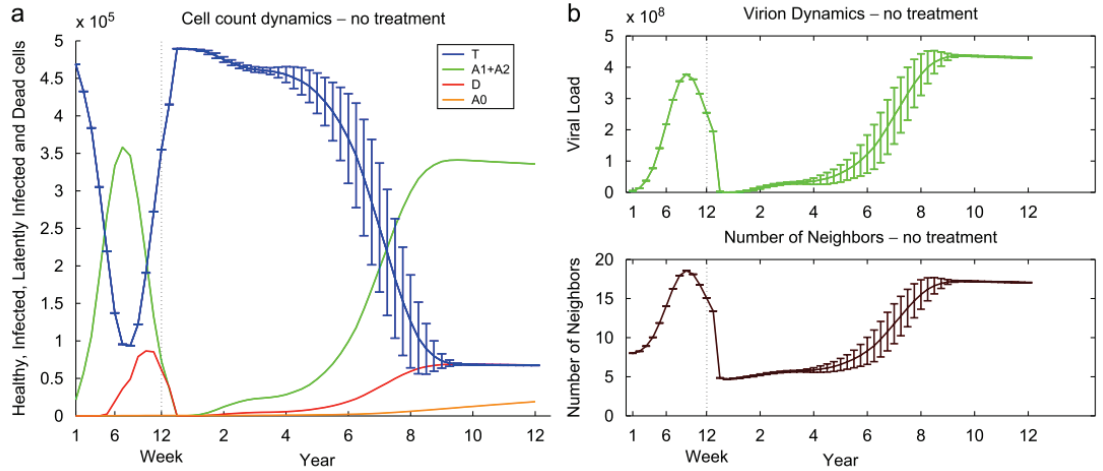


Figura 2.16: Dinâmica do HIV sem tratamento. Painel (a), células saudáveis (azul), infectadas (verde), mortas (vermelho) e latentes (laranja). Painel (b), na parte superior, dinâmica da carga viral, na parte inferior, dinâmica da vizinhança [42].

Em relação aos padrões espaciais, a referência [42] não reporta nada. A seguir mostramos uma comparação feita por nós entre esse modelo e o modelo HIV-CA.

2.2.4 Comparação entre o modelo HIV-CA e o modelo de Shi et al [42].

Nesta subseção vamos mostrar resultados obtidos nesta tese para a comparação, em relação a alguns aspectos, entre o modelo HIV-CA [37], e o modelo apresentado por Shi et al. [42] (modelo STK). Nesta tese, buscamos reproduzir o modelo STK e obtivemos que a infecção primária, diferentemente da literatura [40], tem uma duração de aproximadamente 15 a 20 dias, um pouco maior do que o evidenciado por estudos clínicos, ver figura 2.21, quando o mesmo conjunto de parâmetros comuns é usado [43–45].

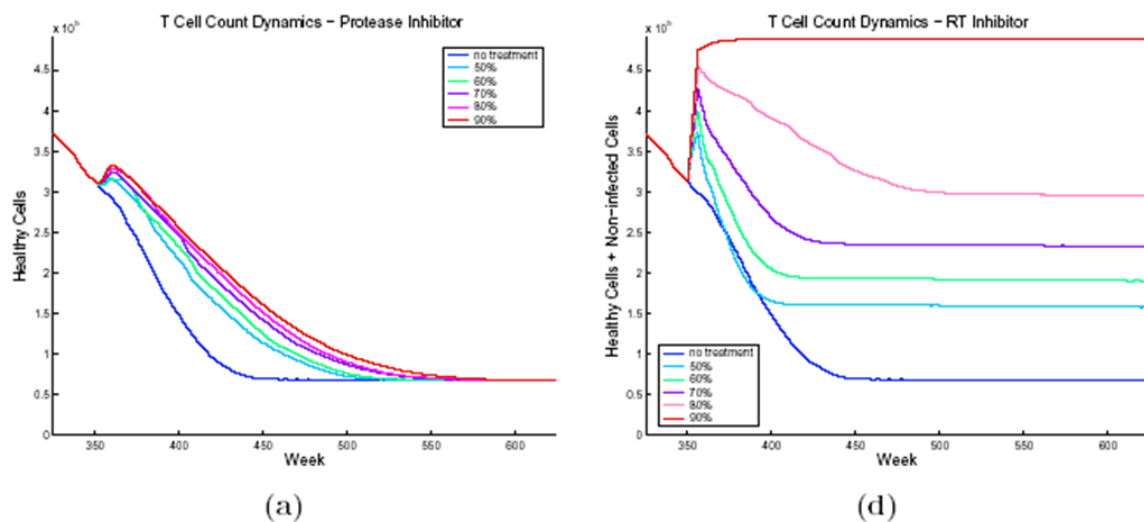


Figura 2.17: Dinâmica das células saudáveis sob monoterapia com eficiência constante. Painel (a), efeito dos inibidores da Protease Viral. Painel (d), efeito dos inibidores da Transcriptase Reversa [42].

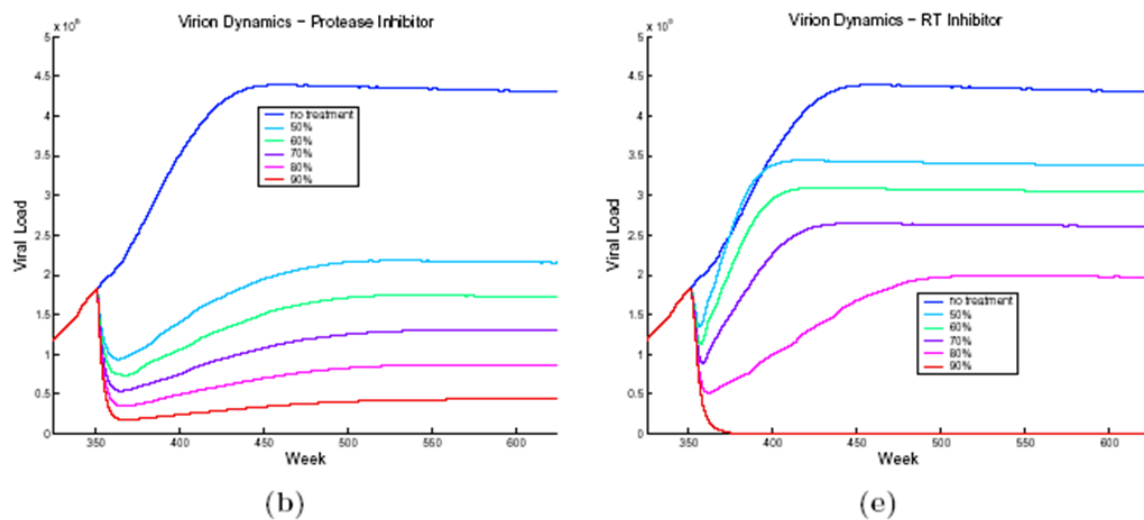


Figura 2.18: Dinâmica da carga viral sob monoterapia com eficiência constante. Painel (b), efeito dos inibidores da Protease Viral. Painel (e), efeito dos inibidores da Transcriptase Reversa [42].

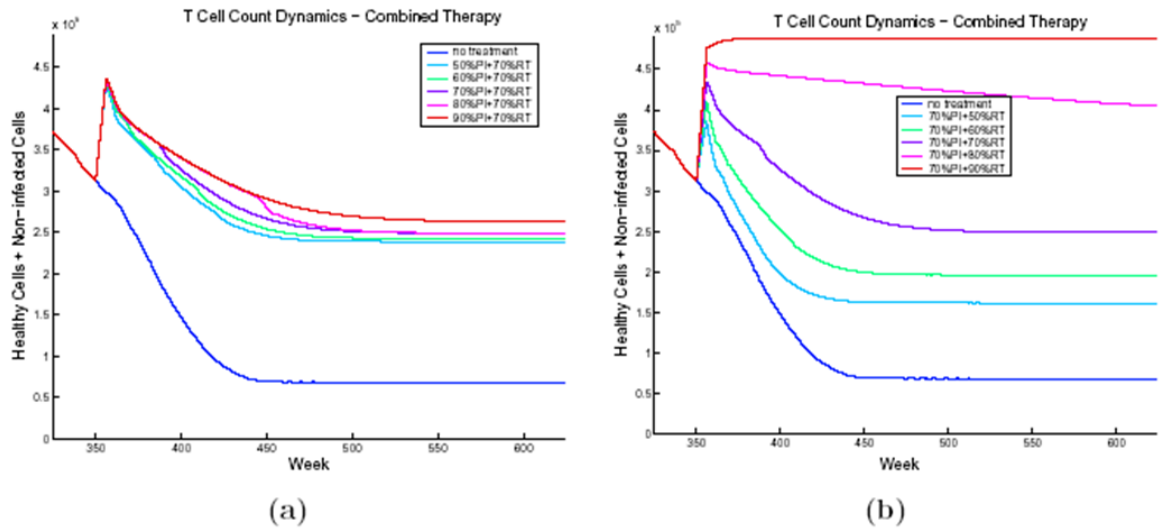


Figura 2.19: Dinâmica das células saudáveis sob efeitos da cART. Painel (a), RTI constante e PI variável. Painel (b), RTI variável e PI constante [42].

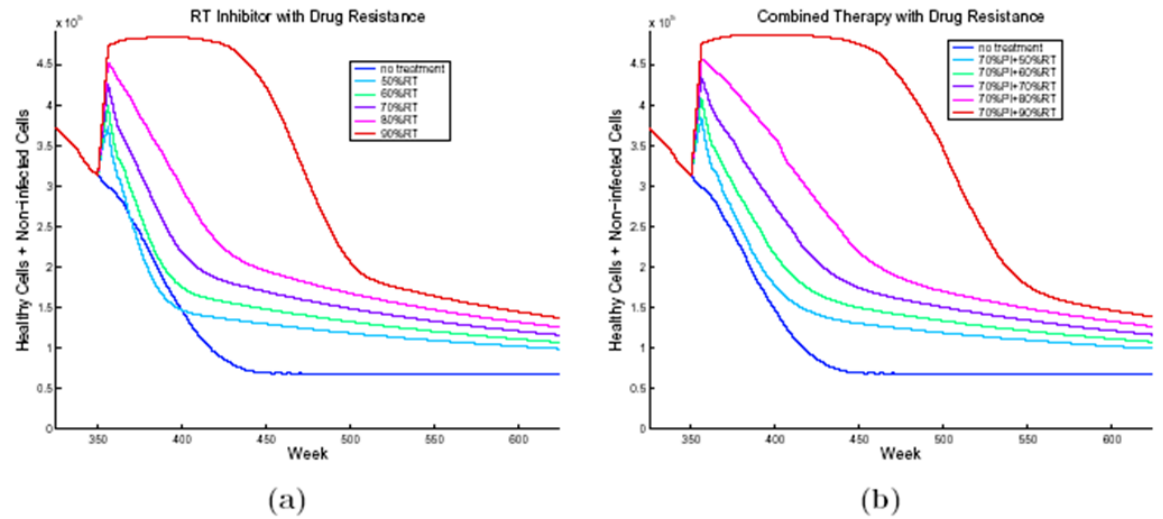


Figura 2.20: Dinâmica das células saudáveis sob efeitos da cART com eficiência variável. Painel (a), RTI. Painel (b), cART [42].

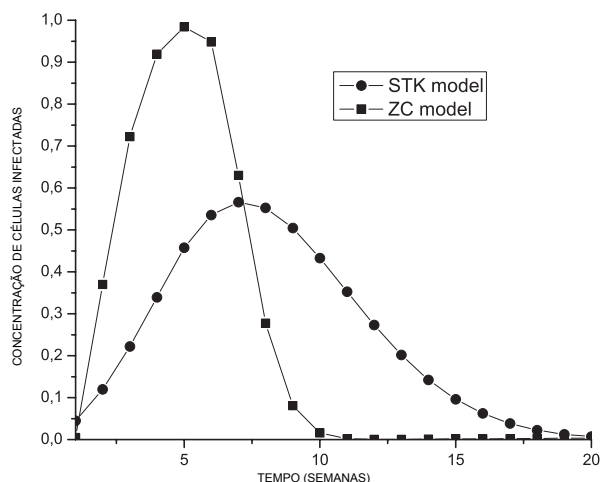


Figura 2.21: Comparação entre a dinâmica da concentração das células infectadas (eixo y) no tempo (semanas) (eixo x) durante a infecção primária, obtidas pelo modelo STK e o modelo HIV-CA conforme a legenda. Os círculos representam o modelo STK e os quadrados o modelo HIV-CA.

Da comparação entre ambas infecções primárias, notamos diferenças essenciais devido, fundamentalmente ao valor da infecção inicial escolhida pelos autores para cada modelo. Uma das hipóteses do modelo STK, que serve como justificativa para a escolha do valor do parâmetro P_{HIV} é que o valor utilizado pelos autores do modelo original é muito grande comparado com valores estimados de experiências clínicas. O comportamento da concentração das células infectadas nesta etapa inicial da infecção, obtido das simulações utilizando o modelo HIV-CA (figura 2.22), mostra que o pico de infecção depende diretamente do parâmetro anteriormente mencionado e comparando o gráfico com quadrados cheios da figura 2.22 com o de círculos cheios da figura 2.21 vemos que para $P_{HIV} = 0.005$, as infecções primárias do modelo HIV-CA e do modelo STK são praticamente as mesmas.

Da análise destas comparações percebemos que a escolha do valor do nível inicial da infecção muda a dinâmica da infecção primária e que, neste sentido, ambos os modelos são equivalentes. Em um estudo mais aprofundado mostramos que tanto a posição do ponto de máximo da infecção como o seu valor variam segundo uma lei de potência com o valor inicial de P_{HIV} , em ambos modelos, como mostrado nas

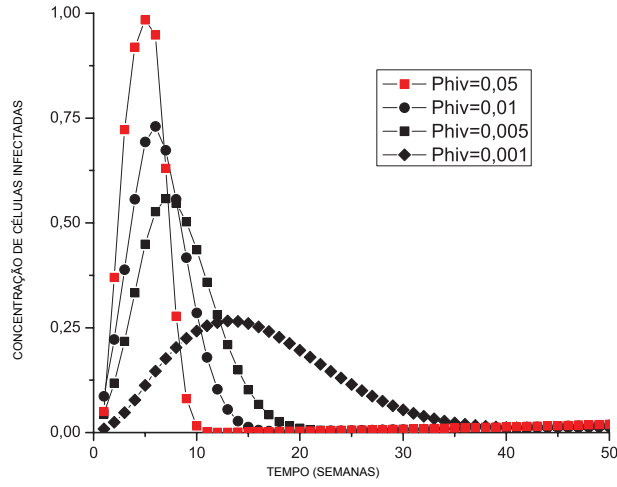


Figura 2.22: Fração de células infectadas (eixo y) em função do tempo (semanas) (eixo x) durante a infecção primária, obtida pelo modelo HIV-CA, para diferentes valores de P_{HIV} . Quadrados vermelhos, $P_{HIV} = 0.05$, círculos pretos, $P_{HIV} = 0.01$, quadrados pretos, $P_{HIV} = 0.005$, diamantes pretos, $P_{HIV} = 0.001$.

figuras 2.23 e 2.24.

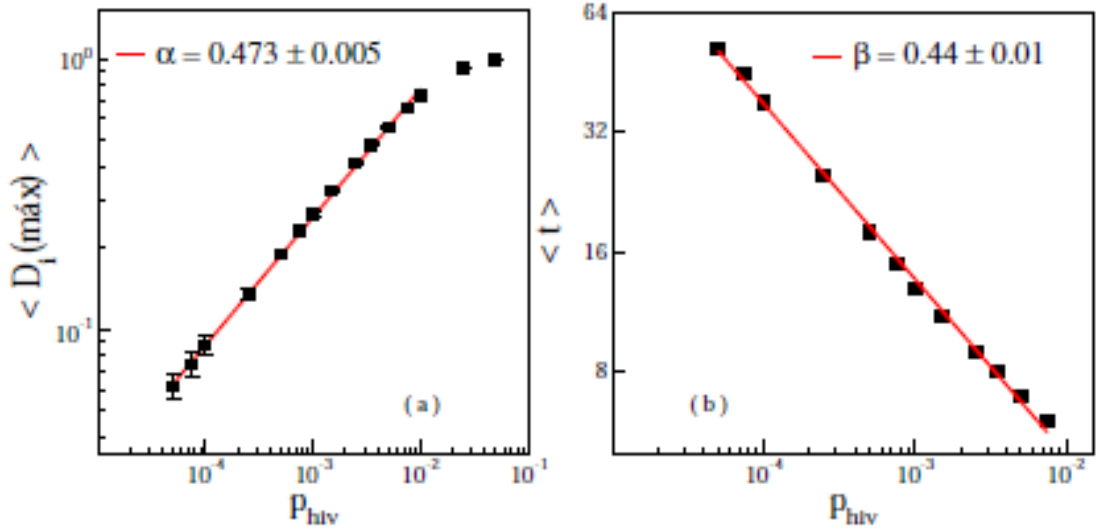


Figura 2.23: Variação da posição e do valor do pico da infecção primária com P_{HIV} . Modelo HIV-CA, obtido na referência [8]

Esta similitude entre os dois modelos nesta etapa inicial pode estar relacionado com o fato de que no modelo HIV-CA, a infecção por contato ocorre com probabilidade

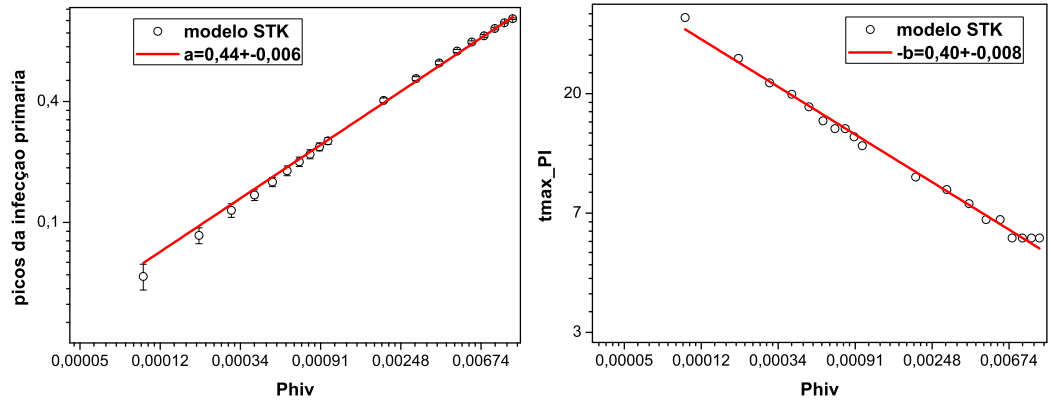


Figura 2.24: Variação da posição e do valor do pico da infecção primária com P_{HIV} . Simulação realizada nesta tese usando o modelo STK. O gráfico da esquerda corresponde as densidades das células infectadas e o da direita à posição do máximo.

1 no caso de uma célula saudável ter na sua vizinhança ao menos uma célula infectada produtiva (A_1) e no modelo STK, essa infecção, quando não existe tratamento, ocorre com quase a mesma probabilidade ($P_{infec} = 0,999$).

No modelo STK não foi levado em conta o fato importante desde o ponto de vista imunológico, de que células infectadas provenientes de outros compartimentos podem ingressar a qualquer momento no sistema. No esquema mostrado a seguir na figura 2.25 exibimos um diagrama em blocos do modelo STK sem incluir o tratamento. Neste esquema, pode-se ver que as células mortas são repostas só por células saudáveis o que pode ser a causa da obtenção de uma latência clínica muito extensa, entre 8 a 10 anos, em média, maior que o reportado na literatura especializada [40], que é entre 5 a 7 anos.

No gráfico que mostra a dinâmica das diferentes espécies de células envolvidas neste modelo (figura 2.26), obtido nas nossas simulações do modelo STK, vemos uma pequena *oscilação* correspondente a uma queda leve na concentração das células saudáveis seguida de uma mais leve ainda recuperação das mesmas, na altura do segundo ano do período de latência, aproximadamente. Não existem evidências clínicas de que um fato como esse ocorre na realidade. Também fazendo referência a esta etapa, as barras de erro reportadas aparentam ser menores do que deveriam ser, devido ao fato de que a duração do período de latência varia muito de paciente a

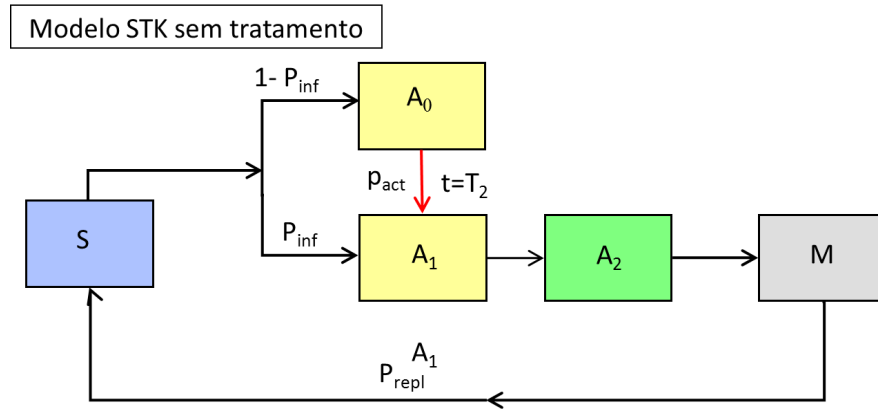


Figura 2.25: Diagrama de transição de estados das espécies do modelo STK (sem tratamento).

paciente, sendo que estes podem ir de 1 ou 2 anos até 10 ou mais.

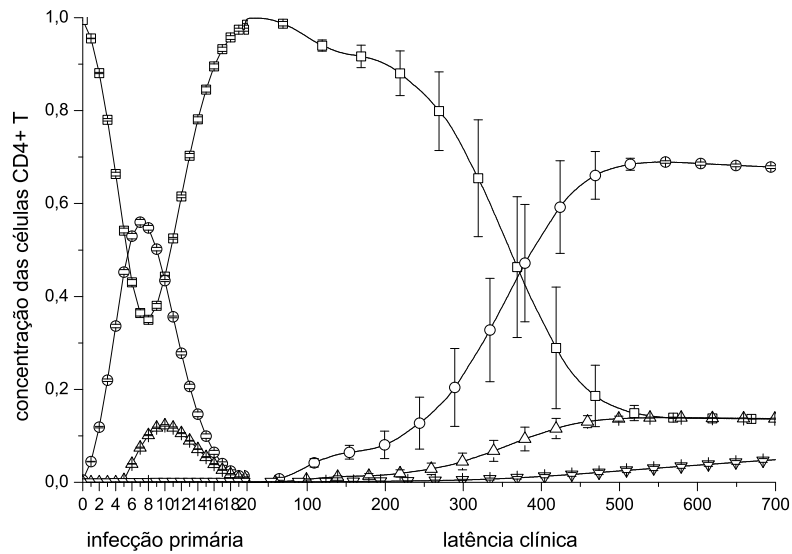


Figura 2.26: Dinâmica da infecção sem tratamento obtida a partir do modelo STK. Os quadrados representam as células saudáveis, os círculos, as infectadas, os triângulos *para cima*, as células mortas e os triângulos *para baixo*, as células latentes. Na parte esquerda do gráfico temos a etapa da infecção primária, com uma duração de aproximadamente 20 semanas e na direita do gráfico, a latência clínica, com duração de aproximadamente 10 anos.

A variável A_0 no modelo STK representa as células infectadas latentes. A entrada destas células no sistema se efetua em função de uma probabilidade $1 - P_{inf} =$

10^{-3} . Isto significa que, de todas as células infectadas no organismo, só 0.1% são latentes. Na realidade o valor desta proporção de células latentes no organismo em relação ao total das infectadas pode variar entre 0,1 e 1% [21]. O fato de ser constante e fixa esta probabilidade não simula corretamente a realidade. A existência de um intervalo de tempo, que no modelo se representa por $\tau_2 = 30$, a partir do qual as células latentes começam a se reativar também foi escolhido sem justificativa biológica, assim como a probabilidade p_{act} com que este fato ocorre. A escolha de um intervalo de tempo, também único e constante impõe ao modelo que, até o instante τ_2 , no sistema só estejam entrando células infectadas produto da infecção por contato. Esta escolha pode ser outra possível causa para o prolongado período de latência obtido nas simulações. De fato, no modelo não se considera a taxa de eliminação destas células pelo organismo, cujo tempo de vida média oscila entre 10 e 20 dias (2 e 4 semanas) aproximadamente. Logo, há um acúmulo destas células latentes ao longo de todo o processo (figura 2.27) [10].

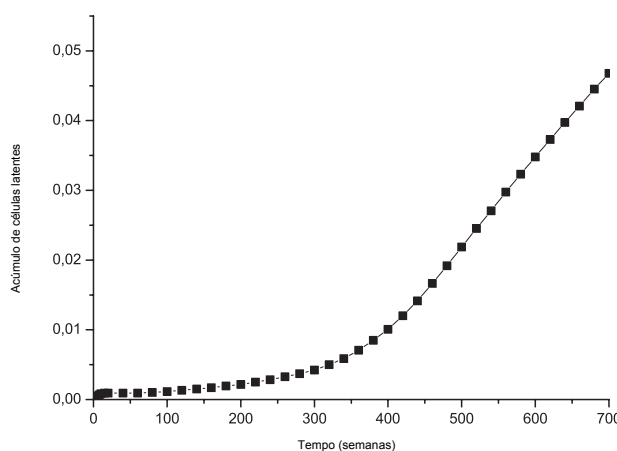


Figura 2.27: Acúmulo de células latentes (eixo y) ao longo do tempo (semanas) (eixo x) obtido no modelo STK durante a infecção pelo HIV.

A escolha de uma efetividade constante para simular o tratamento, especificamente aquela relacionada com os inibidores da RT não é a mais correta. A grande capacidade que o HIV tem para sofrer mutações ao longo de todo o processo de infecção, faz com que a cada momento se gerem novas variantes do vírus mais re-

sistentes. Também uma efetividade variável no tempo, sem levar em consideração a variação do nível de infecção do organismo, não responde aos fatos clínicos.

A efetividade do tratamento tem que depender em cada instante de tempo do grau de infecção presente nesse momento no organismo, pois a droga será mais ou menos efetiva em função dessa variável e, a partir de aplicado o tratamento, a sua efetividade irá diminuir com o tempo em função dos dois fatos já mencionados anteriormente.

Em termos gerais, a tentativa dos autores do modelo STK de simular o processo, incluindo o tratamento e a carga viral, que nos trabalhos anteriores baseados em autômatos celulares não tinha sido levado em conta, é um passo importante para poder se ter uma noção mais realista do processo de infecção como um todo. Porém a inclusão de tais mecanismos precisa estar melhor fundamentada realidade biológica do problema.

A primeira conclusão que podemos tirar desta comparação é o fato de que na dinâmica obtida para o modelo STK sem tratamento, se observa, na latência clínica, uma pequena oscilação não justificável biologicamente. Na simulação do modelo HIV-CA não encontramos essa oscilação. A infecção primária, tanto em termos do tamanho dos picos de infecção, quanto no que se refere ao momento de ocorrência dos picos apresenta o mesmo comportamento. No modelo HIV-CA, a duração da latência clínica, está relacionada diretamente com o parâmetro P_{infec} , segundo [37]. Para o modelo STK, vemos que a latência clínica, em termos de duração, está estreitamente vinculada à probabilidade P_{act} . O período de latência clínica para ambos modelos sem tratamento são significativamente diferentes mesmo que a dinâmica seja a mesma, devido à acumulação crescente de células latentes no modelo STK. Além disso, no modelo STK, as células mortas se regeneram apenas em células saudáveis, diferentemente de como ocorre no modelo HIV-CA. Das simulações com ambos modelos, sem o tratamento, os valores das concentrações das células no estado estacionário estão mostrados na tabela 2.3.

Da análise da tabela 2.3 podemos concluir que não existem diferenças signi-

Tipo de célula	Modelo HIV-CA [37]	Modelo STK [42]
saudáveis	0.14	0.13
infectadas produtivas	0.72	0.67
infectadas latentes	0	0.07
infectadas produtivas + latentes	0.72	0.74
mortas	0.14	0.13

Tabela 2.3: Comparação entre os valores dos estados estacionários das concentrações de células obtidos pelos modelos HIV-CA [37] e STK [42], ambos sem tratamento.

ficativas nos valores das concentrações em equilíbrio. No modelo STK, as barras de erro são significativamente menores que no modelo HIV-CA. Devido às dispersões nos dados clínicos, devemos ter, sempre nas simulações barras de erro significativas o que mostra que o modelo HIV-CA é mais consistente. No modelo HIV-CA, o processo que garante a persistência da infecção, simulado através da regeneração das células mortas em saudáveis ou infectadas inclui todos os possíveis mecanismos descritos na literatura, enquanto o modelo STK inclui apenas um desses mecanismos. O modelo HIV-CA é muito mais simples, pois envolve menor quantidade de variáveis que o modelo STK.

Na tabela 2.4 mostramos um resumo dos modelos de AC discutidos neste capítulo, que serviram de base para os modelos que serão discutidos nos capítulos 3 e 4 da presente tese.

Modelos CA	Estados do autômato	Principais características
HIV-CA [37]	H : células saudáveis; A_1 : células infectadas não reconhecidas pelo sistema imune; A_2 : células infectadas reconhecidas pelo sistema imune; D : células mortas	Modelo que descreve a evolução das células $CD4+T$ nos nodos linfáticos. Reproduz as escalas de tempo características das 3 fases da infecção. Baseado nas hipóteses de alta taxa de mutação e sistema imunológico pouco afetado pela infecção.
HI [41]	H : células saudáveis; A_1 : células infectadas não reconhecidas pelo sistema imune; A_2 : células infectadas reconhecidas pelo sistema imune; D : células mortas	Modelo sem tratamento. Baseado no modelo HIV-CA. Incorpora a difusão das células no tecido linfático.
DTHI [41]	H : células saudáveis; A_1 : células infectadas não reconhecidas pelo sistema imune; A_2 : células infectadas reconhecidas pelo sistema imune; D : células mortas	Ampliação do modelo HI com inclusão de mecanismo de tratamento, cujas drogas inibem a replicação viral tornando a infecção menos eficiente.
STK [42]	T : células saudáveis; A_1 : células infectadas não reconhecidas pelo sistema imune; A_2 : células infectadas reconhecidas pelo sistema imune; D : células mortas; A_0 : células infectadas latentes; A_n : células não infectadas	Modelo baseado nos modelos HIV-CA e DTHI, com tratamento. Incorpora o efeito da carga viral no processo de infecção. Introduce uma função exponencial <i>ad hoc</i> para simular a efetividade do tratamento.

Tabela 2.4: Principais características dos modelos baseados em autômatos celulares (CA) utilizados na formulação dos modelos de CA propostos nesta tese.

Capítulo 3

Autômato Celular para modelar as Terapias Antiretrovirais na Dinâmica do HIV

3.1 Modelo de Autômato Celular

3.1.1 Hipóteses do modelo.

Nesta tese propomos um modelo baseado em autômatos celulares para simular o efeito das terapias antiretrovirais na dinâmica da infecção pelo HIV. No intervalo de tempo anterior ao início do tratamento a dinâmica é descrita pelo modelo HIV-CA [37]. Após a introdução do tratamento, três novos estados para as células saudáveis e suas respectivas regras foram introduzidos representando as células saudáveis depois de entrarem em contato com os inibidores da Transcriptase Reversa e da Protease Viral. A concepção desses estados foi originalmente feita por Smith e Wahl [28] para descrever a dinâmica das células $CD4+T$ interagindo com os vírus e as drogas RTI e PI, num modelo baseado em equações diferenciais acopladas. Nesse modelo também se leva em conta o efeito da interação das células infectadas com a PI. A necessidade de levar em conta esses estados e suas transições resulta do fato de que o tempo de vida médio intracelular das drogas (RTI e PI) é da ordem de horas enquanto que o

das células saudáveis $CD4^+T$ é da ordem de dias. A figura 3.1 mostra o esquema das interações usado na referência [28], o qual é parcialmente usado no presente modelo.

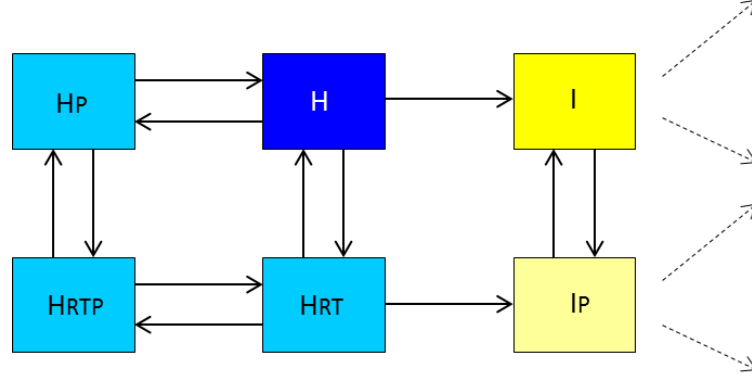


Figura 3.1: Esquema característico das interações entre as células saudáveis e infectadas $CD4^+T$ no modelo proposto na referência [28]. H (azul) representa as células saudáveis. H_{RT} e H_P (ciano) denota as células saudáveis que absorveram as drogas inibidoras RTI e PI, respectivamente, e H_{RTP} (ciano) denota as células que absorveram os dois tipos de drogas. I (amarelo) indica as células infectadas enquanto I_P (amarelo) representam as células infectadas que absorveram o inibidor da protease viral, as quais produzem só espécies não infecciosas de vírus. Setas simples indicam a interação entre as espécies de células, setas duplas representam as transições internas entre espécies de um mesmo tipo e setas pontilhadas, a liberação de partículas de vírus.

Com a incorporação dos três estados mencionados acima, o novo autômato tem agora sete estados, os mesmos quatro estados do modelo HIV-CA e os seguintes estados:

H_{RT} a célula saudável que absorveu o inibidor da reverse transcriptase.

H_P a célula saudável que absorveu o inibidor da protease viral.

H_{RTP} a célula saudável que absorveu ambos os inibidores.

O presente estudo da dinâmica da infecção se faz através da análise do comportamento das células $CD4^+T$. O comportamento da população de vírus não é estudado diretamente neste modelo e será feito posteriormente. Em terapias antiretrovirais, os protocolos de aplicação e ajuste das dosagens das drogas é um ponto importante e de grande discussão na literatura [28]. Neste modelo o tratamento é iniciado em certo

instante de tempo t_0 , e mantido permanentemente sendo investigado o comportamento da dinâmica ao longo do tempo e em função de t_0 . Porém, poderá ser ativado ou desativado para estudar algum protocolo específico.

3.1.2 Regras dinâmicas do CA

As regras que governam a dinâmica dos estados do autômato para $t < t_0$ permanecem as mesmas do modelo HIV-CA e apresentadas na seção 2.2.3; mas para $t \geq t_0$, novas regras que descrevem o comportamento dos novos estados acima mencionados foram adicionadas. Células saudáveis sob terapia podem interagir com as drogas inibidoras da Transcriptase Reversa e da protease viral assim como com partículas virais na vizinhança de células infectadas. Qualquer combinação dessas três interações pode ocorrer em cada passo da simulação. Se uma célula infectada absorve uma ou outra droga inibidora, ou não produzirá vírus ou produzirá apenas vírus não infeccioso. A regra 1 do modelo HIV-CA será substituída, neste modelo, pelo jogo de regras abaixo:

1a. Atualização das células saudáveis H:

uma célula saudável H torna-se H_{RTP} com probabilidade $p_{RTI} \times p_{PI}$; ou H_P com probabilidade $(1 - p_{RTI}) \times p_{PI}$; ou H_{RTI} com probabilidade $p_{RTI} \times (1 - p_{PI})$; ou torna-se infectada- A_1 com probabilidade $(1 - p_{RTI}) \times (1 - p_{PI})$ se existe pelo menos uma célula infectada- A_1 na sua vizinhança ou $R = 4$ vizinhas infectadas- A_2 , caso contrário, permanece saudável H.

1b. Atualização das células saudáveis H_{RT} :

uma célula saudável H_{RT} torna-se H_{RTP} com probabilidade p_{PI} ; ou permanece H_{RT} com probabilidade $(1 - p_{PI}) \times p_{RTI}$; ou torna-se infectada- A_1 com probabilidade $(1 - p_{PI}) \times (1 - p_{RTI})$, se na sua vizinhança existe pelo menos uma célula infectada- A_1 ou $R = 4$ vizinhas infectadas- A_2 , caso contrário, torna-se saudável H.

1c. Atualização das células saudáveis H_P :

uma célula saudável H_P torna-se H_{RTP} com probabilidade p_{RTI} , ou permanece H_P

com probabilidade $(1 - p_{RTI}) \times p_{PI}$ ou torna-se infectada- A_1 com probabilidade $(1 - p_{PI}) \times (1 - p_{RTI})$, se na sua vizinhança existe pelo menos uma célula infectada- A_1 ou $R = 4$ vizinhas infectadas- A_2 , caso contrário, torna-se saudável H .

1d. Atualização das células saudáveis H_{RTP} :

uma célula saudável H_{RTP} torna-se saudável H no próximo passo de tempo.

A figura 3.2 mostra o diagrama das transições das células saudáveis H de acordo com a regra 1a. É muito importante notar que se uma célula saudável H absorve uma das drogas inibidoras e depois entra em contato com uma célula infectada ou uma partícula viral, já não agirá como uma espécie produtora de vírus infecciosos, mas de espécies não infecciosas de vírus. Só no caso em que não absorva nenhuma das drogas inibidoras, a célula saudável H poderá tornar-se infectada- A_1 por contato.

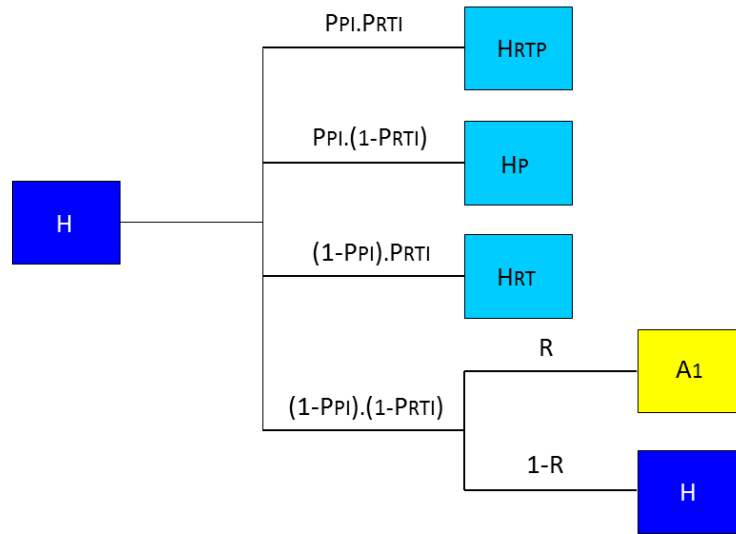


Figura 3.2: Diagrama das transições das células $CD4 T^+$ sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células que formam os estados do CA: a cor azul representa as células saudáveis H , ciano para as saudáveis inibidas (H_{RT} , H_P e H_{RTP}) e a cor amarela, as células infectadas- A_1 . R representa o cumprimento das condições para a infecção por contágio e $(1-R)$ o caso contrário.

Os diagramas que descrevem as transições das células saudáveis H_{RT} e H_P estão representados nas figuras 3.3 e 3.4, respectivamente. Fica claro em ambos os casos, que a célula só torna-se infectada- A_1 se possui uma vizinhança com células

infectadas, caso contrário, volta ao seu estado original saudável H devido ao fim do efeito da droga.

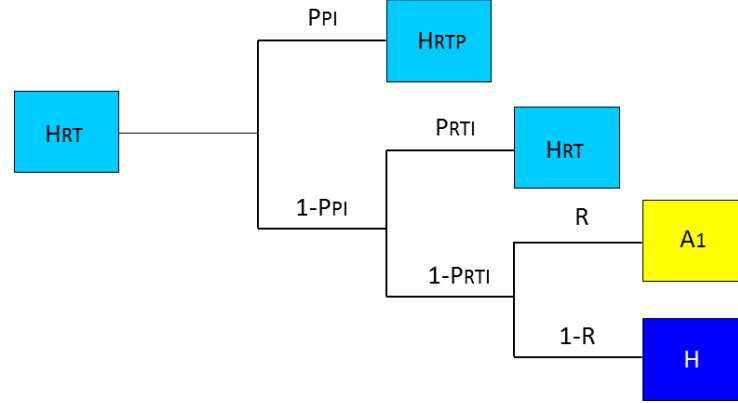


Figura 3.3: Diagrama das transições das células $CD4 T^+$ sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células que formam os estados do CA: a cor azul representa as células saudáveis H , ciano para as saudáveis inibidas (H_{RT} , H_P e H_{RTP}) e a cor amarela, as células infectadas- A_1 . R representa o cumprimento das condições para a infecção por contágio e $(1-R)$ o caso contrário.

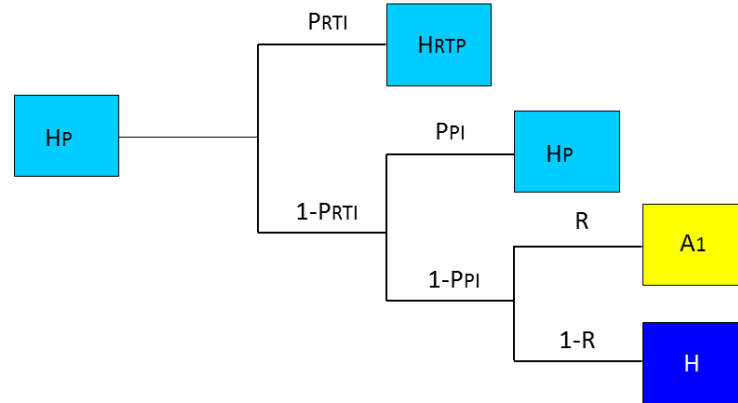


Figura 3.4: Diagrama das transições das células $CD4 T^+$ sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células que formam os estados do CA: a cor azul representa as células saudáveis H , ciano para as saudáveis inibidas (H_{RT} , H_P e H_{RTP}) e a cor amarela, as células infectadas- A_1 . R representa o cumprimento o das condições para a infecção por contágio e $(1-R)$ o caso contrário.

A regra 1d. descreve a progressão das células saudáveis H_{RTP} que retornam ao estado saudável após do fim do efeito das drogas.

Uma célula infectada também pode entrar em contato com as drogas inibidoras. Neste caso, se uma célula infectada absorve o inibidor da RT, seu poder de infecção não muda, devido à presença de partículas virais já existentes no seu interior, as quais podem emergir e continuar a propagar a infecção. Se no entanto absorve um inibidor da protease viral, poderá produzir apenas partículas não infecciosas, as quais poderão ainda contribuir para a infecção por contato pois o RNA viral poderá passar de uma célula a outra vizinha através da membrana. Uma célula infectada- A_1 , depois de τ passos de tempo passa ao estado infectada- A_2 e morre no próximo passo, de acordo com as regras 3 e 4 do modelo HIV-CA. Assumindo isto, as regras para a atualização das células infectadas- A_1 e infectadas- A_2 sob cART permanecem as mesmas do que no modelo HIV-CA. Em relação às transições das células mortas, neste modelo consideramos a mesma regra do modelo HIV-CA com o diagrama de transição mostrado na figura 3.5. Então, as regras 2, 3 e 4 do modelo HIV-CA permanecem válidas para este novo modelo.

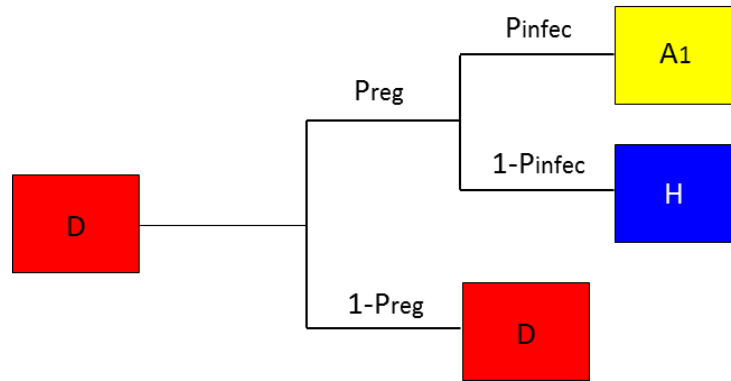


Figura 3.5: Diagrama das transições das células mortas-D sob cART. Os retângulos indicam os diferentes tipos de células: a cor azul para as células saudáveis H, vermelho para as células mortas e amarelo para as infectadas- A_1 .

Como um resumo de todas as interações presentes no modelo, a figura 3.6 mostra um diagrama fechado das transições descritas nas regras anteriores.

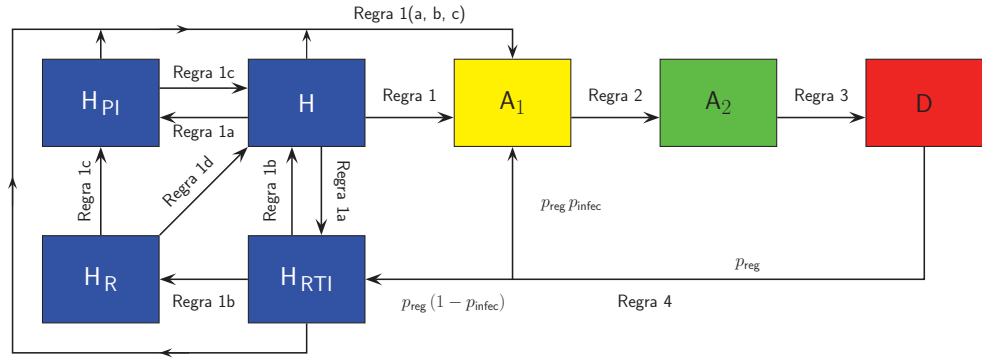


Figura 3.6: Diagrama global das interações incluindo o HAART

3.1.3 Efetividade do tratamento

Muitos fatores influem na efetividade do tratamento antiretroviral (ARV), os quais podem variar muito também de paciente a paciente. A elevada taxa de replicação do HIV e as variações genéticas inerentes ao vírus constituem as hipóteses principais da permanência da infecção. Mutações do genoma do HIV conferem resistência às drogas sugerindo que baixos níveis de replicação do vírus continuam persistindo, como observado em pacientes que receberam terapia de ARV durante longos períodos de tempo [61,62]. A farmacocinética e fatores externos como a baixa aderência ao tratamento prescrito são também responsáveis pelo insucesso das terapias antiretrovirais [63]. Por exemplo, elevados níveis de aderência ao tratamento em pacientes têm sido observados associados às taxas de supressão viral assim como taxas crescentes de novas mutações têm conferido resistência às drogas [64].

Neste modelo, são levados em conta apenas os fatores bioquímicos do interior da célula para considerar a susceptibilidade às drogas. Os fatores externos serão deixados para refinamentos futuros do modelo.

Quando o tratamento é aplicado, tem sido observada uma rápida queda na carga viral nas primeiras cinco semanas (~ 35 dias), correspondente com um incremento na concentração de células saudáveis CD4 [63,65]. Em nosso modelo consideramos populações relativas, portanto, o incremento das células saudáveis está relacionado diretamente com a diminuição na concentração das células infectadas. Como as drogas não conseguem eliminar totalmente a infecção, novas espécies de vírus re-

sistentes às drogas são produzidas continuamente. Assim surgem células infectadas cuja concentração alcança valores significativos em muitos casos, tornando as drogas menos efetivas para essa população de vírus mutantes. Portanto, a concentração de células infectadas logo após o início do tratamento deve refletir a perda de efetividade do tratamento o qual terá sua máxima efetividade no início do tratamento.

Para incorporar o efeito da efetividade dependente do nível da infecção em cada momento, escolhemos uma função que satisfaz às seguintes características biológicas: (a) ter o máximo valor correspondente com o valor da concentração de células infectadas no momento da aplicação do tratamento; (b) diminuir a partir do momento inicial da aplicação do tratamento acompanhando a taxa de diminuição da concentração das células infectadas até esta taxa se anular. Em caso contrário, a infecção seria eliminada completamente, o que não é observado no caso do HIV; (c) quando a concentração de células infectadas atingir um valor mínimo, indicando que a replicação viral produz na mesma taxa a quantidade de cepas susceptíveis às drogas, a eficiência efetiva do tratamento deve atingir a um valor de equilíbrio concomitantemente com a densidade de células infectadas; (d) a efetividade deve se anular quando não houverem mais células infectadas e/ou a concentração alcançar seu máximo valor 1.

Para a escolha da função efetividade levamos em conta que dita função deve ser aplicada de maneira específica e independente para cada paciente, respondendo à realidade biológica, pois cada paciente responde de maneira própria ao tratamento. Esta função deve representar em cada instante a probabilidade que o *encontro* de uma célula susceptível com uma determinada droga torne inibida a função da Transcriptase Reversa ou da Protease Viral, respectivamente. Evidentemente, caso a concentração de células infectadas aumente além do seu valor no início do tratamento, esta probabilidade deve diminuir significando que as novas cepas produzidas pela mutação são resistentes ao tratamento. Foram testadas várias funções que atendiam a essas características, produzindo resultados semelhantes. Porém, consideramos mais adequada aquela com características do mapa logístico para dinâmica de populações, como mostrado na equação 3.1, onde $p_j(t)$ é a efetividade no instante t depois do

início do tratamento, o índice $j = 1$ denota o inibidor da RT e $j = 2$ o da P, respectivamente. O máximo valor p_{0j} é característico de cada tipo de droga usada. D_{I0} indica a concentração das células infectadas no momento do início do tratamento. A figura 3.7 mostra quatro gráficos desta função para vários valores de concentração inicial de células infectadas com $p_{0j} = 0.9$, [46]. Note que o expoente 2 na equação garante uma diminuição suave tanto para baixas quanto para altas concentrações de células infectadas.

$$p_j(t) = p_{0j} \left(\frac{D_I(t)}{D_{I0}} \right)^{\frac{2D_{I0}}{1-D_{I0}}} \left(\frac{1 - D_I(t)}{1 - D_{I0}} \right)^2 \quad (3.1)$$

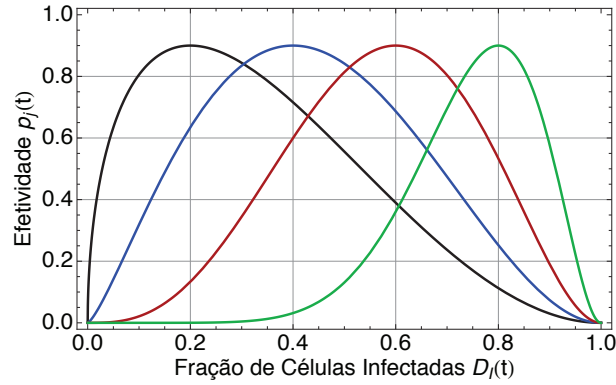


Figura 3.7: Efetividade $p_j(t)$ como função da concentração das células infectadas $D_I(t)$ no tempo t depois do início do tratamento. Usamos como valor máximo $p_{0j} = 0.9$ começando o tratamento em diferentes momentos correspondentes com as densidades seguintes: $D_{I0} = 0.2$ (preto), 0.4 (azul), 0.6 (vermelho) and 0.8 (verde), respectivamente

Um ponto importante na escolha do mecanismo que descreve a efetividade do tratamento é, como já mencionamos anteriormente, que a dinâmica da efetividade mostra padrões diferentes para cada paciente, ou seja, cada paciente tem sua própria curva de efetividade, representando assim características biológicas diferentes, como veremos mais adiante, nas simulações feitas.

parâmetro	valor
p_{HIV}	0.05
p_{infec}	0.00001
p_{repl}	0.99
τ	4

Tabela 3.1: Valores dos parâmetros básicos do modelo HIV-CA [37], também adotados nas presentes simulações.

3.1.4 Resultados das Simulações

As simulações foram feitas usando uma rede de tamanho $L = 700$, com condições de fronteira periódicas e considerando *vizinhança de Moore* como foi adotado no modelo HIV-CA [37]. Os parâmetros básicos usados também foram os mesmos do modelo HIV-CA, mostrados na tabela 3.1.

As simulações foram feitas considerando três possibilidades para o tratamento: monoterapia com inibidores RT ou P aplicados separadamente e finalmente, com os dois tipos de inibidores, simulando o cART. Em cada caso, o tratamento foi aplicado de maneira contínua começando no instante t_0 .

Com relação à efetividade das drogas, foram escolhidos três valores representativos, para *baixa*, *média* e *alta* efetividade ($p_{0j} = 0.5, 0.7$ e 0.9) respectivamente, como veremos mais adiante.

Padrões da dinâmica de infecção pelo HIV em larga escala temporal

Para testar o modelo, inicialmente as simulações foram feitas considerando o tratamento com efetividade nula, $p_{0j} = 0$ reproduzindo os resultados encontrados no modelo HIV-CA [37], para o caso sem tratamento, ilustrados na figura 3.8, a qual pode ser comparada com a figura 3.9.

Em seguida, realizamos um estudo onde consideramos as monoterapias RTI e PI separadamente, usando uma efetividade baixa ($p_{0j} = 0.5$) e começando o tratamento em $t_0 = 300$ semanas. A figura 3.10 mostra o curso da concentração das células T CD4+ para ambos os casos. Os gráficos obtidos são praticamente similares, mas diferem notavelmente do obtido sem a aplicação do tratamento, mostrado anteriormente na figura 3.8. A diferença fundamental, entre os gráficos com e sem

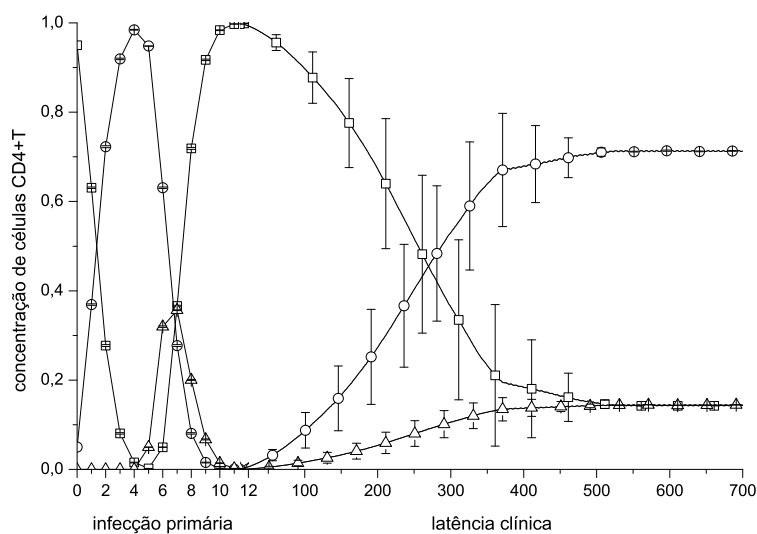


Figura 3.8: Dinâmica da infecção pelo HIV, obtida na simulação sem tratamento. Células saudáveis (quadrados), infectadas A_1 mais A_2 (círculos) e mortas (triângulos).

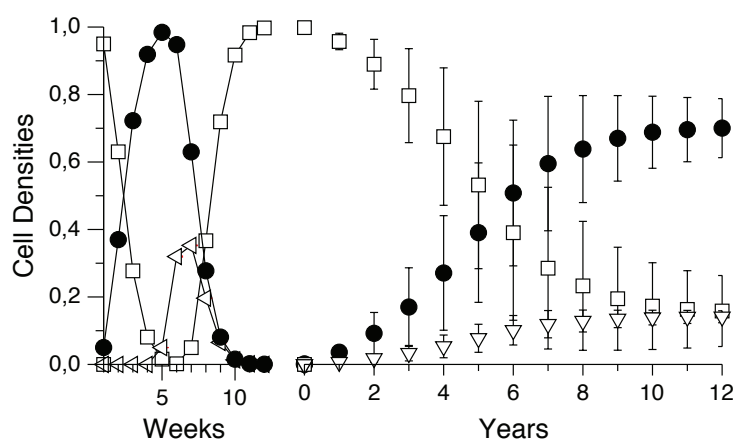


Figura 3.9: Evolução temporal das células saudáveis (quadrados abertos), infectadas (círculos sólidos) e mortas (triângulos abertos) [37].

tratamento, além da mudança apreciável na dinâmica observada no curto intervalo de tempo após o começo do tratamento está nos valores finais (equilíbrio estacionário) das concentrações das células. Uma diminuição na concentração de células mortas e infectadas e um aumento na concentração de células saudáveis, mas sem ficar abaixo do limiar (0.2) que deslancha o desenvolvimento da AIDS. Também realizamos um estudo onde combinamos as terapias antiretrovirais simulando o cART, os resultados

estão mostrados na figura 3.11. Neste caso, observa-se uma apreciável diminuição na concentração das células infectadas logo após o começo do tratamento, correspondendo a um aumento equivalente na concentração das células saudáveis, porem alcançando uma maior concentração no equilíbrio bem acima do limiar para o desenvolvimento da AIDS. Este resultado mostra claramente que o tratamento combinado é mais efetivo que as monoterapias isoladas [46].

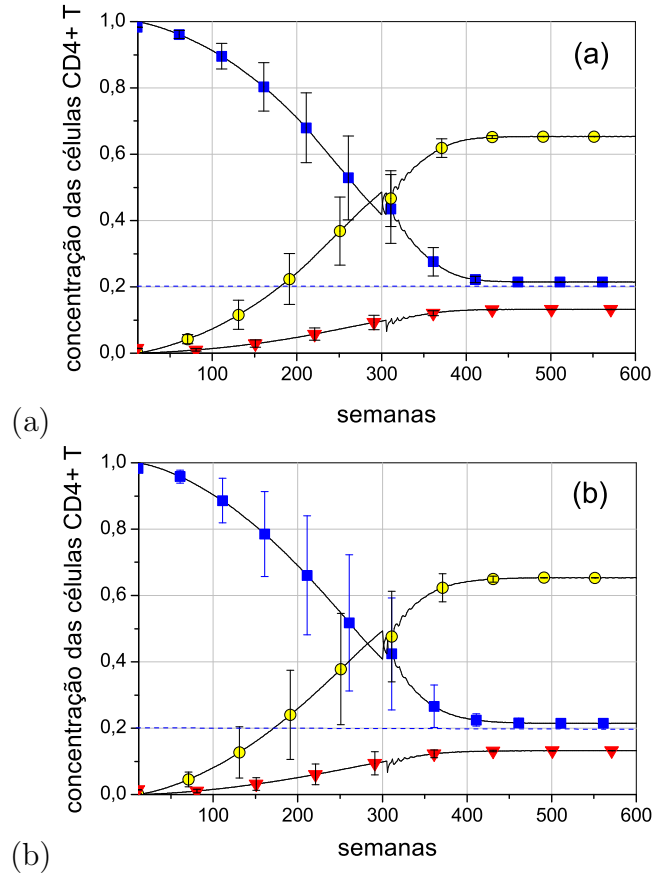


Figura 3.10: (a) Gráficos da concentração de células saudáveis (quadrados azuis), infectadas A_1 mais A_2 (círculos amarelos) e mortas (triângulos vermelhos) para tratamento com RTI simulando baixa efetividade inicial ($p_{01} = 0.5$), começando em $t = 300$ semanas. (b) Os mesmos gráficos, para o tratamento com PI de baixa efetividade inicial começando também em $t_0 = 300$ semanas. Em ambos os casos, as linhas tracejadas definem o limiar de concentração de células saudáveis que deslancha o desenvolvimento da AIDS.

Em prosseguimento, estudamos os efeitos causados pela variação na efetividade inicial do tratamento. Para isso consideramos três casos, *baixa*, *média* e *elevada*

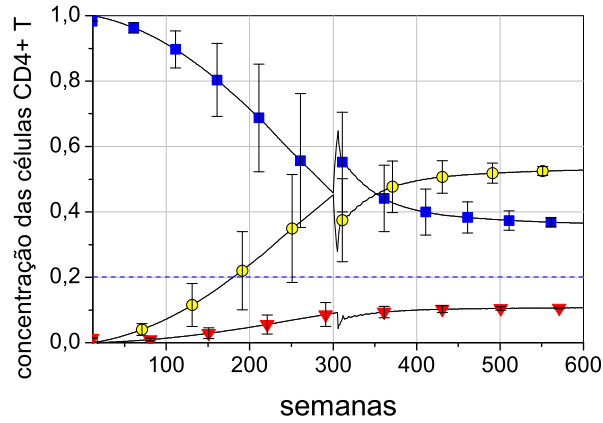


Figura 3.11: Gráficos das concentrações das células saudáveis (quadrados azuis), infectadas A_1 mais A_2 (círculos amarelos) e mortas (triângulos vermelhos) para as terapias combinadas RTI mais PI simulando baixa efetividade inicial ($p_{01} = p_{02} = 0.5$) começando o tratamento em $t_0 = 300$ semanas.

efetividade, mantendo as mesmas condições nos três casos. A figura 3.12 ilustra essa comparação. Além da diminuição observada na concentração das células infectadas no estado estacionário à medida que aumentamos o valor da efetividade inicial, é importante também notar que os efeitos do tratamento acontecem na mesma escala de tempo após o começo do tratamento, independentemente da efetividade inicial, o qual será explorado mais adiante.

Outro aspecto analisado foi o papel do momento inicial de aplicação da terapia. Na figura 3.13 exibimos os gráficos das densidades das células infectadas em função do tempo para uma mesma efetividade inicial começando o tratamento em quatro momentos diferentes, 50, 150, 250 e 350 semanas, respectivamente. Podemos notar, dos resultados das simulações, que quando o tratamento se inicia mais próximo do pico de infecção primária, menor é a densidade de células infectadas no estado estacionário, o que pressupõe que o tratamento tem maior eficácia [46].

É importante observar que os gráficos de figura 3.13 representam as médias de 50 simulações, as quais mostram, individualmente, grande variabilidade até atingirem o estado estacionário. Portanto, é relevante estudar cada simulação separadamente para ver os seus comportamentos particulares. Para isso, coletamos o valor do estado estacionário de varias simulações variando a efetividade inicial e a intensidade

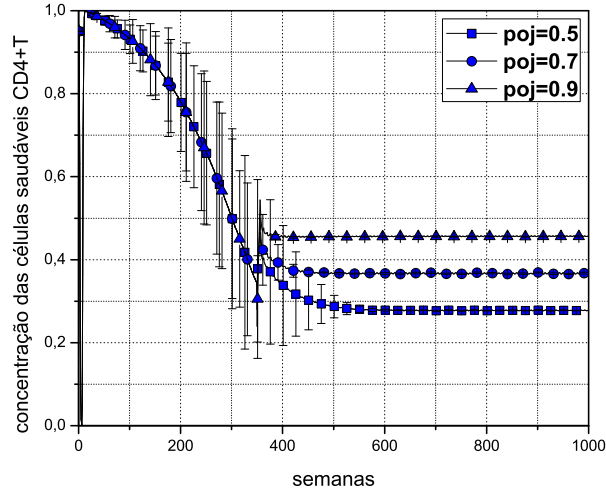


Figura 3.12: Gráficos das concentrações das células infectadas A_1 mais A_2 para terapias combinadas RTI mais PI para *baixa* ($p_{01} = p_{02} = 0.5$, quadrados), *média* ($p_{01} = p_{02} = 0.7$, círculos) e *elevada* efetividade inicial ($p_{01} = p_{02} = 0.9$, triângulos) começando o tratamento em $t_0 = 350$ semanas.

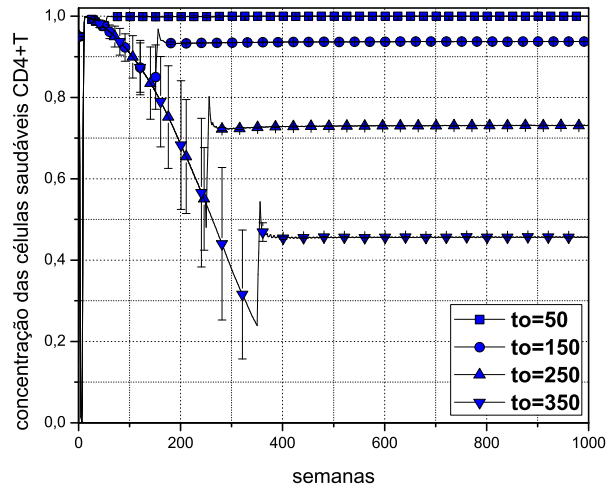


Figura 3.13: Gráficos das concentrações das células infectadas A_1 mais A_2 para terapias combinadas RTI mais PI, simulando *elevada* efetividade inicial ($p_{01} = p_{02} = 0.9$) começando a terapia em $t_0 = 50$ (quadrados), 150 (círculos), 250 (triângulos para cima) e 350 (triângulos para baixo) semanas.

de células infectadas em t_0 . Em seguida, construímos um diagrama, mostrado na figura 3.14, onde estão delimitadas três regiões características de acordo com as concentrações de células infectadas no estado estacionário:

- (a) Desenvolvimento da AIDS: baixa efetividade com $p_{0j} \lesssim 0.45$, independente da

concentração inicial de células infectadas, conduzindo a uma elevada concentração de células infectadas e conseqüentemente, a uma concentração de células saudáveis abaixo do limiar para o desenvolvimento da AIDS.

- (b) Remissão (ou eliminação da infecção): tratamento de elevada efetividade (acima de 0.7) e baixa concentração de células infectadas no início da terapia (abaixo de 0.1) conduzindo a valores da concentração de células infectadas no equilíbrio praticamente indetectáveis.
- (c) Soropositivos: efetividade inicial média conduzindo a concentrações não tão baixas de células infectadas no estado estacionário, mas com concentrações de células saudáveis acima do limiar para o desenvolvimento da AIDS.

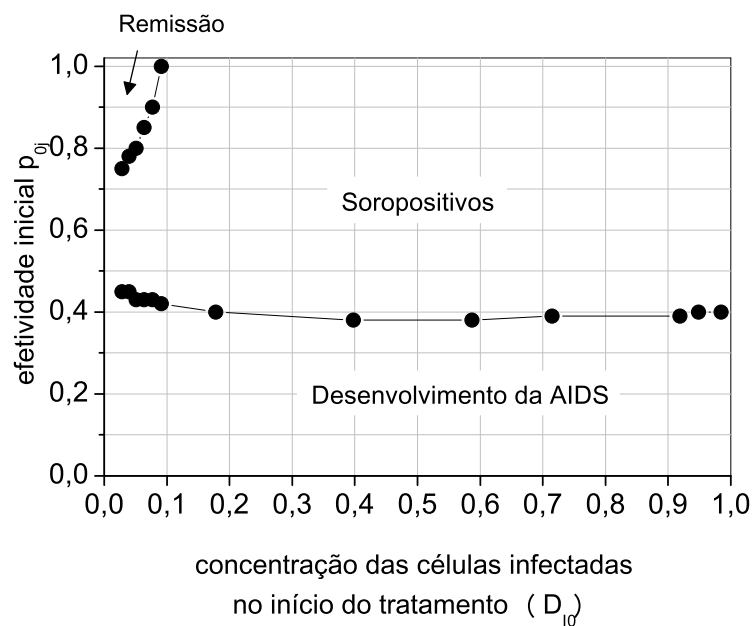


Figura 3.14: Densidade de células saudáveis no estado estacionário no diagrama da efetividade versus a concentração inicial de células infectadas. São delimitadas três diferentes regiões de acordo com a concentração de equilíbrio de células saudáveis $CD4^+ T$: remissão da infecção, soropositivos e desenvolvimento da AIDS, [46].

3.1.5 Comparação com dados clínicos em longa escala de tempo

Na década dos anos 90 foram feitos vários estudos da dinâmica do tratamento no primeiro e no segundo ano após a aplicação das terapias [66–70]. Em todos eles observa-se um aumento significativo da concentração das células saudáveis a partir da linha-base, definida pelo valor no início do tratamento, para as primeiras semanas. Um ou dois anos depois do começo do tratamento, observou-se que a concentração das células saudáveis permaneceu acima da linha-base, mostrando a eficiência do tratamento. Nas simulações feitas para diferentes momentos de início do tratamento e para diferentes efetividades iniciais, observamos uma correspondência bastante aceitável em todos os casos, como mostrado a seguir.

No trabalho de Ruffault et al. [67], foram estudados 28 pacientes (19 homens e 9 mulheres), 13 assintomáticos e 15 levemente sintomáticos, foi usada monoterapia com AZT (Zidovudine). Este tratamento, que inibe a replicação do vírus bloqueando a Transcriptase Reversa, é recomendado fundamentalmente para pacientes assintomáticos com um número de células $CD4+T$ menor do que 500 por mm^3 . Nos resultados desse estudo observou-se uma diminuição significativa na população de HIV em todos os pacientes, junto com um aumento no número de células $CD4+T$ saudáveis, fundamentalmente nas primeiras semanas, atingindo-se depois a estabilidade. Se compararmos os valores das concentrações das células saudáveis um ano depois do início do tratamento e o correspondente valor sem o tratamento, podemos ver um aumento significativo dessa concentração a partir do momento de aplicação da terapia. Este comportamento da dinâmica de infecção, obtido nos estudos clínicos é também observado nas simulações realizadas nesta Tese como mostrado na figura 3.15. O valor inicial da concentração das células $CD4+T$ depende do momento em que foi iniciado o tratamento. Neste gráfico podemos ver uma comparação dos resultados clínicos com os obtidos nas simulações, usando apenas a terapia dos inibidores da Transcriptase Reversa. Para fazer a comparação, em termos de concentração, dividimos o valor médio do número de células $CD4+T$ reportado no trabalho de Ruffault

et al. por 850, que é o valor médio aproximado de linfócitos do tipo $CD4+T$ no sangue de um paciente normal [6, 9]. Os resultados obtidos pelo modelo mostram que as escalas de tempo estão qualitativamente em acordo com os dados clínicos, tanto com relação ao crescimento acentuado nas primeiras 12 semanas quanto ao decaimento posterior ao estado estacionário.

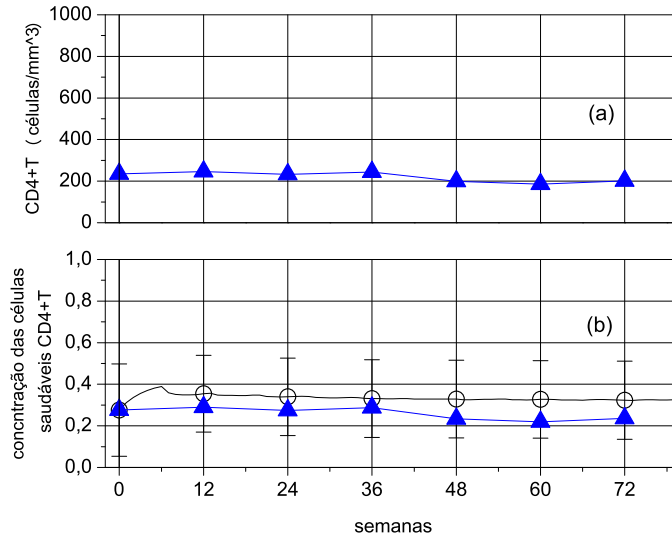


Figura 3.15: Evolução temporal da contagem de células $CD4+T$ reportadas em [67] em comparação com resultados do modelo, (a) dinâmica segundo o estudo clínico, (b) comparação entre o estudo clínico e o resultado das simulações. Os círculos representam os valores da simulação correspondentes aos momentos em que foi medido o número de células $CD4+T$ no estudo clínico.

Em outro trabalho importante, realizado por Zhang et al. [68], foram estudados 9 pacientes submetidos a uma terapia com 3 drogas combinadas. Nesse trabalho, para estimar o número de células $CD4+T$ no organismo de um indivíduo hipotético de 70 kg se considerou que aproximadamente 1 entre 100 partes da massa total do organismo corresponde à massa do tecido linfático. O valor medido do número de células $CD4+T$ por mg no tecido linfático foi multiplicado por $700 \cdot 10^6$ microgramas. O número médio de células $CD4+T$ por mm^3 foi multiplicado por $5 \cdot 10^6 mm^3$, considerando que o volume total do sangue no organismo é de aproximadamente 5 litros, para estimar o número de células em circulação no sangue. Depois de iniciado o tratamento houve mudança na contagem das células $CD4+T$ nas três primeiras se-

manas, aproximadamente $8 \cdot 10^8$ células a mais por dia. Observa-se, como resultado do estudo, uma rápida proliferação das células $CD4+T$ no tecido linfático e no sangue. Depois de 6 meses de tratamento, o aumento no número total de células $CD4+T$ ao longo de todo o período continuou nesse ritmo por 12 a 14 meses. No transcurso de 6 meses, os níveis de células $CD4+T$ atingiram valores médios equivalentes a controles de HIV-1-soronegativos. No nosso modelo são consideradas tanto células $CD4+T$ no tecido linfático, quanto células vindas de outros compartimentos, que se reincorporam ao tecido linfático. Nos estudos realizados em [68], a partir da quarta semana, a população de células $CD4+T$ no sangue diminui enquanto o número destas células no tecido linfático continua a aumentar. O comportamento médio dos resultados das simulações deve ser comparado com os resultados obtidos nos estudos clínicos, como mostrados nas figuras 3.16, 3.17

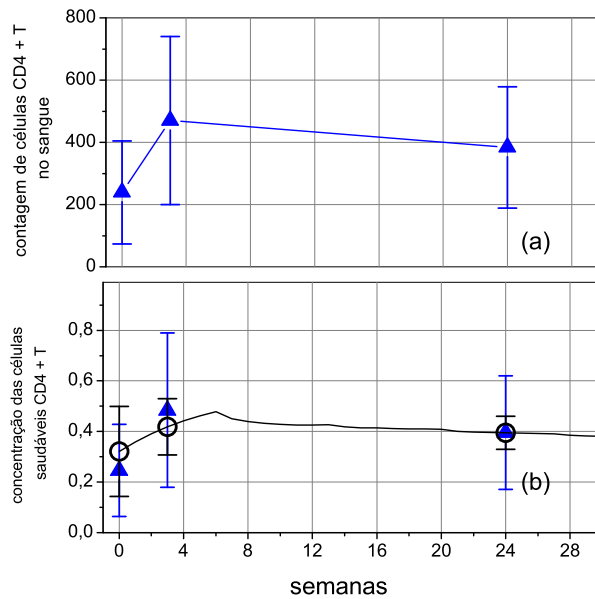


Figura 3.16: Evolução temporal da contagem de células $CD4+T$ no sangue obtida em [68] em comparação com os resultados do modelo, (a) dinâmica segundo o estudo clínico, (b) comparação entre o estudo clínico e o resultado das simulações. Os círculos representam os valores da simulação correspondentes aos momentos em que foi medido o número de células $CD4+T$ no sangue durante o estudo clínico.

Entre julho de 1996 e março de 1997, foi feito um estudo com 24 pacientes infectados pelo HIV-1 os quais foram submetidos a terapias antiretrovirais combina-

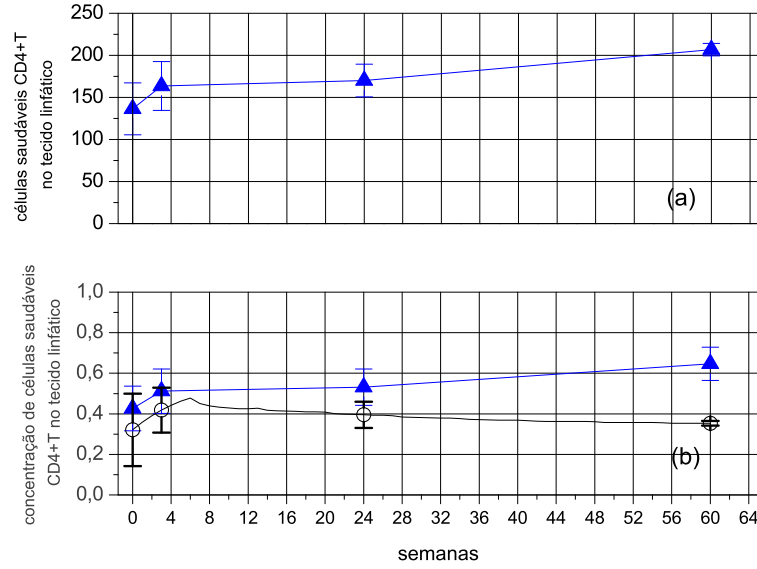


Figura 3.17: Evolução temporal da contagem de células $CD4+T$ no tecido linfático obtida em [68] em comparação com os resultados do modelo, (a) dinâmica segundo o estudo clínico, (b) comparação entre o estudo clínico e o resultado das simulações. Os círculos representam os valores da simulação correspondentes aos momentos em que foi medido o número de células $CD4+T$ no tecido linfático durante o estudo clínico.

das [70]. Todos os pacientes foram submetidos a um tratamento por pelo menos 48 semanas. As medianas do número de células $CD4+T$ aumentaram de 140 até 320 células por mm^3 em 48 semanas como mostra a figura 3.18. Nas nossas simulações, feitas para diferentes efetividades iniciais, o valor médio da concentração de células CD4 tem aproximadamente o mesmo comportamento; para $po_j = 0.9$ se observa um aumento de aproximadamente o dobro na concentração de células saudáveis, mostrando uma boa correspondência com os resultados dos estudos clínicos. A mais larga escala, dentro de todo o estudo, os resultados das simulações também representam bem a dinâmica das células CD4 no primeiro ano após o tratamento, se comparados com os dados clínicos.

Dinâmica da infecção pelo HIV em curta escala de tempo após o início do tratamento

Em geral, com a relação à carga viral, observa-se um declínio rápido da concentração de RNA do HIV nas primeiras semanas após o início do tratamento, como

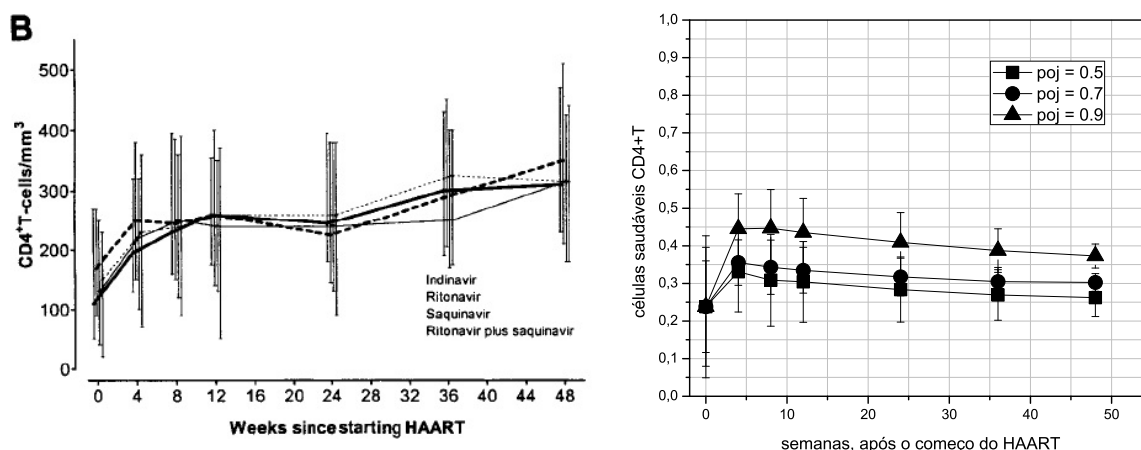


Figura 3.18: Medianas do número de células $CD4+T$. O gráfico da esquerda representa o estudo clínico realizado com três tipos de drogas diferentes e uma combinação [70] e o da direita, os resultados das simulações para 24 amostras considerando tratamentos com efetividade fraca, média e elevada, como indicado na legenda.

relatado em medidas no plasma [65, 71, 72] e em outros fluidos tais como o cerebrospinal [71, 73], bem como nos tecidos linfóides [17]. A dinâmica da carga viral também tem sido investigada com o auxílio de modelos matemáticos [23, 74–78]. Duas fases dinâmicas podem ser destacadas a partir dessas observações e estudos, além do atraso inicial farmacológico da ordem de horas após o início da terapia. Na primeira fase, há um decaimento exponencial em 2 a 4 décadas de magnitude (na escala $\log_{10}$) em uma escala de tempo de 4 a 12 semanas, que é seguido por uma segunda fase com queda mais lenta, em escala da ordem de meses. A redução da carga viral na primeira fase é atribuída à diminuição das partículas virais resultante da ação direta dos medicamentos antiretrovirais e ao conseqüente declínio das células infectadas produtivas. A atenuação deste decréscimo é atribuído ao efeito combinado do surgimento de vírus resistentes [66, 79], a eficácia imperfeita das drogas ($< 100\%$) e à existência de reservatórios de células infectadas em forma latente, como células $CD4+T$ ou células dendríticas e macrófagos presentes nos linfonodos, que podem produzir continuamente partículas de vírus [4, 59, 75, 77].

Com o objetivo de validar o modelo proposto nesta tese através da comparação com dados clínicos mostramos na figura 3.19 os gráficos com a contagem do RNA viral

nas fases iniciais da infecção (em $\log_{10}$ (RNA) cópias /ml) de 42 pacientes incluídos no estudo clínico A5055 [65]. O painel superior mostra os perfis da carga viral observados nos primeiros 35 dias após o início do tratamento, enquanto o painel (b) estende as observações até 200 dias. Os efeitos imediatos da terapia, sobre as concentrações de células infectadas em curta escala de tempo podem ser investigados no âmbito do modelo proposto observando a evolução da concentração das células infectadas logo após t_0 . Para efeito de comparação, a figura 3.20 ilustra o curso das células $CD4+T$ infectadas para 42 simulações independentes em dois painéis com intervalos: (a) 5 semanas e (b) 20 semanas, após o início do tratamento $t_0 = 300$ semanas. Por simulações independentes, queremos indicar simulações realizadas com os mesmos parâmetros, mas com uma configuração inicial de células infectadas diferente para cada caso. Os gráficos mostram claramente que as concentrações de células infectadas das principais simulações diminuem rapidamente até atingir um mínimo em cinco semanas após o início da terapia, correspondendo com a escala característica observada nos dados clínicos apresentados na figura 3.19. A comparação entre os gráficos das figuras 3.19 e 3.20 mostra que o comportamento resultante do modelo, após o início do cART, reproduz qualitativamente os dados observados com respeito às escalas de tempo. É importante ressaltar que a comparação em relação aos dados no eixo vertical é apenas indicativa tendo em conta a dificuldade de relacionar diretamente os dados de carga viral com a fração média de células infectadas obtida pelo modelo.

Os efeitos do cART sobre a população de células $CD4+T$ pode ser também visualizado através dos padrões da distribuição espacial dos estados das referidas células, que representam o espalhamento do vírus nos linfonodos, como ilustrado nas figuras 3.21 e 3.22. Na figura 3.21 mostramos os padrões espaciais em dois instantes, durante a infecção primária (semana 5) e durante o período de latência clínica (semana 250) para o caso sem tratamento e que reproduz o resultado obtido pelo modelo HIV-CA [37]. Por outro lado, na figura 3.22 podemos ver o padrão espacial correspondente à infecção viral sob tratamento. Nele vemos muito claramente como o efeito da terapia reduz as concentrações das espécies de células infectadas e causa uma desorganização nos padrões das células infectadas quando comparados com os

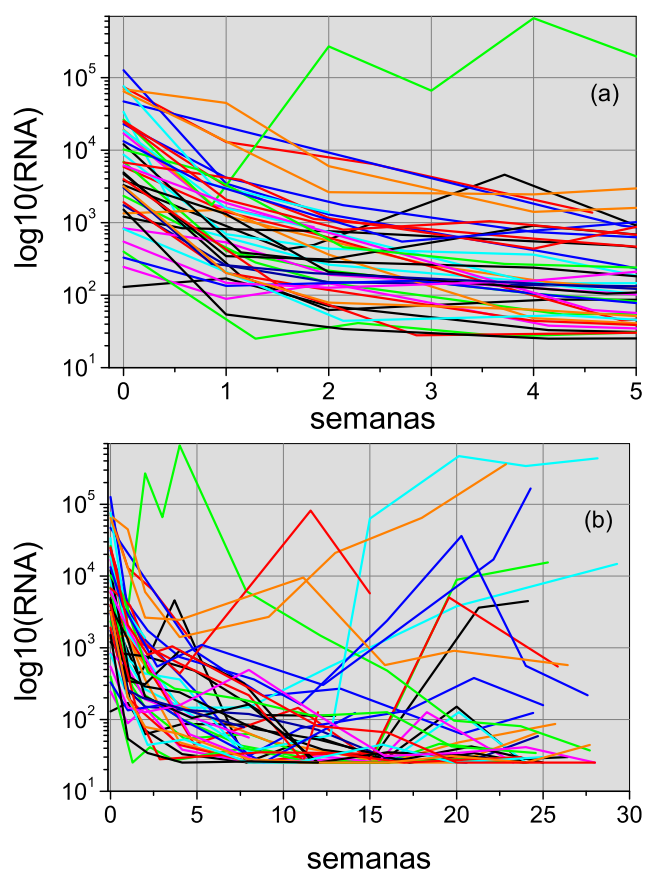


Figura 3.19: Curso da concentração de RNA do HIV-1 no plasma (carga viral) de um grupo de 42 indivíduos participantes no estudo de avaliação clínico A5055 [65]. Painel (a) durante as primeiras cinco semanas após o início do tratamento; painel (b) durante 28 semanas de estudo. Foram usadas cores para diferenciar cada indivíduo.

vistos no caso sem tratamento.

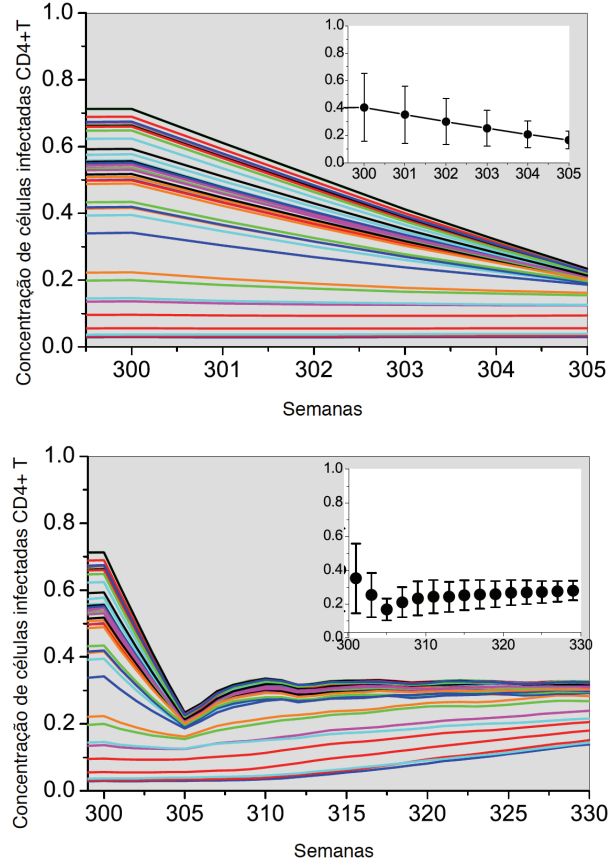


Figura 3.20: Curso da concentração de células infectadas $CD4^+$ T após o início da terapia para 42 simulações independentes, considerando um parâmetro de eficácia $p_{01} = p_{02} = 0,7$ e outros parâmetros apresentados na tabela 3.1. Painel (a) cinco primeiras semanas após o início do tratamento, painel (b) 30 primeiras semanas. A inserção em ambos os painéis exibe as concentrações médias com as respectivas barras de erro indicadas.

3.1.6 Modelo equivalente descrito por equações diferenciais

Com o objetivo de avaliar a metodologia empregada nesta tese, formulamos um modelo baseado em um sistema de equações diferenciais ordinárias equivalente ao modelo CA proposto para descrever o comportamento da dinâmica das diferentes espécies de células envolvidas, como mostrado a seguir.

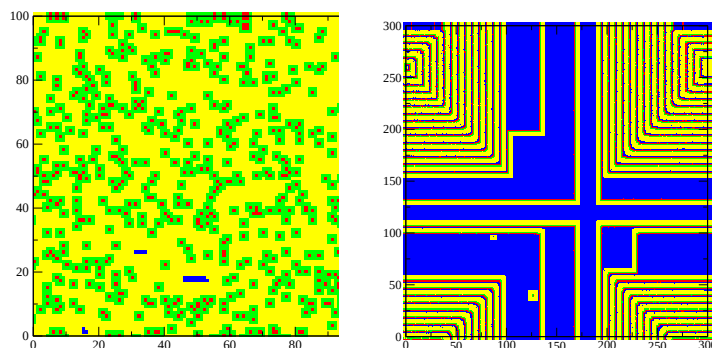


Figura 3.21: Padrões espaciais obtidos na simulação sem tratamento. O da esquerda corresponde à infecção primária, especificamente em $t = 5$, o padrão da direita, ao período de latência clínica, especificamente em $t = 250$. A cor amarela representa as células infectadas tipo A , a cor azul, as células saudáveis H , a cor verde, as células infectadas tipo A_2 e as células mortas são representadas pela cor vermelha.

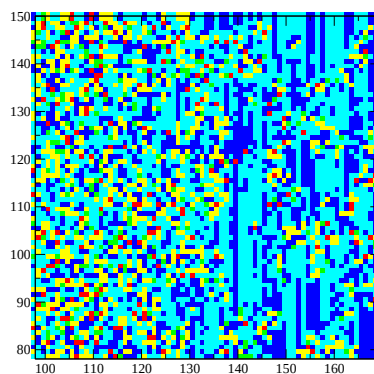


Figura 3.22: Padrão espacial de uma porção central da rede correspondente à infecção sob tratamento. A figura representa o estado da infecção em $t_0 = 350$, aproximadamente um ano depois de iniciado o tratamento. A cor amarela representa as células infectadas tipo A , a cor azul, as células saudáveis H , a cor verde, as células infectadas tipo A_2 e as células mortas são representadas pela cor vermelha. As células saudáveis sob a ação das drogas estão representadas pela cor ciano.

$$\begin{aligned}
\frac{dH(t)}{dt} &= \alpha H(t) - \beta H(t) - \gamma H(t) I_1(t) - p_i H(t) - p_j H(t) \\
\frac{dI_1(t)}{dt} &= \gamma H(t) I_1(t) - \delta I_1(t) + \eta M(t) \\
\frac{dH_{RTI}(t)}{dt} &= p_i H(t) - \beta H_{RTI}(t) \\
\frac{dH_{PI}(t)}{dt} &= p_j H(t) - \beta H_{PI}(t) \\
\frac{dH_{RTP}(t)}{dt} &= p_j H_{PI}(t) + p_i H_{RTI}(t) - \beta H_{RTP}(t) \\
\frac{dM(t)}{dt} &= -\alpha H(t) + \delta I_1(t) + \beta H(t) + \beta H_{RTI}(t) + \beta H_{PI}(t) + \beta H_{RTP}(t) - \eta M(t) \\
\frac{dp_{ij}(t)}{dt} &= 2.026 I_1(t)^{2.921629} \frac{dI_1(t)}{dt} (1 - I_1(t))^2 - 2(1 - I_1(t)) \frac{dI_1(t)}{dt} 0.5167 I_1(t)^{3.921629}
\end{aligned}$$

Estas equações são aplicadas a partir do início do tratamento. Os coeficientes α e η representam as taxas de incorporação de células saudáveis e infectadas $p_{\text{repl}}(1 - p_{\text{infec}})$ e $p_{\text{repl}}p_{\text{infec}}$ respectivamente, tomados do modelo HIV-CA [37], (ver tabela 3.1); β é a taxa de morte das células saudáveis suscetíveis. Neste modelo consideramos que esta taxa é a mesma também para as células inibidas, pois elas são provenientes de uma célula saudável suscetível considerando o valor usado para este coeficiente aquele reportado na literatura no trabalho de Nowak e May [10]. A taxa de infecção por contato, representada no sistema de equações por γ , assim como a de morte das células infectadas δ também são as reportadas no citado trabalho. No sistema de equações, o efeito do tratamento é representado pela variável p_i ou p_j , que simula a efetividade da droga (o índice i representa o inibidor da Transcriptase Reversa e j o da Protease Viral). Os coeficientes que aparecem nesta última equação do sistema estão relacionados com os valores dos parâmetros envolvidos na equação da efetividade, discutida no capítulo 3, ou seja o valor para a concentração inicial das células infectadas D_{i_0} e a efetividade inicial do tratamento $p_{0j} = 0.7$. O valor utilizado para a D_{i_0} corresponde ao valor obtido no modelo CA para uma simulação em $t_0 = 350$ semanas. Os resultados numéricos desse modelo de EDOs estão mostrados nos gráficos da figura 3.23 onde se observa a evolução temporal das concentrações dos tipos de

células $CD4+T$ após a aplicação do tratamento.

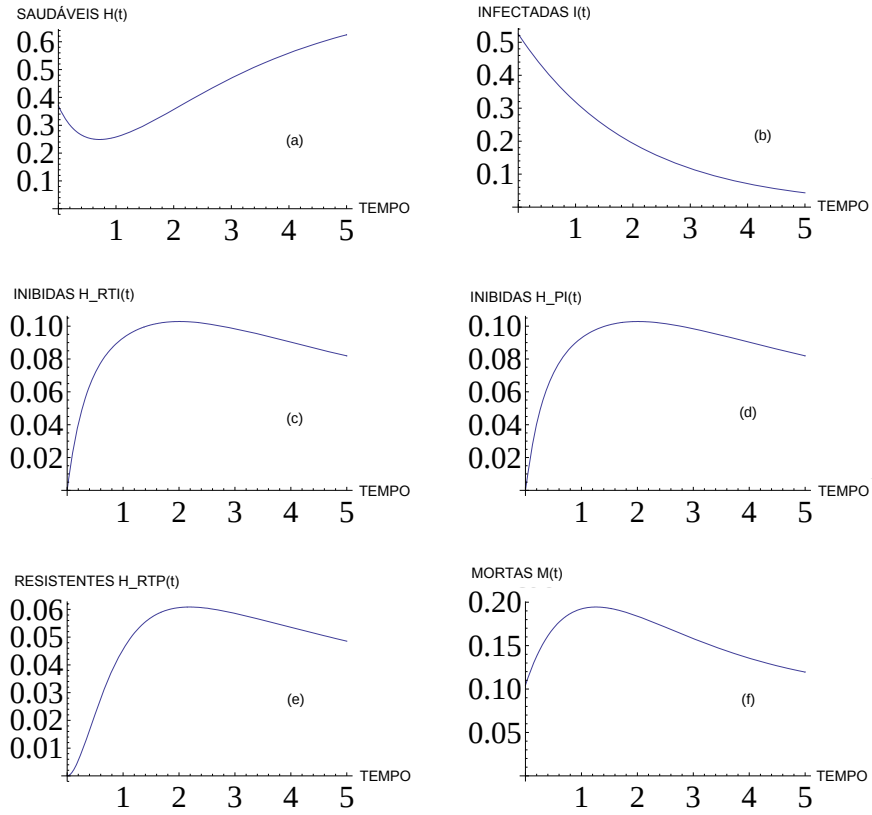


Figura 3.23: Comportamento da dinâmica dos diferentes tipos de células, simulação feita usando um modelo de EDOs. Painel (a), células saudáveis, painel (b), células infectadas, painel (c), células inibidas RTI, painel (d), células inibidas PI, painel (e), células resistentes RTP e painel (f), células mortas.

Os valores iniciais das concentrações dos diferentes tipos de células foram obtidos das simulações com o modelo de CA, para os valores específicos de p_{0j} e t_0 já mencionados anteriormente. Se observamos o comportamento obtido nestas simulações vemos que, especificamente no caso das células infectadas, temos uma diminuição notável da concentração desta espécie de células, reproduzindo o que já tínhamos obtido nas simulações anteriores com o modelo de autômato celular no estudo da dinâmica em curta escala, o qual foi comparado com o reportado no estudo clínico A5055 [65], mostrado nas figuras 3.19 e 3.20. É importante esclarecer que a comparação feita entre este modelo de EDOs equivalente e o modelo de CA está restrita apenas às primeiras cinco semanas (curta escala de tempo). Nesta escala

os modelos baseados em EDOs funcionam bem. Em escalas de tempo maiores, os modelos de EDOs não reproduzem os resultados dos estudos clínicos. Este modelo equivalente nos mostra duas coisas importantes: primeiro, o bom funcionamento da função efetividade escolhida para simular a eficácia da droga; e em segundo lugar, a correspondência, nas primeiras cinco semanas após a aplicação da terapia, do comportamento da dinâmica das células infectadas.

Capítulo 4

Modelo de autômatos celulares incluindo a mobilidade do vírus

Neste capítulo, faremos uma extensão do modelo CA discutido no capítulo 3 para incluir a dinâmica da população dos vírus levando em conta sua mobilidade ao longo da rede em comparação as células $CD4+T$ consideradas fixas.

Na maioria dos modelos que descrevem a dinâmica do HIV baseados em autômatos celulares o número de vizinhos suscetíveis à infecção determina a capacidade de propagação da infecção. No modelo HIV-CA e naqueles nele inspirados foram utilizadas vizinhanças suscetíveis fixas, o que significa que a taxa de infecção não muda nesses modelos durante o processo, com exceção do modelo proposto na referência [42], cuja vizinhança suscetível se auto-ajustava com a densidade de células infectadas durante o processo, como discutido na seção 2.2.3.

Recentemente foram publicados dois artigos [80,81], baseados no modelo HIV-CA [37] e em outros aqui mencionados [41,42], nos quais se considera um modelo de *autômato celular de múltiplas redes* e os efeitos da terapia antiretroviral no processo de infecção com HIV. Nesses trabalhos, de maneira geral, é desenvolvido um modelo com cinco espécies de células: células saudáveis ativas e não ativas, infectadas- A_1 , infectadas- A_2 e mortas. O número de células infectadas inicial depende da carga viral inicial V_0 . Nesses trabalhos se considera o vírus no plasma e nos linfonodos separadamente e a dinâmica do vírus influi e determina a evolução das diferentes

espécies de células no processo de infecção. Entre outras coisas, os autores investigam as possíveis consequências a longo prazo da resistência às drogas para diferentes eficiências do tratamento assim como as evoluções dos diferentes tipos de células para valores diferentes do parâmetro que define as eficiências das drogas [80,81].

Em um processo de infecção as células saudáveis tornam-se infectadas na presença do vírus, de maneira que uma maior concentração do vírus implica uma maior probabilidade de infecção. No modelo estudado em [80,81] a vizinhança pode ser expandida além dos oito vizinhos adjacentes em função da probabilidade de infecção.

Para investigar o papel da carga viral e da mobilidade dos vírus no processo de propagação da infecção pelo HIV sem a necessidade de auto-ajustar a vizinhança ativa de forma *ad hoc*, propomos uma extensão do modelo CA com terapia dito, modelo V-CA. Este modelo é constituído por duas redes acopladas se atualizando com diferentes escalas de tempo, uma correspondente às células $CD4+T$ e a outra, às partículas virais.

4.1 Modelo e simulação.

O modelo V-CA consiste em duas redes quadradas com condições de fronteira periódicas que interagem entre si e se atualizam, cada uma com uma escala de tempo própria, correspondentes às escalas de tempo das células $CD4+T$ e dos vírus no processo de infecção. Os estados do autômato do modelo correspondente às células $CD4+T$ são os mesmos que no modelo CA discutido no capítulo anterior. As regras dos autômatos que governam as mudanças de estado das sete diferentes espécies de células e as partículas virais podem ser descritas como segue:

Regra 1: Processo de infecção por interação entre as células e vírus.

Uma célula suscetível H ou inibida H_{PI} na posição i, j se torna infectada A_1 nesse mesmo passo de tempo, se na mesma posição na correspondente rede do vírus se encontra uma partícula viral produtiva V_i .

Regra 2: Interação das células com a droga.

- 2a. Uma célula suscetível H se torna inibida H_{RTI} no próximo passo de tempo com probabilidade $p_{RTI} \times (1 - p_{PI})$.
- 2b. Uma célula suscetível H se torna inibida H_{PI} no próximo passo de tempo com probabilidade $p_{PI} \times (1 - p_{RTI})$.
- 2c. Uma célula H_{RTI} ou H_{PI} se torna resistente H_{RTP} no próximo passo de tempo com probabilidade p_{PI} ou p_{RTI} , respectivamente.
- 2d. Uma célula suscetível H permanece no estado H com probabilidade $1 - (p_{RTI}) \times (1 - p_{PI}) - p_{PI} \times (1 - p_{RTI}) - p_{RTI} \times p_{PI}$
- 2e. Uma célula resistente H_{RTP} se torna saudável suscetível H no próximo passo de tempo.

Regra 3: Geração de novas partículas virais.

Uma célula infectada produtiva A_1 na posição (i, j) gera no próximo passo de tempo, nas posições correspondentes à vizinhança de Moore da posição (i, j) na rede do vírus, novas partículas virais produtivas com probabilidade $p_i \times (1 - p_{PI})$ e novas partículas virais não produtivas com probabilidade $p_i \times p_{PI}$

Regra 4: Atualização das células infectadas produtivas.

Uma célula infectada A_1 se torna infectada A_2 e reconhecida pelo sistema imune após τ passos de tempo.

Regra 5: Atualização das células infectadas A_2 .

Uma célula infectada A_2 torna-se uma célula morta D no próximo passo de tempo.

Regra 6: Atualização das células mortas.

Uma célula morta D é substituída por uma célula suscetível H no próximo passo de tempo, com probabilidade $p_{repl} \times (1 - p_{inf})$; por uma infectada produtiva A_1 com probabilidade $p_{repl} \times p_{inf}$ ou permanece morta com probabilidade $1 - p_{repl}$.

Regra 7: Mobilidade das partículas virais.

Uma partícula viral na posição (i, j) se desloca, no próximo passo de tempo, para

uma das posições correspondentes à vizinhança predefinida segundo as regras de um caminhante aleatório bidimensional.

Regra 8: Atualização das partículas virais.

8a. Um vírus infeccioso V_i morre após t_v passos de tempo.

8b. Um vírus não infeccioso V_{ni} morre depois de t_v passos de tempo.

8c. Um vírus morto é substituído por um sítio vazio no próximo passo de tempo.

É muito importante destacar que as probabilidades p_{PI} e p_{RTI} correspondem aos valores da efetividade da droga em cada passo de tempo. As variações dessa probabilidade em cada passo de tempo acontecem segundo a mesma expressão matemática apresentada na subseção 3.1.3 e usada no modelo CA descrito no capítulo anterior. As interações entre as diferentes espécies de células com o vírus e as drogas inibidoras estão representadas no esquema abaixo mostrado na figura 4.1.

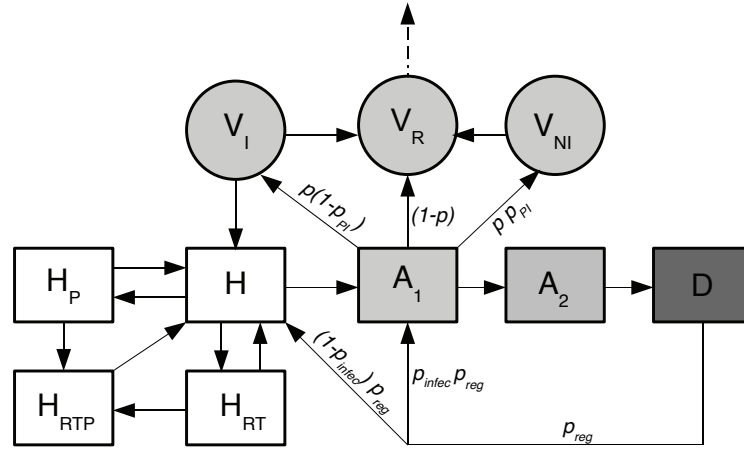


Figura 4.1: Diagrama das interações entre as espécies de células, os vírus e as drogas. Os retângulos brancos são as diferentes espécies de células saudáveis e inibidas. As células infectadas tipo A_1 ou A_2 , são representadas por um dos retângulos cinza claro, o retângulo escuro representa as células mortas. As partículas virais produtivas V_i , improdutivas V_{ni} e removidas pelo sistema imune, estão representadas pelos círculos cinzas [48].

As simulações foram feitas considerando os mesmos parâmetros iniciais utilizados no modelo HIV-CA [37].

A primeira regra simula o processo de infecção, que pode ocorrer por contato com uma célula infectada ou por infecção direta através da interação da célula com o vírus. A regra dois simula as possíveis interações das espécies de células $CD4+T$ com as drogas antiretrovirais durante o tratamento. Uma célula suscetível H pode interagir com o vírus, ou com drogas inibidoras. A interação com o vírus a torna infectada A_1 , enquanto a interação com as drogas a torna inibida ou resistente, segundo descrito nas regras. Por outra parte, as células já inibidas pela interação com algum tipo de droga, podem se tornar resistentes devido a sua interação com o outro tipo de droga. A terceira regra do autômato representa o fato de que a duração do efeito da droga no organismo é da ordem de horas enquanto as células têm vida média da ordem de dias, ou seja, cada célula fica inibida só por um curto intervalo de tempo, voltando a seu estado anterior. A regra quatro simula a geração de novas partículas virais produtivas a partir de uma célula infectada tipo A_1 , e de novas partículas virais não produtivas, caso a célula infectada A_1 tenha tido contato com as drogas inibidoras. Na regra 5, simulamos a ação do sistema imunológico, detetando e "marcando" as células infecciosas para serem eliminadas posteriormente, como se mostra na regra 6. A regra seguinte reproduz o processo de eliminação das células mortas pelo organismo assim como a incorporação de novas células $CD4+T$, provenientes de outros compartimentos do corpo ou do reservatório de células latentes no paracortex do nodo linfático. Estas células, no seu trajeto até o nodo podem também interagir com as drogas inibidoras. A mobilidade das partículas virais foi simulada na regra 8. Finalmente, a última regra, governa a dinâmica do vírus.

Inicialmente simulamos o processo de infecção na ausência de tratamento com o objetivo de comparar o modelo V-CA com o modelo HIV-CA, usando o mesmo conjunto de parâmetros da referência [37]. As simulações para monoterapias foram feitas separadamente com diferentes valores para a efetividade inicial, mantendo o instante de início do tratamento fixo e, posteriormente variando o instante de início do tratamento mantendo constante a efetividade inicial. Simulamos depois, o cART para diferentes valores de efetividades iniciais e instantes de início do tratamento. Em

<i>espécie</i>	<i>modelo V-CA</i>	<i>modelo HIV-CA</i>
saudáveis	0,0019	0,1425
infectadas	0,8302	0,7133
mortas	0,1679	0,1441
vírus	0,6658	-

Tabela 4.1: Comparação das concentrações no estado estacionário para células $CD4+T$ e vírus.

todos os casos, o tratamento foi aplicado continuamente a partir de t_0 (instante de início do tratamento).

No caso da simulação na ausência de tratamento, obtivemos que, na infecção primária, a dinâmica das células $CD4+T$ é similar à reportada pelos autores do modelo HIV-CA [37], como mostrado no painel (a), da figura 4.2.

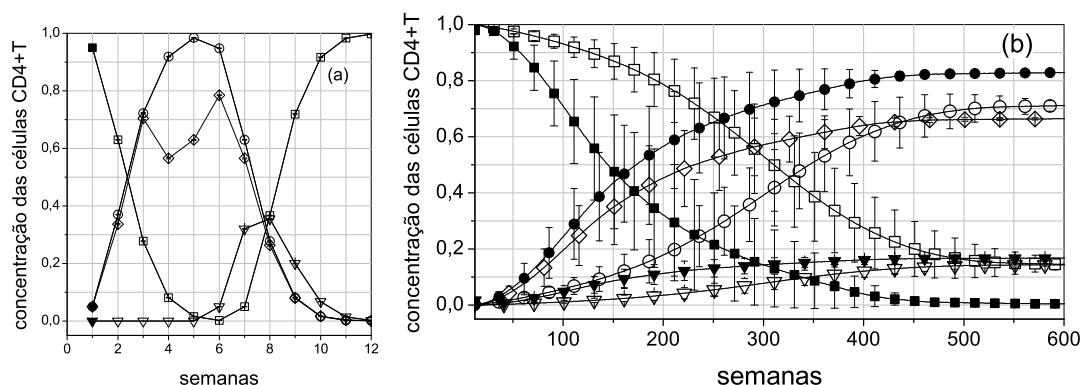


Figura 4.2: Gráfico do curso da infecção durante os períodos de infecção primária (a) e latência clínica (b). Em ambos gráficos se mostram comparações das concentrações das células $CD4^+ T$ entre resultados obtidos usando o modelo V-CA (símbolos sólidos) e resultados obtidos usando o modelo HIV-CA (símbolos abertos). Células saudáveis (quadrados), células infectadas (círculos), células mortas (triângulos) e vírus (diamantes).

Ainda na figura 4.2 mostramos o gráfico da dinâmica das células $CD4+T$ e dos vírus, tanto na fase inicial (*infecção primária*), quanto na fase de *latência clínica* obtidas em nossas simulações. Com estes resultados podemos ver como os valores de equilíbrio das concentrações das células saudáveis e infectadas diferem um pouco dos valores obtidos no modelo HIV-CA [37], como mostrado também na tabela 4.1.

Esta diferença pode ser compreendida devido à inclusão no modelo da mobilidade do vírus, o qual produz novas fontes de infecção e por isso, as concentrações no equilíbrio das células saudáveis e infectadas sejam menores e maiores, respectivamente, que os obtidos com o modelo HIV-CA [37].

No painel (a) da figura 4.2, observamos que a mobilidade do vírus não tem um papel relevante durante a infecção primária, não interferindo nos valores das concentrações nem na escala de tempo desta fase. Durante o período de latência clínica, no entanto, a concentração das células saudáveis (infectadas) decresce (cresce) mais rapidamente nos primeiros anos, reduzindo significativamente o período de latência (por um fator de aproximadamente $1/2$), quando comparado ao modelo HIV-CA. Este comportamento pode ser explicado a partir da inclusão do novo mecanismo de infecção, a infecção direta vírus-célula, além da infecção por contato considerada o único mecanismo no modelo CA anterior.

4.1.1 Dinâmica da infecção no modelo V-CA com tratamento

Os resultados das simulações do modelo V-CA quando o tratamento é iniciado, em t_0 , mostram uma rápida diminuição na concentração do vírus em curta escala de tempo da ordem de poucas semanas, este efeito também se manifesta na densidade de células infectadas e saudáveis concomitantemente. Este efeito é ainda mais pronunciado para altas efetividades das drogas, como esperado. Na figura 4.3, mostramos o comportamento da concentração do vírus para diferentes valores das efetividades iniciais do tratamento, para $t_0 = 200$, quando a concentração de células saudáveis se encontrava entre 0.2 e 0.5. Primeiramente, separamos os casos de monoterapia (PI e RTI) e depois consideramos o processo mais usado atualmente, qual seja a terapia combinada usando os dois tipos de inibidores. Atualmente, a monoterapia não é praticamente mais aplicada para pacientes com infecção pelo HIV, mais seu estudo é importante para identificar a contribuição individual de cada droga. Encontramos, nestes resultados que o tratamento com inibidores da protease viral (PI) é mais eficiente que o tratamento com inibidores da reverse transcriptase (RT), para uma efetividade inicial da droga de 0.7, com a qual a população do vírus é reduzida

a zero.

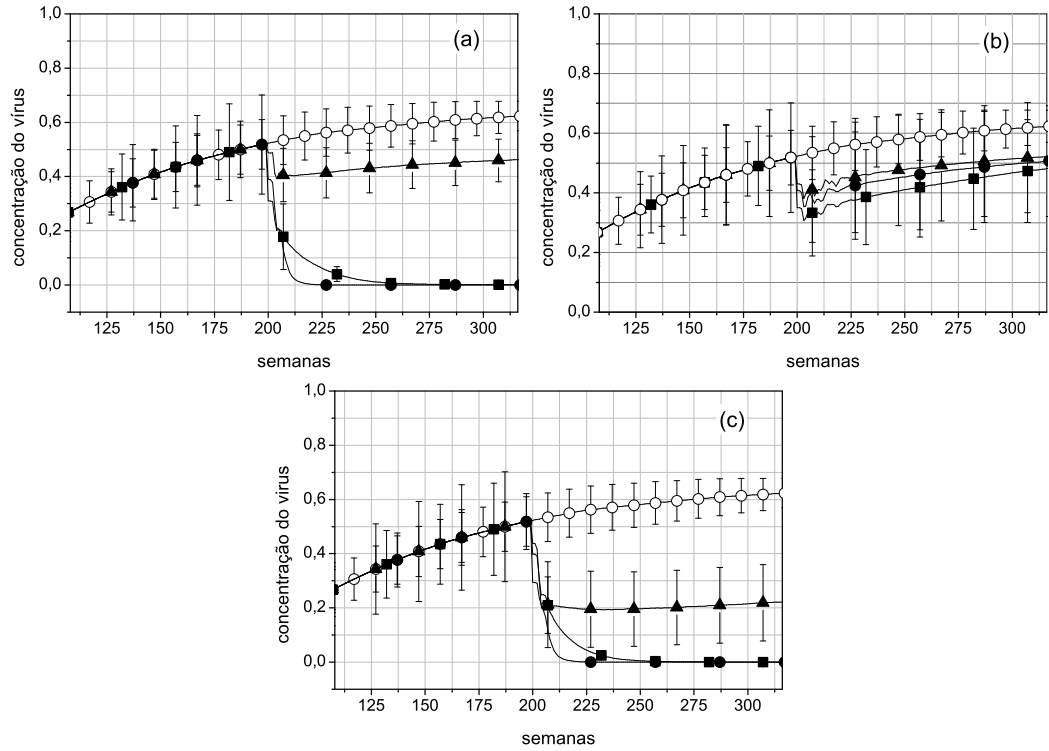


Figura 4.3: Gráfico da concentração do vírus para terapias iniciadas em $t_0 = 200$ semanas. Em cada painel foram plotados tratamentos com efetividade inicial $p_{0j} = 0.5$ (triângulos sólidos), 0.7 (quadrados sólidos), 0.9 (círculos sólidos) e zero ou sem tratamento (círculos abertos); (a) monoterapia (PI); (b) monoterapia (RTI); (c) terapia combinada (cART)

Na figura 4.4, é mostrado o curso da infecção observado através da evolução das concentrações das células $CD4+T$ para um longo intervalo de tempo até a estabilização das concentrações. O painel (a) ilustra o tratamento com terapia combinada (cART) com baixa efetividade e iniciando o tratamento para valores baixos de concentração das células saudáveis, a concentração final dessas células atinge valores altos, muito acima do limiar abaixo do qual se desenvolve a AIDS. Quando são comparados os diferentes tipos de drogas inibidoras, separadamente nos painéis (b) e (c), vemos que o tratamento com drogas inibidoras da PI é mais eficiente que o tratamento com RTI, tal como verificado para o caso do vírus.

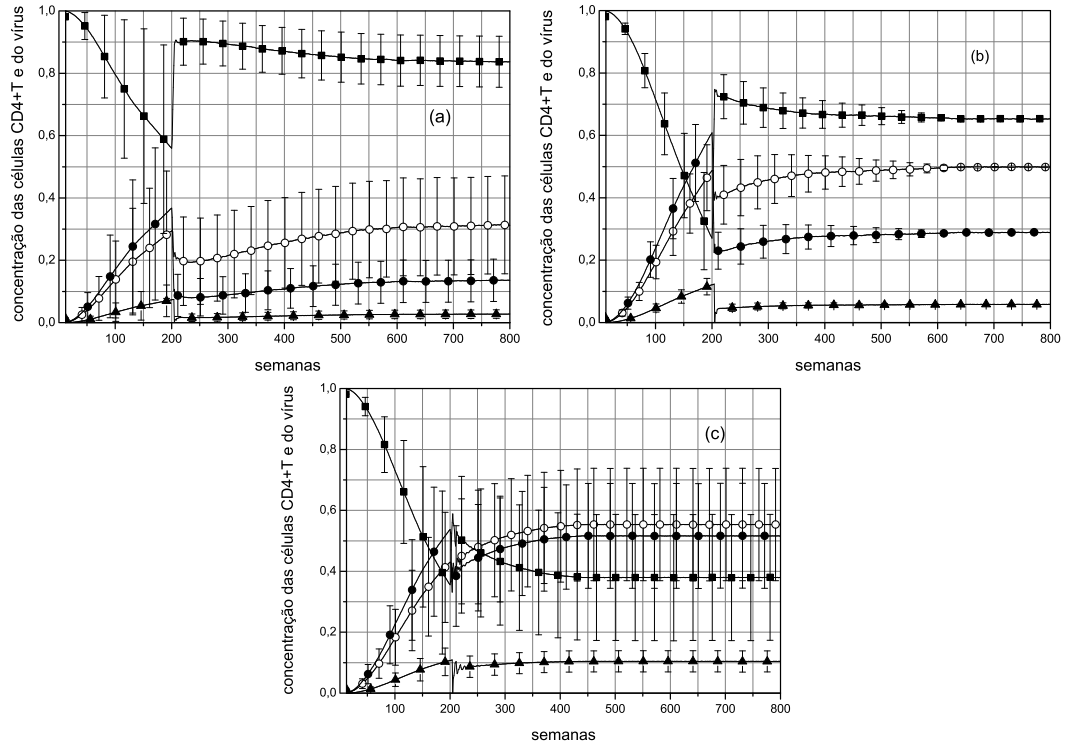


Figura 4.4: Gráfico das concentrações das células e o vírus para um início do tratamento em $t_0 = 200$ semanas e efetividade inicial de $p_{0j} = 0.5$. (a) terapia combinada (cART), (b) monoterapia (PI) e (c) monoterapia (RTI). Células saudáveis (quadrados sólidos), células infectadas (círculos sólidos), células mortas (triângulos sólidos) e vírus (círculos abertos)

4.2 Comparação com dados clínicos.

Desde a década de 90, vários estudos da dinâmica do tratamento foram realizados no primeiro e no segundo ano após o início do tratamento [82,83]. As contagens de células saudáveis $CD4+T$ e as medidas da carga viral foram realizadas em intervalos determinados em cada protocolo de estudo. Por exemplo, as medições da carga viral do HIV no plasma de 10 pacientes são relatados na referência [17]. Esse estudo investigou o efeito do tratamento com uma combinação mais potente de drogas anti-retrovirais. Os resultados deste trabalho mostram que a terapia cART controla a replicação e praticamente elimina o vírus ($> 99.9\%$). A figura 4.5 mostra a evolução de cópias de HIV RNA por grama para dez pacientes, onde o gráfico inserido representa o comportamento da carga viral média.

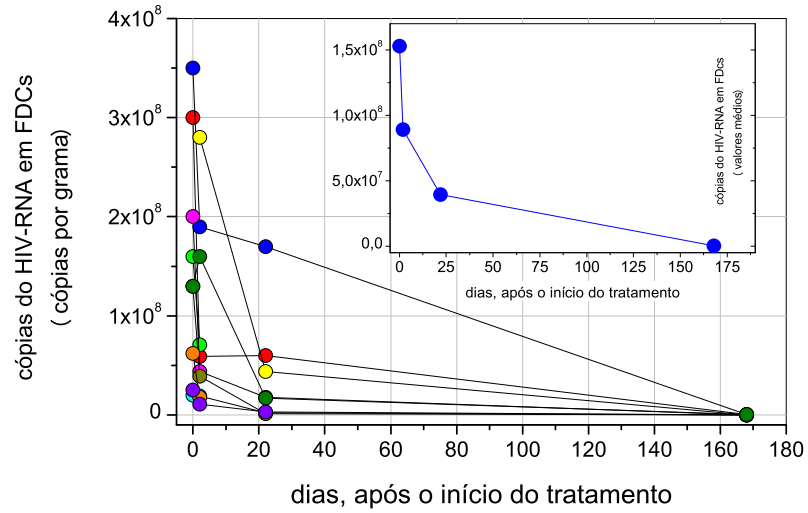


Figura 4.5: RNA por grama em células dendríticas foliculares (FDCs do inglês), em função do tempo (em dias). Efeito da combinação de terapia anti-retroviral para dez pacientes. O gráfico inserido mostra o comportamento dos valores médios dos dados dos dez pacientes.

É evidente que uma forte queda ocorre na concentração de vírus entre os dias 2 a 22, após o início do tratamento. Em nossas simulações, encontramos muita semelhança com os resultados clínicos e outros relatados na literatura. Consideramos, por exemplo, as terapias anti-retrovirais, considerando a eficiência $p_{0j} = 0.9$ para ambas drogas PI e RTI e iniciando o tratamento em $t_0 = 300$ semanas. Na figura 4.6 mostramos uma comparação da médias dos resultados clínicos da referência [17] com os resultados obtidos no presente estudo. Nossos resultados mostram que 99.7% da concentração de vírus foi eliminada após o início do tratamento de alta efetividade, em correspondência qualitativa com os dados clínicos quando as escalas de tempo características são comparadas.

Concluimos neste estudo que a inclusão de um mecanismo para a propagação da infecção, que leva em conta a difusão da população de vírus, fornece mais opções para definir estratégias de tratamento que podem otimizar o tempo de início da terapia, tendo em conta a eficiência dos tratamentos anti-retrovirais atualmente disponíveis. Outras possibilidades também podem ser facilmente incluídas neste modelo com essas finalidades, tais como considerar mais do que um tipo de drogas PI e RTI

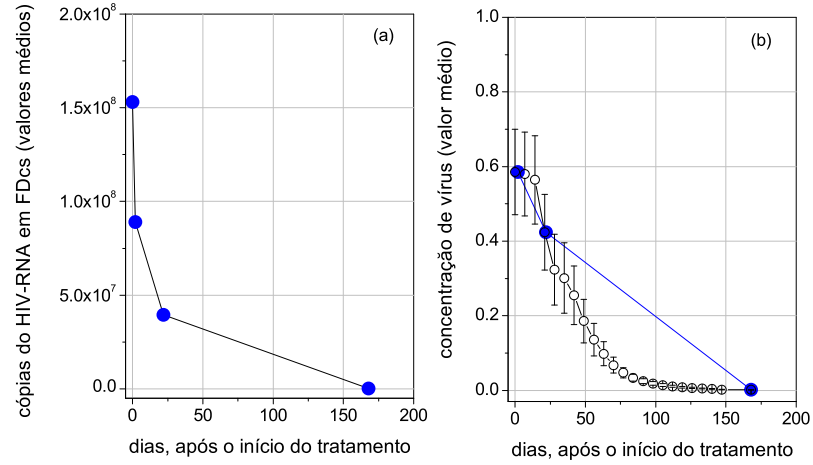


Figura 4.6: (a) Valores médios do RNA por grama em células dendríticas foliculares (FDCs) de dez pacientes reportados na referência [17]. Círculos sólidos indicam resultados para os dias 0, 2, 22 e 168. (b) Concentração de HIV para dez amostras das simulações para $p_{0j} = 0.9$ iniciando o tratamento em $t_0 = 300$ semanas. Círculos sólidos no painel (b) indicam os dias 2, 22 e 168, enquanto os círculos abertos indicam os valores obtidos do modelo durante o intervalo de tempo estudado.

com eficiências distintas ou intervalos de tempo pre-estabelecidos para interrupção e retomada da terapia.

Capítulo 5

Conclusões e considerações finais

Com os resultados obtidos da comparação entre o modelo HIV-CA [37] e o modelo STK [42], podemos concluir que o modelo HIV-CA permanece um modelo robusto com relação à variação dos seus parâmetros, quando são incluídos os mecanismos de tratamento usados no modelo STK. Nesta comparação verificamos que a dinâmica da infecção primária depende da escolha do valor da concentração inicial de células infectadas, nesse sentido, ambos os modelos são equivalentes. Em ambos os modelos, a posição do pico de infecção e seu valor variam segundo a mesma lei de potência, como mostrado nas figuras 2.21 e 2.22. Por outro lado, os resultados das simulações usando o modelo STK mostram uma oscilação na dinâmica da infecção, no período de latência clínica, da qual não se têm referência em dados clínicos na literatura. Além disso, as barras de erro correspondentes à dinâmica de infecção com o modelo STK são bem menores que o esperado devido à enorme variabilidade na duração dos períodos de latência clínica de paciente a paciente. O modelo STK também não considera a taxa de eliminação das células latentes, quando se sabe que o seu tempo de vida média oscila entre 10 e 20 dias aproximadamente. Isto pode estar relacionado com o elevado tempo de latência clínica obtido nas simulações usando esse modelo. No caso do modelo HIV-CA, a duração da latência clínica, sem tratamento, está relacionada com o parâmetro P_{infec} enquanto no modelo STK, depende da probabilidade P_{act} . A duração deste período, sem tratamento, em ambos os modelos são significativamente diferentes, porém para os valores das concentrações

das células no estado estacionário não existem diferenças significativas, como mostra a tabela 2.3. Assim concluímos que mesmo sendo um modelo mais simples, envolvendo um menor número de variáveis, no modelo HIV-CA estão incluídas as hipóteses biológicas básicas e todos os possíveis mecanismos de regeneração das células mortas em saudáveis, enquanto que no modelo STK, apenas um desses mecanismos foi considerado.

Com relação aos modelos de autômatos celulares para os tratamentos antiretrovirais desenvolvidos nesta tese (capítulos 3 e 4) destacamos inicialmente a proposição do mecanismo para auto-ajustar a efetividade dos tratamentos. Uma função efetividade auto-ajustável foi usada para simular a eficácia das drogas, introduzida em ambos os modelos CA e V-CA, e que nos permite descrever separadamente o tratamento antiretroviral para cada indivíduo, uma vez que a eficácia de cada droga é fixada pelo valor da concentração das células infectadas no instante de tempo de cada simulação. Este mecanismo também incorpora a hipótese da elevada taxa de mutação do HIV como o fato responsável pela perda da eficácia da droga ao longo do tempo. Estas características estão de acordo com a grande variabilidade observada em estudos clínicos dos pacientes em curta e longa escala de tempo. Os resultados emergentes do modelo CA, em longo prazo, sugerem que a combinação de tratamentos antiretrovirais, realizados com drogas altamente potentes e iniciados quando a população de células infectadas é baixa, pode levar a um curso da infecção caracterizado por uma população estável de células infectadas abaixo de níveis detectáveis. Por outro lado, as células CD4+T saudáveis atingem, com este tratamento, níveis acima do limiar para o desenvolvimento da AIDS. Quando comparados com os resultados de estudos clínicos, estes resultados reproduzem o comportamento qualitativo da evolução da população de células CD4+T na escala de 18 meses. Quando analisados em uma escala curta de tempo, após o início do tratamento, os resultados obtidos pelas simulações mostram claramente que, na maioria dos casos, há uma diminuição de células infectadas nas primeiras cinco semanas, em correspondência com o observado na contagem clínica de HIV-1-RNA no plasma, como mostrado na figura 3.19 desta tese. Além disso, seguindo a forte redução da carga viral, os resultados também

mostram uma recuperação subsequente da concentração de células infectadas. Tal recuperação também foi observada em algumas medidas do HIV-1-RNA no plasma, o que pode estar associado com o desenvolvimento da resistência à cART.

Em relação aos resultados mostrados no capítulo 3, os prognósticos para os resultados dos tratamentos podem ser analisados no gráfico da figura 3.14, mostrando as três regiões características da infecção. Em relação aos dados fornecidos por este gráfico, aproximadamente 40 de cada 100 pacientes submetidos ao tratamento antiretroviral evoluem para a AIDS, e entre 58 e 59 de cada 100, ficam com baixas concentrações de carga viral, correspondente à região nomeada "seropositivo" no diagrama. Estes resultados estão em correspondência com estudos clínicos reportados pela literatura especializada, feitos em diferentes lugares e momentos [70,84–87], [20]. Este resultado abre o caminho para um estudo detalhado relacionado com as características das possíveis transições entre estas regiões ou fases. Resta agora fazer um estudo mais específico relacionado com a transição para o cálculo dos parâmetros característicos. Também poderão ser incluídas neste diagrama as outras linhas de nível, correspondentes a outros valores de D_S (concentração de células saudáveis). Poderemos fazer além disso um estudo para diferentes tamanhos e geometrias de rede e ver como depende a forma do diagrama destes parâmetros.

Ainda no capítulo 3, os resultados obtidos com o modelo de equações diferenciais ordinárias equivalente ao modelo CA, mostram também um bom funcionamento da função efetividade escolhida para simular a eficácia da droga, assim como uma correspondência entre estes resultados e os estudos clínicos do comportamento da carga viral e das células infectadas nas primeiras cinco semanas após iniciado o tratamento.

Também de grande importância são os resultados obtidos da comparação das simulações com os dados clínicos reportados [65] nas cinco e nas trinta primeiras semanas após o começo do tratamento. Tanto nas simulações usando o modelo de autômatos celulares quanto nas simulações com o modelo de EDO equivalente, vemos uma boa correspondência entre os estudos clínicos e o resultado destas simulações [10,66,76,88]. Esta verificação fortalece o resultado obtido com o modelo CA.

No capítulo 4, os resultados obtidos com nossas simulações, através do modelo

V-CA, mostram a versatilidade deste modelo, que permite estudar ao mesmo tempo a evolução tanto das espécies de células quanto da carga viral, assim como a variação da efetividade do tratamento ao longo do processo da infecção. A diferença entre as concentrações das células saudáveis obtida para ambos modelos, CA e V-CA no estado estacionário do processo de infecção sem tratamento resulta da inclusão no modelo V-CA, de dois mecanismos de infecção, a infecção por contato célula a célula e a infecção por *absorção* de partículas virais por parte das células $CD4+T$. Para melhorar esta diferença será necessário fazer uma modificação nos valores dos parâmetros usados que definem e determinam a dinâmica de infecção. No modelo V-CA, no entanto, o decréscimo característico observado na concentração das células infectadas e na carga viral reproduzem em boa medida as escalas de tempo observadas nos resultados obtidos nos estudos clínicos [10, 66, 76, 88], tal como foi obtido nos resultados das simulações do modelo CA, descrito no capítulo 3. A inclusão do mecanismo de difusão estudado no modelo V-CA, fornece mais opções para testar estratégias de tratamento que podem otimizar a definição do momento de iniciação da terapia, tendo em conta a eficácia das drogas antiretrovirais atualmente disponíveis.

Em trabalhos futuros pretendemos incluir nos modelos propostos outras espécies de células, como as CD8, assim como estudar a possibilidade de modificar os parâmetros que determinam a dinâmica da infecção fazendo-os variar no tempo, tentando nos aproximar mais um pouco à realidade biológica do processo da infecção pelo HIV. Este tipo de modelos pode ainda ser adaptado e utilizado no estudo da dinâmica de outras espécies de vírus, como o Epstein-Barr Virus, o qual pretendemos seja também objeto de linhas de trabalhos posteriores.

Referências Bibliográficas

- [1] M. S. Gottlieb. Pneumocystis Pneumonia — Los Angeles *Am. J. Public Health*, 96(6):980-983, 2006.
- [2] Global HIV/AIDS response. *Technical report*, World Health Organization, 2011.
- [3] Didier Trono, Carine Van Lint, Christine Rouzioux, Eric Verdin, Francoise Barre-Sinoussi, Tae-Wook Chun, and Nicolas Chomont. HIV persistence and the prospect of long-term drug-free remissions for HIV-infected individuals. *Science*, 329(5988):174–180, 2010.
- [4] Valentin Le Douce, Georges Herbein, Olivier Rohr, and Christian Schwartz. Molecular mechanisms of HIV-1 persistence in the monocyte-macrophage lineage. *Retrovirology*, 7:32, (2010).
- [5] Douglas D. Richman, David M. Margolis, Martin Delaney, Warner C. Greene, Daria Hazuda, and Roger J. Pomerantz. THE CHALLENGE OF FINDING A CURE FOR HIV INFECTION. *Science*, 323(5919):1304–1307, 2009.
- [6] Ritchard A. Goldsby, Thomas J. Kindt, Barbara A. Osborne. *Immunology*. W. H. Freeman and Company, 1999.
- [7] Hallan Souza e Silva. Tuberculose: estudo da formação de padrões na eliminação, contenção e disseminação do bacilo de Koch. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, 2007.

- [8] Pedro Hugo de Figueirêdo. Estudo sobre a dinâmica da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Pernambuco, 2002.
- [9] Abul K. Abbas, Andrew H. Lichtman, and Jordan S. Pober. *Cellular and Molecular Immunology*. W. B. Saunders Company, 1994.
- [10] Martin A. Nowak and Robert M. May. *Virus Dynamics - mathematical principles of immunology and virology*. Oxford University Press, 2000.
- [11] S. Wolfram, Statistical mechanics of cellular automata. *Review of Modern Physics*, 55, 601, 1983.
- [12] Zdenek Hel, Jerry R. McGhee, and Jiri Mestecky. HIV infection: first battle decides the war. *Trends in Immunology*, 27(6):274–280, 2006.
- [13] David I. Watkins. Desafio Estratégico, *Scientific American Brasil*, (79):27–33, dezembro 2008.
- [14] Mario Stevenson. Afinal, a AIDS tem cura?, *Scientific American Brasil*, (79):34–39, dezembro 2008.
- [15] Christl A. Donnelly, Steven Mayer, Azra c. Ghani, William E. Henley and Roy M. Anderson. Comparison of the effectiveness of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor-containing and protease inhibitor-containing regimes using observational databases. *AIDS*, 15:1133–1142, 2001.
- [16] S. M. Shechter, A. J. Schaefer, R. S. Braithwaite, M. S. Roberts. Modeling the progression and treatment of HIV. R. G. Ingalls, M. D. Rossetti, J. S. Smith, and B. A. Peters, eds. *Proceedings of the 2004 Winter Simulation Conference*, 2039-2045, 2004.
- [17] Winston Cavert, Daan W. Notermans, Katherine Staskus, Stephen W. Wietgreffe, Mary Zupancic, Kristin Gebhard, Keith Henry, Zhi-Qiang Zhang, Roger

- Mills, Hugh McDade, Jaap Goudsmit, Sven A. Danner and Ashley T. Haase. Kinetics of response in lymphoid tissues to antiretroviral therapy of HIV-1 infection. *Science*, 276(5314), 960-964, (1997).
- [18] H. Mohri, M. K. Singh, W. T. Ching, and D. D. Ho. Quantitation of zidovudine-resistant human immunodeficiency virus type 1 in the blood of treatment and untreatment patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 90(1):25–29, (1993).
- [19] Soren Jensen-Fangel. The effectiveness of highly active antiretroviral therapy. PhD thesis, University of Aarhus (2004); *Danish Medical Bulletin*, 51(4), 371-392 (2004).
- [20] William G. Powderly. Sorting through confusing messages: The art of HAART. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes*, 31(1), §3-§9, (2002).
- [21] Alan S. Perelson, Denise E. Kirschner and Rob de Boer. Dynamics of HIV infection of CD4+ T cells. *Mathematical Biosciences*, 114:81-125 (1993).
- [22] Denise Kirschner. Using mathematics to understand HIV immune dynamics. *Notices of the A.M.S*, 43(2), 191-202, (1996).
- [23] Alan S. Perelson and Patrick W. Nelson. Mathematical analysis of HIV-1 dynamics in vivo. *SIAM Review*, 41(1):3–44, (1999).
- [24] Xiaohua Xia. Modeling of HIV infection: Vaccine readiness, drug effectiveness and therapeutical failures. *Journal of Process Control*, 17:253–260, (2007).
- [25] D. M. Bortz and P. W. Nelson. Sensivity analysis of nonlinear lumped parameter model of HIV infection dynamics. *Bulletin of Mathematical Biology*, 66(5):1009–1026, (2004).
- [26] Sebastian Bonhoeffer, Robert M. May and George M. Shaw. Virus dynamics and drug therapy. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 94(13):6971 – 6976, (1997).
- [27] Chiara Andreoni, Matteo Bianchi, Andrea Cavallini, Marco Laurino, Leonardo Ricotti, Rodolfo Iuliano, Barbara Matteoli, Luca Ceccherini-Nelli, Alberto Landi,

- Alberto Mazzoldi. Modelling and control of HIV dynamics. *Computer Methods and Programs in Biomedicine*, 89(2):162-168, (2008).
- [28] Robert J. Smith and L. M. Wahl. Distinct effects of protease and reverse transcriptase inhibition in an immunological model of HIV-1 infection with impulsive drug effects. *Journal of Mathematical Biology*, 66(5):1259–1283, (2004).
- [29] Andrew Ilachinski. *Cellular Automata - A Discrete Universe*. World Scientific, (2001).
- [30] Claudia Pio Ferreira. *Dinâmica de replicação na rede: aplicações em modelos de evolução pró-biótica e formação de úlceras*. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Carlos, BR (2001).
- [31] G. P. Misson, G. Landini and P. I. Murray. Fractal properties of Herpes Simplex dendritic keratitis. *Cornea*, (11):510, (1992).
- [32] G. P. Misson, G. Landini and P. I. Murray. Fractal characterization and computer modelling of Herpes Simplex Virus spread in the human corneal epithelium. *Fractals in the Natural and Applied Sciences, IFIP Transactions A-41*:241, (1994).
- [33] G. Camelo-Neto and S. Coutinho. Dynamical Model for Virus Spread. *Fractals* 4, 113-122, (1996).
- [34] Ch. F. Kougias and J. Shulte. Simulating the immune response to the HIV-1 virus with cellular automata. *Journal of Statistical Physics*, 60:263–273, (1990).
- [35] R. B. Pandey and D. Stauffer. Metastability with probabilistic cellular automata in an HIV infection. *Journal of Statistical Physics*, 61(1-2):235–240, (1990).
- [36] R. B. Pandey. Cellular automata approach to interacting cellular network models for the dynamics of cell population in an early HIV infection. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 179(3):442–470, (1991).

- [37] Rita Maria Zorzenon dos Santos and Sérgio Coutinho. Dynamics of HIV infection: A cellular automata approach. *Phys. Rev. Lett.*, 87(16):168102, (2001).
- [38] P. H. Figueirêdo, S. Coutinho and R. M. Zorzenon dos Santos. Robustness of a cellular automata model for the HIV infection. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 387(26):6545–6552, (2008).
- [39] Guillermo Solovey, Fernando Peruani, Silvina Ponce Dawson, and Rita Maria Zorzenon dos Santos. On cell resistance and immune response time lag in a model for the HIV infection. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 343:543–556, (2004).
- [40] G. Pantaleo, C Graziozi, and A. S. Fauci. The Immunopathogenesis of Immunodeficiency Virus Infection. *New England Journal of Medicine*, 328:327 – 335, (1993).
- [41] Peter M. A. Sloot, Fan Chen, and Charles Boucher. Cellular automata model of drug therapy for HIV infection. In *ACRI '01: Proceedings of the 5th International Conference on Cellular Automata for Research and Industry*, pages 282–293, London, UK, Springer-Verlag, (2002).
- [42] Veronica Shi, Abdessamad Tridane, Yang Kuang. A viral load-based cellular automata approach to modeling HIV dynamics and drug treatment. *Journal of Theoretical Biology*, 253(1):24 – 35, (2007).
- [43] Ramón E. R. González, R. M. Zorzenon dos Santos, S. Coutinho. Modelos de autômatos celulares para a dinâmica de infecção do HIV sob terapia. Resumos do XXXI Encontro Nacional de Física da Matéria Condensada. 05 a 08 de maio de 2008, Águas de Lindóia, SP.
- [44] Ramón E. R. González, R. M. Zorzenon dos Santos, S. Coutinho. Dinâmica de Infecção do HIV sob terapia: modelos de Autômatas Celulares. Resumos do XXVI Encontro de Físicos do Norte e Nordeste. 03 a 07 de novembro de 2008, Recife, PE.

- [45] Ramón E. R. González, R. M. Zorzenon dos Santos, S. Coutinho. Modelos de autómatas celulares para la dinámica de infección del HIV bajo tratamiento. Resumen del V Taller Internacional sobre la Física Aplicada a la Ingeniería (FI-SAPLIC08). 01 a 05 de dezembro de 2008, Havana, Cuba.
- [46] Ramón E. R. González, R. M. Zorzenon dos Santos, S. Coutinho and P. H. Figueirêdo. Cellular automata model describing Highly Active Antiretroviral Therapy for the HIV Infection. Resumos do XXXII Encontro Nacional da Matéria Condensada. 11 a 15 de maio de 2009, Águas de Lindóia, SP.
- [47] Ramón E. R. González, S. Coutinho, P. H. Figueirêdo. Modelo de AC para o estudo da Dinâmica de Infecção do HIV incluindo o vírus e sua mobilidade. Resumos do XXVI Encontro de Físicos do Norte e Nordeste. 08 a 11 de novembro de 2010, Teresina, PI.
- [48] R. E. R. González, et al., Cellular automata approach for the dynamics of HIV infection under antiretroviral therapies: the role of the virus diffusion, *Physica A* (2012), doi: 10.1016/j.physa.2012.10.036
- [49] A. Benyoussef, N. El HafidAllah, A. ElKenz, H. Ez-Zahraouy and M. Loulidi. Dynamics of HIV infection on 2D cellular automata. *Physica A*, 322:506–520, (2003).
- [50] M. A. Peer, N. A. Shan and K. A. Khan. Cellular automata and its advances to drug therapy for HIV infection. *Indian Journal of Experimental Biology*, 42(2):131–137, (2004).
- [51] M. Precharattana, A. Nokkeaw, W. Triampo, D. Triampo and Y. Lenbury. Stochastic cellular automata model and Monte Carlo simulations of CD4+T cell dynamics with a proposed alternative leukapheresis treatment for HIV/AIDS. *Computers in Biology and Medicine*, 41(7):546–558, (2011).
- [52] Fan Chen. Model of drug therapy for HIV infection using non-uniform cellular automata. Master's thesis, Informatics Institute. University of Amsterdam, 2002.

- [53] T. W. Chun, D. Engel, M. M. Berrey, T. Shea, L. Corey and A. S. Fauci. Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4+ T cells during primary HIV-1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(15):8869–8873, (1998).
- [54] Diana Finzi, Joel Blankson, Janet D. Siliciano, Joseph B. Margolick, Karen Chadwick, Theodore Pierson, Kendall Smith, Juliana Lisziewicz, Franco Lori-Charles, Flexner Thomas, C. Quinn Richard, E. Chaisson, Eric Rosenberg, Bruce Walker, Stephen Gange, Joel Gallant and Robert F. Siliciano. Latent infection of CD4+ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy. *Nature Medicine*, 5(5):512–517, (1999).
- [55] B. Ramratnam, R. Ribeiro, T. He, C. Chung, V. Simon, J. Vanderhoeven, A. Hurley, L. Zhang, A. S. Perelson, D. D. Ho and M. Markowitz. Intensification of antiretroviral therapy accelerates the decay of the HIV-1 latent reservoir and decreases, but does not eliminate, ongoing virus replication. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 35(1):33–37, (2004).
- [56] J. D. Siliciano and R. F. Siliciano. A long-term latent reservoir for HIV-1: discovery and clinical implications. *J. Antimicrob. Chemother.*, 54(1):6–9, (2004).
- [57] Zvi Grossman, Mark B. Feinberg and William E. Paul Multiple models of cellular activation and virus transmission in HIV infection: a role for chronically and latently infected cells sustaining viral replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(11):6314 – 6319, (1998).
- [58] D. V. Havlir, M. C. Strain, M. Clerici, C. Ignacio, D. Trabattoni, P. Ferrante and J. K. Wong. Productive infection maintains a dynamic steady state of residual viremia in human immunodeficiency virus type 1-infected persons treated with suppressive antiretroviral therapy for five years. *J. Virol*, 77(20):11212 – 11219, (2003).

- [59] Victor Müller, Javier Flavio Viguera-Gómez and Sebastian Bonhoeffer. Decelerating decay of latently infected cells during prolonged therapy for human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Virol*, 76(17):8963 – 8965, (2002).
- [60] E. G. Burkhead, J. M. Hawkins, D. K. Molinek. A dynamical study of a cellular automata model of the spread of HIV in a lymph node. *Bulletin of Mathematical Biology*, 71(1):25 – 74, (2009).
- [61] C. Marchand, K. Maddali, M. Métifiot, and Y. Pommier. HIV-1 IN inhibitors: 2010 update and perspectives. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 9(11):1016–37, (2009).
- [62] T. W. Chun, D. C. Nickle, J. S. Justement, D. Large, A. Semerjian, M. E. Curlin, M. A. O’Shea, C. W. Hallahan, M. Daucher, D. J. Ward, S. Moir, J. I. Mullins, C. Kovacs, and A. S. Fauci. HIV-infected individuals receiving effective antiviral therapy for extended periods of time continually replenish their viral reservoir. *J. Clin. Invest.*, 115(11):3250–3255, (2005).
- [63] Yangxin Huang and Tao Lu. Modeling long-term longitudinal HIV dynamics with application to an AIDS clinical study. *The Annals of Applied Statistics*. 2(4):1384-1408, (2008).
- [64] D. R. Bangsberg, E. D. Charlebois, R. M. Grant, M. Holodniy, S. G. Deeks, S. Perry, K. N. Conroy R. Clark, D. Guzman, A. Zolopa and A. Moss. High levels of adherence do not prevent accumulation of HIV drug resistance mutations. *AIDS*. 17(11):1925 – 1932, (2003).
- [65] E. P. Acosta, H. Wu, S. M. Hammer, S. Yu, D. R. Kuritzkes, A. Walawander, J. J. Eron, C. J. Fichtenbaum, C. Pettinelli, D. Neath, E. Ferguson, A. J. Saah and J. G. Gerber. Comparison of Two Indinavir/Ritonavir Regimens in the Treatment of HIV-Infected Individuals. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*. 37(3):1358 – 1366, (2004).

- [66] Xiping Wei, Sajal K. Ghosh, Maria E. Taylor, Victoria A. Johnson, Emilio A. Emini, Paul Deutsch, Jeffrey D. Lifsonparallel, Sebastian Bonhoeffer, Martin A. Nowak, Beatrice H. Hahn, Michael S. Saag, and George M. Shaw. Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature*, 373(6510):117–122, (1995).
- [67] A. Ruffault, C. Michelet, C. Jacquelinet, O. Guist’hau, N. Genetet, C. Bariou, R. Colimon and F. Cartier. The prognostic value of plasma viremia in HIV-infected patients under AZT treatment: A two-year follow-up study. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, 9(4):243 – 248, (1995).
- [68] Zhi-Qiang Zhang, Daan W. Notermans, Gerald Sedgewick, Winston Cavert, Steven Wietgreffe, Mary Zupancic, Kristin Gebhard, Keith Henry, Lawrence Boies, Zongming Chen, Marc Jenkins, Roger Mills, Hugh McDade, Carolyn Goodwin, Caspar M. Schuwirth, Sven A. Danner and Ashley T. Haase. Kinetics of CD4 + T cell repopulation of lymphoid tissues after treatment of HIV-1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(3):1154 – 1159, (1998).
- [69] Denise E. Kirschner and G. F. Webb Understanding drug resistance for monotherapy treatment of HIV infection. *Bulleting of Mathematical Biology*, 59(4):763 – 785, (1997).
- [70] F. W. Wit, R. van Leeuwen, G. J. Weverling, S. Jurriaans, K. Nauta, R. Steingrover, J. Schuijtemaker, X. Eyssen, D. Fortuin, M. Weeda, F. de Wolf, P. Reiss, S. A. Danner and J. M. Lange. Outcome and predictors of failure of highly active antiretroviral therapy: one-year follow-up of a cohort of human immunodeficiency virus type 1-infected persons. *Journal of Infectious Diseases.*, 179(4):790 – 798, (1999).
- [71] Roeling H. Enting, Jean M. Prins, Suzanne Jurriaans, Kees Brinkman, Peter Portegies and Joep M. A. Lange. Concentrations of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA in cerebrospinal fluid after antiretroviral treatment initia-

- ted during primary HIV-1 infection. *Clinical Infectious Diseases*, 32(7):1095 – 1099, (2001).
- [72] Vladimir Novitsky, Rui Wang, Hermann Brussmann, Shahin Lockman, Marianna Baum, Roger Shapiro, Ibou Thior, Carolyn Wester, C. William Wester, Anthony Ogwu, Aida Ashmelash, Rosemary Musonda, Adriana Campa, Sikhu-lile Moyo, Erick van Widenfelt, Madisa Mine Claire, Moffat Mompoti Mmalane, Joseph Makhema, Richard Marlink, Peter Gilbert, George. R. Seague, Victor DeGruttola and M. Essex. HIV-1 subtype c-infected individuals maintaining high viral load as potential targets for the "test-and-treat" approach to reduce HIV transmission. *PloS ONE*, 5(4), e-10148, (2010).
- [73] Asa Mellgren, Andrea Antinori, Paola Cinque, Richard W. Price, Christian Eggers, Lars Hagberg and Magnus Gissln. Cerebrospinal fluid HIV-1 infection usually responds well to antiretroviral treatment. *Antiviral Therapy* 10(6):701 – 707, (2005).
- [74] Wu H, Ding A. A. Population HIV-1 dynamics in vivo: applicable models and interferencial tools for virological data from aids clinical trials. *Biometrics*. 55(2):410 – 418, (1999).
- [75] Andreas V. M. Hertz, Sebastian Benhoeffter, Roy M. Anderson, Robert M. May and Martin A. Nowak. Viral dynamics in vivo: limitations on estimates of intracellular delay and virus decay. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93(14):7247 – 7251, (1996).
- [76] Alan S. Perelson, Avidan U. Neumann, Martin Markowitz, John M. Leonard, and David D. Ho. HIV-1 Dynamics in Vivo: Virion Clearance Rate, Infected Cell Life-Span, and Viral Generation Time. *Science*, 271(5255):1582–1586, (1996).
- [77] Alan S. Perelson, Paulina Essunger, Yunzhen Cao, Mika Vesanen, Arlene Hurley, Kalle Saksela, Martin Markowitz, and David Ho. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy. *Nature*, 387(6629):188–191, (1997).

- [78] Anthony P. Fitzgerald, Victor G. DeGruttola, and Florin Vaida. Modelling HIV viral rebound using non-linear mixed effects models. *Statistics in Medicine*, 21(14):2093–108, (2002).
- [79] David D. Ho, Avidan U. Neumann, Alan S. Perelson, John M. Leonard Wen Chen, and Martin Markowitz. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature*, 373:123–126, (1995).
- [80] Sompop Munchai and Yongwimon Lembury. Investigating effects of drug therapy for HIV infection by double compartments cellular automata simulations. *Recent Researches in Modern Medicine*, (2011). ISBN: 978-960-474-278-3
- [81] S. Moonchai, Y. Lembury and W. Triampo. Multiple latticed cellular automata: HIV dynamics in coupled lymph node and peripheral blood compartments. *International Journal of Mathematics and Computers in Simulation*, 4(4), (2010).
- [82] L. Palmisano, S. Vella. A brief history of antiretroviral therapy of HIV infection: success and challenges. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 47(1):44 – 48, (2011).
- [83] C. F. Perno. The discovery and development of HIV therapy: the new challenges. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità*, 4(1):41 – 43, (2011).
- [84] Bruno Ledergerber, Matthias Egger, Milos Opravil, Amalio Telenti, Bernard Hirschel, Manuel Battegay, Pietro Vernazza, Philippe Sudre, Markus Flepp, Hansjakob Furrer, Patrick Francioli and Rainer Weber. Clinical progression and virological failure on highly active antiretroviral therapy in HIV-1 patients: a prospective cohort study. Swiss HIV Cohort Study. *The Lancet*, 353(9156): 863 – 868, (1999).
- [85] S. G. Deeks, F. M. Hecht, M. Swanson, T. Elbeik, R. Loftus, P. T. Cohen and R. M. Grant. HIV RNA and CD4 cell count response to protease inhibitor therapy in an urban AIDS clinic: response to both initial and salvage therapy. *AIDS*, 13(6):35–43, (1999).

- [86] J. L. Casado, M. J. Perez-Elías, A. Antela, R. Sabido, P. Martí-Belda, F. Dronda, J. Blazquez and C. Quereda. Predictors of long-term response to protease inhibitor therapy in a cohort of HIV-infected patients. *AIDS*, 12(11):131–135, (1998).
- [87] A. Mocroft, M. J. Gill, W. Davidson and A. N. Phillips. Predictors of a viral response and subsequent virological treatment failure in patients with HIV starting a protease inhibitor. *AIDS*, 12(16):2161–2167, (1998).
- [88] C. Loveday, S. Kaye, M. Tenant-Flowers, M. Semple, U. Ayliffe, I. V. D. Weller, R. S. Tedder, HIV-1 RNA serum-load and resistant viral genotypes during early zidovudine therapy. *The Lancet*, 345(8953):820 – 824, (1995).