

Universidade Estadual de Campinas

INSTITUTO DE MATEMÁTICA, ESTATÍSTICA E COMPUTAÇÃO CIENTÍFICA

Departamento de Matemática Aplicada

Dissertação de Mestrado

**Modelando a Interação entre o Sistema
Imunológico Humano e o *Trypanossoma
cruzi***

por

Licia Silva Oliveira

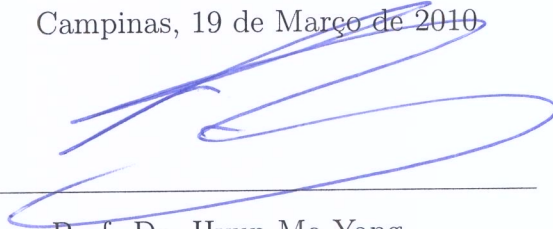
Mestrado em Matemática - Campinas - SP

Orientador: Prof. Dr. Hyun Mo Yang

Modelando a Interação entre o Sistema Imunológico Humano e o *Trypanosoma cruzi*

Este exemplar corresponde à redação final da dissertação devidamente corrigida e defendida por **Licia Silva Oliveira** e aprovada pela comissão julgadora.

Campinas, 19 de Março de 2010.



Prof. Dr. Hyun Mo Yang

Orientador

Banca Examinadora

1. Prof. Dr. Noberto Anibal Maidana (UFABC/Brasil)
2. Profa. Dra. Maria Elena Guariento (FCM/Unicamp/ Brasil)
3. Prof. Dr. Hyun Mo Yang (IMECC/Unicamp/Brasil)

Dissertação apresentada ao Instituto de Matemática, Estatística e Computação Científica, Unicamp, como requisito parcial para obtenção do Título de MESTRE em Matemática Aplicada.

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO IMECC DA UNICAMP**

Bibliotecária: Crislene Queiroz Custódio – CRB8 / 7966

Oliveira, Licia Silva

OL4m Modelando a interação entre o sistema imunológico humano e o
Trypanossoma cruzi / Licia Silva Oliveira -- Campinas, [S.P. : s.n.],
2010.

Orientador : Hyun Mo Yang

Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas,
Instituto de Matemática, Estatística e Computação Científica.

1. Sistema imune. 2. Trypanossoma cruzi. 3. Modelo matemático.
I. Yang, Hyun Mo. II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de
Matemática, Estatística e Computação Científica. III. Título.

Título em inglês: Modelling the interaction between the human immune system and Trypanossoma cruzi.

Palavras-chave em inglês (Keywords): 1. Immune system. 2. Trypanossoma cruzi. 3. Mathematical model.

Área de concentração: Biomatemática

Titulação: Mestre em Matemática Aplicada

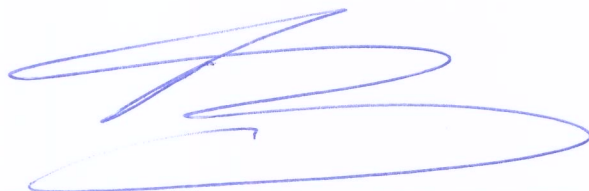
Banca examinadora: Prof. Dr. Hyun Mo Yang (IMECC-UNICAMP)
Prof. Dr. Noberto Anibal Maidana (UFABC)
Prof. Maria Elena Guariento (FCM-UNICAMP)

Data da defesa: 19/03/2010

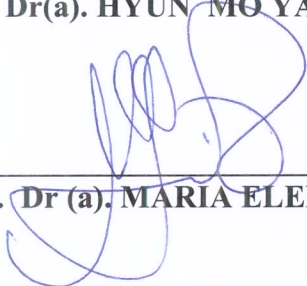
Programa de Pós-Graduação: Mestrado em Matemática Aplicada

Dissertação de Mestrado defendida em 19 de março de 2010 e aprovada

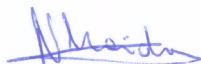
Pela Banca Examinadora composta pelos Profs. Drs.



Prof.(a). Dr(a). HYUN MO YANG



Prof. (a). Dr (a). MARIA ELENA GUARIENTO



Prof. (a). Dr (a). NORBERTO ANIBAL MAIDANA

*Em memória ao
meu pai Manoel
Araújo de Oliveira.*

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Hyun Mo Yang, pela paciência, dedicação, profissionalismo e principalmente, por todo o conhecimento e crescimento transmitidos durante este período de elaboração da dissertação.

Aos professores Maria Elena (FCM), Silvia M. Raimundo (USP) e Cláudia Pio (UNESP), pelas sugestões e contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

Aos funcionários do IMECC, em especial Cidinha, Ednaldo e Tânia.

Finalmente, agradeço aos amigos que tornaram esta caminhada menos árdua: Roberta, Lorena, Salvador, Márcio Sabino, Cintia, Marta, Ângelo, Noberto, Andressa, Márcio Diniz, Clair, Lucy, Odair, Rafael, Graciete, Neto, Jaqueline, Ricardo, Cléia, Mauro, Cláudia, Luciana Brito, Robério, Ronaldo, Cristina, Ana Lúcia, Carminha, aos colegas de curso tanto do IMECC/UNICAMP dentre tantos outros que permanecerão em minha memória. E aos amigos que permanecem em minha cidade, Salvador, e outros que há muito não vejo.

Muito obrigado.

Resumo

A ação da resposta imunológica na infecção de *Trypanosoma cruzi* envolve dois mecanismos: um que resulta na produção de anticorpos específicos contra antígenos do parasita e outro corresponde a resposta imunológica celular com atividade citotóxica, que mata as células infectadas ou aqueles que expressam antígeno parasitário pela ação de linfócitos T citotóxicos. Com o objetivo de abordar o processo de infecção por *Trypanosoma cruzi* e o mecanismo de delimitação no organismo do hospedeiro promovida pelo sistema imunológico, dois modelos matemáticos da interação entre sistema imune e *Trypanosoma cruzi* são apresentadas. Apesar da simplicidade da dinâmica das populações isoladas de organismos patogênicos e das células, a descrição da interação entre eles se torna altamente complexo. Assim, apresentamos o desenvolvimento de dois modelos simplificados pela necessidade de análise quantitativa das respostas humoral e celular.

Palavra-chave: sistema imunológico, *Trypanosoma cruzi*, modelo matemático.

Abstract

The action of the immune response in the infection of *Trypanosoma cruzi* involves two mechanisms: one that results in the production of specific antibodies against antigens of the parasite and the cellular immune response with cytotoxic activity, which kills infected cells or those expressing antigen parasitic by the action of cytotoxic T lymphocytes. Aiming to address the process of infection by *Trypanosoma cruzi* and the mechanism of delimitation in the organism of the host promoted by immune system, two mathematical models of the interaction between system immune and *Trypanosoma cruzi* are presented. Despite of the simplicity of the dynamic of the isolated populations of pathogen and the cells, the description of the interaction of them becomes highly complex. Hence, we present the development of two simplified models by the necessity of quantitative analysis of humoral e cell responses.

Keywords: immune system, *Trypanosoma cruzi*, mathematical models.

Sumário

1	Introdução	1
2	A biologia do <i>Trypanossoma cruzi</i>	3
2.1	A interação do <i>Trypanossoma cruzi</i> com seus hospedeiros	3
2.2	A interação do <i>Trypanossoma cruzi</i> com o Sistema Imunológico	9
2.3	Vacinas: experiência atual	13
3	Modelagem Matemática - Imunidade Humoral	19
3.1	Sistema Imunológico Isolado	20
3.2	Modelo de Imunidade Humoral	21
3.3	Ponto de Equilíbrio Trivial	26
3.3.1	Análise da Estabilidade Local	27
3.3.2	Estabilidade Global	29
3.4	Ponto de Equilíbrio não-trivial	32
3.5	Sistema Imunológico	34
3.5.1	Resultados numéricos	35
3.6	Análise da estabilidade do ponto de equilíbrio não-trivial	38
3.6.1	$A_j > 0$ para $j = 1 \dots 4$	39
3.6.2	$A_1 A_2 > A_3$	39

3.6.3	$A_3(A_1A_2 - A_3) - A_1^2A_4 > 0$	40
3.7	Eficácia nula dos anticorpos ($\epsilon = 0$)	41
3.8	Ausência de clonagem de plasmócitos ($\gamma = 0$)	47
3.9	Ausência de encontro das células B com o parasita $\beta = 0$	50
3.10	Conclusão	53
4	Modelagem Matemática - Imunidade Celular	59
4.1	Modelo de Imunidade Celular	59
4.2	Ponto de Equilíbrio Trivial	63
4.2.1	Análise de Estabilidade Local	64
4.2.2	Estabilidade Global	66
4.3	Ponto de equilíbrio não-trivial	69
4.4	Sistema Imunológico	72
4.5	Análise do ponto de equilíbrio não-trivial	75
4.5.1	$B_j > 0$ para $j = 1 \dots 5$	77
4.5.2	$B_1B_2 > B_3$	77
4.6	Eficácia nula dos Linfócitos Citotóxicos ($\epsilon = 0$)	79
4.7	Ausência de clonagem de Linfócitos Ativados ($\gamma = 0$)	83
4.8	Ausência de clonagem de Linfócitos Ativados ($\gamma = 0$)	85
4.9	Conclusão	88
5	Conclusões finais	95
A	Tabelas	99
B	Critério de Hurwitz	103
C	Regra de sinal de Descartes	107
	Bibliografia	109

Capítulo 1

Introdução

A modelagem matemática da transmissão de doenças infecciosas leva em consideração uma série de suposições que têm como um de seus objetivos a possibilidade de tornar o modelo um bom "captador" das principais características do caso real. As equações matemáticas decorrentes são ferramentas importantes para podermos compreender de uma forma mais detalhada como ocorre o processo de infecção e a velocidade de propagação de uma determinada doença, bem como outras questões emergentes que são peculiares em cada modelo.

Ao lidarmos com a modelagem matemática de doenças infecciosas, um dos fatores de importância fundamental é determinar em quais situações a infecção poderá ou não se estabelecer na população de acordo com os parâmetros do modelo, o que consequentemente nos possibilitará obter conclusões a respeito de como controlar ou até mesmo erradicar a enfermidade. O termo diretamente relacionado com essa questão é o valor limiar, em geral, denotado por R_0 . Quando supomos que a população total seja de tamanho constante, obtemos na maioria dos casos um único valor limiar para reger a incursão da infecção na população.

Outras questões acerca da dinâmica da doença na população hospedeira humana surgem na análise matemática que lhe é peculiar e, muito provavelmente, desejamos saber sob quais circunstâncias a população pode se tornar extinta, se ocorre aproximação aos devidos estados

estacionários ou se crescerá ilimitadamente, além de ter informações prévias de como a infecção é introduzida na população e como ela aí persistirá e qual o seu limite de prevalência, dentre outros problemas que são característicos de cada modelo.

Os mecanismos imunológicos que controlam a infecção natural ou experimental pelo *Tripanossoma cruzi* tem sido muito estudados nas últimas décadas. Diversas evidências mostram a participação de componentes diversos da resposta imune inata e adquirida, tanto na resistência quanto na patogênese da infecção.

A escolha de modelar a doença infecciosa conhecida como doença de Chagas deve-se ao fato, de acordo com a World Health Organization (Organização Mundial da Saúde - OMS), 16 a 18 milhões de pessoas desde o México até a Argentina são infectadas pela doença de Chagas e outras 100 milhões, ou 25 % da população da região, estão em risco de infecção.

A doença de Chagas pode não provocar lesões importantes em pessoas que apresentem resposta imunológica adequada, mas pode ser fatal para outros.

Pretendemos neste trabalho apresentar um estudo biológico que retrata os mecanismos de ação do parasita *Tripanossoma cruzi* no ataque e evasão das células-alvo e suas peculiaridades e posteriormente apresentamos o desenvolvimento de um modelo matemático para descrever a dinâmica da resposta imunológica humana diante de um estímulo antigênico pela introdução do parasita.

O processo de desenvolvimento de um modelo matemático envolve o estudo da dinâmica do micro-organismo invasor e das células do sistema imunológico isoladamente, para, então, obter um cenário quantitativo da complexa interação do sistema imunológico com o parasita.

A resposta imunológica contra a infecção do parasita que consideramos no nosso trabalho é dada pelo sistema imunológico adaptativo (Imunidade Humoral e Celular) e, em um primeiro momento, o objetivo é estudar o comportamento do modelo baseado na Resposta Humoral, encontrando os pontos de equilíbrio, analisando sua estabilidade e simulando numericamente essa dinâmica. Depois avaliamos o segundo modelo relacionado com a Resposta Celular e, finalmente, a comparação entre o desempenho das respostas humoral e celular para uma infecção causada por *Tripanossoma cruzi*.

O apêndice traz a demonstração dos Lemas e Teoremas utilizados no desenvolvimento do trabalho.

Capítulo 2

A biologia do *Tripanossoma cruzi*

A Doença de Chagas estava restrita aos pequenos mamíferos das matas e campos da América, desde a Patagônia até o Sul dos Estados Unidos. Esses animais (tatus, gambás, roedores) convivem com “barbeiros” silvestres e através de um mecanismo biológico (interação) entre eles circula o *Tripanossoma cruzi*, o parasita descoberto em abril de 1909, por Carlos Chagas, pesquisador do Instituto Oswaldo Cruz. Com a chegada do homem e os processos de colonização, em muitos lugares aconteceram desequilíbrios ecológicos (desmatamento e queimadas) e os barbeiros foram desalojados, invadindo as habitações rústicas e pobres dos lavradores e colonos. A doença chegou ao homem e aos mamíferos domésticos. Hoje existem pelo menos 12 milhões de pessoas infectadas pelo *Tripanossoma cruzi*, das quais 5 a 6 milhões em nosso país.

2.1 A interação do *Tripanossoma cruzi* com seus hospedeiros

O *Tripanossoma cruzi*, que é o protozoário flagelado causador da doença de Chagas, tem dois hospedeiros: o hospedeiro intermediário que é um mamífero, ou o próprio homem,

e os definitivos, que são insetos hemípteros que se alimentam de sangue (hematófagos) e pertencem à família Reduviidae, mais especificamente a subfamília Triatominae. Nestes hospedeiros o protozoário assume diferentes formas morfológicas.

O *Trypanosoma cruzi* se reproduz no intestino médio dos insetos por fissão binária a cada 20-24 horas e para isto adquire nutrientes oriundos do sangue que foi sugado na alimentação do inseto. Nesta fase, o parasita assume uma forma denominada epimastigota, definida pela projeção do flagelo a partir da lateral de seu corpo unicelular. Ele está adaptado para sobreviver à ação de enzimas que digerem o sangue no intestino do inseto. Para isto tem na sua superfície uma cobertura resistente a protease e glicosidades. Esta cobertura é formada por glicoproteínas e glicolipídeos peculiares ancorados à membrana através de fosfatidilinositol. As glicoproteínas se assemelham a mucinas pois são formadas por um esqueleto de aminoácidos ricos em treoninas no qual estão ligadas cadeias glicídicas. Tal estrutura glicídica impede a aproximação de enzimas proteolíticas. Os glicolipídeos se projetam da superfície para fora do parasita e servem também para retenção do parasita nas células intestinais do inseto.

No intestino do inseto a digestão do sangue gera radicais livres pois este é rico em hemoglobina que contém ferro, um metal altamente suscetível à oxidação. Para se proteger de danos produzidos por radicais livres o parasita tem um eficiente sistema de detoxificação através de enzimas óxido redutoras. As proteínas e hemoglobina produzidas são utilizadas como fonte de energia e de carbono pelo parasita através de seu elaborado sistema de endocitose e vacúolos digestivos. O excesso de nutrientes absorvidos é acumulado em vacúolos modificados denominados reservossomos.

Quando o alimento oriundo do repasto sanguíneo começa a se escassear no intestino do inseto, o conteúdo de proteínas presentes nos reservossomos diminui e o parasita inicia um programa de diferenciação celular denominado metaciclogênese que envolve mudanças morfológicas e metabólicas que levam aproximadamente 48 horas. O volume celular diminui, e a posição de inserção do flagelo passa gradativamente para região posterior onde estavam os reservossomos. Ao final do processo o flagelo fica associado a todo o corpo do parasita, definindo a forma tripomastigota. Neste momento a síntese de proteínas é reduzida e somente novas proteínas necessárias para a interação com as células do hospedeiro mamífero passam

a ser expressas. A proporção de mucinas da superfície aumenta e os glicolipídeos diminuem fazendo com que o parasita se dissocie da parede intestinal e migre para o intestino posterior e reto do inseto. Estas formas tripomastigotas são finalmente liberadas com as fezes e a urina quando o inseto faz um novo repasto sanguíneo e podem assim entrar em contato com o hospedeiro intermediário.

Os tripomastigotas liberados na pele podem entrar em contato com mucosas do olho, boca, ferimentos ou serem ingeridos pelo mamífero. Nas mucosas, os tripomastigotas conseguem se deslocar como uma serpente devido à ligação do flagelo ao longo de todo corpo celular até encontrar a superfície de células do hospedeiro. O contato envolve a participação de outro tipo de glicoproteína de tamanho entre 80 a 90 kDa produzidas somente pelos tripomastigotas. Estas glicoproteínas aparentemente reconhecem diversos tipos de moléculas da superfície da célula do hospedeiro e de elementos da matriz extracelular e disparam sinais tanto no parasita como na célula hospedeira que culminam com a invasão celular. Os tripomastigotas liberam proteases, peptídeos e glicosidades que provocam também alterações na membrana, no citoesqueleto e nas organelas facilitando a deformação da membrana plasmática e a formação de um vacúolo contendo o parasita no interior da célula hospedeira.

O vacúolo com o parasita é acidificado pela fusão com lisossomos da célula através de sua bomba de prótons. Os lisossomos também depositam no vacúolo parasitário glicoproteínas membranares ricas em ácido siálico que é um carboidrato com carga negativa. Nos lisossomos o ácido siálico protege a membrana da autodigestão pelas enzimas lisossomais. O parasita então libera uma enzima denominada trans-sialidase que remove o ácido siálico das proteínas lisossomais, possibilitando, juntamente com a acidificação, que uma outra proteína do parasita denominada Tc-Tox (peptídeo que tem homologia com o fator 9 do complemento humano) rompa a membrana do vacúolo e o parasita escape para o citosol da célula hospedeira.

O processo de invasão e a acidificação induzem no tripomastigota a dissolução do flagelo por um mecanismo que envolve a ação de proteases endógenas. As formas resultantes e com flagelo diminuto são denominadas amastigotas, e estando localizadas no citosol da célula hospedeira, passam novamente a contar com um ambiente rico em nutrientes. A forma

amastigota passa a se dividir por fissão binária, aproximadamente a cada 16 horas até ocupar todo o espaço celular excetuando o núcleo. Estas formas interagem intimamente entre si e/ou com estruturas ainda não identificadas uma vez que ocupam uma posição bem definida no citoplasma da célula hospedeira.

Quando o parasita ocupa toda a célula ele começa a alongar o seu flagelo transformando-se em uma forma semelhante à forma epimastigota. Nesta fase novas proteínas de superfície, que serão necessárias na fase extracelular do parasita dentro do hospedeiro mamífero, começam a ser sintetizadas. O parasita começa a expressar trans-sialidade e mucinas que irão recobrir a sua superfície. A trans-sialidade que é produzida por estas formas tem na região carboxi-terminal um número variável de repetições de 12 aminoácidos necessárias para a oligomerização da enzima e para estender a sua parte catalítica localizada no amino-terminal da membrana do parasita longe do parasita. Já as mucinas têm cadeias protéicas mais longas, porções glicídicas mais extensas e uma âncora de glicofosfatidilinositol diferente daquela das mucinas encontradas nas formas dos insetos.

O parasita induz o rompimento da célula hospedeira, e já diferenciado em forma tripomastigota escapa para o meio extracelular. A grande quantidade de trans-sialidade presente na superfície dos parasitas captura o ácido siálico presente em proteínas do meio extracelular que são transferidos para as galactoses terminais das mucinas do parasita. Esta sialilação do parasita ajuda a proteger o parasita recém-eclodido da ação de anticorpos naturais, fazendo com que este consiga atingir a corrente sanguínea e disseminar a infecção. A trans-sialidase também é fator importante na passagem do parasita através das células endoteliais, e como ela é liberada na corrente sanguínea, atua na modulação do sistema imune do hospedeiro através da indução de apoptose em diversos tecidos. Ao mesmo tempo a porção lídica das mucinas produzidas por estes tripomastigotas, e a grande quantidade de proteases liberadas pelos parasitas circulantes, atuam em receptores diversos modulando a resposta imune do hospedeiro. Os tripomastigotas circulantes passam em seguida a expressar diversas proteínas da família de glicoproteínas de 80-90 kDa como os tropomastigotas de inseto.

Estas também interagem com proteínas da matriz extracelular como colágeno, fibronectina e laminina, e com receptores da superfície celular, promovendo a retenção e reinvasão de células de forma análoga à descrita anteriormente. Diferentemente das formas de inseto,

estes tripomastigostas liberados das células expressam grandes quantidades de trans-sialidase e rapidamente escapam do vacúolo parasitóforo, o que pode garantir a sobrevivência do parasita em um hospedeiro já imuno-estimulado.

Quando, após ciclos de infecção, em torno de 7 a 30 dias, o número de parasitas circulantes aumenta no hospedeiro, passa a desenvolver uma robusta resposta imunológica e a infecção pode ser controlada. No entanto, alguns parasitas parecem permanecer contribuindo com a patologia da doença de Chagas. O ciclo de vida se completa quando o sangue de um hospedeiro mamífero infectado é novamente sugado pelo inseto vetor [1].

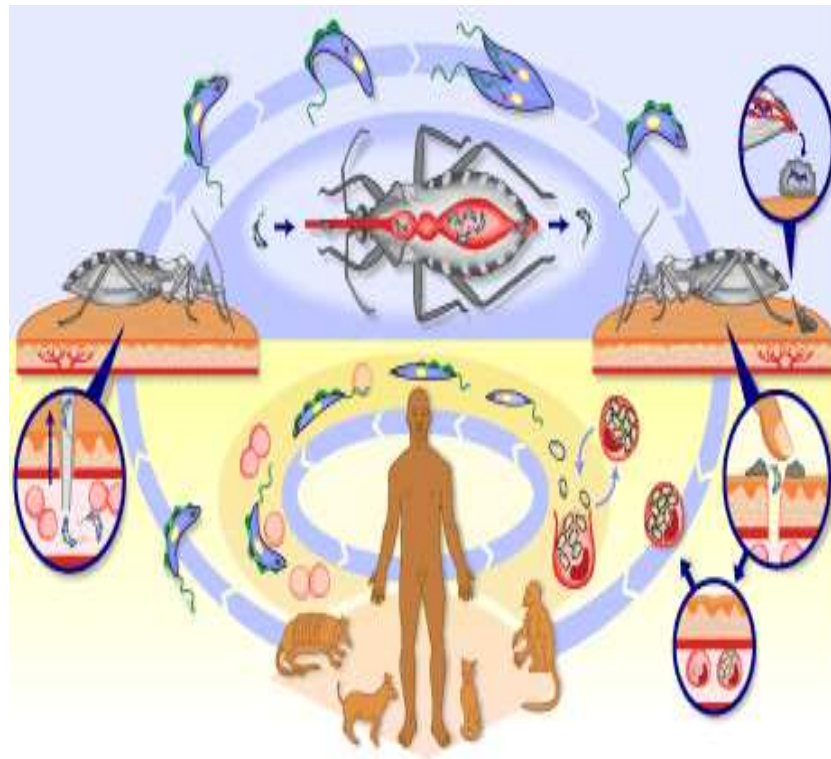


Figura 2.1: Ciclo biológico do *Tripanossoma cruzi* [2].

Na Figura (2.1) mostra-se como ocorre o contágio da doença, a evolução do parasita e também os ciclos biológicos do *Tripanossoma cruzi*. Para que algum animal ou homem seja contaminado, é preciso que o barbeiro infectado defeqe, e que haja alguma porta de entrada para o sangue, que pode ser a picada do inseto, alguma ferida ou as mucosas (boca, olhos ou narinas). Nenhum barbeiro nasce infectado, mas torna-se hospedeiro do parasita

quando se alimenta do sangue de algum animal contaminado. Quando o barbeiro propaga *Tripanossoma cruzi* entre animais diz-se que ocorre o ciclo biológico silvestre. Nesse caso o barbeiro vive na natureza e é chamado de silvestre, ou não domiciliado. Quando ele transmite a doença de homem para homem, configura-se o ciclo biológico doméstico. Para que isso ocorra é necessário que o barbeiro tenha se domiciliado e construído colônias dentro da casa das pessoas. O último ciclo é o paradoméstico, envolvendo barbeiros que moram em sótãos, telhados, porões, ou outros ambientes próximos a residência [10].

Após a infecção pelos *Tripanossomas cruzi*, há um período de incubação (cerca de sete dias), com posterior invasão de vários tipos celulares como células endoteliais, epiteliais e fibroblastos. Porém, o *Tripanossoma cruzi* tem tropismo preferencial por fagócitos mononucleares, células musculares, células adiposas e neurônios [3]. Após a invasão, a patogênese da doença de Chagas pode ser classificada em fases aguda e crônica, de acordo com o tempo da infecção e característica sorológicas.

A fase aguda prolonga-se por cerca de 30 a 90 dias, sendo caracterizada, no geral, por um grande número de *Tripanossomas cruzi* presentes na circulação (parasitemia patente). Em alguns casos, observam-se febre e manifestações clínicas nos locais de entrada como o sinal de Romaña e o chagoma de inoculação. O comprometimento cardíaco nesta fase é frequente, podendo ocorrer miocardite, epicardite e endocardite aguda, assim como taquicardia. No sistema nervoso pode ser observada destruição neuronal intensa e nos órgãos do sistema digestivo podem ocorrer lesões discretas [4] e [5]. No entanto, a maioria das pessoas passa assintomática por essa fase.

A fase crônica é caracterizada pela parasitemia baixa e pelo elevado número de anticorpos circulantes. As manifestações observadas nesta fase são decorrentes do curso intracelular do parasitismo. Ela pode ser dividida em diferentes formas clínicas, denominadas: indeterminada, cardíaca, digestiva, mista ou neurológica [5] e [3]. A forma indeterminada é caracterizada por altos níveis de Imunoglobulina G (IgG) e corresponde ao período assintomático, podendo haver comprometimento cardíaco e digestivo, porém discreto [6], [5] e [3].

A fase crônica sintomática é classificada de acordo com o quadro clínico apresentado pelo chagásico. Na forma cardíaca, ocorrem principalmente miocardite crônica progressiva e fobrosante e/ou hipertrofia do coração (megacárdio). Essas alterações podem se manifestar

através de arritmias e insuficiência cardíaca congestiva. A forma cardíaca é a principal responsável pela ocorrência de morte súbita, que é um fenômeno considerado como a principal causa da morte na doença de Chagas [7]. Os pacientes com a forma digestiva apresentam alterações hipertróficas no esôfago (megaesôfago) e colon intestinal (megacolon), que levam a problemas como disfagia, regurgitação e incoordenação motora [8]. A forma mista é caracterizada pelo comprometimento cardíaco e digestivo concomitantemente. Na forma neurológica, observam-se alterações morfológicas no tecido nervoso central. Em pacientes chagásicos imunodeprimidos é comum o desenvolvimento de meningoencefalite [9].

A duração destas fases pode ser diferente entre os indivíduos, mas o que se observa é um período de até 90 dias para a fase aguda, de até 20 anos para fase crônica indeterminada e um período muito variável para a fase crônica sintomática, dependendo da forma clínica e gravidade do quadro desenvolvido pelo paciente.

2.2 A interação do *Tripanossoma cruzi* com o Sistema Imunológico

O Sistema Imunológico é um dos sistemas mais complexos que existem na natureza, sendo sua principal função fornecer proteção ao organismo contra uma infinidade de agentes patogênicos (parasitas, vírus, bactérias, moléculas estranhas, etc).

O Sistema Imunológico pode ser dividido em duas partes: o sistema inato e o sistema adaptativo. Quando o organismo é invadido por um agente patogênico, o sistema inato é o primeiro a entrar em ação. Sua resposta não é específica, mas em muitos casos é capaz de proteger o organismo. Se isto não acontecer o sistema adaptativo entra em ação. A ação do sistema adaptativo é mais específica, o que resulta em uma resposta mais eficaz.

O sistema imunológico adaptativo habilita o organismo a reconhecer e a responder contra qualquer tipo de micróbio, mesmo que nunca tenha tido contato prévio. Este sistema compreende dois tipos de respostas: uma, dita imunidade humoral e a outra, imunidade celular. A primeira ocorre através da ação de anticorpos, os quais são produzidos por linfócitos denominados células B, as quais são formadas na medula óssea (bone marrow) e é particularmente importante no combate a patógenos circulantes na corrente sanguínea. A segunda

envolve linfócitos que se originam no timo e por isso são chamados de células T. Estas são divididas em dois tipos, as células T-CD4 e T-CD8, estas últimas sendo chamadas de células T citotóxicas por destruírem células infectadas.

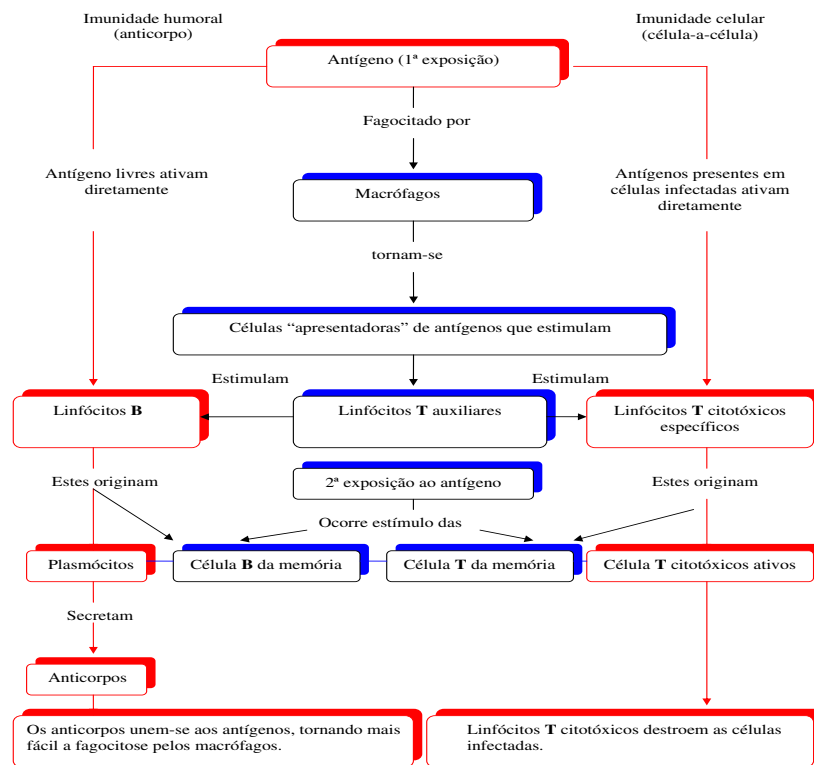


Figura 2.2: Diagrama simplificado do mecanismo de defesa imunitária.

A Figura (2.2) mostra o diagrama simplificado do mecanismo de defesa imunitário. Nesse trabalho vamos considerar somente os antígenos livres do parasita que ativam diretamente os Linfócitos B (Imunidade Humoral) e os antígenos presentes em células infectadas que ativam diretamente os Linfócitos T citotóxicos (Imunidade Celular).

Em se tratando da infecção causada pelo *Trypanosoma cruzi*, acredita-se que as manifestações patológicas tanto na fase aguda quanto na fase crônica da doença sejam consequências de mecanismos multifatoriais relacionados tanto ao parasita quanto ao hospedeiro

vertebrado. Dentre os fatores relacionados ao parasita, estudos em camundongos revelaram que a variabilidade das cepas, o tropismo, a antigenicidade e o tamanho do inóculo são aspectos relevantes [11]. Quanto ao hospedeiro, é importante ressaltar a faixa etária, o estado nutricional e, especialmente, as características imunológicas [12].

Grande parte das manifestações clínicas no hospedeiro se deve à resposta imunológica dirigida contra o parasita. Tanto os pacientes que não desenvolvem sintomas, os da forma indeterminada, quanto os sintomáticos apresentam resposta imunológica contra o parasita [13]. A estimulação do sistema imune é crucial na redução da carga parasitária, mas, por outro lado, pode contribuir para o agravamento dos sintomas clínicos.

Os mecanismos imunológicos que controlam a infecção natural ou experimental pelo *Tripanossoma cruzi* têm sido muito estudados nas últimas décadas. Diversas evidências mostram a participação de componentes diversos da resposta imunológica inata e adquirida, tanto na resistência quanto na patogênese da infecção [14].

A imunidade inata atua como componente chave da resistência do hospedeiro contra o *Tripanossoma cruzi*. As células natural killer (NK) desempenham papel fundamental na fase inicial da infecção, limitando o crescimento parasitário e/ou promovendo o desenvolvimento da imunidade celular adquirida [15]. Tradicionalmente, os mecanismos principais desempenhados pelas células NK se relacionam com a destruição das células-alvo e com a produção de citocinas envolvidas com a sensibilização de outras células imunes. Deve ser lembrado que as células NK são importantes fontes de citocinas relevantes na ativação de outras células, como macrófagos, capacitando-as a destruir microorganismos intra e extracelulares. Estudos demonstraram que a fase aguda tardia da doença de Chagas é caracterizada por aumento seletivo de uma linhagem de células NK com fenotipo CD16+CD56-, sugerindo uma habilidade de antígenos derivados do *Tripanossoma cruzi* em promover a ativação de células NK, mesmo na ausência de ativação de linfócitos [16].

Outros estudos demonstraram que a infecção dos macrófagos pelo *Tripanossoma cruzi* pode induzir a secreção de IL-12 por essas células, o que leva ao aumento da produção de IFN- γ e TNF- α , resultando em controle da parasitemia e da mortalidade [17] e [18].

Outro aspecto importante pertinente à imunidade inata está relacionado com a resistência de formas tripomastigotas do *Tripanossoma cruzi* à ação do complemento [19]. O *Tripanos-*

soma cruzi é capaz de induzir prontamente a ativação de proteínas e enzimas efetoras da cascata de complemento que destroem as formas epimastigotas não infectantes, mas que não destroem as formas tripomastigotas, por serem resistentes a ação lítica da cascata. Várias glicoproteínas expressas na membrana das formas tripomastigotas participam dessa resistência, incluindo a proteína reguladora do complemento (CRP), inibindo a formação da C3 convertase e impedindo a lise [20].

Além do envolvimento da imunidade inata, observa-se também, uma ativação inespecífica do sistema imunológico humoral, acompanhada de uma resposta policlonal de linfócitos T e B [21].

A imunidade mediada por anticorpos constitui um importante mecanismo de defesa do hospedeiro vertebrado contra o *Tripanossoma cruzi*, na fase crônica da infecção, e parece ser responsável pela sobrevivência dos vertebrados suscetíveis, inclusive o homem [22], por manter, nesta fase, uma parasitemia sub-patente. A ação protetora dos anticorpos pode ser efetiva por vários mecanismos que, isoladamente ou em conjunto, destruirão o parasita. Em 1982, Krettli e Brener [23] introduziram a idéia de anticorpos dotados de atividade lítica (AL), pois verificaram que existia uma dissociação entre os anticorpos envolvidos no diagnóstico da doença de Chagas e aqueles que participavam da resistência contra o parasita. Romeiro, Taekehara e Mota [24] verificaram que os anticorpos líticos pertenciam à classe IgG, subclasses IgG1 e IgG2, além de demonstrar que somente os anticorpos líticos presentes no soro de indivíduos chagásicos eram capazes de mediar a citotoxicidade celular mediada por anticorpos (ADCC - antibody dependent cell cytotoxicity) [25].

Em relação à imunidade celular, embora inúmeros trabalhos tenham definido a importância das sub-populações de linfócitos CD4+ e CD8+ na infecção experimental pelo *Tripanossoma cruzi*, esse aspecto ainda não está totalmente definido na infecção humana. As células CD4+ são importantes na proteção contra a infecção pelo *Tripanossoma cruzi*, uma vez que são necessárias para a indução da produção de anticorpos líticos e produzem citocinas como IFN- γ , que auxiliam na destruição de formas intracelulares do parasita [26]. Também tem sido verificada a participação de células CD8+ na imunidade e patogênese chagásica humana, principalmente nos mecanismos envolvendo citólise e fibrose que levam à destruição da miofibrila cardíaca na cardiopatia chagásica [27].

Também as citocinas desempenham papel importante na regulação da resposta imunológica, e estão envolvidas tanto na resistência quanto nos mecanismos relacionados com a imunopatologia na doença de Chagas. O IFN- γ tem sido considerado, por alguns autores, como uma citocina protetora, uma vez que ao estimular macrófagos, estes produzem metabólitos tóxicos para o parasita. Por outro lado, IL-4, IL-10 e TGF- γ são capazes de suprimir a ativação dos macrófagos induzida por IFN- γ , inibindo tanto a liberação dos metabólitos tóxicos quanto a diferenciação das células Th1 [28]. Entretanto, relataram uma associação entre a produção de IFN- γ por células CD3+CD4+ e a forma cardíaca, enquanto a produção de IL-10 por macrófagos/monócitos estava relacionada à regulação da resposta imunológica em pacientes da forma indeterminada [29].

2.3 Vacinas: experiência atual

Em muitos lugares da América Latina a transmissão vetorial do *Tripanossoma cruzi* ainda ocorre. Em algumas destas regiões poderá não ser tão fácil eliminar a transmissão vetorial através do uso de inseticidas. Neste caso, os indivíduos podem contrair a doença de Chagas se outra opção de prevenção não lhes for dada. A situação destes indivíduos fica ainda mais dramática se for considerado que muitas cepas de *Tripanossoma cruzi* não respondem ao tratamento com as drogas comerciais disponíveis. Assim, estes indivíduo que vivem em região endêmica, tem mais chance de ser infectados, e além disso, ter dificuldades em se tratar da doença de chagas. Nesta situação, o desenvolvimento de uma vacina contra esta infecção poderia ser uma forma de se reduzir a incidência da doença de Chagas.

A resposta imune protetora na infecção pelo *Tripanossoma cruzi* envolve principalmente os mecanismos imunológicos que resultam na produção de anticorpos específicos para antígenos do parasita e a resposta imune envolvendo células com atividade citotóxica, ou seja, capazes de matar células infectadas ou expressando antígenos do parasita, em especial os linfócitos T citotóxicos (Figura 2.3). Visando desenvolver uma vacina recombinante contra doença de Chagas que estimulasse estes mecanismos protetores, pesquisadores da Fiocruz e do Centro Interdisciplinar de Terapia Gênica da Universidade Federal de São Paulo se juntaram para construir adenovírus recombinantes contendo antígenos do *Tripanossoma cruzi*.

Os antígenos escolhidos foram a trans-sialidase (TS, Figura 2.4) e a Proteína 2 da Superfície de Amastigotas (ASP-2, Figura 2.5). A TS é uma proteína presente na superfície das formas tripomastigotas (infectivas). A ASP-2 é uma proteína da superfície das formas amastigotas (replicativas) do *Trypanosoma cruzi*. Os genes referentes a estes antígenos foram inseridos no genoma do adenovírus tipo 5 que é deficiente em replicação (Figura 2.6). Este vetor está sendo utilizado para o desenvolvimento de diversas vacinas comerciais recombinantes. Os adenovírus recombinantes foram selecionados e preparados para experimentos de imunização em camundongos isogênicos.

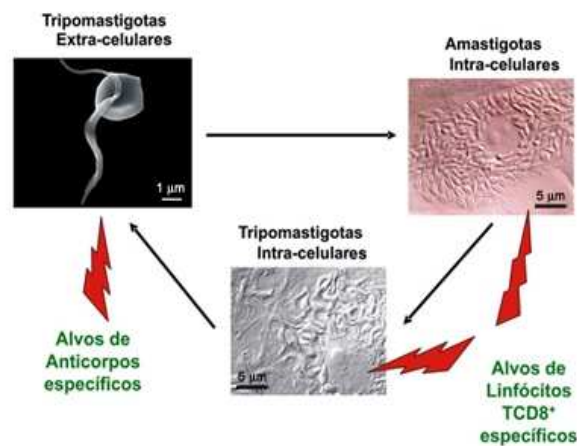


Figura 2.3: Mecanismos imunes efetores na infecção pelo *Trypanosoma cruzi* [1].



Figura 2.4: Trans-sialidase de tripomastigota de *Trypanosoma cruzi*. Epítopos envolvidos na resposta imune protetora [1].

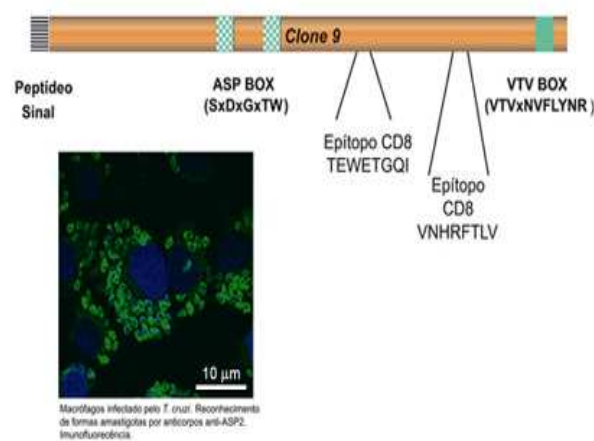


Figura 2.5: Proteína de superfície 2 de *Trypanosoma cruzi*. Epítopos envolvidos na resposta imunológica protetora [1].

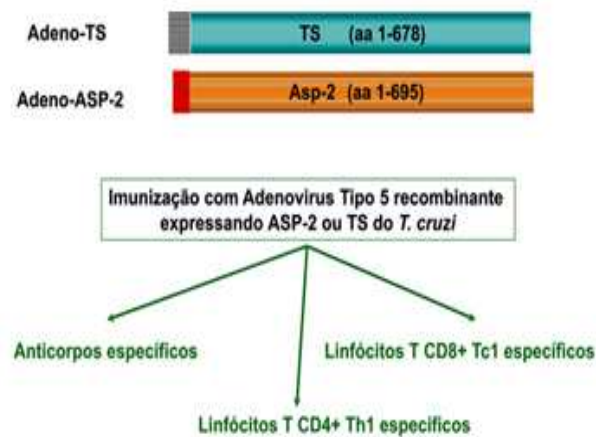


Figura 2.6: Construções vacinais em adenovírus tipo 5 recombinante expressando ASP-2 e TS do *Trypanosoma cruzi*. Componentes do sistema imune envolvidos na resposta imunológica protetora [1].

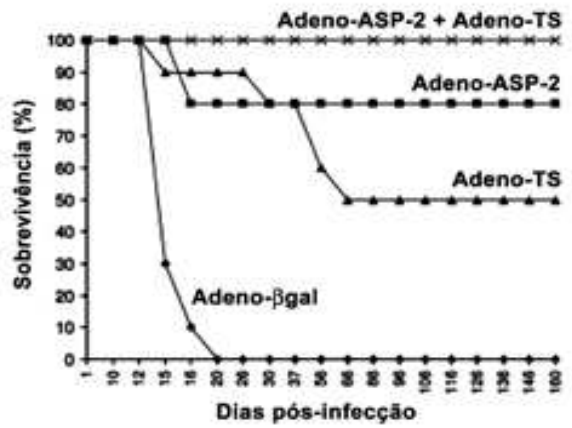


Figura 2.7: Imunidade protetora das construções vacinais em adenovírus tipo 5 recombinante expressando ASP-2 e TS do *Trypanosoma cruzi*. Curva de sobrevivência de camundongos BALB/c vacinados [1].

Experimentos em camundongos isogênicos demonstraram que a vacinação com estes adenovírus recombinantes induziram um estado de imunidade mediada por anticorpos, linfócitos T CD4 do tipo Th1 e CD8 do tipo Tc1. Após o desafio com o *Trypanosoma cruzi*, os animais vacinados sobreviveram à infecção experimental. Já os animais que receberam um adenovírus expressando um gene não relacionado, sucumbiram a esta (Figura 2.7). No momento esta vacina está em teste em modelos murinos com desafio com cepas que resultam em cardiomiopatia crônica e, dependendo dos resultados, também será testada em modelo de infecção de primatas não humanos que reproduzem aspectos da infecção crônica pelo *Trypanosoma cruzi* e da doença de Chagas, como mostrado por Carvalho e colaboradores [1].

Capítulo 3

Modelagem Matemática - Imunidade Humoral

Dois modelos matemáticos são apresentados para descrever uma ação do sistema imunológico. Neste e no próximo capítulo, analisamos o processo de infecção do *Trypanossoma cruzi* e seu mecanismo de delimitação no organismo do hospedeiro, quando os anticorpos e os linfócitos T citotóxicos interagem com o parasita.

Para facilitar a análise do modelo matemático, inicialmente vamos apresentar uma seção que descreve o comportamento do sistema imunológico isolado. Posteriormente, voltaremos nossa atenção para os dois modelos matemáticos, que tem por finalidade descrever matematicamente o comportamento do organismo na presença de antígenos do parasita *Trypanossoma cruzi*.

Este capítulo se dedica ao estudo de um modelo matemático que descreve, de maneira simplificada, os mecanismos de produção de anticorpos pela ativação direta das células B diante da presença de um antígeno do *Trypanossoma cruzi*.

3.1 Sistema Imunológico Isolado

O corpo humano procura manter equilíbrio, por meio de homeostasia das células que participam da resposta imunológica, como os macrófagos, as células B, T e apresentadoras de antígenos. Essa homeostasia pode ser descrita por meio de um sistema dinâmico que considera uma taxa de produção constante k_b na medula óssea de células de defesa e k_c células-alvo (fagócitos mononucleares, células musculares, células adiposas e neurônios) já existentes. Estas células tem o tempo médio de vida dados por μ_b^{-1} e μ_c^{-1} , na qual μ_b e μ_c são as taxas de mortalidade das células B e das células-alvo, respectivamente. Assim, o sistema dinâmico em ‘repouso’ é descrito por:

$$\begin{cases} \frac{dC}{dt} = k_c - \mu_c C \\ \frac{dB}{dt} = k_b - \mu_b B, \end{cases} \quad (3.1)$$

onde C e B designam células-alvo e células B no instante de tempo t .

Calcula-se o estado estacionário do sistema. Um estado estacionário ou ponto de equilíbrio é a situação em que o sistema mantém seus valores. As soluções que correspondem a este estado são conhecidas como pontos de equilíbrio, os quais são precisamente as que anulam as derivadas em todo tempo t . O ponto de equilíbrio do sistema dinâmico linear (3.1) é único e é dado por:

$$\begin{cases} \bar{C} = \frac{k_c}{\mu_c} \\ \bar{B} = \frac{k_b}{\mu_b}. \end{cases} \quad (3.2)$$

que é um atrator global, pois a solução para este sistema é, com $C(0) = 0$ e $B(0) = 0$:

$$\begin{cases} C = \frac{k_c}{\mu_c}(1 - e^{-\mu_c t}) \\ B = \frac{k_b}{\mu_b}(1 - e^{-\mu_b t}). \end{cases} \quad (3.3)$$

Quando $t \rightarrow \infty$, a solução tende ao ponto de equilíbrio, pois os segundos membros são funções exponenciais decrescentes.

A homeostasia age para evitar tanto a diminuição quanto o aumento das células, mantendo em equilíbrio. Isto faz com que mecanismos além da produção constante das células do sistema imunológico devem fazer parte para que ocorra rápido aumento nestas populações, e, posteriormente, leve rapidamente para valores de equilíbrio. Sendo o sistema imunológico um mecanismo de defesa bastante robusto nestes aspectos, o aumento das células é mediado por proliferação e, após debelar um invasor, retorna rapidamente aos valores de equilíbrio por apoptose (morte programada das células).

Quando o parasita invade e replica-se rapidamente para se estabelecer no organismo do hospedeiro, o hospedeiro reage ao corpo estranho através da resposta imunológica. A batalha entre hospedeiro e parasita terá um desfecho: o invasor rechaçado ou uma infecção crônica.

3.2 Modelo de Imunidade Humoral

Conhecendo a biologia do parasita protozoário *Trypanosoma cruzi*, bem como sua interação com o sistema imunológico, apresentaremos um modelo matemático que descreve a dinâmica da resposta imunológica humana diante de um estímulo antigênico provocado pela infecção por *Trypanosoma cruzi*.

A dinâmica do sistema imunológico interagindo com o parasita *Trypanosoma cruzi* considerada imunidade humoral, isto é, que se dá quando antígenos livres do *Trypanosoma cruzi* presentes na corrente sanguínea na forma tripomastigotas ativam diretamente os Linfócitos B ou célula B, que passa por um processo de diferenciação, transformando-se em plasmócitos, os quais, sob efeito de citocinas produzem milhares de anticorpos que são liberados na corrente sanguínea. Estes anticorpos, ao encontrarem os parasitas portadores daquele antígeno,

atam-se a eles sinalizando aos macrófagos ou células do sistema de complementos que estes parasitas devem ser eliminados do organismo.

O processo de desenvolvimento de um modelo matemático envolve o estudo da dinâmica do sistema imunológico isolado e a sua interação com agente invasor. Assim, poderemos obter um cenário quantitativo da complexa interação do sistema imunológico com o parasita.

O modelo considera o parasita *Trypanossoma cruzi* circulando na corrente sanguínea na forma tripomastigota que fica dentro de um vacúolo que se funde com os lisossomos da célula hospedeira, seja por recente contato na corrente sanguínea, seja por recente contato com o hospedeiro ou multiplicação de patógenos em suas células ou tecidos. Estes, designados por T , representam o número de parasitas *Trypanossoma cruzi* que tenham invadido um hospedeiro e que se replicam através de um processo de diferenciação para forma amastigota, sendo então liberado para o citoplasma da célula hospedeira, onde se multiplica diversas vezes (por divisão binária, assexuada), sendo que sua multiplicação está limitada pela disponibilidade das células-alvo (fagócitos mononucleares, células musculares, células adiposas e neurônios), onde ocorrem as sínteses protéicas para a sua replicação. Considera-se que parte destes *Trypanossoma cruzi* são inviabilizados naturalmente (replicação defeituosa ou dificuldade em encontrar células-alvo) a uma taxa de “mortalidade” μ_t , e parte deles são debelados do organismo devido à ação do sistema imunológico a uma taxa ϵ .

A eliminação do *Trypanossoma cruzi* ocorre principalmente através de seu encontro com anticorpos produzidos para este fim, porém, como a concentração de anticorpos é proporcional à quantidade de plasmócitos que os produziu, designados por B_p , o modelo considera que a concentração de anticorpos é proporcional a célula B_p , que, em contato com o *Trypanossoma cruzi*, provoca a morte deste.

Antes da penetração do *Trypanossoma cruzi* no interior das células, o parasita passa um tempo muito curto na corrente sanguínea onde começa os processos iniciais de reconhecimento e invasão do parasita com objetivo de infectar as células-alvo (fagócitos mononucleares, células musculares, células adiposas e neurônios), através de um processo de entrada relativamente complexo, envolvendo diferentes receptores/ligantes nas duas células envolvidas. No nosso modelo esse processo de infecção é representado pelo termo αTC , onde α é o coeficiente de infecção de parasita. Após a penetração, as células-alvo tornam-se infectadas

e toda a sua estrutura celular é desviada para a replicação do parasita, o que resulta na liberação de um número τ de parasita e a morte celular.

A resposta imunológica humoral neste modelo é representada diretamente pela atuação das células B (produzem anticorpos), sendo considerado que o encontro de uma célula B com o *Trypanossoma cruzi* pode resultar na sua ativação, o que ocorre a uma taxa β . O processo de apresentação do *Trypanossoma cruzi* a células apresentadoras de *Trypanossoma cruzi* (células “Natural Killer” (NK), neutrófilos, macrófagos e eosinófilos), bem como reconhecimento e um organismo estranho que deve ser eliminado, estão implícitos no modelo através da taxa de ativação das células B, mediante o seu encontro com o *Trypanossoma cruzi*. A ação dos anticorpos (produzidos pelas células B plasmáticas) sobre o *Trypanossoma cruzi* é descrita pelo termo ϵTB_p .

As células B ativadas ou plasmócitos, B_p , ao encontrarem um *Trypanossoma cruzi*, através do estímulo de citocinas, dividem-se por um processo de clonagem, a uma taxa γ , que é descrito pelo termo $\gamma B_p T$, assim como a ativação das células B é proporcional à concentração de *Trypanossoma cruzi*, descrito pelo termo βTB .

Tabela 3.1: Definição das variáveis e parâmetros utilizados no modelo matemático (3.4).

Variável/Parâmetro	Definição	Dimensão
T	População de <i>Trypanosoma cruzi</i>	[concentração]
B	População de células B ou Linfócitos B	[concentração]
C	População de células-alvo	[concentração]
B_p	População de células B ativadas ou plasmócitos	[concentração]
α	Coefficiente (taxa) de infecção do <i>Trypanosoma cruzi</i>	[concentração] $\times$ [tempo] ⁻¹
β	Taxa de interação de Linfócitos B e <i>Trypanosoma cruzi</i>	[concentração] $\times$ [dia] ⁻¹
ϵ	Taxa de eficiência dos anticorpos	[concentração] $\times$ [dia] ⁻¹
γ	Taxa de clonagem de plasmócitos	[concentração] $\times$ [dia] ⁻¹
τ	Coefficiente de replicação dos <i>Trypanosoma cruzi</i>	adimensional
k_c	Taxa de produção de células-alvo	[concentração] $\times$ [tempo] ⁻¹
k_b	Taxa de produção de células B ou Linfócitos B	[concentração] $\times$ [tempo] ⁻¹
μ_c	Taxa de mortalidade de células-alvo	[dia] ⁻¹
μ_b	Taxa de mortalidade de células B ou Linfócitos B	[dia] ⁻¹
μ_p	Taxa de mortalidade de células B ativadas	[dia] ⁻¹

As variáveis e os parâmetros utilizados no modelo são apresentados na tabela 3.1.

Utilizaremos a dinâmica do sistema (3.1) montado como o sistema imunológico em “dormência”, considerando que o compartimento T do parasita vai “ativar” o sistema adaptativo e considerando, então, o compartimento B das células B ou linfócitos B do sistema imunológico (cuja dinâmica em repouso é dada em (3.1)). Então, para facilitar a compreensão da dinâmica de interação entre sistema imunológico e *Trypanosoma cruzi*, é apresentado na figura 3.1 um diagrama de fluxo com os quatro compartimentos já citados anteriormente.

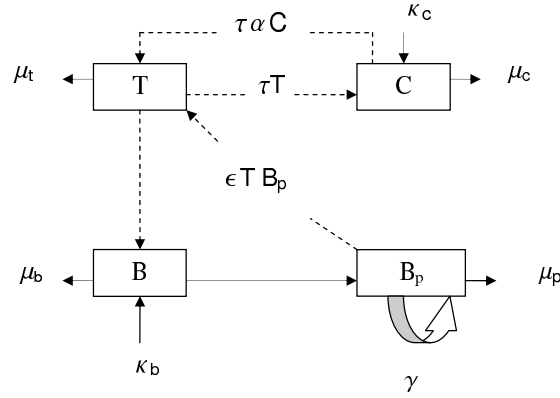


Figura 3.1: Esquema da dinâmica populacional entre o sistema imunológico e o parasita *Tripanossoma cruzi* utilizando os compartimentos do sistema de equação diferenciais ordinárias (3.4). As flechas pontilhadas indicam o fluxo entre as populações, enquanto as flechas cheias, indica a influência.

Considerando as hipóteses acima, a interação entre o sistema imunológico (Imunidade Humoral) e *Tripanossoma cruzi* pode ser descrita através do seguinte sistema de equações diferenciais ordinárias

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dT}{dt} = \tau\alpha TC - \mu_t T - \epsilon TB_p \\ \frac{dC}{dt} = k_c - \mu_c C - \alpha TC \\ \frac{dB}{dt} = k_b - \mu_b B - \beta TB \\ \frac{dB_p}{dt} = \beta TB - \mu_p B_p + \gamma B_p T. \end{array} \right. \quad (3.4)$$

A região de interesse biológico é

$$\Omega = \{(T, C, B, B_p) \in R^4 | T \geq 0, C \leq C_0, B \geq 0, B_p \geq 0\}, \quad (3.5)$$

em que $C_0 = \frac{k_c}{\mu_c}$ é a população das células-alvo antes da infecção do parasita.

Note que essa região de interesse biológico é positivamente invariante sob o fluxo induzido pelo sistema (3.4), pois analisando o campo vetorial, todos os pontos em Ω permanecem no interior dessa região ou nas fronteiras.

3.3 Ponto de Equilíbrio Trivial

Apresentaremos a análise do sistema de equações (3.4), determinando, primeiramente o ponto de equilíbrio trivial e estudando a estabilidade deste ponto.

Igualando a zero os membros esquerdos do sistema (3.4) temos

$$\begin{cases} \tau\alpha TC - \mu_T T - \epsilon TB_p = 0 \\ k_c - \mu_c C - \alpha TC = 0 \\ k_b - \mu_b B - \beta TB = 0 \\ \beta TB - \mu_p B_p + \gamma B_p T = 0. \end{cases} \quad (3.6)$$

Analisando a primeira equação, obtém-se duas condições para a variável T :

Se $\overline{T} = 0$; da segunda equação vem que $\overline{C} = \frac{k_c}{\mu_c}$; da terceira temos $\overline{B} = \frac{k_b}{\mu_b}$ e consequentemente obtemos $\overline{B}_p = 0$. Então um ponto de equilíbrio trivial é $\overline{P}_{e0} = (0, \overline{C}, \overline{B}, 0)$, definido por

$$\overline{P}_{e0} = \left(0, \frac{k_c}{\mu_c}, \frac{k_b}{\mu_b}, 0\right). \quad (3.7)$$

Esse ponto biologicamente significa que sistema imunológico está em repouso, representando a situação do *Tripanossoma cruzi* ou por não ter ocorrido infecção ou subsequente a uma resposta imunológica bem sucedida.

Se $\overline{C} = 0$ e $\overline{B} = 0$, obtemos $k_c = 0$ e $k_b = 0$, o que não é verdade, pois assim não existiria taxa de reposição das e das célula B.

Portanto o único ponto de equilíbrio trivial do sistema de equações é $\overline{P}_{e0} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B}_p)$, onde $\overline{C} = \frac{k_c}{\mu_c}$, $\overline{B} = \frac{k_b}{\mu_b}$, e $\overline{T} = \overline{B}_p = 0$, ou seja, $\overline{P}_{e0} = \left(0, \frac{k_c}{\mu_c}, \frac{k_b}{\mu_b}, 0\right)$.

3.3.1 Análise da Estabilidade Local

A estabilidade local de um ponto de equilíbrio é determinada pelos autovetores correspondentes à matriz jacobiana associado ao sistema de equações e calculada no ponto. A matriz jacobiana associada ao sistema de equações (3.4) é dada por

$$J = \begin{pmatrix} (\tau\alpha C - \mu_t - \epsilon B_p) & \tau\alpha T & 0 & -\epsilon T \\ -\alpha C & -(\mu_c + \alpha T) & 0 & 0 \\ -\beta B & 0 & -(\mu_b + \beta T) & 0 \\ (\beta B + \gamma B_p) & 0 & \beta T & -(\mu_p - \gamma T) \end{pmatrix}.$$

Para estudar a estabilidade local dos pontos de equilíbrio é necessário analisarmos as raízes da equação característica dada por $\det(J - \lambda I)$. Devemos mostrar que os autovaleiros associados a essa equação são negativos (se reais) ou possuem parte real negativa (se complexos). Para isso utilizam-se critérios de *Routh-Hurwitz* descritos no Apêndice B.

Teorema 3.3.1. *O ponto de equilíbrio trivial $\overline{P}_{e0}$ é localmente e assintoticamente estável se $\alpha < \alpha^*$.*

Demonstração:

A matriz Jacobiano J do sistema (3.4) calculada no ponto $\overline{P}_{e0}$ resulta

$$J_{e0} = \begin{pmatrix} \frac{\tau\alpha k_c}{\mu_c} - \mu_t & 0 & 0 & 0 \\ -\frac{\alpha k_c}{\mu_c} & -\mu_c & 0 & 0 \\ -\frac{\beta k_b}{\mu_b} & 0 & -\mu_b & 0 \\ \frac{\beta k_b}{\mu_b} & 0 & 0 & -\mu_p \end{pmatrix}.$$

O polinômio característico obtido ao resolver $\det(J_{e0} - \lambda I)$ é dado por:

$$\varphi(\lambda) = [-\mu_t + \frac{\tau\alpha k_c}{\mu_c} - \lambda](-\mu_c - \lambda)(-\mu_b - \lambda)(-\mu_p - \lambda), \quad (3.8)$$

cujas raízes são:

$$\begin{cases} \lambda_1 = \frac{\tau k_c}{\mu_c}(\alpha - \alpha^*) \\ \lambda_2 = -\mu_c \\ \lambda_3 = -\mu_b \\ \lambda_4 = -\mu_p, \end{cases} \quad (3.9)$$

onde

$$\alpha^* = \frac{\mu_c \mu_t}{\tau k_c}. \quad (3.10)$$

Assim, para $\alpha < \alpha^*$, o autovalor λ_1 é negativo e, assim como os demais autovalores de $\varphi(\lambda) = \det(J - \lambda I)$, dada por (3.9), são negativos.

Logo, o equilíbrio trivial $\bar{P}_{e0}$, dado pelas coordenadas da equação (3.7), é localmente e assintoticamente estável se $\alpha < \alpha^*$; e instável se $\alpha > \alpha^*$. Assim a bifurcação ocorre no valor $\alpha = \alpha^*$.

Desta forma, o número de replicabilidade do parasita, R_t , é então definido por

$$R_t = \frac{\alpha}{\alpha^*} = \frac{\tau \alpha k_c}{\mu_c \mu_t}, \quad (3.11)$$

onde $\frac{1}{\mu_t}$ é o tempo médio da sobrevivência do parasita. Nesse tempo médio ele pode infectar um número de que indica $\frac{\alpha k_c}{\mu_c}$. Desta maneira, R_t corresponde ao número médio de células infectadas com sucesso gerado de uma célula-alvo infectada por um parasita.

Assim, quando $R_t < 1$, o equilíbrio trivial $\bar{P}_{e0}$ é localmente e assintoticamente estável e a doença é eliminada no indivíduo, ou seja, se uma célula infectada gerar em média uma célula infectada, a infecção é debelada, o que significa que a população de parasitas tende à extinção. Quando $R_t > 1$, o equilíbrio trivial $\bar{P}_{e0}$ é instável e a infecção deflagra, ou seja, quanto maior é esse valor, mais parasitas vai produzir.

3.3.2 Estabilidade Global

Os resultados da linearização do sistema e simulações numéricas mostram que o ponto de equilíbrio $\bar{P}_{e0}$, é localmente estável, e todas as trajetórias com condições iniciais na região de interesse biológico $\Omega = \{(T, C, B, B_p) \in R^4 | T \geq 0, C \leq C_0, B \geq 0, B_p \geq 0\}$ aproximam-se deste equilíbrio sob a condição de que $\alpha < \alpha^*$. Mostra-se que $\bar{P}_{e0}$ é global e assintoticamente estável para $\alpha < \alpha^*$.

A análise estabilidade global envolve o conceito das *Funções Lyapunov* [30]. A seguir, serão enunciados alguns resultados relacionados a teoria de Lyapunov. Supondo-se por simplicidade que o ponto de equilíbrio seja zero.

Usa-se a seguinte notação para sistema autônomo:

$$\dot{x} = f(x), \quad f : R^n \longrightarrow R^n. \quad (3.12)$$

Definição 3.3.2. *Seja $V : \Omega \subset R^n \longrightarrow R$ uma classe de funções C^1 , definida num conjunto Ω que contém uma bola fechada $\overline{B_R(0)}$, com centro na origem. Dizemos que V é uma função de Lyapunov quando:*

$$\begin{cases} V(0) = 0 \\ V(x) > 0 \text{ se } x \neq 0 \\ \dot{V}(x) \leq 0, \forall x, \end{cases} \quad (3.13)$$

onde $\dot{V} : \Omega \longrightarrow R$ é definida por

$$\dot{V}(x) = \langle (\Delta V)(x), f(x) \rangle. \quad (3.14)$$

A função V é decrescente ao longo das soluções, portanto é limitada inferiormente. Além disso, dizemos que V é uma função de Lyapunov estrita, quando temos em (3.13) a desigualdade estrita para $x \neq 0$.

Teorema 3.3.3. (La Salle - Lyapunov) Sejam V uma função continuamente diferenciável, $U = \{\bar{x} \in R^n | \dot{V}(\bar{x}) < k\}$, $k \in R$ e $\dot{V}(\bar{x}) \leq 0$, e M é o maior conjunto invariante em $S = \{\bar{x} \in U | \dot{V}(\bar{x}) = 0\}$.

Então toda trajetória que começa em U e permanece limitada aproxima para M .

Teorema 3.3.4. Para uma função de Lyapunov para o sistema autônomo, então o equilíbrio, $x(t) \equiv Q$, é estável. Se a função de Lyapunov for estrita, então, a solução nula é assintoticamente estável.

Agora, provaremos o seguinte resultado para estabilidade global.

Teorema 3.3.5. Assumindo $\alpha < \alpha^*$, então as trajetórias do sistema (3.4) que começam em Ω aproximam ao conjunto invariante $\Omega_0 = (0, C_0, B_0, 0)$.

Para provar que o equilíbrio trivial é global e assintoticamente estável, utiliza-se a seguinte função de Lyapunov:

$$V = \frac{T}{C_0}. \quad (3.15)$$

A sua derivada orbital é:

$$\dot{V} = \left[\frac{1}{C_0 k_c \alpha^*} \left(\alpha - \alpha^* \frac{C_0}{C} \right) C - \frac{\epsilon B_p}{C_0} \right] T. \quad (3.16)$$

Agora, observamos que o subconjunto de Ω em que $\dot{V} = 0$ é definido pelas seguintes condições:

- (1) $\dot{V} < 0$. Para que a derivada da função de Lyapunov seja negativa, o termo entre parênteses da equação (3.16) tem que ser negativo, i.é., $\alpha < \alpha^* \frac{C_0}{C}$. Na região de interesse biológico (3.5), temos $C \leq C_0$, que corresponde ao ponto de equilíbrio trivial local e assintoticamente estável, então $\alpha < \alpha^*$, portanto, $\dot{V} < 0$;
- (2) $\dot{V} = 0$: Provaremos que $\overline{P}_{e0} = (0, C_0, B_0, 0)$ é o conjunto invariante do modelo.

Nesse conjunto, o sistema (3.4) reduz a

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dT}{dt} = 0 \\ \frac{dC}{dt} = k_c - \mu_c C \\ \frac{dB}{dt} = k_b - \mu_b B \\ \frac{dB_p}{dt} = 0, \end{array} \right. \quad (3.17)$$

Dessas equações tem-se que $T = 0$, $C \rightarrow C_0$, $B \rightarrow B_0$ e $B_p = 0$, quando $t \rightarrow \infty$.

Quando $\dot{V} = 0$, tem-se $T = 0$. Se não existir *Tripanossoma cruzi* no organismo do hospedeiro, pelas equações (3.4), teremos $C = C_0$, $B = B_0$, $B_p = 0$.

Logo o conjunto invariante é $\overline{P}_{e0} = (0, C_0, B_0, 0)$.

Portanto, mostramos que o subespaço invariante maximal contido em $\dot{V} = 0$ é precisamente Ω_0 , o que prova que o equilíbrio trivial é global e assintoticamente estável para $\alpha < \alpha^*$.

3.4 Ponto de Equilíbrio não-trivial

O equilíbrio não-trivial do sistema (3.4), que representa a co-existência de todas as variáveis que compõem o modelo, ou seja, a presença do parasita *Trypanosoma cruzi* juntamente com as células B do sistema imunológico que estão sendo considerados, é dado por $P = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{B}, \bar{B}_p)$, em que

$$\begin{cases} \bar{C} = \frac{k_c}{\mu_c + \alpha \bar{T}} \\ \bar{B} = \frac{k_b}{\mu_b + \beta \bar{T}} \\ \bar{B}_p = \frac{\beta k_b \bar{T}}{(\mu_b + \beta \bar{T})(\mu_p - \gamma \bar{T})}. \end{cases} \quad (3.18)$$

Como não tem significado falar em número de células negativos, para que o ponto analisado tenha significado biológico, devemos ter:

$$(\bar{T}, \bar{C}, \bar{B}, \bar{B}_p) \geq 0. \quad (3.19)$$

Assim, o valor de γ em (3.18), para que condição (3.19) seja satisfeita, deve ser:

$$\gamma < \frac{\mu_p}{\bar{T}} = \gamma^*, \quad (3.20)$$

onde γ^* é o valor limiar.

Portanto, para que o ponto de equilíbrio endêmico seja viável, isto é, $\bar{T} > 0$ e $\bar{B}_p > 0$, é necessário que

$$\alpha > \alpha^* \quad e \quad \bar{T} < \frac{\mu_p}{\gamma} = \bar{T}_*. \quad (3.21)$$

O valor de $\bar{T}$ é obtido como raízes positivas da equação de terceiro grau

$$P(T) = (\alpha\beta\gamma\mu_t) \times Q(T), \quad (3.22)$$

onde

$$Q(T) = L_{b3}\bar{T}^3 + L_{b2}\bar{T}^2 + L_{b1}\bar{T} + L_{b0} \quad (3.23)$$

foi obtida substituindo as coordenadas $\bar{C}$, $\bar{B}$ e $\bar{B}_p$, em função de $\bar{T}$, dadas pelas equações (3.18). Os coeficientes L_{b3} , L_{b2} , L_{b1} e L_{b0} são dados por

$$\begin{cases} L_{b3} = 1 \\ L_{b2} = -\left(\frac{\tau k_c}{\mu_t}\right) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right) \left(1 - \frac{\beta_*}{\beta}\right) \left(1 - \frac{\gamma_2}{\gamma}\right) \\ L_{b1} = -\left(\frac{\mu_b}{\beta}\right) \left(\frac{\tau k_c}{\mu_t}\right) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right) \left(1 - \frac{\gamma_1}{\gamma}\right) \\ L_{b0} = \left(\frac{\mu_b}{\beta}\right) \left(\frac{\mu_p}{\gamma}\right) \left(\frac{\tau k_c}{\mu_t}\right) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right), \end{cases} \quad (3.24)$$

onde β_* valor especial de β (taxa de encontro de *Trypanosoma cruzi* com a célula B), que é dados por

$$\beta_* = \frac{\alpha\mu_b\mu_t}{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)},$$

e temos γ_1 e γ_2 valores especiais de γ (taxa de clonagem das células B ativadas ou plasmócitos) dados por

$$\gamma_1 = \frac{k_b\mu_c(\beta - \beta_1)(\epsilon_1 - \epsilon)}{\mu_b\tau k_c(\alpha - \alpha^*)} \quad e \quad \gamma_2 = \frac{\mu_p\mu_t + \epsilon k_b}{\tau k_c \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right)},$$

onde β_1 valor especial de β (taxa de encontro de *Trypanosoma cruzi* com a célula B) e ϵ_1 valor especial de ϵ (taxa de interação de anticorpos e *Trypanosoma cruzi*), respectivamente dados por

$$\beta_1 = \frac{\alpha\mu_b\mu_p\mu_t}{k_b\mu_c(\epsilon_1 - \epsilon)} \quad e \quad \epsilon_1 = \frac{\mu_p\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{k_b\mu_c}.$$

Vimos anteriormente que o ponto de equilíbrio não-trivial existe biologicamente se $\alpha > \alpha^*$ e $\bar{T} < \bar{T}_*$. O polinômio $P(T)$, dado pela equação (3.22), tem, para $\alpha > \alpha^*$:

- (i) $P(\bar{T} \rightarrow -\infty) = -\infty$;
- (ii) $P(\bar{T} = 0) = L_{b0} > 0$;
- (iii) $P(\bar{T}_*) = -\frac{\epsilon k_b \mu_p (\gamma \mu_c + \alpha \mu_p)}{\alpha \gamma^3 \mu_t} < 0$;
- (iv) $P(\bar{T} \rightarrow \infty) = +\infty$.

Sendo $P(\bar{T}_*)$ de 3º grau, tem-se até 3 raízes reais. Usando o Teorema do Valor Intermediário ($P(\bar{T}_*)$ é polinômio, portanto, é contínua), sabe-se que:

- 1) $[-\infty, 0]$ tem-se pelo menos uma raiz real negativa;
- 2) $[0, \bar{T}_*]$ tem-se pelo menos uma raiz real positiva;
- 3) $[\bar{T}_*, \infty]$ tem-se pelo menos uma raiz real positiva.

Como tem três raízes, em cada sub-caso, tem-se exatamente uma raiz negativa e duas reais positivas.

Portanto, o sistema tem dois pontos de equilíbrio não-triviais, sendo um com densidade maior de parasitas $\bar{T}_+ > \bar{T}_*$, e outro, com concentração menor de parasitas $\bar{T}_- < \bar{T}_*$, com $\bar{T}_+ > \bar{T}_-$.

A análise da estabilidade desses dois pontos de equilíbrio não-triviais será demonstrada analiticamente na seção (3.6), através do *Critérios de Routh-Hurwitz*.

3.5 Sistema Imunológico

Nessa seção será apresentado numericamente o Caso Geral, que corresponde a co-existência de todas as variáveis e parâmetros envolvidos no modelo estudado.

3.5.1 Resultados numéricos

O estudo numérico é realizado com o conjunto de parâmetros apresentados na Tabela (3.2) relacionada ao respectivo modelo, os quais foram obtidos da literatura biológica e, para aqueles não especificados na literatura, estabelecemos uma correlação razoável com a homeostasia de células do corpo humano.

Relembrando, os parâmetros do modelo têm as seguintes dimensões: para as taxas de mortalidades, $[dia]^{-1}$, para produção de células do sistema imunológico, $[concentração] \times [tempo]^{-1}$, para a taxa de replicação do parasita $[concentração] \times [tempo]^{-1}$. Quanto, porém, às taxas de transição β e ϵ , à taxa de ligação parasita-anticorpo e a taxa de clonagem γ , elas são objeto de estudo mais cuidadoso neste trabalho, pois não existem dados referentes à interação entre sistema imunológico e parasitas. As dimensões destas taxas são $[concentração]^{-1} \times [dia]^{-1}$. Assim, o objetivo do estudo numérico é analisar o caso geral do modelo, identificando-se aqueles parâmetros que mais o influenciam.

k_c	k_b	τ	β	μ_c	μ_b	μ_p	μ_t
0,2	0,8	10	0,001	0,2	0,08	0,1	0,062

Tabela 3.2: Valores de parâmetros utilizados nas simulações.

As simulações numéricas do modelo foram realizadas utilizando-se o pacote MATLAB e o método numérico é o Runge-Kutta de quarta-ordem. Denotamos as condições iniciais, $T_0 = T(t = 0)$, $C_0 = C(t = 0)$, $B_0 = B(t = 0)$ e $B_{p0} = B_p(t = 0)$.

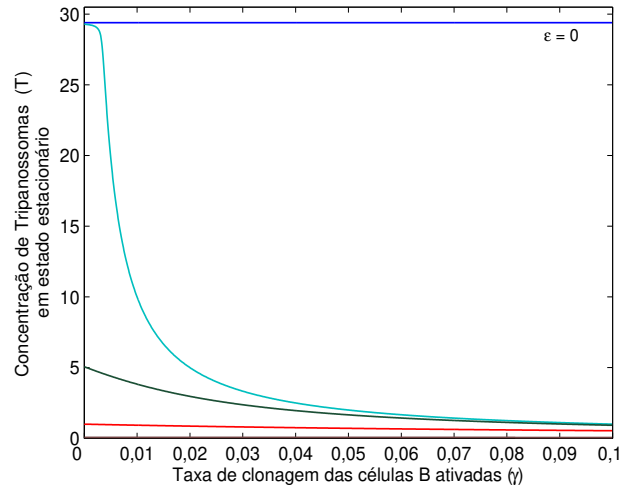


Figura 3.2: Concentração de parasitas $\bar{T}$ em função da taxa de clonagem das células B ativadas ou plasmócitos (γ), aumentando a taxa de eficiência dos anticorpos (ϵ) de cima para baixo (curvas). As duas últimas curvas são referentes a $\epsilon = 0,4$ e $\epsilon = 4,622$, respectivamente. Quanto maior o valor de ϵ , menor o valor de T em equilíbrio. Os valores de ϵ e γ estão anexados no Apêndice A.

A Figura (3.2) mostra, nitidamente que independente do nível de clonagem das células B ativadas ou plasmócitos, se houver a eficácia nula dos anticorpos ($\epsilon = 0$), a concentração de parasitas permanecerá constante, devido a deficiência do sistema imunológico. Do ponto de vista biológico, este resultado indica que, mesmo que ocorra a ativação policlonal durante a infecção, com expansão de muitos clones de linfócitos B para antígenos relacionados ao parasita, se esses desses clones produzirem anticorpos deficientes, os parasitas não sofrerão a ação da resposta imunológica. Mas quando o sistema começa reagir contra o patógeno, o nível de parasita tende a decrescer enquanto o parâmetro ϵ aumenta, e quando alcança ao seu valor limiar $\epsilon_* = 4,622$, temos $\bar{T} = 1$. Qualquer resposta imunológica mais forte que ϵ_* tenderá para o nível zero a concentração de parasitas na corrente sanguínea. Esse resultado é visualizado através das curvas, para três valores de $\epsilon = 0,0001; 0,4; 4,622$, podemos observar que, quanto maior é o valor de ϵ , menos parasita vão estar circulando no organismo, ou seja, a concentração de parasita está diminuindo, devido a ação eficiente do

sistema imunológico, através da ação dos anticorpos.

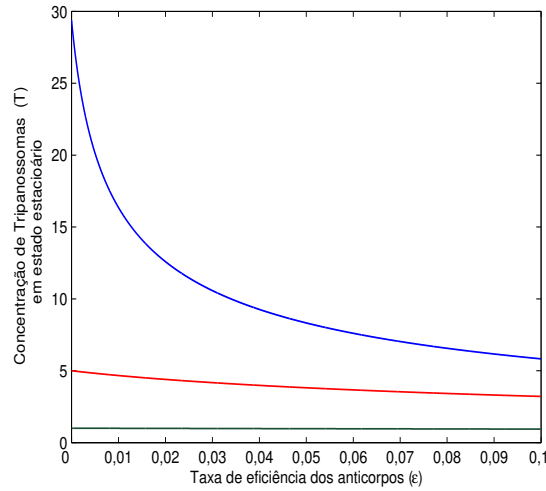


Figura 3.3: Concentração de parasitas em função da taxa de eficiência dos anticorpos (ϵ), variando a taxa de clonagem das células B ativadas (γ) de cima para baixo (curvas). Quanto maior o valor de γ , menor o valor de T em equilíbrio. Os valores de ϵ e γ estão anexados no Apêndice A.

Na Figura (3.3), podemos observar na primeira curva referente a $\gamma = 0$, que mesmo com a ausência de clonagem das células B ativadas ou plasmócitos, que corresponde uma concentração limitada de células B ativadas, se essa quantidade limitada de células produzirem anticorpos eficientes, a concentração de parasitas pode ser controlada ou até mesmo extinta, à medida que aumenta a concentração de anticorpos eficientes. Portanto, esse caso biológico demonstra que mesmo que indivíduo apresente uma resposta imunológica limitada, ou seja, existem uma concentração limitada de células B ativadas, que não clonam, mas produzem anticorpos bastantes eficientes (ϵ) grande, a infecção pode ser controlada ou até mesmo desaparecer no organismo do hospedeiro devido a grande eficiência dos anticorpos.

Na segunda e na terceira curvas, percebe-se que a concentração de parasitas tende a diminuir, pois existem células B ativadas, que clonam e produzem anticorpos eficientes capazes de controlar ou até mesmo eliminar a doença.

3.6 Análise da estabilidade do ponto de equilíbrio não-trivial

Teorema 3.6.1. *O ponto de equilíbrio não-trivial $\overline{P}_e$ é local e assintoticamente estável se $\alpha > \alpha^*$ e $\overline{T} < \overline{T}_*$.*

Demonstração:

A estabilidade de $\overline{P}_e = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B}_p)$ é determinada pelos autovalores correspondentes à matriz jacobiana associada ao sistema de equações sistema (3.4) calculada em $\overline{P}_e = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B}_p)$, em função de $\overline{T}$, a qual é dada por

$$J_{\overline{P}} = \begin{pmatrix} (\tau\alpha\overline{C} - \mu_t - \epsilon\overline{B}_p) & \tau\alpha\overline{T} & 0 & -\epsilon\overline{T} \\ -\alpha\overline{C} & -(\mu_c + \alpha\overline{T}) & 0 & 0 \\ -\beta\overline{B} & 0 & -(\mu_b + \beta\overline{T}) & 0 \\ \beta\overline{B} + \gamma\overline{B}_p & 0 & \beta\overline{T} & -(\mu_p - \gamma\overline{T}) \end{pmatrix}.$$

A equação característica dada por $\det(J_{\overline{P}_e} - \lambda I) = 0$ é

$$\lambda^4 + A_1\lambda^3 + A_2\lambda^2 + A_3\lambda^1 + A_4 = 0, \quad (3.25)$$

onde, utilizando a primeira equação do sistema (3.4), obtemos $(\tau\alpha\overline{C} - \mu_t - \epsilon\overline{B}_p)\overline{T} = 0$, e como $\overline{T} \neq 0$, tem-se, $\tau\alpha\overline{C} = \mu_t + \epsilon\overline{B}_p$, e os coeficientes são

$$A_1 = (\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T});$$

$$A_2 = (\mu_p - \gamma\bar{T}) [(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})] + (\mu_c + \alpha\bar{T}) (\mu_b + \beta\bar{T}) + \alpha\bar{T} (\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + \epsilon\bar{T}(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p);$$

$$A_3 = (\mu_c + \alpha\bar{T}) (\mu_b + \beta\bar{T}) (\mu_p - \gamma\bar{T}) + \alpha\bar{T} (\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) [(\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] + \epsilon\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p) + \epsilon\mu_b\bar{T}(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p) + \epsilon\beta\gamma\bar{T}^2\bar{B}_p;$$

$$A_4 = \alpha\bar{T}(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + \epsilon\mu_b\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p) + \epsilon\beta\gamma\bar{T}^2\bar{B}_p(\mu_c + \alpha\bar{T}).$$

As condições para determinar a estabilidade assintótica do ponto $\bar{P}_e$, segundo o Critério de Hurwitz, tratando-se de uma equação de grau 4 são:

1. $A_j > 0$ para $j = 1 \dots 4$;
2. $A_1A_2 > A_3$;
3. $A_3A_2 - A_1^2A_4 - A_3^2 > 0$.

3.6.1 $A_j > 0$ para $j = 1 \dots 4$

Quando $\alpha > \alpha^*$ e $\bar{T} < \frac{\mu_p}{\gamma}$, temos a solução não trivial positiva, ou seja, a população de $\bar{T}$ e $\bar{B}_p$ são positivas. Com isto, os coeficientes A_1 , A_2 , A_3 e A_4 são todos positivos, dado que somas de termos positivos.

3.6.2 $A_1A_2 > A_3$

Desenvolvendo A_1A_2 , obtemos

$$A_1A_2 = 3(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_c + \alpha\bar{T})^2[(\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] + (\mu_b + \beta\bar{T})^2[(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] + (\mu_p - \gamma\bar{T})^2[(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})] + \alpha\bar{T}(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p)[(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] + \epsilon\bar{T}[(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] = A_3 + X,$$

onde

$$X = 2(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_c + \alpha\bar{T})^2[(\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] + (\mu_b + \beta\bar{T})^2[(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] + (\mu_p - \gamma\bar{T})^2[(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})] + \alpha\bar{T}(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p)(\mu_c + \alpha\bar{T}) + \epsilon\bar{T}(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p)(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta^2\epsilon\bar{T}^2\bar{B},$$

tal que X é formado pela soma de termos positivos, pois estamos considerando $\mu_p > \gamma\bar{T}$.

Então

$$A_1A_2 - A_3 = A_3 + X - A_3 = X > 0.$$

Portanto $A_1A_2 > A_3$.

3.6.3 $A_3(A_1A_2 - A_3) - A_1^2A_4 > 0$

Agora finalmente vamos provar $A_3(A_1A_2 - A_3) - A_1^2A_4 > 0$. Relembramos que $\alpha > \alpha^*$ e $\bar{T} < \frac{\mu_p}{\gamma}$ são as condições de existência do ponto de equilíbrio não-trivial.

Temos,

$$\begin{aligned} \bullet \quad A_3(A_1A_2 - A_3) - A_1^2A_4 &= (\mu_c + \alpha\bar{T})^3(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})[(\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_p - \gamma\bar{T})] + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})[(\mu_b + \beta\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + 2(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T})^2 + (\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2] + \epsilon\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})[(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p)(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta^2\bar{T}\bar{B}] + \alpha\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p)[\alpha\bar{T}(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_c + \alpha\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})^2] + \alpha\bar{T}(\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p)[(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + \epsilon\bar{T}(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p)(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta^2\epsilon\bar{T}^2\bar{B}] + \alpha\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p)[\alpha\bar{T}(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})^2] + \alpha\bar{T}(\mu_p - \gamma\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p)[(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + (\mu_p - \gamma\bar{T})(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p) + \beta^2\epsilon\bar{T}^2\bar{B}] + \beta\epsilon\bar{T}\bar{B}(\mu_c + \alpha\bar{T})[\alpha\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + (\mu_c + \alpha\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})^2 + (\mu_b + \beta\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + 2\mu_b(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_b + \beta\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + \beta\epsilon\bar{T}\bar{B}(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta^2\epsilon\bar{T}^2\bar{B}] + \beta\epsilon^2\gamma\bar{T}^2\bar{B}\bar{B}_p(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \epsilon\gamma\bar{T}\bar{B}_p(\mu_c + \alpha\bar{T})[\alpha\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + (\mu_c + \alpha\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + (\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + \epsilon\bar{T}(\mu_p - \gamma\bar{T})(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p) + \beta^2\epsilon\bar{T}^2\bar{B}] + \epsilon\mu_b\bar{T}(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p)[\alpha\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + (\mu_c + \alpha\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + \beta\epsilon\bar{T}\bar{B}(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \epsilon\gamma\bar{T}\bar{B}_p(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta^2\epsilon\bar{T}^2\bar{B}] + \beta\gamma\epsilon\bar{T}^2\bar{B}_p[\alpha\bar{T}(\mu_c + \alpha\bar{T})(\mu_t + \epsilon\bar{B}_p) + (\mu_b + \beta\bar{T})^2(\mu_p - \gamma\bar{T}) + (\mu_b + \beta\bar{T})(\mu_p - \gamma\bar{T})^2 + \epsilon\bar{T}(\beta\bar{B} + \gamma\bar{B}_p)(\mu_p - \gamma\bar{T}) + \beta^2\epsilon\bar{T}\bar{B}]. \end{aligned}$$

Portanto fica verificado que $A_3(A_1A_2 - A_3) - A_1^2A_4 > 0$.

Logo o ponto de equilíbrio não-trivial $\overline{P}_e = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B}_p)$, é local e assintoticamente estável se existir.

Nas seções (3.7) e (3.8) apresentaremos dois casos particulares na fase endêmica da infecção. O primeiro caso analisa a deficiência do sistema imunológico, através da Imunidade humoral, representada pela eficácia nula dos anticorpos, isto é, $\epsilon = 0$. Segundo, temos a ausência de clonagem das células B ativadas ou plásmocitos, que corresponde a uma resposta imunológica limitada contra o parasita, ou seja, $\gamma = 0$.

3.7 Eficácia nula dos anticorpos ($\epsilon = 0$)

Vimos no capítulo anterior que os Linfócitos B originam células B de memória e plasmócitos que secretam anticorpos, que unem-se aos antígenos, tornando mais fácil a fagocitose pelos macrófagos, ou seja, a sua principal função é reconhecer o antígeno e direcioná-los para degradação (não serão analisadas as células T de memória). Porém em certos processos infecciosos, o hospedeiro pode produzir anticorpos que se ligam a antígenos do parasita, mas que são incapazes de eliminá-los de modo eficiente. Anticorpos não neutralizantes são exemplos de anticorpos não funcionais. Trata-se pois de anticorpos que não bloqueiam a invasão de células do hospedeiro pelo parasita e que, portanto, não interrompem a disseminação do agente infeccioso. Esse caso corresponde a uma imunodeficiência no organismo do hospedeiro.

Assim, supondo que o sistema imunológico do indivíduo esteja incapaz de responder eficientemente ao estímulo antigênico do parasita, é possível estudar a dinâmica do parasita e após a sua compreensão, incorporar a ação do sistema imunológico, mesmo sendo deficiente nesta dinâmica. Desta forma, estudaremos matematicamente esse caso fazendo $\epsilon = 0$ (taxa de interação de anticorpos e *Trypanossoma cruzi*), que biologicamente significa que existem células B ativadas pelo parasita, que clonam, mas produzem anticorpos deficientes.

Proposição 3.7.1. *Se $\epsilon = 0$ obtemos o ponto de equilíbrio não-trivial $\overline{P_{e2}} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B_p})$, em que*

$$\left\{ \begin{array}{l} \overline{T} = \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}, \\ \overline{C} = \frac{\mu_t}{\tau \alpha}, \\ \overline{B} = \frac{\alpha k_b \mu_t}{\alpha \mu_b \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}, \\ \overline{B_p} = \frac{\alpha \beta k_b \mu_t \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{[\alpha \mu_b \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)][\alpha \mu_p \mu_t - \gamma \tau k_c(\alpha - \alpha^*)]}. \end{array} \right. \quad (3.26)$$

Definindo

$$\gamma^* = \frac{\alpha \mu_p \mu_t}{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}, \quad (3.27)$$

podemos reescrever $\overline{B_p}$ da seguinte forma

$$\overline{B_p} = \frac{\alpha \beta k_b \mu_t}{[\alpha \mu_b \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)](\gamma^* - \gamma)}. \quad (3.28)$$

Note que $B_p \leq 0$ para $\gamma \geq \gamma^*$.

Para determinar a trajetória do sistema dinâmico no caso $\gamma > \gamma^*$ e $\alpha > \alpha^*$, estuda-se o sistema (3.4) no estado quase estacionário, ou seja, impondo $T = \overline{T}$, $C = \overline{C}$ e $B = \overline{B}$, dadas pelo sistema. Substituindo na equação que representa a dinâmica para B_p , ou,

$$\frac{dB_p}{dt} = \beta T B - (\mu_p - \gamma T) B_p, \quad (3.29)$$

resulta na equação linear

$$\frac{dB_p}{dt} = K + W(\gamma - \gamma^*) B_p, \quad (3.30)$$

onde definimos as constantes K e W , que são positivas pelo fato de $\alpha > \alpha^*$, como

$$K = \frac{\beta k_b \tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_b \mu_t + \beta \tau k_c (\alpha - \alpha^*)}. \quad (3.31)$$

e

$$W = \frac{\tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}. \quad (3.32)$$

Considerando a condição inicial,

$$B_p(0) = B_{p0} \quad (3.33)$$

onde B_{p0} é um valor inicial positivo e arbitrário, a equação homogênea associada à equação (3.29) é dada por

$$\frac{dB_p}{dt} = W(\gamma - \gamma^*)B_p, \quad (3.34)$$

cujas soluções são

$$B_p(t) = B_{p0} e^{W(\gamma - \gamma^*)t}. \quad (3.35)$$

Assim, a solução geral da equação (2.32) é dada por

$$B_p(t) = B_{p0} e^{W(\gamma - \gamma^*)t} + \frac{K}{W(\gamma - \gamma^*)} \left[e^{W(\gamma - \gamma^*)t} - 1 \right], \quad (3.36)$$

Logo, quando a taxa de clonagem das células plasmas é alta, $\gamma > \gamma^*$, então, a quantidade de células plasmas tende ao infinito para todos os valores iniciais de B_{p0} , pois o expoente da Eq. (3.36) é positivo, ou seja, $B_p \rightarrow \infty$ quando $t \rightarrow \infty$.

Portanto, para valores de γ maiores que o valor de γ^* , $\overline{B_p}$ sempre será negativo, biologicamente inviável e matematicamente um ponto de equilíbrio instável, com B_p tendendo assintoticamente para infinito. Logo, para $\gamma > \gamma^*$ obtemos o ponto $\overline{P}_{e3} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \infty)$, que não é um ponto de equilíbrio porque $B_p \rightarrow \infty$, ou seja, o sistema dinâmico cresce indefinidamente para uma das variáveis. Portanto, existe $\overline{B_p} < 0$, que é instável sempre.

Logo, esse ponto de equilíbrio não-trivial biologicamente existe se $\gamma < \gamma^*$, ou seja, se $\overline{T} < \frac{\mu_p}{\gamma}$. Além disso, analisando as coordenadas $\overline{T}$ e $\overline{C}$ desse ponto de equilíbrio não-trivial,

podemos observar que a taxa de clonagem das células B ativadas (γ) não afetam a concentração de parasita, pelo fato das células B ativadas produzirem anticorpos deficientes ou não funcionais ($\epsilon = 0$), ou seja, esse caso corresponde a uma resposta imunológica deficiente contra o parasita.

Proposição 3.7.2. *O ponto de equilíbrio não-trivial $\overline{P}_{e2} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B}_p)$ é estável para $\gamma < \gamma^*$ e $\alpha > \alpha^*$.*

Prova:

Neste caso o jacobiano J do sistema (3.4) calculado no ponto $\overline{P}_{e2}$ resulta

$$J_{e2} = \begin{pmatrix} 0 & \wp_1 & 0 & 0 \\ -\frac{\mu_t}{\tau} & \wp_2 & 0 & 0 \\ \wp_3 & 0 & \wp_4 & 0 \\ \wp_5 & 0 & \wp_6 & \wp_6 \end{pmatrix},$$

onde

$$\wp_1 = \frac{\tau^2 k_c (\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}, \quad \wp_2 = -\mu_c - \frac{\tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}$$

e

$$\wp_3 = -\frac{\alpha \beta k_b \mu_t}{\alpha \mu_b \mu_t + \beta \tau k_c (\alpha - \alpha^*)}, \quad \wp_4 = \mu_b - \frac{\beta \tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}$$

mais

$$\wp_5 = \frac{\alpha \beta k_b \mu_t}{\alpha \mu_b \mu_t + \beta \tau k_c (\alpha - \alpha^*)} + \frac{\alpha \beta \gamma k_b \mu_t \tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{[\alpha \mu_b \mu_t + \beta \tau k_c (\alpha - \alpha^*)][\alpha \mu_p \mu_t - \gamma \tau k_c (\alpha - \alpha^*)]}$$

finalmente

$$\wp_6 = \frac{\beta\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha\mu_t}, \quad \wp_7 = \frac{\beta\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma - \gamma^*)}{\alpha\mu_t}.$$

Cujo polinômio característico, $p(\lambda) = \det[J(\overline{P_{e1}}) - \lambda I_{4 \times 4}]$, é dado por

$$p(\lambda) = \wp_7 p_3(\lambda).$$

Primeiro tem-se o autovalor

$$\lambda_1 = \wp_7 = \frac{\beta\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma - \gamma^*)}{\alpha\mu_t},$$

que é negativo, pois $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$. Só falta determinar autovalores restantes, designados por λ_2 , λ_3 e λ_4 , raízes de $p_3(\lambda)$. Como é um polinômio de terceiro grau, determina-se o sinal dos autovalores λ_2 , λ_3 e λ_4 . Para tal, usamos os critérios de Routh-Hurwitz, que estabelece critérios a respeito do sinal das raízes: se $L_{b1} > 0$, $L_{b3} > 0$ e $L_{b1}L_{b2} > L_{b3}$, então todas raízes tem parte real negativa. O polinômio de terceiro grau $p_3(\lambda)$ é re-escrito com

$$p_3(\lambda) = \lambda^3 + L_{b1}\lambda^2 + L_{b2}\lambda + L_{b3}, \quad (3.37)$$

com os coeficientes dados por

$$\begin{cases} L_{b1} = \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] + \left[\mu_b + \frac{\beta\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha\mu_t} \right] \\ L_{b2} = \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \left[\mu_b + \frac{\beta\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha\mu_t} \right] + \tau k_c(\alpha - \alpha^*) \\ L_{b3} = \tau k_c(\alpha - \alpha^*) \left[\mu_b + \frac{\beta\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha\mu_t} \right]. \end{cases} \quad (3.38)$$

O primeiro e o segundo critérios serão satisfeitos, $L_{b1} > 0$ e $L_{b3} > 0$, se $\alpha > \alpha^*$. Verificaremos, agora, se satisfaz a última condição $L_{b1}L_{b2} > L_{b3}$, temos

$$\begin{aligned}
L_{b1}L_{b2} - L_{b3} &= \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right]^2 \left[\mu_b + \frac{\beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t} \right] \\
&+ \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \left[\mu_b + \frac{\beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t} \right]^2 \\
&+ \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \tau k_c(\alpha - \alpha^*).
\end{aligned}$$

Logo, o ponto de equilíbrio não trivial $\overline{P}_{e1}$ será localmente e assintoticamente estável se $\gamma < \gamma^*$ e $\alpha > \alpha^*$. Caso contrário, se $\alpha < \alpha^*$ o ponto de equilíbrio $\overline{P}_{e1}$ é instável. Lembrando que a condição $\gamma < \gamma^*$ é equivalente dizer que $\overline{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$.

Resultados numéricos

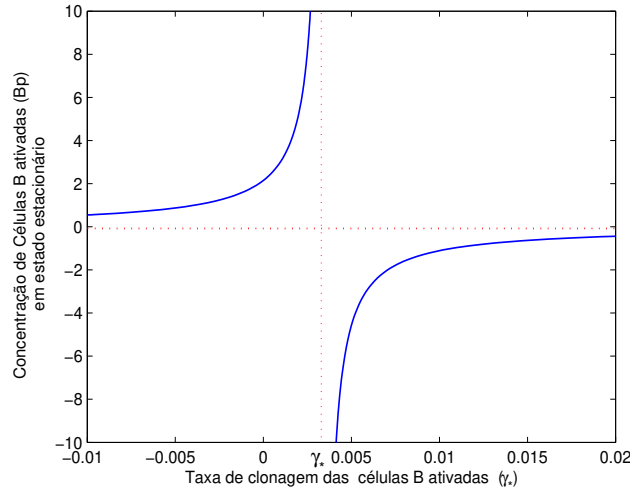


Figura 3.4: Efeito da taxa de clonagem das células B ativadas γ , no valor de B_p em estado estacionário quando $\epsilon = 0$ (eficácia nula dos anticorpos).

A Figura (3.4) mostra, nitidamente, se $\gamma \rightarrow \gamma^*$, então $\overline{B}_p$ cresce indefinidamente ($\overline{B}_p \rightarrow \infty$). Se $\gamma > \gamma^*$, então $\overline{B}_p < 0$ e, quando $\gamma \rightarrow \infty$, temos que $\overline{B}_p \rightarrow 0$. Utilizamos o conjunto de valores apresentados na Tabela (3.2), variando o valor de γ , com $\gamma^* = 0,0034013$.

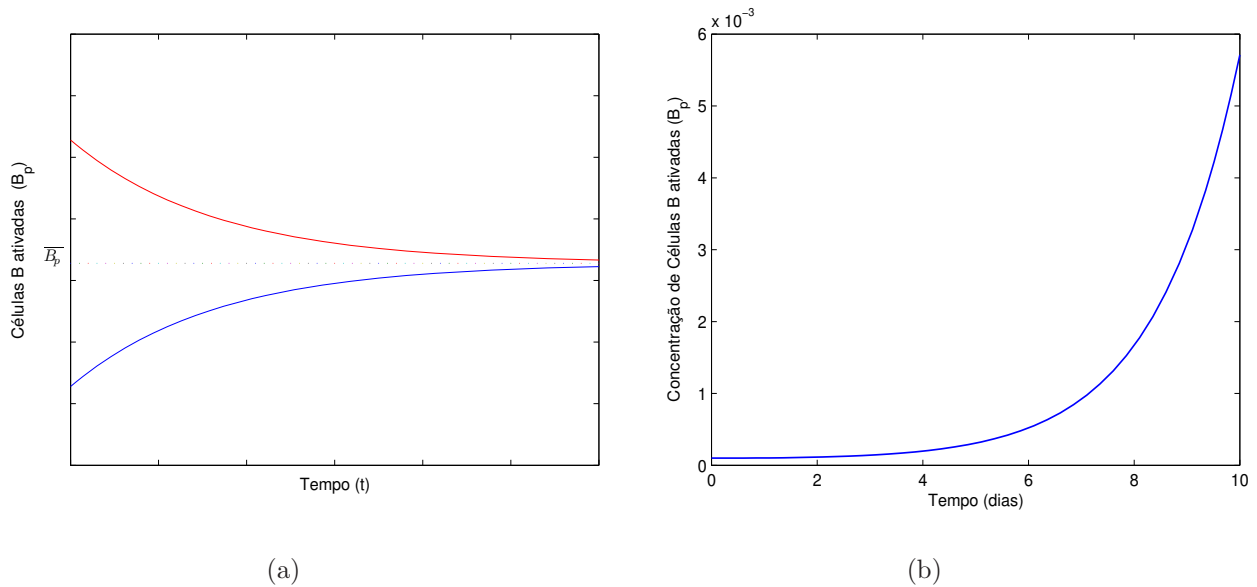


Figura 3.5: Dinâmica das células B ativadas em função do tempo. As figuras (a) e (b) correspondem às simulações para $\gamma < \gamma^*$ e $\gamma > \gamma^*$ respectivamente. (a) O comportamento das trajetórias depende do valor da condição inicial (B_{p0}), comparado ao valor de B_p em estado estacionário ($\overline{B_p}$). Se $B_{p0} < \overline{B_p}$, a trajetória de B_p é exponencial crescente, aproximando de $\overline{B_p}$. Caso ocorra $B_{p0} > \overline{B_p}$, a trajetória de B_p é exponencial decrescente, aproximando de $\overline{B_p}$. Em (b) verificamos que, para um valor fixo de γ , sendo $\gamma > \gamma^*$, $B_p \rightarrow \infty$ quando $t \rightarrow \infty$.

3.8 Ausência de clonagem de plasmócitos ($\gamma = 0$)

Em se tratando da infecção causada pelo parasita *Trypanosoma cruzi*, temos a ocorrência de não ativação de clones específicos de células B ativadas contra o parasita, ou seja, existem células B ativadas pelo parasita, que não clonam, mas produzem anticorpos eficientes. Logo, esse caso corresponde a uma resposta imunológica limitada, pois mesmo com a concentração limitada de plasmócitos, sendo a produção de anticorpos eficiente, a infecção pode ser eliminada, caso contrário, a infecção permanecerá no organismo do hospedeiro.

Portanto, vamos analisar o comportamento do parasita diante da ausência de clonagem plasmócitos, mas considerando a produção de anticorpos eficientes.

Fazendo $\gamma = 0$ em (3.24), o polinômio (3.22) é dado por

$$L_{b2}\bar{T}^2 + L_{b1}\bar{T} + L_{b0} = 0, \quad (3.39)$$

onde os coeficientes do polinômio do segundo grau são dado por:

$$\begin{cases} L_{b2} = \mu_p \mu_t + \epsilon k_b \\ L_{b1} = k_b(\epsilon - \epsilon_1) \left(\frac{\mu_c}{\alpha} \right) \left(1 - \frac{\beta_1}{\beta} \right) \\ L_{b0} = -\mu_p \tau k_c \left(\frac{\mu_b}{\beta} \right) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha} \right), \end{cases} \quad (3.40)$$

onde ϵ_1 é o valor especial de ϵ (taxa de encontro de *Trypanosoma cruzi* com os anticorpos que são produzidos pelas células plasmas por meio da ativação do *Trypanosoma cruzi*), que é dado por

$$\epsilon_1 = \frac{\mu_p \tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{k_b \mu_c}, \quad (3.41)$$

e β_1 valor especial de β (taxa de encontro de *Trypanosoma cruzi* com a célula B), que é dado por

$$\beta_1 = \frac{\alpha \mu_b \mu_p \mu_t}{k_b \mu_c (\epsilon_1 - \epsilon)}. \quad (3.42)$$

A existência do equilíbrio não-trivial para o caso $\gamma = 0$ é estudada e estabelecida pela *Regra de Descartes* (descrito no apêndice A) em cima dos coeficientes (3.40). Primeiramente, tem-se claramente $L_{b3} > 0$. As condições de existência são descritas através de alguns comportamentos dinâmicos.

- Para $\epsilon < \epsilon_1$ e $\beta < \beta_1$, temos $L_{b1} > 0$ e $L_{b0} < 0$, então o polinômio (3.39) tem uma única solução. Assim, P^* é único. Quando o número médio de replicações com sucesso

gerado de uma célula-alvo infectada por um parasita é maior que um ($\alpha > \alpha^*$), os parasitas persistem no organismo do hospedeiro.

- Para $\epsilon < \epsilon_1$ e $\beta > \beta_1$, tem-se $L_{b1} < 0$ e $L_{b0} < 0$, temos então, a mesma situação descrita no item acima.
- Para $\epsilon > \epsilon_1$ temos $L_{b1} > 0$ e $L_{b0} < 0$, então o polinômio (3.39) tem uma única solução.
- Para $\alpha < \alpha^*$, tem-se $L_{b1} > 0$ e $L_{b0} > 0$, então o polinômio (3.39) não tem nenhuma solução positiva. Nesta situação, a infecção é sempre debelada pelo sistema imunológico.

Portanto, para $\alpha > \alpha^*$ existe uma única raiz real positiva, $\bar{T}$, para o polinômio (3.39), independente do sinal de L_{b2} . Assim, existe um único ponto de equilíbrio endêmico, $P^* = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{L}, \bar{L}_a)$, biologicamente viável, que é L.A.E. para $\alpha > \alpha^*$. Ou seja, com a ausência de clonagem das células plasmas, a doença é mantida no organismo do hospedeiro.

Bifurcação do caso $\gamma = 0$

A Figura (3.6) mostra o diagrama de bifurcação para a população de Tripanossomas em relação ao coeficiente de infecção (α). A expressão que permite obter o seguinte diagrama de bifurcação é dado pela equação (3.39) :

- Se $\alpha < \alpha^*$ há um ponto de equilíbrio trivial estável, $P_0 = (0, \frac{k_c}{\mu_c}, \frac{k_c}{\mu_c}, 0)$, onde existem somente as populações de células-alvo e células do sistema imunológico;
- Se $\alpha > \alpha^*$ há um ponto de equilíbrio não-trivial estável, onde todas as variáveis do sistema coexistem;
- $\alpha = \alpha^*$ é o valor onde ocorre a bifurcação.

A bifurcação é do tipo “forward”. Mostramos para $0 \leq \alpha \leq 0,07$ que existem dois tipos de região de equilíbrio, uma para o trivial e outra para o endêmico, tal que, $\alpha^* = 0,0062$ para o conjunto de parâmetros utilizados nesta simulação. Portanto, para valores de $\alpha < 0,0062$, isto é, $\alpha < \alpha^*$, temos o equilíbrio trivial estável, livre da doença. Para $\alpha > 0,0062$, isto é, $\alpha > \alpha^*$, temos o equilíbrio endêmico estável.

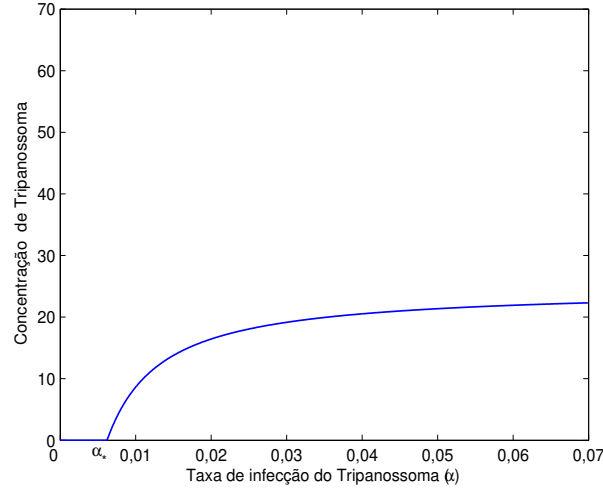


Figura 3.6: Diagrama de bifurcação.

3.9 Ausência de encontro das células B com o parasita $\beta = 0$

Nessa seção, será estudado o último caso particular que analisa o comportamento do parasita, diante de uma resposta imunológica mal sucedida, através da ausência de interação entre o parasita e as células B.

Se $\beta = 0$ obtemos o ponto de equilíbrio $\bar{P}_{e1} = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{B}, \bar{B}_p)$, definido por

$$\bar{P}_{e1} = \left[\frac{\tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}, \frac{\mu_t}{\tau \alpha}, \frac{k_b}{\mu_b}, 0 \right], \quad (3.43)$$

onde α^* é valor especial de α (taxa de infecção do *Tripanossoma cruzi*), que é dado por

$$\alpha^* = \frac{\mu_c \mu_t}{\tau k_c}. \quad (3.44)$$

Esse ponto indica que o sistema imunológico obteve uma resposta imunológica mal sucedida, pois as células B não foram ativadas devido à ausência de encontro das células B com o parasita. Além do ponto de equilíbrio $\bar{P}_{e1}$, existe outro ponto de equilíbrio em $\bar{T} = \frac{\mu_p}{\gamma}$ onde $\bar{B}_p \rightarrow \infty$ quando $t \rightarrow \infty$ como podemos verificar na Figura (3.4).

Teorema 3.9.1. *O ponto de equilíbrio trivial $\overline{P_{e1}}$ é instável se $\alpha < \alpha^*$.*

Demonstração:

Neste caso o jacobiano J do sistema (3.4) calculado no ponto $\overline{P_{e1}}$ resulta

$$J_{e1} = \begin{pmatrix} 0 & \varpi_1 & 0 & \varpi_2 \\ -\frac{\mu_t}{\tau} & \varpi_3 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -\mu_b & 0 \\ 0 & 0 & 0 & \varpi_4 \end{pmatrix},$$

onde

$$\varpi_1 = \frac{\tau^2 k_c (\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}, \quad \varpi_2 = -\frac{\epsilon \tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}$$

e

$$\varpi_3 = -\mu_c - \frac{\tau k_c (\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}, \quad \varpi_4 = \frac{\tau k_c (\alpha - \alpha^*) (\gamma - \gamma^*)}{\alpha \mu_t}$$

sendo

$$\gamma^* = \frac{\alpha \mu_p \mu_t}{\tau k_c (\alpha - \alpha^*)}.$$

Cujo polinômio característico, $p(\lambda) = \det[J(\overline{P_{e1}}) - \lambda I_{4 \times 4}]$, é dado por

$$p(\lambda) = (\mu_b + \lambda)p_3(\lambda),$$

Primeiro tem-se o autovalor $\lambda_1 = -\mu_b$ que é negativo, pois o parâmetro é positivo. Só falta determinar autovalores restantes, designados por λ_2 , λ_3 e λ_4 , raízes de $p_3(\lambda)$. Como é um polinômio de terceiro grau, determina-se o sinal dos autovalores λ_2 , λ_3 e λ_4 . Para tal, usamos os critérios de *Routh-Hurwitz*, que estabelece critérios a respeito do sinal das raízes: se $A_1 > 0$, $A_3 > 0$ e $A_1 A_2 > A_3$, então todas raízes tem parte real negativa. O polinômio de terceiro grau $p_3(\lambda)$ é re-escrito com

$$p_3(\lambda) = \lambda^3 + A_1 \lambda^2 + A_2 \lambda + A_3, \quad (3.45)$$

com os coeficientes dados por

$$\begin{cases} A_1 = \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] + \left[\frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma^* - \gamma)}{\alpha \mu_t} \right] \\ A_2 = \tau k_c(\alpha - \alpha^*) + \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \left[\frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma^* - \gamma)}{\alpha \mu_t} \right] \\ A_3 = \tau k_c(\alpha - \alpha^*) \left[\frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma^* - \gamma)}{\alpha \mu_t} \right]. \end{cases} \quad (3.46)$$

O primeiro e o segundo critérios serão satisfeitos, $A_1 > 0$ e $A_3 > 0$, se

$$\alpha > \alpha^* \quad e \quad \gamma < \gamma^*.$$

A segunda condição $\gamma < \gamma^*$ implica que $\bar{T} < \frac{\mu_p}{\gamma}$, onde $\bar{T}$ corresponde a primeira coordenada desse ponto. Essa análise será demonstrada com mais detalhe na seção (3.4).

Verificaremos, agora, se satisfaz a última condição $A_1 A_2 > A_3$. Temos

$$\begin{aligned}
A_1 A_2 - A_3 &= \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \left[\frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma^* - \gamma)}{\alpha \mu_t} \right]^2 \\
&+ \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right]^2 \left[\frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma^* - \gamma)}{\alpha \mu_t} \right] \\
&+ \tau k_c(\alpha - \alpha^*) \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right]
\end{aligned}$$

Portanto fica verificado que $A_1 A_2 - A_3 > 0$ se $\gamma < \gamma^*$ e $\alpha > \alpha^*$.

Como todas as condições de estabilidade de *Routh-Hurwitz* foram satisfeitas, logo o ponto de equilíbrio trivial $\overline{P}_{e1}$ é localmente e assintoticamente estável se $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$. Por outro lado, se $\alpha < \alpha^*$, então este ponto é instável. ♣

3.10 Conclusão

Os primeiros estudos relacionados à resposta imune dos pacientes chagásicos focalizaram-se na resposta humoral. A detecção de anticorpos reativos ao parasita foi e é uma importante ferramenta para diagnóstico da infecção em humanos e, diante dessa associação, pesquisas têm sido realizadas para melhor caracterizar a resposta humoral dos pacientes chagásicos crônicos. Anticorpos reativos a epitopos de galactose e que podem mediar a lise de formas tripomastigotas foram encontrados no soro de pacientes crônicos. Esses anticorpos foram denominados “anticorpos líticos” (AL). Estudos recentes mostraram que AL são encontrados em níveis mais elevados no soro de pacientes com a forma indeterminada do que a forma cardíaca da doença, sugerindo um papel protetor para esses anticorpos [1].

Em vista destas considerações, propusemos no presente trabalho a dar início a um estudo sobre os anticorpos anti-*Tripanossoma cruzi* produzidos durante a fase crônica da infecção chagásica, utilizando para esta finalidade a modelagem matemática.

Inicialmente, utilizando uma função de Lyapunov, provamos a estabilidade global e assintótica do ponto de equilíbrio trivial. Suponhamos uma situação onde, se o coeficiente de infecção do parasita for menor que seu limiar ($\alpha < \alpha^*$), ou seja, se uma célula infectada

gerar em média menos que uma célula infectada, a infecção é debelada, o que significa que a população de parasitas tende à extinção no organismo do hospedeiro.

Na segunda parte do trabalho, estudamos a situação oposta, ou seja, consideramos o coeficiente de infecção do parasita maior que seu limiar ($\alpha > \alpha^*$). Biologicamente significa que o parasita conseguiu se estabelecer no organismo do hospedeiro, que corresponde à fase endêmica da infecção. Portanto, matematicamente, estamos considerando a co-existência de todas as variáveis do sistema, que se refere ao ponto de equilíbrio não-trivial, que é o Caso geral do modelo. Provamos que se o equilíbrio não-trivial existe biologicamente, então ele é local e assintoticamente estável.

O principal objetivo deste estudo é analisar em que condições é possível controlar ou até eliminar a concentração do parasita *Trypanosoma cruzi* na corrente sanguínea do hospedeiro, através da imunidade humoral.

As simulações mostraram que os parâmetros que representam, respectivamente, a taxa de clonagem (γ) e a taxa de eliminação de parasitas (ϵ) devido à ação do sistema imunológico, influenciam fortemente na dinâmica do modelo. Do ponto de vista biológico, estes resultados indicam que, se a taxa de eficiência dos anticorpos estiver acima de um determinado patamar, o sistema imunológico é capaz de debelar qualquer quantidade de antígeno que seja introduzido no organismo, caso contrário, existe a possibilidade da doença se estabelecer.

Estudaram-se situações particulares na fase endêmica da infecção. No caso I, supondo que um indivíduo tinha alguma imunodeficiência, ou seja, não consegue oferecer uma resposta eficiente à infecção, através da eficácia nula dos anticorpos, a concentração de parasitas permanecerá constante, devido a deficiência do sistema imunológico. Do ponto de vista biológico, este resultado indica que, mesmo que ocorra a ativação policlonal durante a infecção, com expansão de muitos clones de linfócitos B para antígenos relacionados ao parasita, se esses clones produzirem anticorpos deficientes, os parasitas não sofrerão a ação da resposta imunológica. Já no Caso II, mesmo com a ausência de clonagem das células B ativadas, que corresponde uma concentração limitada de células B ativadas, se essa quantidade limitada de células produzirem anticorpos, a concentração de parasitas pode ser controlada ou até mesmo extinta, à medida que aumenta a concentração de anticorpos eficientes. Por último, temos o Caso III, que analisa o comportamento do parasita, diante de uma resposta

imunológica mal sucedida, através da ausência de interação entre o parasita e as células B.

Finalmente, analisamos a dinâmica entre o *Trypanossoma cruzi* e as células do sistema imunológico, que são representadas pelas Células B ou linfócitos B, baseadas nas considerações feitas anteriormente.

Lembrando que as Células B se tornam ativadas e passam por um processo de diferenciação, transformando-se em plasmócitos, e sob ação de citocinas produzem milhares de anticorpos que são liberados na corrente sanguínea. Então, supos que esses anticorpos produzidos pelos plasmócitos são capazes de se ligar a estruturas antigênicas da superfície de tripomastigotas e promover a lise do parasita, mediada por complemento.

Agora se considerarmos o *Trypanossoma cruzi* infectando um indivíduo já vacinado, a produção de anticorpos vai ser mais rápida e em maior quantidade. Portanto, ao aumentar o valor de ϵ , isso vai provocar uma queda considerável de Tripanossomas, mesmo sendo baixa a taxa de clonagem dos plasmócitos.

A Figura 3.7 (a) e (b) mostra as concentrações de Tripanossomas e Células B ativadas. Observe que, aproximadamente em 10 dias, há uma queda na concentração de Tripanossomas devido a ação dos anticorpos. Porém, como a taxa de clonagem de plasmócitos é baixa, a concentração de Células B ativadas diminui e, conseqüentemente, a concentração de Tripanossomas aumenta. Mas devido ação dos anticorpos, logo em seguida ambas as concentrações se estabilizam.

A Figura 3.8 (a) e (b) mostra as concentrações de Tripanossomas e Células B ativadas, agora com uma taxa maior de clonagem de plasmócitos. Observa-se com a taxa maior de clonagem, no mesmo período de dias, há uma queda maior de Tripanossomas, devido a produção maior de plasmócitos e, conseqüentemente, de anticorpos.

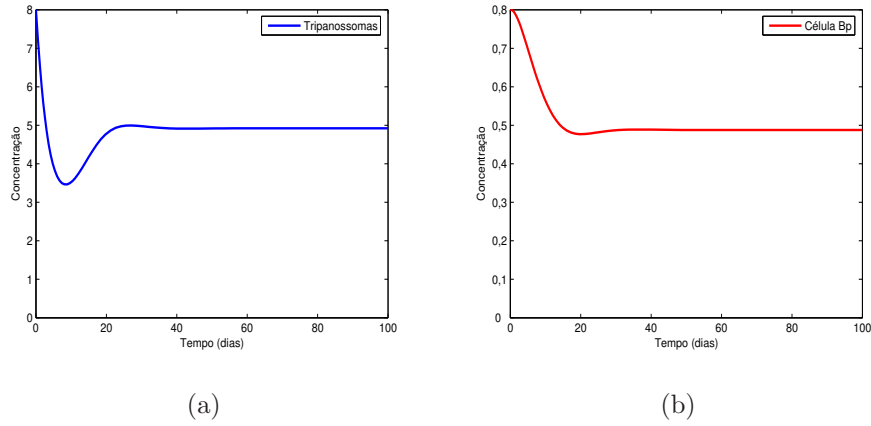


Figura 3.7: Dinâmica dos *Tripanossoma cruzi* e das Células B ativadas, com o sistema imunológico agindo contra o parasita. Utilizamos o conjunto de valores apresentados na Tabela (3.2), exceto ϵ e γ , tal que $\epsilon = 0,4$ e $\gamma = 0,001$. O ponto de equilíbrio não-trivial estudado é $\bar{P}_e = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{B}, \bar{B}_p) = (4,9224; 0,3672; 9,4204; 0,4877)$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 8$, $C_0 = 0,3$, $B_0 = 9,4$ e $B_{p0} = 0,8$.

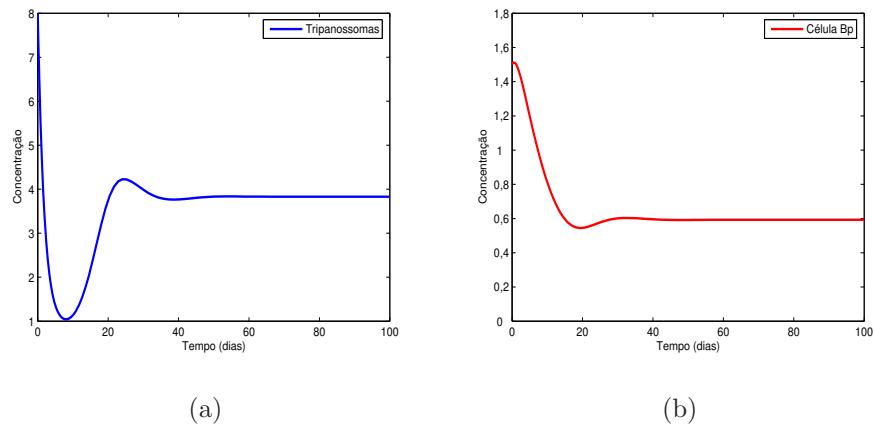


Figura 3.8: Dinâmica dos *Tripanossoma cruzi* e das Células B ativadas, com o sistema imunológico agindo contra o parasita. Utilizamos o conjunto de valores apresentados na Tabela (3.2), exceto ϵ e γ , tal que $\epsilon = 0,4$ e $\gamma = 0,01$. O ponto de equilíbrio não-trivial estudado é $\bar{P}_e = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{B}, \bar{B}_p) = (3,8309; 0,4272; 9,5430; 0,5926)$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 8$, $C_0 = 0,3$, $B_0 = 9,4$ e $B_{p0} = 1,5$.

Agora, considerou-se que, além da eficiência dos anticorpos, há um alto nível de clonagem dos plasmócitos que são responsáveis pela produção de anticorpos, ou seja, aumentando o parâmetro γ , como mostram os gráficos das Figuras (3.9) e (3.10).

A Figura 3.9 (a) e (b) mostra as concentrações de Tripanossomas e Células B ativadas com alta taxa de clonagem de plasmócitos. Observa-se a existência de oscilações amortecidas em torno do valor de equilíbrio. Em outras palavras, a concentração de Tripanossomas diminui, enquanto aumenta a concentração de Células B ativadas. Observe que ambos os valores flutuam assimetricamente em torno dos valores de equilíbrio. Na Figura 3.9 (c) mostra-se o diagrama espaço-fase correspondente à Figura 3.9 (a) e (b). Como a trajetória é uma espiral, os sucessivos períodos da interação são obtidos como os tempos gastos para que os valores T_0 e B_{p0} retornem próximos dos valores anteriores. Além disso, observa-se a existência de ciclo-limite assintoticamente estável, pois as trajetórias vizinhas internas e externas se aproximam.

A Figura 3.10 (a) e (b) mostra as concentrações de Tripanossomas e Células B ativadas, mas agora com uma taxa maior de clonagem de plasmócitos. Observa-se, se aumentarmos a taxa de clonagem de plasmócitos, causará um aumento da magnitude da oscilação do ciclo. No ponto de vista biológico, percebe-se que, com o aumento da taxa de clonagem dos plasmócitos, causou a queda da concentração de antígenos do parasita. Isso significa que o organismo do hospedeiro elaborou uma resposta imunológica capaz de controlar ou até mesmo eliminar a multiplicação do parasita.

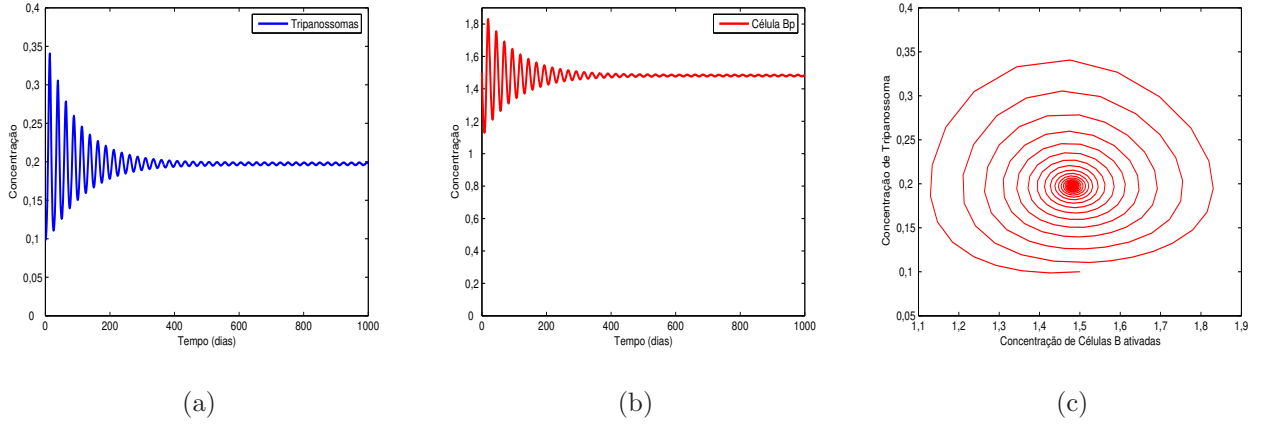


Figura 3.9: Dinâmica dos *Tripanossoma cruzi* e das Células B ativadas, com o sistema imunológico agindo contra o parasita. Utilizamos o conjunto de valores apresentados na Tabela (3.2), excetos ϵ e γ , tal que $\epsilon = 0,4$ e $\gamma = 0,5$. O ponto de equilíbrio não-trivial estudado é $\overline{P_e} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B_p}) = (0,1973; 0,9353; 9,9754; 1,4801)$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 0,1$, $C_0 = 0,9$, $B_0 = 9,9$ e $B_{p0} = 1,5$.

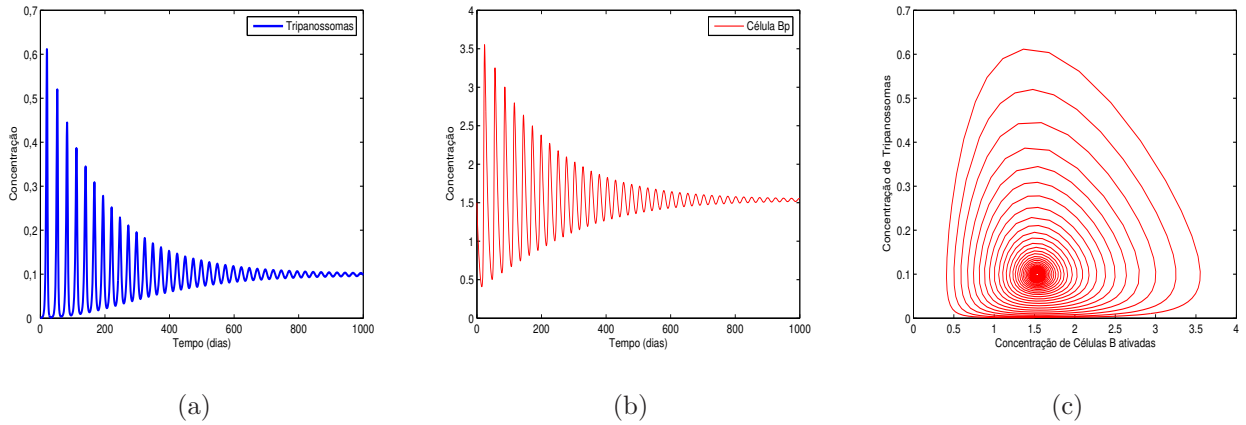


Figura 3.10: Dinâmica dos *Tripanossoma cruzi* e das Células B ativadas. Utilizamos o conjunto de valores apresentados na Tabela (3.2), excetos ϵ e γ , tal que $\epsilon = 0,4$ e $\gamma = 1$. O ponto de equilíbrio não-trivial estudado é $\overline{P_e} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{B}, \overline{B_p}) = (0,0993; 0,9663; 9,9876; 1,5361)$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 0,001$, $C_0 = 0,9$, $B_0 = 9,9$ e $B_{p0} = 1,5$.

Capítulo 4

Modelagem Matemática - Imunidade Celular

Nesse capítulo apresentamos mais um modelo matemático que descreve a ação do sistema imunológico adaptativo. Sabendo que esta ação pode se dar por meio da resposta celular ou humoral, neste capítulo a análise será voltada para a resposta celular, que reage à ação do parasita destruindo as células infectadas.

4.1 Modelo de Imunidade Celular

Tendo como referência a biologia do parasita protozoário *Trypanosoma cruzi* e a sua interação com o sistema imunológico, mostraremos a dinâmica de outro modelo matemático, que se baseia na Imunidade Celular e que acontece quando os antígenos presentes em células infectadas ativam os Linfócitos T citotóxicos específicos, de quem originam as células T de memória e os Linfócitos T citotóxicos ativos, perfurando a membrana plasmática, destruindo as células infectadas, mas sem fagocitá-las (não será analisada as células T memória).

Neste modelo, que é baseado na imunidade celular, não será analisada a ação do sistema imunológico contra o parasita na corrente sanguínea, pois essa é a função dos anticorpos,

que foi analisada no modelo humoral (vide capítulo anterior). Logo, toda atenção agora será direcionada à célula infectada pelo parasita, quando agem os linfócitos T citotóxicos.

A eliminação do *Tripanossoma* através das células infectadas ocorre principalmente através de seu encontro com linfócitos T citotóxicos produzidos para este fim, porém, como a concentração de linfócitos T citotóxicos é proporcional à quantidade de Linfócitos T citotóxicos ativos que os produziu, designados por L_a , o modelo considera que a concentração de Linfócitos T citotóxicos é proporcional a Linfócitos T citotóxicos ativos L_a , que, em contato com as células infectadas e, através da liberação de citocinas especiais, provoca a morte desta última e, conseqüentemente, a do parasita.

Vimos no capítulo anterior, que antes da penetração do *Tripanossoma cruzi* no interior das células, o parasita passa um tempo muito curto na corrente sanguínea onde começa os processos iniciais de reconhecimento e invasão do parasito com objetivo de infectar as células-alvo (fagócitos mononucleares, células musculares, células adiposas e neurônios), através de um processo de entrada relativamente complexo, envolvendo diferentes receptores/ligantes nas duas células envolvidas. Temos o processo de infecção que é representado pelo termo αTC , onde α é o coeficiente de infecção de parasita.

Portanto, a célula-alvo é infectada pelo parasita, onde o mesmo cresce a uma taxa proporcional ao número de novos parasitas replicados no interior da célula na forma amastigotas que multiplicam-se de maneira assexuada: $\tau(\mu_i + \mu_{i'})I$.

Considerando-se a homeostasia, assume-se que as células-alvo (fagócitos mononucleares, células musculares, células adiposas e neurônios) são produzidas a uma taxa k_c e morrem a uma taxa μ_c (constantes).

- (i) As células infectadas do sistema imunológico decrescem por dois motivos:
- (ii.1) Por morte natural, a uma taxa proporcional ao número de células-alvo: μ_i .
- (ii.2) Pela infecção causada pelo parasita, por meio de uma taxa $\mu_{i'}$.

A resposta imunológica celular é representada diretamente pela atuação dos linfócitos T citotóxicos específicos, sendo considerado que o encontro de um linfócitos T citotóxicos específicos com *Tripanossoma cruzi* pode resultar na sua ativação, o que ocorre a uma taxa β . O processo de apresentação do *Tripanossoma cruzi* a células apresentadoras de *Tripanossoma cruzi* (células “Natural Killer” (NK), neutrófilos, macrófagos e eosinófilos),

bem como reconhecimento de um organismo estranho que deve ser eliminado, estão implícitos no modelo através da taxa de ativação dos linfócitos T citotóxicos específicos, mediante o seu encontro com o *Tripanossoma cruzi*. A ação dos linfócitos T citotóxicos ativos sobre as células infectadas é descrita pelo termo ϵIL_a .

Os linfócitos T citotóxicos ativos, L_a , ao encontrarem com um *Tripanossoma cruzi*, através do estímulo de citocinas, dividem-se por um processo de clonagem, a uma taxa γ , que é descrito pelo termo $\gamma L_a T$, assim como a ativação dos linfócitos T citotóxicos específicos é proporcional à concentração de *Tripanossoma cruzi*, descrito pelo termo βLT .

Tabela 4.1: Definição das variáveis e parâmetros utilizados no segundo modelo matemático (3.4).

Variável/Parâmetro	Definição	Dimensão
T	População de <i>Tripanossoma cruzi</i>	[concentração]
C	População de células-alvo	[concentração]
I	População de células infectadas	[concentração]
L	População de linfócitos T citotóxicos específicos	[concentração]
L_a	População de linfócitos T citotóxicos ativos	[concentração]
α	Coeficiente (taxa) de infecção do <i>Tripanossoma cruzi</i>	[concentração] $\times$ [tempo] $^{-1}$
β	Taxa de interação de linfócitos B e <i>Tripanossoma cruzi</i>	[concentração] $\times$ [dia] $^{-1}$
ϵ	Taxa de eficiência de linfócitos T citotóxicos ativos	[concentração] $^{-1}$ $\times$ [dia] $^{-1}$
γ	Taxa de clonagem de linfócitos T citotóxicos	[concentração] $\times$ [dia] $^{-1}$
τ	Coeficiente de replicação dos <i>Tripanossoma cruzi</i>	adimensional
k_c	Taxa de produção de células-alvo	[concentração] $\times$ [tempo] $^{-1}$
k_l	Taxa de produção de linfócitos T citotóxicos específicos	[concentração] $\times$ [tempo] $^{-1}$
μ_c	Taxa de mortalidade de células-alvo	[dia] $^{-1}$
μ_l	Taxa de mortalidade de linfócitos T citotóxicos específicos	[dia] $^{-1}$
μ_a	Taxa de mortalidade de linfócitos T citotóxicos ativos	[dia] $^{-1}$

As variáveis e os parâmetros utilizados no modelo são apresentados na tabela 4.1.

Fazemos o coeficiente de replicação dos parasitas constante (τ), pois quando uma célula é invadida por um microorganismo, toda sua estrutura celular é desviada para replicação do parasita, o que resulta na liberação de um número tal de parasitas e a morte celular.

O modelo estudado nesse capítulo pode ser esquematizado através do diagrama de fluxo apresentado na Figura (4.1).

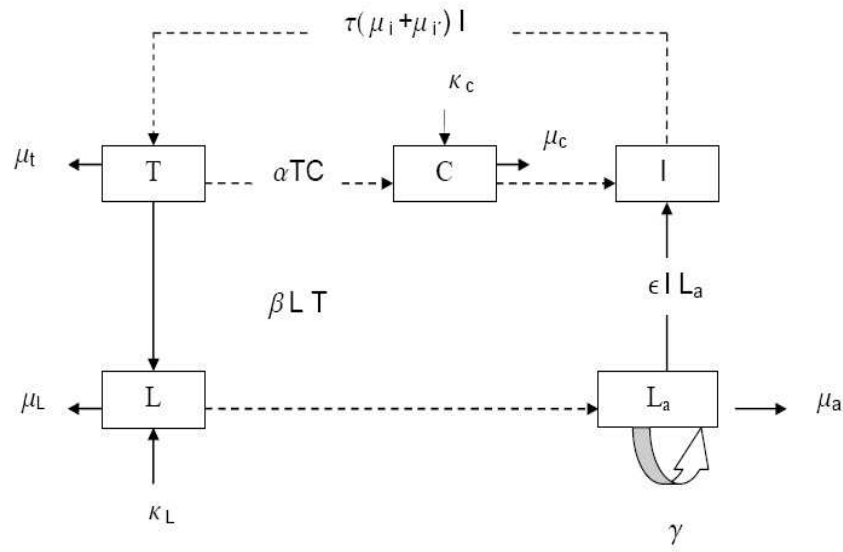


Figura 4.1: Esquema da dinâmica populacional entre o sistema imunológico e o parasita *Tripanossoma cruzi* utilizando os compartimentos do sistema de equação diferenciais ordinárias (3.4). As flechas pontilhadas indicam o fluxo entre as populações, enquanto as flechas cheias, indica a influência.

Considerando as hipóteses acima, a interação entre sistema imunológico (Imunidade Celular) e o parasita *Trypanosoma cruzi* através das células infectadas pode ser descrito através do seguinte sistema de equações diferenciais ordinárias

$$\begin{cases} \frac{dT}{dt} = -\mu_t T + \tau(\mu_i + \mu_{i'})I \\ \frac{dC}{dt} = k_c - \mu_c C - \alpha TC \\ \frac{dI}{dt} = \alpha TC - (\mu_i + \mu_{i'})I - \epsilon IL_a \\ \frac{dL}{dt} = k_l - \mu_l L - \beta LT \\ \frac{dL_a}{dt} = \beta LT - \mu_a L_a + \gamma L_a T. \end{cases} \quad (4.1)$$

A região de interesse biológico é

$$\Omega = \{(T, C, I, L, L_a) \in R^5 | T \geq 0, C \leq C_0, I \geq 0, L \leq L_0, L_a \geq 0\}, \quad (4.2)$$

em que $C_0 = \frac{k_c}{\mu_c}$ e $L_0 = \frac{k_l}{\mu_l}$ são as populações das células-alvo e dos linfócitos T citotóxicos antes da infecção do parasita.

Note que essa região de interesse biológico é positivamente invariante sob o fluxo induzido pelo sistema (4.1), pois analisando o campo vetorial, todos os pontos em Ω permanecem no interior dessa região ou nas fronteiras.

4.2 Ponto de Equilíbrio Trivial

Apresentaremos a análise do sistema de equações (4.1) usando o mesmo padrão feito no primeiro modelo, determinando primeiramente, o ponto de equilíbrio trivial e estudando a estabilidade deste ponto.

Igualando a zero os membros à esquerda do sistema (4.1) temos

$$\left\{ \begin{array}{l} -\mu_t T + \tau(\mu_i + \mu_{i'}) I = 0 \\ k_c - \mu_c C - \alpha TC = 0 \\ \alpha TC - (\mu_i + \mu_{i'}) I - \epsilon I L_a = 0 \\ k_l - \mu_l L - \beta LT = 0 \\ \beta LT - \mu_a L_a + \gamma L_a T = 0. \end{array} \right. \quad (4.3)$$

Se $\bar{I} = 0$, então da primeira equação obtemos que $\bar{T} = 0$; da segunda vem que $\bar{C} = \frac{k_c}{\mu_c}$; da terceira temos $\bar{L} = \frac{k_l}{\mu_l}$ e consequentemente obtemos $\bar{L}_a = 0$. Então um ponto de equilíbrio trivial é $\bar{P}_0^* = (0, C_0, 0, L_0, 0)$, definido por $\bar{P}_0^*$, onde

$$\bar{P}_0^* = \left(0, \frac{k_c}{\mu_c}, 0, \frac{k_l}{\mu_l}, 0 \right), \quad (4.4)$$

que corresponde ao sistema imunológico em repouso, representando a situação do *Trypanosoma cruzi*, ou por não ter ocorrido infecção ou subsequente a uma resposta imunológica bem sucedida.

Se $\bar{C} = 0$ e $\bar{L} = 0$, obtemos $k_c = 0$ e $k_l = 0$, o que não é verdade, pois assim não existiria taxa de reposição das células alvos e dos Linfócitos T citotóxicos.

Portanto o único ponto de equilíbrio trivial do sistema de equações é o ponto $\bar{P}_0^* = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{I}, \bar{L}, \bar{L}_a)$, onde $\bar{C} = \frac{k_c}{\mu_c}$, $\bar{L} = \frac{k_l}{\mu_l}$, e $\bar{I} = \bar{T} = \bar{L}_a = 0$, ou seja, $\bar{P}_1 = \left(0, \frac{k_c}{\mu_c}, 0, \frac{k_l}{\mu_l}, 0 \right)$.

4.2.1 Análise de Estabilidade Local

A estabilidade local de um ponto de equilíbrio é determinada pelos autovetores correspondentes à matriz jacobiana associado ao sistema de equações e calculada no ponto. A

matriz jacobiana associada ao sistema de equações (4.1) é dada por

$$J_{P^*} = \begin{pmatrix} -\mu_t & 0 & \tau(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & 0 \\ -\alpha C & -(\mu_c + \alpha T) & 0 & 0 & 0 \\ \alpha C & \alpha T & -(\mu_i + \mu_{i'}) - \epsilon L_a & 0 & -\epsilon I \\ -\beta L & 0 & 0 & -(\mu_l + \beta T) & 0 \\ \beta L + \gamma L_a & 0 & 0 & \beta T & -\mu_a + \gamma T \end{pmatrix}.$$

Teorema 4.2.1. *O ponto de equilíbrio trivial $\overline{P}_0^*$ é localmente e assintoticamente estável se $\alpha < \alpha^*$.*

Demonstração:

A matriz Jacobiano J do sistema (4.1) calculado no ponto $\overline{P}_0^*$ resulta

$$J_{P_0^*} = \begin{pmatrix} -\mu_t & 0 & \tau(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & 0 \\ -\frac{\alpha k_c}{\mu_c} & -\mu_c & 0 & 0 & 0 \\ \frac{\alpha k_c}{\mu_c} & 0 & -(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & 0 \\ -\frac{\beta k_l}{\mu_l} & 0 & 0 & -\mu_l & 0 \\ \frac{\beta k_l}{\mu_l} & 0 & 0 & 0 & -\mu_a \end{pmatrix},$$

cujo polinômio característico é

$$\varphi(\lambda) = (-\mu_a - \lambda)(-\mu_c - \lambda)(-\mu_l - \lambda) \left[\lambda^2 + (\mu_t + \mu_i + \mu_{i'})\lambda^1 + \left(\frac{\tau k_c(\alpha^* - \alpha)}{\mu_c} \right) \right] = 0. \quad (4.5)$$

Os valores de três autovalores do polinômio são facilmente obtidos:

$$\begin{cases} \lambda_1 = -\mu_c \\ \lambda_2 = -\mu_l \\ \lambda_3 = -\mu_a. \end{cases} \quad (4.6)$$

Em vez de calcular os valores dos outros dois autovalores associados ao polinômio, utiliza-se o critério de *Routh-Hurwitz*. Segundo o critério de *Routh-Hurwitz*, para que o polinômio de ordem 2, por exemplo, $\lambda^2 + a_1\lambda + a_2\lambda_0 = 0$, tenha raízes com parte real positiva, devemos ter: $a_1 > 0$ e $a_2 > 0$. Se todas as raízes reais forem negativas, ou se todas as raízes tiverem parte real negativa, então o ponto de equilíbrio é localmente e assintoticamente estável.

Aplicando ao polinômio entre colchetes de (4.5), os dois critérios de *Routh-Hurwitz* são satisfeitos se $\alpha < \alpha^*$.

Logo, para que o ponto de equilíbrio trivial seja localmente e assintoticamente estável, devemos ter:

$$\alpha < \alpha^*, \quad (4.7)$$

onde α^* é valor especial de α (taxa de infecção do *Tripanossoma cruzi*); e é instável para:

$$\alpha > \alpha^*. \quad (4.8)$$

A interpretação de α^* foi dada no capítulo anterior.

4.2.2 Estabilidade Global

Teorema 4.2.2. *Assumindo $\alpha < \alpha^*$, então as trajetórias do sistema (4.1) que começam em Ω aproximam ao conjunto invariante $\Omega_0 = (0, C_0, 0, L_0, 0)$.*

Para provar que o equilíbrio trivial é global e assintoticamente estável, utiliza-se a seguinte função de Lyapunov:

$$V = \frac{\tau I + T}{C_0}. \quad (4.9)$$

A sua derivada orbital é:

$$\dot{V} = \left[\frac{1}{C_0 k_c \alpha^*} \left(\alpha - \alpha^* \frac{C_0}{C} \right) C - \frac{\tau \epsilon I L_a}{C_0} \right]. \quad (4.10)$$

Agora, observamos que o subconjunto de Ω em que $\dot{V} = 0$ é definido pelas seguintes condições:

- (1) $\dot{V} < 0$. Para que a derivada da função de Lyapunov seja negativa, o termo entre parênteses da equação (4.10) tem que ser negativo, isto, $\alpha < \alpha^* \frac{C_0}{C}$. Na região de interesse biológico (4.2), temos $C \leq C_0$, que corresponde ao ponto de equilíbrio trivial local e assintoticamente estável, então $\alpha < \alpha^*$, portanto, $\dot{V} < 0$;
- (2) $\dot{V} = 0$: Provaremos que $\overline{P_0^*} = (0, C_0, 0, L_0, 0)$ é o conjunto invariante do modelo.

Nesse conjunto, o sistema (4.1) reduz a

$$\left\{ \begin{array}{l} \frac{dT}{dt} = 0 \\ \frac{dC}{dt} = k_c - \mu_c C \\ \frac{dI}{dt} = 0 \\ \frac{dL}{dt} = k_l - \mu_l L \\ \frac{dL_a}{dt} = 0, \end{array} \right. \quad (4.11)$$

Dessas equações tem-se que $T = 0$, $C(t) \longrightarrow C_0$, $L \longrightarrow L_0$, $I = 0$ e $L_a = 0$, quando $t \longrightarrow \infty$. Quando $\dot{V} = 0$, tem-se $T = 0$ e $I = 0$. Se não existir *Tripanossoma cruzi* no organismo do hospedeiro, pelas equações (4.1), teremos $C = C_0$, $L = L_0$, $L_a = 0$.

Logo o conjunto invariante é $\bar{P}_{e1} = (0, C_0, 0, L_0, 0)$. Portanto, mostramos que o subespaço invariante maximal contido em $\dot{V} = 0$ é precisamente Ω_0 , o que prova que o equilíbrio trivial é global e assintoticamente estável para $\alpha < \alpha^*$. 

4.3 Ponto de equilíbrio não-trivial

O equilíbrio não-trivial do sistema de equações (4.1), que representa a co-existência de todas as variáveis que compõem o modelo, ou seja, a presença do parasita juntamente com as células do sistema imunológico, é dado por $P^* = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{I}, \bar{L}, \bar{L}_a)$, em que

$$\left\{ \begin{array}{l} \bar{T} = \frac{\tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}}{\mu_t} \\ \bar{C} = \frac{k_c\mu_t}{\mu_c\mu_t + \alpha\tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}} \\ \bar{L} = \frac{k_l\mu_t}{\mu_l\mu_t + \beta\tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}} \\ \bar{L}_a = \frac{\beta k_l\mu_t\tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}}{[\mu_a\mu_t - \gamma\tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}][\mu_l\mu_t + \beta\tau(\mu_i + \mu_{i'})\bar{I}]} \end{array} \right. \quad (4.12)$$

Analisando a última coordenada do ponto de equilíbrio não-trivial acima, podemos observar que $\bar{L}_a$ só existe biologicamente se $\bar{I} < \frac{\mu_a}{\gamma} \frac{\mu_t}{\tau(\mu_i + \mu_{i'})}$.

Portanto, para que o equilíbrio endêmico seja biologicamente viável, precisamos verificar se $\bar{L}_a > 0$ (T e I são certamente positivos); para tal, deve ser satisfeitas as condições:

$$\alpha > \alpha^* \quad e \quad \bar{I} < \frac{\mu_a}{\gamma} \frac{\mu_t}{\tau(\mu_i + \mu_{i'})} = \bar{I}_*. \quad (4.13)$$

Assim, para que o ponto de equilíbrio com infecção seja viável, isto é, $\bar{I} > 0$ e $\bar{T} > 0$, é necessário que as condições (4.13) sejam satisfeitas.

O valor de $\bar{I}$ não-trivial é obtido como raízes da equação de terceiro grau

$$P(I) = [\alpha\beta\gamma\tau^3(\mu_i + \mu_{i'})^4] \times Q(T), \quad (4.14)$$

onde

$$Q(T) = L_{t3}\bar{T}^3 + L_{t2}\bar{T}^2 + L_{t1}\bar{T} + L_{t0} \quad (4.15)$$

foi obtida substituindo as coordenadas $\bar{T}$, $\bar{C}$, $\bar{L}$ e $\bar{L}_a$, em função de $\bar{T}$, dadas pelas equações (4.12). Os coeficientes L_{t3} , L_{t2} , L_{t1} e L_{t0} são dados por

$$\begin{cases} L_{t3} = 1 \\ L_{t2} = -\frac{k_c\mu_t^0}{\tau^0(\mu_i + \mu_{i'})^1} \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right) \left(1 - \frac{\beta_*}{\beta}\right) \left(1 - \frac{\gamma_2}{\gamma}\right) \\ L_{t1} = -\frac{k_c\mu_t^1}{\tau^1(\mu_i + \mu_{i'})^2} \left(\frac{\mu_l}{\beta}\right) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right) \left(1 - \frac{\gamma_1}{\gamma}\right) \\ L_{t0} = \frac{k_c\mu_t^2}{\tau^2(\mu_i + \mu_{i'})^3} \left(\frac{\mu_l}{\beta}\right) \left(\frac{\mu_a}{\gamma}\right) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right), \end{cases} \quad (4.16)$$

onde β_* é o valor especial de β (taxa de encontro de *Trypanosoma cruzi* com os linfócitos T citotóxicos específicos), que é dado por

$$\beta_* = \frac{\alpha\mu_l\mu_t}{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)},$$

e temos γ_1 e γ_2 valores especiais de γ (taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos) dados por

$$\gamma_1 = \frac{k_l\mu_c\mu_t(\beta - \beta_1)(\epsilon_1 - \epsilon)}{\mu_l\tau k_c(\mu_i + \mu_{i'})(\alpha - \alpha^*)} \quad e \quad \gamma_2 = \frac{\mu_a\mu_t(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon k_l\mu_t}{\tau k_c(\mu_i + \mu_{i'}) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha}\right) \left(\frac{\beta_*}{\beta} - 1\right)}$$

onde β_1 é o valor especial de β (taxa de encontro de *Trypanosoma cruzi* com os linfócitos T citotóxicos específicos) e ϵ_1 valor especial de ϵ (taxa de encontro de linfócitos T citotóxicos produzidos pelos linfócitos T citotóxicos ativos por meio da ativação do *Trypanosoma cruzi*), respectivamente dados por

$$\beta_1 = \frac{\alpha\mu_l\mu_a(\mu_i + \mu_{i'})}{k_l\mu_c(\epsilon_1 - \epsilon)} \quad e \quad \epsilon_1 = \frac{\mu_a\tau k_c(\mu_i + \mu_{i'})(\alpha - \alpha^*)}{k_l\mu_c\mu_t}.$$

Vimos que o ponto de equilíbrio não-trivial existe biologicamente se, $\alpha > \alpha^*$ e $\bar{I} < \bar{I}_*$. O polinômio $P(I)$, dado pela equação (4.14), tem, para $\alpha > \alpha^*$:

- (i) $P(\bar{I} \rightarrow -\infty) = -\infty$;
- (ii) $P(\bar{I} = 0) = L_{t0} > 0$;
- (iii) $P(\bar{I}_*) = -\frac{\beta \epsilon k_l \mu_a (\gamma \mu_c + \alpha \mu_a)}{\gamma^2} < 0$;
- (iv) $P(\bar{I} \rightarrow \infty) = +\infty$.

Sendo $P(\bar{I}_*)$ de 3º grau, tem-se até 3 raízes reais. Usando o Teorema do Valor Intermediário ($P(\bar{I}_*)$ é polinômio, portanto, é contínua), sabe-se que:

- 1) $[-\infty, 0]$ tem-se pelo menos uma raiz real negativa;
- 2) $[0, \bar{I}_*]$ tem-se pelo menos uma raiz real positiva;
- 3) $[\bar{I}_*, \infty]$ tem-se pelo menos uma raiz real positiva.

Como tem três raízes, em cada sub-caso, tem-se exatamente uma raiz negativa e duas reais positivas.

Portanto, o sistema tem dois pontos de equilíbrio não-triviais, sendo um com densidade maior de parasitas $\bar{I}_+ > \bar{I}_*$, e outro, com concentração menor de parasitas $\bar{I}_- < \bar{I}_*$, com $\bar{I}_+ > \bar{I}_-$.

A análise da estabilidade desses dois pontos de equilíbrio não-triviais será demonstrada analiticamente na seção (4.5), através do *Crîtérios de Routh-Hurwitz*.

4.4 Sistema Imunológico

Nessa seção será apresentado numericamente o Caso Geral, que corresponde a coexistência de todas as variáveis e parâmetros envolvidos no modelo estudado.

Resultados numéricos

O estudo numérico é realizado com o conjunto de parâmetros apresentados nas Tabela (4.2) relacionada ao respectivo modelo, os quais foram obtidos da literatura biológica e, para aqueles não especificados na literatura, estabelecemos uma correlação razoável com a homeostasia de células do corpo humano.

Relembrando, os parâmetros do modelo têm as seguintes dimensões: para as taxas de mortalidades, $[dia]^{-1}$, para produção de células do sistema imunológico, $[concentração] \times [tempo]^{-1}$, para a taxa de replicação do parasita $[concentração] \times [tempo]^{-1}$. Quanto, porém, às taxas de transição β e ϵ , à taxa de ligação célula infectada-linfócitos T citotóxicos ativos e a taxa de clonagem γ , elas são objeto de estudo mais cuidadoso neste trabalho, pois não existem dados referentes à interação entre sistema imunológico e parasitas. As dimensões destas taxas são $[concentração]^{-1} \times [dia]^{-1}$. Assim, o objetivo do estudo numérico é analisar o caso geral do modelo, identificando-se aqueles parâmetros que mais o influenciam.

Tabela 4.2: Valores de parâmetros utilizados nas simulações.

k_c	k_b	τ	μ_c	μ_i	$\mu_{i'}$	μ_b	μ_p	μ_t
0,2	0,8	10	0,2	0,01	0,01	0,08	0,1	0,062

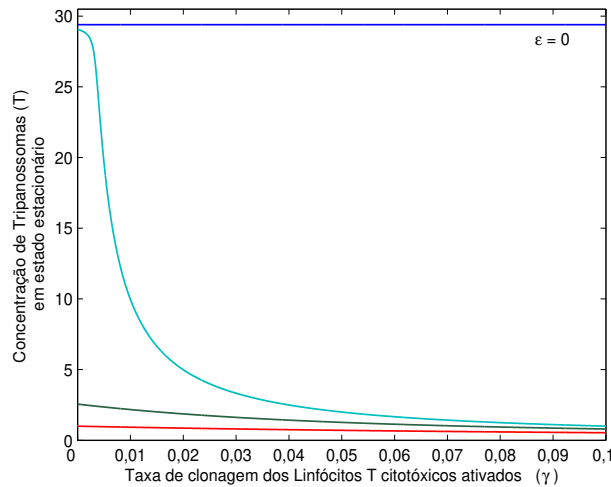


Figura 4.2: Concentração de células infectadas em função da taxa de clonagem dos linfócitos T ativos (γ), variando a taxa que corresponde a ação dos linfócitos ativos (ϵ) de cima para baixo (curvas). As duas últimas curvas são referentes a $\epsilon = 0,4$ e $\epsilon = 1,491$. Quanto maior o valor de ϵ , menor o valor de T em equilíbrio. Os valores de ϵ e γ estão anexados no Apêndice A.

A Figura (4.2) mostra que, independente do nível clonagem de linfócitos T citotóxicos ativos, se houver a eficácia nula desses linfócitos T citotóxicos ($\epsilon = 0$), a concentração de parasitas permanecerá constante. Biologicamente, esse resultado significa que, mesmo que ocorra a ativação policlonal durante a infecção, com expansão de muitos clones de linfócitos T citotóxicos ativos para antígenos relacionados ao parasita ($\gamma \neq 0$), se esses clones produzirem linfócitos T citotóxicos deficientes ($\epsilon = 0$), as células infectadas não sofrerão a ação da resposta imunológica.

Mas quando o sistema começa reagir contra o patógeno, o nível de parasita tende a decrescer enquanto o parâmetro ϵ aumenta, e quando alcança ao seu valor limiar $\epsilon_* = 1,491$, temos $\bar{T} = 1$. Qualquer resposta imunológica mais forte que ϵ_* tenderá a infecção para o nível zero. Esse resultado é visualizado através das curvas, para três valores de $\epsilon = 0,0001; 0,4; 1,491$, podemos observar que, os Linfócitos T citotóxicos estão agindo eficientemente contra células infectadas, pois a concentração de parasita está diminuindo na corrente

sanguínea, ou seja, quanto maior é o valor de ϵ , menos parasita vão estar circulando no organismo do hospedeiro.

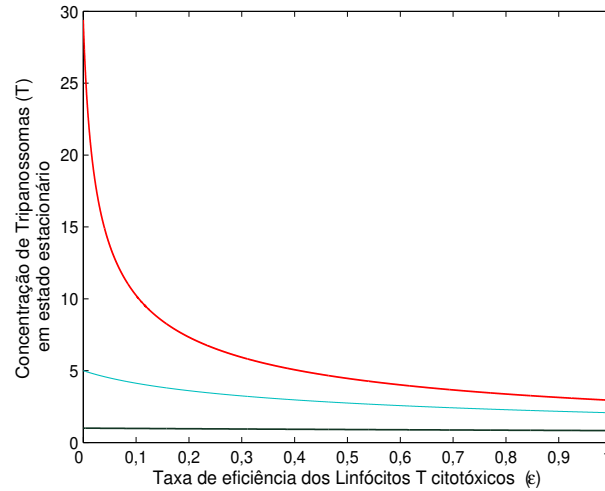


Figura 4.3: Concentração de parasitas em função da taxa de eficiência dos linfócitos T citotóxicos (ϵ), variando a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos (γ) de cima para baixo. Quanto maior o valor de γ , menor o valor de T em equilíbrio. Os valores de ϵ e γ estão anexados no Apêndice A.

Na figura (4.3), podemos observar que, mesmo com a ausência de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos, que corresponde uma concentração limitada de linfócitos T, se essa quantidade limitada produzirem linfócitos T citotóxicos eficientes, a concentração de parasitas pode ser controlada ou até mesmo extinta, à medida que aumenta a concentração de Linfócitos T citotóxicos eficientes. Portanto, esse caso biológico demonstra que mesmo que indivíduo apresente uma resposta imunológica limitada, ou seja, se existem uma concentração limitada de linfócitos T citotóxicos, que não clonam, mas produzem linfócitos T citotóxicos bastantes eficientes (ϵ) grande, a infecção pode ser controlada ou até mesmo desaparecer no organismo do hospedeiro devido a grande eficiência dos linfócitos T citotóxicos.

Na segunda e na terceira curvas, percebe-se que a concentração de parasitas tende a diminuir, pois existem Linfócitos T citotóxicos ativados, que clonam e produzem linfócitos T citotóxicos eficientes capazes de controlar ou até mesmo eliminar a doença.

4.5 Análise do ponto de equilíbrio não-trivial

A estabilidade de $\overline{P^*} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{L}, \overline{I}, \overline{L_a})$ é determinada pelos autovalores correspondentes à matriz jacobiana associada ao sistema (4.1) calculada em $P = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{L}, \overline{I}, \overline{L_a})$, em função de $\overline{I}$, a qual é dada por

$$J_{\overline{P^*}} = \begin{pmatrix} -\mu_t & 0 & \tau(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & 0 \\ -\alpha\overline{C} & -(\mu_c + \alpha\overline{T}) & 0 & 0 & 0 \\ \alpha\overline{C} & \alpha\overline{T} & -(\mu_i + \mu_{i'}) - \epsilon\overline{L_a} & 0 & -\epsilon\overline{I} \\ -\beta\overline{L} & 0 & 0 & -(\mu_l + \beta\overline{T}) & 0 \\ \beta\overline{L} + \gamma\overline{L_a} & 0 & 0 & \beta\overline{T} & -\mu_a + \gamma\overline{T} \end{pmatrix}.$$

A equação característica dada por $\det(J_{\overline{P^*}} - \lambda I) = 0$ é

$$\lambda^5 + B_1\lambda^4 + B_2\lambda^3 + B_3\lambda^2 + B_4\lambda + B_5 = 0, \quad (4.17)$$

onde, usando a terceira equação do sistema (4.1), obtemos $\alpha\overline{T}\overline{C} = [(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L_a}]\overline{I}$, e lembrando que,

$$\overline{T} = \frac{\tau(\mu_i + \mu_{i'})\overline{I}}{\mu_t}, \quad (4.18)$$

temos

$$\tau\alpha\overline{C}(\mu_i + \mu_{i'}) = \mu_t[(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a],$$

e da última equação do sistema (4.1), obtemos $(\beta\overline{L} + \gamma\overline{L}_a)\overline{T} = \mu_a\overline{L}_a$. Logo, podemos escrever os coeficientes da seguinte forma:

$$B_1 = (\mu_c + \alpha\overline{T}) + (\mu_l + \beta\overline{T}) + (\mu_a - \gamma\overline{T}) + (\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a + \mu_t;$$

$$B_2 = (\mu_c + \alpha\overline{T})[(\mu_l + \beta\overline{T}) + (\mu_a - \gamma\overline{T})] + (\mu_l + \beta\overline{T})(\mu_a - \gamma\overline{T}) + [(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a + \mu_t][(\mu_c + \alpha\overline{T}) + (\mu_l + \beta\overline{T}) + (\mu_a - \gamma\overline{T})];$$

$$B_3 = (\mu_c + \alpha\overline{T})(\mu_l + \beta\overline{T})(\mu_a - \gamma\overline{T}) + \alpha\mu_t\overline{T}[(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a] + \mu_a\mu_t\epsilon\overline{L}_a + [(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a + \mu_t][(\mu_c + \alpha\overline{T})(\mu_a - \gamma\overline{T}) + (\mu_l + \beta\overline{T})(\mu_a - \gamma\overline{T}) + (\mu_c + \alpha\overline{T})(\mu_l + \beta\overline{T})];$$

$$B_4 = \alpha\mu_t\overline{T}[(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a][(\mu_l + \beta\overline{T}) + (\mu_a - \gamma\overline{T})] + (\mu_c + \alpha\overline{T})\epsilon\overline{L}_a\mu_a\mu_t + \mu_l\mu_a\mu_t\epsilon\overline{L}_a + [(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a + \mu_t](\mu_c + \alpha\overline{T})(\mu_l + \beta\overline{T})(\mu_a - \gamma\overline{T}) + \epsilon\mu_l\tau(\mu_i + \mu_{i'})\overline{I}(\beta\overline{L} + \gamma\overline{L}_a) + \alpha\epsilon\mu_a\overline{L}_a\tau(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon(\beta\overline{L} + \gamma\overline{L}_a)\tau(\mu_i + \mu_{i'})[\mu_c + \mu_l] + \beta\epsilon\gamma\overline{T}\overline{L}_a\tau(\mu_i + \mu_{i'});$$

$$B_5 = \alpha\mu_t\overline{T}[(\mu_i + \mu_{i'}) + \epsilon\overline{L}_a](\mu_a - \gamma\overline{T})(\mu_l + \beta\overline{T}) + \epsilon\mu_l(\beta\overline{L} + \gamma\overline{L}_a)\tau(\mu_i + \mu_{i'})\overline{I}(\mu_c + \alpha\overline{T}) + \epsilon\beta\gamma\overline{T}\overline{L}_a\tau(\mu_i + \mu_{i'})\overline{I}.$$

As condições para determinar a estabilidade assintótica do ponto $\overline{P}^*$, segundo o Critério de Hurwitz, tratando-se de uma equação de grau 5 são:

1. $B_j > 0$ para $j = 1 \dots 5$;
2. $B_1B_2 > B_3$;
3. $B_1B_2 - B_3 > \frac{(B_5 - B_4B_1)^2}{(B_4B_3 - B_5B_2)}$, tal que $B_4B_3 > B_5B_2$;
4. se $B_5 < B_1B_4 \Rightarrow B_1B_2 - B_3 > (B_4B_1 - B_5)\frac{B_1}{B_3}$.

Como estamos trabalhando com uma equação de grau 5, não vamos conseguir mostrar analiticamente todas as condições do Critério de Hurwitz que seriam necessárias para provar a estabilidade do ponto, então vamos mostrar apenas que B_1, B_2, B_3, B_4 e B_5 são positivos se $\bar{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$ e $B_1 B_2 > B_3$ se $\frac{\mu_a}{\alpha} < \bar{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$ ou $\gamma < \alpha$ e checaremos as duas últimas condições de estabilidade através de simulações numéricas.

4.5.1 $B_j > 0$ para $j = 1 \dots 5$

Quando $\alpha > \alpha^*$ e $\bar{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$ (condições de existência do ponto de equilíbrio não-trivial), temos a solução não trivial positiva, ou seja, a população $\bar{B}_p$ é positiva. Com isto, os coeficientes B_1, B_2, B_3 e B_4 e B_5 são todos positivos, dado que somas de termos positivos.

4.5.2 $B_1 B_2 > B_3$

Desenvolvendo $B_1 B_2 - B_3$, obtemos

$$B_1 B_2 - B_3 = \epsilon \bar{L}_a \mu_t (\alpha \bar{T} - \mu_a) + Y, \quad (4.19)$$

onde

$$\begin{aligned} Y = & \mu_t^2 [(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_l + \beta \bar{T}) + (\mu_a - \gamma \bar{T})] + (\mu_c + \alpha \bar{T})^2 [(\mu_l + \beta \bar{T}) + (\mu_a - \gamma \bar{T}) + (\mu_i + \mu'_i) + \\ & \mu_t] + (\mu_l + \beta \bar{T})^2 [(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_a - \gamma \bar{T}) + (\mu_i + \mu'_i) + \epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + (\mu_a - \gamma \bar{T})^2 [(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_l + \beta \bar{T}) + \\ & (\mu_i + \mu'_i) + \epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + (\mu_i + \mu'_i)^2 [(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_l + \beta \bar{T}) + (\mu_a - \gamma \bar{T})] + \epsilon^2 \bar{L}_a^2 [(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_l + \beta \bar{T}) + \\ & (\mu_a - \gamma \bar{T})] + (\mu_c + \alpha \bar{T})(\mu_l + \beta \bar{T})[(\mu_a - \gamma \bar{T}) + (\mu_i + \mu'_i) + \epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + (\mu_c + \alpha \bar{T})(\mu_a - \gamma \bar{T})[(\mu_i + \mu'_i) + \\ & \epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + \mu_c \mu_t [2\epsilon \bar{L}_a + (\mu_i + \mu'_i)] + (\mu_c + \alpha \bar{T})(\mu_i + \mu'_i)[(\mu_a - \gamma \bar{T}) + (\mu_l + \beta \bar{T}) + \epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + (\mu_a - \\ & \gamma \bar{T})(\mu_i + \mu'_i)[(\mu_l + \beta \bar{T}) + \epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + (\mu_l + \beta \bar{T})(\mu_i + \mu'_i)[\epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + \mu_t(\mu_l + \beta \bar{T})[(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_a - \\ & \gamma \bar{T}) + (\mu_i + \mu'_i) + \epsilon \bar{L}_a] + \mu_t(\mu_a - \gamma \bar{T})[(\mu_l + \beta \bar{T}) + \epsilon \bar{L}_a + \mu_t] + (\mu_l + \beta \bar{T})(\mu_i + \mu'_i)[(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_l + \\ & \beta \bar{T}) + (\mu_i + \mu'_i) + \epsilon \bar{L}_a] + (\mu_a - \gamma \bar{T})(\mu_l + \beta \bar{T})[(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_i + \mu'_i) + \epsilon \bar{L}_a] + \epsilon \bar{L}_a(\mu_a - \gamma \bar{T})[(\mu_c + \\ & \alpha \bar{T}) + (\mu_l + \beta \bar{T})] + \mu_t \epsilon \bar{L}_a [(\mu_l + \beta \bar{T}) + (\mu_a - \gamma \bar{T})] + \epsilon \bar{L}_a(\mu_i + \mu'_i)[(\mu_c + \alpha \bar{T}) + (\mu_l + \beta \bar{T}) + (\mu_a - \gamma \bar{T})], \end{aligned}$$

tal que Y é formado pela soma de termos positivos, pois estamos considerando $\bar{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$.

Para $\frac{\mu_a}{\alpha} < \bar{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$ ou $\gamma < \alpha$, ambos os termos do segundo membro são positivos, implicando que $B_1 B_2 - B_3 > 0$.

Se $\gamma > \alpha$, o primeiro termo é negativo, mas pode ter $\epsilon \bar{L}_a \mu_t (\alpha \bar{T} - \mu_a) + Y > 0$, o que implica que $B_1 B_2 - B_3 > 0$. Aumentando o parâmetro γ , então há um valor limiar, γ^{th} , tal que o segundo membro da equação (4.19) se torna zero. Acima deste γ^{th} , tem-se $B_1 B_2 - B_3 < 0$.

Para os testes numéricos fixamos os parâmetros apresentado na Tabela 4.2, exceto o parâmetro γ , respeitando a coerência biológica e considerando a condição $\alpha > \alpha^*$. Selecionamos apenas alguns testes para explicitar numericamente os testes analíticos.

- $\alpha = 0,07$, $\gamma = 0,19$, $\mu_p = 0,1$, temos $\bar{T} = 0,46978$, logo obtemos as seguintes raízes

λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5
-0,00007-0,06492i	-0,00007+0,06492i	-0,29197	-20744	-0,08044

- e $\alpha = 0,07$, $\gamma = \gamma^{th} = 0,2$, $\mu_p = 0,1$, temos $\bar{T} = 0,449$, logo temos as seguintes raízes

λ_1	λ_2	λ_3	λ_4	λ_5
0,00025-0,06491i	0,00025+0,06491i	0,00025+0,06491i	-0,29186	-0,20739

Portanto, através das simulações numéricas podemos concluir, para valores de $\gamma \geq \gamma^{th}$, o ponto de equilíbrio não-trivial é instável, ou seja, para $\alpha > \alpha^*$ temos um ponto de equilíbrio trivial instável.

Nas seções (4.6) e (4.7) apresentaremos dois casos particulares na fase endêmica da infecção. O primeiro caso analisa a deficiência do sistema imunológico, através da Imunidade celular, representada pela eficácia nula dos Linfócitos T citotóxicos ativos, isto é, $\epsilon = 0$. Segundo, temos a ausência de clonagem dos Linfócitos T citotóxicos ativados, ou seja, $\gamma = 0$.

4.6 Eficácia nula dos Linfócitos Citotóxicos ($\epsilon = 0$)

O processo de deficiência imunológica ocorre em ambas as resposta imunológicas específicas (humoral e celular), isto é, em certos processos infecciosos, o hospedeiro também pode produzir linfócitos T citotóxicos não funcionais que se ligam a antígenos do parasita por meio das células infectadas, mas que são incapazes de eliminá-los de modo eficiente. Os linfócitos T citotóxicos neutralizantes são exemplos de linfócitos T citotóxicos não funcionais. Trata-se pois de linfócitos T citotóxicos que não bloqueiam a invasão de células do hospedeiro pelo parasita e que, portanto, não interrompem a disseminação do agente infeccioso.

Portanto, vamos considerar esse caso baseado na hipótese acima, ou seja, temos linfócitos T citotóxicos ativos por *Trypanossoma cruzi* que clonam e produzem linfócitos T citotóxicos não funcionais.

Proposição 4.6.1. *Se $\epsilon = 0$ obtemos o ponto de equilíbrio não-trivial, $\overline{P}_2^* = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{I}, \overline{L}, \overline{L}_a)$, onde*

$$\left\{ \begin{array}{l} \overline{T} = \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}, \\ \overline{C} = \frac{\mu_t}{\alpha \tau}, \\ \overline{I} = \frac{k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha(\mu_i + \mu_{i'})}, \\ \overline{L} = \frac{\alpha k_l \mu_t}{\alpha \mu_l \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}, \\ \overline{L}_a = \frac{\alpha \beta k_l \mu_t \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{[\alpha \mu_l \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)][\alpha \mu_a \mu_t - \gamma \tau k_c(\alpha - \alpha^*)]} \end{array} \right. \quad (4.20)$$

Definindo

$$\gamma^* = \frac{\alpha \mu_a \mu_t}{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}, \quad (4.21)$$

podemos reescrever $\overline{L}_a$ da seguinte forma

$$\overline{L}_a = \frac{\alpha\beta k_l \mu_t}{[\alpha\mu_l \mu_t + \beta\tau k_c(\alpha - \alpha^*)](\gamma^* - \gamma)}. \quad (4.22)$$

Note que $L_a \leq 0$ para $\gamma \geq \gamma^*$, corresponde a mesma análise desenvolvida no modelo anterior.

Analogamente feita no primeiro modelo, quando a taxa de clonagem dos linfócitos ativos é alta, $\gamma > \gamma^*$, então, a quantidade de linfócitos ativados tende ao infinito para todos os valores iniciais de L_{a0} , ou seja, $L_a \rightarrow \infty$ quando $t \rightarrow \infty$. Portanto, para valores de γ maiores que o valor de γ^* , $\overline{L}_a$ sempre será negativo, biologicamente inviável e matematicamente um ponto de equilíbrio instável, com L_a tendendo assintoticamente para infinito. Logo, para $\gamma > \gamma^*$ obtemos o ponto $P_2^* = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{I}, \overline{L}, \infty)$, que não é um ponto de equilíbrio porque $L_a \rightarrow \infty$, ou seja, o sistema dinâmico cresce indefinidamente para uma das variáveis. Portanto, existe $\overline{L}_a < 0$, que é instável sempre.

Logo, esse ponto de equilíbrio não-trivial biologicamente existe se $\gamma < \gamma^*$. Além disso, analisando as coordenadas $\overline{T}$ e $\overline{C}$ desse ponto de equilíbrio não-trivial, podemos observar que a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos ($\gamma \neq 0$) não afetam a concentração de parasita, pelo fato das células B ativadas produzirem linfócitos T citotóxicos ativos deficientes ou não funcionais ($\epsilon = 0$), ou seja, esse caso corresponde a uma resposta imunológica deficiente.

Proposição 4.6.2. *O ponto de equilíbrio não-trivial $\overline{P}_2^* = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{I}, \overline{L}, \overline{L}_a)$ é estável para $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$.*

Prova:

A matriz Jacobiano J do sistema (4.1) calculado no ponto $\overline{P}_2^*$ resulta

$$J(\overline{P_2^*}) = \begin{pmatrix} -\mu_t & 0 & \tau(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & 0 \\ -\frac{\mu_t}{\tau} & \vartheta_1 & 0 & 0 & 0 \\ \frac{\mu_t}{\tau} & \vartheta_2 & -(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & 0 \\ \vartheta_3 & 0 & 0 & \vartheta_4 & 0 \\ \vartheta_5 & 0 & 0 & \vartheta_6 & \vartheta_7 \end{pmatrix},$$

onde

$$\vartheta_1 = -\mu_c - \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}, \quad \vartheta_2 = \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}$$

e

$$\vartheta_3 = -\frac{\alpha \beta k_l \mu_t}{\alpha \mu_l \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}, \quad \vartheta_4 = -\mu_l - \frac{\beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}$$

mais

$$\vartheta_5 = \frac{\alpha \beta k_l \mu_t}{\alpha \mu_l \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)} + \frac{\alpha^2 \beta \gamma k_l \mu_t^2}{[\alpha \mu_l \mu_t + \beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)] \tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma - \gamma^*)}$$

finalmente

$$\vartheta_6 = \frac{\beta \tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t} \quad e \quad \vartheta_7 = \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma - \gamma^*)}{\alpha \mu_t},$$

cujo polinômio característico é

$$p(\lambda) = (\vartheta_4 + \lambda)(\vartheta_7 + \lambda)p_3(\lambda), \quad (4.23)$$

Primeiro tem-se os autovalores λ_1 e λ_2 que são dados por

$$\lambda_1 = -\vartheta_4 \quad e \quad \lambda_2 = -\vartheta_7,$$

que são negativos se $\gamma < \gamma^*$ e $\alpha > \alpha^*$. Só falta determinar autovalores restantes, designados por λ_2 , λ_3 e λ_4 , raízes de $p_3(\lambda)$. Como é um polinômio de terceiro grau, determina-se o sinal dos autovalores λ_2 , λ_3 e λ_4 . Para tal, usamos os critérios de Routh- Hurwitz, que estabelece critérios a respeito do sinal das raízes: se $L_{t1} > 0$, $L_{t3} > 0$ e $L_{t1}L_{t2} > L_{t3}$, então todas raízes tem parte real negativa. O polinômio de terceiro grau $p_3(\lambda)$ é re-escrito com

$$p_3(\lambda) = \lambda^3 + L_{t1}\lambda^2 + L_{t2}\lambda + L_{t3}, \quad (4.24)$$

com os coeficientes dados por

$$\begin{cases} L_{t1} = \mu_t + (\mu_i + \mu_{i'}) + \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \\ L_{t2} = [\mu_t + (\mu_i + \mu_{i'})] \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \\ L_{t3} = \tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\mu_i + \mu_{i'}). \end{cases} \quad (4.25)$$

O primeiro e o segundo critérios serão satisfeitos, $L_{t1} > 0$ e $L_{t3} > 0$, se $\alpha > \alpha^*$. Verificaremos, agora, se satisfaz a última condição $L_{t1}L_{t2} > L_{t3}$, temos

$$\begin{aligned} \bullet \quad L_{t1}L_{t2} - L_{t3} &= \mu_c\mu_t(\mu_i + \mu_{i'}) + [\mu_t^2 + \mu_t(\mu_i + \mu_{i'}) + (\mu_i + \mu_{i'})^2] \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] + \\ &+ [\mu_t + (\mu_i + \mu_{i'})] \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right]^2. \end{aligned}$$

Portanto fica verificado que $L_{t1}L_{t2} - L_{t3} > 0$ se $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$.

Como todas as condições de estabilidade de *Routh- Hurwitz* foram satisfeitas, logo o ponto de equilíbrio não trivial $\overline{P}_2^*$ é localmente e assintoticamente estável se $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$. ♣

4.7 Ausência de clonagem de Linfócitos Ativados

$$(\gamma = 0)$$

Analogamente, o que pode ocorrer com os linfócitos B (Imunidade humoral), também temos a ocorrência de não ativação de clones específicos de linfócitos T citotóxicos ativos contra o parasita, ou seja, existem T citotóxicos ativos pelo parasita, que não clonam, mas produzem linfócitos T citotóxicos eficientes. Logo, temos mais um caso que corresponde a uma resposta imunológica limitada, pois mesmo com a concentração limitada de linfócitos T citotóxicos, sendo a produção de linfócitos T citotóxicos eficiente, a infecção pode ser eliminada, caso contrário, a infecção permanecerá no organismo do hospedeiro.

Fazendo $\gamma = 0$ em (4.16), o polinômio (4.15) é dada por

$$L_{t2}\bar{I}^2 + L_{t1}\bar{I} + L_{t0} = 0, \quad (4.26)$$

onde os coeficientes do polinômio do segundo grau são dado por:

$$\begin{cases} L_{t2} = \tau^2(\mu_i + \mu_{i'})^2 \mu_t [\epsilon k_l + \mu_a(\mu_i + \mu_{i'})] \\ L_{t1} = k_l \mu_t \tau (\mu_i + \mu_{i'})^2 (\epsilon - \epsilon_1) \left(\frac{\mu_c}{\alpha} \right) \left(1 - \frac{\beta_1}{\beta} \right) \\ L_{t0} = -\mu_a \mu_t^2 \tau k_c (\mu_i + \mu_{i'}) \left(\frac{\mu_l}{\beta} \right) \left(1 - \frac{\alpha^*}{\alpha} \right), \end{cases} \quad (4.27)$$

onde ϵ_1 é o valor especial de ϵ (taxa de encontro dos linfócitos T citotóxicos ativos produzidos pelos linfócitos T citotóxicos por meio da ativação do *Tripanossoma cruzi*), que é dado por

$$\epsilon_1 = \frac{\mu_a(\mu_i + \mu_{i'})\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{k_l \mu_c \mu_t},$$

e β_1 valores especial de β (taxa de encontro de *Tripanossoma cruzi* com os linfócitos T citotóxicos), que são dados por

$$\beta_1 = \frac{\alpha \mu_l \mu_a (\mu_i + \mu_{i'})}{k_l \mu_c (\epsilon_1 - \epsilon)}.$$

Mais uma vez, emprega-se a *Regra de Descarte* em cima dos coeficientes apresentados (4.27). Temos neste caso, $L_{t3} > 0$. As condições de existência são basicamente idênticas às do modelo 1 (Imunidade humoral).

- Para $\epsilon < \epsilon_1$ e $\beta < \beta_1$, temos $L_{t1} > 0$ e $L_{t0} < 0$, então o polinômio (4.26) tem uma única solução. Assim, P^* é único. Quando o número médio de parasitas produzidos por um parasita que infectou uma célula-alvo é maior que um ($\alpha > \alpha^*$), os parasitas persistem no organismo do hospedeiro.
- Para $\epsilon < \epsilon_1$ e $\beta > \beta_1$, tem-se $L_{t1} < 0$ e $L_{t0} < 0$, temos então, a mesma situação descrita no item acima.
- Para $\epsilon > \epsilon_1$ temos $L_{t1} > 0$ e $L_{t0} < 0$, então o polinômio (3.39) tem uma única solução .
- Para $\alpha < \alpha^*$, tem-se $L_{t1} > 0$ e $L_{t0} > 0$, então o polinômio (4.26) não tem nenhuma solução positiva. Nesta situação, a infecção é sempre debelada pelo sistema imunológico mesmo na ausência de clonagem dos linfócitos ativados.

Portanto, existe uma única raiz real positiva, $\bar{I}$, para o polinômio (4.26), independente do sinal de L_{t2} . Assim, existe um único ponto de equilíbrio endêmico, $P^* = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{I}, \bar{L}, \bar{L}_a)$, biologicamente viável, que é L.A.E. para $\alpha > \alpha^*$. Ou seja, com a ausência de clonagem dos Linfócitos ativos, a doença é mantida no organismo do hospedeiro.

Bifurcação do caso $\gamma = 0$

As bifurcações abaixo também são do tipo “forward”. Mostramos para $0 \leq \alpha \leq 0,07$ que existem dois tipos de região de equilíbrio nos dois casos estudados, uma para o trivial e outra para o endêmico, tal que, $\alpha^* = 0,0062$.

- Se $\alpha < \alpha^*$ há um ponto de equilíbrio trivial estável, $P_0 = (0, \frac{k_c}{\mu_c}, 0, \frac{k_l}{\mu_l}, 0)$, onde existem somente as populações de células-alvo e células do sistema imunológico;
- Se $\alpha > \alpha^*$ há um ponto de equilíbrio não-trivial estável, onde todas as variáveis do sistema coexistem;

- $\alpha = \alpha^*$ é o valor onde ocorre a bifurcação.

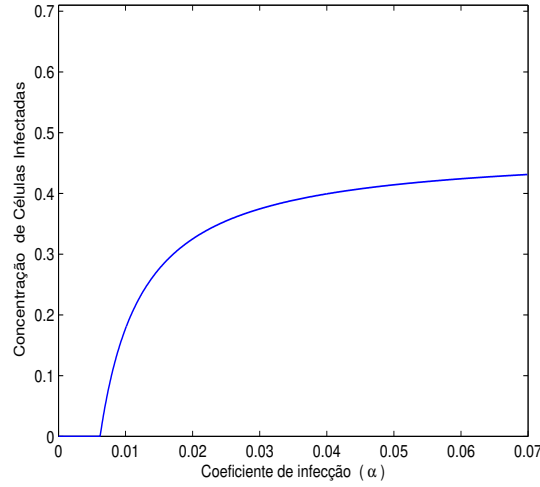


Figura 4.4: Diagrama de bifurcação.

4.8 Ausência de clonagem de Linfócitos Ativados

$(\gamma = 0)$

Nessa seção, será estudado o último caso particular que analisa o comportamento do parasita, diante de uma resposta imunológica mal sucedida, através da ausência de interação entre o parasita e os linfócitos T citotóxicos.

Se $\beta = 0$ obtemos o ponto de equilíbrio $\overline{P}_1^* = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{I}, \overline{L}, \overline{L}_a)$, onde

$$\overline{P}_1^* = \left(\frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha \mu_t}, \frac{\mu_t}{\alpha \tau}, \frac{k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha(\mu_i + \mu_{i'})}, \frac{k_l}{\mu_l}, 0 \right), \quad (4.28)$$

onde α^* é definida na equação (3.44). Esse ponto indica que o sistema imunológico obteve uma resposta imunológica mal sucedida, pois os Linfócitos T citotóxicos não foram ativados, devido à ausência de encontro dos Linfócitos com o parasita. E, o outro ponto de equilíbrio em $\overline{T} = \frac{\mu_p}{\gamma}$ onde $\overline{L}_a \rightarrow \infty$ quando $t \rightarrow \infty$.

Teorema 4.8.1. *Se $\alpha < \alpha^*$, então o ponto de equilíbrio $\overline{P}_1^*$, dado em (4.28), é instável.*

Demonstração:

Neste caso o jacobiano J do sistema (4.1) calculado no ponto $\overline{P}_1^*$ resulta

$$J(\overline{P}_1^*) = \begin{pmatrix} -\mu_t & 0 & \tau(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & 0 \\ -\frac{\mu_t}{\tau} & \eta_1 & 0 & 0 & 0 \\ \frac{\mu_t}{\tau} & \eta_2 & -(\mu_i + \mu_{i'}) & 0 & \eta_3 \\ 0 & 0 & 0 & -\mu_l & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & \eta_4 \end{pmatrix},$$

onde

$$\eta_1 = -\mu_c - \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}, \quad \eta_2 = \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t}$$

e

$$\eta_3 = -\frac{\epsilon k_c(\alpha - \alpha^*)}{\alpha(\mu_i + \mu_{i'})}, \quad \eta_4 = \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\gamma - \gamma^*)}{\alpha \mu_t}.$$

Cujo polinômio característico, $p(\lambda) = \det[J(\overline{P}_1^*) - \lambda I_{5 \times 5}]$, é dado por

$$p(\lambda) = (\mu_l + \lambda)(\eta_4 + \lambda)p_3(\lambda). \quad (4.29)$$

Os valores de dois autovalores do polinômio são facilmente obtidos:

$$\eta_1 = -\mu_l \quad e \quad \eta_2 = -\vartheta_4,$$

onde λ_1 é negativo, pois o parâmetro é positivo e λ_2 será negativo se $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$. Só falta determinar autovalores restantes, designados por λ_3 , λ_4 e λ_5 , raízes de $p_3(\lambda)$. Como é um polinômio de terceiro grau, determina-se o sinal dos autovalores λ_2 , λ_3 e λ_4 . Para tal, usamos os critérios de Routh-Hurwitz, que estabelece critérios a respeito do sinal das raízes: se $L_{t1} > 0$, $L_{t3} > 0$ e $L_{t1}L_{t2} > L_{t3}$, então todas raízes tem parte real negativa. O polinômio de terceiro grau $p_3(\lambda)$ é re-escrito com

$$p_3(\lambda) = \lambda^3 + L_{t1}\lambda^2 + L_{t2}\lambda + L_{t3}, \quad (4.30)$$

onde

$$\begin{cases} L_{t1} = \mu_t + (\mu_i + \mu_{i'}) + \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \\ L_{t2} = \mu_t(\mu_i + \mu_{i'}) + [\mu_t + (\mu_i + \mu_{i'})] \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] \\ L_{t3} = \tau k_c(\alpha - \alpha^*)(\mu_i + \mu_{i'}) + \mu_t(\mu_i + \mu_{i'}) \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right]. \end{cases} \quad (4.31)$$

Para essa análise vamos recorrer ao Critério de Routh-Hurwitz. Assim, as condições necessária para estabilidade, tratando-se de uma equação de ordem $k = 3$, são: $L_{t1} > 0$, $L_{t3} > 0$ e $L_{t1}L_{t2} > L_{t3}$.

- $L_{t1} > 0$ e $L_{t3} > 0$ são positivos se $\alpha > \alpha^*$;

Verificaremos, agora, se satisfaz a última condição $L_{t1}L_{t2} > L_{t3}$, temos

$$\begin{aligned} \bullet \quad L_{t1}L_{t2} - L_{t3} &= \mu_t(\mu_i + \mu_{i'})[\mu_t(\mu_i + \mu_{i'})] + [\mu_t^2 + \mu_t(\mu_i + \mu_{i'}) + \\ &+ (\mu_i + \mu_{i'})^2] \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right] + [\mu_t + (\mu_i + \mu_{i'})] \left[\mu_c + \frac{\tau k_c(\alpha - \alpha^*)}{\mu_t} \right]^2. \end{aligned}$$

Portanto fica verificado que $L_{t1}L_{t2} - L_{t3} > 0$ se $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$.

Logo, o ponto de equilíbrio trivial $\overline{P}_1^*$ é localmente estável se $\alpha > \alpha^*$ e $\gamma < \gamma^*$. Por outro lado, se $\alpha < \alpha^*$, então este ponto é instável. ♣

4.9 Conclusão

No capítulo 2 estudamos, especificamente, os mecanismos imunológicos que resultam na produção de anticorpos específicos para antígenos do parasita *Tripanossoma cruzi*.

O objetivo da modelagem matemática desenvolvida neste capítulo é analisar os mecanismos imunológicos que resultam na produção de células com atividade citotóxica, ou seja, capazes de matar células infectadas, expressando antígenos do parasita, em especial os linfócitos T citotóxicos.

Inicialmente, seguindo o mesmo padrão do capítulo anterior, utilizando uma função de Lyapunov, provamos a estabilidade global e assintótica do ponto de equilíbrio trivial. Suponhamos uma situação onde, se o coeficiente de infecção do parasita for menor que seu limiar ($\alpha < \alpha^*$), ou seja, se uma célula infectada gerar em média uma célula infectada, a infecção é debelada, o que significa que a população de parasitas tende à extinção no organismo do hospedeiro.

Na segunda parte do trabalho, estudamos a situação oposta, ou seja, consideramos o coeficiente de infecção do parasita maior que seu limiar ($\alpha > \alpha^*$). Biologicamente significa que o parasita conseguiu se estabelecer no organismo do hospedeiro. Portanto, matematicamente, estamos considerando a co-existência de todas as variáveis do sistema, que se refere ao ponto de equilíbrio não-trivial, que é o Caso geral.

Provamos que o ponto de equilíbrio não-trivial é assintoticamente estável se $\frac{\mu_a}{\alpha} < \bar{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$ ou $\gamma < \alpha$. Mas para $\gamma > \alpha$, dependendo do valor de γ , o ponto de equilíbrio não-trivial pode ser instável.

O principal objetivo deste estudo é analisar em que condições é possível controlar ou até eliminar a concentração das células infectadas, conseqüentemente dos parasita *Tripanossoma cruzi*, através da ação dos linfócitos T citotóxicos.

Seguindo o mesmo padrão de análise feita no primeiro modelo, as simulações também mostraram que os parâmetros que representam, respectivamente, a taxa de clonagem (γ) e a taxa de eliminação de parasitas (ϵ) devido à ação do sistema imunológico, influenciam fortemente na dinâmica do modelo. Do ponto de vista biológico, estes resultados indicam que se a taxa de eficiência dos linfócitos T citotóxicos estiver acima de um determinado patamar,

o sistema imunológico é capaz de debelar quantidade de antígeno que seja introduzido no organismo, caso contrário, existe a possibilidade da doença se estabelecer.

Estudou-se situações particulares na fase endêmica da infecção. No caso I, supondo que um indivíduo tinha alguma imunodeficiência, ou seja, não conseguisse oferecer uma resposta eficiente à infecção, através da eficácia nula dos linfócitos T citotóxicos, a concentração de parasitas permanecerá constante, devido a deficiência do sistema imunológico. Do ponto de vista biológico, este resultado indica que, mesmo que ocorra a ativação policlonal durante a infecção, com expansão de muitos clones de linfócitos T citotóxicos para antígenos relacionados ao parasita, se esses clones produzirem linfócitos T citotóxicos deficientes, os parasitas não sofrerão a ação da resposta imunológica. Já no Caso II, mesmo com a ausência de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos, que corresponde uma concentração limitada de linfócitos T citotóxicos, se essa quantidade limitada de linfócitos T citotóxicos ativos produzirem linfócitos T específicos eficientes, a concentração de parasitas pode ser controlada ou até mesmo extinta, à medida que aumenta a concentração de anticorpos eficientes. Por último, temos o Caso III, que analisa o comportamento do parasita, diante de uma resposta imunológica mal sucedida, através da ausência de interação entre o parasita e os linfócitos T citotóxicos.

Finalmente, vamos analisar a dinâmica entre o *Trypanossoma cruzi* e as células do sistema imunológico, que são representadas pelas Células T ou linfócitos T citotóxicos, baseadas nas considerações feitas anteriormente.

Agora se considerarmos o *Trypanossoma cruzi* infectando um indivíduo que já tinha vacinado, a produção de linfócitos T citotóxicos vai ser mais rápida e a quantidade maior. Portanto, vamos aumentar o valor de ϵ , isso vai provocar uma queda considerável na concentração de Células infectadas, e consequentemente dos Tripanossomas.

A Figura 4.5 (a), (b) e (c) mostra as concentrações dos Tripanossomas, das Células infectadas e dos linfócitos T citotóxicos ativos. Observe que, aproximadamente em 10 dias, há uma queda na concentração de Tripanossomas e de Células infectadas. Porém, como a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos é baixa, a concentração linfócitos T citotóxicos ativos diminui, e consequentemente a concentração de Tripanossomas e Células infectadas aumenta. Mas devido ação dos linfócitos T citotóxicos eficientes, logo em seguida ambas as concentrações se estabilizam.

A Figura 4.6 (a), (b) e (c) mostra as concentrações dos Tripanossomas, das Células infectadas e dos linfócitos T citotóxicos ativos. Observa-se com a taxa maior de clonagem, no mesmo período de dias, uma queda maior de Tripanossomas e de Células infectadas, devido a produção maior de linfócitos T citotóxicos e, consequentemente, de linfócitos T citotóxicos eficientes que estão agindo contra as células infectadas.

Portanto, podemos visualizar nas Figuras (4.5) e (4.6), para $\gamma < \alpha$, o ponto de equilíbrio não-trivial é assintoticamente estável. Biologicamente esse resultado significa, que se a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos for menor do que a taxa de infecção do parasita, o parasita permanecerá no organismo do hospedeiro.

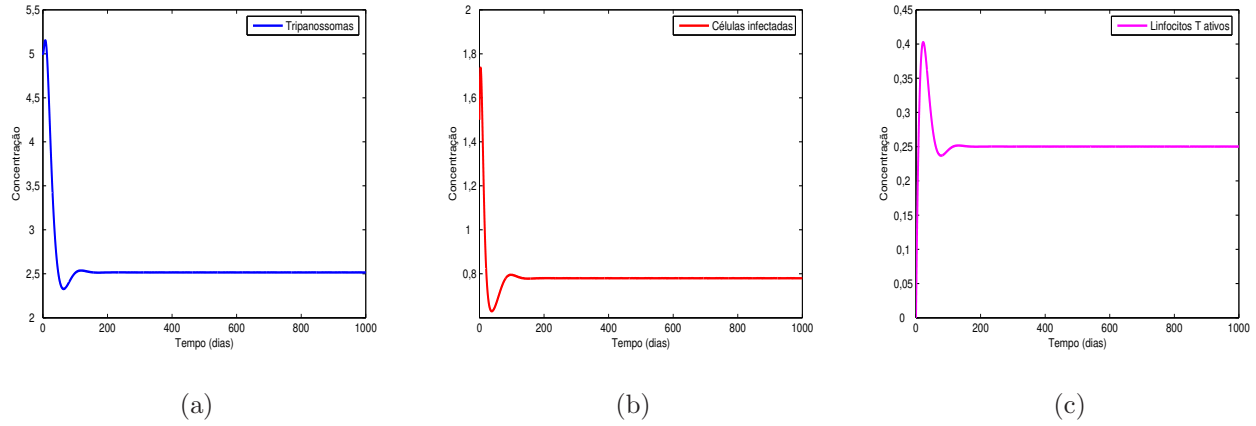


Figura 4.5: Dinâmica de Tripanossomas, das Células infectadas e dos linfócitos T citotóxicos ativos, com o sistema imunológico agindo contra o parasita. Utilizamos o conjunto de valores apresentados na Tabela (3.2), excetos ϵ e γ , tal que $\epsilon = 0,4$ e $\gamma = 0,001$. O ponto de equilíbrio não-trivial analisado é $\overline{P^*} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{I}, \overline{L}, \overline{L_a}) = (2,5157; 0,5317; 0,7798; 9,6951; 0,2501)$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 5$, $C_0 = 0,5$, $I_0 = 1,5$, $L_0 = 9$ e $B_0 = 0,3$.

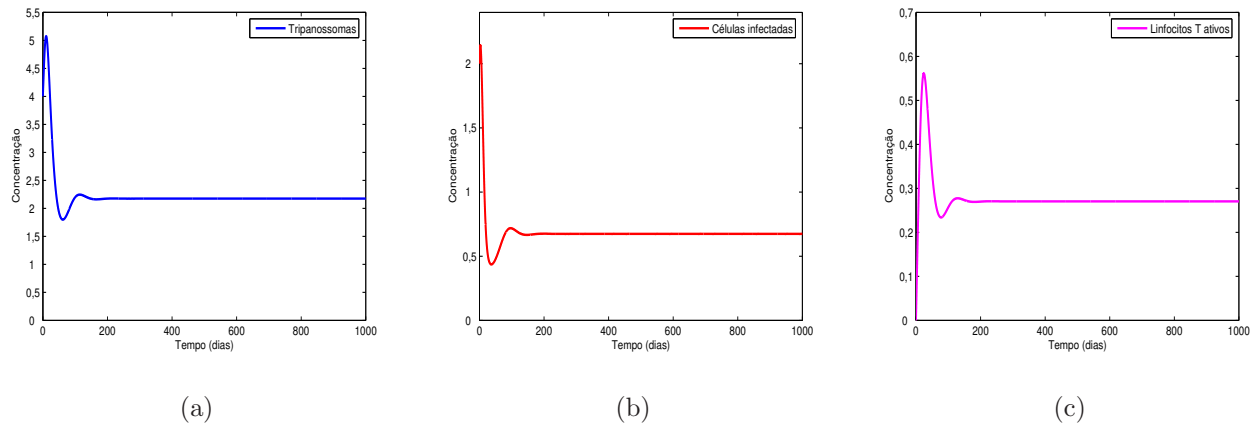
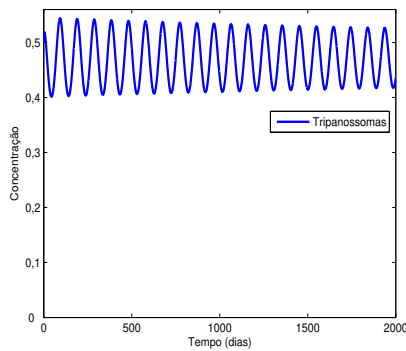


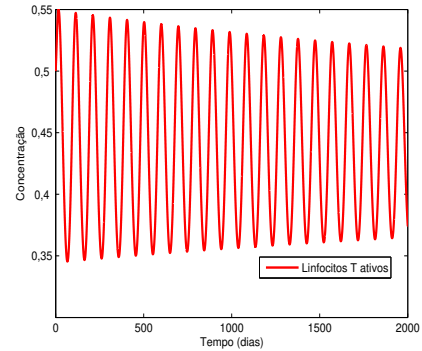
Figura 4.6: Dinâmica de Tripanossomas, das Células infectadas e dos linfócitos T citotóxicos ativos, com o sistema imunológico agindo contra o parasita. Utilizamos o conjunto de valores apresentados na Tabela (3.2), excetos ϵ e γ , tal que $\epsilon = 0,4$ e $\gamma = 0,01$. O ponto de equilíbrio não-trivial analisado é $\overline{P^*} = (\overline{T}, \overline{C}, \overline{I}, \overline{L}, \overline{L_a}) = (2,17460, 5678; 0,6741; 9,7359; 0,2705)$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 4$, $C_0 = 0,5$, $I_0 = 2$, $L_0 = 9$ e $L_{a0} = 0,35$.

Agora considerou-se que, além da eficiência dos linfócitos T citotóxicos, há um alto nível de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos, ou seja, aumentando o parâmetro γ , como mostram os gráficos das Figuras (4.7) e (4.8).

Anteriormente vimos, que se a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos for menor do que a taxa de infecção do parasita, o parasita permanecerá no organismo do hospedeiro. Porém, caso ocorra o contrário, ou seja, se taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos for maior que a taxa de infecção do parasita ($\gamma > \alpha$), dependendo do valor de γ , o ponto de equilíbrio não-trivial pode ser instável.



(a)



(b)

Figura 4.7: Dinâmica de Tripanossomas e dos linfócitos T citotóxicos ativos com a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos maior que a taxa de infecção do parasita. O ponto de equilíbrio estável analisado é $\bar{P}^* = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{L}, \bar{I}, \bar{L}_a) = (0,46978; 0,85879; 0,14563; 9,9416; 0,4348)$ com $\gamma = 0,19$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 0,5$, $C_0 = 0,9$, $L_0 = 9$, $I_0 = 0,2$ e $La_0 = 0,5$.

A Figura 4.7 (a) e (b) mostra as concentrações de Tripanossomas e dos linfócitos T citotóxicos ativos com alta taxa dos linfócitos T citotóxicos ativos. Observa-se a existência de oscilações amortecidas em torno do valor de equilíbrio. Em outras palavras, a concentração de Tripanossomas diminui, enquanto aumenta a concentração de linfócitos T citotóxicos ativos. Observe que ambos os valores flutuam assimetricamente em torno dos valores de equilíbrio. Como a trajetória é uma espiral, os sucessivos períodos da interação são obtidos como os tempos gastos para que os valores T_0 e B_{p_0} retornem próximos dos valores anteriores. Além disso, observa-se a existência de ciclo-limite assintoticamente estável, pois as trajetórias

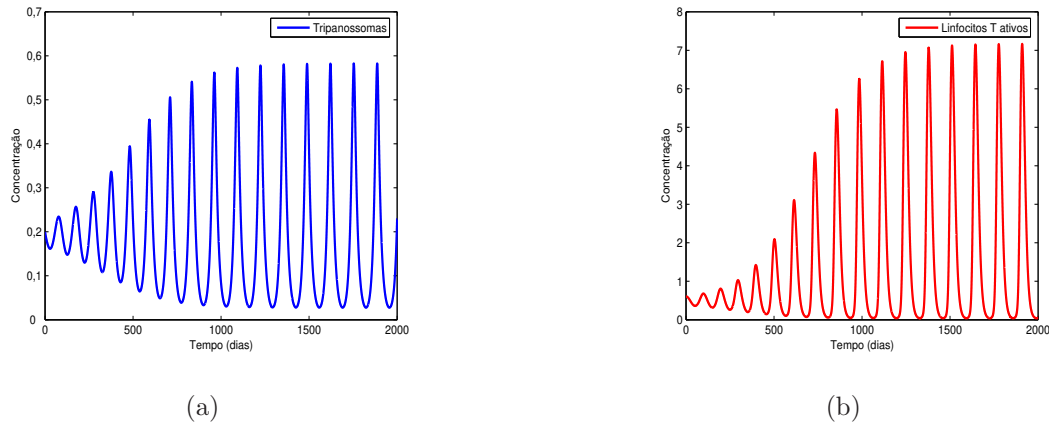


Figura 4.8: Dinâmica de Tripanossomas com a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos bem maior que a taxa de infecção do parasita. O ponto de equilíbrio instável analisado é $\bar{P}^* = (\bar{T}, \bar{C}, \bar{L}, \bar{I}, \bar{L}_a) = (0,192; 0,9370; 0,0595; 9,9761; 0,4788)$ com $\gamma = 0,5$. Os valores iniciais utilizados na simulação foram: $T_0 = 0,2$, $C_0 = 0,9$, $I_0 = 0,05$, $L_0 = 9,9$ e $La_0 = 0,6$.

vizinhas internas e externas se aproximam.

A Figura 4.8 (a) e (b) mostra as concentrações de Tripanossomas e dos linfócitos T citotóxicos ativos, agora com uma taxa maior de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos. Observa-se um aumento gradual em ambas as concentrações, seguido de oscilações regulares acima do valor de equilíbrio. Observa-se que os valores não flutuam assimetricamente em torno dos valores de equilíbrio, indicando a instabilidade do ponto de equilíbrio.

A concentração de Tripanossomas oscila regularmente no intervalo entre 0,029 e 0,581, enquanto a concentração de linfócitos T citotóxicos ativos oscila regularmente no intervalo entre 0,040 e 7,161. Percebe-se que, com o aumento da taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos, causou a queda da concentração de antígenos do parasita. Isso significa que o organismo do hospedeiro elaborou uma resposta imunológica capaz de controlar ou até mesmo eliminar a multiplicação do parasita.

Antígenos do parasita têm sido localizados na superfície de células musculares e neuronais de culturas infectadas com o *Trypanosoma cruzi*, os quais tornariam essas células hospedeiras susceptíveis à lise imune. Essa observação poderia esclarecer a destruição imune in vitro de células-alvo parasitadas, conforme se tem descrito. A destruição de células hospedeiras parasitadas por linfócitos imunes na fase aguda da doença de Chagas pode ser um mecanismo

primário de imunidade contra o *Trypanosoma cruzi*. Entretanto, seria também uma reação auto-imune de alto risco no coração de indivíduos com a infecção aguda: a lise imune de células cardíacas parasitadas no hospedeiro mamífero pode ser extremamente perigosa na fase aguda da doença de Chagas quando o coração está intensamente parasitado. A destruição imune de milhares de miofibras prejudicaria a força de contração do coração e levaria à insuficiência cardíaca em alguns pacientes com forte reatividade a antígenos do parasito [33].

Diante das considerações citadas acima, vimos através da modelagem matemática, que se a taxa de clonagem dos linfócitos T citotóxicos ativos for alta, é possível fazer a concentração de antígenos do parasita tender a zero. Esse resultado beneficiaria o hospedeiro, pois vimos que os antígenos do parasita são um disparador da resposta inflamatória e que por uma provável alteração imunológica presente no hospedeiro, essa resposta agride também fibras cardíacas não infectadas.

Capítulo 5

Conclusões finais

A imunologia tem avançado muito na descrição da resposta do sistema imunológico contra elementos estranhos que invadem o corpo. A forma de ação do sistema imunológico varia de acordo com o parasita invasor. Há mecanismos distintos da resposta imunitária quando se trata de macro-parasita e micro-parasita. Mesmo dentro da classe de micro-parasitas, a resposta do sistema imunológico difere em se tratando de fungos, bactérias, parasitas protozários e vírus [31].

No presente trabalho, o estudo foi baseado em [32]. Esse artigo analisa a dinâmica da competição entre as populações do parasita e dos anticorpos. Um modelo simples para o crescimento e a destruição destas populações é mostrada para fornecer uma descrição apropriada através de dados experimentais, onde foi possível classificar a resposta dos anticorpos ao *Trypanosoma cruzi*, em três casos principais: dependendo da eficiência dos anticorpos, da taxa de produção e da abundância no início da infecção. No Caso I, o número de parasita se estabilizou em um valor relativamente pequeno, indicando a probabilidade de uma doença crônica. A análise do Caso II é o mais favorável do ponto de vista do hospedeiro: anticorpos são abundantes e eficientes com sucesso desobstruindo a população do *Trypanosoma cruzi*. Os anticorpos no Caso III são produzidos em uma taxa que seja demasiadamente baixa para lidar com a infecção: a população de *Trypanosoma cruzi* cresce sem controle causando a

inevitável morte do hospedeiro. O método escolhido pela natureza para controlar a infecção deve ativar diversos tipos de anticorpos. Uma alternativa seria uma intervenção externa com “quimioterapia” e a vacinação. Pois, a população inicial de anticorpos é um determinante do resultado em longo tempo na interação dos parasitas e dos anticorpos, que reforça a importância das terapias dirigidas para melhorar as respostas imunes.

Esse modelo particularmente é apropriado para investigar quantitativamente os efeitos dos elementos que modificam o processo do competidor, logo podemos mencionar que esse modelo pode facilmente ser estendido para descrever outras situações cujo resultado é determinado pela competição entre o agente infectante e o sistema imunológico do hospedeiro.

Desenvolvemos dois modelos matemáticos para descrever uma ação do sistema imunológico. Analisamos o processo de infecção do *Trypanosoma cruzi* e seu mecanismo de delimitação no organismo do hospedeiro, quando os anticorpos e os linfócitos T citotóxicos interagem com o parasita.

No primeiro modelo matemático (ação dos anticorpos), o estudo mostrou a existência de um ponto de equilíbrio trivial, correspondente a ausência de parasitas no organismo do hospedeiro e dois pontos de equilíbrio não-triviais, correspondente a coexistência do parasita e da resposta imunológica (sendo um localmente e assintoticamente estável e o outro, instável (biologicamente não viável)). Já no segundo modelo (ação de células citotóxicas), o estudo também mostrou a existência de um ponto de equilíbrio trivial e dois pontos de equilíbrio não-triviais, que também pode ser estável ou instável.

Provamos a estabilidade global e assintótica do ponto de equilíbrio trivial dos dois modelos condicionada a relação entre o coeficiente de infecção e um valor limiar que também é uma das condições de existência e da estabilidade do equilíbrio não-trivial. Além disso, provamos analiticamente no primeiro modelo, através do Critério de *Routh-Hurwitz* que o ponto de equilíbrio não-trivial é local e assintoticamente estável se existir. No entanto, no segundo modelo, o ponto de equilíbrio não-trivial é assintoticamente estável se $\frac{\mu_a}{\alpha} < \bar{T} < \frac{\mu_a}{\gamma}$ ou $\gamma < \alpha$, e pode ser instável se $\gamma > \alpha$.

O limiar denominado α^* depende fortemente dos parâmetros que representam o número médio de células infectadas com sucesso gerado de uma célula-alvo infectada por um parasita. Do ponto de vista biológico, estes resultados indicam que, se uma célula infectada gerar em

média menos que um uma célula infectada, a infecção é debelada, o que significa que a população de parasitas tende à extinção. Note que o limiar α^* possui a mesma característica nos dois modelos, mas lembrando que a dinâmica dos respectivos modelos são diferentes, pois no primeiro modelo, a resposta imunológica é feita pelos anticorpos enquanto o parasita está circulando na corrente sanguínea, e o segundo modelo, a resposta imunológica é celular, ou seja, é feita através dos linfócitos citotóxicos, que reagem a ação do parasita, destruindo as células infectadas.

Na fase endêmica da infecção dos respectivos modelos, temos o caso geral, que corresponde a co-existência de todas as variáveis e parâmetros envolvidos na interação entre o parasita e o sistema imunológico. Biologicamente, esse caso descreve a resposta imunológica adequada contra o parasita *Trypanosoma cruzi*.

As simulações mostraram que os parâmetros que representam, respectivamente, a taxa de clonagem (γ) e a taxa de eliminação de parasitas (ϵ) devido à ação do sistema imunológico, influenciam fortemente na dinâmica dos respectivos modelos. Do ponto de vista biológico, estes resultados indicam que se a taxa de eficiência dos anticorpos ou dos linfócitos estiverem acima de um determinado patamar, o sistema imunológico é capaz de debelar quantidade de antígeno que seja introduzido no organismo, caso contrário, existe a possibilidade da doença se estabelecer.

Estudou-se situações particulares na fase endêmica da infecção. No caso I, supondo que um indivíduo tinha alguma imunodeficiência, ou seja, não conseguisse oferecer uma resposta eficiente à infecção, através da eficácia nula dos anticorpos ou dos linfócitos T citotóxicos, a concentração de parasitas permanecerá constante, devido a deficiência do sistema imunológico. Do ponto de vista biológico, este resultado indica que, mesmo que ocorra a ativação policlonal durante a infecção, com expansão de muitos clones de linfócitos B ou de linfócitos T citotóxicos para antígenos relacionados ao parasita, se desses clones produzirem anticorpos ou linfócitos deficientes, os parasitas não sofrerão a ação da resposta imunológica. Já no Caso II, mesmo com a ausência de clonagem das células B ativadas ou dos linfócitos T citotóxicos ativos, que corresponde uma concentração limitada de células B ativadas ou dos linfócitos T citotóxicos ativos, se essa quantidade limitada de células produzirem anticorpos ou linfócitos eficientes, a concentração de parasitas pode ser controlada ou até mesmo ex-

tinta, à medida que aumenta a concentração de anticorpos ou dos linfócitos eficientes. Por último, temos o Caso III, que analisa o comportamento do parasita, diante de uma resposta imunológica mal sucedida, através da ausência de interação entre o parasita e as células do sistema imunológico estudadas.

Além disso, vimos através de simulações numéricas, que a resposta celular é a mais importante no combate ao parasita *Trypanosoma cruzi* na fase inicial da doença, correspondendo a uma resposta sistêmica que protege contra a replicação de amastigotas intracelulares.

Os dois modelos matemáticos apresentados aqui possuem algumas limitações, e merecem atenção a três principais. A primeira é que eles apenas servem para descrever de forma simplificada a dinâmica populacional dos parasitas *Trypanosoma cruzi* com relação ao sistema imunológico adaptativo, supondo que o sistema inato não foi suficientemente eficaz para controlar a infecção do parasita. A segunda limitação é que as únicas classes de células do sistema imunológico considerado neste projeto são os linfócitos B e T. A última limitação diz a respeito do patógeno com o hospedeiro, pois na fase crônica, os pacientes podem apresentar diferentes manifestações clínicas, dependendo tanto de fatores inerentes ao parasita quanto aos hospedeiros vertebrado. Os fatores relevantes inerentes ao parasita são: a variabilidade entre as cepas, a virulência, a antigenicidade, o tropismo e o tamanho do inóculo mais reinfecção. Em relação ao hospedeiro vertebrado, fatores como idade, sexo e o perfil da resposta imune parecem modular diferenças manifestações clínicas [12].

A modelagem matemática é importante para a compreensão do fenômeno biológico. No entanto, a própria escolha da estratégia de modelagem implica uma visão particular do mundo. O modelo, de fato, pode implantar certas expectativas mesmo antes de ser utilizado para testar a realidade. A escolha do modelo pode influenciar os observadores a interpretar fatos da natureza. Portanto, é importante evitar erros como acreditar em qualquer modelo individual. Isto é feito colateral que acomete a todos aqueles que modelam matematicamente.

Apêndice A

Tabelas

Tabela A.1: Modelo 1 (a) : Definição da variável e parâmetros utilizados na Figura (3.2).

$\epsilon = 0,0001$		$\epsilon = 0,4$		$\epsilon = 4,622$	
γ	$\bar{T}$	γ	$\bar{T}$	γ	$\bar{T}$
10^{-6}	29,29	10^{-6}	5,0637	10^{-6}	1
0,01	9,9905	0,01	3,8309	0,01	0,92656
0,02	4,9988	0,02	2,9668	0,02	0,86135
0,03	3,3329	0,03	2,3738	0,03	0,80338
0,04	2,4998	0,04	1,9588	0,04	0,7517
0,05	1,9999	0,05	1,6587	0,05	0,70549
0,06	1,6666	0,06	1,4342	0,06	0,66404
0,07	1,4285	0,07	1,2611	0,07	0,62673
0,08	1,25	0,08	1,1241	0,08	0,59303
0,09	1,1111	0,09	1,0133	0,09	0,5649
0,1	0,99998	0,1	0,92197	0,1	0,53472

Tabela A.2: Modelo 1 (b) : Definição da variável e parâmetros utilizados na Figura (3.3).

$\gamma = 0$		$\gamma = 0,02$		$\gamma = 0,1$	
ϵ	T^*	ϵ	T^*	ϵ	T^*
10^{-6}	29,398	10^{-6}	5	10^{-6}	1
0,01	14,713	0,01	4,8828	0,01	0,99784
0,02	10,297	0,02	4,7748	0,02	0,9957
0,03	8,0909	0,03	4,6745	0,03	0,99356
0,04	6,7421	0,04	4,5811	0,04	0,99144
0,05	5,8208	0,05	4,4937	0,05	0,98933
0,06	5,1461	0,06	4,4115	0,06	0,98723
0,07	4,6274	0,07	4,3341	0,07	0,98514
0,08	4,2144	0,08	4,261	0,08	0,98307
0,09	3,8766	0,09	4,1917	0,09	0,981
0,1	3,5943	0,1	4,1258	0,1	0,97865

Tabela A.3: Modelo 2 (a): Definição das variáveis e parâmetros utilizados na Figura (4.2).

$\epsilon = 0,0001$			$\epsilon = 0,4$			$\epsilon = 1,491$		
γ	$\bar{T}$	$\bar{I}$	γ	$\bar{T}$	$\bar{I}$	γ	$\bar{T}$	$\bar{I}$
10^{-6}	29,061	9,0088	10^{-6}	2,5578	0,79292	10^{-6}	1	0,31001
0,01	9,9707	3,0909	0,01	2,1746	0,67414	0,01	0,92654	0,28723
0,02	4,9962	1,5488	0,02	1,8678	0,57902	0,02	0,86134	0,26702
0,03	3,3321	1,0329	0,03	1,623	0,50312	0,03	0,80337	0,24904
0,04	2,4994	0,77481	0,04	1,4267	0,44228	0,04	0,75169	0,23302
0,05	1,9997	0,61989	0,05	1,2679	0,39306	0,05	0,70548	0,2187
0,06	1,6664	0,5166	0,06	1,138	0,35278	0,06	0,66403	0,20585
0,07	1,4284	0,44281	0,07	1,0303	0,3194	0,07	0,62672	0,19428
0,08	1,2499	0,38747	0,08	0,94008	0,29142	0,08	0,59302	0,18384
0,09	1,111	0,34442	0,09	0,86358	0,26771	0,09	0,56248	0,17437
0,1	0,99993	0,30998	0,1	0,79805	0,24739	0,1	0,53471	0,16576

Tabela A.4: Modelo 2 (b): Definição da variável e parâmetros utilizados na Figura (4.3).

$\gamma = 0$			$\gamma = 0,02$			$\gamma = 0,1$		
ϵ	T^*	I^*	ϵ	T^*	I^*	ϵ	T^*	I^*
10^{-6}	29,397	9,1132	10^{-6}	5	1,55	10^{-6}	1	0,31
0,01	16,356	5,0703	0,01	4,6649	1,4461	0,01	0,99335	0,30794
0,02	12,592	3,9036	0,02	4,3957	1,3627	0,02	0,986811	0,30591
0,03	10,577	3,2788	0,03	4,1716	1,2932	0,03	0,98038	0,30392
0,04	9,2661	2,8725	0,04	3,9802	1,2339	0,04	0,97406	0,30196
0,05	8,3244	2,5805	0,05	3,8137	1,1823	0,05	0,96784	0,30003
0,06	7,6048	2,3575	0,06	3,6668	1,1367	0,06	0,96172	0,29813
0,07	7,0314	2,1797	0,07	3,5355	1,096	0,07	0,95569	0,29626
0,08	6,5605	2,0337	0,08	3,4173	1,0593	0,08	0,94976	0,29443
0,09	6,1646	1,911	0,09	3,3098	1,026	0,09	0,94392	0,29262
0,1	5,8257	1,806	0,1	3,2114	0,99554	0,1	0,93818	0,29083

Apêndice B

Critério de Hurwitz

Genericamente, um sistema contendo k espécies com populações $N_1, N_2, \dots, N_k$ governadas pela k equações tem a seguinte forma:

$$\begin{cases} \frac{dN_1}{dt} = f_1(N_1, N_2, \dots, N_k) \\ \frac{dN_2}{dt} = f_2(N_1, N_2, \dots, N_k) \\ \vdots \\ \frac{dN_k}{dt} = f_k(N_1, N_2, \dots, N_k) \end{cases} \quad (\text{B.1})$$

Supondo agora que é possível resolver este sistema (ou conjunto de equações)

$$\mathbf{F}(\mathbf{N}) = 0, \quad (\text{B.2})$$

então, para identificar um (é possível vários) ponto de equilíbrio, $\bar{\mathbf{N}} = (N_1, N_2, \dots, N_k)$ que satisfaz $\mathbf{F}(\mathbf{N}) = 0$. A matriz Jacobiana do sistema (ou conjunto de equações) é

$$J = \begin{pmatrix} \frac{\partial f_1}{\partial N_1} & \frac{\partial f_1}{\partial N_2} & \cdots & \frac{\partial f_1}{\partial N_k} \\ \vdots & & & \\ \frac{\partial f_k}{\partial N_1} & \frac{\partial f_k}{\partial N_2} & \cdots & \frac{\partial f_k}{\partial N_k} \end{pmatrix}, \quad (\text{B.3})$$

esta matriz é dada ordem de $k \times k$. Os autovalores λ desta matriz satisfaz

$$\det(\mathbf{J} - \lambda \mathbf{I}) = 0. \quad (\text{B.4})$$

Pensando dessa forma, os autovalores devem satisfazer a equação característica da forma

$$\lambda^k + a_1 \lambda^{k-1} + a_2 \lambda^{k-2} + \dots + a_k = 0. \quad (\text{B.5})$$

No entanto, à princípio, não pode-se encontrar todos os autovalores, contudo, podemos obter informações a respeito às suas magnitudes. Suponha que $\lambda_1 + \lambda_2, \dots, \lambda_k$ são os autovalores do sistema linearizado

$$\frac{d\mathbf{N}}{dt} = \mathbf{J} \cdot \mathbf{N}. \quad (\text{B.6})$$

Lembrando que todos os autovalores devem ter sua parte real positiva, já que próximo aos estados de equilíbrio de cada população, o estado de equilíbrio pode ser representado como uma soma de exponenciais em $\lambda_i t$ como a seguir:

$$N_i = \overline{N}_i + a_1 e^{\lambda_1 t} + a_2 e^{\lambda_2 t} + \dots + a_k e^{\lambda_k t}. \quad (\text{B.7})$$

Se um ou mais autovalores tiverem parte real positiva, $N_i - \overline{N}_i$ será uma função crescente em t , isto significa que N_i não retornará ao ponto de equilíbrio $\overline{N}_i$. Portanto, a questão da estabilidade de um estado estacionário pode ser resolvida se podemos determinar todos os autovalores tenham ou não partes reais negativas.

dada a equação característica (A.4), define a matriz H_j como

$$H_j = \begin{pmatrix} a_1 & 1 & 0 & 0 & \dots & 0 \\ a_3 & a_2 & a_1 & 1 & \dots & 0 \\ a_5 & a_4 & a_3 & a_2 & \dots & 0 \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ a_{2j-1} & a_{2j-2} & a_{2j-3} & a_{2j-4} & \dots & a_j \end{pmatrix}, \quad (\text{B.8})$$

onde p termo (l,m) na matriz H_j é

$$\begin{aligned} a_{2l-m} & \text{ para } 0 < 2l - m < k \\ 1 & \text{ para } 2l = m \\ 0 & \text{ para } 2l < m \text{ ou } 2l > k + m \end{aligned}$$

Então, todos os autovalores têm parte real negativa: isto é, o estado de equilíbrio $\bar{N}$ é estável se e somente se todos os determinantes de todas as matrizes Hurwitz são positivas:

$$\det \mathbf{H}_j > 0, \quad (\text{B.9})$$

onde $j = 1, 2, \dots, k$.

No presente trabalho , foi usado o critério de *Routh - Hurwitz* para $k = 3$:

$$K = 3 : a_1 > 0, a_3 > 0, a_1 a_2 > a_3. \quad (\text{B.10})$$

Apêndice C

Regra de sinal de Descartes

Dada uma função $p(x)$ da seguinte forma:

$$p(x) = a_n x^n + a_{n-1} x^{n-1} + \dots + a_1 x + a_0, \quad a_n \neq 0. \quad (\text{C.1})$$

Diz-se que $\bar{x}$ é uma raiz ou zero da equação $p(x) = 0$ se $p(\bar{x}) = 0$. Muitas vezes, não se sabe com certeza quais as raízes de uma determinada função, mas, através de alguns resultados, é possível enumerá-las. Enumerar as raízes de uma função $p(x) = 0$ é dizer quantas raízes ela possui e de que tipo elas são. Se $p(x) = 0$ é um polinômio de grau n , o *Teorema Fundamental da Álgebra* assegura a existência de n raízes, contando a multiplicidade. Entretanto, responder de que tipo são as raízes (positivas ou negativas, simples ou múltiplas), já não é muito fácil. No caso de funções transcendentais, como não é possível garantir o número de raízes, o problema da sua enumeração acaba por ser mais fácil. Existem algumas regras que permitem enumerar e localizar as raízes de polinômios como *Regra de Descartes* que está enunciado abaixo.

O teorema abaixo permite obter o número de raízes reais positivas para um polinômio real diferente de zero e que será muito útil na determinação dos pontos de equilíbrio dos modelos.

Teorema C.0.1. (*Regra de Descartes*) O número de raízes reais positivas da equação $p(x) =$

0, sendo p dado por (C.1), é igual ao número de variações de sinal da sucessão $(a_n, a_{n-1}, \dots, a_0)$ ou um número inferior mas da mesma paridade.

Demonstração: Vamos efetuar a demonstração por indução. Começemos por considerar p um polinômio de grau um. Neste, caso o resultado é óbvio pois a raiz de $p(x) = 0$, com $p(x) = a_1x + a_0$, só é positiva quando e só quando $a_1a_0 > 0$.

Suponhamos agora que o resultado é válido para todos os polinômios de grau $n-1$ e consideremos p um polinômio de grau n dado por (C.1), com $a_n > 0$ (sem perda de generalidade).

Se $a_0 = p(0) > 0$, o número de variações de sinal da sucessão dos coeficientes de p tem que ser par pois o primeiro e o último termo da sucessão são positivos. Por outro lado, o número de raízes positivas de $p(x) = 0$ também é par pois $\lim_{x \rightarrow +1} = +1$.

A mesma argumentação poderia ser usada no caso de $a_0 = p(0) < 0$; neste caso, tanto o número de variações de sinal da sucessão dos coeficientes de p como o número de zeros positivos de p são ímpares. Concluimos então que o número de raízes positivas de $p(x) = 0$ tem a mesma paridade do número de variações de sinal.

Falta apenas provar que o número de variações de sinal limita o número de raízes positivas. Suponhamos que $p(x) = 0$ tem m raízes reais positivas e que o número de variações de sinal da sucessão dos seus coeficientes é $V < m$. Assim sendo, temos que ter $m \geq V + 2$ (para manter a paridade). Mas, pelo *Teorema de Rolle*, p_0 tem que ter pelo menos $V + 1$ raízes positivas, o que contraria a hipótese de indução uma vez que o número de variações de sinal dos coeficientes de p_0 (polinômio de grau $\leq \dots 1$) é inferior a V . Logo $m \leq V$.

Referências Bibliográficas

- [1] FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ, DOENÇA DE CHAGAS. Disponível: <http://fiocruz.br/chagas>. Acesso em : 28/02/2008.
- [2] CICLO BIOLÓGICO DO *TRIPANOSSOMA CRUZI*, Disponível: <http://www.ipec.fiocruz.br/pepes/dc/dc.html> Acesso em : 28/02/2008.
- [3] REY L 2002. Parasitologia. 3ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 161-178.
- [4] AMATO NETO V, SHIKANAI YASUDA MA, AMATO VS 1997. Doença de Chagas aguda. In: Dias JCP e Coura JR. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Ed. FIOCRUZ. p 127-133.
- [5] FERREIRA MS, LOPES ER, CHAPADEIRO E, DIAS JCP, OSTERMAYER AL 2002. Doença de Chagas. In: Veronesi R e Focaccia R. Tratado de Infectologia. Ed. Atheneu. 2ª ed. p 1195-1233.
- [6] MACÊDO VO 1997. Forma indeterminada da doença de Chagas. In: Dias JCP e Coura JR. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Ed. FIOCRUZ. p 135-151.
- [7] RASSI JÚNIOR A, RASSI SG, RASSI A 2001. Sudden death in Chagas disease. Arq Bras Cardiol. 76: 86-96.

- [8] REZENDE JM 1997. O aparelho digestivo na doença de Chagas Aspectos clínicos. In: Dias JCP e Coura JR. Clínica e terapêutica da doença de Chagas. Ed. FIOCRUZ. p 153-176.
- [9] ROCHA A, MENESES ACO, SILVA AM, FERREIRA MS, NISHIOKA AS, BURGARELLI MNK; ALMEIDA E, TURCATO JR G, METZE K, LOPES ER 1994. Pathology of patients with Chagas disease and acquired immunodeficiency syndrome. Amer Soc Trop Med Hyg. 50: 261-268.
- [10] MARCELA L. FERRAZ, Influência de citocinas e células do sistema imune na atividade do inibidor da biossíntese de ergosterol (posaconazol) na infecção experimental pelo *Trypanosoma cruzi*. Dissertação de Mestrado, fevereiro de 2005.
- [11] ANDRADE, S.G. Patologia Experimental da Doença de Chagas. In: BRENER, Z.; ANDRADE Z.A.; BARRAL-NETO, M. (Orgs). *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap 11, p.177-200.
- [12] DIAS, J.C.P.; SILVEIRA, A.C.; SCHOFIELD, C.J. The impact of Chagas Disease in Latin América - A Review. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v.97, n.5, p.603-612, 2002.
- [13] BRODSKYN, C.I; BARRAL-NETO, M. Resposta Imune Humana na Doença de Chagas. In: BRENER, Z.; ANDRADE Z.A.; BARRAL-NETO, M. (Orgs). *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap 10, p.170-176.
- [14] CASTRO, A.M. Avaliação de métodos laboratoriais para o estabelecimento de critério de cura da doença de Chagas humana. 2002. 134f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais. Belo Horizonte.
- [15] SCOTT, P.; TRINCHIERI G. The role of natural killer cells in host-parasite interactions. Curr Opin Immunol, v.7, n.34, 1995.
- [16] SATHLER-AVELAR, R. Análise do perfil fenotípico de leucócitos circulantes e do padrão de citocinas séricas na infecção recente pelo *Trypanosoma cruzi*. 2003. 97f. Dis-

- sertação (Mestrado em Patologia Geral) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- [17] ALIBERTI, J.C.; CARDOSO, M.A.; MARTINS, G.A.; GAZZINELLI, R.T.; VIEIRA, L.Q.; SILVA, J.S. Interleukin-12 mediates resistance to *Trypanosoma cruzi* in mice and produced by murine macrophages in response to live tripomastigotes. *Infect Immun*, v.44, p.1961- 1966, 1996.
- [18] HUNTER, C.A.; SLIFER, T.; ARAUJO, F. Interleukin-12 mediated resistance of *Trypanosoma cruzi* is dependent on tumor necrosis factor alpha and gamma interferon. *Infect Immun*, v.64, p.2381, 1996.
- [19] NOGUEIRA, N.; BIANCO, C.; COHN, Z. Studies on the selective lysis and purification of *Trypanosoma cruzi*. *J Exp Med*. v.142, p.224, 1975.
- [20] TAMBOURGI, D.V.; KIPNIS, T.L.; DA SILVA, W.D.; JONER, K.A.; SHER, A.; HEATH, B.F.; OGDEN, G.B. A partial cDNA clone of Trypomastigote decay-accelerating factor (TDAF), a developmentally regulated complement inhibitor of *Trypanosoma cruzi*, has genetic and functional similarities to the human complementinhibitor DAF. *Infect Immun*. v.61, p.3656-3663, 1993.
- [21] MINOPRIO, P.; EL CHEIKT, M.C.; MURPHY, E.; HONTEBEYRIE-JOSKOWICZ, M.; COFFMAN, R.; COUTINHO, A.; O'GARRA, A. Xid-associated resistance to experimental Chagas disease is INF-gamma dependent. *J. Immunol*. v.151,n.8, p.4200-4208, 1986.
- [22] KIERZENBAUM, F.; HOWARD, J.G. Mechanisms of resistance against experimental *Trypanosoma cruzi* infection: the importance of antibodies and antibody-forming capacity in the Biozzi high and low responder mice. *J Immunol*. v.116, p.1208, 1976.
- [23] KRETTLI, A.U.; BRENER, Z. Resistance against *Trypanosoma cruzi* associated to antiliving tripomastigote antibodies. *J Immunol*. v.128, p.2009-2012, 1982.
- [24] ROMEIRO, S.A.; TAEKEHARA, H.A.; MOTA, I. Isotype of lytic antibodies in serum of Chagas disease patients. *Clin Exp Immunol*. v.55, p.413, 1984.

- [25] LIMA-MARTINS, M.V.; SANCHEZ, G.A.; KRETLLI, A.U.; BRENER, Z. Antibody-dependent cell cytotoxicity against *Trypanosoma cruzi* is only mediated by protective antibodies. *Parasite Immunol.* v.7, p.367, 1985.
- [26] TARLETON, R.L.; GRUSBY, M.J.; POSTAN, M.; GLIMCHER, L.H. *Trypanosoma cruzi* infection in MHC-deficient mice: further evidence for the role of both Class I- and Class II-restricted T cell clones. *J. Exp. Med.* 181, 111-120, 1995.
- [27] CUNÃ, W.R.; CUNÃ, C.R. Characterization of T cell clones from chagasic patients with pathology. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, n.90, p.503, 1995.
- [28] BRODSKYN, C.I.; BARRAL-NETO, M. Resposta Imune Humana na Doença de Chagas. In: BRENER, Z.; ANDRADE Z.A.; BARRAL-NETO, M. (Orgs). *Trypanosoma cruzi e Doença de Chagas*. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000. Cap 10, p.170-176.
- [29] GOMES, J.A.; BAHIA-OLIVEIRA, L.M.; ROCHA, M.O.; MARTINS-FILHO, O.A.; GAZZINELLI, G.; CORREA-OLIVEIRA, R. Evidence that development of severe cardiomyopathy in human Chagas disease is due to a Th1-specific immune response. *Infect Immun.* v.71, n.3, p.1185-1193, 2003.
- [30] LOURDES ESTEVA, CRISTOBAL VARGAS. Coexistence of Different Serotypes of Dengue Virus, *Journal of Mathematical Biology*. 46, 31-47 (2003).
- [31] BARROZO, S., YANG, H. M. e DEZOTTI, C. H., Uma Abordagem Matemática em Imunologia em Matemática Aplicada à Fisiologia (H. M. Yang, R. Sampaio e A. S. Ranga, eds.) pp. 93-117, SMBAC, São Carlos, 2003.
- [32] S. COSSY ISASI, G. J. SIBONAT AND C.A. CONDAT. A Simple Model for the Interaction Between *T. cruzi* and its Antibodies During Chagas Infection. *J. theor. Biol.* (2001) 208, 1-13.
- [33] ANTONIO TEIXEIRA. Doenças de Chagas e outras doenças por *Trypanosoma cruzi*. Editora Universidade de Brasília.