

Simulação do sistema imunológico por meio de sistemas multiagentes: um estudo da resposta imune na glomerulonefrite pós-infecciosa (GnPE) por *Streptococcus pyogenes*

Carlos Antonio Bastos¹, Alcione de P. Oliveira¹, Andréia P. Gomes², Maurílio de Araújo Possi¹, Luiz Alberto Santana², Fabio R. Cerqueira¹, Rodrigo Siqueira-Batista²

1 Departamento de Informática, Universidade Federal de Viçosa (UFV) CEP 36570-000 – Viçosa – MG – Brasil

2 Departamento de Medicina e Enfermagem, Universidade Federal de Viçosa (UFV) CEP 36570-000 – Viçosa – MG – Brasil.

{carlosantoniobastos, alcione, maurilio.possi, frcerqueira, andreiapgomes}@gmail.com, rsiqueirabatista@yahoo.com.br

Abstract. *The purpose of this work is to create a model for conducting experiments to highlight the role of humoral immunity in post-streptococcal glomerulonephritis (PSGN). We identified the requirements for the extension of Autosimmune simulator to simulate the phenomena involved in the installation of PSGN. Autosimmune is a simulator of the immune system with a focus on autoimmunity. Among the extensions, two environments were included - the kidney and the upper respiratory tract - in addition to the simulation of neutrophils. Tests conducted with the tool showed consistent operation of the model, in particular in the development of PSGN.*

Resumo. *A proposta deste trabalho é criar um modelo de experimentação para evidenciar o papel da imunidade humoral na glomerulonefrite pós-estreptocócica (GnPE). Buscou-se identificar os requisitos para a extensão do simulador Autosimmune para emular os fenômenos envolvidos na instalação da GnPE. O Autosimmune é um simulador do sistema imunológico com foco na autoimunidade. Dentre as extensões, foram incluídos dois ambientes – os rins e as vias aéreas superiores – além da simulação de neutrófilos. Os testes realizados com a ferramenta evidenciaram o funcionamento coerente do modelo, em especial, em relação ao desenvolvimento da GnPE.*

1. Introdução

A principal função do sistema imunológico (doravante SI) é proteger o organismo de agentes infecciosos (tais como vírus, bactérias, fungos, protozoários e helmintos), comumente conhecidos como patógenos. O SI atua no organismo procurando reconhecer o que possui origem no *próprio* organismo e responder ao que é estranho, ou *não próprio*, ao organismo [SIQUEIRA-BATISTA et al., 2008]. De acordo com Li et al. (2009), é imprescindível que se criem modelos do sistema imune para ajudar na compreensão das funções de cada componente e dos mecanismos internos desse sistema, de modo que se possa utilizar todo potencial do sistema imune na biologia e na medicina, assim como permitir a criação de aplicações computacionais bioinspiradas. Ainda, segundo o mesmo autor, para a biologia, modelos do SI são capazes de simular com certa exatidão alguns mecanismos responsáveis por várias doenças. Existem muitas hipóteses sobre como o sistema imune reage às infecções, mas resta a questão sobre a eficácia destas hipóteses em descrever os fenômenos observados. Os modelos

computacionais do sistema imune podem ajudar aos pesquisadores a entender os seus mecanismos e ainda verificar suas hipóteses. Além disso, o novo entendimento adquirido pode ser usado como inspiração para desenvolver novos medicamentos e os mesmos modelos podem ser aplicados para testar a eficácia do que foi desenvolvido. Adicionalmente, os autores afirmam que os modelos computacionais do sistema imune não só são mais baratos de serem construídos para realizar estudos *in vitro* e *in vivo*, como também são mais rápidos na geração de experimentos.

Dentre as doenças que podem ser investigadas por meio de simulação computacional estão as doenças autoimunes, as quais ocorrem quando o SI falha em distinguir o que é próprio do que é não próprio e passa a atacar o próprio organismo. Possi (2012) desenvolveu um simulador do SI - *AutoSimmune* - tendo por base o simulador BIS (*The Basic Immune Simulator*) proposto por Folcik et al. (2007). Ambos os sistemas simulam o SI por meio de um sistema multiagente reativo massivo. O *AutoSimmune* possui um maior nível de detalhe em relação ao BIS e, originariamente, tem seu foco dirigido para a autoimunidade, procurando emular os mecanismos de geração de tolerância ao que é próprio. O simulador já foi usado para testar hipóteses sobre o desenvolvimento de autoimunidade [POSSI et al. 2011] e sobre o papel do mastócito na resposta a infecções [SILVA et al. 2012a; SILVA et al. 2012b]. No entanto, o *AutoSimmune* não é um simulador completo, necessitando ser adaptado ao tipo de investigação que se pretende realizar. No caso particular desta pesquisa, buscou-se investigar o papel da imunidade humoral na glomerulonefrite pós-estreptocócica (GnPE).

A GnPE é uma doença inflamatória aguda envolvendo os glomérulos renais. Patologicamente, apresenta-se como lesões proliferativas difusas [KUMAR et al., 2005] e aparece uma a quatro semanas após infecções nas vias aéreas superiores ou cutâneas pela bactéria *Streptococcus pyogenes*. A enfermidade se manifesta por hematúria, edema e hipertensão arterial sistêmica, podendo haver evolução para insuficiência renal aguda. A síndrome nefrítica por GnPE atinge, com maior frequência, crianças de seis a dez anos [KUMAR et al., 2005; BISNO, 2000]. O padrão epidemiológico da GnPE tem revelado mudanças importantes nas últimas três décadas, tornando-se rara em nações desenvolvidas. Entretanto, a GnPE continua ocorrendo nas nações em desenvolvimento, nas quais a incidência se situa entre 9.5 a 28.5 novos casos por 100.000 indivíduos por ano [RODRIGUEZ-ITURBE & MUSSER, 2008]. Segundo [RODRIGUEZ-ITURBE & MUSSER, 2008; MONTSENY et al., 1995], em uma perspectiva global, avalia-se que dos 472.000 casos por ano de GnPE, cerca de 456.000 estão em países em desenvolvimento. No Brasil, [MACIEL et al., 2003] apresentaram dados sobre a prevalência do agente etiológico e descreveram a ocorrência de colonização amíu de na faixa etária entre três e 16 anos em portadores de tonsilite persistente, os quais são suscetíveis à infecção e às suas complicações. De fato, em sua pesquisa com grupo amostral de 735 escolares da cidade de Recife, foi constatada uma prevalência de 0,8% do agente em portadores assintomáticos.

O objetivo da pesquisa realizada foi de estender o simulador *AutoSimmune* para permitir análises *in silico* da GnPE, tanto para verificar hipóteses sobre o papel da imunidade humoral na GnPE, quanto para investigar a evolução do processo fisiopatológico dessa condição nos casos em que são administrados antimicrobianos. Neste artigo serão apresentados resultados atinentes aos requisitos para a extensão e as análises sobre o papel da imunidade humoral na GnPE, não se abordando os dados referentes à terapia antimicrobiana.

2. Requisitos do Modelo para Simulação da GnPE

Como o objetivo é o estudo do papel da imunidade humoral na GnPE, os requisitos envolvem os mecanismos que possivelmente são as causas dessa etiologia. Além dos aspectos já comentados, destaca-se que a doença se manifesta em função da mediação imunológica por imunocomplexos. Diversos antígenos catiônicos, como por exemplo, NAP_{1r}, SpeB, zSpeB, são suspeitos de nefritogenicidade [BISNO, 2000]. Laboratorialmente, detecta-se baixo nível de complemento no soro devido ao consumo e elevação de anticorpos anti-*Streptococcus* (a anti-estreptolisina O), o qual ratifica a ocorrência prévia de infecção por esse agente.

Segundo [KUMAR et al., 2010], o mecanismo dependente da formação de imunocomplexos é confirmado à microscopia ótica pela observação de depósitos imunológicos granulares. O glomérulo se apresenta aumentado e hiper celular, por infiltração, proliferação e, nos casos graves, há formação de crescentes. Os requisitos identificados como significativos para a modelagem computacional foram os seguintes:

(1) Simulação de uma infecção por *Streptococcus pyogenes* nas vias aéreas superiores ou na pele. Após essa infecção, antígenos do *S. pyogenes* são liberados.

(2) Em relação à infecção, deve ser simulada a afinidade entre o patógeno e o tecido do hospedeiro (*Homo sapiens sapiens*) no qual o patógeno se adere e infecta, dando início ao processo de multiplicação. Uma vez iniciada a infecção, a imunidade adaptativa entra em ação, principalmente a imunidade adaptativa humoral mediada por anticorpos secretados, originados dos linfócitos B. Esses anticorpos se ligam aos antígenos do *S. pyogenes*, caso os encontre e tenham afinidade, com objetivo de neutralizar e eliminar esses microrganismos. A partir de então se formam complexos antígeno-anticorpo (imunocomplexos), os quais seguem pela circulação sanguínea e são filtrados nos rins. O infiltrado de imunocomplexos causa uma reação inflamatória em nível renal. O modelo deve ser capaz de simular a deposição de imunocomplexos, bem como a infiltração de células - macrófagos e neutrófilos, dentre outras -, ocorrendo nos tecidos renais ou glomérulos.

3. O Modelo

O modelo foi desenvolvido visando sua implementação no framework Repast Symphony¹, versão 1.2.0. Possi (2012) descreveu as definições de espaço, tempo, representações de células, substâncias e tecidos do *AutoSimmune*, as quais foram concebidas tendo em vista as limitações do framework. No entanto, nada impede que tal modelo seja utilizado como base para a construção de adaptações que sejam compatíveis com outros frameworks, uma vez que os conceitos imunológicos e biológicos subjacentes ao modelo não dependem da tecnologia utilizada para representá-los [POSSI, 2012]. Uma descrição bastante detalhada do *AutoSimmune* pode ser encontrada em [POSSI, 2012]. Aqui serão enfocadas as extensões pertinentes ao estudo da GnPE. Por questões de clareza serão descritas, sucintamente, as características do *AutoSimunne*.

3.1 O Simulador AutoSimmune

O *AutoSimmune* é um simulador do SI com foco original na autoimunidade. Em sua versão básica ele simula as regiões da medula óssea, o timo, o linfonodo, a circulação sanguínea e a região do tecido parenquimal. As regiões são simuladas como um espaço discreto na forma de uma grade bidimensional, na qual cada agente possui

¹ <http://repast.sourceforge.net/>

uma posição (i, j) . Mais de um agente pode ocupar a mesma posição, o que, de certa forma, simula um espaço 3D. A movimentação do agente é feita alterando-se sua posição, para uma posição em sua *Vizinhança de Moore*. Dessa forma, um agente não consegue “pular” posições: ele precisa se deslocar de uma posição por vez. Em uma estrutura de células bidimensional na forma de grade, a *Vizinhança de Moore* (de raio igual a um) compreende as oito células vizinhas a uma célula central. Os agentes podem mudar de regiões, segundo suas características, por meio de elementos especiais denominados de portais, da mesma forma como proposto por [FOLSIK et al., 2007].

A simulação de substâncias tais como citocinas são realizadas por meio de camadas de dados fornecidas pelo framework *repat*, denominadas de *ValueLayer*. As substâncias, quando liberadas pelas células, sofrem um processo de difusão, espalhando-se pelos arredores do local no qual foram liberadas, diminuindo sua concentração; e sofrem também um processo de decaimento, diminuindo sua quantidade com o tempo [POSSI, 2012]. A *ValueLayer* é camada abstrata de dados que, no momento de sua criação, é associada a uma região de grade. É possível associar várias camadas de dados a uma mesma grade. Dessa forma, um agente pode saber qual a concentração de uma dada substância, naquele instante de tempo, na posição (i, j) . Todo *ValueLayer* tem associado a ele um componente denominado *ValueLayerDiffuser*. Esse componente é responsável por simular a difusão e decaimento da substância, formando assim um gradiente de concentração.

O tempo é modelado utilizando o conceito de unidade de tempo discreta disponibilizado pelo framework, chamado de *tick*. Cada componente agenda seu tempo de execução, informando quando deve começar a ser chamado e o intervalo de cada invocação [POSSI, 2012].

No simulador, a afinidade - que é a força com a qual um antígeno é reconhecido por um receptor - é simulada pelo número de *bits* coincidentes entre duas sequências: a do receptor de uma célula e a do antígeno. Quanto maior esse número, maior será a afinidade. Para o cálculo da afinidade é utilizado o método sugerido por Floreano e Mattiussi [2008], chamado de “*comprimento da maior subsequência comum*”, cujo objetivo é calcular, dados dois padrões de sequências de *bits* A e B, o tamanho da maior subsequência de símbolos contíguos que esteja contida em A e em B simultaneamente, na mesma ordem.

3.2 Extensões para a Simulação da GnPE

A versão padrão do *AutoSimmune* apresenta diversos agentes relacionados a células do sistema imunológico tais como linfócitos NK, linfócitos citotóxicos, linfócitos B, macrófagos e células dendríticas. Além disso, o sistema representa como agentes entidades tais como vírus, células teciduais, anticorpos e portais. Para a simulação da GnPE foi necessário acrescentar agentes para simular o *S. pyogenes*, o neutrófilo e imunocomplexos. Também foi necessário acrescentar as regiões para simular o trato respiratório (*AirWayTissue*) e o tecido renal (*KidneyTissue*). Os agentes foram modelados por meio de diagrama de estados. Por falta de espaço é apresentado apenas o diagrama de estados do agente que simula o neutrófilo na Figura 1.

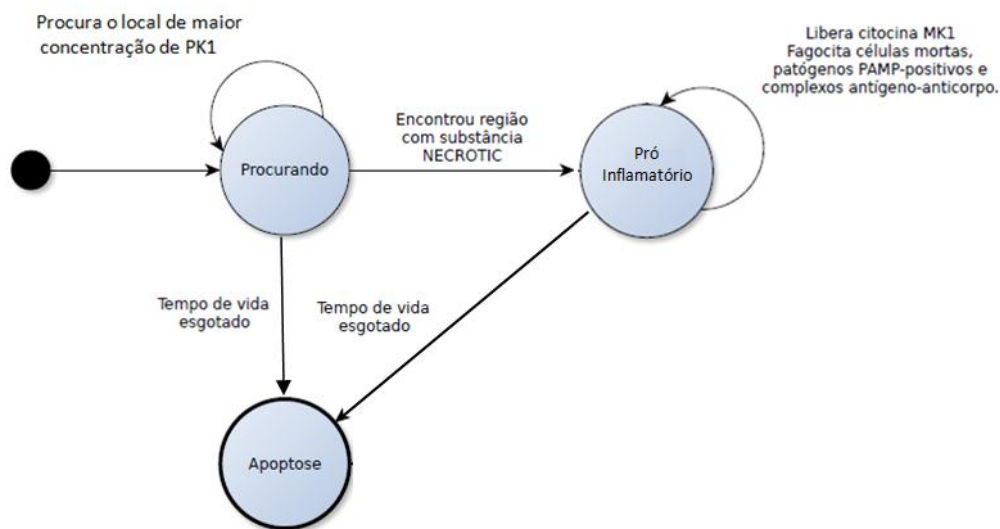


Figura 1. Estados do agente Neutrófilo.

Segundo Abbas et al. (2008) o neutrófilo responde à maioria das infecções, particularmente aos eventos causados por bactérias e fungos. Suas principais funções são a atuação a fagocitose de microrganismos, a remoção de restos teciduais e ação nos meios extra e intracelular para lisar e degradar microrganismos através de enzimas digestivas presentes nos seus grânulos citoplasmáticos, enquanto a imunidade adaptativa se prepara para atuar. Os microrganismos fagocitados e recobertos com complemento e anticorpo específico (opsonização) são mortos por uma combinação de radicais tóxicos de oxigênio gerados por neutrófilos e proteínas citotóxicas derivadas de grânulos citoplasmáticos.

4. Evidência do depósito de imunocomplexos nos glomérulos renais, caracterizando a GnPE

Segundo [TRABULSI & ALTERTHUM, 2008], na GnPE, à microscopia eletrônica, são revelados imunocomplexos como depósitos eletrodensos sobre o mesângio, ao longo da membrana basal, ou em ambas as localizações. Uma vez depositados no rim, os imunocomplexos podem ser finalmente degradados, principalmente por neutrófilos infiltrantes e monócitos/macrófagos, células mesangiais e proteases endógenas, e a reação inflamatória pode então remitir. A GnPE é uma doença mediada imunologicamente [KUMAR et al., 2010]. O período latente entre a infecção e o início da nefrite é compatível com o tempo necessário para a produção de anticorpos contra um ou mais antígenos estreptocócicos, os quais estão presentes na maioria dos pacientes. O primeiro passo foi identificar qual a quantidade de bactérias seria necessária. Foram utilizadas diferentes configurações dos parâmetros do sistema para que ocorresse o processo inflamatório nas células do *KidneyTissue* (rins). Depois que o sistema já estava estável, foram realizadas simulações utilizando os seguintes parâmetros:

Pyogenes Initial: representando com quantas bactérias começaríamos a simulação;

Pyogenes Virulency: representa a capacidade da bactéria de se multiplicar, ou quantas vezes ela pode se reproduzir; e

Pyogenes Latency: por quantos *ticks* o microrganismo sobreviverá.

Mantiveram-se os demais parâmetros como padrão. Veja na Tabela 1 as simulações feitas.

Tabela1. Parâmetros *Pyogenes*

| | <i>Pyogenes Initial</i> | <i>Pyogenes Virulency</i> | <i>Pyogenes Latency</i> |
|----|-------------------------|---------------------------|-------------------------|
| 1 | 100 | 2 | 10 |
| 2 | 100 | 5 | 15 |
| 3 | 100 | 10 | 15 |
| 4 | 100 | 10 | 10 |
| 5 | 100 | 3 | 10 |
| 6 | 110 | 4 | 10 |
| 7 | 110 | 3 | 15 |
| 8 | 110 | 3 | 10 |
| 9 | 50 | 2 | 10 |
| 10 | 0 | 2 | 10 |
| 11 | 5 | 2 | 10 |
| 12 | 10 | 2 | 10 |
| 13 | 30 | 2 | 10 |
| 14 | 50 | 2 | 10 |
| 15 | 70 | 2 | 10 |
| 16 | 200 | 2 | 10 |
| 17 | 300 | 2 | 10 |

O teste consistiu em executar a aplicação com estes parâmetros, e avaliar o comportamento das zonas *AirWayTissue* e *KidneyTissue*, uma vez que o modelo depende do resultado direto das duas zonas. O resultado que produzisse primeiro uma reação inflamatória satisfatória no *KidneyTissue* seria o escolhido. Depois dos testes, ficou evidenciado que o melhor resultado de inflamação, com menor número de bactérias iniciais foram: *Pyogenes Initial* = 300; *Pyogenes Virulency*=2; *Pyogenes Latency*=10.

Foi simulada uma infecção nas vias aéreas (*AirWayTissue*) ocorrendo, posteriormente, a infiltração de neutrófilos e macrófagos para os locais onde estão depositados o complexo antígenos-anticorpo (Zona *KidneyTissue* no modelo, representando os rins).

A Figura 2 representa uma visão da zona do tecido dos rins (*KidneyTissue*) simulada no sistema, que mostra vários pontos onde estão ocorrendo infecções representando as infiltrações glomerulares. Nesta figura vemos imunocomplexos (círculos em vermelho), neutrófilos(círculos em verde) e macrófagos (figuras azuis). Os

círculos brancos dispostos em forma de grade representam as células do tecido renal. Também podemos ver várias células do *KidneyTissue* com cor rosada, representando células regeneradas.

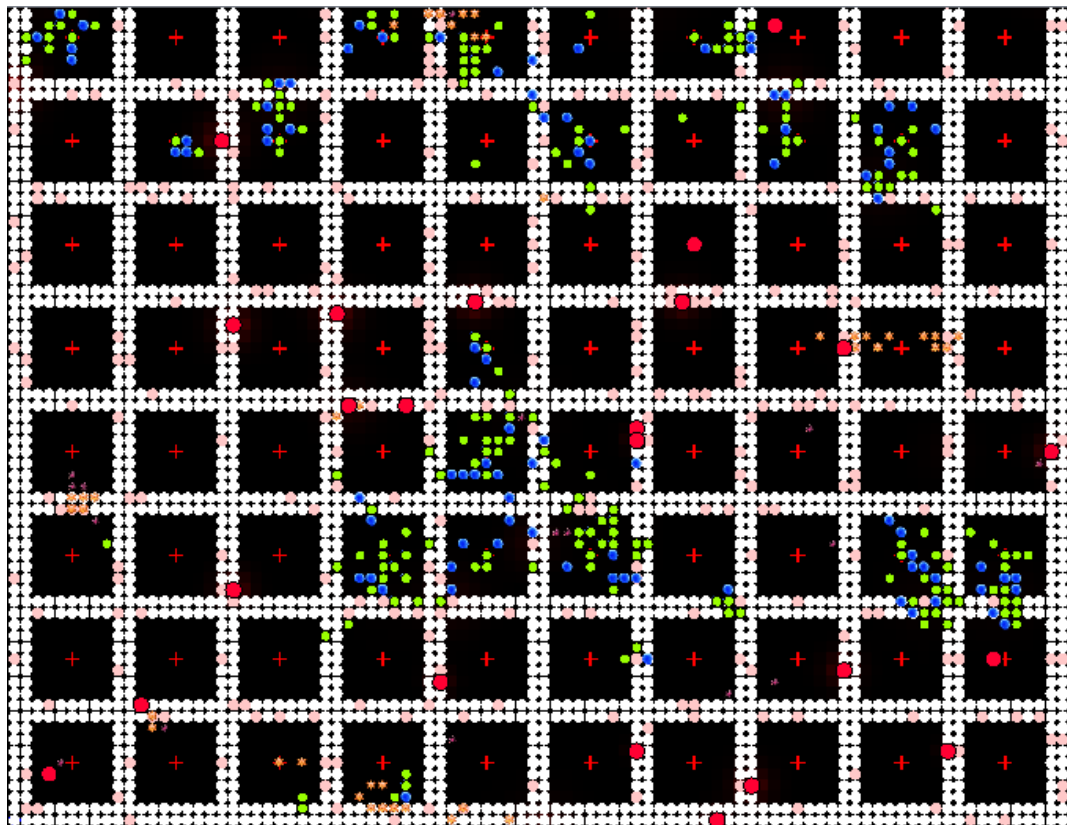


Figura 2. Saída gráfica do simulado mostrando infiltrações ocorrendo no *KidneyTissue*.

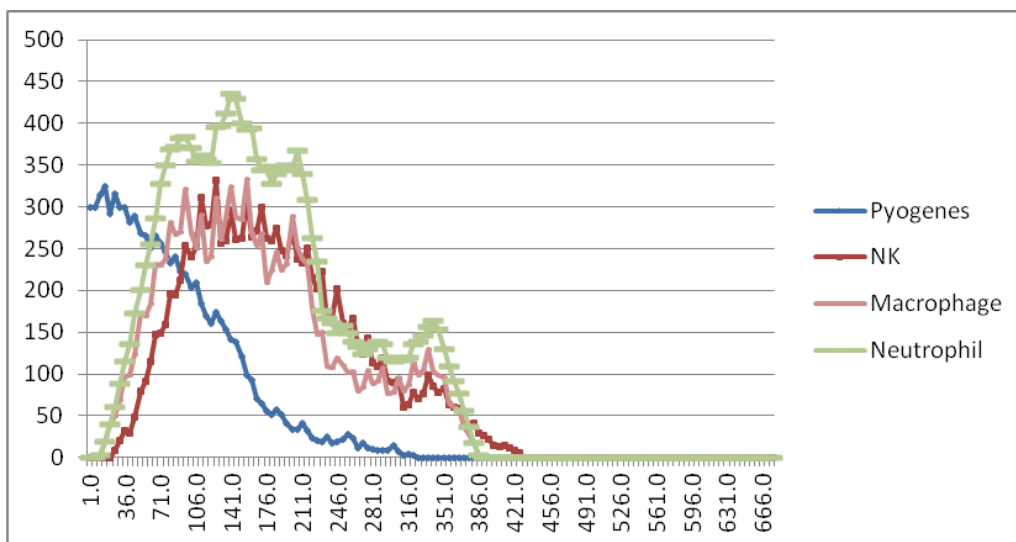


Figura 3. Evolução da Infecção na zona *AirWayTissue*.

A Figura 3 ilustra a evolução da infecção, mostrando os agentes presentes na simulação, em cada instante de tempo (em *ticks*). A mesma ilustra o momento em que bactérias são plotadas no tecido *AirWayTissue*. Após a entrada das bactérias, o sistema imune inato começa a agir imediatamente, então, células NK, macrófagos e neutrófilos, como fagócitos naturais que são, começam a fagocitar as bactérias, células necróticas e emitem sinais inflamatórios aos demais agentes. É iniciada a resposta adaptativa e células dendríticas ativam células B que começam a produzir anticorpos. Estes vão para

circulação sanguínea e de acordo com sua especificidade, se ligam aos antígenos da bactéria patogênica. Ao passarem pelos filtros dos rins, os imunocomplexos ficam presos nos glomérulos. Inicia-se outra modalidade de resposta inflamatória. Com a reação do sistema imune, neutrófilos e macrófagos são direcionados para o local onde o imunocomplexo se fixou. Começa o processo de lesão dos glomérulos, causando glomerulonefrite.

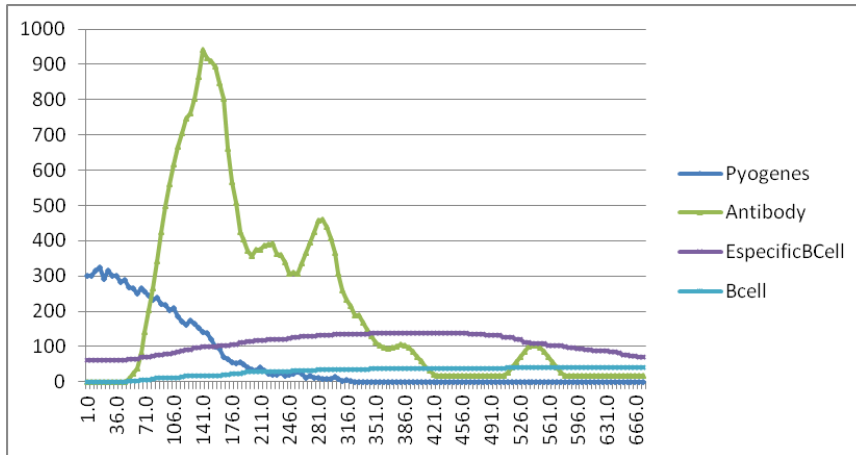


Figura 4. Evolução da Infecção com a participação da imunidade adaptativa na zona *AirWayTissue*

A Figura 4 ilustra a evolução da infecção com a participação da imunidade adaptativa no tecido *AirWayTissue*. A principal propriedade da imunidade adaptativa é sua especificidade, isto é, somente as células que reconhecem o antígeno do *S. pyogenes* proliferam, evitando assim o gasto de recursos com células que serão inúteis no processo. São produzidos muitos anticorpos específicos, que se ligam a antígenos e vão para circulação sanguínea. Já na circulação, eles serão filtrados pelos glomérulos, onde se fixam.

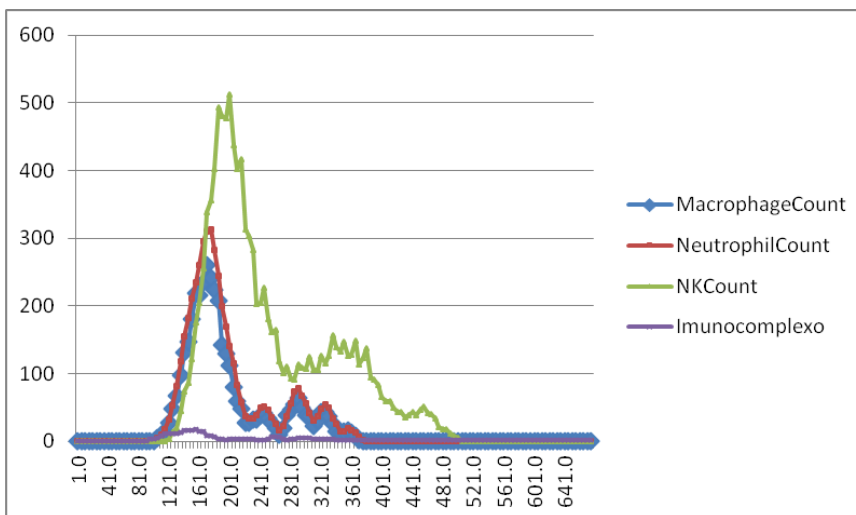


Figura 5. glomérulos renais – processo inflamatório (Glomerulonefrite).

A Figura 5 ilustra a evolução do processo inflamatório nas células renais (*Kidney Tissue*), expressando o momento no qual ocorre deposição de imunocomplexos nas células dos rins, com recrutamento de neutrófilos, macrófagos e células NK para o local da fixação, gerando o processo inflamatório, característico da GnPE. Como visto, é condição essencial para a ocorrência da entidade mórbida que os imunocomplexos se “grudem” nos glomérulos, e isto somente é possível quando ocorre a resposta imune humoral – mediada por anticorpos secretados –, cujo principal papel fisiológico é a

resposta aos microrganismos extracelulares e às toxinas microbianas [ABBAS et al., 2008]. Os anticorpos específicos se ligarão aos antígenos e o próximo destino é a circulação sanguínea. A partir deste ponto, serão filtrados nos rins, ocasionando o primeiro passo para a GnPE. Assim ratifica-se, preliminarmente, a hipótese sobre o papel da imunidade humoral nesta doença.

5. Conclusões

A partir de pesquisas realizadas acerca do sistema imunológico, foi proposto um modelo computacional, baseado em agentes, que atendeu aos requisitos necessários para a simulação de processos da GnPE. Foram levantados os requisitos necessários para um modelo que auxilie no estudo dos processos envolvidos nessa condição mórbida. Ao contínuo, o modelo foi implementado, estendendo as funcionalidades do simulador *AutoSimmune*. O simulador ampliado em suas funcionalidades foi capaz de apresentar um comportamento coerente com o esperado, segundo a literatura pesquisada.

O modelo apresentado neste trabalho evidencia a viabilidade do emprego da simulação *in silico* em pesquisas envolvendo o estudo do comportamento do sistema imunológico. O modelo demonstrou estar no caminho certo, apresentando características descritas como requisitos para a simulação da GnPE. Os resultados obtidos pela simulação do modelo não devem ser interpretados como provas do comportamento. No entanto, os dados obtidos trazem evidências interessantes do ponto de vista biológico e clínico, além de servir para evidenciar o seu comportamento coerente.

Agradecimentos

Este trabalho conta com o apoio financeiro das instituições de fomento FUNARBE, FAPEMIG, CNPq e da empresa Gapso.

Referências

- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. *Imunologia Celular e Molecular*. 3^a ed. São Paulo: Elsevier, 2008.
- BISNO, A. L. Nonsuppurative poststreptococcal sequelae: rheumatic fever and glomerulonephritis. In: Mandell, G. L.; Bennett, J. E. Dolin, R. Mandell, Douglas and Bennett's *Principles and Practices of Infectious Diseases*. 5th Edition. Churchill Livingstone, New York, 2000.
- FLOREANO, D.; MATTIUSI, C. Bio-inspired artificial intelligence : theories, methods, and technologies. [S.l.]: MIT Press, 2008. (Intelligent robotics and autonomous agents series).
- FOLCIK, V. A., AN, G. C.; OROSZ, C. G. The Basic Immune Simulator: an agent-based model to study the interactions between innate and adaptive immunity. *Theoretical biology & medical modelling*, vol. 4, 2007, p. 39.
- KUMAR, V.; ABBAS, A. K; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. Robbins & Cotran - Patologia Bases Patológicas Das Doenças. Elsevier, Rio de Janeiro, 2010.

MACIEL, A.; *et al.* Portadores assintomáticos de infecções por *Streptococcus pyogenes* em duas escolas públicas na cidade do Recife, Pernambuco. *Rev. Bras. Saude Mater. Infant.*, v. 3, n. 2, June 2003.

MONTSENY, J. J.; MEYRIER, A. KLEINKNECHT, D.; CALLARD, P. The current spectrum of infectious glomerulonephritis: Experience with 76 patients and review of literature. *Medicine (Baltimore)*, v. 74, p. 63-73, 1995.

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

POSSI, M. A. *Uma ferramenta para simulação do sistema imunológico através de sistemas multiagentes: um caso de estudo da autoimunidade*; Dissertação (Mestrado) - Departamento de Informática, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa-MG, fevereiro 2012.

RODRIGUEZ-ITURBE B; MUSSER J M. *The current state of poststreptococcal glomerulonephritis*. *J Am Soc Nephrol* 19: 1855-1864, 2008.

SILVA, C. C. ; OLIVEIRA, A. P. ; POSSI, M. A. ; CERQUEIRA, F. R. ; GOMES, A. P. ; SIQUEIRA-BATISTA, R. . Simulação in-silico do Sistema Imunológico: Modelando o comportamento do Mastócito. In: XII Workshop de Informática Médica (CSBC 2012 - WIM), 2012, Curitiba. XII Workshop de Informática Médica (CSBC 2012 - WIM), 2012a.

SILVA, C. C.; OLIVEIRA, A. P.; POSSI, M. A.; CERQUEIRA, F. R.; GOMES, A. P.; SIQUEIRA-BATISTA, R.; SANTANA, L. A. Immune System Simulation: Modeling the Mast Cell. In: he IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), 2012, Philadelphia. Proceedings of IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), 2012b.

SIQUEIRA-BATISTA, R.; GELLER, M.; GOMES, A. P.; ESPERIDIÃO ANTONIO, V.; CONCEIÇÃO-SILVA, F. O sistema imunológico: atualidades e perspectivas para a prática clínica. *Jornal Brasileiro de Medicina*, v. 95, p. 28-34, 2008.

TRABULSI, L. R.; ALTERTHUM, F. *Microbiologia*. 5 ed. São Paulo:Atheneu, 2008.