

ALINE AMABILE VIOL BARBOSA

**MODELO DE MÚLTIPLAS ESCALAS PARA A DINÂMICA DE CRESCIMENTO
DE ESTRUTURAS BIOLÓGICAS RAMIFICADAS**

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

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2011**

ALINE AMABILE VIOL BARBOSA

MODELOS DE MÚLTIPLAS ESCALAS PARA A DINÂMICA DE CRESCIMENTO
DE ESTRUTURAS BIOLÓGICAS RAMIFICADAS

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

APROVADA: 22 de julho de 2011.

Dra. Letícia Ribeiro de Paiva

Prof. Ubirajara Agero Batista

Prof. Marcelo Lobato Martins
(Orientador)

Dedico esse trabalho à minha mãe,
Velir, essa grande mulher, que me
ensinou “a sempre pedir licença,
mas nunca deixar de entrar.”

“Agora o braço não é mais um braço erguido num grito de gol. Agora o braço é uma linha , um traço. Um rastro estrelado e brilhante. E todas as figuras são assim: desenhos de luz, agrupamentos de pontos , de partículas! Um quadro de impulso nos processamentos vitais. E assim, dizem, recontam a vida. (...)”

Fernando Faro

Agradecimentos

Agradeço à Capes, pela bolsa, a Fapemig, ao CNPQ e à UFV por todo suporte. Ao meu orientador Marcelo Lobato, pela oportunidade e por tudo que aprendi nesses dois anos. Aos professores e funcionários do DPF-UFV, em especial, aos meus co-orientadores Márcio e Silvio e aos prof. Ricardo e Sidiney por toda disponibilidade e atenção.

Agradeço aos amigos da pós-graduação que me acolheram com tanto carinho. Por todo apoio, pela amizade, por todas as risadas e por todos os “golpes”! Agradeço em especial à amiga Angélica, que foi meu verdadeiro anjo nessa temporada, ao Antônio, por resolver todos meus problemas computacionais e à Letícia pela atenção dedicada no início dos meus estudos sobre o câncer.

Agradeço à população nativa de Viçosa, que, apesar da bagunça que nós estudantes fazemos, nos recebem com tanta dedicação, tornando essa cidade tão confortável. À Karinne Goulart e à Rafaela Jorge por me ensinarem muito mais que permanecer na ponta dos pés. Ao pessoal do Taekwondo pela amizade e ensinamentos.

Agradeço aos amigos do Sete-Verde por estarem sempre dispostos à discutirem todo e qualquer assunto. Ao Joca, por ter sido meu braço direito durante essa jornada. Aos meus pais e irmãos, que cada qual a sua forma, estão sempre me apoiando e incentivando. Às minhas irmãs de alma: Fabiana, por compartilhar os momentos de tensão e sempre aliviá-los com boas gargalhadas. Geisa, por todo zelo, mesmo à distância. Lígia, por me ensinar a desacelerar e por sempre me fazer acreditar. Marina e Raquel, por manterem meu coração aberto e meus olhos no mundo.

Por fim, agradeço à Deus, Jah, Oxalá, Allah, Gaia, auto-organização, caos, seja lá o que for que torna minha vida tão boa e cheia de oportunidades e que permite eu chamar de amigos tantas pessoas fantásticas!

Sumário

Lista de Figuras	xi
Resumo	xii
Abstract	xiii
1 Introdução	1
2 Uma breve análise epistemológica	3
2.1 Linguagem	3
2.2 A interdisciplinariedade e seu papel no desenvolvimento científico	5
2.3 Modelagem	7
3 Autômatos Celulares	10
3.1 Geometria	11
3.2 Vizinhaça	11
3.3 Tipo de regra	13
3.4 Algumas aplicações em autômatos celulares	13
3.4.1 Jogo da Vida	13
3.4.2 Modelo de ruptura dielétrica (DBM) paralelo	15
4 Métodos de estimativa de dimensão fractal	18
4.1 Contagem de caixas (BoxCounting)	19

4.2	Massa Raio	20
5	Motivação biológica	22
5.1	Migração celular	22
5.2	Angiogênese tumoral	25
5.3	Neurogênese	28
6	Modelo de crescimento para estruturas ramificadas de natureza biológica	34
6.1	O modelo	35
6.1.1	Quimiotaxia	35
6.1.2	Haptotaxia	37
6.1.3	Dinâmica	42
6.2	Aplicando o modelo: Angiogênese tumoral	44
6.3	Aplicando o modelo: Neurogênese	48
7	Conclusões e perspectivas	56
	Referências Bibliográficas	58
A	Uma análise preliminar da matriz extracelular	62
B	Modelo multiescalar para o crescimento de tumores avasculares	66
C	Tabela de parâmetros	70

Lista de Figuras

3.1	Representação de redes de 1D, 2D e 3D, respectivamente.	11
3.2	Algumas formas de redes:quadrada, hexagonal e triangular, respectivamente.	11
3.3	vizinhança	12
3.4	Condições de contorno (cc). [a]:Toróide, c.c. periódicas para uma rede quadrada bidimensional.[b]:Esfera, c.c. periódicas para uma rede hexagonal. [c]: Anel,c.c. periódicas para uma rede unidimensional.	12
3.5	Demonstração da evolução do Jogo da Vida. Os números são referentes às regras citadas no texto.	14
3.6	Comportamentos estáveis no jogo da vida. [a] Padrão estático, [b] e [c] padrões oscilatórios	14
3.7	Exemplo de ruptura dielétrica em um disco de plasma.	15
3.8	Ilustração do modelo DBM. Os pontos pretos representam os sítios ocupados, os brancos os sítios candidatos ao crescimento. A condição inicial é dada pelo condutor central que é representado por um sítio ocupado com $\phi = 0$ e o em torno tomado por $\phi = 1$. [15]	16
3.9	Estruturas DBM gerada em uma rede quadrada 500x500. [a] $\eta = 1.0$, [b] $\eta = 0.5$, [c] $\eta = 0$	17
4.1	Método Massa Raio com sobreposição de círculos.	20
4.2	Gráfico log x log para calcular a dimensão fractal (D) pelo método Massa Raio das estruturas DBM apresentadas na 3.9.[a] $\eta = 0.0$, $D=2.0$, [b] $\eta = 0.5$, $D=1.88$, [c] $\eta = 1.0$, $D=1.74$	21
5.1	Esquema de uma migração coletiva conduzida por uma célula guia. <i>Figura retirada da ref. [20]</i>	23

5.2	Estruturas Guias. [a] Célula guia endotelial (<i>tip cell</i>),[b] Cone de Crescimento presentes nos neuritos. É possível observar a semelhança entre as duas estruturas, que não só possuem a mesma função, como o mecanismo de locomoção (protusões de filopódios) é o mesmo. <i>Fig. de [21] e [22], respectivamente.</i>	24
5.3	Um neurito sendo guiado por uma substância difusiva liberada pela pipeta (p). As figuras da direita são antes da exposição e da esquerda após a exposição. Em ambas as imagens a substância difusiva é a mesma, mas age em ambientes com características distintas o que faz com que na superior atue como substância atrativa e na inferior como repulsiva. <i>Figura da ref. [26]</i> .	25
5.4	Progressão de um carcinoma. Até a fase <i>in situ</i> o tumor cresce sem alterar a estrutura vascular. A partir de uma certa dimensão ($\sim 2mm$) ele é vascularizado, seu crescimento torna-se ilimitado e as células tumorais podem alcançar qualquer região do organismo. Após a vascularização o tumor é considerado maligno. <i>Fig. de [30]</i>	26
5.5	Representação esquemática de um vaso sanguíneo. A estrutura básica consiste nas células endoteliais justapostas, envoltas pela membrana basal. <i>Fig. adaptada da ref. [29]</i>	27
5.6	Esquema do processo de brotamento em um vaso maduro. <i>Figura adaptada de ref. [19]</i>	28
5.7	Angiogênese em uma lesão conjuntiva. <i>Figura de ref. [28]</i>	28
5.8	Alguns tipos de neurônios. <i>Fig. adaptada de [33]</i>	30
5.9	Estrutura de um neurônio. <i>Fig. de [34]</i>	31
5.10	Potenciais químicos difusivos guiam o crescimento dos neuritos. Eles podem ser [a] atrativos ou [b] repulsivos <i>Fig. [33]</i>	32
6.1	A figura [a] apresenta um campo de potencial com fontes pontuais. As regiões mais escuras são fontes atrativas e as claras repulsivas. A figura [b] apresenta uma linha de fonte atrativa com sumidouros nas bordas. As figuras à direita são os mesmos potenciais representados em 3D.	37

6.2	A figura superior mostra um crescimento com uma linha de fonte na margem da direita. A figura inferior apresenta um crescimento com os mesmos parâmetros e a mesma fonte, mas com a presença de fontes repulsoras difusivas. Rede 500 x 500	38
6.3	Atuação da degradação da MEC em função da distância da estrutura-guia para $MEC_i = 1$. Note que a densidade da MEC cresce exponencialmente com a distância, que implica que a degradação decai com essa forma. . . .	39
6.4	Recuperação da MEC em função do potencial local.	40
6.5	Estrutura crescendo em uma MEC inicialmente homogênea. A figura [a] e [b] apresentam a estrutura crescendo em tempos distintos submetida à uma linha de fonte na extremidade oposta. As figuras [c] e [d] é a representação da MEC referente às figuras [a] e [b] respectivamente. Note que na parte inferior da estrutura, onde a presença de estruturas-guia é menor, a matriz apresenta uma recuperação adaptando a nova estrutura). A escala de densidade pode ser observada à direita de [d].	41
6.6	Os parâmetros e as fontes são os mesmos da figura 6.2. O quadrado na primeira figura mostra a região com a presença de inibidor matriz-ligante. A figura abaixo apresenta o mesmo processo sem a marcação da região com inibidor. Rede 500 x 500.	42
6.7	Representação dos limiares da densidade de matriz extracelular para cada ação: avanço, retração e bifurcação. Variação da densidade de 1 (vermelho) à 0 (violeta).	43
6.8	Simulação de angiogênese tumoral aplicada à um padrão de carcinoma fixo. Rede 400X400	45
6.9	Simulação da angiogênese de um tumor compacto. A seta indica novos brotamentos.	45
6.10	Tumor mamário em camundongo com dimensão quase equivalente ao seu tamanho. Foto do site http://www.lbah.com	46
6.11	Angiogênese em um carcinoma conjuntivo. Foto do site www.cancerocular.com	46
6.12	Angiogênese em um padrão ramificado em tempos de desenvolvimento distintos. Note a característica essencial da estrutura não se perde.	47

6.13	Seleção do número de neuritos de acordo com o ambiente e parâmetros de controle. Nas duas figuras superiores o corpo está sujeito à fonte linear: na extremidade superior e, superior e inferior, respectivamente. Nas demais figuras a fonte é circular. Os parâmetros usados estão descritos na Tabela da Apêndice C.	50
6.14	Variações da morfologia neuronal em função da variação do parâmetro θ_d , que cresce de [a] para [d], diminuindo a degradação. Os parâmetros usados estão descritos na Tabela do Apêndice C.	51
6.15	Variações da morfologia neuronal em função da variação do parâmetro θ_{prob} , o parâmetro decresce de [a] para [d], aumentando a probabilidade. Os parâmetros usados estão descritos na Tabela 6.1.	52
6.16	Interferência na direção do crescimento de um neurito por inserção de uma fonte de substância atrativa [b] e repulsiva [c]. A figura [a] mostra a direção original sem as fontes.	53
6.17	Crescimento de neurônios (laterais, N2, N3) tendo como fonte de substância quimiotática um outro neurônio (central, N1). A dinâmica de crescimento dos três neurônios ocorre simultaneamente. Parâmetros descritos na Tabela do Apêndice C	54
6.18	Comparação de alguns padrões com morfologias de neurônios conhecidos pela literatura. <i>Fig. da coluna da direita retirada de www.sciencephoto.com</i>	55
A.1	Imagem feita por Microscopia de Campo Claro de um embrião de galinha com aproximadamente 50 horas de vida.	63
A.2	Distribuição de densidade da matriz selecionada na fig. A.1. A equação da curva de ajuste é uma combinação de gaussianas: $N = ae^{b(D-0.6)^2} + ce^{d(D-0.43)^2}$, em que N é o número de pontos com a densidade D.	64
A.3	A figura [a] apresenta uma matriz com a função distribuição encontrada na análise do recorte da MEC do embrião. A figura [b] consiste em rede Voronoi com a mesma função de distribuição de densidade. Ambas as imagem foram geradas em redes 500 x 500.	65

B.1	Esquema do tecido alimentado por um capilar na extremidade. O tecido é representado por uma rede quadrada, cada sítio pode estar ocupado por uma célula normal ou necrótica, ou uma ou várias células cancerosas. Uma célula cancerosa pode morrer, dividir ou migrar de acordo com a probabilidade correspondente a cada ação. Ref. [44]	68
B.2	Comparação entre algumas morfologias de tumores (esquerda) e padrões gerados pelo modelo (direita).(a) Padrão papilar de um papiloma escamoso. (c) Carcinoma basocelular compacto. (e) Padrão difuso de um plasmocito e (g) Filamentos celulares típicos de um tricoblastoma. Ref. [30]	69

Resumo

BARBOSA, Aline Amabile Viol, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2011.
Modelo de múltiplas escalas para a dinâmica de crescimento de estruturas biológicas ramificadas. Orientador: Marcelo Lobato Martins. Co-Orientadores: Silvio da Costa Ferreira Junior e Márcio Santos Rocha.

A caracterização de estruturas fractais e a busca por mecanismos ou regras universais para descrição de diversos fenômenos não-lineares fez com que a comunidade científica se voltasse para uma área que pode ser considerada uma das pioneiras na interdisciplinaridade: os Sistemas Complexos. Praticamente toda disciplina possui em seu domínio fenômenos complexos. Uma das linhas de destaque dessa área são as simulações em autômatos celulares, principalmente quando voltada para estudos de auto-organização em seres vivos. O presente trabalho propõe uma modelagem em autômatos celulares para simulação de crescimento de estruturas ramificadas no organismo animal guiadas pelas interações características da migração celular. Nosso modelo foi baseado na angiogênese e na neurôgenese, estruturas que são aparentemente distintas, mas que na verdade pertencem a um mesmo grupo se classificados quanto às regras de interações locais e seus comportamentos emergentes. Esse modelo pode ser de grande utilidade no estudo de doenças relacionadas ao sistema nervoso e de terapias de combate ao câncer.

Abstract

BARBOSA, Aline Amabile Viol, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2011. **Multiscale model for the dynamics of growth of biological branching structures.** Adviser: Marcelo Lobato Martins . Co-Advisers: Silvio da Costa Ferreira Junior and Márcio Santos Rocha.

The characterization of fractals and the search for general rules and mechanisms for description of non-linear phenomena brought the attention of the scientific community to the interdisciplinary area of complex systems. Complex phenomena can be found in almost every branch of natural science. One example is the simulation using cellular automata of self-organization in life. This work focuses on cellular automata models to simulate the growth of branched structures in animal body guided by the characteristics of interactions in cell migration. Our models are guided by the dynamics of angiogenesis and neurogenesis, apparently two different mechanisms that can be classified under the same rules regarding local interactions and emergent behaviors. The proposed models can be very useful in studies of neurological diseases and cancer therapies.

Capítulo 1

Introdução

A física de Sistemas Complexos se define pelo estudo de fenômenos que possuem um grande número de agentes similares que interagem localmente entre si, sem um controle central, e exibem emergência de comportamentos, ou seja, uma auto-organização difícil de antecipar avaliando cada comportamento local. Essa auto-organização, que é a principal característica dos sistemas complexos [1], fez com que a física expandisse seus objetos de estudos para outras áreas da natureza e para as ciências humanas. Nas últimas décadas surgiram na literatura vários estudos de comportamentos sociais, econômicos e de estruturas presentes na natureza cujo desenvolvimento caracteriza-se dessa forma não-linear.

Uma das principais áreas que tem se beneficiado com esses estudos é a biologia, em especial no estudo de seres eucarióticos multicelulares. Esses seres se organizam por uma, ou milhares de estruturas de natureza complexa. A compreensão das regras que regem a formação dessas estruturas é importante, entre outras questões, para conhecimento de nossa própria natureza e de outros animais, e principalmente, para o auxílio na busca de terapias para várias doenças.

O presente trabalho tem a pretensão de apresentar um modelo que busca simular estruturas de natureza ramificada no organismo animal. Em especial, volta-se para dois temas considerados focos centrais na biologia contemporânea: a angiogênese tumoral e a neurogênese. Essas estruturas, quando analisadas em uma visão de física de sistemas complexos, apresentam uma natureza muito similar, tanto com relação à troca de informações com o meio, como na dinâmica de suas estruturas básicas.

Em organismos multicelulares a auto-organização ocorre de escalas supracelulares à escalas subcelulares e moleculares [2], exigindo que a modelagem que a descreva tenha um caráter de múltiplas escalas. No entanto, a abrangência de todas as escalas, na maior

parte dos casos, pode tornar o modelo intratável computacionalmente. Em nosso caso, por exemplo, nos limitamos à escala mesoscópica (nível celular) e macroscópica (nível do tecido) e consideramos o comportamento emergente das escalas inferiores. Isso não prejudica o modelo visto que nosso interesse está na morfologia e nos comportamentos supracelulares. Em suma, para estudar essas estruturas biológicas criamos um modelo matemático-computacional de múltiplas escalas e bidimensional baseado em Autômatos Celulares.

A popularidade da Física de Sistemas Complexos é atribuída a essa grande possibilidade de comunicação interdisciplinar. A interdisciplinaridade pode ser reconhecida, em pequena escala, em alguns momentos da história da ciência. No entanto, nas últimas décadas ela tem se intensificado devido às necessidades naturais do próprio desenrolar do conhecimento científico. Como o fenômeno da interdisciplinaridade, tal como vivenciamos, é inédito, é necessário que, para atuar nessas regiões de fronteira, o pesquisador tenha consciência de seu contexto: de limites às possibilidades de atuação. A filosofia da linguagem nos oferece uma visão bastante plausível ao analisar esse contexto. No próximo capítulo fazemos uma pequena análise epistemológica, com intenção de entender melhor as fronteiras em que atuamos. Em seguida apresentamos uma revisão sobre Autômatos Celulares e análise de fractalidade, seguidos de uma breve revisão sobre os estímulos biológicos responsáveis pela idealização de nosso modelo. Por fim, apresentamos o nosso modelo com algumas aplicações e nossas perspectivas.

Capítulo 2

Uma breve análise epistemológica

O presente capítulo visa esclarecer alguns pontos de caráter epistemológico relacionados à nossa pesquisa. O que permite um físico tratar de assuntos aparentemente tão fora do seu domínio de conhecimento como a biologia? Um modelo computacional pode ser capaz de representar uma realidade tão complexa como fenômenos que ocorrem no organismo animal? A proposta é tentar compreender a validade e limites das simulações de diversas naturezas, que muitos já denominam como "experimentos *in silico*". Qual a relação, por exemplo, da imagem de uma célula vista no microscópio, uma equação que representa uma célula e a realidade ontológica desta célula? Para responder essas perguntas vamos partir da discussão sobre a função da linguagem no contexto científico. A partir desse fio inicial tentaremos compreender melhor o papel da interdisciplinariedade e, por fim, a natureza de um modelo.

2.1 Linguagem

Linguagem pode ser definida como um sistema de signos que se destina a estabelecer veículos para a troca de informação sobre o mundo. Toda linguagem se baseia em signos e toda nossa percepção de mundo é moldada através destes. Segundo Peirce¹, signos podem

¹Charles Sanders Peirce (1839-1884), formado em física e matemática pela Universidade de Harvard e em química pela Lawrence Scientific School, deixou contribuições em múltiplas áreas do conhecimento: lógica, semiótica, astronomia, matemática, teoria e história da ciência, econometria, entre outros.

ser entendidos como qualquer coisa que se refira a um objeto de forma convencional [3]. Antes de discutir o papel da linguagem nas estruturas e limitações da ciência é necessário compreender o seu limite devido a restrições da nossa própria percepção de mundo.

A nossa percepção do mundo não é necessariamente uma representação exata daquilo que é externo a nós. Vamos considerar, por exemplo, uma percepção visual: ao observar um objeto, o que entra em contato conosco é a luz refletida por ele que, atravessando nossa retina, estimula nervos óticos e a partir desse estímulo cria-se uma rede de processos neurais para se formar a imagem do objeto. Nessa perspectiva, a imagem que assimilamos é um produto do cérebro humano, o que sugere que exista um distanciamento entre objeto em si e o que podemos conhecer dele.

O instinto primordial que induz a nossa construção do mundo externo é a sobrevivência. Buscamos, através da razão, uma construção de mundo que permita interações bem sucedidas com o mundo exterior. Graças a imagem construída por nosso sistema nervoso é possível decidir qual a resposta adequada que deve ser dada ao meio em cada situação. Essa construção é aprimorada constantemente com a experiência, ou seja, toda interação e sobrevivência no mundo envolve constantemente a dialética “mundo construído” *versus* “mundo externo”. Assim, não só as hipóteses científicas, mas toda a imagem perceptiva que temos do mundo é testada no confronto com a experiência. [4].

De acordo com Peirce a linguagem pode ser dividida em três categorias, denominadas “Categorias Universais dos Signos”. A primeira corresponde ao fenômeno no seu estado puro que se apresenta à consciência, a sensação que ainda não é elaborada racionalmente (emoção diante da beleza, por exemplo). A segunda corresponde ao conflito da consciência com o fenômeno, buscando entendê-lo. A terceira é a interpretação e generalização dos fenômenos, o registro simbólico, a convencionalização. A ciência tem seu papel fundamental nessa última categoria, no processo de significação e análise.

Foucault² propõe que fenômenos e objetos são linguisticamente neutros, desta forma, permitem várias perspectivas de abordagens. Cada uma dessas perspectivas permite um determinado tipo de descrição. Essa condição é denominada de “**princípio da pluralidade descritiva**”. Segundo esse princípio podem existir infinitos discursos distintos sobre uma mesma realidade. Assim, a complexidade de um fato não está relacionado a alguma propriedade intrínseca a ele, mas sim à riqueza de perspectivas da linguagem adotada em cada descrição. Como não é possível criar uma linguagem com a descrição fundamental da natureza, todos os tipos de significação são igualmente válidos. O mais interessante é que cada linguagem tem seu “**princípio interior de proliferação**”. Cada estrutura linguística tem sua

²Michael Foucault (1926-1984) licenciado em filosofia e psicologia pela universidade de Sorbonne (Paris). Com grande engajamento político, publicou várias obras importantes principalmente para sociologia, psicologia e filosofia.

própria liberdade de dedução e análise. Isso significa que, de um mesmo fenômeno, pode-se obter diferentes informações (ou uma mesma informação com diferentes graus de complexidade), dependendo da linguagem em que é analisado [5]. Como será visto adiante, a noção de verdade está relacionada com a eficiência de um emulamento ou descrição, e não com a idéia ontológica de espelhamento ideal de fenômenos ou objetos.

Nessa perspectiva, as estruturas lógicas em que são baseadas cada área da ciência, e o senso comum possuem a mesma validade, no sentido que ambas lançam mão de modelos. Segundo Foucault, o modelo do meio externo feito pelo senso comum é tão elaborado, e tão interiorizado, que torna difícil entendê-lo com um modelo, uma leitura baseada em signos formulados pelo nosso racionalismo a partir das nossas percepções. Já as estruturas lógicas da ciência tornam a noção de modelo mais clara, pois as significações, assim como as regras de proliferação da linguagem, são bem estabelecidas, facilitando a análise e refutabilidade³ de cada teoria.

Com essa noção, de significação do mundo e pelo “princípio de proliferação interna” de cada linguagem, o conhecimento científico se dividiu em diversas áreas: biologia, geografia, física, sociologia, entre outros. Cada disciplina dessa possui suas próprias estruturas de análise, e dedica-se a fenômenos e objetos distintos. Essa divisão trouxe grandes avanços para o conhecimento, porém, existem inúmeros fenômenos que se encontram nos limiares das disciplinas, e que não podem ser satisfatoriamente compreendidos por meio de uma só forma de significação. Nesse momento, se faz necessário definir uma interrelação entre as linguagens das distintas áreas do nosso conhecimento, para que as análises e observações sejam complementares. Esse intercâmbio pode ser melhor otimizado se compreendermos o papel das disciplinas e como o vínculo pode ser realizado.

2.2 A interdisciplinariedade e seu papel no desenvolvimento científico

A compartimentalização dos saberes em disciplinas está intrinsecamente relacionada ao método analítico. Em linhas gerais, esse método busca decompor a realidade em suas partes constitutivas. O sucesso inicial dessa especialização conduziu o conhecimento a uma verticalização em níveis cada vez mais profundos, em busca do maior detalhamento da rea-

³Esse termo surge com Karl Popper, na corrente da filosofia da ciência denominada Falsificacionismo. Segundo essa corrente uma teoria científica não pode ser verificada, no máximo corroborada. E ainda, para uma teoria ser válida ela precisa poder ser falsificável, ou seja, deve ser estruturada de forma que ela possa ser refutada por algum experimento. Mais detalhes podem ser encontrados na referência [8]

lidade. Isso, sem dúvidas, trouxe grandes avanços para a ciência e para o desenvolvimento tecnológico. No entanto, a realidade não é disciplinar e muitos segmentos de realidade ficam fora desse recorte de disciplinas. Fenômenos complexos, assimétricos, caóticos, auto-organizados, conflitantes, exigem um descondicionamento do olhar, uma nova abordagem que seja mais sensível aos fenômenos. A proposta é “afrouxar” os limites das disciplinas em busca de maior domínio desses fenômenos, que não estão no escopo de nenhuma disciplina exatamente ⁴.

Segundo Margutti ⁵ podemos compreender o desenvolvimento desse processo a partir das seguintes formas de relação disciplinar:

- Monodisciplinaridade: Estuda o objeto a partir do ponto de vista de uma disciplina, onde cada disciplina tem sua "matéria prima".
- Multidisciplinaridade: Cada disciplina traz uma contribuição para um mesmo fato, porém elas são completamente desconectadas.
- Interdisciplinaridade: É o primeiro passo para o caminho da transdisciplinaridade, cada disciplina permanece fundamentada em suas próprias bases, porém há uma tentativa de articulação. Trata-se de uma interação dinâmica, de auto-regulação e retro-alimentação, entre as disciplinas [6].
- Transdisciplinaridade: É o objetivo final. Considerada como a superação das fronteiras disciplinares. Um novo paradigma que pense a realidade sem os paradoxos gerados pelo excesso de credibilidade no método analítico. O surgimento de abordagens sistêmicas que forneçam um fio condutor que permita a livre articulação das disciplinas.

A transdisciplinaridade é ainda uma idealização. Trata-se de um conceito vazio ao ser preenchido ao longo das pesquisas interdisciplinares. O objetivo é fazer várias áreas do conhecimento trabalharem conjuntamente e esperar a emergência de um conhecimento novo que supere as barreiras disciplinares [6].

É importante ressaltar que a base da transdisciplinaridade é a disciplina. Assim, o desenvolvimento objetivado não se faz em um caminho contra-disciplinar. Para que a transdisciplinaridade não se torne um conceito metafórico, místico, é preciso que esta tenha uma

⁴Entrevista do Prof. Paulo Margutti concedida ao Prof. José Baldissera, pode ser encontrada no site <http://www.fafich.ufmg.br/margutti>

⁵Paulo Roberto Margutti Pinto é professor titular do Departamento de Filosofia da Fafich/UFMG e Ph.D. em Filosofia pela Universidade de Edimburgo, Escócia. Trabalha nas áreas de lógica, argumentação e filosofia da linguagem.

forte ancoragem nas disciplinas. Nas palavras de Foulcaut, ao argumentar sobre a história do conhecimento [5], "todo limite não é mais talvez que um corte arbitrário num conjunto indefinidamente móvel". Assim pode ser visto o mapeamento disciplinar. Intenciona-se criar um novo paradigma que, sem negar o que já foi construído acerca dos métodos para adquirir o conhecimento, mas complementando-os, permita abranger os campos que estão nas zonas difusas dos limites disciplinares [6].

Outra noção importante é que a idéia desse diálogo é justamente o conflito. Conflitar idéias e definições, buscar um entendimento comum, trazendo a luz de uma linguagem genérica, o conhecimento adquirido no cerne de cada área envolvida e assim provocar retóricas, de forma que haja uma construção mútua do conhecimento, otimizando as possibilidades de análise que a dinâmica da linguagem de cada área é capaz de oferecer.

O presente trabalho se propõe a essa abordagem interdisciplinar. Tratamos com uns dos principais "vilões" da ciência analítica determinística: a auto-organização e a estocasticidade. Tendo como objeto de estudos entidades que são melhor fundamentadas na biologia, e a partir de dados biológicos, tentamos fazer uma abordagem em física estatística usando métodos computacionais. Vários trabalhos com essa mesma relação apresentaram resultados de sucesso, tanto em nosso grupo quanto na literatura em geral [2]. Assim essa interrelação (física-biologia-computação) torna-se cada vez mais bem fundamentada no âmbito de otimização de intercomunicação e de processos.

2.3 Modelagem

Em um modelo científico representa-se a estrutura essencial de um sistema. Modelo é um conjunto de entes e interações definidos dentro de uma determinada linguagem com um objetivo central. Entendemos por sistema qualquer fenômeno, objeto ou evento que se deseja observar no mundo: dinâmica dos corpos celeste, sinápses neurais, ecossistemas, animais, máquinas, etc. Estrutura essencial são as características relevantes para o problema a ser analisado. Por exemplo, se queremos projetar um modelo de avião que voe mais rápido, não temos que nos preocupar em definir a cor do avião no modelo, definimos somente aquilo que é essencial para solucionar a questão aerodinâmica.

Para que um modelo seja válido é necessário que a sua resposta a estímulos ou questões, corroborem com as respostas do sistema em que foi inspirado. Segundo Margutti [4], é importante compreender que um modelo não é uma cópia da realidade e sim uma estrutura conjectural capaz de emular razoavelmente o comportamento de um sistema. Note que uma

definição parecida foi usada na discussão sobre linguagem. A divisão linguagem-modelo, não é clara na prática. Um modelo só pode ser construído através de uma linguagem. Em contrapartida, a própria linguagem lança mão de modelos para se estruturar. Logo, linguagem e modelo são conceitos completamente interdependentes.

Uma modelagem se faz em quatro etapas:

1. Observação: Sensoriamos o sistema real através de sensores artificiais (como microscópio, termômetro, sismógrafo, entre outros) ou naturais (como audição, visão, tato, olfato, paladar).
2. Interpretação: A segunda etapa consiste em criar uma imagem mental sobre o objeto. Isso é feito de forma natural por nossa mente, que cria um molde utilizando o conhecimento prévio de outras experiências, seja científicas ou do senso comum. Essa imagem pode ser considerada a primeira versão do modelo.
3. Transformação: Para tornar o modelo tratável, transformamos para uma linguagem mais adequada. Nesse processo selecionam-se as características relevantes ao problema em questão, de forma a otimizar e tornar mais prático o processo de análise.
4. Verificação: Incita-se o modelo com questões para testar sua validade. Se a resposta fornecida pelo modelo é compatível com o sistema real consideramos o modelo plausível. Se as respostas divergirem, voltamos à etapa de transformação. Se ainda divergirem, é necessário retornar a primeira etapa ou reavaliar as informações interpretadas. Esse ciclo ocorre, em geral, várias vezes até que o modelo seja considerado válido.

Para lidar com a noção de verdade de um modelo é preciso lembrar que estes são avaliados pela capacidade de capturar as estruturas essenciais que se pretendeu modelar. O modelo deve possuir suscetibilidade para soluções aproximadamente exatas, ou plausível. A tradicional noção de “verdade” não é utilizada na análise de um modelo, e sim usamos o termo “corroborável” [8]. Um modelo é bom, se ele corrobora com a realidade em todas as verificações feitas. Nesse ponto temos a liberdade de realizar estudos baseados nas situações idealizadas no modelo, tornando possível a compreensão de estruturas similares nas situações realistas, no entanto, menos tratáveis [7].

Para lidar com esse grande número de possibilidades de modelos para descrever um mesmo fenômeno, faz-se necessário lançar mão de alguns critérios extras de escolha. Um critério bastante aceito foi proposto por William de Ockham no século XIV. Ele define que o melhor modelo a ser adotado é o mais simples que contenha a estrutura essencial. Ou

seja, se mais de um modelo fornece a mesma resposta, será adotado o mais simples, aquele que envolve o menor número de variáveis e premissas. Essa conceito ficou conhecido como Navalha de Ocakham.

Esperamos, nesse capítulo, ter esclarecido alguns pontos do limite ontológico do processo de significação, estruturada através da linguagem, e da sua importância para a construção do conhecimento. A pluralidade dessas significações auxilia na exploração do mundo de várias formas distintas, possibilitando um detalhamento mais aprofundado dos fenômenos. Essa é a visão guia dos cientistas que buscam a interdisciplinaridade e é através dessas lentes que propomos o presente trabalho.

Capítulo 3

Autômatos Celulares

A modelagem via Autômatos Celulares (AC) tem sido uma estratégia com crescente destaque no estudo de fenômenos de comportamento dinâmico e formação de padrões, seja nas ciências naturais ou sociais. Proposto inicialmente por John Von Neumann e Stanislaw Ulam, em meados do último século, para a modelagem de sistemas biológicos com características de auto reprodução [9], difundiu-se rapidamente devido a sua capacidade de simular sistemas com alto grau de complexidade, dentre esses, alguns dos quais chegam a ser intratáveis por outros métodos.

A base da teoria de AC é a mesma que molda todas as análises de Sistemas Complexos: a idéia de que comportamentos locais em uma escala mais básica definem o comportamento numa escala superior, ou seja, pode-se compreender comportamentos globais somente conhecendo-se as regras de interação local entre elementos constituintes do sistema.

Os ACs são modelos discretos no espaço e no tempo cuja evolução é regida por regras simples. O espaço é constituído por componentes individuais denominadas células ou sítios. Todos os sítios são idênticos e obedecem às mesmas regras de evolução temporal, sendo o tempo discreto, definido como passos no algoritmo. As regras relacionam o estado de cada sítio com seu estado em um passo de tempo anterior e com o estado de seus vizinhos, sendo que os vizinhos podem ser definidos de acordo com as necessidades do modelo.

Em suma, Autômatos Celulares podem ser entendidos como um conjunto de componentes autônomos, identicamente programados que interagem entre si. São representados computacionalmente por uma matriz (ou vetor), no qual cada autômato é representado por um elemento de matriz, indexado no tempo e no espaço. Um modelo de AC é classificado segundo sua geometria, tipo de vizinhança e tipo de regras, como descrito a seguir [12].

3.1 Geometria

Um AC pode possuir n -dimensões. No entanto, se as coordenadas espaciais do modelo representam um espaço físico, os AC's podem ser de 1D, 2D ou 3D (figura 3.1). Frequentemente sua estrutura é regular, ou seja, todas as células possuem o mesmo tamanho e forma e estão distribuídas em uma rede ou malha. Quanto à forma das células, é livre, desde que possa ser disposta em uma rede. Comumente utiliza-se redes quadradas, mas podem ser também triangular, hexagonais, entre outras (figura 3.2).

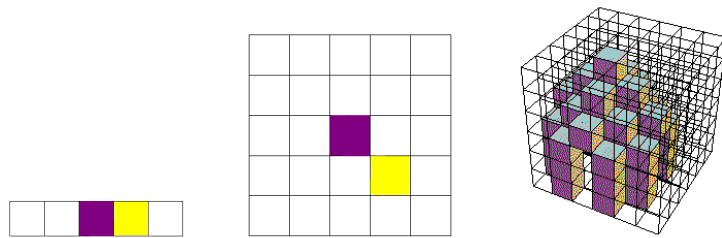


Figura 3.1: Representação de redes de 1D, 2D e 3D, respectivamente.

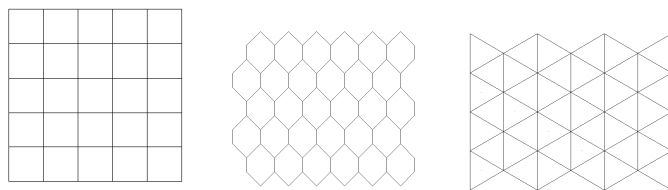


Figura 3.2: Algumas formas de redes:quadrada, hexagonal e triangular, respectivamente.

3.2 Vizinhança

Vizinhos de um sítio são aqueles que interagem diretamente com este. Podemos definir primeiros vizinhos, segundos vizinhos, e assim sucessivamente (figura 3.3). A vizinhança também deve ser padrão para todos os sítios, mas é livre para ser definida de acordo com a

necessidade de cada simulação, não precisando, necessariamente, ser isotrópica ou espacialmente localizada. A limitação na definição da vizinhança está relacionada simplesmente com a dimensão do AC. Alguns tipos de vizinhança pra 2D são frequentemente encontrados na literatura, tal como a de Neumann, de Moore e aleatória (ver 3.3).

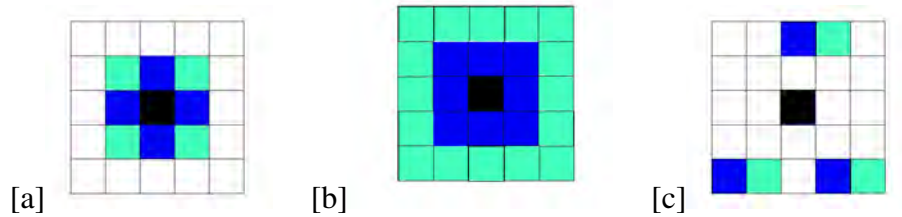


Figura 3.3: Vizinhança de um sítio. Os sítios em azul representam os primeiros vizinhos e os verdes os segundos vizinhos. [a] Vizinhança de Moore; [b] Vizinhança de Neumann; [c] Vizinhança Aleatórios

Para que as propriedades de todos os sítios sejam idênticas é necessário definir condições de contorno. Essas condições também variam de acordo com o problema, mas é comum, ao simular um espaço contínuo, definir condições de contorno periódicas. Para uma vizinhança de Neumann, por exemplo, define-se o vizinho localizado a direita do último sítio da linha como o primeiro sítio da linha, e vice versa. O mesmo é feito com os primeiros e últimos sítios de cada coluna. O espaço formado compara-se a um toróide como representado na figura 3.4[a], na qual pode ser observado também condições de contorno para outras redes.

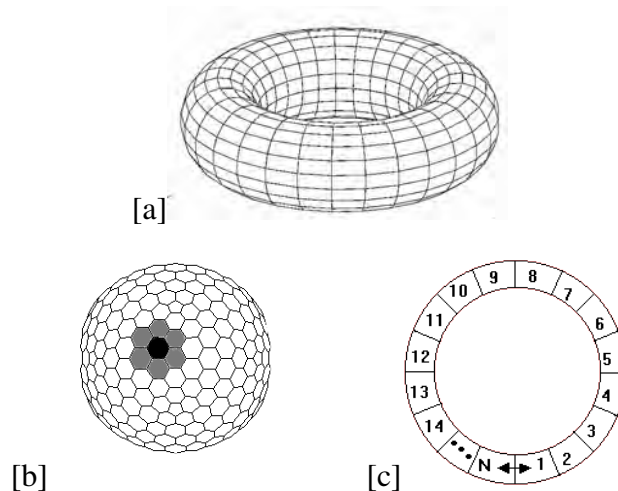


Figura 3.4: Condições de contorno (cc). [a]:Toróide, c.c. periódicas para uma rede quadrada bidimensional.[b]:Esfera, c.c. periódicas para uma rede hexagonal. [c]: Anel,c.c. periódicas para uma rede unidimensional.

3.3 Tipo de regra

Como já foi dito, as regras são locais e relacionam o novo estado de um sítio com os estados de seus vizinhos e/ou com o seu próprio estado anterior. As regras podem ser determinísticas ou estocásticas. Com regras determinísticas pode-se prever com exatidão um estado futuro se o estado atual é bem definido. Já com regras estocásticas, o estado futuro depende de uma função probabilidade. Mais detalhes sobre cada tipo de regra serão ilustrados a seguir, na descrição de dois exemplos que se segue.

3.4 Algumas aplicações em autômatos celulares

3.4.1 Jogo da Vida

O famoso modelo intitulado "Jogo da Vida" foi criado na década de 70 por John Horton Conway [13]. Trata-se de um modelo que visa simular processos da vida real fazendo analogias com as alternâncias de uma sociedade de organismos. Em uma rede quadrada bidimensional e com vizinhança de Moore, define-se dois estados antagônicos (1-0, vivo-morto, ocupado-vazio) e uma configuração inicial aleatória. A evolução temporal obedece as seguintes regras, que são chamadas de "leis genéticas":

1. Sobrevivência: Todo sítio com dois ou três vizinhos vivos (1 ou ocupados) sobrevive até a próxima geração;
2. Morte: Todo sítio com quatro vizinhos vivos morre (é retirado) por superpopulação; um sítio com um ou nenhum vizinho morre por isolamento;
3. Nascimento: Toda célula vazia adjacente a, exatamente, três vizinhos vivos torna-se um sítio vivo.

Um exemplo da evolução dinâmica dessas regras pode ser visto na figura 3.5. É importante ressaltar que as regras são aplicadas simultaneamente a todos os sítios, ou seja, em um mesmo instante ocorrem nascimentos e mortes. Com isso cada passo de tempo caracteriza a

“história de vida”, uma geração de uma população.

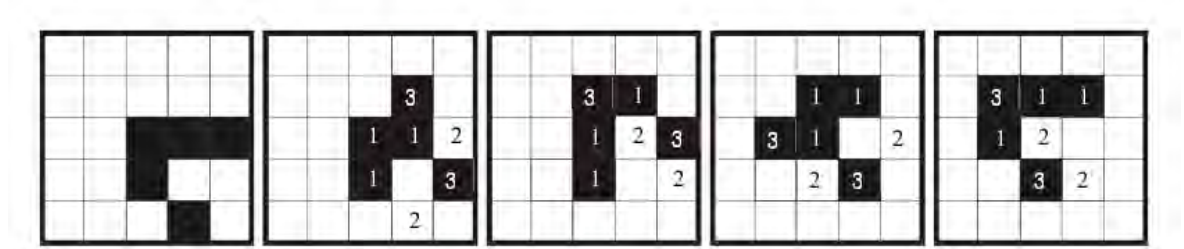


Figura 3.5: Demonstração da evolução do Jogo da Vida. Os números são referentes às regras citadas no texto.

Essas regras geram evoluções que contemplam a ocorrência das seguintes formas de comportamento: a população pode desaparecer completamente (por superlotação ou por ser muito dispersa), pode tornar-se estática espacialmente, ou manter-se dinamicamente estável (figuras 3.6). Além disso as regras foram feitas de forma que não exista nenhuma prova trivial de que qualquer configuração inicial possa crescer ilimitadamente.

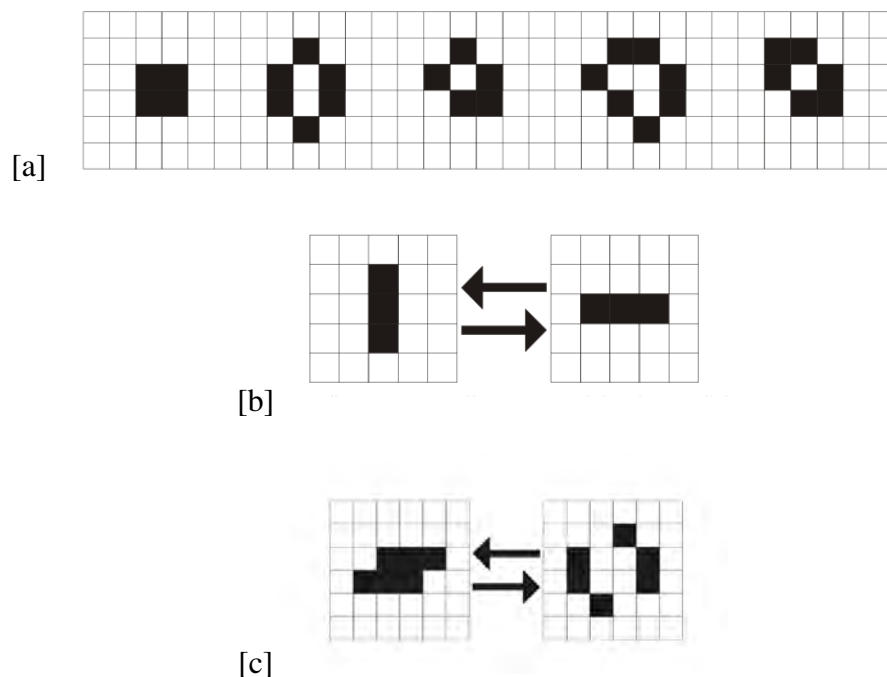


Figura 3.6: Comportamentos estáveis no jogo da vida. [a] Padrão estático, [b] e [c] padrões oscilatórios

3.4.2 Modelo de ruptura dielétrica (DBM) paralelo

Exemplos de Autômatos Celulares estocásticos podem ser encontrados em larga escala na modelagem de fenômenos de crescimento, tal como Eden, DLA (diffusion limited aggregation), DBM (dielectric breakdown model), que são modelos que simulam agregados, entre outros [14]. Na presente seção, será apresentada o modelo de ruptura dielétrica DBM. Esse exemplo foi escolhido devido a sua extrema relevância para o presente trabalho, podendo ser considerado como uma semente, o ponto de partida para criação de nosso modelo.

A ruptura dielétrica em gases, líquidos e sólidos ocorre como um “fio” de descarga com forte tendência a ramificações e padrões estocásticos, como pode ser observado na figura 3.7. Niemeyer et al. [15] propuseram um modelo simples capaz de simular essas estruturas. Trata-se de um modelo em Autômato Celular estocástico e não-trivial. Considera-se uma rede quadrada com um ponto central representando um dos eletrodos, e o outro eletrodo é modelado como um círculo circunscrito ao ponto a uma distância considerável deste como ilustrado na figura 3.8.



Figura 3.7: Exemplo de ruptura dielétrica em um disco de plasma.

As regras definidas no modelo são as seguintes:

1. O eletrodo central é considerado como o primeiro ponto (sítio ocupado) do agregado. Nesse ponto o potencial é igual a zero, enquanto no círculo entorno, que representa o outro eletrodo, o potencial é igual a um. Essas são as condições de contorno.
2. Com essas condições de contorno, é possível solucionar a equação de Laplace para o potencial que é dada por:

$$\nabla^2 \phi = 0 \quad (3.1)$$

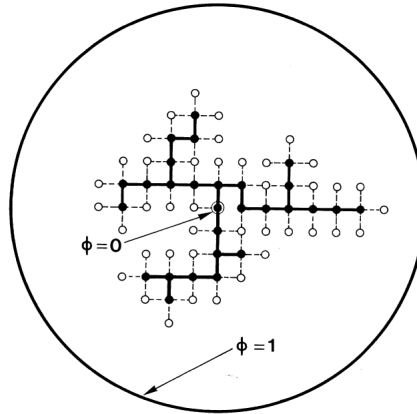


Figura 3.8: Ilustração do modelo DBM. Os pontos pretos representam os sítios ocupados, os brancos os sítios candidatos ao crescimento. A condição inicial é dada pelo condutor central que é representado por um sítio ocupado com $\phi = 0$ e o em torno tomado por $\phi = 1$. [15]

Essa equação permite definir o potencial em cada ponto do espaço. Sua forma discreta para uma rede quadrada pode ser escrita como:

$$\phi_{i,k} = \frac{1}{4}(\phi_{i+1,k} + \phi_{i-1,k} + \phi_{i,k+1} + \phi_{i,k-1}) \quad (3.2)$$

Itera-se essa equação até que se obtenha uma convergência satisfatória.

3. Em cada passo de tempo um sítio ocupado é adicionado ao agregado. Os sítios candidatos a serem ocupados (sítios de crescimento) podem ser observados na figura 3.8, representados pelos pontos brancos, sendo os pontos pretos os sítios já ocupados. A cada um desses sítios candidatos associa-se uma probabilidade de agregação (ou crescimento) que depende da diferença de potencial entre ele e o sítio do agregado ao qual ele poderia se conectar. Essa probabilidade é dada por:

$$p(i, k \rightarrow i', k') = \frac{\phi_{i',k'}^\eta}{\sum (\phi_{i',k'})^\eta} \quad (3.3)$$

O somatório no denominador é um termo de normalização e refere-se a todas as probabilidades de crescimento. O expoente η é um parâmetro que interfere na densidade do padrão, mas a ele não é dado nenhum atributo físico real. Um sítio de crescimento é escolhido ao acaso com igual chance. Em seguida um número aleatório z com probabilidade uniformemente distribuída é gerado e comparado com a probabilidade de crescimento $p(i, k \rightarrow i', k')$. Se $z \leq p(i, k \rightarrow i', k')$ o sítio de crescimento é ocupado. Senão o sítio de crescimento permanece vazio e essa regra é repetida até que um sítio

de crescimento seja ocupado. Padrões DBM com diferentes η podem ser observados na figura 3.9.

4. Após a ocupação retorna-se à regra 2 e todo procedimento é repetido.

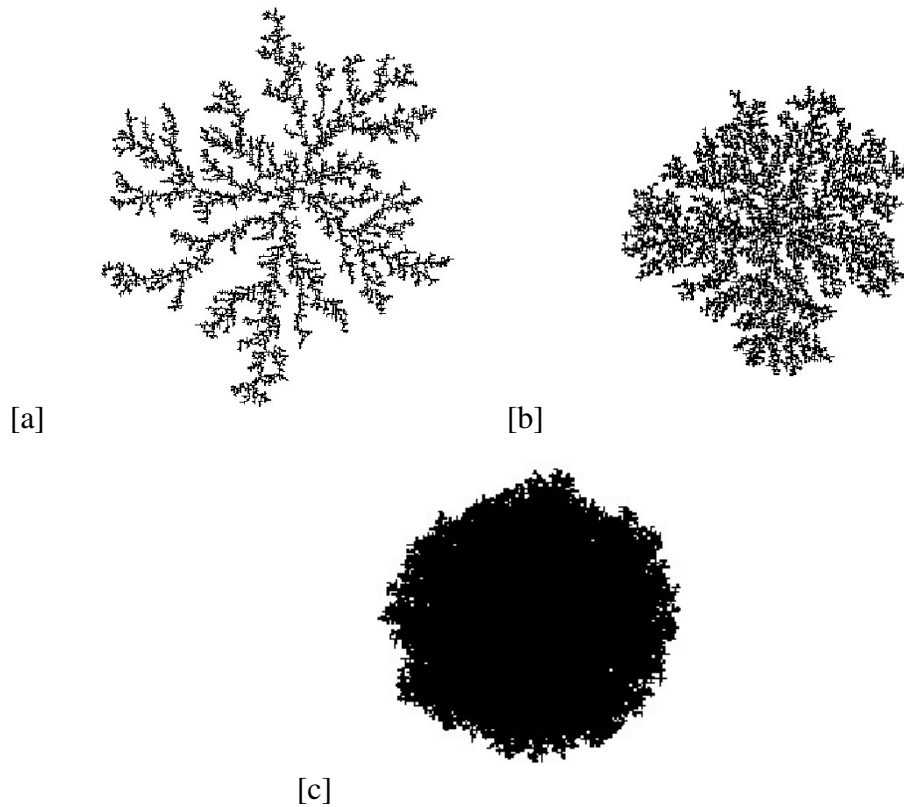


Figura 3.9: Estruturas DBM gerada em uma rede quadrada 500x500. [a] $\eta = 1.0$, [b] $\eta = 0.5$, [c] $\eta = 0$

Capítulo 4

Métodos de estimativa de dimensão fractal

Um conceito importante para o presente trabalho e para a física de sistemas complexos é o conceito de fractal. Um dos primeiros questionamentos sobre estruturas fractais foi feito por Mandelbrot [16] que ao observar certas formas da natureza percebeu que não podia classificá-las de acordo com os objetos da geometria Euclidiana tradicional (como retas, esferas, planos, etc). Essas estruturas, aparentemente irregulares, são muito frequentes na natureza, sejam na morfologia como neurônios, bacias hidrográficas, colônias de bactérias, nuvens, ou nos processos dinâmicos, como tráfego de redes, variação da função cardiovascular (HRV) entre outros [17].

Um objeto fractal é aquele que apresenta auto-similaridade em várias ou todas as escalas, ou seja, a parte é semelhante ao todo. A auto-similaridade pode ser exata (fractais determinísticos), ou estatística (não-determinísticos). Como a Geometria Euclidiana não descreve adequadamente essas estruturas, surgiu a necessidade de se criar uma forma de classificá-las. Nessa perspectiva foi definida a Dimensão Fractal, que fornece uma idéia da quantidade de "matéria" do conjunto. Ao contrário das dimensões topológicas na geometria Euclidiana, as dimensões fractais podem ser fracionárias. Por exemplo, uma estrutura fractal que ocupa duas dimensões, apresentará uma dimensão fractal entre 1 e 2; já uma forma que ocupa o espaço tridimensional apresentará uma dimensão fractal fracionária entre 2 e 3 e, obviamente, se estiver em uma linha, entre 0 e 1.

Existem diversas formas de determinar a dimensão fractal, grande parte delas baseadas na Dimensão de cobertura de Hausdorff [18]. A compreensão dessa técnica de análise é extremamente simples. Considere uma linha de comprimento L e uma outra linha menor, de comprimento u . Para sobrepor a linha L , até cobri-la completamente, são necessárias

$N = L/u$ linhas de comprimento u . A mesma análise pode ser feita em duas dimensões, para cobrir um quadrado de lado L , são necessários $N = (L/u)^2$ e o mesmo se repete em 3 dimensões. Assim obtemos a relação $N = (L/u)^D$. Aplicando-se o logaritmo de ambos os lados dessa relação temos

$$D = \frac{\ln(N)}{\ln(L/u)} \quad (4.1)$$

onde D é a dimensão fractal de cobertura de Housdorff. É fácil observar que para um objeto compacto, D é igual a dimensão topológica. Essa é a base para a maioria dos métodos presentes na literatura. Nem todo método pode ser aplicado a qualquer tipo de estrutura. Cada método se baseia em um tipo de medição diferente, assim é preciso selecionar o melhor método para cada situação. A seguir, dois dos principais métodos utilizados na literatura.

4.1 Contagem de caixas (BoxCounting)

O método de contagem de caixas é de aplicação geral e encerra a própria definição da dimensão de cobertura. Ele é um dos mais usados na literatura, devido a sua simplicidade. Consiste em sobrepor à estrutura uma malha de caixas (quadrados ou cubos) de dimensão linear ε e contar quantos são necessários para cobrir toda a estrutura. A relação do número de caixas que contém a estrutura (N) com a dimensão fractal (D) é dada por

$$N \sim \varepsilon^{-D} \quad (4.2)$$

Logo a dimensão fractal é dada por

$$D = -\lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{\ln(N_\varepsilon)}{\ln(\varepsilon)} \quad (4.3)$$

Na prática, o procedimento consiste em definir vários tamanhos de caixas e traçar um gráfico log-log de N x ε , obtendo assim a dimensão fractal através da inclinação da parte linear desse gráfico.

4.2 Massa Raio

O método Massa Raio consiste em sobrepor círculos circunscritos na estrutura e contar a quantidade de pontos da estrutura interiores a cada círculo. A quantidade de pontos (m_r) e o raio do círculo (r), relacionam-se da seguinte forma:

$$m_r \sim r^D \quad (4.4)$$

Logo a dimensão fractal pode ser obtida por:

$$D = \lim_{r \rightarrow 0} \frac{\ln(m_r)}{\ln(r)} \quad (4.5)$$

Traçando-se o gráfico log-log de m_r vs r , obtém-se a dimensão fractal através do coeficiente angular da sua porção linear. Para realizar esse cálculo, vários círculos podem ser utilizados, sorteando-se os centros aleatoriamente e a dimensão fractal é definida pela média dos resultados para cada centro.

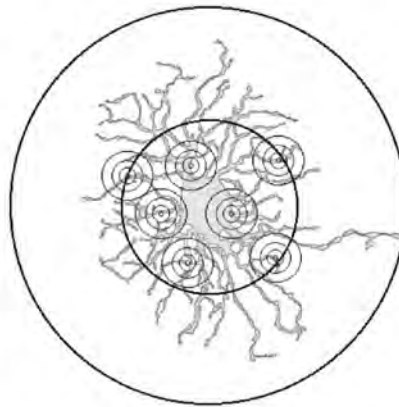


Figura 4.1: Método Massa Raio com sobreposição de círculos.

Na figura 4.2 encontra-se a determinação da dimensão fractal, pelo método Massa Raio para estruturas geradas pelo modelo DBM descrito anteriormente. O método massa raio é adequado para estruturas que possuem uma simetria global circular ou esférica. Se esse não for o caso, os valores da dimensão fractal que ele fornece são muito menos acurados do que aqueles calculados via método da contagem de caixas.

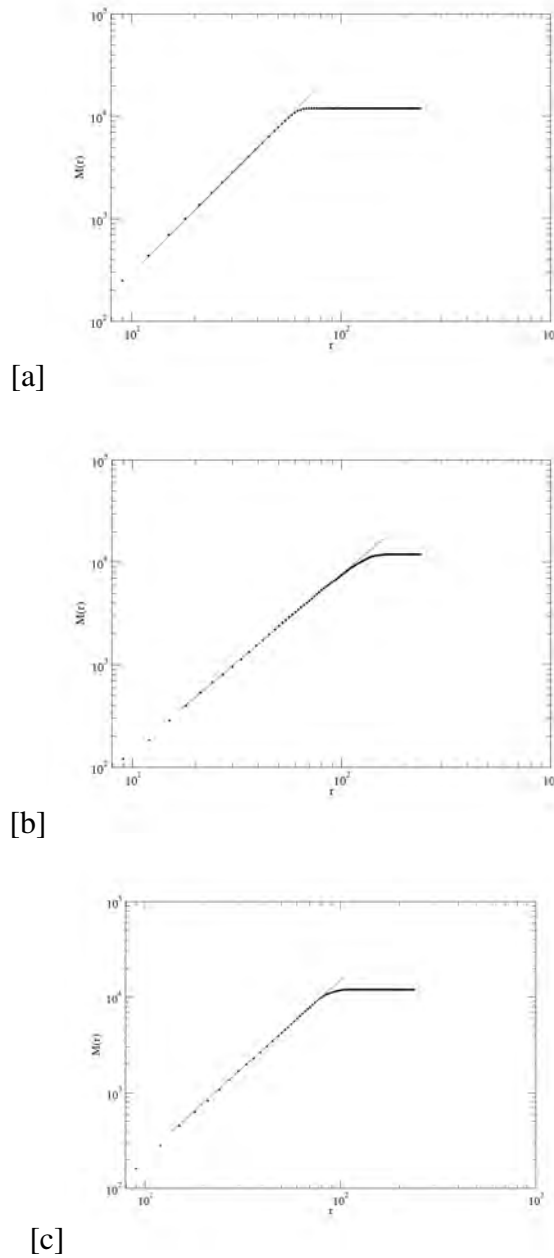


Figura 4.2: Gráfico log x log para calcular a dimensão fractal (D) pelo método Massa Raio das estruturas DBM apresentadas na 3.9.[a] $\eta = 0.0$, $D=2.0$, [b] $\eta = 0.5$, $D=1.88$, [c] $\eta = 1.0$, $D=1.74$

Capítulo 5

Motivação biológica

Processos de crescimento de várias estruturas ramificadas presentes no organismo animal respeitam regras muito parecidas, mesmo possuindo naturezas aparentemente distintas. Estudos encontrados na literatura mostram que as características morfológicas dessas estruturas definem-se pela mesma natureza de troca de informações das células com o meio, onde as singularidades de cada uma são frutos do processo de estímulo-resposta de cada estrutura com seu meio específico. Analisaremos dois desses processos que, a primeira vista, são completamente distintos: a angiogênese tumoral e a neurogênese. Para melhor entendimento da formação de estruturas ramificadas é importante compreender como ocorre a migração celular e a importância desta nesses processos.

5.1 Migração celular

A migração celular é um processo fundamental no desenvolvimento animal e sua fisiologia. A capacidade de se mover das células é a chave para a compreensão da morfogênese de grande parte das estruturas biológicas e de várias doenças. Algumas células são capazes de migrar durante toda sua vida (como as células do sistema imune), mas a maioria das células que podem mover-se o fazem em um tempo específico de desenvolvimento ou em determinadas situações específicas [19]. Migração celular é resultado de vários comportamentos interdependentes: repetidas protusões geradas por conformações do citoesqueleto celular, polarizações, formação de contato adesivo, retrações e contração celular. Essa migração ocorre por uma troca de informações do meio intracelular com o meio externo.

Células podem migrar sozinhas ou coletivamente. A migração coletiva (de interesse do presente trabalho) ocorre em vários contextos: vascularização, tecidos epiteliais, for-

mação de crista neural, néfrons, estrutura alveolar, entre outros (figura 5.1). Esse tipo de migração caracteriza-se por possuir, em geral, células (ou estruturas) guia (figura 5.2), que são células com características específicas de locomoção e matêm contato com as demais células conduzindo-as, possibilitando assim a formação de estruturas extremamente elaboradas [19].

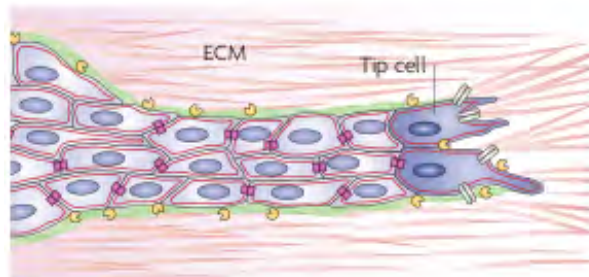


Figura 5.1: Esquema de uma migração coletiva conduzida por uma célula guia. *Figura retirada da ref. [20]*

Dois fatores principais que induzem e conduzem a migração celular são os chamados fatores de crescimento solúveis (FC) e a interação com moléculas presas à matriz extracelular (MEC) [24]. Sinais guias do meio criam “dicas” para direcionar a célula ao alvo. Em uma análise visual simples já é possível perceber que os sinais guias afetam a formação e o direcionamento das protusões celulares (Ver Fig. 5.3) [25].

O processo de migração é de grande complexidade. Em resposta aos sinais guias as células apresentam pequenas protusões, que são resultado de polimerização de filamentos de actina dentro da membrana. E essas protusões são chamadas lamelopódios e filopódios. Tais estruturas são estabilizadas pela formação de complexos adesivos no substrato da matriz extracelular, que são um conjunto de receptores de integrinas, filamentos de actinas e proteínas associadas à membrana plasmática [27]. Detalhes desse processo com dependência temporal e espacial são ainda pouco conhecidos. No entanto, há um consenso de que a sinalização dual por FCs e MECs e a forte correlação entre eles determina o nível ótimo de uma dada resposta celular. Assim, focaremos nossa análise em uma escala no nível celular, visto que podemos tratar a rede complexa de interações e as dinâmicas a nível sub-celular considerando seus fenômenos emergentes.

Estímulos por FCs ¹ são denominados quimiotaxia. FCs são proteínas ou hormônios capazes de estimular crescimento, migração e diferenciação celular. Tratam-se, em grande parte, de substâncias difusivas que permitem interação a longo alcance. Geralmente secre-

¹FCs podem ser difusivos ou matriz-ligante, mas no presente texto sempre que tratarmos de FCs estaremos nos referindo aos FCs difusivos visto que os outros podem ser inclusos na interação com a MEC.

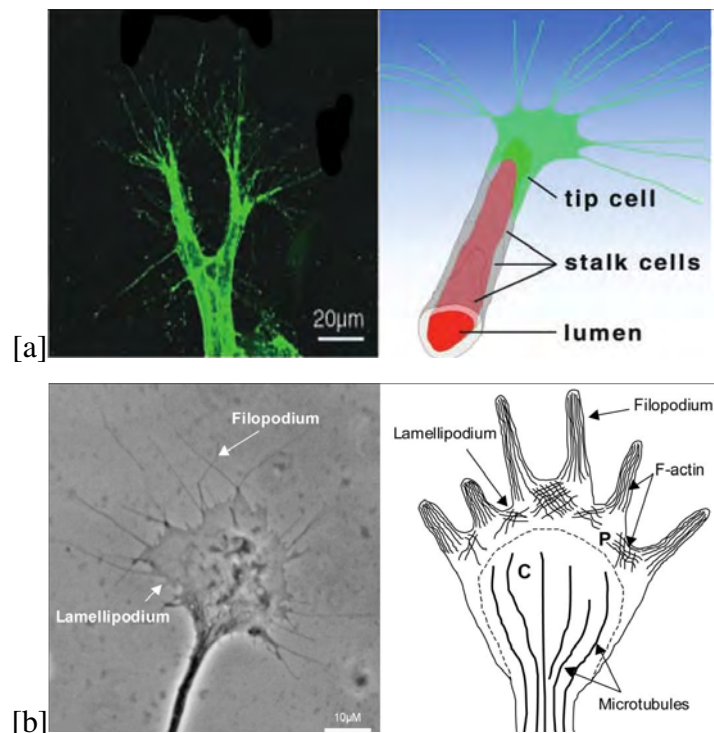


Figura 5.2: Estruturas Guias. [a] Célula guia endotelial (*tip cell*), [b] Cone de Crescimento presentes nos neuritos. É possível observar a semelhança entre as duas estruturas, que não só possuem a mesma função, como o mecanismo de locomoção (protusões de filopódios) é o mesmo. *Fig. de [21] e [22], respectivamente.*

tados pelas células ou estruturas alvo, são seletivas a determinados receptores das células, tornando assim praticamente específica a sinalização. Além da ação direta na célula, os FCs atuam na MEC estimulando receptores dessa que auxiliam a guiar a migração celular, assim os FCs podem ser considerados como "combustíveis" que incentivam a migração. [27].

Haptotaxia é a denominação dada a todo processo de interação com a matriz extracelular ou substrato, ou seja, a interação de curto alcance. As MECs são compostas principalmente por proteínas estruturais, como colágenos e elastinas, proteínas especializadas, como fibrilina, fibronectina e proteoglicanos que, entre outras funções, são responsáveis pela rigidez da matriz (resistência a invasão celular), controle de enzimas pro e anti proteases, além de permitir que outras proteínas e fatores de crescimento se liguem na membrana. Proteases são proteínas de grande importância tanto no desenvolvimento natural como em patologias (Alzheimer, câncer, etc) que são responsáveis, basicamente, pela degradação da matriz.

A não-homogeneidade das MECs afeta fortemente a migração celular. As diversas e complexas interações célula-MEC podem ser resumidas em dois comportamentos: adesão celular e invasão do tecido. Existem também substância que se fixam na MEC e “potencia-

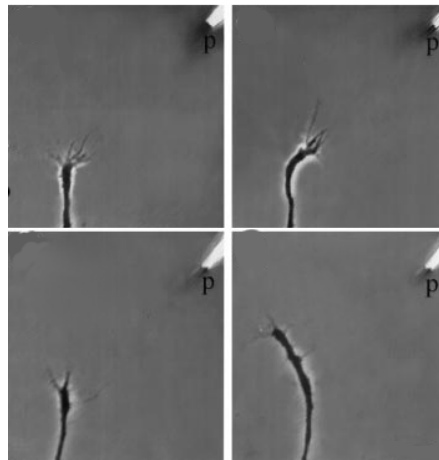


Figura 5.3: Um neurito sendo guiado por uma substância difusiva liberada pela pipeta (p). As figuras da direita são antes da exposição e da esquerda após a exposição. Em ambas as imagens a substância difusiva é a mesma, mas age em ambientes com características distintas o que faz com que na superior atue como substância atrativa e na inferior como repulsiva. *Figura da ref. [26]*

lizam” a ação dos quimioatratores, essas substâncias são chamadas quimiocinéticas.

Com base nesses comportamentos emergentes de microinterações e dinâmica sub-celular é possível compreender o mecanismo de migração de uma célula animal em um organismo vivo e em experimentos *in vitro*, auxiliando na melhor compreensão da formação de estruturas, tal como nos estudos de várias doenças.

5.2 Angiogênese tumoral

Câncer é o nome dado a um conjunto de doenças que se caracterizam por proliferação excessiva de células geneticamente danificadas e invasão de tecidos normais.

Algumas células do organismo animal são renovadas várias vezes durante toda a vida. Algumas células ao se dividirem (mitose) podem apresentar o DNA danificado. No entanto, o próprio organismo possui diversos mecanismos para eliminar essas células (como apoptose e intervenção do sistema imune). Quando esses mecanismos de reparo falham essas células podem se transformar em tumores que podem ser benignos, formando agregados isolados, ou malignos (invasivos), que invadem tecidos saudáveis. Uma célula danificada sofre sucessivas mutações antes de se transformar em célula maligna, portanto, o processo que vai desde o surgimento de uma célula danificada até a detecção do câncer pode demorar décadas. Detalhes desse processo podem ser encontrados na referência [28].

Células tumorais, além de possuir proliferação excessiva, são caracterizadas por ad-

quirir formas e orientações anormais. Tumores são classificados de acordo com a localização, que influencia também na sua forma. Cada tipo de tumor pode ter um número diferente de fases de progressão. Contudo um tumor até a fase *in situ* (ver a figura 5.4) absorve nutrientes pelas bordas o que torna seu crescimento limitado. Para sobreviver à escassez de nutrientes o tumor tende a criar três camadas: um núcleo necrosado, uma camada quiescente e uma camada mais externa ativa. Segundo Folkman um carcinoma (tumor de origem epitelial mais comumente encontrado, localizado em superfícies externas ou cavidades), resiste a um estado de falta de nutrientes com essa conformação morfológica até dois milímetros de diâmetro por meses ou até anos [23].

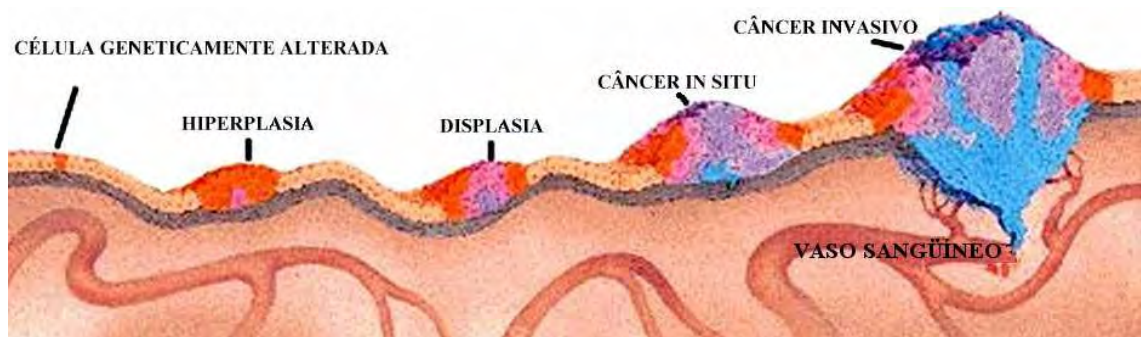


Figura 5.4: Progressão de um carcinoma. Até a fase *in situ* o tumor cresce sem alterar a estrutura vascular. A partir de uma certa dimensão ($\sim 2mm$) ele é vascularizado, seu crescimento torna-se ilimitado e as células tumorais podem alcançar qualquer região do organismo. Após a vascularização o tumor é considerado maligno. Fig. de [30]

A solução para o tumor sair desse estado de dormência e continuar seu desenvolvimento é induzir o crescimento de novos vasos sanguíneos. Essa nova vascularização é conhecida como angiogênese ou neovasculogênese. A angiogênese tem um efeito duplo sobre o crescimento tumoral: a perfusão fornece nutrientes e oxigênio de forma ilimitada e as células endoteliais recém formadas estimulam o crescimento de células tumorais adjacentes por meio da secreção de fatores de crescimento. A angiogênese é um requisito não só para o crescimento tumoral, mas também para a metástase (invasão e colonização de tecidos distantes). Sem acesso à vascularização, as células tumorais não podem disseminar para tecidos distantes, o que impossibilita o surgimento de tumores secundários em outras regiões do organismo.

Em tecidos saudáveis de indivíduos adultos a vascularização não tende a variar, salvo em situações especiais de curta duração, tal como o ciclo menstrual feminino. No entanto várias situações patológicas, além do câncer, podem requisitar a formação de novos vasos, como isquemias, cortes teciduais, entre outros.

Tanto o tumor quanto o tecido hospedeiro produzem várias substâncias pró e anti-

angiogênicas. Vários FCs atuam na angiogênese do câncer, mas os considerados mais importantes, são a família de VEGFs (fatores de crescimento vascular endotelial). Existem várias formas de VEGFs, que são produzidos principalmente em situações de hipóxia (baixo teor de oxigênio) da célula ou deficiência de glicose [30]. Os VEGFs podem ser difusivos, ou ligar-se a matriz extracelular. O VEGF-A, difusivo, tem um papel central tanto na vasculogênese quanto na angiogênese. Esse último, tratado apenas por VEGF, será nosso arquétipo de substância difusiva ativadora de crescimento na modelagem do processo da angiogênese.

O componente essencial do vaso sanguíneo são as células endoteliais. Todo vaso, de artéria a pequenos capilares, é constituído de uma monocamada de células endoteliais arranjadas em um mosaico em torno a um lúmen por onde passa o sangue. Externo ao tecido endotelial existe uma membrana basal que separa as células endoteliais do tecido conectivo (ver fig.5.5). Essa membrana ajuda a manter o tecido endotelial em estado quiescente. O que não ocorre no caso de vasos tumorais que podem crescer continuamente além de serem mais permeáveis, devido à produção aumentada de VEGF, que os vasos normais [28].

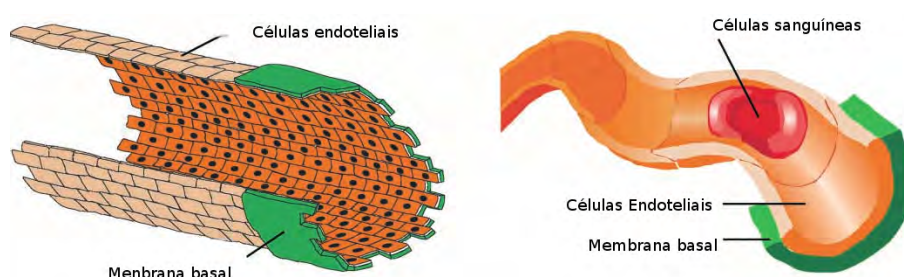


Figura 5.5: Representação esquemática de um vaso sanguíneo. A estrutura básica consiste nas células endoteliais justapostas, envoltas pela membrana basal. *Fig. adaptada da ref. [29]*

A vasculogênese diferencia-se da angiogênese pelo processo de formação. A primeira ocorre por diferenciação de células embrionárias em células endoteliais e sua subsequentemente organização dentro da rede vascular primitiva. Já a segunda ocorre pelo brotamento de veias já existentes. O VEGF estimula a mobilização de células precursoras de células endoteliais (EPCs ²), e intensifica a proliferação e diferenciação dessas células no local da angiogênese. Então, as células guias endoteliais degradam a membrana basal do vaso progenitor por metaproteinases e migram em direção ao gradiente de VEGF conduzindo o crescimento endotelial (ver figura 5.6). Assim a angiogênese estende a circulação para regiões com falta de nutrientes pelo controle da migração e proliferação das células endoteliais

Em uma análise geral pode-se definir o processo de brotamento da seguinte forma:

²EPCs são células tronco, semelhantes aos angioblastos, armazenadas na medula óssea de um adulto.

as células endoteliais recebem estímulo do VEGF e entram em atividade secretando enzimas meteloproteolíticas (MMPs) que degradam inicialmente a membrana basal e, depois do extravasamento, a MEC, criando um caminho para se moverem. Essa degradação deve ser balanceada pois uma degradação excessiva impede a formação do tubo vascular pois esse depende, além dos estímulos, da adesão célula substrato. Esse processo é possível por causa de várias proteínas presentes na matriz celular ligadas a estabilização e desestabilização do contato matriz-célula e de proteinases e meteloproteínases que são importantes para o remodelamento da matriz. Importante lembrar que a construção dos vasos se faz por migração coletiva de células endoteliais, ou seja, todo brotamento possui células guias (fig. 5.2 [a]) que, migram e proliferam-se, seguidas pelas demais células, permitindo a formação dessas estruturas ramificadas (ver fig. 5.7) [29].

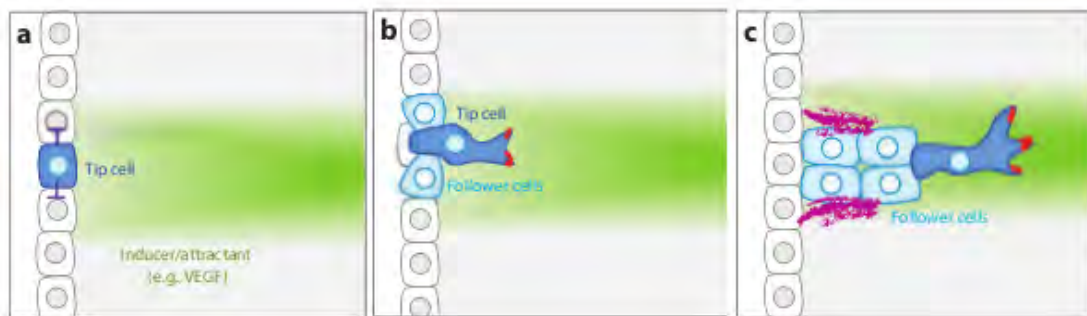


Figura 5.6: Esquema do processo de brotamento em um vaso maduro. *Figura adaptada de ref. [19]*

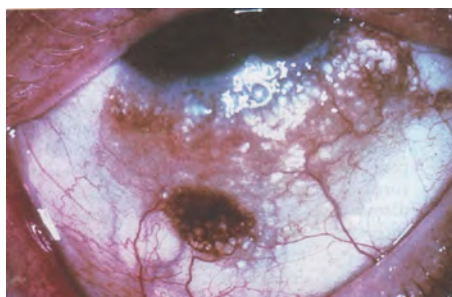


Figura 5.7: Angiogênese em uma lesão conjuntiva. *Figura de ref. [28]*

5.3 Neurogênese

A formação dos nervos e crista neural se dá por um processo de migração parecida com a migração coletiva, no entanto cada célula neural é independente, de forma que a co-

nexão é feita por sinalizações específicas. O surpreendente está no fato de que, se descermos uma escala e analisarmos cada neurônio em si, encontramos a mesma natureza dinâmica da migração coletiva para o crescimento do axônio (responsável por “arrastar” o corpo celular e criar as estruturas neurais) e dos dendritos.

O cérebro animal possui grande diversidade de formas de células neurais. Apesar de acreditar-se que a forma neural ocupa um papel importante no funcionamento do neurônio, a morfologia neural ainda é pouco explorada na literatura. Vamos tentar compreender como se dá essa variedade de formas, de acordo com o desenvolvimento embrionário e principalmente pela influência do meio em que ocorre a diferenciação.

Na embriogênese, logo após a formação do tubo neural, grandes transformações morfogênicas ocorrem devido, em grande parte, à intensa atividade proliferativa por que passam as células precursoras dos neurônios e dos gliócitos ³. Os precursores das células neuronais atravessam rapidamente as etapas do ciclo celular, e ao se dividirem, apenas uma das células filhas recomeça o ciclo celular, a outra migra para fora das proximidades do ventrículo. Desse modo, a parede do tubo neural, que inicialmente é formada por uma única camada de células, passa a ser constituída por várias camadas que, finalmente, originarão as regiões laminadas do sistema nervoso, como acontece com o córtex cerebral. As células também formam aglomerados que vão dar origem aos núcleos do sistema nervoso. Algumas células que migram não iniciam o processo de diferenciação, permanecendo quiescentes até a fase adulta do organismo, sendo capazes de reiniciar a proliferação. Esse fato contradiz o mito de que o sistema nervoso não apresenta capacidade regenerativa. De fato, a maioria dos neurônios adultos são incapazes de proliferar. Mas foi constatado, nos últimos anos, que o Sistema Nervoso Central de animais adultos apresenta células-tronco ⁴ em alguns locais estratégicos, capazes de proliferar e gerar novos neurônios [31] [32].

Logo que a célula precursora de um neurônio para de se dividir, inicia-se um movimento migratório que leva o neurônio juvenil ao local onde ele se estabelecerá. Isso ocorre com as células de todo sistema nervoso: Sistema Nervoso Central (cérebro e medula) ou Crista Neural (estrutura que dará origem ao sistema nervoso periférico).

Assim que os neurônios estabelecem seus locais definitivos inicia-se a diferenciação. A diferenciação nada mais é que a expressão de fenótipos neuronais com relação a aspectos morfológicos, bioquímicos e funcionais. No plano morfológico, o corpo celular cresce em

³Os gliócitos (glia ou neuroglia), juntamente com os neurônios, compõem a estrutura fundamental do sistema nervoso. São numerosos e apresentam diferentes tipos morfológicos com funções variadas, tais como atuar na orientação do crescimento dos neurônios, na comunicação entre eles, na defesa e reconhecimento de situações patológicas, entre outras funções. Mais detalhes ver [33]

⁴Células troncos são células capazes de se replicar e diferenciar em várias células distintas. Ao contrário das células-tronco embrionárias, uma células-tronco adulta tem plasticidade limitada. Elas estão localizadas na medula óssea ou em lugares estratégicos chamados nichos [28].

volume e vão se formando os neuritos, ramificações que partem do soma (ou corpo celular). Múltiplos caminhos de diferenciação podem ser possíveis devido à interação entre as células. Alguns grupos de células diferenciadas passam a secretar moléculas difusivas que atuam a distância sobre outro grupo de células levando-as a modificar seus padrões de expressão genética. O resultado disso é que esse segundo grupo de células passa a se diferenciar por um caminho distinto do primeiro. Assim, à medida que o número de células vai aumentando, o número e a diversidade de interações celulares e o número de morfologias também cresce.

O que diferencia os neurônios das outras células é sua morfologia adaptada para o processamento de informações e a variedade dos seus tipos morfológicos. Na figura 5.8 podem ser observados alguns tipos.



Figura 5.8: Alguns tipos de neurônios. *Fig. adaptada de [33]*

A estrutura ramificada que parte do soma é denominada dendrito. Os dendritos são responsáveis por receber informações provenientes dos demais neurônios. Essas informações são decodificadas pela célula e reenviadas a outras células através do axônio, neurito mais longo que ramifica-se pouco durante o trajeto e muito na sua porção terminal. Essa estrutura é única em cada neurônio. O fato de o axônio ser responsável pela emissão de sinais da célula para vários outros neurônios do circuito justifica a necessidade da intensa ramificação terminal, também conhecida como telodendro (do grego, significa "ramos distantes"), como pode ser observada na fig. 5.9. Através do axônio e dos dendritos (que juntos são denominados neuritos), os neurônios se associam em circuitos, ou redes neurais, formando complexas estruturas de informações [33].

Tanto o axônio quanto os dendritos crescem conduzidos por estruturas guias que, tal como as células guias da migração coletiva, além de alta mobilidade, possuem sensores para detectar moléculas sinalizadoras de direção. Essas estruturas são chamadas cones de crescimento. O cone de crescimento é uma estrutura altamente dinâmica que interpreta sinais guias conectando os neuritos a um caminho. Os cones também são compostos por fi-

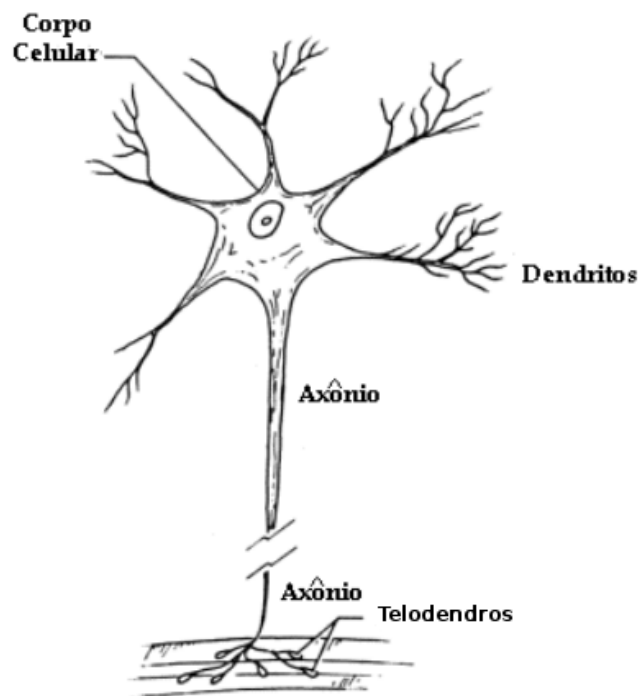


Figura 5.9: Estrutura de um neurônio. Fig. de[34]

lamentos de actina que preenchem a região peripical, chamados lamelopódios e por pacotes de actina que projetam-se para fora, formando uma borda ramificada, denominados filopódios. A combinação dessas actinas com os microtúbulos, outros filamentos intermediários e proteínas consideradas motores moleculares constroem a dinâmica celular do citoesqueleto. Essa estrutura do citoesqueleto possibilita ao neurônio, além de sua integridade estrutural, habilidade para gerar forças para migração e variação morfológica. Os cones de crescimento são capazes de detectar um número muito pequeno de moléculas sinalizadoras e discriminar direções com base em uma única molécula. Salvo algumas diferenças nos receptores de superfície e alguns detalhes na composição do citoesqueleto, pode-se considerar os cones do axônio e dos dendritos como estruturas similares. É importante resaltar que os cones de crescimento são autônomos e contêm toda a maquinaria necessária para trocar informações com o meio. Eles são capazes de se mover, *in vitro* ou *in vivo*, mesmo estando isolados, desconectados do soma. A estrutura interna do cone de crescimento pode ser observada na figura 5.2.

Enquanto o corpo celular (também conhecido como sômato ou soma) de neurônios maduros são estacionários, seus neuritos são altamente móveis devido a atividade dos cones. No início do desenvolvimento neuronal o processo de brotamento e crescimento dos neurí-

tos alcança distâncias curtas e, ainda nesta fase do crescimento, o processo é similar para dendritos e axônios.

A migração e o crescimento neural são guiados por vários fatores de repulsão ou atração que agem sobre os cones de crescimento. Através de seus receptores os cones de crescimento reconhecem pistas existentes no meio que guiam seu caminho: avançam, desviam, retraem (ver fig. 5.10). Um cone que emerge de um neurônio se defronta com a MEC, que possui composição variada, contendo moléculas adesivas, promotoras ou mesmo inibidoras do crescimento. As moléculas de adesão dividem-se em duas grandes famílias: as caderinas, glicoproteínas cuja ação depende da concentração de cálcio intracelular, e as imunoglobinas, proteínas semelhantes aos anticorpos do sistema imune. Além das moléculas de adesão existem moléculas presentes na MEC que afastam o cone de crescimento, chamadas de moléculas de repulsão por contato. Em seu desenvolvimento o neurônio não só interage com a matriz, mas também modifica-a, secretando proteinases capazes de degrada-la. Essa é a resposta do cone às barreiras que dificultam o crescimento presentes na matriz [35]. Existe ainda um outro grupo de substâncias guias que atuam à longa distância. Esses guias são geralmente secretados pelas células situadas próximas ao trajeto do cone, criando assim um gradiente atrator ou repulsor. É importante salientar que uma mesma molécula sinalizadora pode ter ações distintas sobre diferentes células, dependendo dos receptores presentes na membrana do cone [33].

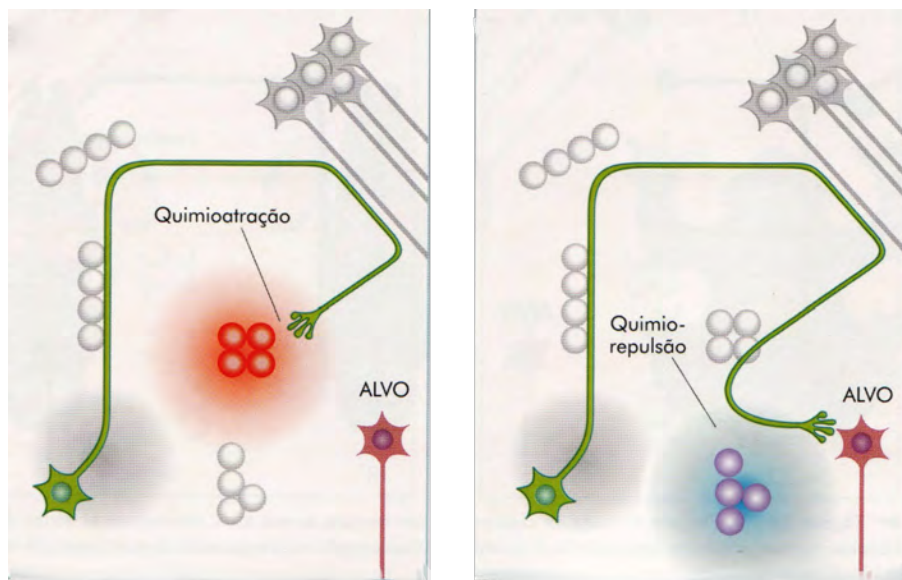


Figura 5.10: Potenciais químicos difusivos guiam o crescimento dos neuritos. Eles podem ser [a] atrativos ou [b] repulsivos Fig. [33]

Note que, em acordo com nossa hipótese, a estrutura básica do desenvolvimento dos processos de angiogênese e neurogênese que acabamos de descrever é muito parecida. Desde

possuir estruturas guias (cone de crescimento e célula guia) como condutores independentes, até o fato de cada processo ser controlado por sinais difusivos e pela interação com a matriz extracelular. Podemos generalizar esses processos como:

- Estruturas guias identificam moléculas difusivas ou outros potenciais (potenciais elétricos, por exemplo) que atuam de forma quimiotática.
- Elas respondem a esses estímulos tentando avançar pela MEC, degradando-a e interagindo com as moléculas ali presentes.
- Como resultado dessas interações ocorre a migração/extensão dirigida pela concentração dos sinais difusivos ou a retração de ramificações ou a proliferação das células ou estruturas guias.

Com base nessa visão construiremos nosso modelo. Considerando que se trata de propor mecanismos formados de estruturas fractais complexas com base em informações locais, é completamente viável o uso de Autômatos Celulares, modelagem apresentada no capítulo 3.

Capítulo 6

Modelo de crescimento para estruturas ramificadas de natureza biológica

Nosso modelo para o crescimento de estruturas ramificadas foi baseado nos processos comuns envolvidos na angiogênese e neurogênese. A dinâmica de crescimento dessas estruturas pode ser descrita, como discutido no capítulo anterior, por duas formas de interações envolvidas na migração celular: a quimiotaxia e a haptotaxia. Como essas interações são gerais para toda migração celular, estimamos que o modelo possa ser utilizado em outros processos de crescimento ramificado. A modelagem é feita em autômatos celulares, em uma rede quadrada $L \times L$ e envolve múltiplas escalas. Representa-se a escala subcelular e molecular por comportamentos emergentes, no entanto, o modelo é descrito em uma escala mesoscópica (nível celular) e macroscópica (difusão no tecido). O caráter de múltiplas escalas aparece também no tempo e se caracteriza de acordo com cada aplicação. A estrutura em crescimento compõe-se basicamente de dois tipos de sub-estruturas: uma guia, que responde aos estímulos (representando cones de crescimento ou células guias) e outra que simplesmente prolifera, ou retrai "seguindo" a primeira (células endoteliais ou neuritos). As estruturas-guias respondem a um potencial difusivo (atrativo ou repulsivo) e interagem com a matriz extracelular, como será detalhado a seguir. As seções posteriores serão dedicadas à aplicação do modelo à angiogênese tumoral e neurogênese.

Devido à dificuldade de obter dados biológicos quantitativos, nossas análises, até o presente momento, estão restritas a uma observação qualitativa. Esse fato não é limitante para qualificação do modelo, visto que este trata da morfologia das estruturas e esta é primeiramente avaliada em seu aspecto visual.

6.1 O modelo

6.1.1 Quimiotaxia

Como descrito no capítulo anterior, a quimiotaxia define-se como a resposta às substâncias difusivas ou outros potenciais. Esses potenciais, em geral, possuem fontes que dependem de algum estímulo para a produção de agentes quimiotáticos. Porém, em alguns casos, a produção nas fontes pode ser considerada fixa, devido ao seu tempo de variação ser longo, ou a variação ser mínima, se comparado com tempo de crescimento da estrutura. A variação do campo potencial é definida de acordo com a seguinte equação de difusão:

$$\frac{\partial V(r)}{\partial t} = D\nabla^2 V(r) - \zeta V(r) + \beta \quad (6.1)$$

em que β é a fonte, ζ é o consumo, D o coeficiente de difusão, r a posição na rede e t o tempo. Se tomarmos:

$$t = \frac{Dt}{\Delta^2} \quad \zeta' = \frac{\zeta \Delta^2}{\zeta_o D} \quad \beta' = \frac{\beta \Delta^2}{\beta_o D} \quad r' = \frac{r}{\Delta} \quad (6.2)$$

e $\Delta = 1$ por definição (refere-se a distância entre os sítios), temos a equação de difusão adimensional:

$$\frac{\partial V(r)}{\partial t'} = \nabla'^2 V(r) - \zeta' V(r) + \beta' \quad (6.3)$$

É importante ressaltar que os parâmetros ζ' e β' são inversamente proporcionais ao coeficiente de difusão. Para facilitar a leitura abriremos mão dos apóstrofos nas equações adiante. Usando-se o método de elementos finitos e, pelo critério de convergência $\frac{\Delta t}{\Delta^2} \leq \frac{1}{4}$, tomando-se $\frac{\Delta t}{\Delta^2} = \frac{1}{4}$, essa equação pode ser discretizada gerando a seguinte relação:

$$V_{t+1}(i, j) - V_t(i, j) = \frac{1}{4} (V_t(i, j+1) + V_t(i+1, j) + V_t(i, j-1) + V_t(i-1, j) - 4V_t(i, j) - \zeta V_t(i, j) + \beta) \quad (6.4)$$

ζ e β podem ser redimensionados absorvendo o fator 1/4. Combinando-se os métodos de iteração de Newton e Gauss-Seidel temos uma convergência mais rápida, otimizando o tempo

de simulação. Assim, o potencial em cada ponto pode ser dado pela equação (6.5):

$$V_{t+1}(i, j) = V_t(i, j) - \frac{\varepsilon_{i,j}^t}{\partial \varepsilon_{i,j}^t / \partial V_t(i, j)} \quad (6.5)$$

$$\varepsilon_{i,j}^t = \frac{1}{4}(V_t(i, j+1) + V_t(i+1, j) + V_{t+1}(i, j-1) + V_{t+1}(i-1, j) - 4V(i, j)) - \zeta V_t(i, j) + \beta$$

O potencial difusivo atua nas estruturas-guias, principalmente, de forma indireta. Sua concentração local (na vizinhança da estrutura-guia) é associada à uma probabilidade ($P(i,j)$) de ação positiva (crescimento ou bifurcação). Essa probabilidade é comparada à um número aleatório γ . Se $P > \gamma$ a guia aceita o estímulo para realizar a ação. A probabilidade de ação positiva é dada por:

$$P(i, j) = 1 - e^{-\left(\frac{\Delta V(i,j)}{\theta_{prob}}\right)^2} \quad (6.6)$$

Em que ΔV é a diferença entre o potencial do sítio vizinho e o potencial na estrutura-guia (definida no modelo como nulo).

Com isso temos regras que asseguram um crescimento direcionado para o maior gradiente de potencial. Além de fontes atrativas pode-se criar também fontes de inibidores de crescimento (ou substâncias repulsivas). Basta inserir uma fonte em que o potencial é nulo sobre ela, ou seja, um sumidouro. Os sumidouros funcionam como fontes negativas de potencial. Biologicamente podemos associar nosso potencial à emergência de todos os fatores com características difusivas que atuam na região, uma sobreposição de vários campos atrativos e repulsivos. As fontes e sumidouros criam uma “topografia” do potencial que direciona o crescimento (ver figura 6.1). Na figura 6.2 podem ser observados ambos os comportamentos (atração e repulsão).

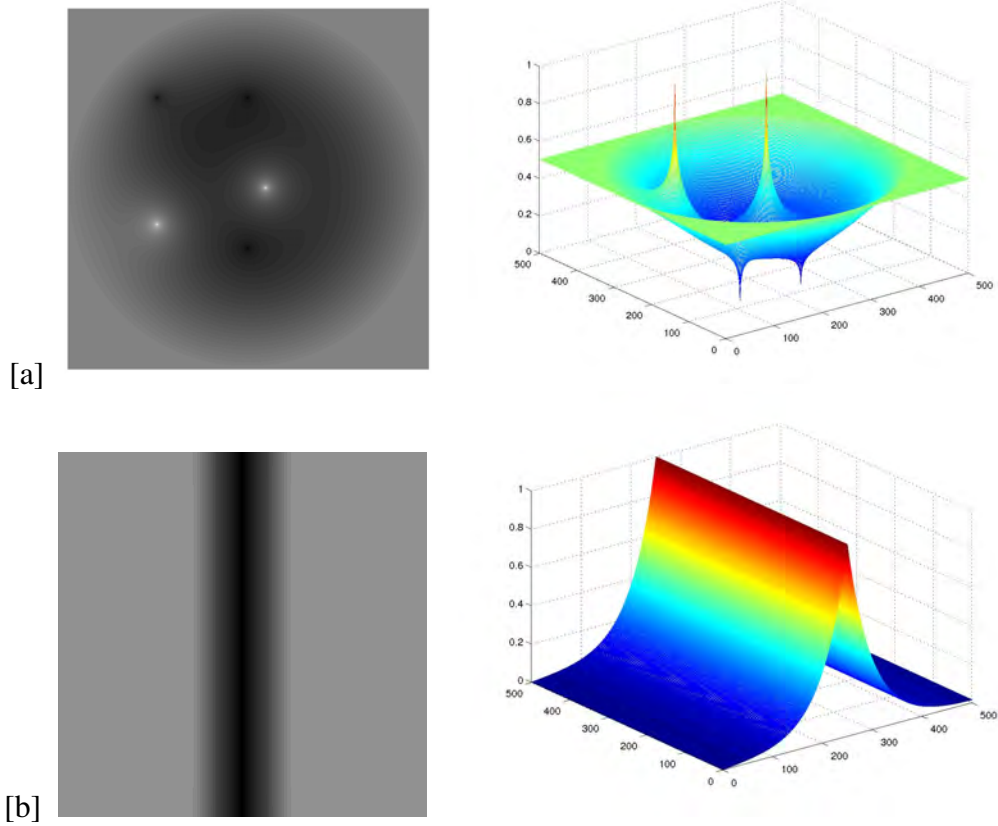


Figura 6.1: A figura [a] apresenta um campo de potencial com fontes pontuais. As regiões mais escuras são fontes atrativas e as claras repulsivas. A figura [b] apresenta uma linha de fonte atrativa com sumidouros nas bordas. As figuras à direita são os mesmos potenciais representados em 3D.

6.1.2 Haptotaxia

A Matriz Extra-Celular (MEC) é representada no modelo por uma densidade local que varia de 1 (densidade máxima) a 0 (densidade mínima). Essa densidade não representa somente a densidade propriamente dita da matriz (polissacarídeos, glicoproteínas), refere-se também a concentração das moléculas presentes nesta que atuam na migração. Em suma, a densidade apresentada no modelo é a emergência de todos os fatores de interação local. Com essas considerações entendemos que as MEC's não são homogêneas. A distribuição de densidade no modelo ainda é um ponto em estudo. Uma discussão um pouco mais aprofundada pode ser encontrada no apêndice A. Para as simulações aqui analisadas usamos simplesmente uma distribuição gaussiana de densidades locais variando em um dado intervalo (MEC_{min} , MEC_{max}).

Como foi visto no capítulo anterior, ao receber estímulo de crescimento as estruturas-guias degradam a MEC. Essa degradação é proporcional à concentração local das quimiota-

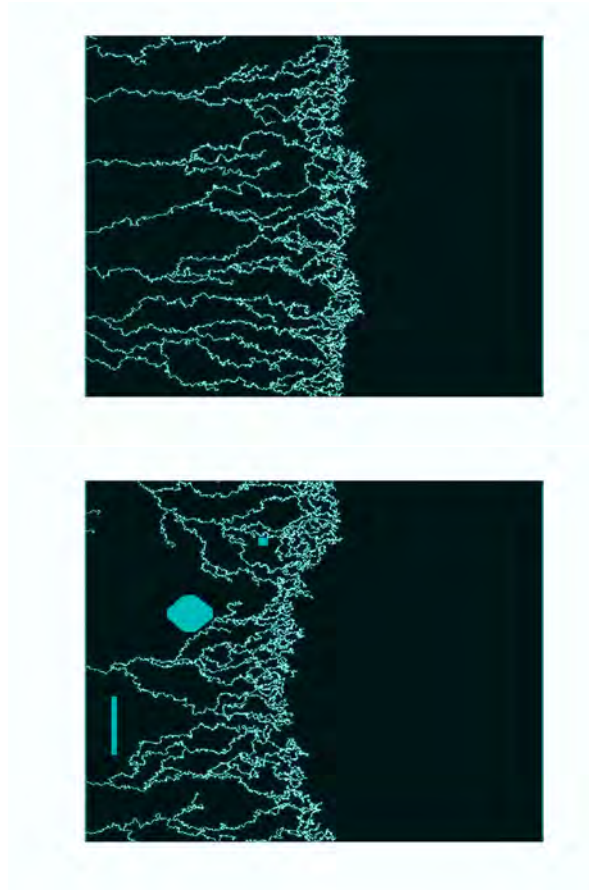


Figura 6.2: A figura superior mostra um crescimento com uma linha de fonte na margem da direita. A figura inferior apresenta um crescimento com os mesmos parâmetros e a mesma fonte, mas com a presença de fontes repulsoras difusivas. Rede 500 x 500

xinas (Fatores de crescimento: VEGF, NGF, etc). A distribuição das substâncias de degradação (metaloproteinases, collagenases, etc) é tal que sua concentração decai exponencialmente com a distância da estrutura-guia e com um alcance máximo (r_{max}) definido de acordo com a estrutura estudada, como pode ser observado na figura 6.3. A degradação segue a seguinte equação:

$$MEC_t(i, j) = MEC_{t-1}(i, j) e^{-\left(\frac{V_t(i_g, j_g)}{r_d \theta_d}\right)^2} a \quad (6.7)$$

$$r_d = \sqrt{(i - i_g)^2 + (j - j_g)^2} \quad (0 < r \leq r_{max})$$

em que $V(i_g, j_g)$ é a concentração de substâncias quimiotáticas na estrutura-guia, r a distância do sítio à esta e θ_d o parâmetro relacionado à resposta da estrutura-guia ao estímulo para produção das substâncias que vão degradar a matriz.

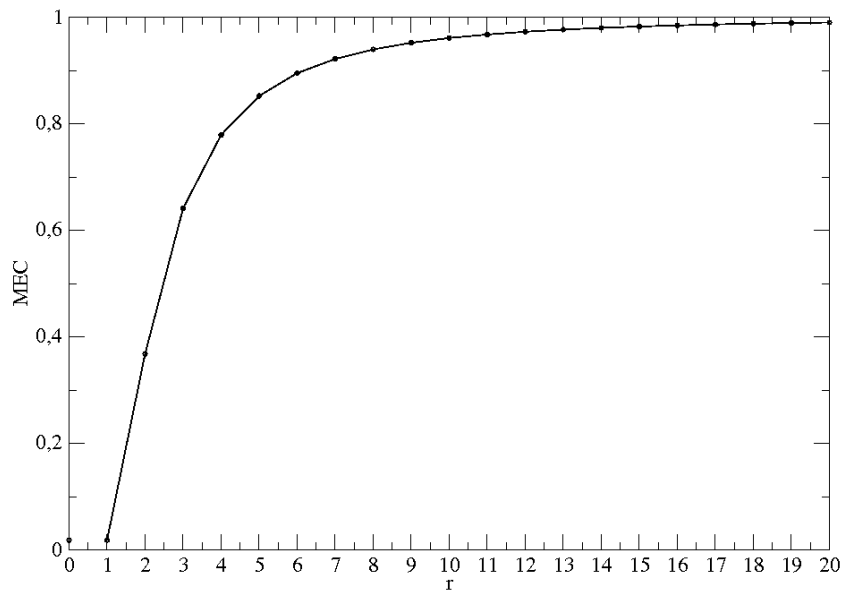


Figura 6.3: Atuação da degradação da MEC em função da distância da estrutura-guia para $MEC_i = 1$. Note que a densidade da MEC cresce exponencialmente com a distância, que implica que a degradação decai com essa forma.

A MEC se remodela para se adaptar à nova estrutura que se forma, não só admitindo a degradação, como recuperando suas características iniciais nas regiões onde a degradação não está mais ocorrendo, entorno a estrutura. A regeneração também ocorre em função da concentração de substâncias quimiotáticas (ver figura 6.4), de acordo com a seguinte equação:

$$MEC(i, j)_t = MEC(i, j)_{t-1} + |MEC_i(i, j) - MEC(i, j)_{t-1}| e^{-\left(\frac{V(i, j)}{\theta_r}\right)^2} \quad (6.8)$$

MEC_i é o valor inicial da MEC, antes da invasão da estrutura, e θ_r o parâmetro relacionado a capacidade da MEC de se recuperar. A recuperação ocorre somente onde não há a presença

de sítios ocupados ou primeiros vizinhos das estruturas-guias. Ou seja, onde a atividade de degradação não é mais intensa (ver figura 6.5).

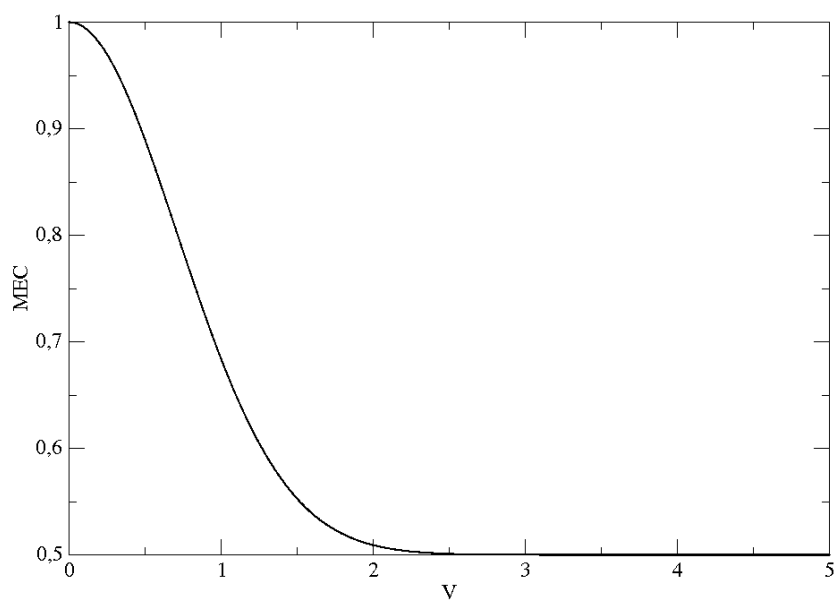


Figura 6.4: Recuperação da MEC em função do potencial local.

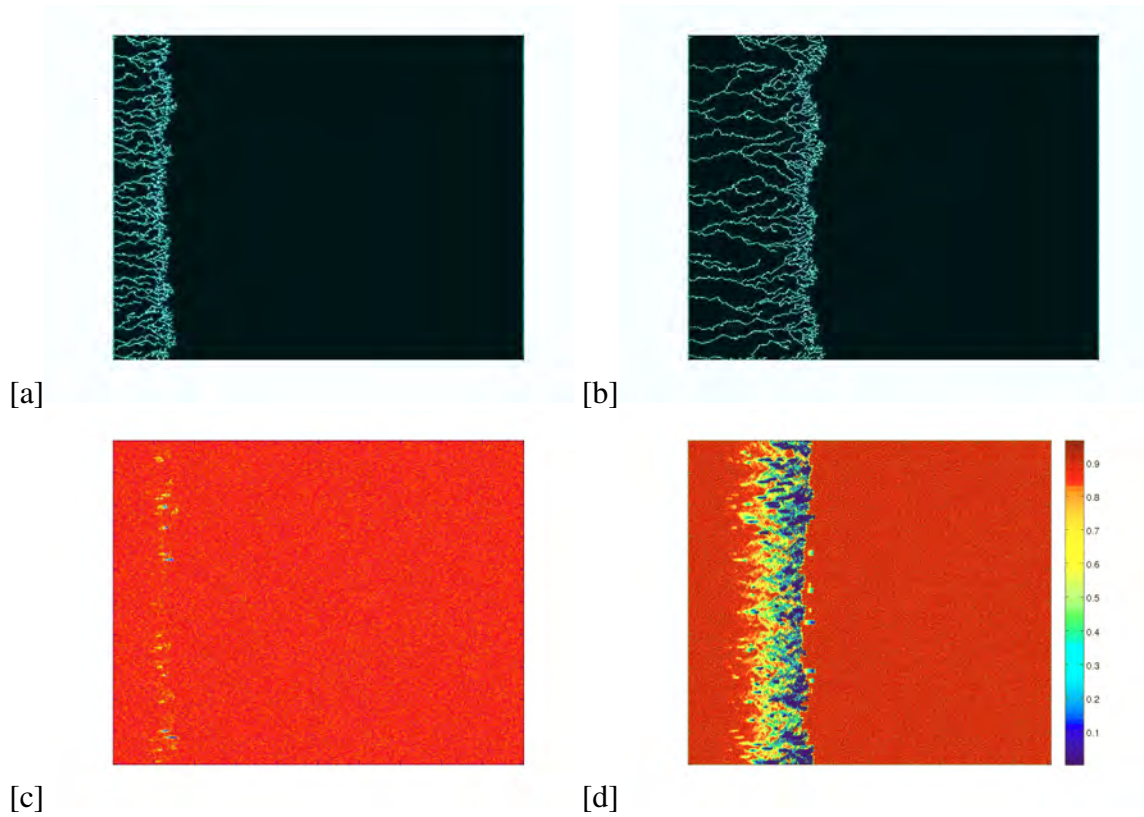


Figura 6.5: Estrutura crescendo em uma MEC inicialmente homogênea. A figura [a] e [b] apresentam a estrutura crescendo em tempos distintos submetida à uma linha de fonte na extremidade oposta. As figuras [c] e [d] é a representação da MEC referente às figuras [a] e [b] respectivamente. Note que na parte inferior da estrutura, onde a presença de estruturas-guia é menor, a matriz apresenta uma recuperação adaptando a nova estrutura). A escala de densidade pode ser observada à direita de [d].

Inibidores de ação local podem ser associados às equações de interação com a MEC. Uma forma de fazer isso é inserir um termo, localmente, no denominador da exponencial da equação (6.7). Esse termo age dificultando a degradação da MEC. Essa inibição matriz-ligante (alcance local) pode ser observada na figura 6.6.

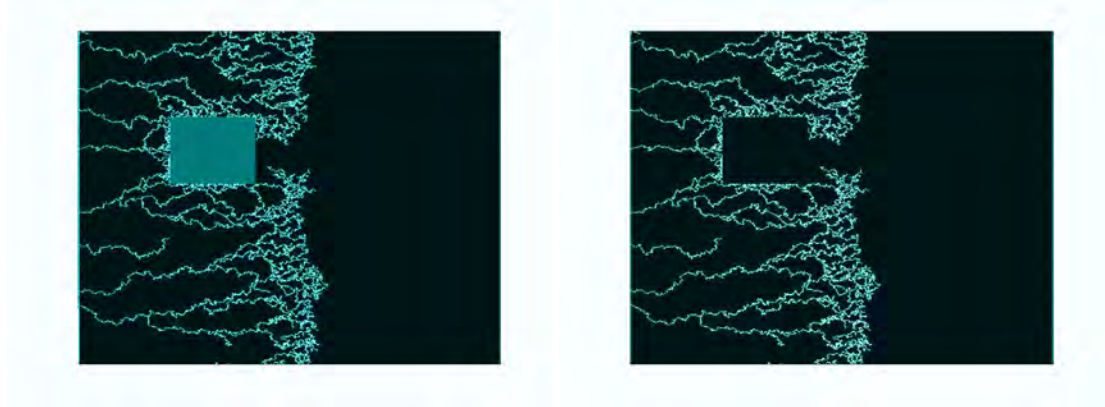


Figura 6.6: Os parâmetros e as fontes são os mesmos da figura 6.2. O quadrado na primeira figura mostra a região com a presença de inibidor matriz-ligante. A figura abaixo apresenta o mesmo processo sem a marcação da região com inibidor. Rede 500 x 500.

6.1.3 Dinâmica

A dinâmica do modelo se faz através dos seguintes passos:

1. Itera-se a equação de difusão até uma convergência satisfatória (nos nossos modelos usamos um limite de convergência até a quarta casa decimal(10^{-4})).
2. Seleciona-se uma estrutura-guia e sorteia-se um vizinho (iv,jv). A vizinhança utilizada no modelo é a de Moore (ver fig. 3.3) devido ao maior grau de liberdade propiciado por essa.
3. A estrutura guia pode realizar uma ação: retração, avanço ou bifurcação (proliferação) de acordo com as condições apresentadas pelo sítio vizinho escolhido. Especificamente:
 - Analisa-se primeiro se há necessidade de retração. A estrutura retrai se a concentração das substâncias quimiotáticas $V(iv, jv) < \theta_{retr}$ ou se a densidade $MEC(iv, jv) < \lambda_{retr}$ (que seria um limite mínimo para a adesão da estrutura)
 - Define-se a probabilidade de ação positiva de acordo com a equação (6.6). Sorteia-se um número aleatório γ , se $P(iv, jv) > \gamma$ a estrutura irá avançar ou bifurcar. Assim temos:
 - Bifurcação: Se a densidade $\lambda_{retr} < MEC(i_{viz}, j_{viz}) < \lambda_{bif}$ a estrutura-guia divide-se e as duas novas estruturas-guias ocupam os sítios vizinhos ao sítio escolhido.

- Avanço: Se a densidade $MEC(i_{viz}, j_{viz}) < \lambda_{cresce}$ a estrutura avança para o sítio vizinho escolhido.

Os limites da MEC para retração, avanço ou bifurcação podem ser observados na figura 6.7.

4. Os sítios distantes da atividade das estruturas-guias se remodelam de acordo com a equação (6.8)
5. As estruturas-guias degradam a matriz de acordo com a equação (6.7)
6. Após varrer todos o sítios ocupados pelas estruturas-guias volta-se ao primeiro item para um novo passo de tempo.

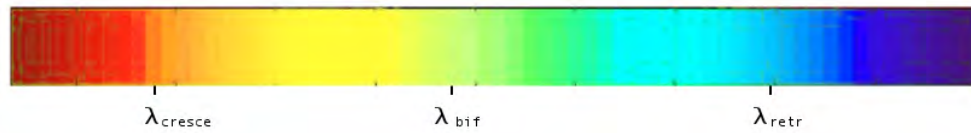


Figura 6.7: Representação dos limiares da densidade de matriz extracelular para cada ação: avanço, retração e bifurcação. Variação da densidade de 1 (vermelho) à 0 (violeta).

6.2 Aplicando o modelo: Angiogênese tumoral

O modelo de angiogênese tumoral é uma extensão de um modelo, também de múltiplas escalas para o crescimento de tumores construído por nosso grupo. Uma breve descrição desse modelo pode ser vista no apêndice B. Nele o tumor é inicialmente avascular e se alimenta pela difusão de nutrientes de um vaso próximo. Nossa intenção é extrapolar a fase *in situ* e dar dinâmica ao tecido endotelial para que ocorra a nova vascularização.

A união das duas dinâmicas de crescimento (tumor e vasos) ocorre através das seguintes condições:

- Cada célula tumoral tem um limiar mínimo de nutrientes até que entre em estado de hipóxia. A célula tumoral nesse estado libera uma substância difusiva, quimiotática para as células endoteliais (VEGF). Assim temos o que chamamos de fonte dependente de estímulo. A produção dos quimioatratantes segue a seguinte equação:

$$\beta(i, j) = \beta_o \left(\frac{\theta_\beta + \gamma^2}{\gamma^2} \right) \frac{(M(i, j) - \gamma)^2}{\theta_\beta + (M(i, j) - \gamma)^2} \quad (6.9)$$

Em que β é a fonte da equação (6.1), θ_β é o parâmetro relacionado à resposta das células tumorais à hipóxia, $M(i, j)$ a concentração local de nutrientes (ver Apêndice B) e γ é o limiar de hipóxia por célula cancerosa. Se a concentração local $M(i, j)$, dividida pelo número de células cancerosas no sítio for maior que γ tem-se $\beta = 0$, senão, obedece a equação descrita acima.

- A célula-guia endotelial pode brotar de qualquer região do vaso original. Isso é possível no modelo cobrindo todo o vaso com células-guia, que competem fazendo com que a região onde haverá o brotamento se selecione naturalmente. A dinâmica é a descrita na seção 6.1.
- Todas as células endoteliais e células-guia são sumidouros de quimiotaxinas (VEGF) e fontes de nutrientes.

Para observarmos o comportamento da angiogênese aplicamos a dinâmica de crescimento endotelial à um tumor compacto, fixo, ou seja, crescido previamente. Usamos um vaso inicial circunscrevendo a célula “semente” do tumor a uma distância $L/2$, sendo $L \times L$ a dimensão da rede, onde $L = 400$. O resultado pode ser observado na figura 6.8.

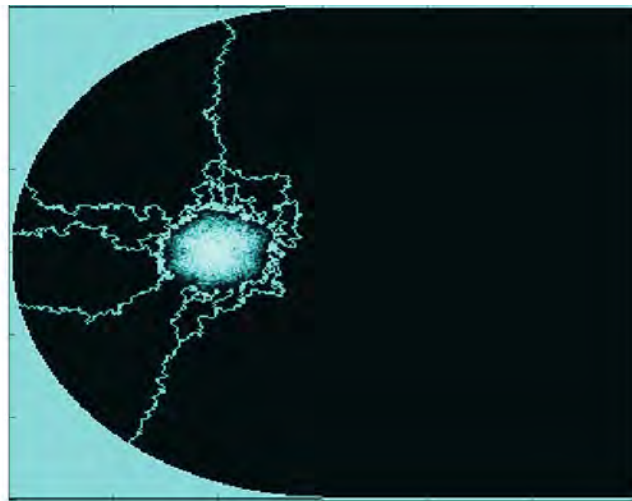


Figura 6.8: Simulação de angiogênese tumoral aplicada à um padrão de carcinoma fixo. Rede 400X400

O padrão foi gerado em um tempo suficientemente grande para a estrutura estabilizar. Note que esse comportamento se assemelha mais com a angiogênese de uma lesão, ou uma substituição de um vaso isquêmico (microinfartos, por exemplo). Isso ocorre nessa simulação devido ao fato de usarmos um tumor com suas dimensões fixas, o que não ocorre na realidade com tumores.

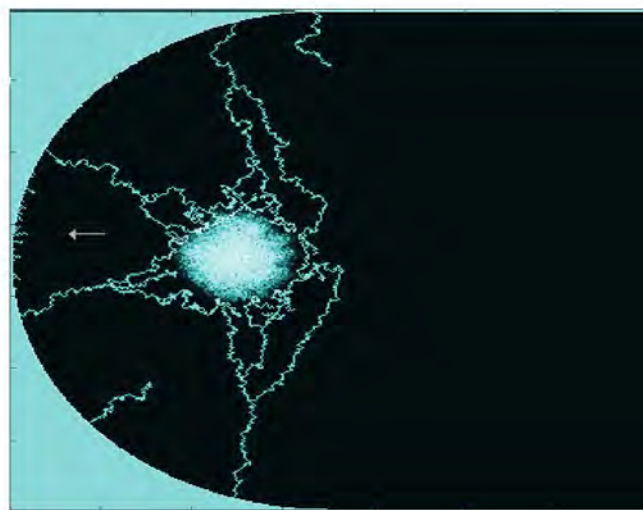


Figura 6.9: Simulação da angiogênese de um tumor compacto. A seta indica novos brotamentos.



Figura 6.10: Tumor mamário em camundongo com dimensão quase equivalente ao seu tamanho. Foto do site <http://www.lbah.com>

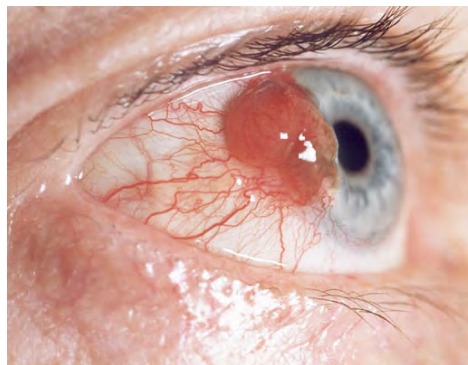


Figura 6.11: Angiogênese em um carcinoma conjuntivo. Foto do site www.cancerocular.com

Para um tumor inicialmente avascular e com a mesma configuração, geramos o crescimento mútuo do tumor e da vasculatura. Na figura 6.9 pode-se observar esse crescimento. Note que com a vascularização o número de células cresce, aumentando a competição por nutrientes. Assim, a todo momento, as células que constituem o tumor entram em hipóxia, requisitando novos vasos. Um tumor vascularizado não tem limite de crescimento (ver fig. 6.10). Observe que os brotamentos não cessam como na simulação anterior e por isso a rede angiogênica tumoral tem um aspecto mais complexo (ver fig. 6.2).

O modelo de crescimento de tumores avasculares apresenta várias morfologias distintas que representam diferentes tumores (ver fig. B.2). Essas morfologias, no modelo, estão relacionadas com o consumo de nutrientes, ou seja, o tumor se ramifica como uma forma de contornar a falta de nutrientes. No entanto, no organismo esses tumores também apresentam vascularização. Aplicamos, então nosso modelo a um sistema com parâmetros que geram

um tumor ramificado. Como pode ser observado na figura 6.12 o tumor não perde suas características morfológicas, continuando ramificado mas com padrões mais assimétricos.

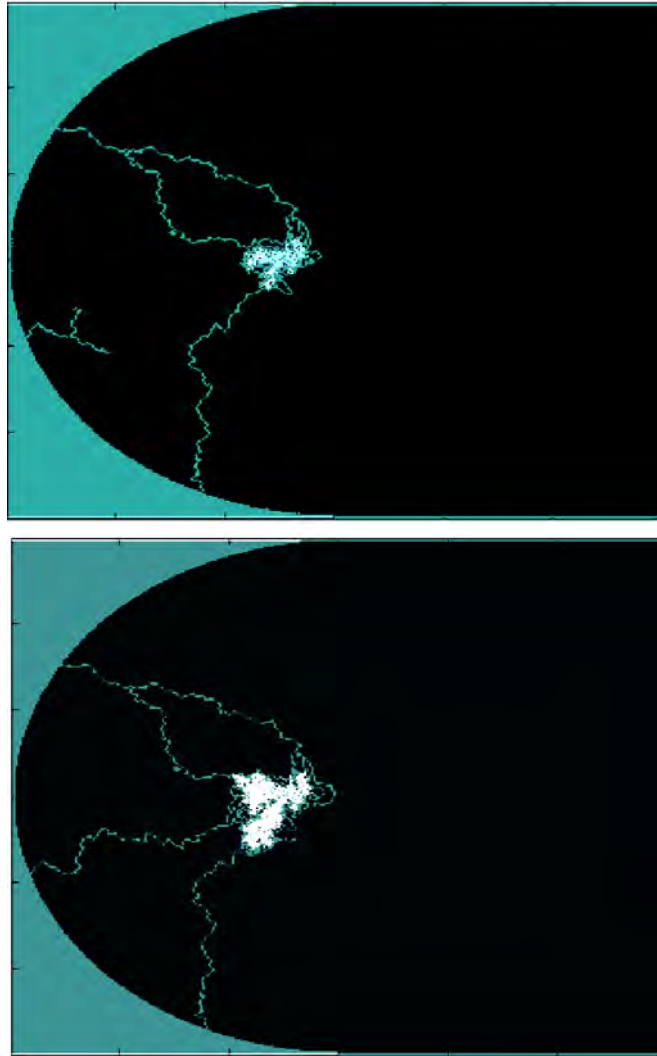


Figura 6.12: Angiogênese em um padrão ramificado em tempos de desenvolvimento distintos. Note a característica essencial da estrutura não se perde.

6.3 Aplicando o modelo: Neurogênese

Como vimos no capítulo 5, no início do desenvolvimento neuronal o processo para dentritos e axônios é similar. Pretendemos simular esse momento do crescimento: o sômato está estacionário e os neuritos estão se desenvolvendo de acordo com a sinalização de meio. Como não possuímos ainda um levantamento de parâmetros experimentais, as simulações que serão apresentadas a seguir são qualitativas, com intuito de demonstrar as possibilidades do modelo, tal como sua capacidade de descrever o desenvolvimentos de tais estruturas.

As simulações apresentadas a seguir foram feitas em redes quadradas 600 x 600, com um corpo celular arredondado ocupando 30 sítios circunscritos por cones de crescimento. As densidades das MECs variam de 0.8 a 1.0. Toda dinâmica ocorre como descrito na seção 6.1. A seleção de quantos neuritos irão emergir do soma ocorre de forma natural, de acordo com o ambiente em que o neurônio está exposto e dos parâmetros de resposta. A figura 6.13 apresenta essa variação de números de neuritos. Esse comportamento corrobora com o esperado, já que a morfologia de um neurônio depende justamente do meio em que esse se desenvolve, que no modelo seriam a MEC e o campo difusivo e de sua expressão gênica, representados no modelo pelos parâmetros de resposta.

Considerando uma fonte de substâncias quimioatrativas fixas, concluímos que os principais parâmetros que influenciam na forma do neurônio são os parâmetros θ_d (ver equação (6.7)) sob a MEC e θ_{prob} (ver equação (6.6)), que estão relacionadas com as ações positivas de ação (avanço ou bifurcação). Ambos podem ser entendidos como uma expressão da resposta da célula ao estímulo do potencial difusivo (NGF's). O primeiro relacionado à atração propriamente dita e o segundo à produção de substâncias de degradação. Observe na figura 6.14 algumas variações relacionadas com o parâmetro θ_d e na figura 6.15 variações de morfologias relacionados à variação de θ_{prob} .

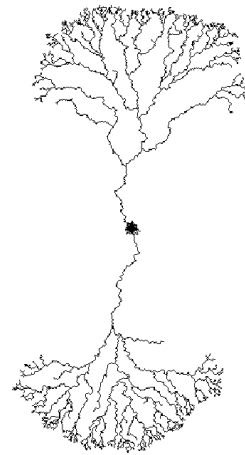
Uma outra forma que encontramos para avaliar o comportamento de nosso modelo para simulação de neurônios foi reproduzir o experimento *in vitro* apresentado na figura 5.3. Trata-se de uma interferência na direção do crescimento de um neurito inserindo, com uma pipeta, substâncias quimioatrativas e quimiorepulsivas [26]. A simulação desse comportamento pode ser observada na figura 6.16. Como nosso experimento é *in silico* podemos observar qual seria a direção natural do neurônio sem os estímulos extras e comparar com o desvio causado por esses.

Foi visto também no capítulo anterior que um neurônio não só está sujeito a substâncias que estimulam seu crescimento, como também são fontes de quimioatratores que atuam sobre outros neurônios. Esse fato é responsável pela grande diversidade neuronal e a complexidade de suas redes. Para representar esse comportamento, criamos duas redes distintas de potencial difusivo. Uma rede responsável pelo crescimento do neurônio que será fonte de quimioatratores para os demais neurônios e outra rede onde irá difundir esses quimioatratores gerados pelo neurônio fonte. Consideramos que cada cone de crescimento do primeiro neurônio é uma fonte, tal que, em cada sítio em que há a presença de cone de crescimento o potencial da segunda rede é igual a 1. A rede passa por iterações de difusão como a outra, e o crescimento dos demais neurônios responde somente à esse segundo potencial. Observe um dos padrões gerados na figura 6.17, onde o neurônio central cresce seguindo uma fonte circular externa ($V=1$) e libera substâncias quimioatrativas para os demais neurônios. Por fim, pode ser observado na figura 6.18 algumas comparações com morfologias de neurônio já conhecidas pela literatura.

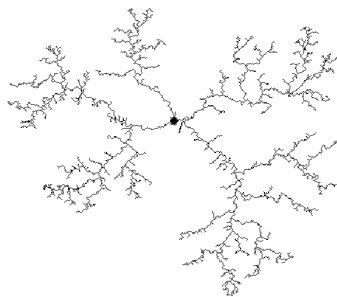
Essas são algumas análises de caráter qualitativo da aplicação do nosso modelo à neurogênese. O estudo da neurogênese e da morfologia neuronal é de grande importância para a ciência, no auxílio da busca por terapias para patologias tal como Alzheimer, Parkinson, esclerose e na compreensão das estruturas neurais em geral.



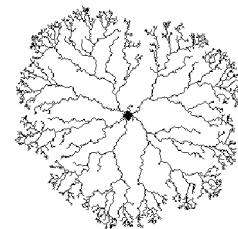
[a]



[b]

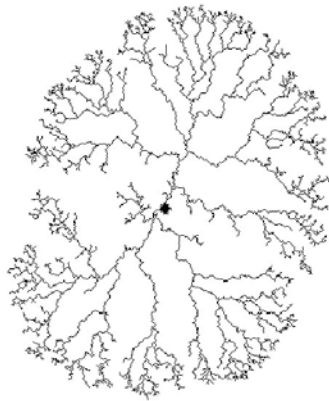


[c]

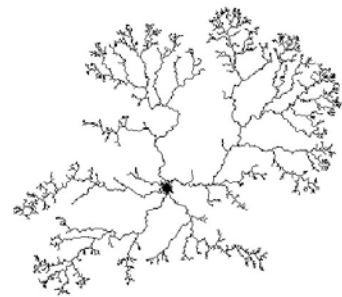


[d]

Figura 6.13: Seleção do número de neuritos de acordo com o ambiente e parâmetros de controle. Nas duas figuras superiores o corpo está sujeito à fonte linear: na extremidade superior e, superior e inferior, respectivamente. Nas demais figuras a fonte é circular. Os parâmetros usados estão descritos na Tabela da Apêndice C.



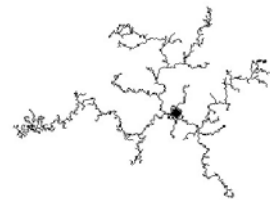
[a]



[b]



[c]



[d]

Figura 6.14: Variações da morfologia neuronal em função da variação do parâmetro θ_d , que cresce de [a] para [d], diminuindo a degradação. Os parâmetros usados estão descritos na Tabela do Apêndice C.

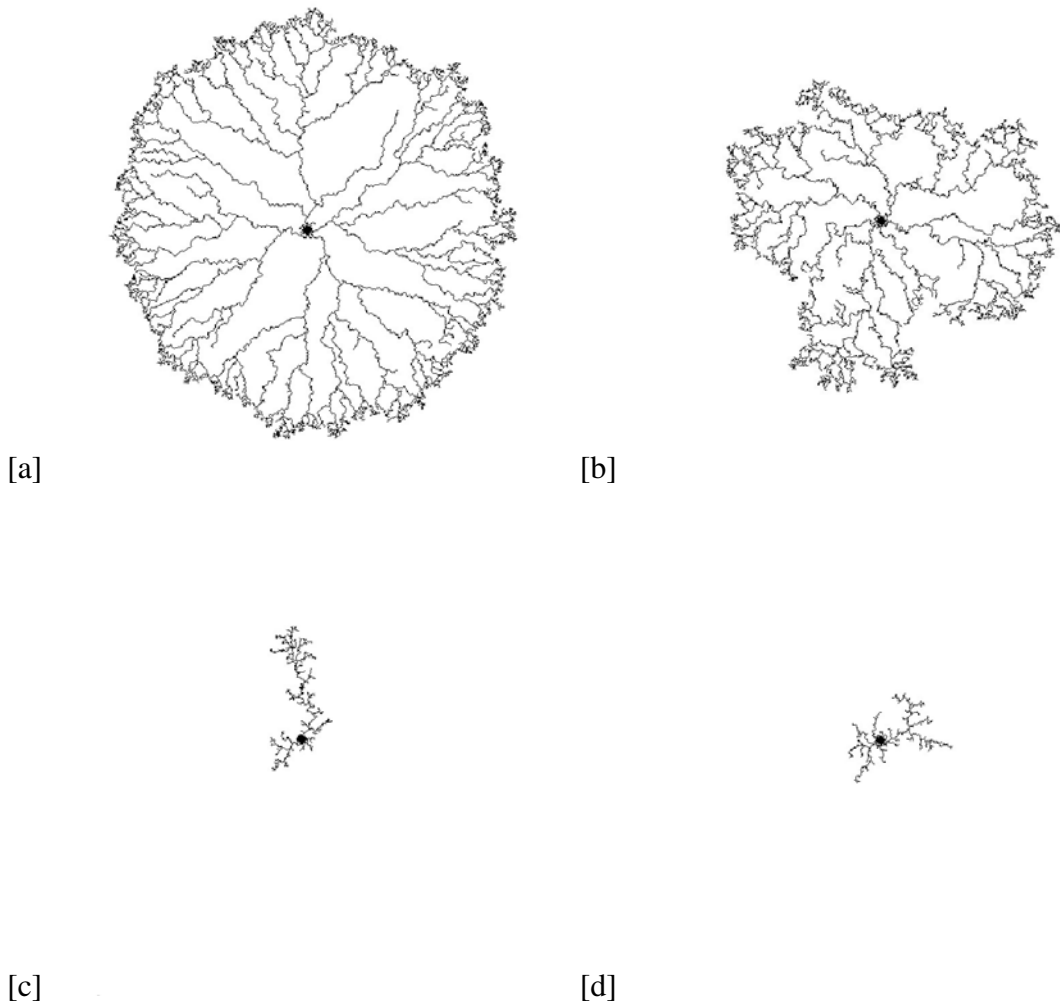


Figura 6.15: Variações da morfologia neuronal em função da variação do parâmetro θ_{prob} , o parâmetro decresce de [a] para [d], aumentando a probabilidade. Os parâmetros usados estão descritos na Tabela 6.1.

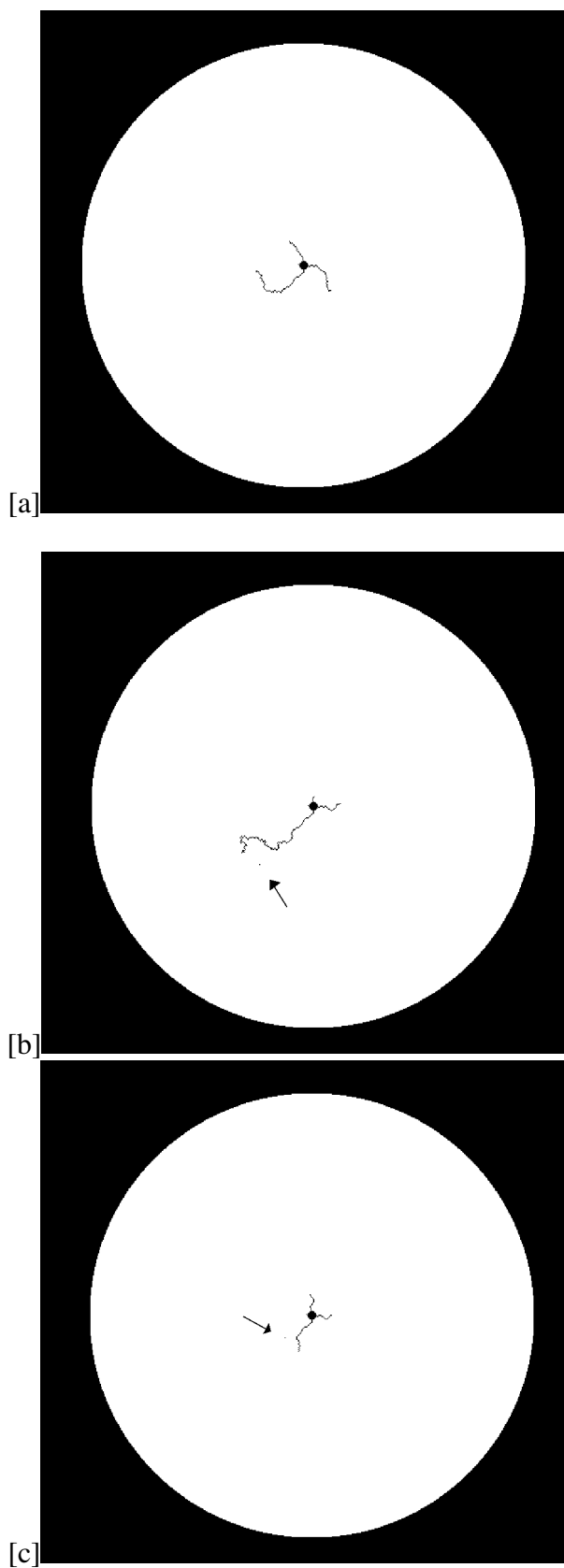


Figura 6.16: Interferência na direção do crescimento de um neurito por inserção de uma fonte de substância atrativa [b] e repulsiva [c]. A figura [a] mostra a direção original sem as fontes.

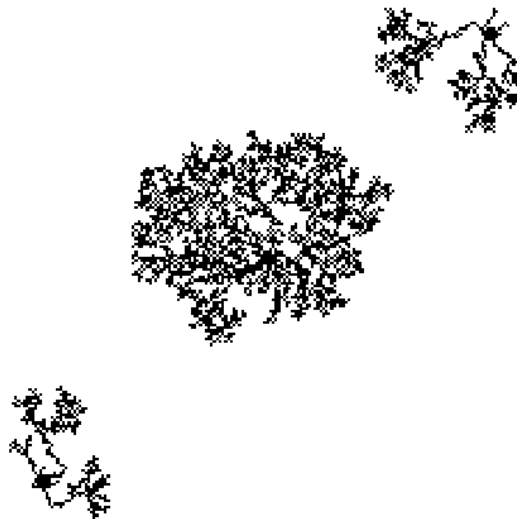


Figura 6.17: Crescimento de neurônios (laterais, N2, N3) tendo como fonte de substância quimiotática um outro neurônio (central, N1). A dinâmica de crescimento dos três neurônios ocorre simultaneamente. Parâmetros descritos na Tabela do Apêndice C

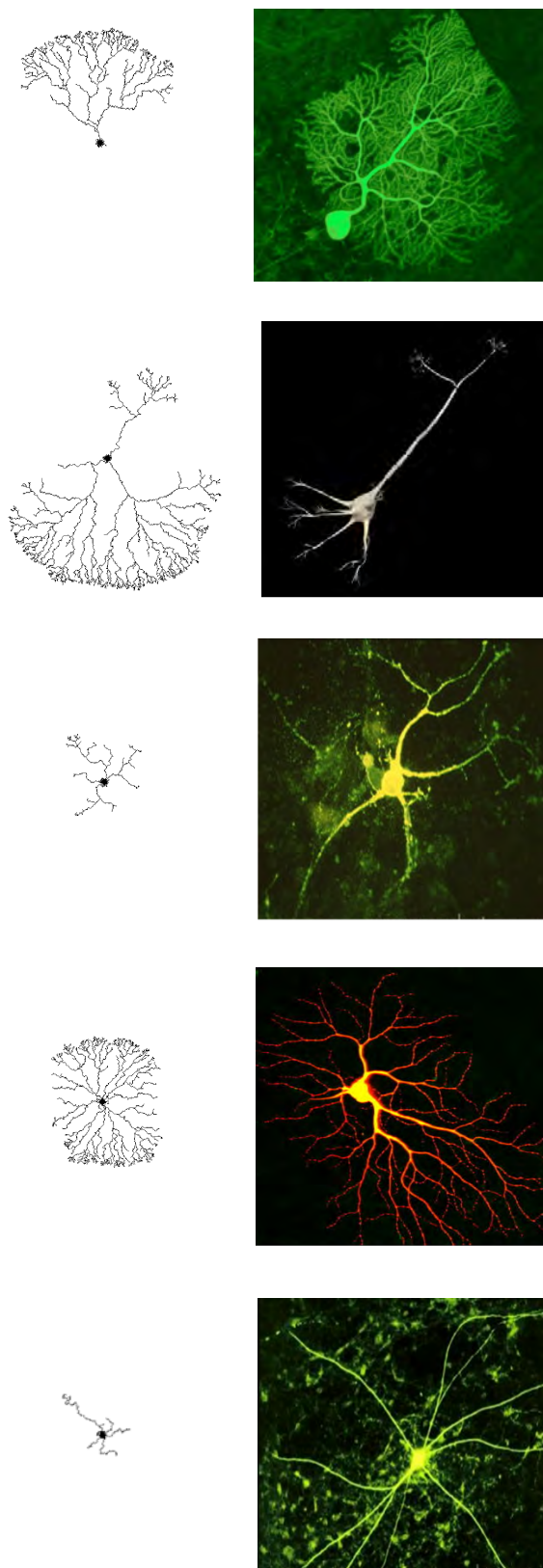


Figura 6.18: Comparação de alguns padrões com morfologias de neurônios conhecidos pela literatura. *Fig. da coluna da direita retirada de www.sciencephoto.com*

Capítulo 7

Conclusões e perspectivas

No presente trabalho foi proposto um modelo para simular o crescimento de estruturas ramificadas encontradas no organismo animal, com foco na neurogênese e angiogênese. É possível encontrar na literatura outros modelos matemático-computacionais relacionados a tais assuntos. Entretanto, a maioria deles não considera a dinâmica dos entes constituintes de cada estrutura ou não engloba os dois comportamentos básicos, envolvido nesses processos: a quimiotaxia e a haptotaxia. O nosso modelo apresentou uma resposta satisfatória às avaliações qualitativas a que foi submetido, tanto na neurogênese como na angiogênese tumoral. O próximo passo será relacionar os parâmetros à dados reais, ajustando as escalas de tempo e espaço, realacionando taxas de difusão e respostas à estímulos de forma adequada e, dando continuidade aos estudo apresentado no Apêndice A, de modo a criar um método que defina uma MEC mais realista de acordo com cada estrutura a ser modelada. Com isso poderemos fazer análises quantitativas, tal como dimensão fractal (apresentada no Capítulo 4) e que possam ser comparadas com dados reais e permitam outras formas de validação do modelo.

O modelo aplicado à angiogênese tumoral pode ser de grande utilidade no estudo de terapias de combate ao câncer. Inibir a angiogênese é uma das possibilidades para evitar a metástase e até mesmo eliminar o tumor por carência de nutrientes [37]. O estudo de terapias contra o câncer, a partir do modelo descrito no apêndice B, já tem sido feito por nosso grupo [38] [39]. Com a inclusão da angiogênese, as possibilidades desses estudos aumentam consideravelmente. O modelo foi criado inicialmente para tumores *in situ*. Como esse relaciona a morfologia do tumor com a disponibilidade de nutrientes, uma das possíveis limitações para adotar o modelo para outras fases do tumor seria a perda da morfologia, descaracterizando os tumores ramificados. No entanto, podemos perceber que essa característica não se perde com a nova vascularização, sugerindo que o as morfologias observadas para o crescimento

de tumores avasculares podem abranger as demais etapas do desenvolvimento tumoral.

A neurogênese em adultos, recém descoberta, tornou-se a chave para o avanço no estudos de terapias para pequenas lesões cerebrais e na medula, doenças degenerativas e até mesmo depressões [40] [41]. Um controle do microambiente onde irá se desenvolver uma célula-tronco no indivíduo adulto pode ser uma saída para regeneração de regiões afetadas por patologias como Alzheimer, por exemplo, e até mesmo evitar a progressão dessas. Nosso modelo apresenta a capacidade de simular esses microambientes para o controle do crescimento neuronal.

Apresentando uma resposta satisfatória aos testes iniciais, baseado na haptotaxia e quimiotaxia celular, nosso modelo parece ser capaz de capturar a “estrutura essencial” da dinâmica de crescimento das estruturas simuladas, questão fundamental para a validação de um modelo, como discutido no capítulo 2. A vantagem do modelo computacional é sua possibilidade de fazer análises que não são possíveis *in vitro* e a otimização do tempo de estudos, sem falar na redução do número de cobaias para testes, visto que, muitas propostas de terapias já podem sair recém modeladas dos experimentos *in silico* para só então serem submetidas à testes em experimentos reais. Dessa forma unimos áreas do conhecimento com distintas linguagens em função de um domínio global dos fenômenos de interesse, multiplicando assim, nosso conhecimento sobre natureza animal e auxiliando no estudo de terapias de diversas doenças.

Referências Bibliográficas

- [1] Bocarra, N. *Modeling Complex Systems*. Springer, Nova Iorque, 2004.
- [2] Martins, M.L., et al. Multiscale Models for Biological Systems. Cur. Op. in Coll. Int. Science 15 2010 18-23.
- [3] Peirce, Charles Sanders. *Semiótica e Filosofia*. Introdução, seleção e tradução de Octanny Silveira da Mota e Leonidas Hegenberg. São Paulo, Cultix, 1993
- [4] Pinto, Paulo Roberto Margutti. *Lógica e Linguagem*. Publicado em Salles, João Carlos. Plenárias da ANPOF 2004/2006. : Quarteto Editora; ANPOF, 2006, p. 147-180
- [5] Foucault, M. *As palavras e as coisas: uma arqueologia das ciências humanas*. 8.ed. São Paulo: Martins Fontes, 1999. Trad. S. T. Muchail
- [6] Domingues, Ivan; Oliveira, Alfredo Gontijo; Silva, Evando M. P.; Filho, Heitor Capuzzo; Beirão, Paulo S. L.; Transdisciplinaridade: Descondicionando o Olhar Sobre o Conhecimento. Educação em Revista Belo Horizonte: FAE UFMG, Jun-1999, 109-16p.
- [7] Auyang, Sunny Y. *Foundations of Complex-system Theories*. Cambridge University Press, 1998. Cambridge Books Online. Cambridge University Press. 28 April 2011
- [8] Popper, Karl R., *Conjecturas e Refutações, Pensamento Científico*, Universidade de Brasília.
- [9] Von Neumann, J., *Theory of Self-Reproducing Automata* (editado e complementado por Arthur Burks) University of Illinois Press Champaign, ,1966.
- [10] Wolfram, S., *Statistical Mechanics of Cellular Automata* Reviews of Modern Physics, 55 (July 1983) 601-644.
- [11] Wolfram, S., *A New Kind of Science* Wolfram Media, 2002.

- [12] Gremonini, Lucas; Vicentini, Eduardo, *Autômatos Celulares: Revisão Bibliográfica e Exemplos de Implementações*, Revista Eletrônica Lato Sensu – UNICENTRO, Ed.6,2008.
- [13] Garder, M. Mathematical Games, *The fantastic combinations of John Conway's new solitaire game "life"* . Scientific American 223 (October 1970): 120-123.
- [14] Barabási A. L.; Albert R. *Emergence of scaling in random networks* Science 286,1999.
- [15] Niemeyer, L., Pietronero, L., Wiesmann, H. J.; *Fractal Dimension of Dielectric Break-down* Phys. Rev. Lett. 52(12), 1984.
- [16] Mandelbrot, B.B; *The Fractal Geometry of Nature* Freeman; San Francisco, 1982.
- [17] Gao, J. at all; *Multiscale Analysis of Complex Time Series: Integration of Chaos and Random Fractal Theory, and Beyond* Wiley-Interscience, (2007)
- [18] André R. Backes, Odemir M. Bruno. *Técnicas de Estimativa da Dimensão Fractal: Um Estudo Comparativo*, Journal of Computer Science- Vol.4 Num 3, 2005, 1-10
- [19] Rorth, Pernille. *Collective Cell Migration* Ann. Rev. Cell. Dev. Biol., 2009, 25 407-429
- [20] Friendl, Peter; Gilmar, Darren. *Collective Cell Migration in Morphogenesis in Morphogenesis, Regeneration and Câncer* Nature Review-Mol., 2009, 11 445-457
- [21] Gerhardt, Holger. at al. *VEGF Guides Angiogenesis Sprouting Utilizing Endothelial Tipi Cell Filopodia* J. Cell Biol., 2003, Vol 161, N 6 1165-1177
- [22] Gungabisson; Bamburg James P., *Regulation of Growth Cone Actin Dynamics by ADF/Cofilin* , The J. of Histochemistry Cytochemistry. Vol 52(4) 411-420.
- [23] Folkman, J. *The Vascularization of Tumor*, Scientific American, 1976, 194:23
- [24] Schwartz J. H. , *Axonal Transport: Components Mechanisms and Specificity*, A Rev. Neuroscience. 1979 2 467-504
- [25] Discher, Dennis E. , Wang Yo-Li., *Methods in Cell Biology*, Vol 83, 2007, Elsevier.
- [26] Song, Hong-jun at al., *cAMP- induced switching in turning direction of nerve growth cones*, Nature Vol 388, 1997 275-279
- [27] Li, W. at al. *Mechanisms of Human Skin Cell Motility* Histol Histopathol 2004, 19 1311-1324

- [28] Kumar, Vinay;Abbas, Abulk; Fausto nelson. *Robbins Contran, Patologia: Bases Patológicas das doenças*, 2005, Elsevier.
- [29] Plank, MI, Sleeman B.D. *Tumor-induced Angiogenesis: A Review J. of Theoretical Medicine*,2003, Vol 5 137-153
- [30] Jr. Ferreira, S. C. *Modelos de reação difusão para o crescimento de tumores* Tese de doutorado, Universidade Federal de Minas Gerias, 2003.
- [31] Horner Philip J., Gage Fred H., *Regenerating the damaged central nervous system*,Nature, 200 Vol. 407, 963-970
- [32] Gross, Charles G., *Neurogenesis in the adult brain: death of dogma*, Nature Review, Vol 1, 2000, 68-73
- [33] Lent, Roberto.*Cem Bilhões de Neurônios, conceitos fundamentais de neurociência.*,2004, Atheneu.
- [34] Bianchi, Andrea. *Caracterização, modelagem e simulação matemático-computacional da dinâmica dde conexões de células neurais*,Tese de doutorado, Instituto de Física de São Carlos, 2003.
- [35] Wojcik-Stanaszek, Luiza,*Regulation of neurogenesis by extracellular matrix and integrins*,Acta Neurobiol, 2011, Vol. 71 103–112
- [36] Vaz. F. T. et all, *Neoplasia Intraepitelial da Conjuntiva em doente com infecção HIV: Caso clínico*,Rev. da Sociedade Portuguesa de Oftalmologia.,2002Vol. 26,77-82.
- [37] Andrea Valentine et all,*FKBPL and Peptide Derivatives: Novel Biological Agents That Inhibit Angiogenesis by a CD44-Dependent Mechanism* ,Clin Cancer Res 2011;17:1044-1056
- [38] Paiva L.R., Martins M. *A multiscale model to evaluate the efficacy of anticancer therapies based on chimeric polypeptide nanoparticle*, Applied Physics Letters, 98:100, 2011
- [39] Paiva. L.R. et all,*A multiscale mathematical model for ocolytic virotherapy* Cancer Res. 69(3)1205-1211, 2009.
- [40] Schaeffer,E.L.,*Environmental enrichment as strategy to promote neurogenesis in Alzheimer disease: possible participation of phospholipase A2*, Rev Psiq Clín. 2010;37(2):73-80

-
- [41] Scorza F. A., *Neurogênese e depressão: etiologia ou nova ilusão?*, Rev Bras Psiquiatr. 2005;27(3):249-53.
- [42] Joanne, E., Murphi-Ullrich. *The de-adhesive activity of matricellular proteins: is inter-mediat cell adhesion an adaptative state?*, *The J. of Clinical Investigation*, Vol 107, 785-790
- [43] Dreyfuss, J., Oliveira, J., *Matriz extracelular e enzimas degradatórias na hematopoes e donenças onco-hematológicas*, Revis.Bras. de Hematol. e Hemoter. 2008, Vol 30, 398-405.
- [44] Paiva, Leticia R., *Modelagem multiescala para tratamento de tumores* 2011, Tese de doutorado, Viçosa.

Apêndice A

Uma análise preliminar da matriz extracelular

A matriz extracelular (MEC) é um complexo de glicoproteínas, colágenos, proteoglicanos e fatores de crescimento. As MECs variam de acordo com a região e são responsáveis por ocupar os espaços onde não há células, dar resistência ao tecido, ser fonte de estímulos, veículo para migração celular, entre outros. As interações célula-MEC são cruciais para determinar o padrão de comportamento de uma célula, tais como crescimento, migração, diferenciação e morte. A adesão célula-matriz depende de sinais bioquímicos e de características mecânicas. A migração celular é diminuída se a adesão célula-matriz for muito forte, ou muito fraca, assim a situação mais favorável para migração seria uma adesão intermediária [42].

A interação com a matriz no processo de migração pode ser resumida nos seguintes passos: a MEC é degradada por enzimas secretadas pela célula; a célula se locomove na região da MEC degradada e se adere à matriz via receptores específicos da superfície celular [43]. Vários fatores participam dessa interação, no entanto em nosso modelo tentamos captar somente o comportamento emergente dessa diversidade de fatores. Sabe-se que tanto em caráter mecânico quanto bioquímico, as MECs não são homogêneas. Mas como representar a heterogeneidade desse comportamento emergente? Esse é um estudo em que ainda estamos trabalhando.

Pretendemos criar um método que permita analisar matrizes específicas relacionadas a cada fenômeno de crescimento que desejamos representar. Esse não é um processo simples, não só pela complexidade de sua natureza como também pelas limitações dos métodos experimentais de análise. Um primeiro estudo foi feito sobre uma imagem de um embrião de galinha com aproximadamente 50 horas de vida, feita por Microscopia de Campo Claro

APÊNDICE A. UMA ANÁLISE PRELIMINAR DA MATRIZ EXTRACELULAR 63

(cedida pelo Laboratório de Sistemas Biológicos do departamento de física da UFMG). A imagem, que ainda não é ideal para a análise em questão, serve de base para iniciarmos a construção de um método de análise da matriz extracelular.

Selecionamos uma região da área pelúcia livre de vascularização (ver figura A.1) para ser nosso molde de MEC. Assumindo -se que as regiões mais densas (regiões mais escuras da imagem) contém uma maior quantidade de fatores que influenciam mecânica e quimicamente a migração celular, consideramos a densidade definida em nosso modelo proporcional à densidade da imagem. Assim, fazendo a leitura dos “pixels” da figura em escala de cinza encontramos a distribuição de densidade apresentada na figura A.2. Note que a curva pode ser aproximada por uma combinação de funções gaussianas.

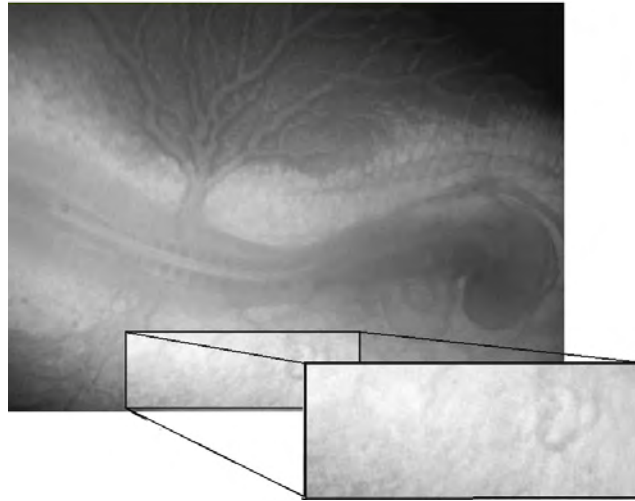


Figura A.1: Imagem feita por Microscopia de Campo Claro de um embrião de galinha com aproximadamente 50 horas de vida.

Simulamos uma MEC com a mesma distribuição de densidade encontrada na região da matriz extracelular analisada. Comparando a figura A.3 [a] com o recorte da figura A.1 é possível perceber que a topografia de densidade ainda não está bem representada. O fator crítico está relacionado à falta de correlação local, ou seja, a densidade da MEC não deve variar consideravelmente na vizinhança de cada ponto. Uma alternativa para solucionar essa falta de correlação local é gerar a distribuição gaussiana em uma rede Voronoi ¹ que pode ser observada na figura A.3 [b]. Lembramos que a intenção não é reproduzir exatamente a matriz e sim coletar características relevantes dessa.

Para testar e aprimorar esse método precisamos analisar uma região de matriz mo-

¹Rede ou diagrama de Voronoi consiste na divisão de determinado espaço da seguinte forma: distribui-se pontos, com valores distintos (em nosso caso esses valores também são aleatórios e obedecem uma distribuição gaussiana), aleatoriamente nesse espaço. Os valores das demais coordenadas do espaço são associados a esses pontos de acordo com a proximidade. Cada coodenada assume o valor do ponto mais próximo.

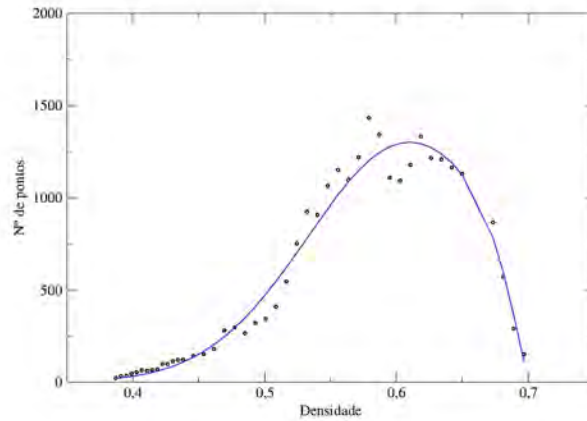


Figura A.2: Distribuição de densidade da matriz selecionada na fig. A.1. A equação da curva de ajuste é uma combinação de gaussianas: $N = ae^{b(D-0.6)^2} + ce^{d(D-0.43)^2}$, em que N é o número de pontos com a densidade D.

mentos antes do crescimento da estrutura. Sendo assim nossos estudos sobre matriz extracelular estão limitados ainda à busca de novos dados experimentais que possam fornecer informações mais precisas.

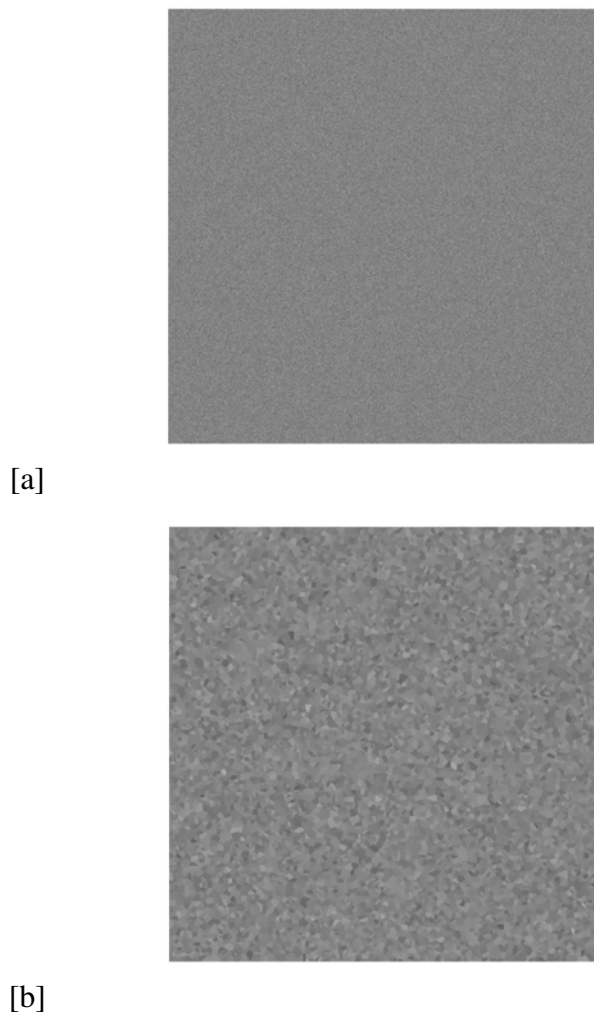


Figura A.3: A figura [a] apresenta uma matriz com a função distribuição encontrada na análise do recorte da MEC do embrião. A figura [b] consiste em rede Voronoi com a mesma função de distribuição de densidade. Ambas as imagem foram geradas em redes 500 x 500.

Apêndice B

Modelo multiescalar para o crescimento de tumores avasculares

O modelo usado em nossas simulações para angiogênese tumoral foi criado por Ferreira et al. [30] inicialmente para simular o crescimento de tumores avasculares. Considera a dinâmica de crescimento em escalas no nível celular e do tecido (difusão). O modelo inclui morte, proliferação e mobilidade celular que são controladas pelas concentrações locais de nutrientes (oxigênio, aminoácidos, glicose, etc) e parâmetros de resposta celular. O modelo original consiste em uma rede quadrada $L \times L$ com condições de contorno considerando um capilar em uma extremidade do tecido, fluxo nulo de nutrientes na outra e condição de contorno periódica na direção perpendicular ao tecido endotelial. A rede é ocupada por células normais e uma célula cancerosa inicial que irá gerar todo o aglomerado tumoral. Um sítio pode ser ocupado ou por uma única célula normal ou necrótica ou por várias células tumorais. Uma ilustração esquemática do modelo pode ser observada na figura B.1.

O modelo é composto de dois tipos de nutrientes: nutrientes essenciais (N), que restringem de forma significativa a proliferação celular, e nutrientes não essenciais (M), que restringem a atividade celular mas não restringem, significativamente, a proliferação. Ambos os tipos de nutrientes se difundem no tecido de acordo com a equação:

$$\frac{\partial \phi(x, t)}{\partial t} = D \nabla^2 \phi(x, t) - \gamma \phi(x, t) \sigma_n(x, t) - \lambda \gamma \phi(x, t) \sigma_c(x, t) \quad (\text{B.1})$$

no qual o segundo termo está relacionado ao consumo de nutrientes pelas células normais, cujo número é σ_n ($\sigma_n = 1$ ou $\sigma_n = 0$). O último termo está relacionado ao consumo pelas células cancerosas, com σ_c sendo o número de células cancerosas no sítio ($\sigma_c \geq 0$). λ representa o quanto a célula cancerosa consome mais do que a célula normal local.

Uma célula cancerosa, aleatoriamente escolhida, pode realizar uma das três ações: morte, migração e proliferação. Cada uma dessas ações tem sua probabilidade associada. Escolhida aleatoriamente uma ação, ela ocorre se a probabilidade for maior que um número entre 0 e 1 gerado aleatoriamente. As probabilidades são dadas por:

- Divisão:

$$P_{div}(x) = 1 - \exp\left[-\left(\frac{N(x)}{\sigma_c(x)\theta_{div}}\right)^2\right] \quad (\text{B.2})$$

Se a célula filha da divisão estiver no interior do tumor, ela ocupa o mesmo sítio que a célula que a gerou. Caso esteja na borda, irá invadir um dos seus sítios vizinhos, ocupados por uma célula normal ou necrótica.

- Migração:

$$P_{mov}(x) = 1 - \exp\left[-\sigma_c(x)\left(\frac{M(x)}{\theta_{mov}}\right)^2\right] \quad (\text{B.3})$$

Se a célula estiver dentro do tumor ela se move para um dos sítios vizinhos. Se estiver na borda e for única no sítio, ela se move trocando de lugar com a célula normal ou necrótica do sítio vizinho, escolhido aleatoriamente. Já se houver mais células cancerosas no mesmo sítio, ela ocupa o sítio de uma das células vizinhas (normal ou necrótica) que irá ser eliminada.

- Morte:

$$P_{del}(x) = \exp\left[-\left(\frac{M(x)}{\sigma_c(x)\theta_{del}}\right)^2\right] \quad (\text{B.4})$$

Nesse caso, faz-se simplesmente $\sigma_c \rightarrow \sigma_c - 1$. Se $\sigma_c = 1$ uma célula necrótica ocupa o sítio $\sigma_{nec} = 1$.

As variáveis θ_{div} , θ_{mov} e θ_{del} são parâmetros que controlam a forma de cada probabilidade. Alguns padrões gerados podem ser observados na figura B.2

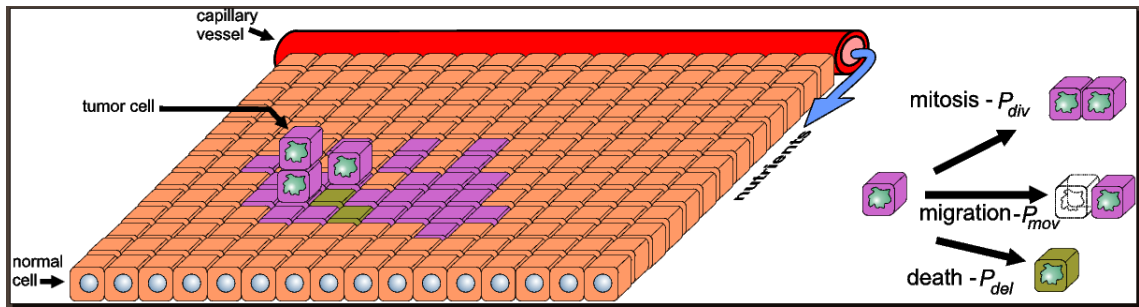


Figura B.1: Esquema do tecido alimentado por um capilar na extremidade. O tecido é representado por uma rede quadrada, cada sítio pode estar ocupado por uma célula normal ou necrótica, ou uma ou várias células cancerosas. Uma célula cancerosa pode morrer, dividir ou migrar de acordo com a probabilidade correspondente a cada ação. Ref. [44]

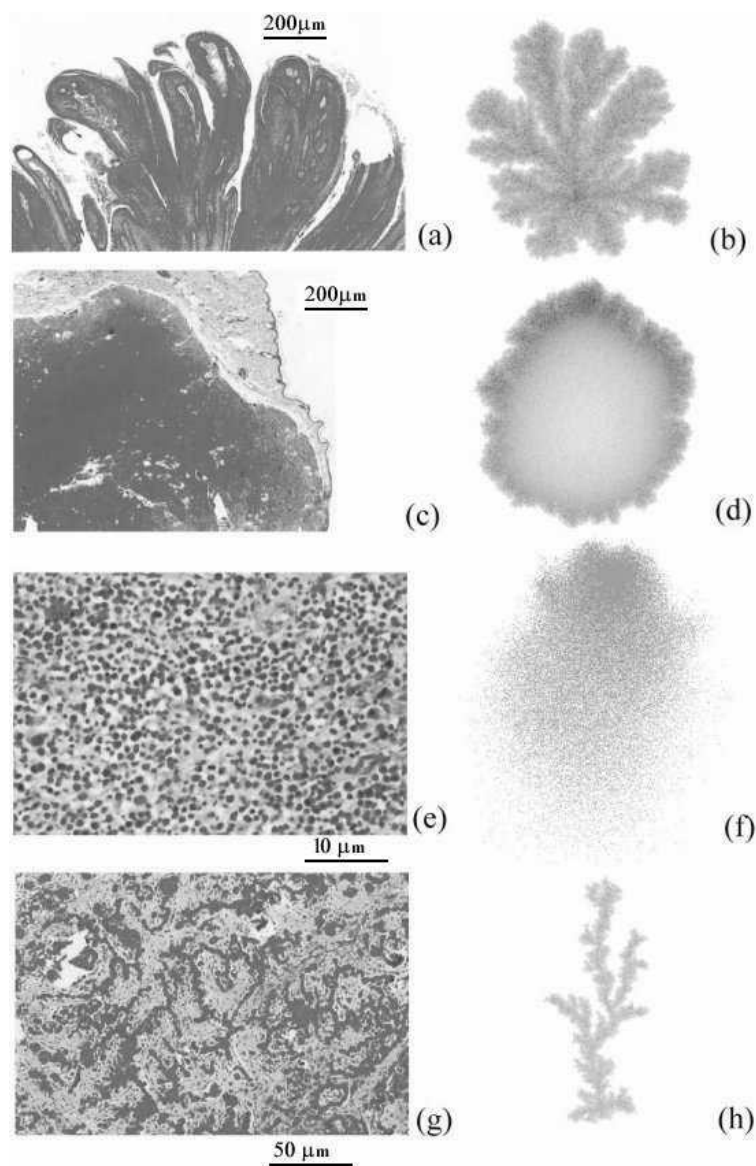


Figura B.2: Comparação entre algumas morfologias de tumores (esquerda) e padrões gerados pelo modelo (direita). (a) Padrão papilar de um papiloma escamoso. (c) Carcinoma basocelular compacto. (e) Padrão difuso de um plasmocito e (g) Filamentos celulares típicos de um tricoblastoma. Ref. [30]

Apêndice C

Tabela de parâmetros

Figuras	λ_{cresce}	λ_{bif}	λ_{ret}	θ_d	θ_{rec}	θ_{prob}	θ_{ret}
6.8	0.95	0.80	10^{-4}	0.10	05.0	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-2}
6.9	0.95	0.80	10^{-4}	0.10	05.0	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-2}
6.10	0.95	0.90	10^{-4}	100.0	5.00	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-2}
6.13 [a]	0.80	0.75	10^{-3}	1.50	0.50	$5 \cdot 10^{-2}$	10^{-4}
6.13 [b]	0.97	0.90	10^{-2}	1.50	0.50	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-3}
6.13 [c]	0.97	0.87	10^{-4}	0.01	10.50	$2 \cdot 10^{-2}$	10^{-4}
6.13 [d]	0.80	0.50	10^{-5}	1.00	10.5	$4 \cdot 10^{-3}$	10^{-5}
6.14 [a]	0.93	0.77	0.01	0.04	0.50	10^{-2}	10^{-4}
6.14 [b]	0.93	0.77	0.01	0.40	0.50	10^{-2}	10^{-4}
6.14 [c]	0.93	0.77	0.01	4.00	0.50	10^{-2}	10^{-4}
6.14 [d]	0.93	0.77	0.01	40.00	0.50	10^{-2}	10^{-4}
6.15 [a]	0.90	0.85	0.30	0.80	0.50	10^{-4}	10^{-4}
6.15 [b]	0.90	0.85	0.30	0.80	0.50	$5 \cdot 10^{-3}$	10^{-4}
6.15 [c]	0.90	0.85	0.30	0.80	0.50	10^{-2}	10^{-4}
6.15 [d]	0.90	0.85	0.30	0.80	0.50	0.10	10^{-4}
6.16	0.97	0.85	0.50	0.10	0.50	0.50	10^{-4}
6.17 N1	0.96	0.94	0.40	0.001	0.50	10^{-5}	10^{-1}
6.17 N2 N3	0.96	0.90	0.40	0.001	0.50	10^{-2}	10^{-3}

Tabela de Parâmetros referentes às figuras das seções 2 e 3