

TIAGO VENZEL ROSEMBACH

**MIGRAÇÃO DE CÉLULAS MDCK EM CULTURA:
UMA CARACTERIZAÇÃO QUANTITATIVA DE
MATÉRIA ATIVA VIVA**

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
2017

TIAGO VENZEL ROSEMBACH

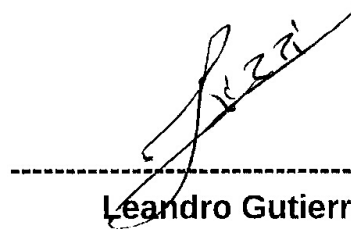
MIGRAÇÃO DE CÉLULAS MDCK EM CULTURA: UMA CARACTERIZAÇÃO
QUANTITATIVA DE MATÉRIA ATIVA VIVA

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*.

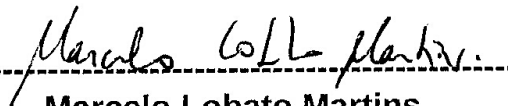
APROVADA: 03 de março de 2017.



Hallan Souza e Silva



Leandro Gutierrez Rizzi



Marcelo Lobato Martins
(Orientador)

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

T

R812m
2017
Rosembach, Tiago Venzel, 1990-
Migração de células MDCK em cultura : uma
caracterização quantitativa de matéria ativa viva / Tiago Venzel
Rosembach. – Viçosa, MG, 2017.
viii, 90f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui apêndices.

Orientador: Marcelo Lobato Martins.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Células - Difusão anômala. 2. Cultura de células.
3. Física estatística. 4. Física aplicada. I. Universidade Federal
de Viçosa. Departamento de Física. Programa de Pós-graduação
em Física Aplicada. II. Título.

CDD 22 ed. 571.6

Dedico aos meus pais, Atamir e
Eva, com toda a gratidão.

“Deus não joga dados.”

Albert Einstein

Agradecimentos

A Deus por ser a força que me sustenta em todos os momentos da minha vida.

Aos meus pais, Atamir e Eva, por tudo que fizeram e fazem por mim. Principalmente por me apoiarem na minha vida acadêmica e os esforços feitos para que chegasse aqui.

A Glaucia pelo companheirismo durante os momentos de cansaço e desânimo.

Ao professor Marcelo pela orientação e por ser um exemplo de pesquisador no qual sempre procuro me espelhar. Também aos meus co-orientadores, Anésia e Márcio, pela paciência e ensinamentos que me deram.

A todos os professores do departamento de Física da UFV com os quais tive a oportunidade de aprender algo nas disciplinas cursadas.

Aos funcionários do departamento, principalmente da Secretaria pela paciência e ajuda em todos os momentos.

À CAPES pela bolsa concedida e também ao CNPq e à FAPEMIG pelo suporte oferecido.

Aos colegas da graduação e pós-graduação pelos momentos de descontração.

Aos amigos que não foram mencionados mas estiveram presentes em algum momento desta caminhada. Muito Obrigado.

Sumário

Resumo	vii
Abstract	viii
1 Introdução	1
2 Revisão bibliográfica	3
2.1 Matéria Ativa	3
2.2 Migração celular	5
2.3 Caminhada aleatória e a difusão	10
3 Materiais e métodos	15
3.1 Produção das amostras	15
3.2 Aquisição das imagens	16
3.3 Análises das Imagens	17
3.4 Grandezas mensuradas	18
3.4.1 Velocidade	18
3.4.2 Histograma das velocidades	19
3.4.3 Correlação espacial de velocidade	19
3.4.4 Correlação de pares	20
3.4.5 Parâmetro de ordem	22
3.4.6 Deslocamento quadrático médio	22
3.5 Simulação	23
3.5.1 Caminhada Livre	24

3.5.2	Modelo de Vicsek et al.	24
4	Resultados e discussões	26
4.1	Experimentos	26
4.1.1	Células MDCK	26
4.2	Simulações	40
4.2.1	Caminhada Livre	40
4.2.2	Modelo de Vicsek	50
5	Considerações Finais	63
	Referências Bibliográficas	65
A	Macro usada no ImageJ para montar as imagens	68
B	Código fonte do modelo de Vicsek usado nas simulações	70
C	Código fonte do modelo de Caminhada Livre	79
D	Versão bi-dimensional da distribuição de Maxwell-Boltzman	84
E	Gráficos extras dos histogramas de velocidades no modelo de Vicsek	86

Resumo

ROSEMBACH, Tiago Venzel, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, março de 2017.
Migração de células MDCK em cultura: Uma caracterização quantitativa.
Orientador: Marcelo Lobato Martins. Coorientadores: Anésia Aparecida dos Santos e Márcio Santos Rocha.

O estudo da matéria ativa tem atraído grande interesse na atualidade. Em especial, a chamada matéria “ativa viva” vem sendo largamente estudada em razão dos padrões e/ou interações que são responsáveis por orientar e coordenar diversos processos, tais como, a cicatrização de feridas, a formação de tumores, a aglomeração de bactérias/células, entre outros. Todos estes esforços visam compreender tais fenômenos emergentes e auto-organizados que poderão ser usados na prevenção e no combate de diversos males, no desenvolvimento de novos materiais, processos de produção de energia e transporte de matéria. O presente projeto de pesquisa teve como objetivo caracterizar quantitativamente a migração coletiva de células MDCK *in vitro*. Ele foi dividido em duas frentes de trabalho: a primeira consistiu em produzir e estudar amostras de células MDCK cultivadas com diversas densidades. A segunda frente de trabalho consistiu em simular alguns modelos teóricos, como o proposto por *Vicsek et al.* [1] e algumas de suas variações, afim de compreender alguns dos resultados obtidos experimentalmente. A partir deste trabalho foi possível mostrar que células MDCK em cultura podem exibir uma caminhada anômala, levando a um regime de difusão que passa por estágio subdifusivos e superdifusivos, em alguns casos esta mudança ocorria em mais de uma vez. Além disso, podemos observar que em algumas densidades as velocidades das células só se correlacionam para pequenas distâncias, uma vez que elas tendem a formar aglomerados com poucas células, em sua grande maioria duas células. A partir de modelos simples foi possível obter alguns resultados semelhantes aos experimentais, como por exemplo, uma distribuição de velocidade tipo q-weibull, com correlação de velocidade somente entre vizinhos próximos.

Abstract

ROSEMBACH, Tiago Venzel, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, march, 2017. **Migration of MDCK cells in culture: A quantitative characterization.** Advisor: Marcelo Lobato Martins. Co-advisors: Anésia Aparecida dos Santos and Márcio Santos Rocha.

The study of active matter has attracted great interest in the present time. In particular, the so-called “living active” matter has been widely studied because of the patterns and/or interactions that are responsible for guiding and coordinating various processes, such as wound healing, tumor formation and aggregation of bacteria/cells, among others. All these efforts are aimed at understanding such emerging and self-organized phenomena that can be used in the prevention and combat of various pathologies, in the development of new materials or processes of energy production and transport of matter. The present research project aimed to quantitatively characterize the collective migration of in vitro MDCK cells. It was divided into two work fronts: the first consisted of producing and studying samples of MDCK cells cultured at various densities. The second work front was to simulate some theoretical models, such as that proposed by Vicsek et al. [1], and some of its variations, to understand part of the results obtained experimentally. From this work was possible to show that MDCK cells in culture can exhibit an anomalous motility, leading to a diffusion regime that undergoes subdiffusive and superdiffusive stages and that in some cases, inter changed between them more than once. Furthermore, we can observe that in some densities the cell velocities only correlate to small distances, since they tend to form agglomerates with few cells, mostly two cells. From simple models it was possible to obtain some results similar to the experimental ones. For example, q -Weibull speed distributions, with velocity correlations only between close neighbors were generated.

Capítulo 1

Introdução

Física (do grego antigo: *φυσικς*, *physis*, “natureza”) é a ciência que estuda a natureza e seus fenômenos, buscando compreender de uma forma ampla o comportamento da natureza e do mundo a nossa volta, desde as partículas elementares até o universo como um todo. A partir do método científico conciliado com a lógica, o físico é capaz de criar modelos científicos que descrevem e preveem fenômenos naturais [2].

Durante séculos a física se preocupou com a compreensão de fenômenos naturais em que a dinâmica do material é ditada por campos externos a ele. Porém, com o aparecimento de novos materiais devido ao grande avanço tecnológico do século passado foi possível observar sistemas que eram capazes de se autopropelirem fazendo uso de algum tipo de energia livre no meio ou armazenada no próprio material, como por exemplo, alguns colóides e robôs. O estudo destes materiais, chamados de “matéria ativa”, passou a despertar grande interesse porque eles possuem uma termodinâmica de não equilíbrio, permitindo o aparecimento de características como forte correlação espacial, auto-organização, mudanças bruscas de propriedades no meio, dentre outras [3, 4]. Devido as semelhanças entre matéria ativa com alguns seres vivos, a comunidade física começou a modelar e estudar de forma sistemática a dinâmica dos seres vivos, denominados “matéria ativa viva”.

A matéria ativa viva vem sendo largamente estudada em razão dos padrões e/ou interações que são responsáveis por orientar e coordenar diversos processos tais como, a cicatrização de feridas, a formação de tumores, a aglomeração de bactérias/células, entre outros.

Por exemplo, o comportamento migratório de células de hidra (célula animal) foi estudado por [5]. Neste trabalho foi possível observar de forma separada a agregação de células da ectoderme e da gastroderme, caracterizadas por trajetórias típicas de um movimento aleatório persistente em que o deslocamento quadrático médio como função do tempo apresenta um *crossover* entre um regime de difusão anômala para difusão normal. Ainda mais, as velocidades são distribuídas segundo uma q-gaussiana com correlação de

curto alcance.

Já no trabalho [6] foram analisados os comportamentos migratórios de células individuais das linhagens B16F10 (melanócito tumoral) e Melan A (melanócito não-tumoral) em baixa densidade. Foi observado que as linhagens estudadas apresentam um *crossover* entre um regime de difusão normal para uma superdifusão, que as velocidades dessas células se distribuem segundo uma curva do tipo q-gaussiana e que para tempos longos não há correlação entre as velocidades.

Outro estudo realizado com matéria ativa viva, desenvolvido por [7], mostrou que ao variar a concentração de *Escherichia coli* em suspensão em um dado fluido, o mesmo passava de altamente viscoso para se comportar como um superfluido.

Um dos primeiros trabalhos que estudou o comportamento da matéria ativa por intermédio da simulação foi realizado por [1]; o mesmo pode mostrar através de um modelo minimalista que partículas com autopropulsão poderiam se auto-organizar e passarem a migrar coletivamente. E que a mudança de um regime desorganizado, chamado por alguns autores de “paramagnético”, para um regime onde as partículas migrariam juntas para uma mesma direção, chamado de “ferromagnético”, dependeria de quão “ruidoso” é o sinal que tende a alinhar as partículas e a densidade local. Ainda segundo este trabalho esta transição ocorreria de uma forma contínua.

Todos estes esforços visam compreender fenômenos emergentes e auto-organizados que poderão ser usados na prevenção e no combate de diversos males, no desenvolvimento de novos materiais, processos de produção de energia e transporte de matéria.

Presente trabalho como objetivo caracterizar quantitativamente a migração coletiva de células MDCK *in vitro*. Ele foi dividido em duas frentes de trabalho: a primeira consistiu em produzir e estudar amostras de células MDCK cultivadas com diversas densidades. A segunda frente de trabalho consistiu em simular alguns modelos teóricos, como o proposto por *Vicsek et al.* [1] e algumas de suas variações, afim de compreender alguns dos resultados obtidos experimentalmente, a partir de modelos minimalistas. Para que isso fosse possível técnica de video microscopia, simulações e análises estatísticas foram utilizadas para a caracterização de células MDCK.

Capítulo 2

Revisão bibliográfica

2.1 Matéria Ativa

Segundo *Ramaswamy et al.* [8] partículas ativas contêm graus internos de liberdade com capacidade de absorver energia livre e dissipar energia e, no processo, executar movimento sistemático. Assim, a propriedade que caracteriza a matéria ativa é a capacidade das partículas autopropulsoras - partículas ativas - de converter a energia armazenada ou livre em movimento sistemático [3].

Em muitos casos, o estudo da matéria ativa leva a uma convergência entre as áreas de física e biologia, pois ambas têm interesse na mecânica dos sistemas de matéria ativa¹. Mais especificamente, os constituintes dos sistemas de matéria ativa possuem a capacidade de autopropulsão independente, convertendo “combustível” em movimento mecânico, o que inclui tanto entidades microscópicas como microrganismos e proteínas motoras. Corpos inanimados e não vivos também podem se autopropelir usando mecanismos diferentes dos organismos vivos, apresentando um comportamento coletivo que não é necessariamente diferente do apresentado pelos organismos vivos [4].

Independentemente da escala dos sistemas de matéria ativa, muitos são os sistemas onde as partículas tendem a se associar e a se mover coletivamente como, por exemplo, colônias de bactérias, enxames de insetos e rebanhos de gados. De acordo com [3] algumas interação entre partículas ativas e com o meio originam movimentos coletivos altamente correlacionados e com grande estresse mecânico. Em geral, as partículas ativas são alongadas e sua direção de autopropulsão é ajustada por sua anisotropia, ao invés de ser determinada por um campo externo, o que torna a ordem orientadora dessas partículas tema de grande especulação [3]. A Figura 2.1 exemplifica um destes processos onde ocorreu um ordenamento e a formação de uma direção bem definida em uma colônia de

¹No caso onde as partículas são seres vivos é comum denominá-los de matéria ativa viva.

mixobactérias.

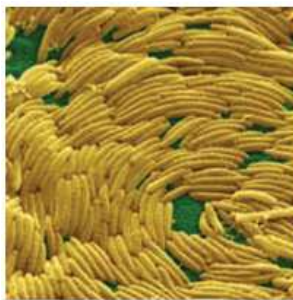


Figura 2.1: Ordem líquido-cristalina em uma colônia de mixobactérias. Retirado de [3].

Para o caso da matéria ativa não viva a ordem orientadora pode ser exemplificada por partículas coloidais propelidas através de um fluido por atividade catalítica, que ocorre em sua superfície, como mostra a Figura 2.2.

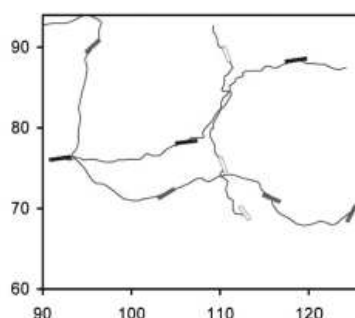


Figura 2.2: Colóides que ‘nadam’: O peróxido de hidrogênio é oxidado para gerar prótons em solução e elétrons na ponta dos fios de ouro-platina de tamanho micrométrico. Os prótons e elétrons são então consumidos com a redução do H_2O_2 na ponta de ouro. O fluxo de íons resultante induz um campo elétrico e movimenta a partícula em relação ao fluido, impulsionando a partícula em direção à ponta de platina, com velocidades de dezenas de microns por segundo. Em escalas de tempo mais longas, as varetas se retorcem devido principalmente a ruído térmico; o movimento resultante é, portanto, um passeio aleatório persistente. Retirado de [3].

Comparando-se sistemas de matéria ativa com sistemas de não equilíbrio mais conhecidos pode-se dizer que a entrada de energia que impulsiona o sistema de não equilíbrio é local, impulsionando individualmente cada partícula. No caso dos sistemas ativos cada partícula ativa consome e dissipa a “sua” energia, passando por um ciclo que alimenta mudanças internas, geralmente levando ao movimento [3].

A mecânica e a estatística dos sistemas de matéria ativa têm sido alvo constante de estudos nos últimos anos, tendo atraído atenção recente para o comportamento de não-equilíbrio da matéria ativa, o qual não pode ser observado em sistemas tradicionais da termodinâmicos de equilíbrio [4].

Takatori et al. [4] afirma que todos sistemas de matéria ativa estão intrinsecamente

fora de equilíbrio e que apresentam redes muito complexas e especializadas, que relacionam a entrada à resposta, tornando a compreensão teórica de seus comportamentos um problema desafiador e intrigante. Assim, por exemplo, *Matias Lopes et al.* [7], ao estudar a variação da densidade de *Escherichia coli* em suspensão, observou que para algumas densidades, o movimento destas bactérias fazia o meio de cultura mudar drasticamente as suas propriedades, passando de um meio altamente viscoso até um meio com comportamentos semelhantes ao superfluido.

2.2 Migração celular

A migração celular é um processo extremamente complexo e de múltiplas escalas, envolvendo desde alguns íons até estruturas compostas por várias substâncias e proteínas. Quase todos os tipos celulares, mesmo nos seres eucarióticos e pluricelulares, realizam a migração celular em pelo menos uma fase do seu desenvolvimento. Por exemplo, células epiteliais, osteócito e até mesmo neurais, migram intensamente ao longo da sua morfogênese e cessam a migração uma vez que se dá a sua diferenciação em um tecido saudável. Porém, se alguma lesão ou doença ocorre no tecido, a migração destes tipos celulares pode se intensificar novamente, como quando ocorre a cicatrização de feridas na pele que induz a migração coordenada de fibroblastos, macrófagos, células epiteliais vizinhas, dentre outras, para que a cisão no tecido possa ser fechada. Outro exemplo de reativação desta migração intensificada ocorre em alguns tipos de células tumorais que ao entrarem em metástase podem se desprender do tumor original alcançando o sistema linfático e/ou vascular, serem transportadas para outras regiões do organismo, se fixarem e originarem um novo tumor. Por outro lado, em certos tipos celulares, como os leucócitos, a migração está associada à sua função e é mantida ao longo de toda a sua vida [9].

Alguns tipos celulares migram somente quando estão na presença de certos tipos de substratos, tais como as células epiteliais saudáveis que são capazes de se mover sobre a membrana basal, porém não são capazes de se locomover inter tecidual. Por outro lado, os leucócitos são mais versáteis, sendo capazes de interagir e se locomover em uma grande variedade de substratos presentes no corpo. Apesar destas células poderem migrar sobre um mesmo meio e até mesmo possuírem processos básicos em comum, como a capacidade de efetuar ligações com as mesmas estruturas proteicas presentes no substrato, cada tipo celular usa um conjunto distinto de moléculas internas e respondem a estímulos extracelulares distintos para realizarem a migração [9, 10].

Sendo assim, as migrações unicelular e coletiva servem, em geral, a propósitos diversos, e na grande maioria excludentes, durante a morfogênese, regeneração de tecidos e

também em condições patológicas. A migração coletiva de células é fundamental para a criação, formação e remodelagem de tecidos complexos, tais como a epiderme, ductos, glândulas e vasos; mas também está presente no desenvolvimento de um tumor localizado. Por outro lado, a migração unicelular permite que células inicialmente localizadas em regiões distantes possam interagir dentro de tecidos locais, tais como a migração celular da crista neural, ou se mover de uma região para a outra no corpo e executar funções de extrema importância, tais como as sondagens realizada por células do sistema imunológico. Além disso, a migração unicelular também está presente durante a metástase do câncer. Apesar de muitos esforços e trabalhos, nem todas as moléculas envolvidas nestes são completamente compreendidas. Somente alguns parâmetros importantes foram identificados como essenciais para que se leve a um dado tipo de migração, podendo alterar a atividade, ou até mesmo para iniciar uma transição entre os modos de migração, como por exemplo, a síntese algumas proteínas, polimerização do citoesqueleto, lamelopódios, dentre outros [9, 10, 11].

O conjunto de características expressos pelas células ao migrarem, denominados modo de migração, eram classificados somente pela forma que as células assumiam ao longo de suas trajetórias. Por exemplo, uma célula que ao migrar lançavam preponderâncias, pseudópodes, vide Figura 2.3, e a partir delas eram capazes de se mover, era classificada como tendo uma migração por pseudópodes. Porém com estudos mais aprofundados da bioquímica, a terminologia precisou ser ampliada afim de incluir parâmetros moleculares e os tipos de interação que estas células possuem ao migrarem².

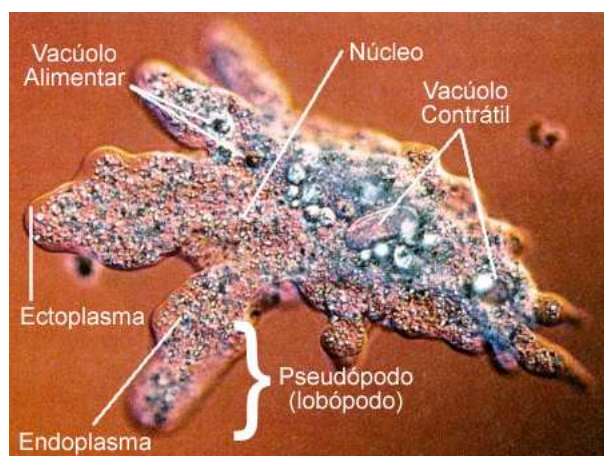


Figura 2.3: Imagem mostrando algumas estruturas celulares. FONTE: <http://www.infoescola.com/reino-protista/protozoarios-ameboides-rizopodes/>, acessado em 11/01/2017 às 11:00.

Apesar de *in vivo* a migração ocorrer em um espaço tridimensional, alguns modos ocorrem como se fossem bidimensionais. De fato, queratinócitos e células epiteliais migram

²Caso seja do interesse do leitor, em [9] há uma tabela resumindo os principais modos de migração com as suas características.

através de um fino substrato bidimensional, a membrana basal, em uma rápida dispersão e mantendo a adesão entre as células intactas, formando com isso uma *lâmina* de células migrando nesse espaço bidimensional. Em diferentes tipos de células, a eficiência de migração é diferenciada, levando a movimento com grande variação na suas velocidades, desde a rápida sondagem executada por um único leucócito até a lenta migração invasiva de fibroblastos dentro da matriz provisória de cicatrização, ou ainda a lentíssima migração ordenada durante a formação de um órgão [9, 10, 11].

Dentre os modos de migração dois deles são muito comuns em seres eucariotos: o *blebbing*, um modo no qual o movimento possui uma fraca adesão e protrusões a partir do desmanche/desprendimento do córtex celular e das fibras de actinas que ancoram a membrana celular ao citoesqueleto. Isso gera o aparecimento de preponderâncias semelhantes a bolhas que pressionam a membrana contra o substrato fazendo com que as células sejam empurradas/puxadas, vide Figura 2.4. O outro modo de migração é o mesenquimal. Diferente do processo anterior, *blebbing*, no modo de migração mesenquimal as células realizam todo um ciclo onde são geradas protrusões e tensões estruturadas pelo citoesqueleto e adesões. A Figura 2.5 esquematiza o modo de migração mesenquimal³. O modo de migração mesenquimal se inicia com a polarização da célula, que cria protrusões na forma de lamelopódios ou filopódios. Estas protusões são formadas pela auto-organização e expansão dos citoesqueleto, mais especificamente pela polimerização de fibras de actinas e a síntese/transportes de proteínas, que pressionam a membrana celular. Estas protusões são estabilizadas formando novos focos de adesão, realizadas, principalmente, por proteínas denominadas integrinas, o que possibilita uma forte adesão entre a célula e o substrato. Uma vez estabelecida a adesão, mais proteínas são recrutadas gerando uma “cascata bioquímica” que, retroalimenta as protusões e a polarização celular, para que continue a migração. Na parte traseira da célula polarizada atuam proteínas, tais como a Rho, que proporcionam um aumento na força realizada pelas miosinas sobre fibras de actina, tensionando-as, causando a retração e a perda da adesão celular nesta região [9, 10, 11, 12].

Conforme discutidos anteriormente, os processos envolvidos na migração celular podem ser “simples”, por exemplo no *blebbing*, possibilitando a sua realização de forma mais rápida, ou extramente complexos, mesenquimal, onde as células precisam se reestruturar levando muita das vezes a um processo migratório mais lento e persistente. Uma vez polarizada, a célula tende a manter sua direção de migração [13, 12]. Além disso, com a impossibilidade de continuar a utilizar algumas das estruturas necessárias, por exemplo quando uma célula epitelial termina a sua gênese passando a desenvolver a sua função de revestimento, as mesmas podem mudar o seu modo de migração. Em vários deste

³Caso o leitor não esteja familiarizado com termos como fibras de tensão (associadas a citoesqueleto), miosina (proteína motora que atua em fibras de actina), fibras de actina (associadas ao citoesqueleto), consulte as referências [9, 10, 11, 12]

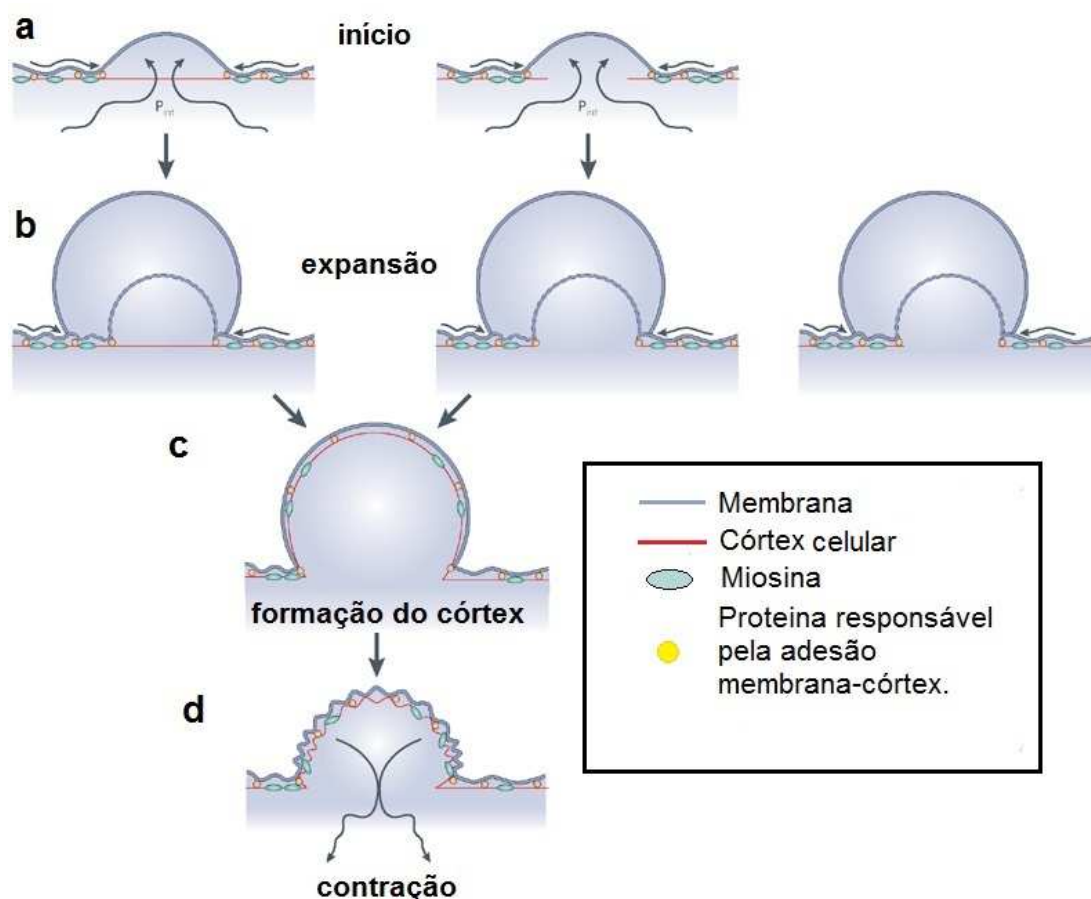


Figura 2.4: Imagem exemplificando a formação de um *blebbing*. (a) A formação do *blebbing* pode ocorrer pelo desprendimento do córtex em relação a membrana celular (esquerda) ou pelo rompimento local do córtex celular (direita). (b) A pressão hidrostática existente no interior do citoplasma (P_{int}) provoca a expansão da membrana ao impulsionar o fluido do citoplasma contra a membrana solta (esquerda) ou através da região de ruptura do córtex (direita). Ao mesmo tempo esta membrana pode continuar se desprendendo de uma região ainda maior do córtex (linha tracejada). (c) Com o fim da expansão desta estrutura semelhante a uma bola, um novo córtex de actina se forma sobre a membrana desta “bolha”. (d) Por fim com a incorporação de miosinas para o novo córtex inicia o processo de retração da bolha. Imagem adaptada de [13].

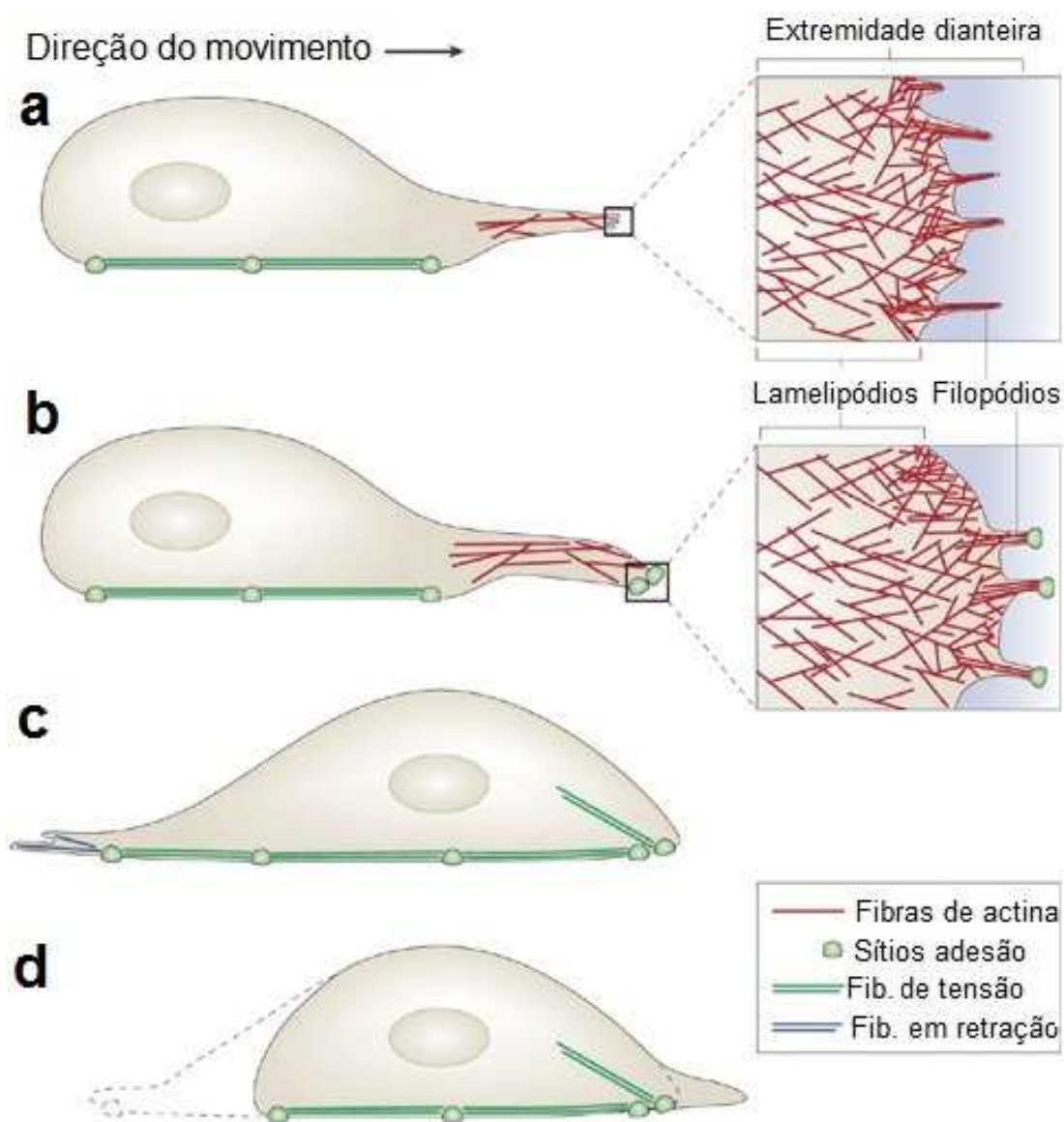


Figura 2.5: Imagem exemplificando um modo de migração mesenquimal. **(a)** A migração se inicia com a formação de protusões dependentes de actina na extremidade dianteira. Elas são compostas basicamente por filopódios e lamelipódios. Estas estruturas de protusões são compostas, em sua maioria, por fibras de actina, com extremidades alongadas, serrilhada, orientadas para a membrana plasmática. **(b)** Durante a extensão, novas adesões são realizadas com o substrato. **(c)** O núcleo e o corpo celular são translocados para frente através de forças de contração geradas pela ativação de miosinas que podem ser mediadas por fibras de tensão localizadas próximo aos pontos de adesão. **(d)** Em seguida, as fibras de tensão puxam a parte traseira da célula para a frente, as aderências na parte traseira da célula são desmontadas e fazendo se retrair. Imagem e legendas adaptada de [12].

modos a caminhada realizada pelas células pode apresentar propriedades muito distintas das observadas em um processo de difusão normal, vide Seção 2.3, e distintas entre eles. Por isso muitos trabalhos recentes tentam descrever e compreender a dinâmica executada pelas células ao longo de sua migração auxiliando na compreensão, nas mais variadas escalas, de todos os mecanismos envolvidos em cada um dos modos de migração.

Nas condições dos experimentos realizados neste trabalho, veja Seção 3.1, as células aparentam migrar segundo um modo mesenquimal, pois as mesmas apresentam uma forte adesão com o substrato e a formação de estrutura que muito se assemelham a lamelo-pódios. Um estudo mais aprofundado, principalmente em escala molecular e estrutural, seria necessário para afirmar com uma maior precisão o modo de migração.

2.3 Caminhada aleatória e a difusão

Quando um móvel realiza um movimento onde a direção de propagação é assumida de maneira estocástica⁴ a cada passo, dizemos que o mesmo realiza uma caminhada aleatória. Quando a mudança na posição do móvel ocorre de forma contínua, e não em passos, dizemos que o mesmo realiza uma difusão. Em razão de sua ubiquidade, os estudos e modelagem desses processos estocásticos se tornou uma das aéreas de maior importância na física teórica. Nela inclui-se sistemas físicos das mais variadas escalas, desde sistemas microscópicos até sistemas compostos por astros [16, 14, 15].

Um dos movimentos aleatórios largamente discutido, inclusive em livros didáticos, é o movimento Browniano observado pela primeira vez em 1827 por Robert Brown ao colocar grãos de pólen na água. Ele verificou que os mesmos começavam a se movimentar em *zig-zag* através do fluido, porém o Brown não foi capaz de explicar o que poderia gerar este tipo de movimento. A explicação para este comportamento foi feita por Einstein somente em 1905 ao considerar a agitação térmica das moléculas no entorno do pólen. Segundo Einstein, essa agitação fazia com que as moléculas colidissem de maneira estocástica com o grão de pólen fazendo com que ora ele se movesse para um lado, ora para outro. A Figura 2.6 mostra como é uma trajetória típica de uma partícula ao executar um movimento deste tipo.

Consideremos o caso unidimensional onde uma partícula pode se deslocar dando passos de comprimentos iguais (l) para a direita com uma probabilidade p , ou para a esquerda com uma probabilidade q , tal que $p + q = 1$. Um esquema deste tipo de caminhada pode ser vista na Figura 2.7.

⁴Caso o leitor não esteja familiarizado com definições e propriedades de variáveis aleatórias e processos estocásticos sugiro que consulte [14, 15].

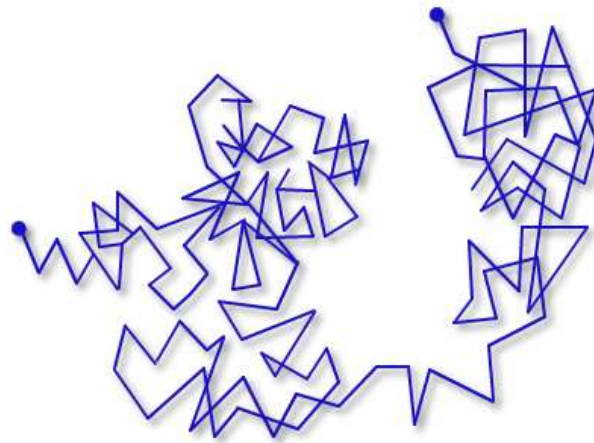


Figura 2.6: Imagem que mostra a trajetória típica de uma partícula realizando um movimento Browniano em 2-D. O ponto da esquerda indica a posição inicial da partícula e o da direita o final da trajetória. FONTE: <http://www.tutorvista.com/physics/brownian-motion-definition>, acessado em 08/01/2017.

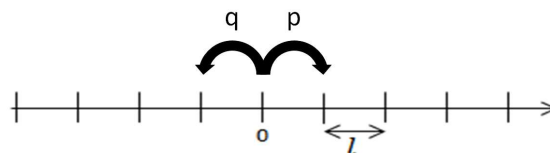


Figura 2.7: Caminhada aleatória unidimensional com passos de comprimento l .

Neste caso podemos ver que após N passos a probabilidade que, em uma única caminhada, esta partícula tenha dado N_1 passos para a direita e $N_2 = N - N_1$ para a esquerda é dado por

$$P_N(N_1, N_2) = p^{N_1} q^{N_2} \quad (2.1)$$

Mas note que a ordem com que os passos foram dados para a direita ou para a esquerda não interfere na posição final da partícula, uma vez que os passos são dados de forma independente. Deste modo podemos verificar que o número de trajetórias distintas que esta partícula pode realizar e, após N passos, ter andado N_1 passos para a direita e $N_2 = N - N_1$ para a esquerda será dado por

$$\Omega = \frac{N!}{N_1! N_2!}. \quad (2.2)$$

Então, a probabilidade desta partícula ter feito um movimento onde $k = (N_1 - N_2)$, após N passos, será⁵

⁵Caso o leitor tenha alguma dúvida sobre as manipulações que estão sendo feitas sugiro que leia o capítulo primeiro de [15].

$$P_N(k) = \frac{N!}{\left(\frac{N+k}{2}\right)! \left(\frac{N-k}{2}\right)!} p^{\frac{N+k}{2}} q^{\frac{N-k}{2}} \quad (2.3)$$

A Figura 2.8 mostra o comportamento de $P_N(k)$ para $N = 100$ e alguns valores distintos de p e q .

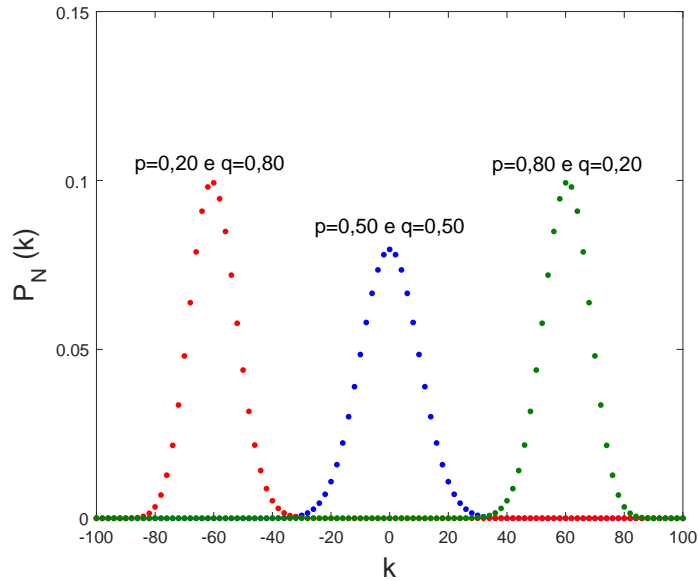


Figura 2.8: Gráfico mostrando o comportamento de $P_N(k)$ para $N = 100$ e valores distintos p e q .

Note que, se após N passos, o movimento foi tal que $k = (N_1 - N_2)$, certamente após $N - 1$ passos, a partícula tinha $k' = k - 1$ e deu um passo para a direita, ou, $k' = k + 1$ e deu um passo para a esquerda, vide Figura 2.9. Sendo assim podemos deduzir a seguinte equação de recorrência

$$P_N(k) = pP_{N-1}(k-1) + qP_{N-1}(k+1) \quad (2.4)$$

Manipulando a Equação 2.4 e assumindo que $q = p = 0.5$ podemos observar que,

$$P_N(k) - P_{N-1}(k) \sim \{P_{N-1}(k-1) + P_{N-1}(k+1) - 2P_{N-1}(k)\} \quad (2.5)$$

Agora para efetuar a conexão do movimento Browniano com o fenômenos de difusão, vamos assumir que cada passo foi dado em intervalos de tempo τ . Desta forma o tempo decorrido será dado por $t = N\tau$ e a posição da partícula neste instante será dada por $x = kl$. Assumindo ainda que no movimento $\tau \approx 0$ e que o tamanho de cada passo l é muito menor que as dimensões do sistema físico, teremos que

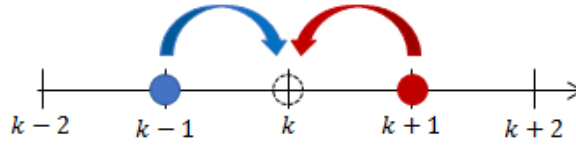


Figura 2.9: As duas situações que levariam uma partícula, após N passos, ter um dado valor de k . Na primeira delas, representada pela cor azul, após $N - 1$ passos, a partícula estava em $k' = k - 1$ e dá um passo para a direita. Já no segundo caso, em vermelho, após $N - 1$ passos, a partícula estava em $k' = k + 1$ e dá um passo para a esquerda.

$$\frac{P_N(k) - P_{N-1}(k)}{\tau} \sim \frac{\partial P(x, t)}{\partial t} \tag{2.6}$$

$$\frac{P_{N-1}(k - 1) + P_{N-1}(k + 1) - 2P_{N-1}(k)}{l^2} \sim \frac{\partial^2 P(x, t)}{\partial^2 x}. \tag{2.7}$$

Consequentemente a Equação 2.5 no limite contínuo assume a forma

$$\frac{\partial P(x, t)}{\partial t} = D \frac{\partial^2 P(x, t)}{\partial^2 x} \tag{2.8}$$

sendo $D = \frac{l^2}{2\tau}$ o coeficiente de difusão⁶. Esta é a versão unidimensional da equação de difusão normal. Considerando que o espaço seja isotrópico, a generalização para três dimensões pode ser feita de uma forma imediata

$$\frac{\partial P(\vec{x}, t)}{\partial t} = D \cdot \nabla^2 P(\vec{x}, t) \tag{2.9}$$

Para um valor genérico D e supondo que a partícula parte da origem do sistema de coordenadas, a Equação 2.9 pode ser facilmente resolvida utilizando as transformadas de Fourier e suas inversas⁷. A solução é

$$P(\vec{x}, t) = \frac{1}{\sqrt{2\pi Dt}} e^{-\frac{\vec{x}^2}{2Dt}}. \tag{2.10}$$

Sendo assim, a distribuição de probabilidade para o deslocamento de um caminhante numa caminhada aleatória converge para uma distribuição gaussiana. Apesar de não ser demonstrado no presente texto, sabemos que independentemente da forma da distribuição

⁶Apesar de não ter sido mencionado a Equação 2.8 só é válida no caso onde $N \gg 1$, para o caso com poucos passos consultar [16]

⁷Para maiores informações sobre Transformada de Fourier e suas aplicações, consulte o sétimo capítulo de [17]

dos passos desde que ela possua variância e média finitas, a probabilidade do deslocamento vai sempre convergir para uma distribuição gaussiana. O que segundo *da Silva* [16] surge do teorema central do limite. Para maiores informações consultar [14, 16]. Para esta classe de processos podemos verificar que

$$\langle r^2 \rangle(t) = \langle x^2 \rangle(t) = \int_0^\infty x^2 P(\vec{x}, t) \propto t, \quad (2.11)$$

ou seja, o deslocamento quadrático médio (DQM) é proporcional a t , independente da dimensão do sistema física estudado. Assim, em media, os móveis tendem a se afastar da posição inicial, exceto por uma fator constante, linearmente com o tempo. Processos de difusão com estas características recebem o nome de difusão normal.

Inúmeros são os sistemas físicos que possuem este comportamento. Porém muitos trabalhos recentes tem observado sistemas físicos onde o DQM não escala com o tempo de forma linear, vide Seção 4.1 [6, 18, 19, 20, 21]. Então os regimes de difusão anômalos podem ser identificados ao analisarmos o comportamento do desvio quadrático médio. O $\langle r^2 \rangle(t)$ pode se relacionar com o tempo de diversas formas, dependendo, por exemplo, dos tipos de interações entre as partículas envolvidas. Dentre esses tipos é muito frequente observar que o DQM cresce segundo uma Lei de Potência, ou seja,

$$\langle r^2 \rangle(t) \propto t^\alpha \quad (2.12)$$

Quando o valor de $\alpha = 1$ o regime de difusão é normal. Já quando o valor de $\alpha < 1$ o regime é subdifusivo e para $\alpha > 1$ é superdifusivo. Alguns trabalhos recentes mostram ainda que em certos sistemas em que as partículas executam uma migração anômala, o valor de α pode depender de t , ou seja, $\alpha = \alpha(t)$, e as partículas podem ficar alternando os seu regime de difusão [5, 6, 22, 23].

Capítulo 3

Materiais e métodos

3.1 Produção das amostras

Para a realização dos experimentos a linhagem celular *Madin-Darby Canine Kidney* (MDCK) foi cultivada pela equipe do Laboratório de Física Biológica (DPF-UFV) em garrafas 25mm^2 *Cell Culture Flask Canted Neck*, Nest[®] com capacidade para 60mL e área de cultivo de 25mm^2 .

Esta linhagem, extraída do tecido epitelial renal de cães adultos, foi escolhida por possuir uma forte adesão, a tendência de formar monocamada até que a confluência¹ ocorra, além de visualmente apresentarem uma movimentação superior as demais linhagens disponíveis. Estas características foram importantes para o tipo de grandezas físicas que foram medidas.

O meio de cultura utilizado foi o *Dulbecco's Minimum Essential Medium* (DMEM), adquiridas da empresa Sigma Aldrich, enriquecido com 10% de soro bovino fetal (Cultilab), 2mM de piruvato de sódio e 1mM de “aminoácidos não essenciais”. Além disso foi adicionado mais 100i.u./mL de penicilina, 100 μg /mL de estreptomicina e 2,5ng/mL de anfotericina B afim de evitar qualquer contaminação bacteriana. Já para obter um bom crescimento da cultura as garrafas foram mantidas em uma estufa a 37°C com uma concentração de 5% de CO₂. A escolha desta metodologia se deu pelo fato que ela se mostrou eficaz no cultivo e no crescimento de diversas linhagens celulares anteriormente estudadas pelo grupo de pesquisa, tal como, no trabalho feito por [6]. Além do mais, esse protocolo atende as especificações descritas por algumas empresas que trabalham com o fornecimento de linhagem celulares.

As amostras foram produzidas plaqueando 5.000 e 50.000 células (cada quantidade foi usada em uma etapa distinta da pesquisa), oriundas das culturas supra discutidas,

¹Termo utilizado para indicar que toda a superfície do substrato foi coberta por células.

em placas $\mu - Dish^{35mm,high} glass bottom$ (ibidi®), acrescidas de $2mL$ do meio de cultura para que as células se mantivessem nutridas ao longo de todo o experimento. Após serem plaqueadas as amostras eram levadas a mesma estufa onde foram cultivadas e eram mantidas por um tempo de $6h$ antes de serem submetidas à videomicroscopia. Acreditava-se que após este período todas as células plaqueadas já tenham aderido ao substrato e estejam no seu processo migratório “natural”, ou seja, livre do *stress* de serem transferidas do frasco para a placa².

3.2 Aquisição das imagens

Após $6h$ na estufa as amostras eram encaminhadas a BioStation-IMq (Nikon®), vide Figura 3.1, onde algumas das suas regiões foram fotografadas a cada $5min$ durante $12h$ usando uma objetiva de 20x. A BioStation-IMq, doravante chamada somente de BioStation, é basicamente um microscópio invertido acoplado a um porta-amostra onde a temperatura, umidade e concentração de CO_2 são mantidas a valores constante (no nosso caso serão os mesmos usados na estufa, vide Seção 3.1). Neste ambiente controlado reduzimos o *stress* proveniente de uma possível mudança das condições experimentais, além de evitar a acidificação do meio durante o período de obtenção das imagens.



Figura 3.1: Imagem da BioStation utilizada na análise das amostras.

Foram obtidas imagens de regiões conexas das amostras afim de formar um único campo de visão composto pela união de trinta imagens, cinco na vertical e seis na horizontal (vide Figura 3.2), em cada instante e salvas no formato *tiff*³. Após as devidas regiões serem fotografadas as imagens foram unidas, fazendo uso do software ImageJ (licença livre) juntamente com a macro *Make Montage*, uma cópia do código fonte da macro está no Apêndice A, formado um único campo de visão com resolução de $3840 \times 2400 pixel^2$

²Os detalhes que envolvem esta transferência fogem ao escopo do presente, porém é preciso ressaltar que ela envolve o uso de proteínas, centrifuga, agitação, dentre outros passos, que mudam drasticamente as condições nas quais as células estavam submetidas, consultar [6].

³Este formato de imagens é livre de compactação permitindo uma imagem vetorizada e livre de *aliasing*, apesar de ocupar mais espaço.

($2511,39 \times 1557,06 \mu\text{m}^2$), o que permitiu determinar a localização de pontos na imagem com uma grande precisão.

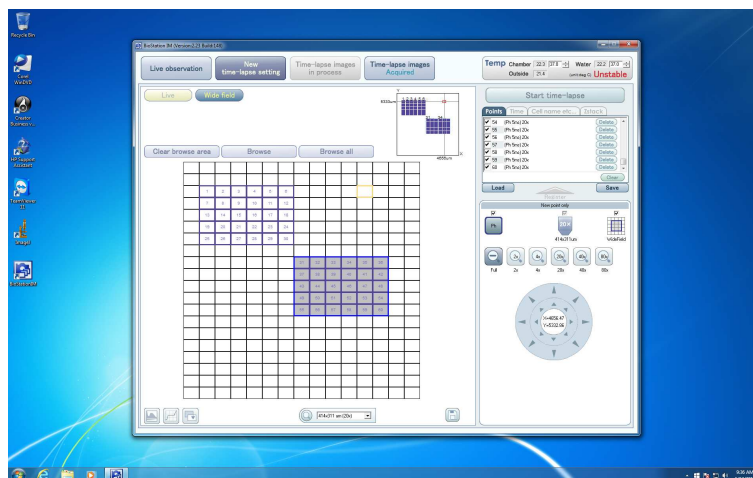


Figura 3.2: Imagem do software que controla a BioStation exemplificando como as regiões (em retângulos) foram fotografadas para a formação de um campo de visão (a região cinza escura).

3.3 Análises das Imagens

Uma vez que o campos de visão em todos os instantes foram devidamente montados e salvos é feita a extração das posições dos centroides de cada célula ao longo do tempo também pelo ImageJ. Para tal foi marcado manualmente o centro geométrico da célula em cada instante e salva as suas coordenadas em uma tabela, vide Figura 3.3. Apesar de parecer imprecisa esta metodologia se mostrou eficaz, pois a extração do centroide é muito mais rápida se comparada com o método usado em experimentos anteriores [6], que consistia em desenhar a borda celular manualmente e calcular o centro geométrico a partir da mesma e que é tradicionalmente usada em experimentos semelhantes. Ao se comparar os valores obtidos dos pares coordenados dois métodos, obtê-se um desvio padrão médio de $2,3 \mu\text{m}$ sendo um bom valor, pois é uma ordem de grandeza menor que o raio característico⁴ de uma célula, vide Subseção 4.1.1.

⁴Para o sistema físico estudado, basicamente bidimensional, o raio característico seria o raio de uma circunferência que teria a mesma área da célula que esta sendo analisada. Para fazer a estimativa deste valor foram usadas as áreas de 30 células escolias ao acaso em diversos tempos e experimentos.

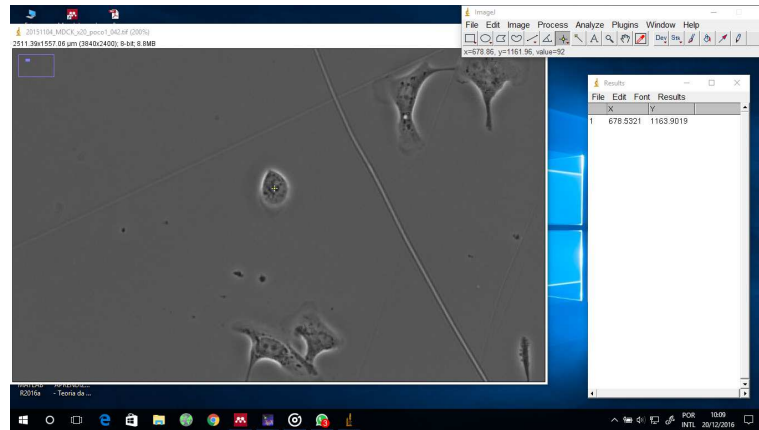


Figura 3.3: Imagem exemplificando o ambiente de trabalho na extração do centroide de uma célula.

3.4 Grandezas mensuradas

Trabalhar com sistemas formados por matéria ativa geralmente envolve estudar o comportamento e padrões oriundos da interação de diversos corpos fora do regime termodinâmico de equilíbrio. Portanto, na grande maioria estamos impedidos de usar uma formulação baseada em leis ou conceitos da termodinâmica de equilíbrio para nos auxiliar na compreensão destes sistemas. Logo a medida de algumas quantidades físicas de carácter puramente estatístico se torna de extrema importância para o desenvolvimento do presente trabalho.

3.4.1 Velocidade

Dentre as quantidades físicas analisadas podemos destacar a velocidade $\vec{v}_i(t)$ que a i -ésima célula assumia no instante t . Ela foi calculada através das posições consecutivas do centroide. Ou seja,

$$\vec{v}_i(t) = \frac{\vec{r}_i(t + \Delta t) - \vec{r}_i(t)}{\Delta t} \quad (3.1)$$

sendo $\vec{r}_i(t + \Delta t)$ a posição do centroide da i -ésima célula no instante $t + \Delta t$, $\vec{r}_i(t)$ a posição do centroide no instante t e Δt o intervalo de tempo entre a aquisição de dois *frames* consecutivos. Em nossos experimentos Δt era de $5min$.

3.4.2 Histograma das velocidades

O histograma de velocidades mede a probabilidade de que uma célula tenha o módulo do seu vetor velocidade entre v e $v + dv$ em cada instante de tempo t , ou seja,

$$P_t(v, v + dv) = \frac{\sum_{i=1}^N \Gamma_v^{v+dv}(v_i(t))}{N} \quad (3.2)$$

sendo o N o número de células presente no instante t , dv é o tamanho das janelas e Γ_v^{v+dv} é a função degrau em um intervalo finito definida como,

$$\Gamma_v^{v+dv}(v_i(t)) = \begin{cases} 0 & \text{se } v_i(t) > v + dv \\ 1 & \text{se } v < v_i(t) < v + dv \\ 0 & \text{se } v_i(t) < v \end{cases} \quad (3.3)$$

Vale a pena observar que em geral a forma da distribuição depende da escolha do tamanho de dv . Afim de padronizar a escolha do tamanho de dv foram feitos histogramas para valores distintos do mesmo, de tal forma que o intervalo⁵ $[0, v_{max}]$ fosse dividido de 5 a 60 subintervalos de tamanhos iguais. Uma vez feito isso, observou-se a faixa de valores na qual a forma da curva não mudava “muito”. Então era escolhido o valor médio entre os extremos deste intervalo.

A análise desta grandeza pode ser útil para auxiliar na compressão do tipo de caminhada executada pelas células e a partir dela podemos propor alguns modelos matemáticos. Por exemplo, no trabalho [6], a distribuição de módulos da velocidade indica que as células possuíam uma difusão anômala, superdifusiva. Olhando para o ajuste da distribuição e os valores dos mesmos, os trabalhos [5, 24] mostraram que em certas condições experimentais as células de hidra também possuem uma caminhada anômala.

3.4.3 Correlação espacial de velocidade

A correlação espacial de velocidades é definida como,

$$C_v(x, y) = \langle (\hat{v}_i \cdot \hat{v}_j) \delta(x\hat{x} + y\hat{y} - (\vec{r}_i - \vec{r}_j)) \rangle_{ij} \quad (3.4)$$

onde \hat{v}_i é o vetor unitário que aponta na direção da velocidade da i -ésima célula, \vec{r}_i é a posição da i -ésima célula, $\langle \dots \rangle_{ij}$ representa a média sobre todos os possíveis pares de partículas, $\vec{x} = (x, y)$ é o vetor que vai da posição do centroide da j -ésima até o centroide da i -ésima partícula e δ é uma função com comportamento semelhante a distribuição de

⁵O v_{max} é o módulo da maior velocidade observada em todos os tempos para cada amostra.

Dirac, só que neste caso ela assume o valor de 1 se o argumento for um vetor nulo e 0 caso contrário.

Esta medida é útil para investigação da correlação das velocidades das partículas no espaço, ou seja, se partículas separadas por um vetor \vec{r}_{ij} estão migrando na mesma direção e sentido. Por exemplo, com ela podemos ver se partículas dentro de um aglomerado possuem o vetor velocidade correlacionado. Para isso basta olhar se o valor da correlação para valores pequenos de x e y , e verificar se possuem uma forte correlação ou não. Além disso podemos analisar se entre os aglomerados as velocidades estão correlacionadas. Quando isso ocorre haverá regiões com valores de correlação elevada, formando tipo ilhas. A Figura 3.4 mostram alguns destes gráficos típicos. Na Figura 3.4 (a) vemos uma situação onde as partículas não possuem nenhum tipo de correlação. Como podemos observar o valor de $C_v(x, y)$ é basicamente nula em todo o espaço. Já para Figura 3.4 (b) podemos observar uma região com um amarelo de coloração intensa para valores de x e y pequenos, indicando que partículas próximas estão migrando na mesma direção e sentido, estando as suas velocidades fortemente correlacionadas. Ainda mais, na imagem Figura 3.4 (b) podemos observar para valores maiores de x e y , a formação de regiões, ou “ilhas”, onde predominam um tom amarelado indicando a existência de correlação nas velocidades entre aglomerados; também podemos observar a existência de algumas regiões onde existe um tom azulado indicando agora a existência de anti-correlação entre alguns aglomerados, isto é, que eles estão migrando em sentidos opostos. Já na Figura 3.4 (c) temos a situação onde todas as partículas possuem suas velocidades correlacionadas, mesmo que pertençam a aglomerados distintos. No trabalho feito por [25], esta medida de correlação foi capaz de mostrar que as velocidades de bactérias próximas, distantes de alguns poucos raios típicos das bactérias, eram fortemente correlacionadas. Para distâncias maiores não se observava a correlação, mostrando que havia correlação de velocidade intra-aglomerados mas não entre os aglomerados.

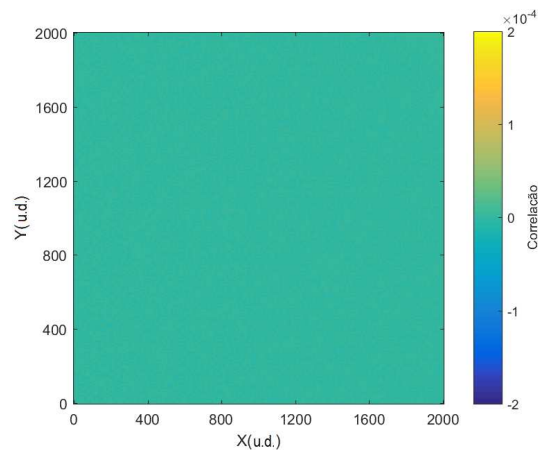
3.4.4 Correlação de pares

A correlação de pares, $g(x, y)$, é definida como,

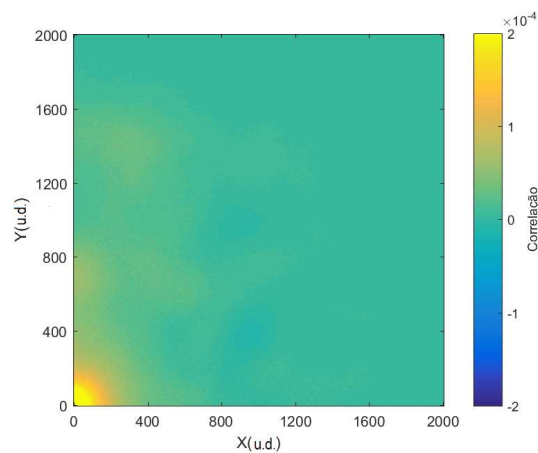
$$g(x, y) = \frac{\langle \delta(x\hat{x} + y\hat{y} - (\vec{r}_i - \vec{r}_j)) \rangle_{ij}}{\rho} \quad (3.5)$$

onde $\vec{x} = (x, y)$ é o vetor que vai da posição do centroide da j -ésima até o centroide da i -ésima partícula e ρ é a densidade superficial de células.

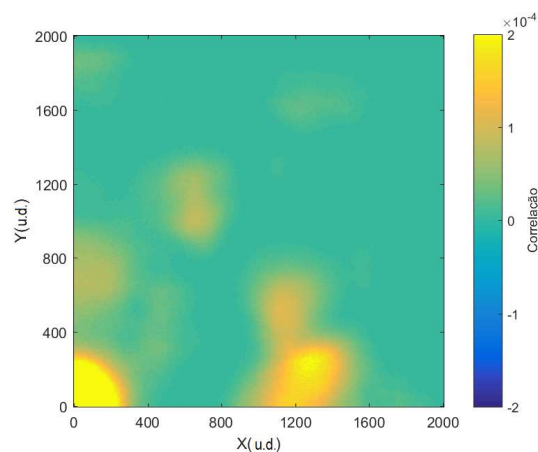
Apesar desta grandeza ser chamada na literatura como “correlação”, pode-se notar que da forma como ela é definida, a correlação de pares nos fornece a probabilidade de que, a partir de dada uma célula qualquer, encontremos uma outra célula vizinha em uma



(a) Situação onde não há correlação.



(b) Situação onde há uma forte correlação dentro dos aglomerados e com alguns aglomerados correlacionados.



(c) Situação onde todas as partículas em um mesmo aglomerado estão alinhadas na mesma direção e assim como todos os aglomerados andam na mesma direção

Figura 3.4: Gráficos de correlação de velocidades, Equação 3.4, mostrando sistemas de matéria ativa para diferentes situações de correlacionamento. Estes gráficos foram obtidos através de uma amostra simulada do modelo proposto por Vicsek (1995) com 4000 partículas, sem ruído e região quadrada com uma aresta de $2000u.d.$ (unidade de distância) e tempo de simulação distintos.

posição \vec{r}_j , que dista de $\vec{x} = (x, y)$ da i -ésima célula localizada em \vec{r}_i .

Esta grandeza é útil para estudarmos propriedades e padrões que estão relacionados com distância entre as partículas, tais como, tamanho dos aglomerados, distâncias típicas entre partículas, distância entre aglomerados, primeiros vizinhos, dentre outras [25].

3.4.5 Parâmetro de ordem

Uma das quantidades físicas amplamente utilizada no estudo e caracterização das transições ordem-desordem em matéria ativa é definida como

$$\xi = \left| \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \hat{v}_i \right| \quad (3.6)$$

onde \hat{v}_i é o vetor unitário da velocidade da i -ésima célula.

Esta grandeza é utilizada para investigar se "globalmente" as células possuem uma direção preferencial de movimento no espaço. Caso não haja uma direção preferencial de migração para as partículas o valor de $\xi \rightarrow 0$, já se todas as partículas tendem a ir em uma mesma direção $\xi \rightarrow 1$. Diferentemente da correlação espacial de velocidades, vide Subseção 3.4.3, o parâmetro de ordem nos fornece uma informação global do sistema em um único valor, e não uma superfície, auxiliando na investigação de certos padrões de uma forma mais simples, como por exemplo, o ordenamento das partículas. Além disso muitos autores classificam a organização do sistema físico com base neste parâmetro em *ferromagnético* (ou alinhado, $\xi \rightarrow 1$) e *paramagnético* (ou isotrópico, $\xi \rightarrow 0$). Alguns trabalhos mostram que quando o sistema esta próximo de uma transição de fase entre o estado paramagnético e o ferromagnético, a flutuação dos valores de ξ se torna grande divergindo no ponto de transição[1, 3, 26].

3.4.6 Deslocamento quadrático médio

Seja $\vec{r}(t_0)$ a posição da partícula no instante inicial da trajetória e $\vec{r}(t)$ a posição da partícula no instante $t = \tau + t_0$. O deslocamento quadrático da i -ésima partícula será dado por,

$$r_i^2(\tau) = |\vec{r}_i(t) - \vec{r}_i(t_0)|^2 \quad (3.7)$$

desta forma o deslocamento quadrático médio será,

$$\langle r^2(\tau) \rangle = \frac{1}{N} \sum_i^N r_i^2(\tau) \quad (3.8)$$

onde N é o número de partículas no sistema.

Vale ressaltar que apesar da definição ser para um sistema onde os dados são coletados continuamente ao longo do tempo, o que em geral não ocorre no caso dos dados obtidos de forma experimental, podemos usá-la para o caso onde os dados são obtidos em intervalos de tempos regulares, neste caso podemos ver que $t = t_j = j * \Delta t$ e $\tau = j * \Delta t$.

Como muita das vezes o espaço amostral é limitado, utiliza-se o *overlap* afim de reduzir as flutuações estatísticas. Esta técnica basicamente consiste em assumir que cada tempo da trajetória seja o início de uma nova trajetória. Afim de exemplificar esta técnica suponha que estamos calculando o $\langle r^2(\tau) \rangle$ para um sistema com quatro partículas e dados para cinco tempos obtidos em intervalos regulares (t_0, t_1, t_2, t_3 e t_4); a princípio se fossemos usar de forma convencional a definição do deslocamento quadrático médio, Equação 3.8, para um $\tau = \Delta t$ teríamos somente quatro valores para fazer a média ($r_1^2(\tau), r_2^2(\tau), r_3^2(\tau)$ e $r_4^2(\tau)$). Ao assumir que cada ponto da trajetória é o início de uma nova trajetória teremos, por exemplo, para a primeira célula, que $r_1^2(\tau) = |\vec{r}(t_1) - \vec{r}(t_0)|^2$. Mas agora o instante t_1 também é o início de uma trajetória, então teremos um $r_{1'}^2(\tau) = |\vec{r}(t_2) - \vec{r}(t_1)|^2$. Analogamente, assumindo agora t_2 e t_3 como as origens das trajetórias teríamos um $r_{1''}^2(\tau)$ e um $r_{1'''}^2(\tau)$. Repetindo este raciocínio para as demais partículas teríamos um total de dezesseis valores, ao invés dos quatro valores que teríamos inicialmente, reduzindo assim as flutuações desta grandeza estatística. Note que para valores grandes de τ , da ordem do tempo total de observação, o uso do *overlap* começa ter uma quantidade amostral reduzida, se aproximando do caso tradicional, aumentando novamente as flutuações nesta região. Por isso temos que ser atento aos resultados obtidos para $\langle r^2(\tau) \rangle$ com τ muito grande.

Vale salientar que no caso das amostras simuladas não foi utilizado o *overlap*, pois estas amostras já possuíam 4000 partículas e se a técnica fosse aplicada acabava gerando um esforço computacional desnecessário, uma vez que o espaço amostral já é muito maior do que o obtido experimentalmente.

3.5 Simulação

Ao longo deste trabalho foram realizadas algumas simulações de modelos simples para auxiliar na compreensão dos resultados obtidos. Devido a sua simplicidade, os resultados obtidos com a simulação foram usados para testar e validar as análises estatísticas discutidas na Subseção 4.1.1. Isso porque nas simulações temos o controle de todos os parâmetros, e pode-se obter situações dos mais variados tipos e com baixo custo computacional. A seguir descrevemos alguns dos modelos utilizados:

3.5.1 Caminhada Livre

Inicialmente são sorteadas aleatoriamente as posições que $N = 4000$ partículas irão ocupar em uma região quadrada de lado⁶ $L = 2000u.d.$. Posteriormente é sorteado aleatoriamente um ângulo polar que irá definir a direção inicial da caminhada $\hat{u}(\theta_i^0)$ de cada partícula.

Após um intervalo de tempo⁷ $dt = 1u.t.$ todas as partículas simultaneamente dão um passo de tamanho $d = 2u.d.$ A direção de migração será a mesma do ângulo polar anterior somada de um ruído branco $\eta \in (-r/2, r/2)$ (em radianos), ou seja,

$$\theta_i(t+1) = \theta_i(t) + \eta \quad (3.9)$$

Vale salientar que as regiões possuem condições de contorno periódicas. Assim toda partícula que executar um passo para fora dessa região quadrada será recolocada no lado oposto ao qual ela saiu. Além disso cada partícula realizou um total de 1000 passos.

3.5.2 Modelo de Vicsek et al.

O Modelo de Vicsek (MV) foi proposto por [1] no ano de 1995 e ainda hoje é usado por muitos físicos estudiosos de matéria ativa como um dos modelos básico no auxílio da compreensão de muitos problemas desta área. Resumidamente, este modelo pressupões que:

- As condições de contorno da região de interesse são periódicas. Dessa maneira, células que saem da região simulada em uma lateral reaparecem na lateral oposta.
- Inicialmente todas as posições das partículas devem ser sorteadas de forma aleatória.
- No primeiro passo a direção da caminhada de cada partícula é escolhida aleatoriamente.
- Todas as partículas dão um passo ao mesmo tempo e com intervalo de tempo dt entre passos sucessivos.
- Todas as partículas possuem o mesmo módulo da velocidade (v), constante ao longo do tempo.

⁶*u.d.* abreviação para unidades de distância.

⁷*u.t.* abreviação para unidades de tempo, que neste caso é tempo de Monte Carlo.

- Todas as partículas dentro de uma distância r_c são consideradas vizinhas da i -ésima partícula.
- A direção do passo da i -ésima partículas será:

$$\phi_p(t) = \langle \phi \rangle_{viz}(t - dt) + \eta \quad (3.10)$$

onde $\phi_p(t)$ é o ângulo polar do vetor velocidade da partícula no instante t , $\langle \phi \rangle_{viz}(t - dt)$ é o ângulo polar do vetor velocidade médio da vizinhança no instante anterior a t e η é um ruído que afeta o alinhamento com a vizinhança. O valor de sua intensidade é sorteado aleatoriamente no intervalo $\eta \in [-\frac{r}{2}, \frac{r}{2}]$, sendo r um parâmetro ajustável.

- A equação que descreve a dinâmica da partícula se resume a:

$$\vec{r}_i(t + dt) = \vec{r}_i(t) + v \cdot \hat{v}_p(\phi_p(t)) \cdot dt \quad (3.11)$$

sendo $\vec{r}_i(t + dt)$ a posição da partícula no instante $t + dt$, $\vec{r}_i(t)$ a posição da partícula no instante t e $\hat{v}_p(\phi_p(t))$ é um vetor unitário que tem como ângulo polar $\phi_p(t)$.

Uma cópia do código fonte usado para a simulação se encontra no Apêndice B.

Capítulo 4

Resultados e discussões

4.1 Experimentos

4.1.1 Células MDCK

Como o raio característico de uma célula é da ordem de $11\mu m$ e a área de uma célula seria da ordem $380,00\mu m^2$, pode-se afirmar que a metodologia descrita na Seção 3.2 permitiu obter imagens com uma boa resolução pois cada *pixel* equivaleria a uma área de $0,42\mu m^2$, ou seja, cada célula de tamanho típico possuía mais de 500 *pixels*. Além disso cada imagem obtida com esta metodologia possuía uma área de $3mm^2$ o que permitiu a investigação de correlações entre grandezas físicas de partículas que se distanciavam de algumas centenas de vezes o tamanho da própria partícula. A Figura 4.1 e a Figura 4.2 são, respectivamente, imagens típicas de um campo de visão e um aglomerado típico, obtido por ampliação digital, de uma amostra contendo 50.000 células MDCK no total e 428 células no campo de visão. A Figura 4.3 mostra as trajetórias de dez células para cada uma das densidades estudadas. Como podemos ver, com o aumento da densidade celular as mesmas se tornam mais dispersivas, uma vez que nas trajetórias típicas este resultado está de acordo com trabalhos que mostram que na presença de sinais químicos, que são secretados pelas próprias células, a dinâmica pode ser estimulada tornando elas mais “ativas” gerando este comportamento [27, 28, 29, 30].

A Figura 4.4 mostra a correlação de pares para amostras com números distintos de células. Foi observado que estes gráficos não mudavam muito ao longo do tempo indicando que estas células, nas densidades estudadas, não possuem a tendência a se aglomerar¹.

¹Foi considerado pertencente a um mesmo aglomerado células que visivelmente estavam com as suas membranas em contato.

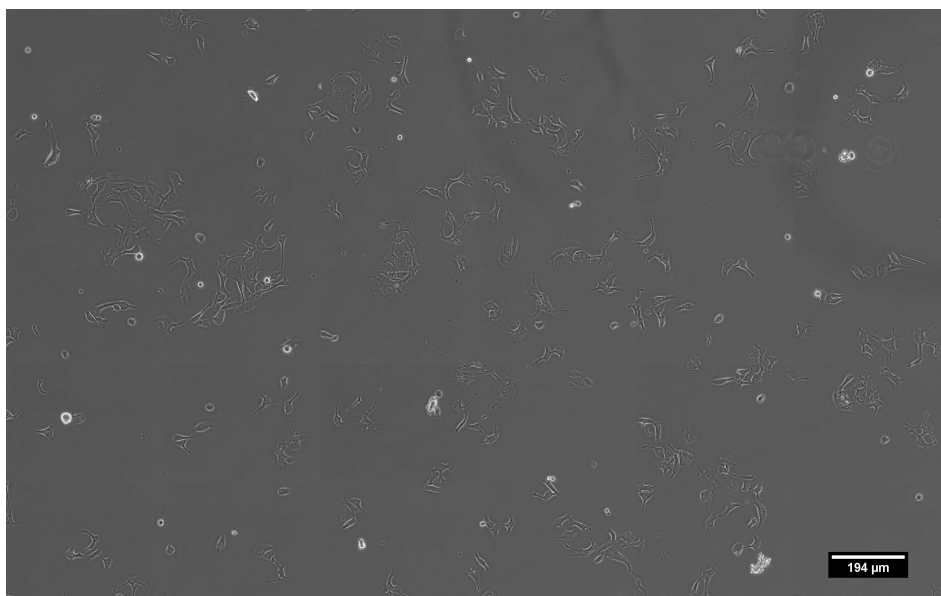


Figura 4.1: Imagem típica obtida com a metodologia, para células de MDCK.

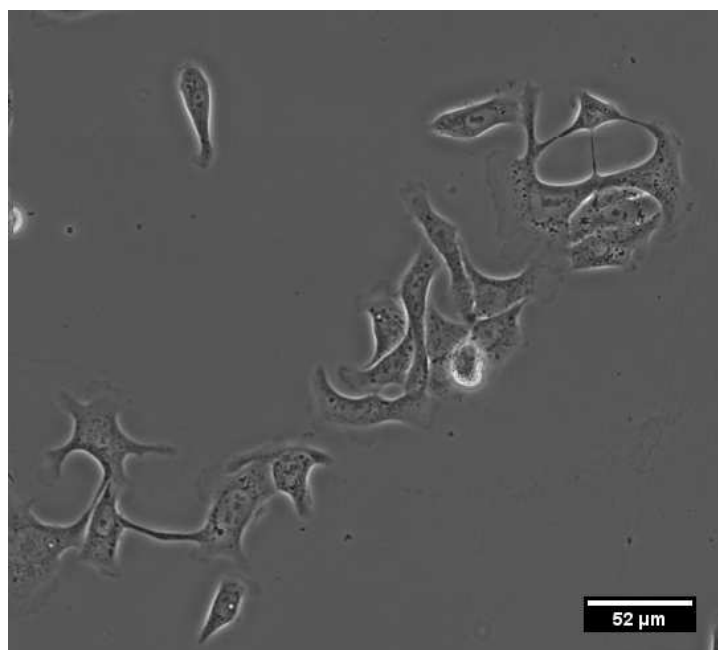
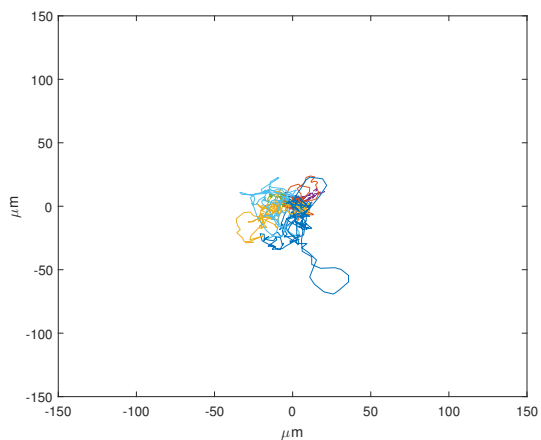
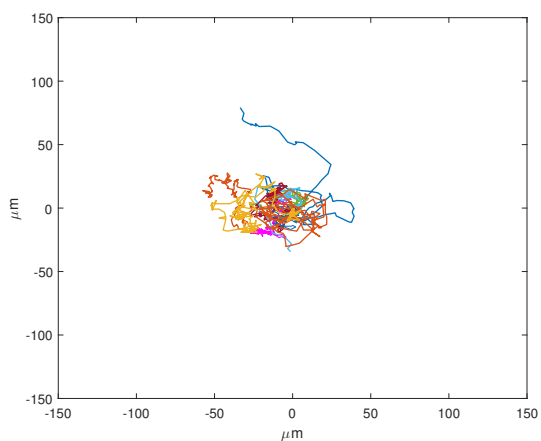


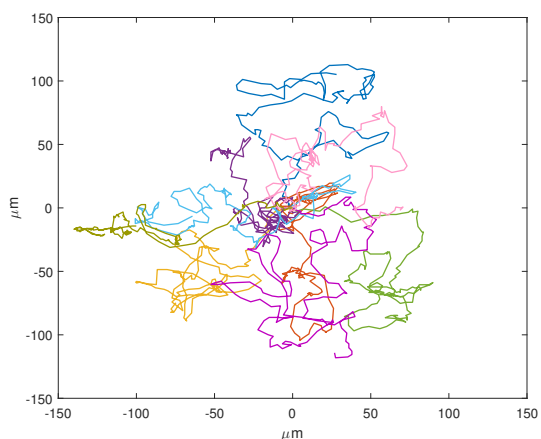
Figura 4.2: Imagem de um pequeno aglomerado de células MDCK obtido por microscopia ótica.



(a) Com 28 células no campo de visão.



(b) Com 73 células no campo de visão.



(c) Com 427 células no campo de visão.

Figura 4.3: Gráficos que mostram a trajetória típica de dez células escolhidas aleatoriamente para cada uma das amostras analisadas ao longo das 12h na qual o experimento foi feito. Cada cor representa a trajetória de uma célula distinta.

Assim os aglomerados permanecem com poucas células e os valores mais prováveis para se encontrar um vizinho ocorriam para pequenas distâncias. Além disso, devido ao aspecto radialmente isotrópico das imagens na Figura 4.4, pode verificar que não havia uma direção preferencial para o “alongamento” das células e que elas não possuíam uma forma persistente e definida. Isso é diferente do que foi observado por [25] que ao trabalhar com bactérias *B. subtilis 3610*. Para estas bactérias, os gráficos de correlação de pares apresentavam um alongamento na direção do eixo y e esta anisotropia era persistente, refletindo a forma em bastão das bactérias. Além disso, as correlações apresentavam picos em intervalos de distância periódicos, da ordem de um diâmetro típico da bactéria, indicando que na culturas haviam a formação de aglomerados maiores. A Figura 4.5 mostra um corte para os valores de $y = 0\mu m$. Ela foi obtida fazendo-se a média ao longo do tempo, sendo o erro dado pelo desvio padrão. Exceto para a amostra com 28 células, podemos ver que as curvas apresentavam um pico entre $20\mu m$ e $30\mu m$ indicando que a maior probabilidade de encontrar uma célula ocorre em uma distância de até duas vezes o valor do raio característico destas células. Além disso, estes gráficos não apresentam uma periodicidade dos picos como observado por [25], o que nos leva a concluir que nestas amostras não havia a formação de grandes aglomerados. Na verdade podemos verificar que as células, em sua maioria, tendem a migrar individualmente ou em aglomerados contendo duas células. Os gráficos da Figura 4.6 corroboram o resultado supra discutido, pois eles fornecem a probabilidade que um dado aglomerado seja constituído por s células. Observou-se que, em sua grande maioria, mais de 85%, os aglomerados possuem no máximo duas células para todas as amostras analisadas. Vale ressaltar ainda que em todas as amostras analisadas a curva que melhor se ajustava aos dados experimentais foi uma exponencial “estirada” descrita pela equação,

$$e_{est}(s) = A \cdot \exp \left[- \left(\frac{s}{\lambda} \right)^\gamma \right]. \quad (4.1)$$

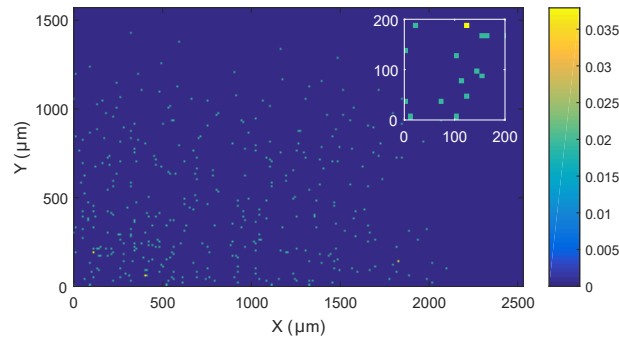
Os valores dos parâmetros obtidos pelos ajustes estão relacionados na tabela abaixo, vide Tabela 4.1.

Nº Celulas	28	73	428
γ	$2,20 \pm 0,10$	$0,4 \pm 0,2$	$0,4 \pm 0,2$
λ	$0,89 \pm 0,68$	$0,03 \pm 0,07$	$0,03 \pm 0,01$

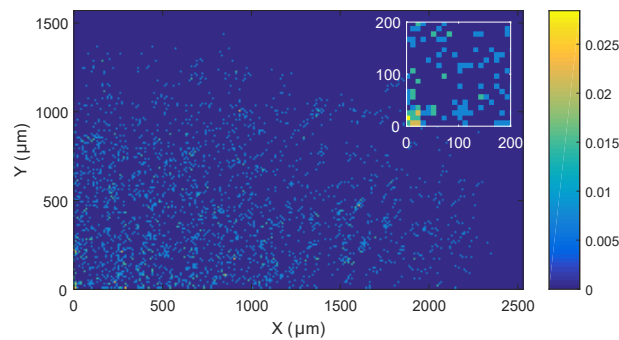
Tabela 4.1: Valores obtidos com o ajustes das curvas de distribuição de probabilidades de tamanhos de aglomerados usando uma exponencial estirada.

Estes resultados são diferente dos descritos por [31]. Ao estudar a distribuição de aglomerados para esta mesma linhagem para intervalos de tempos superiores, entre 20-200h, e densidades diferentes, os autores observaram que esta distribuição sofria um transição de um exponencial para uma lei de potência à medida que o tempo em cultura aumentava. Entretanto, uma revisão recente dos resultados apresentado em [31] somada à novos ex-

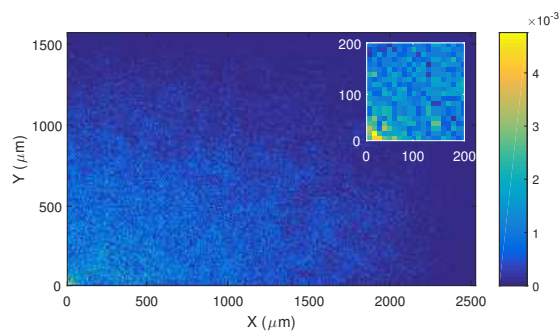
perimentos que estão sendo realizados simultaneamente pelo grupo, demonstram que de fato as distribuições de tamanho de aglomerados para várias linhagens celulares, incluindo a MDCK, são descritas por exponenciais estiradas, vide [20]. Para algumas linhagens o expoente γ pode se tornar muito pequeno ao longo do tempo, o que gera uma cauda da distribuição com a aparência de um decaimento em lei de potência [32].



(a) Com 28 células no campo de visão.



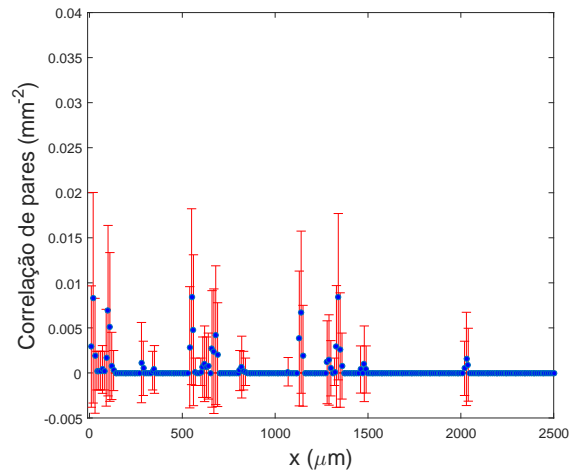
(b) Com 73 células no campo de visão.



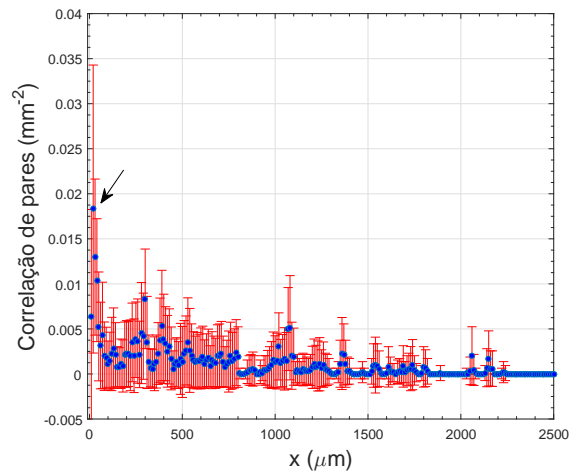
(c) Com 427 células no campo de visão.

Figura 4.4: Correlação de pares $g(x,y)$ para as amostras analisadas, obtida fazendo a média sobre todos os tempos. Os destaques mostram ampliações para pequenas distâncias.

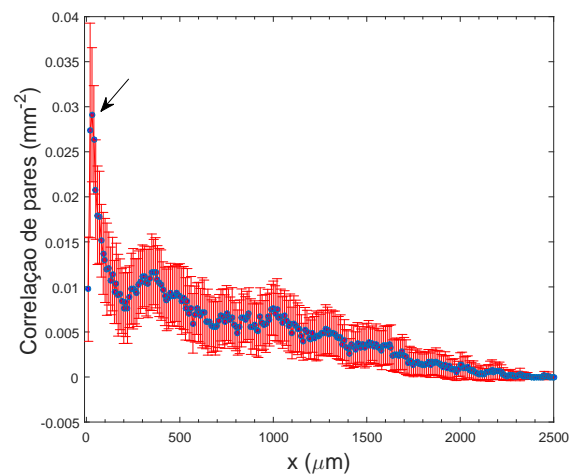
Afim de mostrar que as células ainda não apresentaram a tendência de se aglomerarem



(a) Com 28 células no campo de visão.

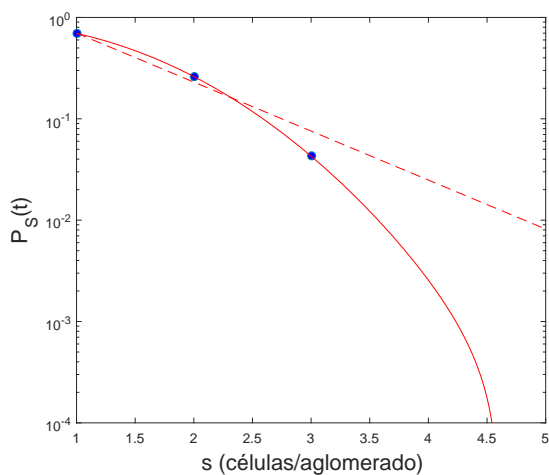


(b) Com 73 células no campo de visão.

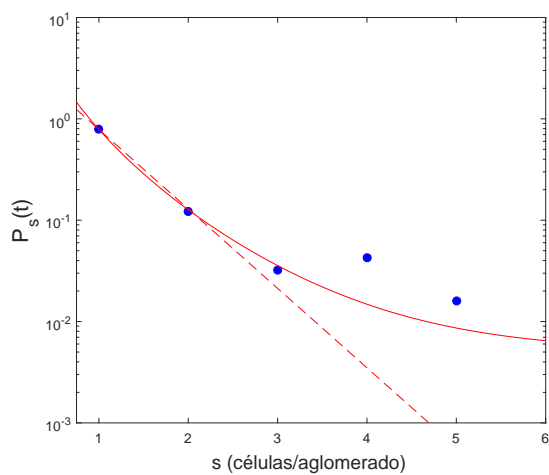


(c) Com 427 células no campo de visão.

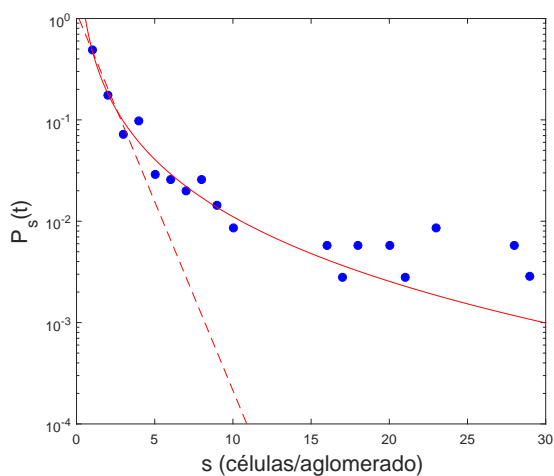
Figura 4.5: Corte na superfície da correlação de pares em $y=0$ para as amostras analisadas. Os pontos em azul são o valor médio da grandeza ao longo do tempo, as barras em vermelho o desvio padrão e as setas indicam os picos.



(a) Com 28 células no campo de visão.



(b) Com 73 células no campo de visão.



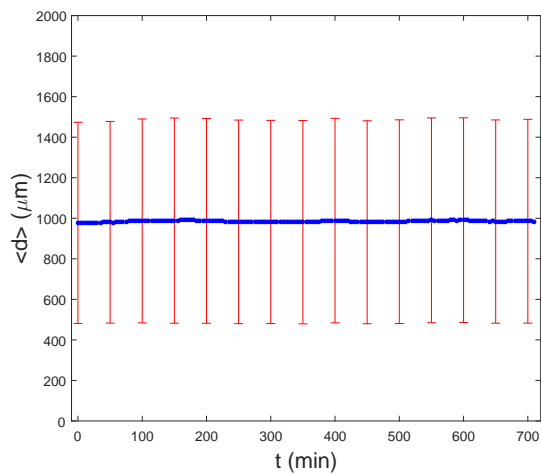
(c) Com 427 células no campo de visão.

Figura 4.6: Gráfico de distribuição de probabilidade de tamanhos de aglomerados para amostras com números distintos de células para um tempo de observação $t=6h$. A curva em tracejada é a tentativa de ajuste com uma exponencial e a curva contínua é o ajuste com uma exponencial estirada.

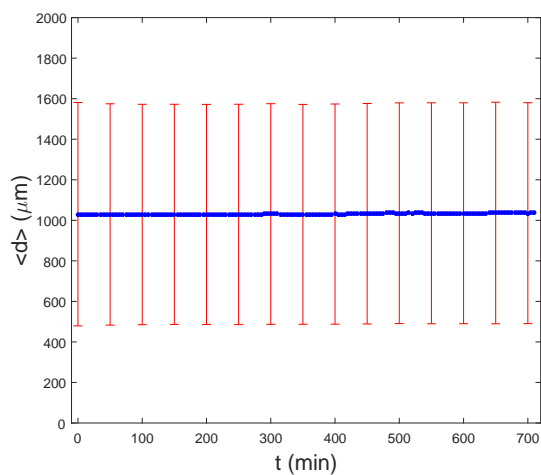
foi calculada a distância média entre células para as densidades estudadas ao longo de todos o tempo, Figura 4.7. Como podemos observar a distância média entre células permaneceu constante. Isso não ocorreria caso as células se aproximassem (afastassem), pois se as células tivessem se aproximado (afastado) a distância média diminuiria (aumentaria).

O deslocamento quadrático médio, Figura 4.8, sugere ao menos dois regimes de difusão para as amostras analisadas. Conforme pode-se verificar na Figura 4.8 (a) as células apresentaram quatro regimes de difusão, alternando entre subdifusivo e superdifusivo. Este resultado é semelhante ao obtido por [23] que mostrou de forma analítica que a matéria ativa ao executar um passeio aleatória persistente pode levar a este tipo de alternância no regime de difusão. Basicamente isso ocorre porque em pequenos intervalos de tempo a caminhada apresenta uma direção persistente, o que faz aparecer o regime próximo ao superdifusivo. Porém com o passar do “tempo” e com as pequenas flutuações sucessivas atuando na direção de propagação, as células gradativamente começam a se desviar da persistência fazendo com que algumas possam até mesmo retornar em direção a posição inicial. Como resultado, o expoente do deslocamento quadrático médio, se reduz levando até mesmo a um regime subdifusivo. Para as demais amostras também observamos uma mudança no regime de difusão, de superdifusivo para subdifusivo, novamente estes resultados sugerem que nestas células possuem uma migração anômala, em conformidade com [6], [18] e [24].

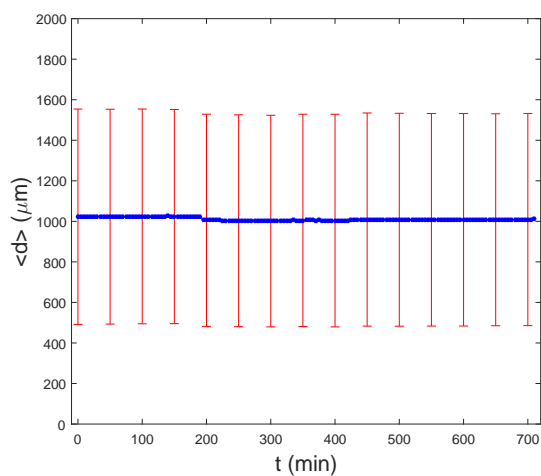
A Figura 4.9 mostra a correlação espacial de velocidades. Podemos verificar que nas densidades estudadas as células não apresentam correlação entre aglomerados. De fato, os valores da correlação são distribuídos de maneira uniforme. Caso houvesse correlação entre os aglomerados seriam observadas regiões de mesma cor bem “distintas” no gráfico. Além disso as intensidades das correlações são extremamente pequenas. Podemos observar também que estas distribuições basicamente não mudam ao longo do tempo da observação sugerindo que estamos trabalhando em sistemas fora da transição de fase que pode ocorrer em matéria ativa, como prevista por [1, 26, 33, 34]. Estes trabalhos revelaram que com o aumento de partículas, mesmo na presença de um sinal ruidoso, elas são capazes de se auto-organizar, aglomerarem e terem as suas velocidades correlacionadas caso exista algum fator proporcionando o alinhamento ou atração mútua entre elas. Porém os trabalhos realizados por [1, 34] mostram que deve haver uma relação entre a densidade de partículas e a amplitude do ruído para que isso ocorra. Um resultado parecido foi obtido por [35] que, ao estudar queratinócitos extraídos de peixes dourados (*Carassius auratus*), pode observar o correlacionamento nas velocidades locais das células em cultura a partir de uma dada densidade. Porém a metodologia de extração do centroide celular se deu por rotinas automatizadas que usam um modelo estatístico baseado no gradiente do fluxo de imagem.



(a) Com 28 células no campo de visão.

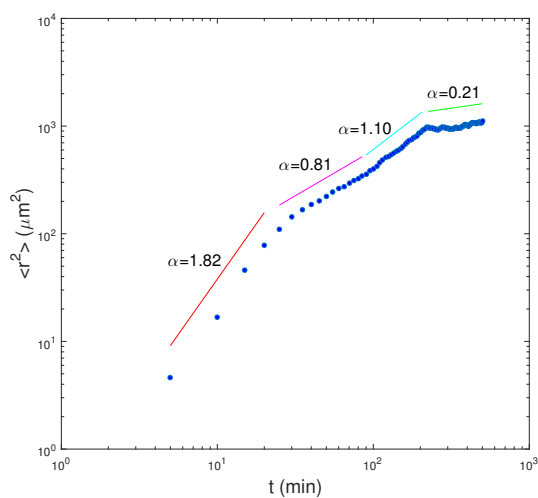


(b) Com 73 células no campo de visão.

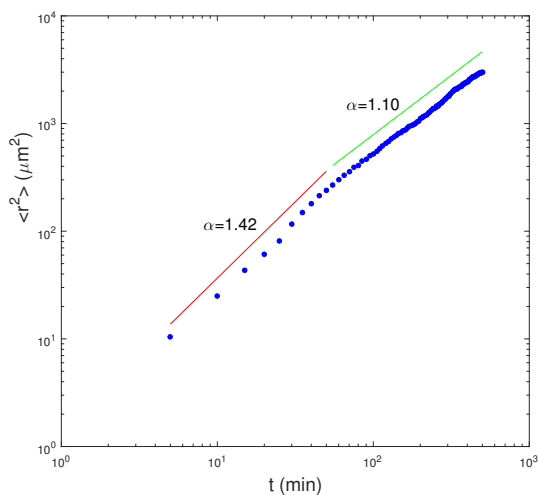


(c) Com 427 células no campo de visão..

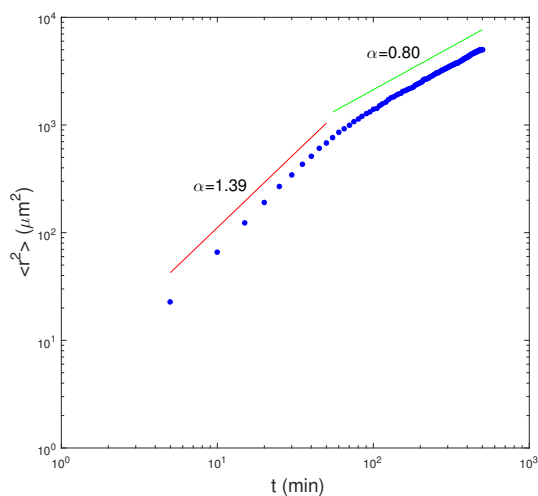
Figura 4.7: Distância média entre as células. Os asteriscos em azul representam os dados experimentais e as barras vermelhas o desvio padrão desta medida. Afim de facilitar a visualização dos dados importantes algumas das barras de erro foram suprimidas.



(a) Com 28 células no campo de visão.



(b) Com 73 células no campo de visão.



(c) Com 427 células no campo de visão..

Figura 4.8: Deslocamento quadrático médio para as densidades analisadas. Os asterisco são os dados experimentais, as curvas são ajustes com uma lei de potência e os valores de α são os valores dos expoentes obtidos pelo ajuste das curvas.

Esta metodologia pode gerar alguns problemas como aparecimento/desaparecimento de partículas e a dificuldade de acompanhar a trajetória individual de cada célula por longos períodos de tempo. Em média esta metodologia permite determinar somente duas ou três posições consecutivas. Ainda no trabalho desenvolvido por [35] podemos notar que com o aumento da densidade as células passavam a ser menos dispersivas. Isso difere do observado neste trabalho, em que as células apresentam um aumento na velocidade média, vide Figuras 4.3 e 4.10. Uma hipótese para isso é que, com o aumento da densidade as células começam a secretar substâncias que estimulam a migração das demais, porém quando se atinge uma dada densidade as células começam a se agregar e a formar grandes aglomerados que possuem uma migração reduzida, reduzindo a velocidade das células.

A Figura 4.11 mostra o histograma de velocidades para as linhagens analisadas juntamente com alguns ajustes. Para obter esta curva foi feita a média dos valores do histograma ao longo de todos os tempos e as barras de erro são dadas pelo desvio padrão dos valores ao longo do tempo. Como podemos verificar na Figura 4.11 o ajuste com a Gaussiana fica ruim nas caudas e no valor máximo das distribuições. Por outro lado, os histogramas de velocidade para todas as densidades (28,73 e 427 células) se ajustam bem com uma q -Weibull (R -square igual a 0,999, 1,00 e 0,995, respectivamente), descrita pela equação,

$$P(v) = p_0 * \kappa \left(\frac{v}{v_0} \right)^{\kappa-1} \left[1 - (1-q) \cdot \left(\frac{v}{v_0} \right)^\kappa \right]^{\frac{1}{(1-q)}}. \quad (4.2)$$

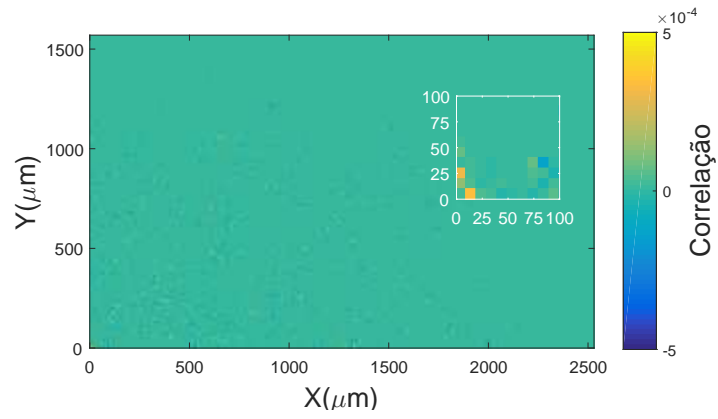
Vale apenas salientar que no limite onde $q \rightarrow 1$ e $r \rightarrow 2$ esta distribuição tende a [20],

$$P(v) = p_0 * \left(\frac{v}{v_0} \right) e^{-\left(\frac{v}{v_0} \right)^2} \quad (4.3)$$

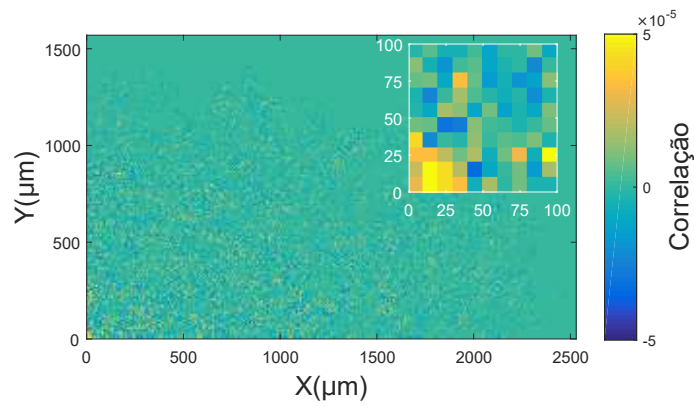
uma distribuição que é a “versão” bi-dimensional da distribuição Maxwelliana². Isso é interessante pois, da forma como os nossos experimentos foram feitos, as células migram em duas dimensões. A distribuição de Maxwelliana é importante no regime da termodinâmica clássica de equilíbrio tendo em vista que a probabilidade de uma molécula de gás ideal ter uma velocidade com módulo entre v e $v + dv$ tem exatamente a sua forma [36]. Além disso, neste regime, as moléculas de um gás ideal estão realizando um processo de difusão normal [15, 36], sugerindo que quando $q \rightarrow 1$ e $r \rightarrow 2$ as células teriam uma caminhada aleatória.

Os valores do parâmetro q obtidos com confiabilidade de 95% nos ajustes para as

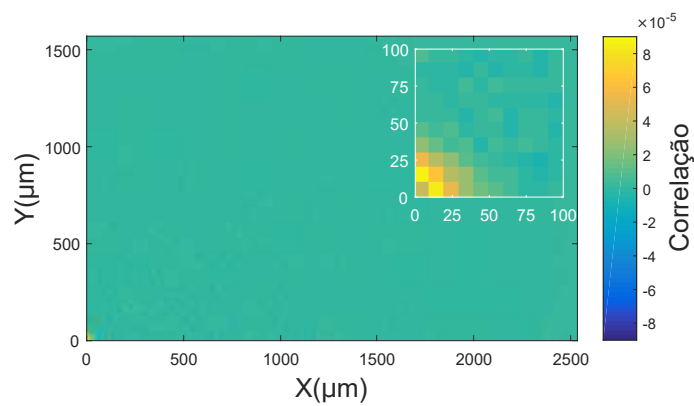
²Vide Apêndice D



(a) Com 28 células no campo de visão.

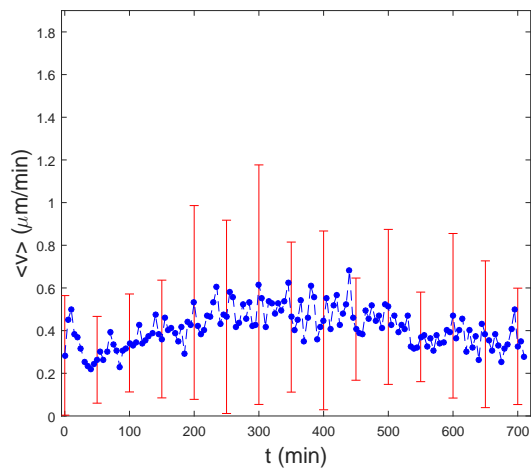


(b) Com 73 células no campo de visão.

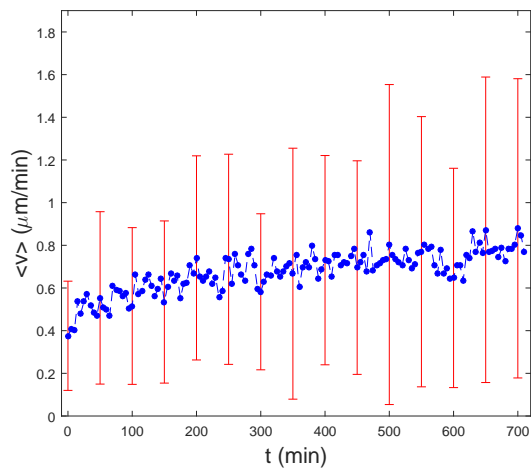


(c) Com 427 células no campo de visão.

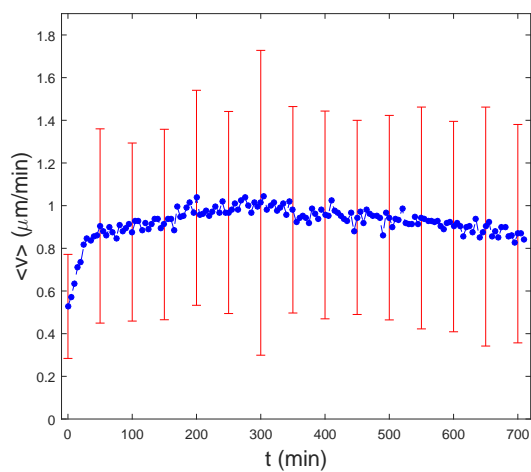
Figura 4.9: Correlação espacial de velocidades $C_v(x, y)$ obtida fazendo a média das superfícies para todos os instantes de observação.



(a) Com 28 células no campo de visão.

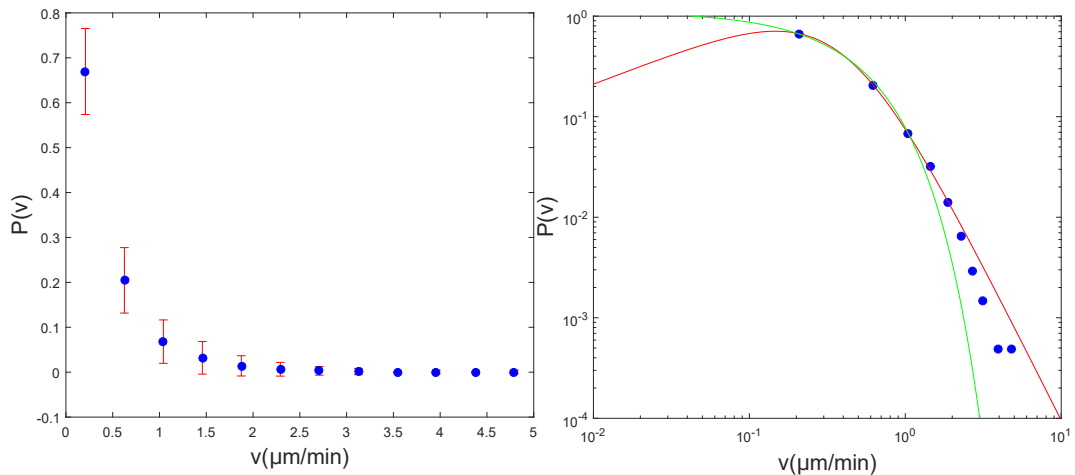


(b) Com 73 células no campo de visão.

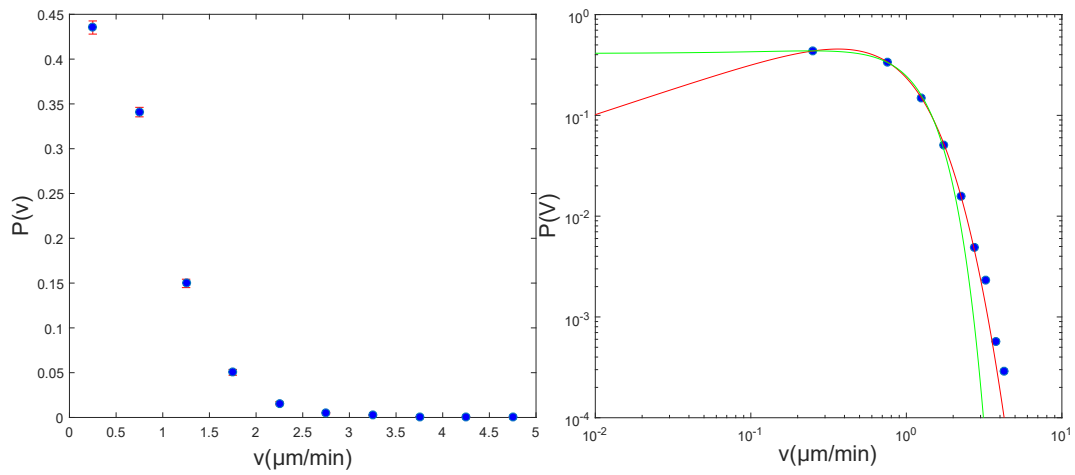


(c) Com 427 células no campo de visão.

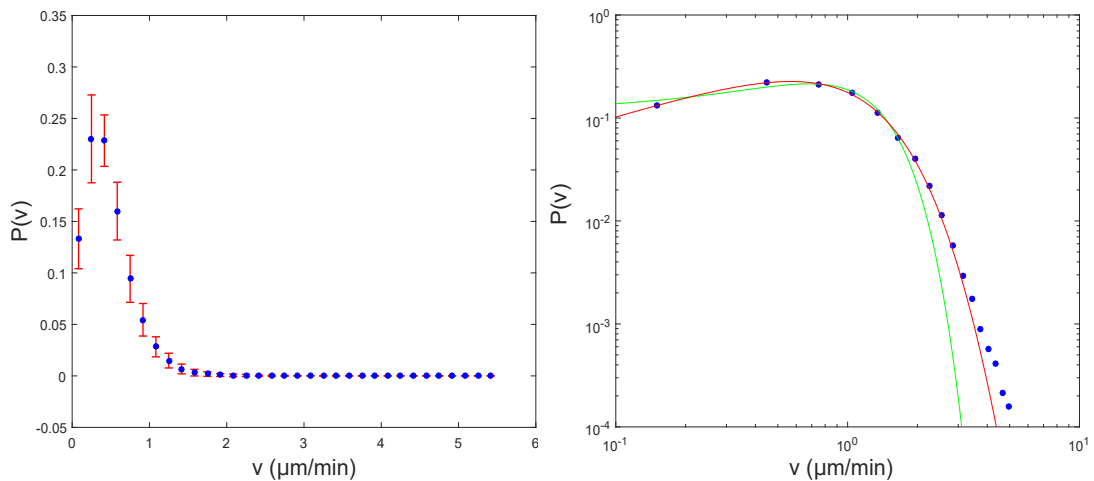
Figura 4.10: Velocidade média das células no campo de visão, pontos em azul. As barras de erro, em vermelho, retratam o desvio padrão do módulo das velocidades. Afim de facilitar a visualização dos dados importantes algumas das barras de erro foram suprimidas.



(a) Com 28 células no campo de visão.



(b) Com 73 células no campo de visão.



(c) Com 427 células no campo de visão.

Figura 4.11: Histograma normalizado para os módulos das velocidades. Os gráficos da esquerda estão em escala linear-linear, sendo os pontos em azul os dados experimentais e as barras vermelhas o desvio padrão. Os gráficos da direita estão em escala log-log, sendo os pontos em azul os dados experimentais, a curva em verde uma tentativa de ajuste com uma Gaussiana e a em vermelho o ajuste com uma q-Weibull para a amostra com 28,73 e 427 células.

	28	73	427
q	$1,23 \pm 0,30$	$1,07 \pm 0,03$	$1,12 \pm 0,09$
κ	$1,60 \pm 0,72$	$1,51 \pm 0,20$	$1,70 \pm 0,93$

Tabela 4.2: Tabela com os valores dos ajustes dos histogramas de velocidades obtidos experimentalmente.

amostras estão reportados na Tabela 4.2. Como podemos verificar, exceto para o caso do experimento com 28 células, pode-se verificar que os valores de $q \neq 1$ e $r \neq 2$ sugerem que estas células nas condições do experimentais possuem uma difusão anômala [20]. Por sua vez, os valores obtidos com o ajuste indicam que a caminhada é super difusiva, corroborando o resultado obtido, via análise o deslocamento quadrático médio.

Por fim ao analisarmos o parâmetro de ordem (ξ), vide Figura 4.12, e compararmos os resultados obtidos por [1, 33, 34] pôde se verificar que nas densidades analisadas as células se encontram em um estado onde as células estão “começando” a se ordenarem, pois os valores do parâmetro de ordem é próximo de zero. Além disso este resultado esta de acordo com o observado ao analisarmos a correlação espacial de velocidade, Figura 4.9, que indicava que somente células próximas apresentaram algum tipo de correlação nas suas velocidades.

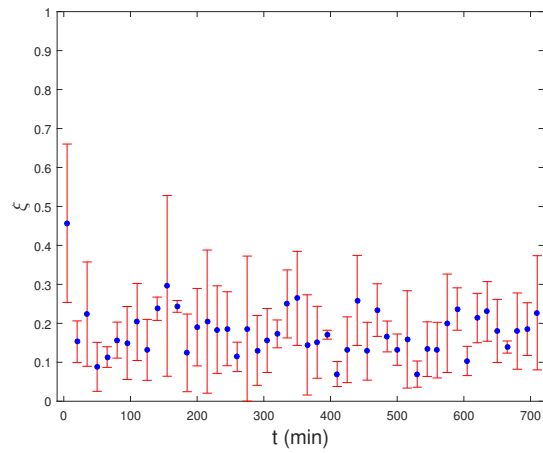
4.2 Simulações

4.2.1 Caminhada Livre

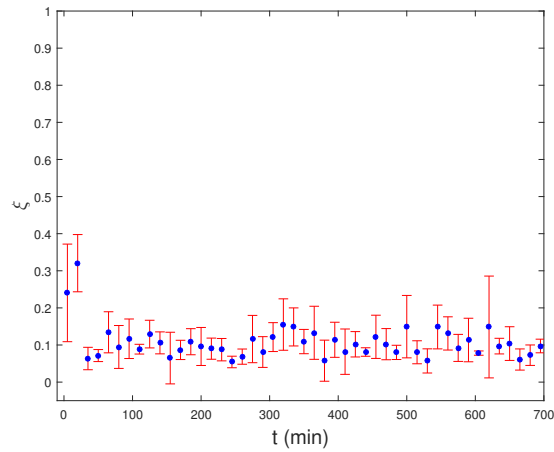
Nesta seção estão reportados alguns dos resultados obtidos usando um modelo semelhante ao proposto por [1], só que agora cada partícula caminha de forma independente, ou seja, sem interagir com as demais partículas presente na amostra, com isso verificou-se de diversas amostras quando submetidos a valores distintos de ruídos. Todas as amostras foram feitas considerando que o espaço era quadrado com aresta de tamanho $L = 2000u.d.$, a cada intervalo de tempo $dt = 1u.t.$ as partículas davam um passo de tamanho $l = 2u.d.$ e cada amostra contia $N = 4000$ partículas. A cópia do código fonte se encontra no Apêndice C.

Na Figura 4.13 estão as curvas para o deslocamento quadrático médio ($\langle r^2 \rangle$) obtidos com esse modelo pra valores de ruídos (r) distintos.

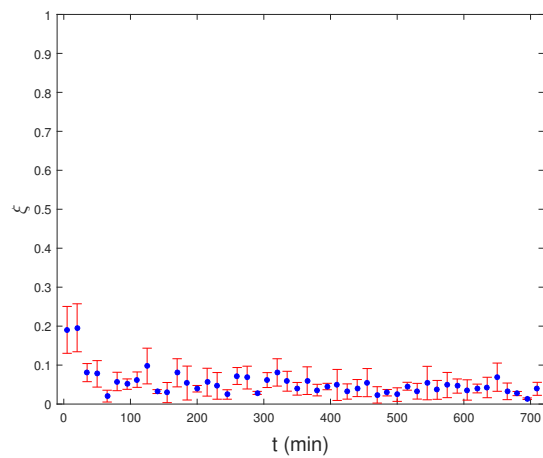
Como pode se verificar na curva de $r = 0,00$ (vide Figura 4.13) até $t = 200$ o $\langle r^2 \rangle$ possui um seu comportamento balístico com $\alpha = 2$. Para tempos posteriores por causa das condições de contorno periódica, uma quantidade significativa de células começam a ultrapassar a fronteira e são realocadas, com isso o valor de $\langle r^2 \rangle$ começa a ser



(a) Com 28 células no campo de visão.



(b) Com 73 células no campo de visão.



(c) Com 427 células no campo de visão.

Figura 4.12: Parâmetro de ordem. Os asteriscos são os dados obtidos a partir dos experimentos e as barras vermelhas são o desvio padrões dos valores.

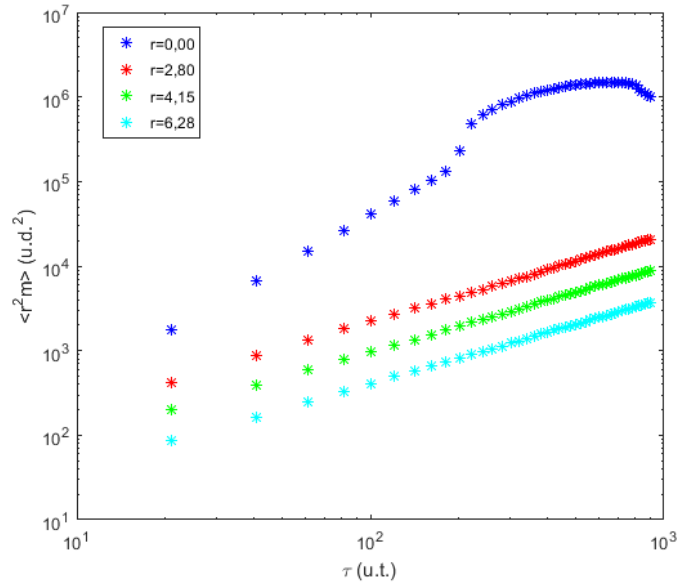


Figura 4.13: Gráfico de $\langle r^2 \rangle$ para diversos valores de r usando o modelo de Caminhada Livre.

uma sobreposição da difusão da partícula com o seu realocamento. Portanto, não há mais sentido em analisar o comportamento de escala de $\langle r^2 \rangle$. Para corroborar esta afirmação foi feita uma simulação com um modelo semelhante só que não possuindo as condições de contorno periódicas, e esta mudança não foi observada. Trata-se portanto de um efeito de tamanho finito do sistema.

A Figura 4.14 mostra as mesmas curvas na região onde os efeitos das condições de contorno não são relevantes. Os asteriscos indicam os dados da simulação e as linhas solidas os respectivos ajustes, para valores de r distintos. Todos os ajustes indicam que $\langle r^2 \rangle$ varia segundo uma lei de potência³.

Na Tabela 4.3 estão os valores de α obtidos com o ajuste. Os valores de α indicam que para $r = 0,00$ o regime é balístico e para os outros valores tivemos uma caminhada tipo browniana, uma difusão normal.

r	0,00	2,80	4,15	6,28
α	$2,00 \pm 0,01$	$1,04 \pm 0,01$	$1,00 \pm 0,01$	$1,01 \pm 0,01$

Tabela 4.3: Parâmetro α obtidos para diversos valores de r .

A Figura 4.15 mostra gráficos típicos de correlação espacial obtidas para este modelo. As análises mostraram que estas superfícies são persistentes ao longo do tempo. Além

³Note que em alguns casos temos o valor do coeficiente $\alpha = 1$. Este caso especial da lei de potência também é conhecida como linear.

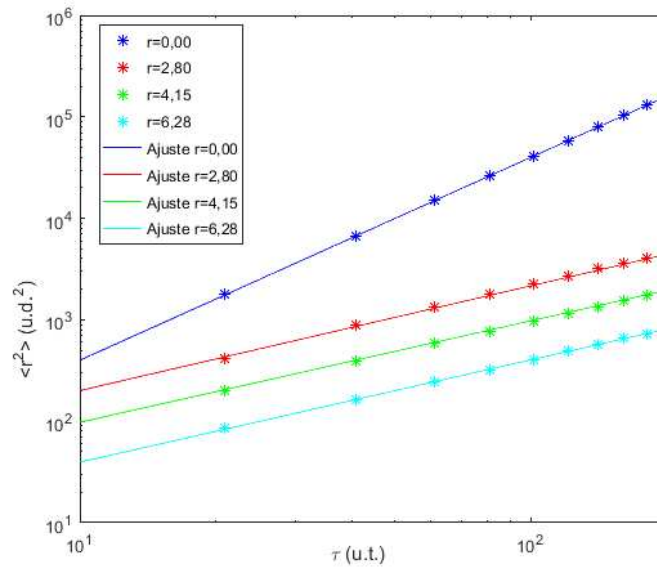


Figura 4.14: Gráfico de $\langle r^2 \rangle$ e os seus respectivos ajustes (lei de potência). Os asteriscos representam os dados experimentais e as linhas os ajustes

disso estes gráficos possuem valores que se diferenciam em média de 3% quando comparamos superfícies de r distintos, o que nos permite afirmar que elas são equivalentes. Pela simetria radial observada na Figura 4.15 podemos mostrar a isotropia espacial, ou seja, a probabilidade de encontrar uma partícula vizinha em uma dada posição depende somente da distância entre elas, sendo que para raios menores temos uma probabilidade maior. Com isso podemos observar que este modelo não permite a agregação/segregação das partículas.

Como todas as partículas dão sempre um passo de mesmo tamanho $d = 2u.d.$ após um intervalo de tempo $dt = 1u.t.$, este modelo a priori levaria a uma distribuição de velocidade do tipo δ -Dirac com $v = 2u.a.$. Mas ao invés de olharmos somente para esta velocidade, que chamarei de microscópica(v), foram analisadas as posições nos instantes t e $t + \tau$, esta será chamada de velocidade macroscópica (ν_τ):

$$\nu_\tau(t) = \frac{\|\vec{r}(t + \tau) - \vec{r}(t)\|}{\tau}. \quad (4.4)$$

Para o caso onde $r = 0,00$ podemos verificar que v se iguala a ν_τ independente do valor de τ . Levando também a uma distribuição δ -Dirac como pode ser verificada na Figura 4.16.

Já para os demais valores de r podemos verificar a mudança na forma da distribuição ao mudarmos os valores de τ . As Figura 4.17, Figura 4.18 e Figura 4.19 mostram algumas

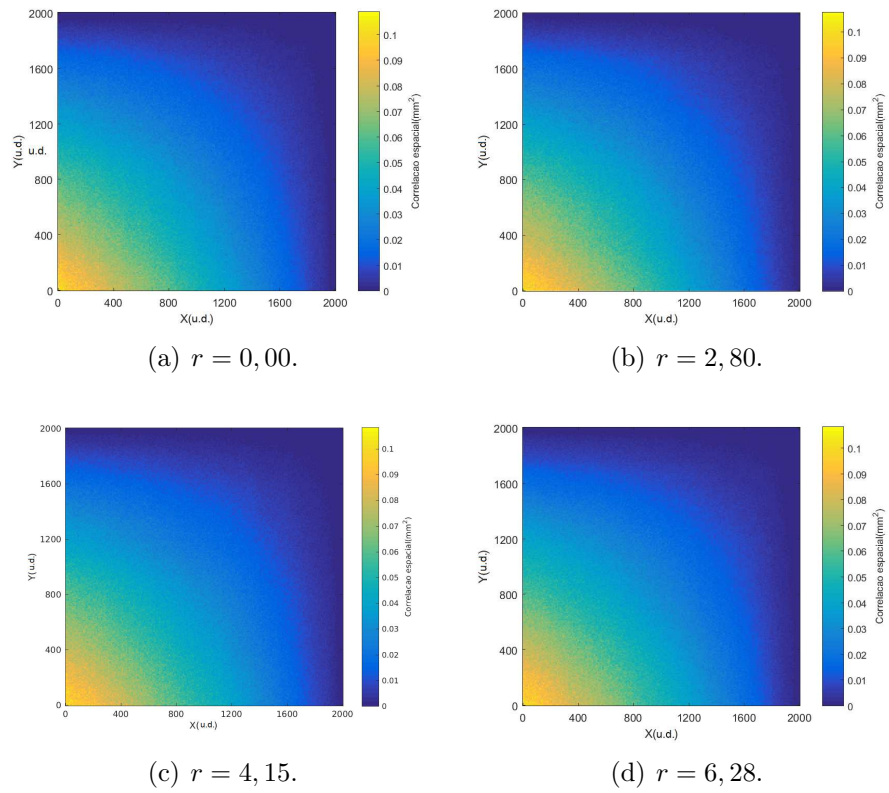


Figura 4.15: Gráficos típicos da correlação de pares obtido para valores distintos de r .

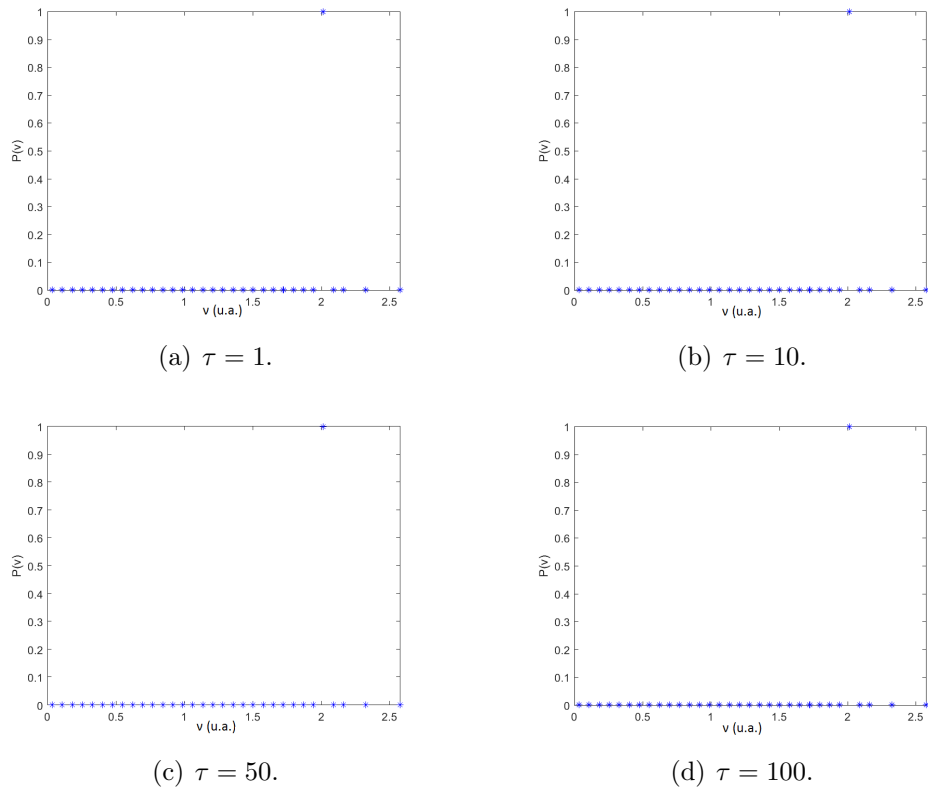


Figura 4.16: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 0,00$ e valores distintos de τ .

curvas típicas de ν_τ para alguns valores de τ . Com isso podemos ver claramente a mudança na forma da distribuição como função de τ . Outra característica preponderante nas curvas foi que maioria delas possuía uma “calda” alongada⁴.

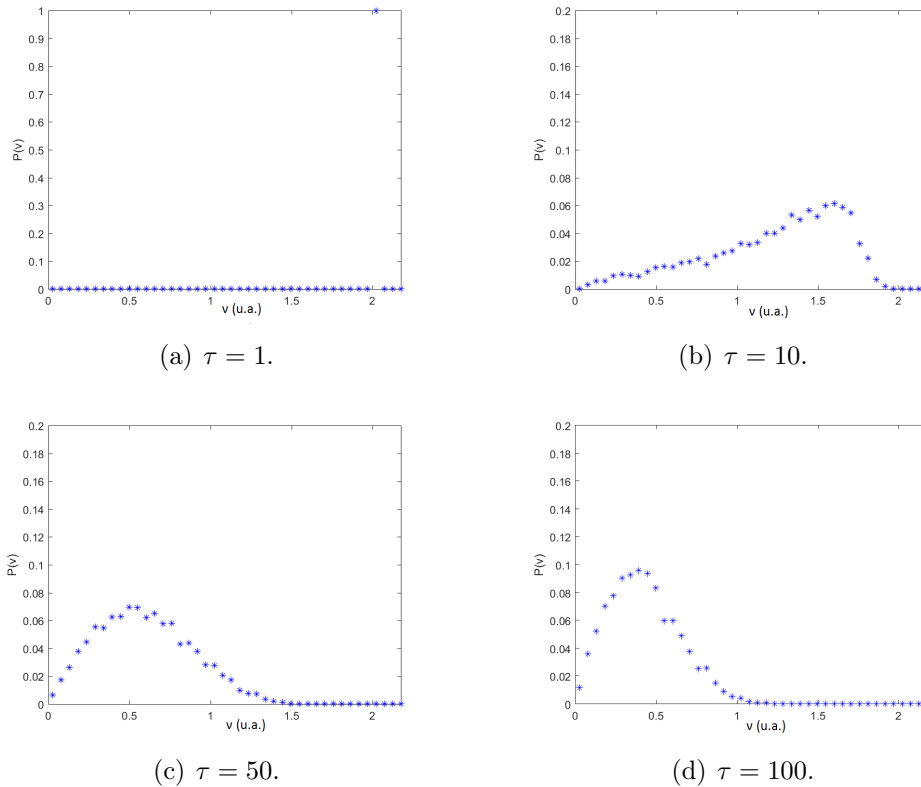


Figura 4.17: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 2, 80$ e valores distintos de τ .

Afim de determinar com mais coerência que distribuição melhor descreve estes histogramas foram analisadas a curtose e a *skewness* dos valores de ν_τ e como eles mudavam ao longo do tempo para valores distintos⁵ de r . Como podemos verificar nas Figuras 4.20 e 4.21, para um dado valor de τ e r as distribuições de ν_τ são persistentes ao longo do tempo, ou seja, não mudam muito a sua forma. Obviamente quando ν_τ é igual a v obtém-se uma distribuição simétrica com *skewness* nula. Verificou-se que para $r = 4, 15$ e $\tau = 10$ também obteve-se uma distribuição simétrica. Acredita-se que este comportamento ocorra porque quando as partículas vão se decorrelacionando elas passam continuamente de forma contínua de uma distribuição tipo q-Weibull espelhada, possuem uma *skewness* < 0, para uma q-Weibull comum, *skewness* > 0. Para os demais valores de r e τ , a Figura 4.20 indica que a distribuição é um tanto assimétrica, mas como os valores da *skewness* não

⁴Esta “calda” ora era alongada para o sentido crescente do eixo de coordenadas, ora era alongada na direção decrescente do eixo de coordenadas.

⁵Com estes parâmetros é possível determinar quão simetria e “larga” deverá ser a distribuição. Diferentemente do que ocorre com o histograma, estes parâmetros não dependem da escolha de tamanho das caixas, auxiliando assim na escolha de que distribuição usar. Caso o leitor tenha alguma dúvida consultar [20, 36].

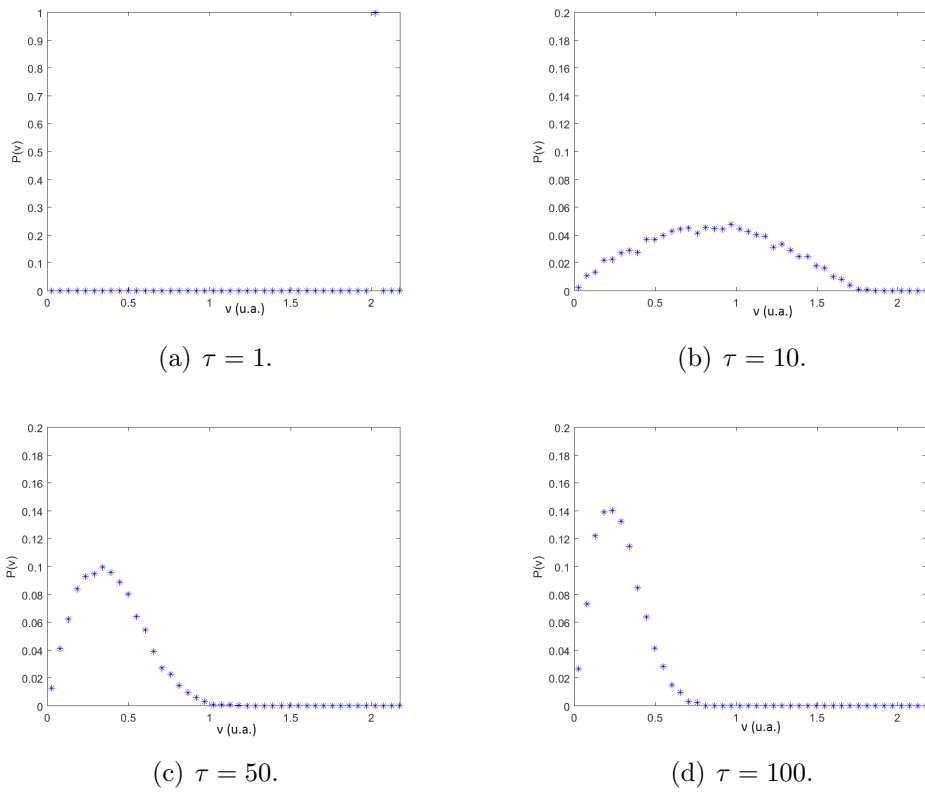


Figura 4.18: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 4, 15$ e valores distintos de τ .

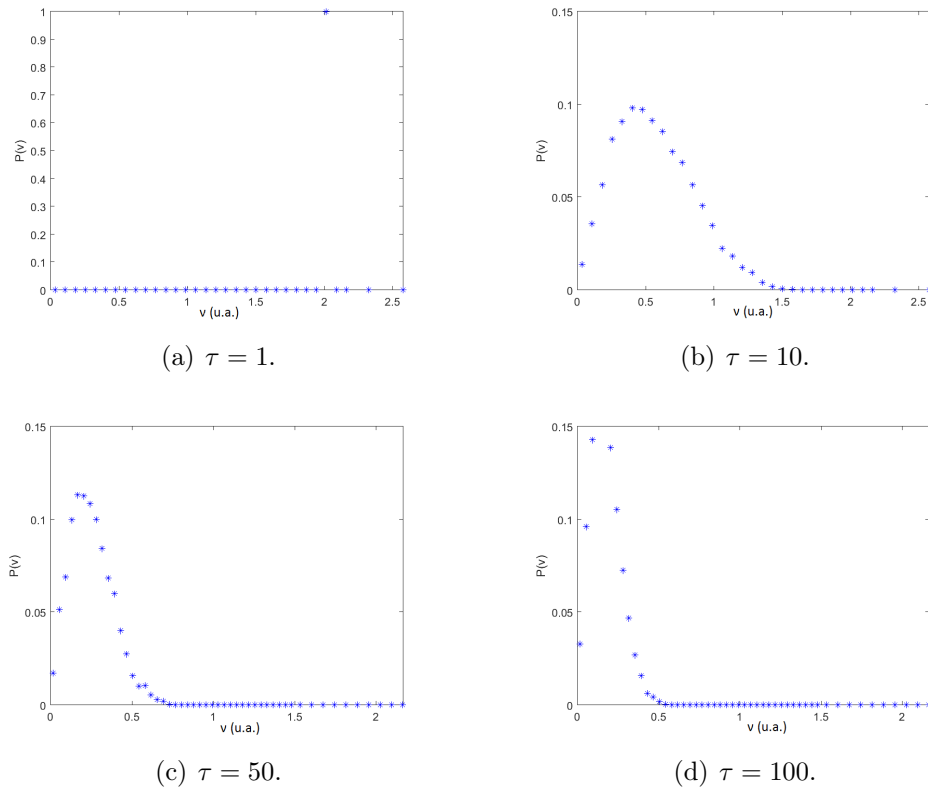


Figura 4.19: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 6, 28$ e valores distintos de τ .

são muito grande, superiores a unidade, as distribuições não são tipo Gaussianas, mas próximo. Quando olhamos os valores das curtose vemos que os valores são próximos de 3, imaginamos que as distribuições são algo intermediárias entre Gaussiana e Weibull.

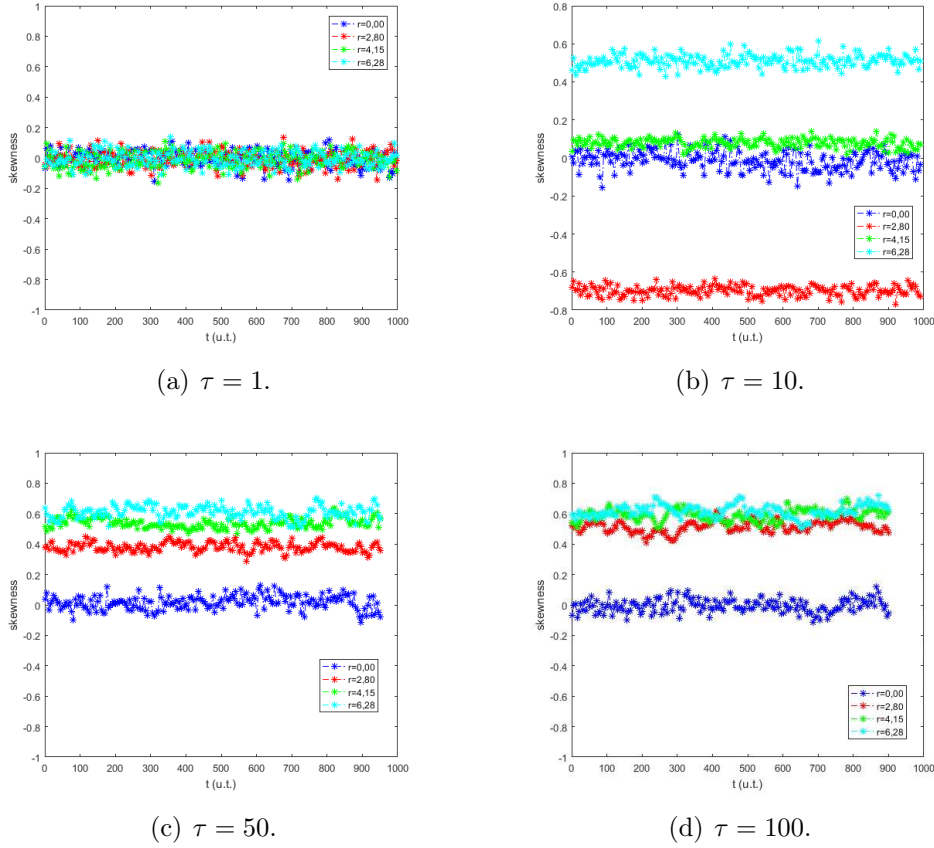


Figura 4.20: *Skewness* das magnitudes das velocidades como função do tempo para valores distintos de r e τ .

A Figura 4.22 mostra algumas das distribuições típicas de módulos das velocidades ajustadas com as curvas que melhor se ajustaram a elas. Para fins de comparação foi ajustada uma Gaussiana também. Com os ruídos e valores de τ utilizados conseguimos observar que as curvas que melhor se ajustavam partiam de uma δ -Dirac, passando por uma q-Weibull invertida, uma q-Weibull e em alguns casos cominando em um Weibull. A Tabela 4.4 mostra alguns dos valores dos parâmetros característicos. Podemos ver que para $r = 6,28$ e $\tau = 50$, $q \rightarrow 1$ e $r \rightarrow 2$, levando a uma distribuição Maxwelliana, o que era de se esperar para um movimento tipo browniano, já que para este valor de r a direção do passo é totalmente aleatória.

x	a	b	c
q	1,85±0,10	0,90±0,20	0,99±0,07
κ	5,68±2,12	2,11±0,19	2,03±0,06

Tabela 4.4: Parâmetros obtidos com os ajuste da curvas na Figura 4.22.

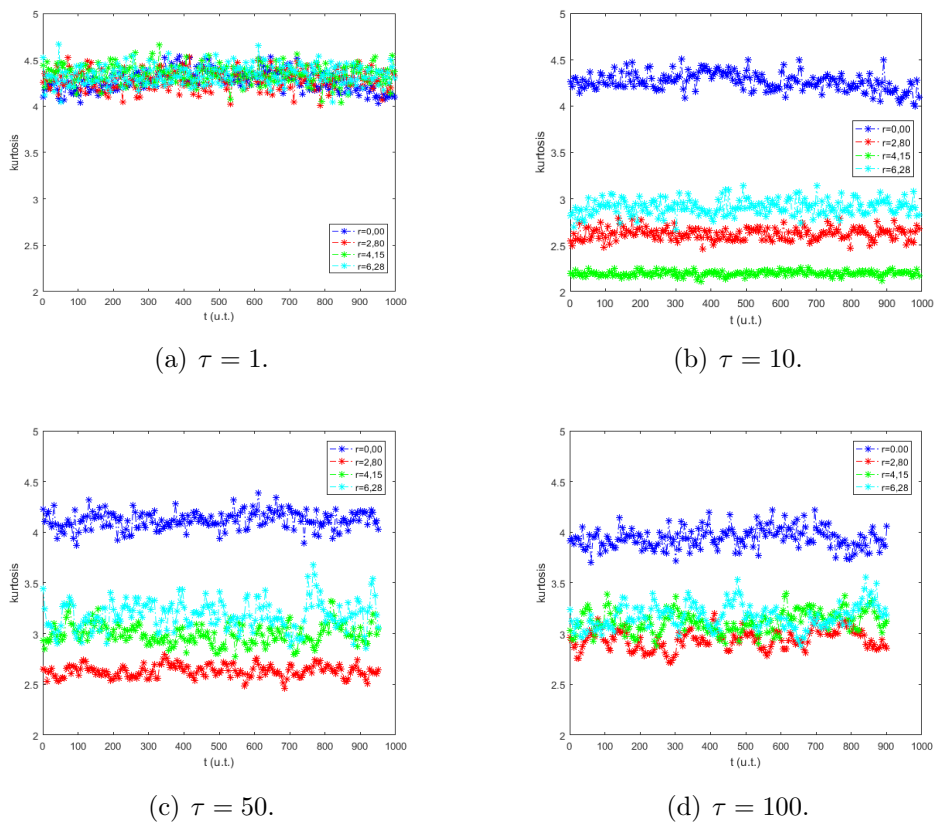


Figura 4.21: Curtose das magnitudes das velocidades como função do tempo para valores distintos de r e τ .

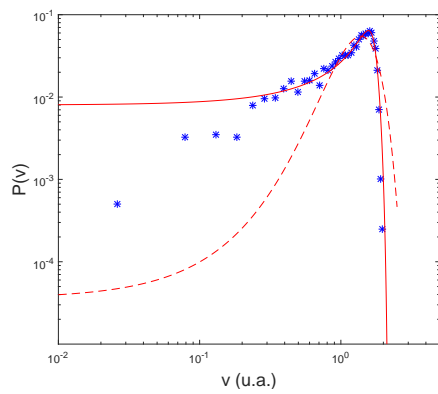
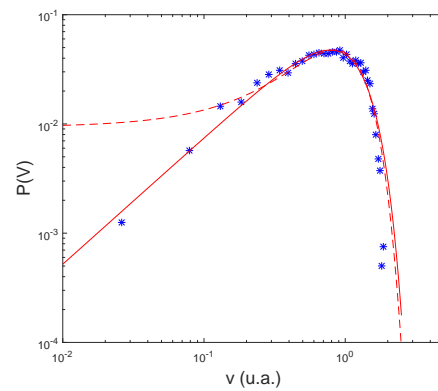
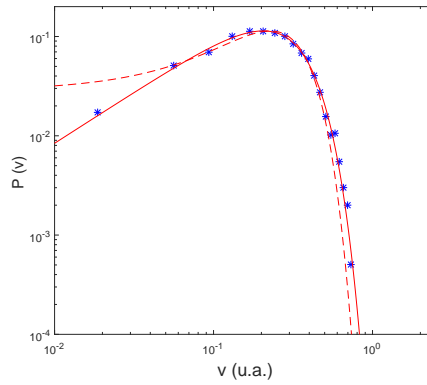
(a) $r = 2,80$ e $\tau = 10$.(b) $r = 4,15$ e $\tau = 10$.(c) $r = 6,28$ e $\tau = 50$.

Figura 4.22: Gráficos de algumas das distribuições de velocidades. As curvas contínuas representam o melhor ajuste e as tracejadas são a tentativa de ajustes com uma gaussiana. O caso de (a) a curva foi uma q-Weibull invertida, “espelhada”, já os demais ajustes foram q-Weibull comuns.

Outro resultado obtido por este modelo foi que as velocidades das partículas não se correlacionam espacialmente conforme podemos verificar na Figura 4.23. Esta imagem é típica para todos os valores de r e τ analisados. Ao compararmos ponto-a-ponto as superfícies analisadas obtemos um erro relativo médio de 3%.

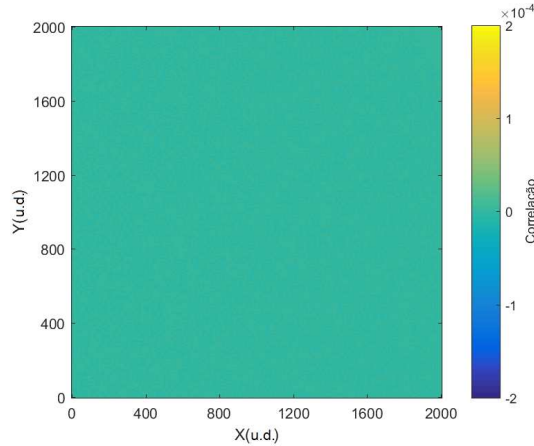


Figura 4.23: Gráfico de típico da correlação espacial de velocidade ($C_v(x, y)$).

Por fim, ao analisar o parâmetro de ordem (Figura 4.24, Figura 4.25, Figura 4.26 e Figura 4.27) podemos ver que seus valores são da ordem de 2.0×10^{-2} , sendo praticamente constante pra $r = 0,00$ e para os demais valores analisados ele é um pouco ruidoso mas sempre desta ordem. Esses resultados indicam novamente que este modelo leva a uma migração na qual a direção dos passos das partículas são descorrelacionados entre si globalmente.

4.2.2 Modelo de Vicsek

Nesta seção estão reportados alguns dos resultados obtidos usando o modelo proposto por [1]. Objetivo é verificar o comportamento dos sistemas quando submetidos a valores distintos de ruídos. Todas as amostras foram feitas considerando que o raio da vizinhança era de $r_c = 50u.d.$, o espaço era quadrado com aresta de tamanho $L = 2000u.d.$, a cada intervalo de tempo $dt = 1u.t.$ as partículas davam um passo de tamanho $l = 2u.d.$ e cada amostra contia $N = 4000$ partículas. A cópia do código fonte se encontra no Apêndice B.

A Figura 4.28 mostra o valor do deslocamento quadrático médio para valores distintos de r .

Assim como no modelo de caminhada livre, discutido na Subseção 4.2.1. observa-se o efeito devido as condições de contorno gerando uma região na curva de $r = 0,00$, a partir de $t \sim 200u.t.$, com variações bruscas no comportamento do gráfico. Diferentemente do

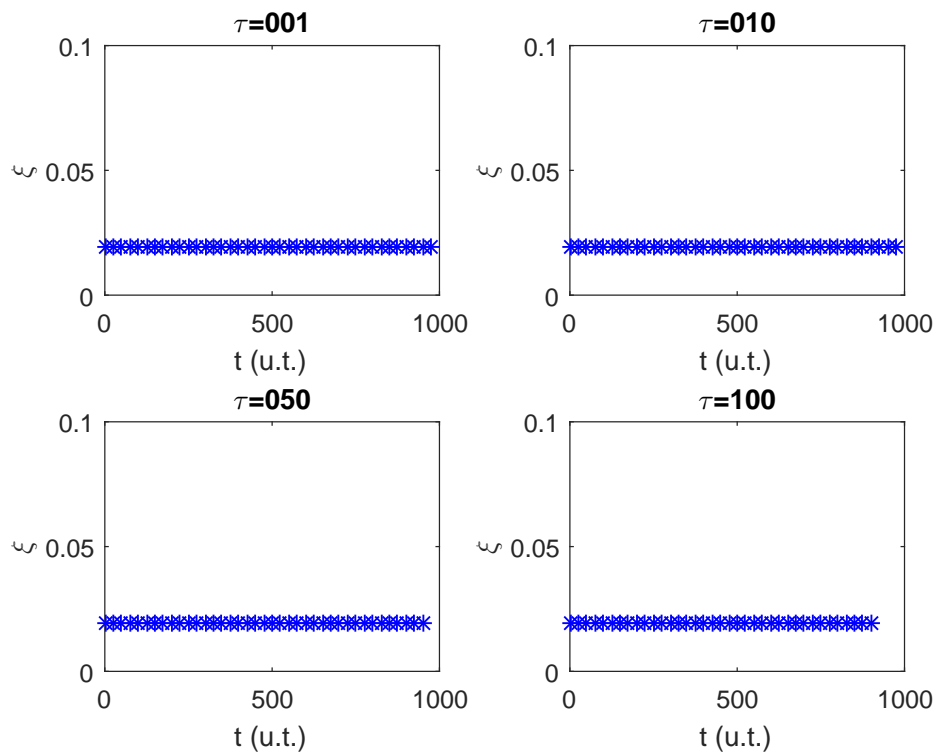


Figura 4.24: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 0,00$ e valores distintos de τ .

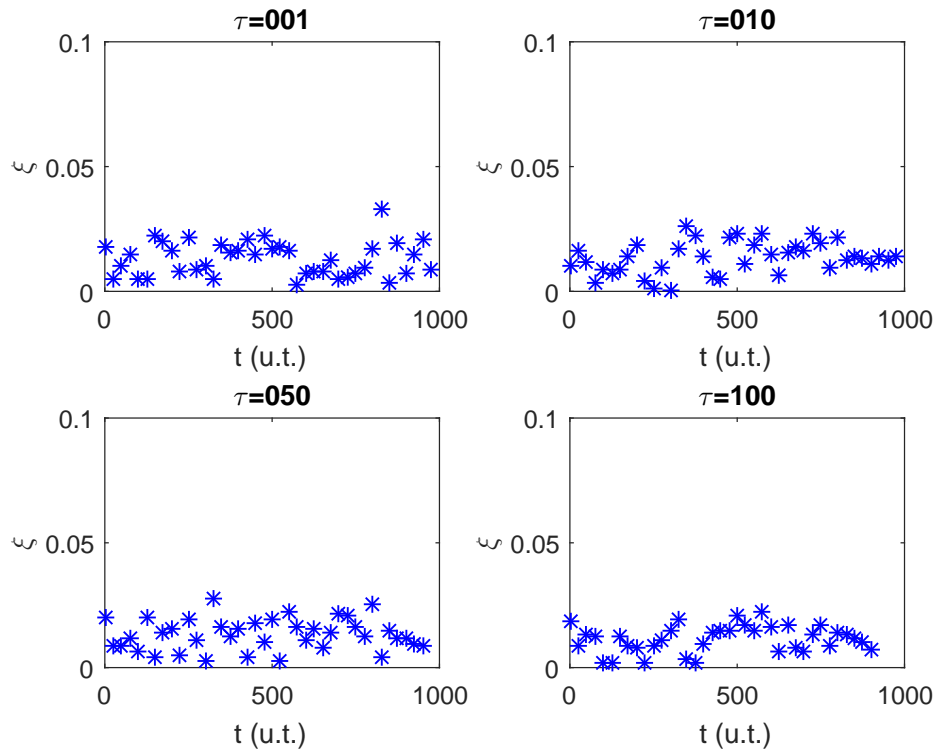


Figura 4.25: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 2,80$ e valores distintos de τ .

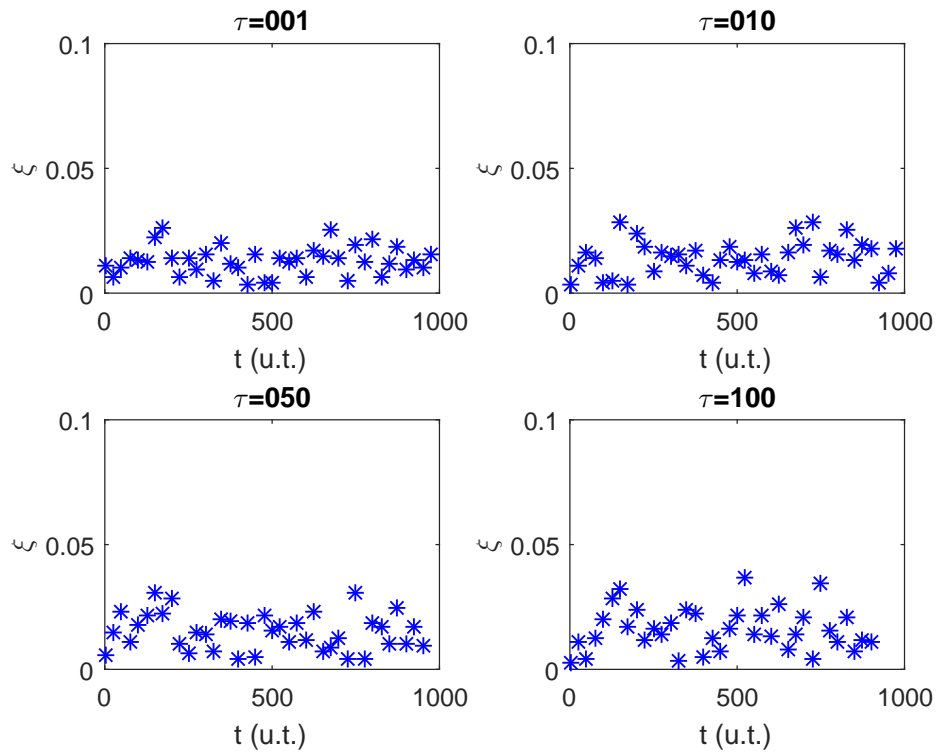


Figura 4.26: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 4, 15$ e valores distintos de τ .

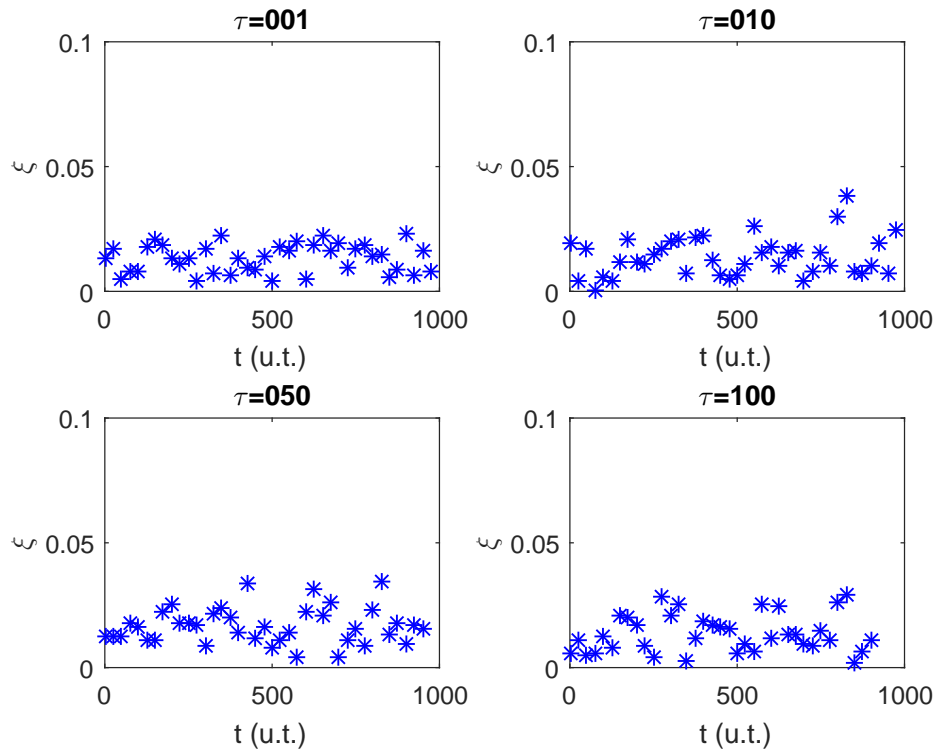


Figura 4.27: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 6, 28$ e valores distintos de τ .

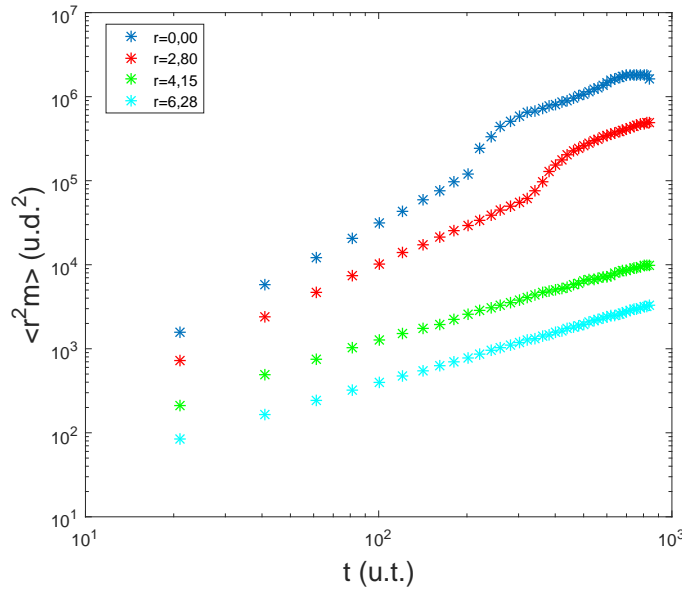


Figura 4.28: Gráfico de $\langle r^2 \rangle$ para diversos valores de r obtidas usando o modelo de Vicsek com $r_c = 50u.d.$, $L = 2000u.d.$ e $N = 4000$.

caso anterior, neste modelo também podemos observar o mesmo comportamento para $r = 2,80$ só que para um $t \sim 300u.t.$ Isso mostra que, como as células tendem a se alinhar com a velocidade média da vizinhança, uma persistência maior na caminhada das partículas é gerada. Então mesmo na presença de um ruído uma quantidade significativa de células consegue atravessar a região de fronteira e precisa ser deslocadas. Novamente foi feita uma simulação removendo as condições de fronteira e este efeito não foi mais verificado nesta região.

A Figura 4.29 mostra as mesmas curvas na região onde os efeitos das condições de contorno não são relevantes. Os asteriscos indicam os dados da simulação e as linhas sólidas os respectivos ajustes, para valores de r distintos. Todos os ajustes indicam que $\langle r^2 \rangle$ varia segundo uma lei de potencia. Na Tabela 4.5 estão os valores de α obtidos com o ajuste. Os valores de α indicam que para $r = 0,00$ o regime é muito próximo do balístico, como ocorria no caso do modelo da Caminhada Livre. A pequena redução no valor do expoente, mesmo na ausência de ruído, se deve a interação entre partículas quando se aproximam. Uma vez que neste modelo as partículas tendem a alinhar a sua velocidade com a vizinhança, e com isso ocasionalmente uma partícula tem a sua direção de migração alterada, podendo até mesmo retornar, reduzindo com isso um pouco a sua difusão. Pode-se verificar que com o modelo de Vicsek é possível obter uma caminhada aleatória persistente, $1 < \alpha < 2$, mesmo na presença de ruído. Isso não foi observado em nenhuma amostra baseada no modelo de caminhada Caminhada Livre e corrobora com a hipótese de que esta interação leva a uma persistência ao longo da caminhada, ou seja, ele dificulta que haja a mudança na direção da partícula ao longo do tempo.

Além disso, para as amostras com ruído elevado, $r = 4,28$ e $r = 6,28$, os valores de α se aproximavam da unidade. Portanto, mesmo com a persistência proporcionada pela interação com a vizinhança, se o ruído for muito elevado as partículas podem deixar de ter uma caminhada aleatória persistente.

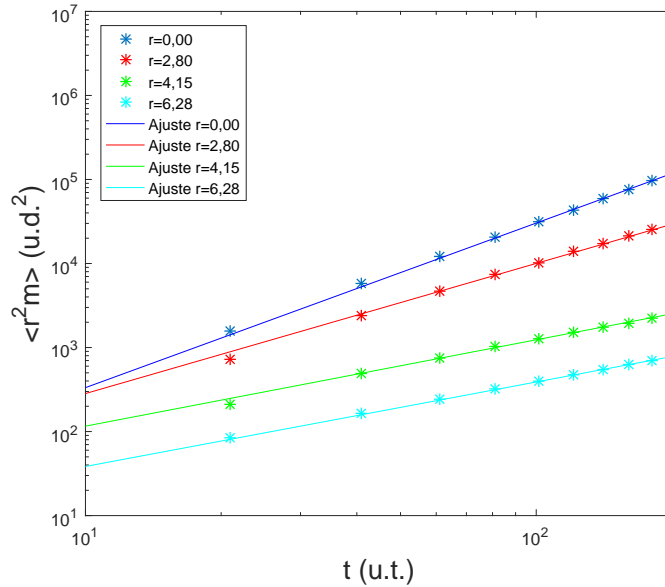


Figura 4.29: Gráfico de $\langle r^2 \rangle$ e os seus respectivos ajustes (lei de potência). Os asteriscos representam os dados experimentais e as linhas sólidas os ajustes.

r	0,00	2,80	4,15	6,28
α	$1,96 \pm 0,03$	$1,55 \pm 0,03$	$1,04 \pm 0,03$	$1,00 \pm 0,01$

Tabela 4.5: Parâmetro α obtidos para diversos valores de r no modelo de Vicsek.

Diferentemente do modelo de Caminhada Livre, os gráficos de correlação de pares obtidas para o modelo de Vicsek mudavam muito ao longo do tempo, principalmente para as amostras onde o valor de r era menor. Compare os gráficos das Figuras 4.30 e 4.31. Isso porque neste modelo as partículas tendem a alinhar a sua velocidade com a vizinhança passando a migrar próximos formando aglomerados. Ao fazer isso a probabilidade de encontrar uma célula vizinha na proximidade aumenta, gerando a região com o tom amarelado para x e y pequenos e regiões mais claras não conexas, indicando que mais de um aglomerado se formou. Vale salientar que apesar das amostras permitirem que haja a formação de aglomerados, eles são pequenos se comparados aos formados quando não há ruído. Sendo assim, este modelo pode auxiliar no estudo de sistemas onde haja a aglomeração entre as partículas.

As velocidades das partículas foram analisadas de forma semelhante a discutida na Subseção 4.2.1. A partir da velocidade macroscópica, vide Equação 4.4, pode-se obter

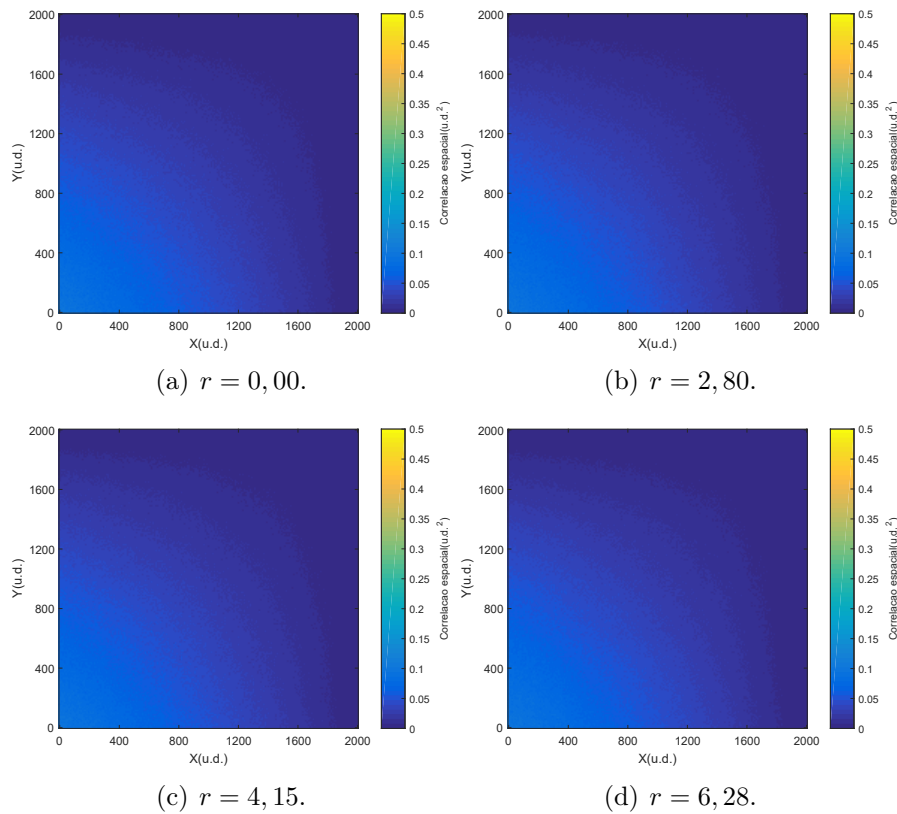


Figura 4.30: Gráficos típicos da correlação de pares obtido para valores distintos de r após as partículas darem o primeiro passo.

distribuições distintas para o histograma de velocidades ao variarmos os parâmetro τ e r . Diferente do que ocorria no caso das amostras baseadas na Caminhada Livre, as distribuições no modelo de Vicsek mudam ao longo do tempo devido as interações entre as partículas. As Figuras 4.32, 4.33, 4.34 e 4.35 mostram algumas destas curvas após as partículas darem 900 passos, $t = 901u.t$, porque a partir deste instante as curvas são estacionárias. No Apêndice E estão as curvas para quando as partículas deram um único passo, $t = 1u.t$, e após darem 450 passos, $t = 451u.t$.

Podemos notar que as curvas da Figura 4.33 tem uma forma de uma q-Weibull só que ela está espelhada, ou seja, ao invés da calda alongada estar na direção crescente dos valores da abscissa ela aponta na direção negativa. Afim de ajustar esta curva com uma q-Weibull a Figura 4.36 mostra as mesmas curvas após aplicar uma operação de inversão e translação no eixo x. Especificamente, fizemos $\nu'_\tau = \nu_\tau^0 - \nu_\tau$, onde o ν_τ^0 é o maior valor de ν_τ onde $P(\nu_\tau)$ é não nulo. A Tabela 4.6 mostra os valores de q e r ao ajustar os histogramas das Figuras 4.34, 4.35 e 4.36, que não era uma distribuição δ -Dirac, com uma q-Weibull. Todos os valores dos ajustem possuem confiabilidade de 95%.

A partir destes dados podemos ver que quando há uma interação que tende a correlacionar as velocidades das partículas as distribuições de velocidade evoluem ao longo do tempo até atingir um regime estacionário. Quanto mais fraca vai ficando esta interação,

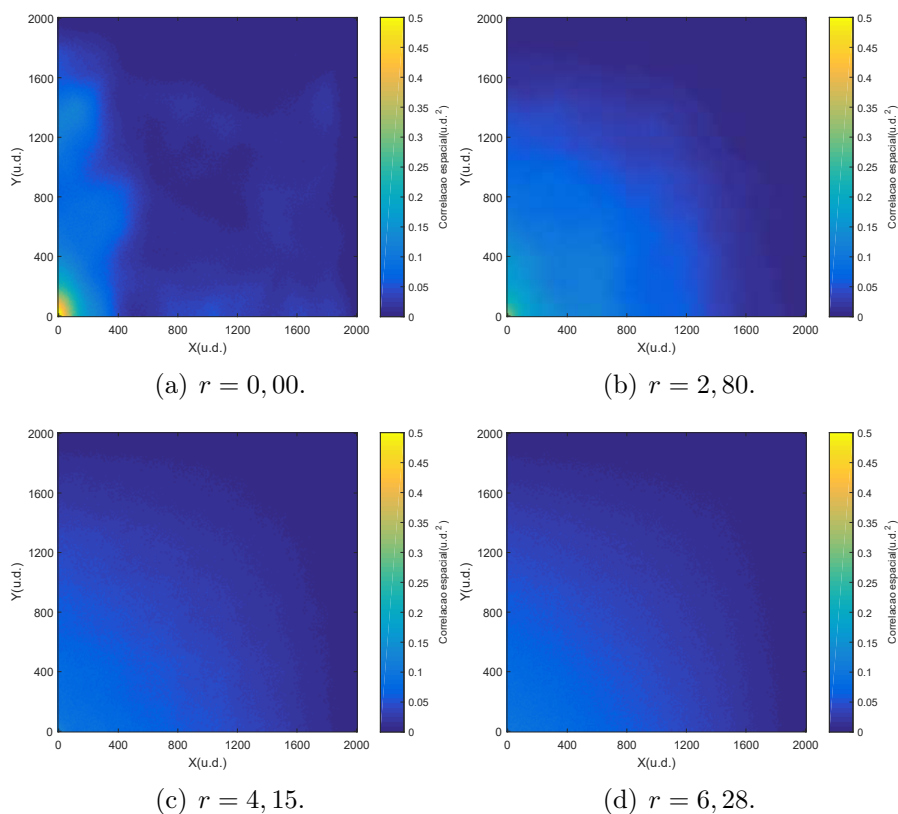


Figura 4.31: Gráficos típicos da correlação de pares obtido para valores distintos de r após as partículas darem 1000 passos.

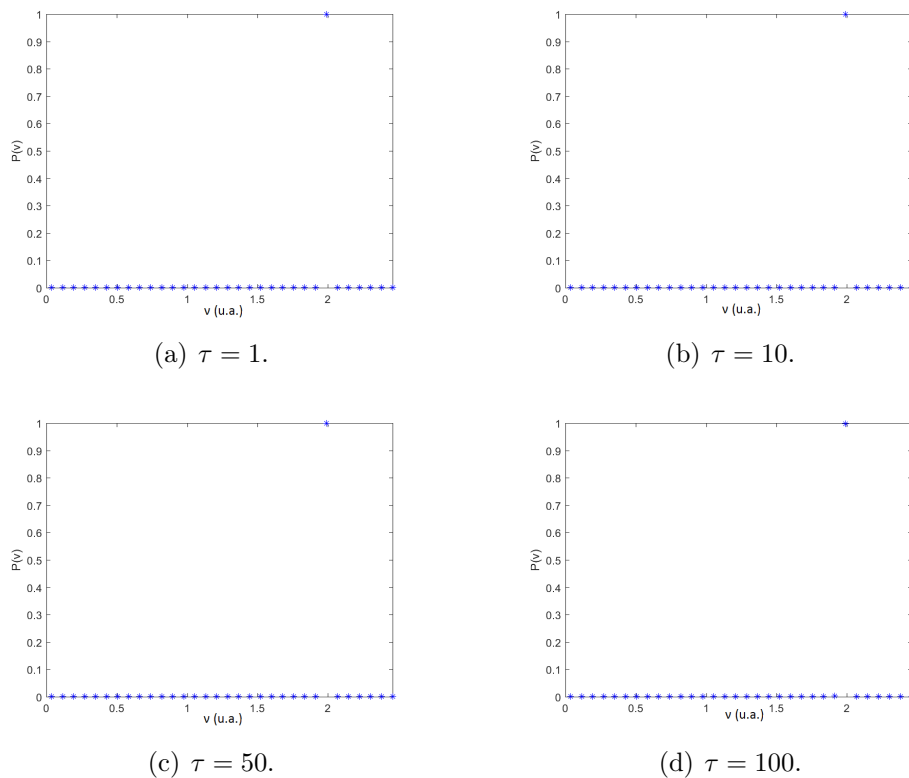


Figura 4.32: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 0,00$ e valores distintos de τ após as partículas darem 900 passos.

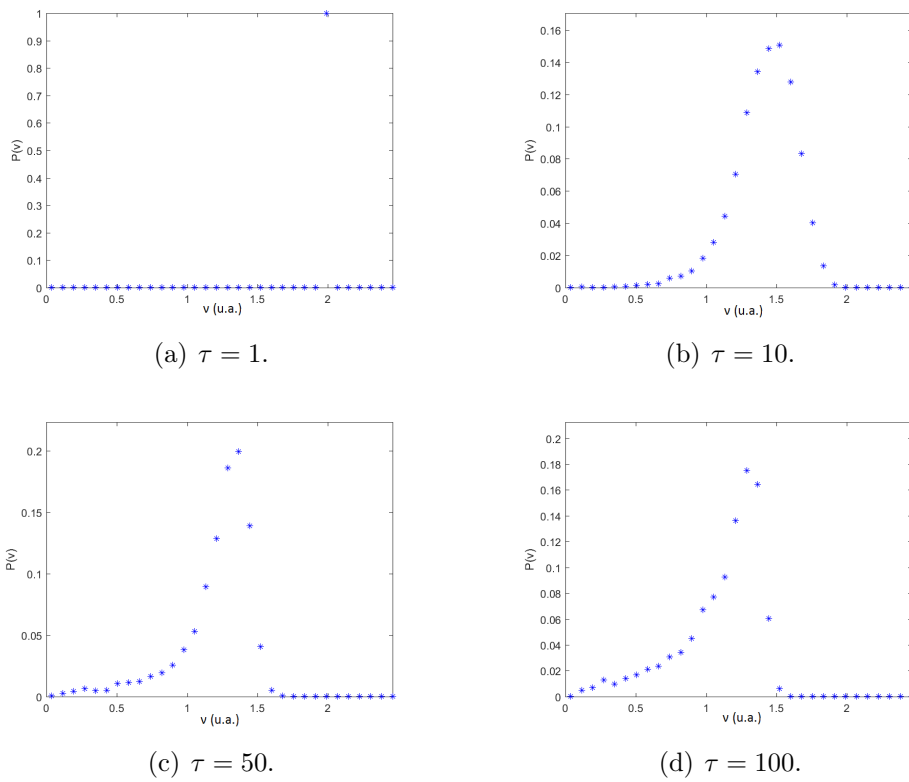


Figura 4.33: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 2, 80$ e valores distintos de τ após as partículas darem 900 passos.

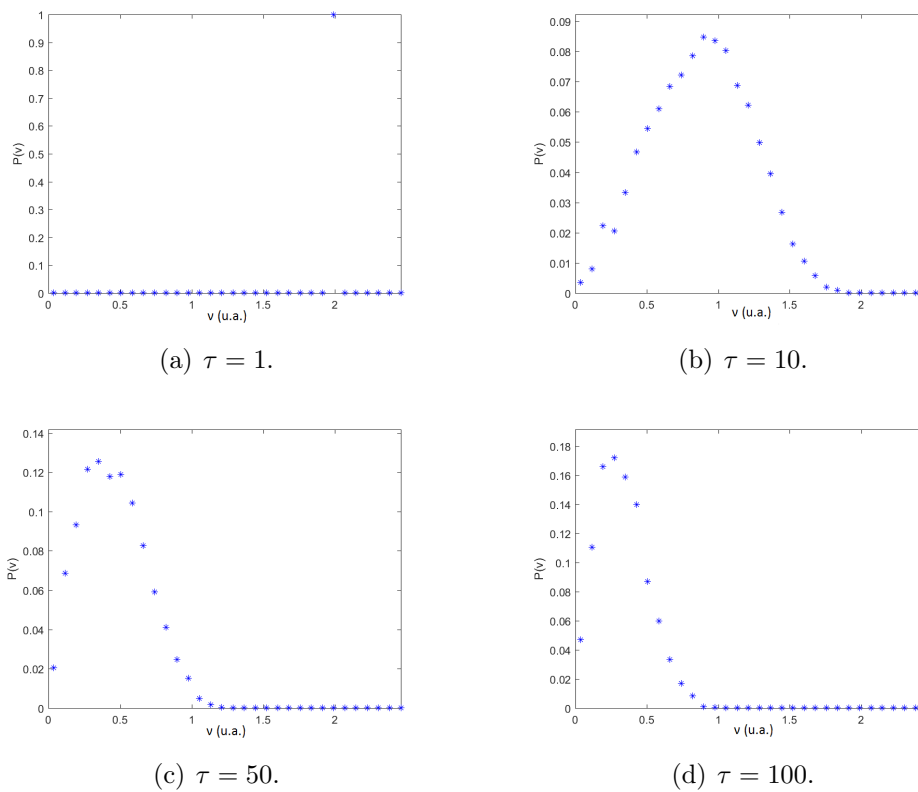


Figura 4.34: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 4, 15$ e valores distintos de τ após as partículas darem 900 passos.

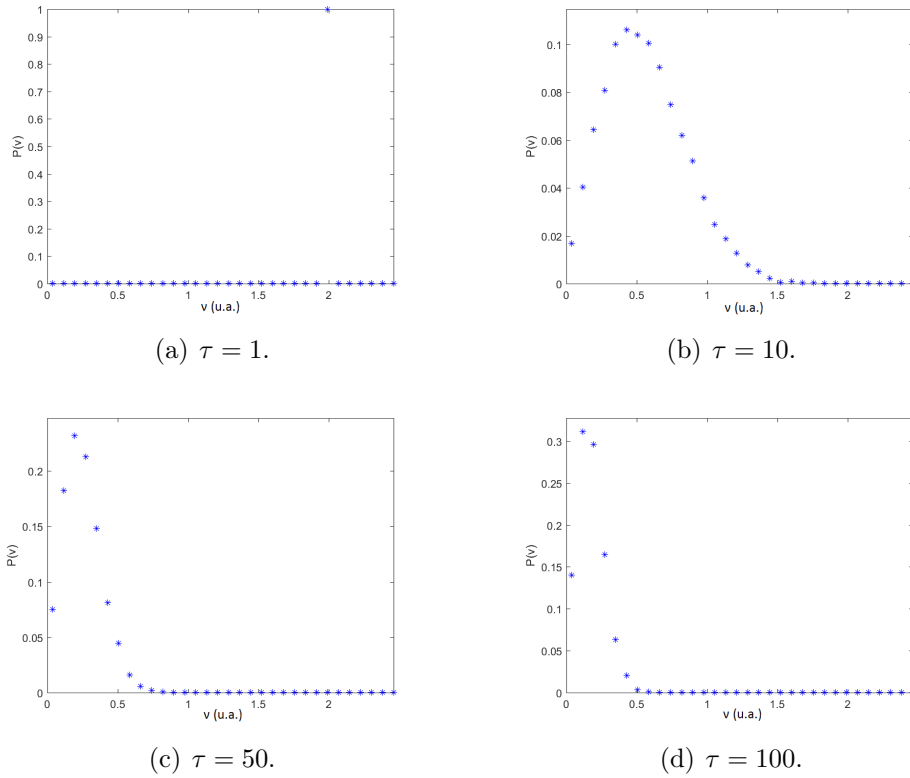


Figura 4.35: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 6, 28$ e valores distintos de τ após as partículas darem 900 passos.

r	τ	q	κ	R-square
2,80	10	$1,30 \pm 0,05$	$3,60 \pm 0,13$	0,998
	50	$1,68 \pm 0,03$	$5,92 \pm 0,32$	0,998
	100	$1,81 \pm 0,04$	$4,82 \pm 0,52$	0,995
4,15	10	$0,89 \pm 0,50$	$2,66 \pm 0,09$	0,991
	50	$0,99 \pm 0,11$	$2,16 \pm 0,11$	0,995
	100	$0,99 \pm 0,05$	$1,98 \pm 0,04$	0,998
6,28	10	$0,97 \pm 0,04$	$2,04 \pm 0,05$	0,998
	50	$0,99 \pm 0,05$	$2,00 \pm 0,01$	0,999
	100	$0,99 \pm 0,08$	$1,99 \pm 0,07$	0,998

Tabela 4.6: Os valores de q e r obtidos ao ajustar os histogramas das Figuras 4.34, 4.35 e 4.36 com uma q-weibull.

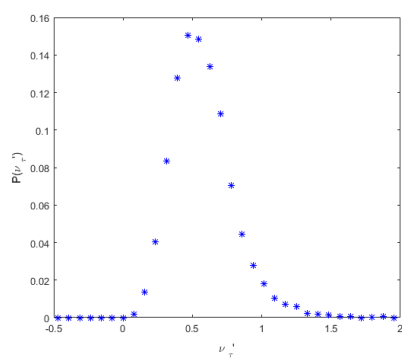
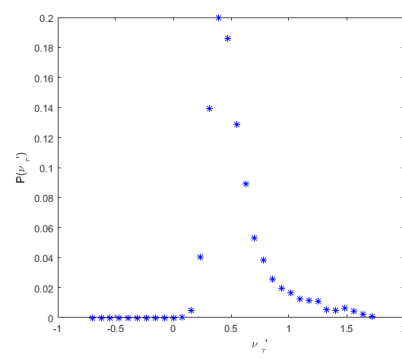
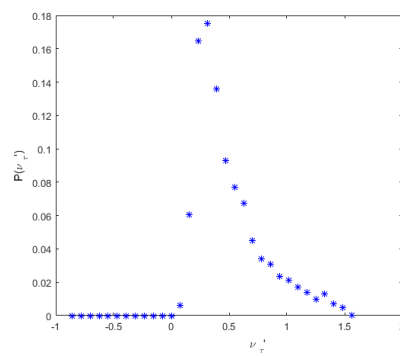
(a) $\tau = 010$.(b) $\tau = 050$.(c) $\tau = 100$.

Figura 4.36: Distribuições típicas de ν'_τ para $r = 2, 80$ e valores distintos de τ após as partículas darem 900 passos.

o estado estacionário é alcançado mais rapidamente e a distribuição $P(\nu_\tau)$ tende a uma q-Weibull com $q \rightarrow 1$ e $r \rightarrow 2$ (a Maxwelliana).

Por fim ao analisar o parâmetro de ordem, Figura 4.37, Figura 4.38, Figura 4.39 e Figura 4.40 usando a velocidade macroscópica, Equação 4.4, podemos verificar que quando o $r = 0,00$ as partículas passam a caminhar na mesma direção gerando uma fase ordenada, independente do valor τ . Para $r = 2,80$ temos um ordenamento na velocidade das partícula, já para os demais valores de r obtêm-se somente uma fase paramagnética para estas amostra.

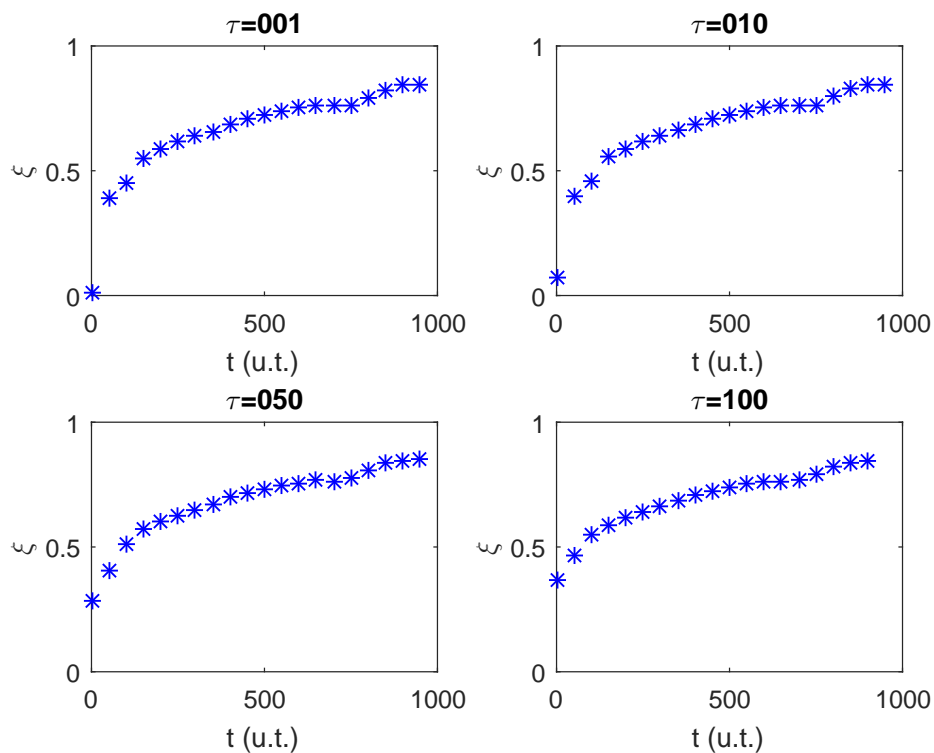


Figura 4.37: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 0,00$ e valores distintos de τ .

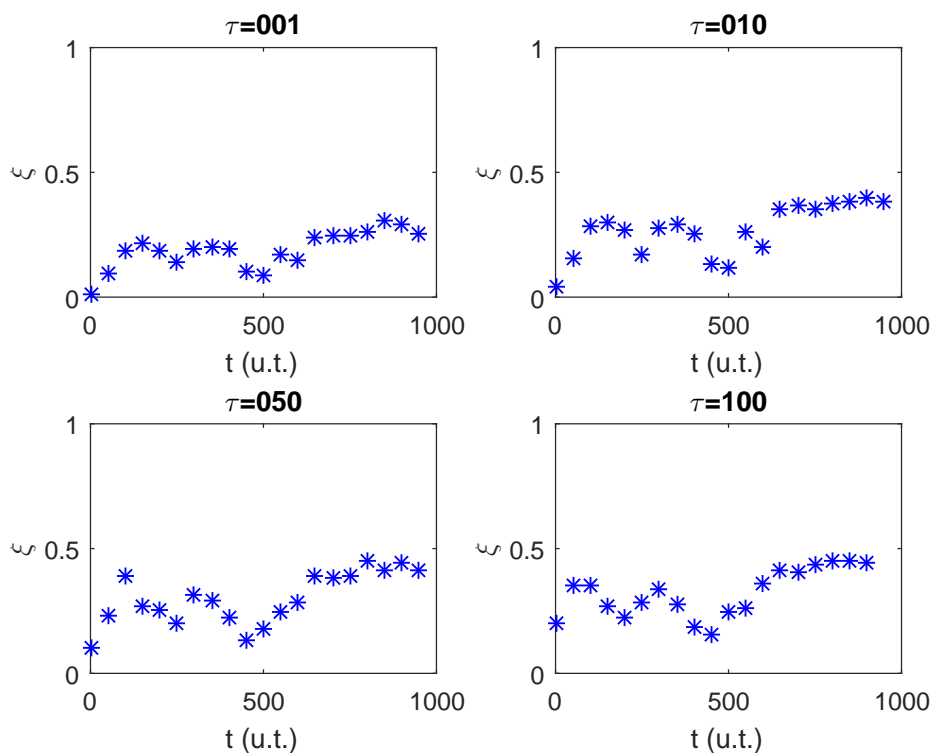


Figura 4.38: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 2, 80$ e valores distintos de τ .

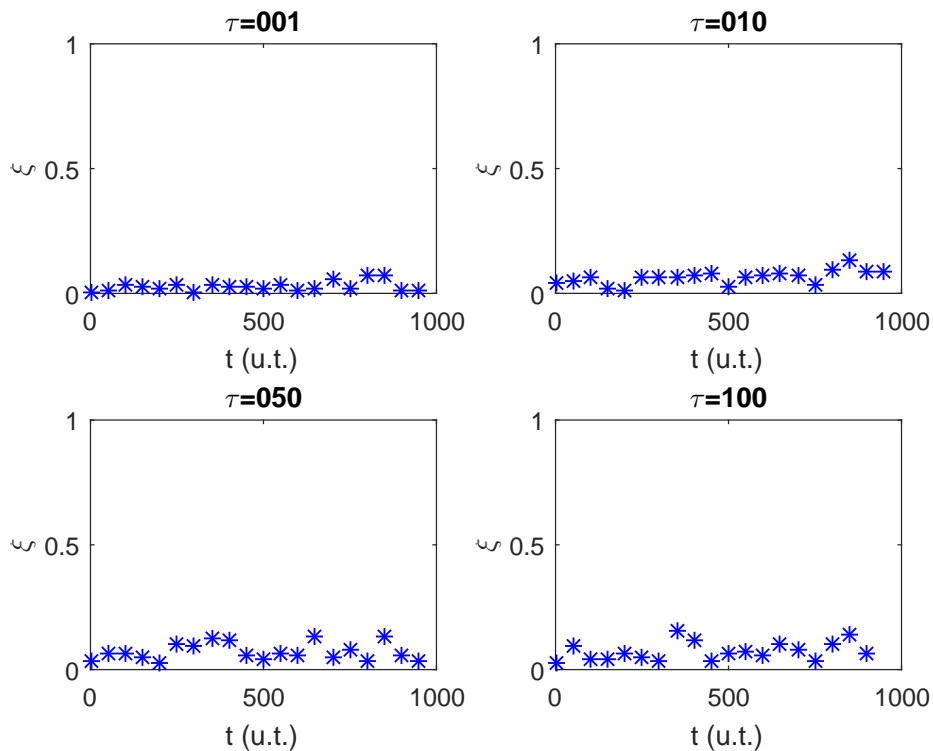


Figura 4.39: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 4, 15$ e valores distintos de τ .

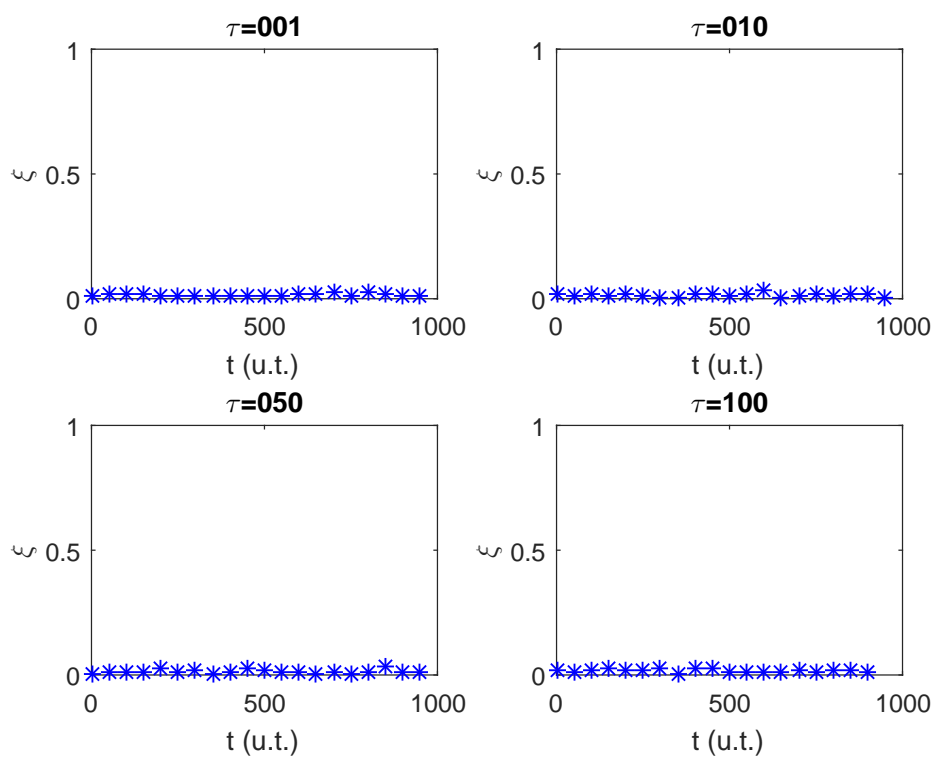


Figura 4.40: Gráfico do parâmetro de ordem para $r = 6, 28$ e valores distintos de τ .

Capítulo 5

Considerações Finais

Com o presente trabalho foi possível mostrar que células MDCK em cultura tendem, inicialmente, a formar aglomerados pequenos, basicamente as células tendem a migrar sozinhas ou formar aglomerado somente com duas células. Estes aglomerados quase não aumentavam de tamanho durante o tempo de observação para culturas com várias densidades superficiais de 8, 61, 22, 46 e 130, 15 *celulas/mm²*. De fato, a probabilidade de se encontrar um aglomerado com s células era dada por uma distribuição tipo exponencial estirada. Este resultado está em conformidade com outros trabalhos desenvolvidos pelo Grupo de Física Biológica da Universidade Federal de Viçosa, [32].

A análise do deslocamento quadrático médio nos mostra que estas células realizam uma caminhada anômala uma vez que o expoente $\alpha \neq 1$. Além disso o valor de α se altera ao longo do tempo sugerindo que a caminhada é aleatória mas persistente e com mudança de velocidade.

Verificou-se que o histograma dos módulos das velocidades possui a forma de q-Weibull, o que, em conformidade com [20] e os resultados das amostras simuladas, confirma a existência de uma caminhada aleatória persistente. Os valores de q obtidos foram maiores que 1, exceto para a a mostra com 28 células onde os dados são mais ruidosos. Sendo assim, as células MDCK nestas condições experimentais possuem um regime de difusão anômalo e com uma caminhada aleatória persistente.

A análise dos parâmetros de ordem nos mostra que basicamente que há um resíduo de ordenamento global ($\xi \sim 10^{-2}$). Isso, segundo [1], sugere que estamos em um ordenamento intermediário entre o paramagnético e o ferromagnético. Como o desvio padrão deste parâmetro não diverge sugere que estamos fora da região de transição de fase prevista por [1, 34]. Estes resultados em sistemas de matéria ativa podem indicar que estaria ocorrendo um ordenamento localizado. A análise da correlação espacial de velocidade, Figura 4.9, corroborou com esta hipótese ao mostrar que somente células vizinhas possuíam alguma correlação de velocidade.

A partir dos resultados obtidos nas simulações pode-se verificar que em um sistema bidimensional distribuições de módulos de velocidade com a forma de uma q-Weibull estão relacionadas com uma caminhada aleatória persistente; já no limite de uma caminhada tipo Browniana bidimensional os resultados coincidem com aquele previsto no regime da Física Estatística Clássica e possuem uma distribuição na forma de uma Weibull com $\kappa = 2$.

Referências Bibliográficas

- [1] T. Vicsek, A. Czirok, E. Ben-Jacob, I. Cohen, and O. Shochet. Novel Type of Phase Transition in a System of Self Propelled Particles. *Phys. Rev. Lett.*, 75(8):1226–1229, 1995.
- [2] R. P. Feynman. The Feynman Lectures on Physics; Vol. I. *American Journal of Physics*, 33(9):750, 1965.
- [3] M. C. Marchetti, J. F. Joanny, S. Ramaswamy, T. B. Liverpool, J. Prost, Madan Rao, and R. Aditi Simha. Hydrodynamics of soft active matter. *Reviews of Modern Physics*, 85(3):1143–1189, 2013.
- [4] S. C. Takatori and J. F. Brady. Forces, Stresses and the (Thermo?) Dynamics of Active Matter. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 21:24–33, 2016.
- [5] J. P. Rieu, A. Upadhyaya, J. a Glazier, N. B. Ouchi, and Y. Sawada. Diffusion and deformations of single hydra cells in cellular aggregates. *Biophysical journal*, 79(4):1903–14, 2000.
- [6] P. C. A. da Silva, T. V. Rosembach, A. A. Santos, M. S. Rocha, and M. L. Martins. Normal and tumoral melanocytes exhibit q-Gaussian random search patterns. *PLoS one*, 9(9):e104253, 2014.
- [7] H. M. López, J. Gachelin, C. Douarche, H. Auradou, and E. Clément. Turning bacteria suspensions into superfluids. *Phys. Rev. Lett.*, 115:028301, Jul 2015.
- [8] S. Ramaswamy. The Mechanics and Statistics of Active Matter. *Annual Review of Condensed Matter Physics*, 1(1):323–345, 2010.
- [9] P. Friedl and K. Wolf. Plasticity of cell migration: A multiscale tuning model. *Journal of Cell Biology*, 188(1):11–19, 2010.
- [10] G. Danuser, J. Allard, and A. Mogilner. Mathematical modeling of eukaryotic cell migration: insights beyond experiments. *Annual review of cell and developmental biology*, 29(July):501–28, 2013.

- [11] T. Lämmermann and M. Sixt. Mechanical modes of ‘amoeboid’ cell migration, 2009.
- [12] P. K. Mattila and P. Lappalainen. Filopodia: molecular architecture and cellular functions. *Nature Reviews: Molecular Cell Biology*, 9:446–454, 2008.
- [13] G. Charras and E. Paluch. Blebs lead the way: how to migrate without lamellipodia. *Nature reviews. Molecular cell biology*, 9(9):730–736, 2008.
- [14] P. L. Krapivsky, S. Redner, and E. Ben-Naim. *A kinetic view of statistical physics*. Cambridge University Press, 2010.
- [15] S. R. A. Salinas. *Introdução a Física Estatística Vol. 09*. EDUSP, 1997.
- [16] P. C. A. da Silva. *Caracterização e modelagem de fenômenos de migração e agregação celular in vitro*. PhD thesis, Universidade Federal de Viçosa, 2014.
- [17] G. B. Arfken, H. J. Weber, and F. E Harris. *Mathematical methods for physicists: a comprehensive guide*. Academic press, 2011.
- [18] C. Tsallis, G. Bemsiki, and R. S. Mendes. Is re-association in folded proteins a case of nonextensivity? *Physics Letters A*, 257(1?2):93–98, 1999.
- [19] E. Bertin, M. Droz, and G. Grégoire. Hydrodynamic equations for self-propelled particles: microscopic derivation and stability analysis. *Journal of Physics A: Mathematical and Theoretical*, 42(44):445001, 2009.
- [20] S. Picoli, R. S. Mendes, and L. C. Malacarne. q-exponential, Weibull, and q-Weibull distributions: An empirical analysis. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 324(3-4):678–688, 2003.
- [21] S. P. Jr, R. S. Mendes, L. C. Malacarne, and R. P. B. Santos. q -distributions in complex systems : a brief review. *Brazilian Journal of Physics*, 39(2A):468–474, 2009.
- [22] L. Li, S. F. Nørrelkke, and E. C. Cox. Persistent cell motion in the absence of external signals: A search strategy for eukaryotic cells. *PLoS ONE*, 3(5), 2008.
- [23] F. Peruani and L. G. Morelli. Self-propelled particles with fluctuating speed and direction of motion in two dimensions. *Physical Review Letters*, 99(1):1–4, 2007.
- [24] A. Upadhyaya, J. P. Rieu, J. A. Glazier, and Y. Sawada. Anomalous diffusion and non-Gaussian velocity distribution of Hydra cells in cellular aggregates. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 293(3-4):549–558, 2001.

- [25] H. P. Zhang, A. Be'er, E. L. Florin, and H. L. Swinney. Collective motion and density fluctuations in bacterial colonies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(31):13626–30, 2010.
- [26] M. Romenskyy and V. Lobaskin. Statistical properties of swarms of self-propelled particles with repulsions across the order-disorder transition. *European Physical Journal B*, 86(3):1–10, 2013.
- [27] M. Eiraku, N. Takata, H. Ishibashi, M. Kawada, E. Sakakura, S. Okuda, K. Sekiguchi, T. Adachi, and Y. Sasai. Self-organizing optic-cup morphogenesis in three-dimensional culture. *Nature*, 472(7341):51–56, 2011.
- [28] P. Haas and D. Gilmour. Chemokine Signaling Mediates Self-Organizing Tissue Migration in the Zebrafish Lateral Line. *Developmental Cell*, 10(5):673–680, 2006.
- [29] T. Lecuit and L. Le Goff. Orchestrating size and shape during morphogenesis. *Nature*, 450(7167):189–192, 2007.
- [30] B. K. Kramp, A. Sarabi, R. R. Koenen, and C. Weber. Heterophilic chemokine receptor interactions in chemokine signaling and biology, 2011.
- [31] R. L. Mendes, A. A. Santos, M.L. Martins, and M.J. Vilela. Cluster size distribution of cell aggregates in culture. *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, 298:471–487, 2001.
- [32] P. C. A. da Silva, A. A. Santos, S. G. Alves, and M. L. Martins. Cell agregation in monolayer culture: Clues to a universal kinetics. *Submetido para publicação*, 2017.
- [33] H. Chate, F. Ginelli, G. Gregoire, F. Peruani, and F. Raynaud. Modeling collective motion: Variations on the Vicsek model. *European Physical Journal B*, 64(3-4):451–456, 2008.
- [34] G. Grégoire and H. Chaté. Onset of collective and cohesive motion. *Physical review letters*, 92(2):025702, 2004.
- [35] B. Szabó, G. J. Szollosi, B. Gönci, Z. Juronyi, D. Selmeczi, and T. Vicsek. Phase transition in the collective migration of tissue cells: Experiment and model. *Physical Review E - Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics*, 74(6):1–5, 2006.
- [36] Mehran Kardar. *Statistical physics of particles*. Cambridge University Press, 2007.

Apêndice A

Macro usada no ImageJ para montar as imagens

Conforme descrita na Seção 3.2 foi necessário efetuar a união das imagens no campo de visão. Inicialmente esta união foi realizada manualmente no ImageJ, porém como demandava muito tempo foi criado um macro para ImageJ que otimizava esta tarefa. O código fonte desta macro escrita em linguagem específica do programa está mostrada abaixo:

```
1 //Definindo os parametros:
2
3 titulo = "Untitled";
4 N_imagens=145;
5 incre=145;
6 name    ="20151104_MDCK_x20_poco1_"
7 Dialog.create("Dados Necessario");
8 Dialog.addString("Titulo do Stak", titulo);
9 Dialog.addNumber("Numero de imagens a serem criadas: ", N_imagens);
10 Dialog.addNumber("Incremento:", incre);
11 Dialog.addString("Nome dos arquivos:", name);
12 Dialog.show();
13 titulo = Dialog.getString();
14 N_imagens = Dialog.getNumber();
15 incre = Dialog.getNumber();
16 name = Dialog.getString();
17 dirsave=getDirectory("Selecione a pasta onde salvar as imagens:");
18
19 //Paste de salvamento:
20
21 selectWindow(titulo);
```

```
22 run("Set Scale...", "distance=1529.0366 known=1000 pixel=0.992 unit
    =\mu m global");
23 setBatchMode(true);
24 for(n=1;n<=N_imagens;n++) {
25 selectWindow("teste");
26 b=n;
27 if(n<100) b="0"+n;
28 if(n<10) b="00"+n;
29 run("Make Montage...", "columns=6 rows=5 scale=1 increment="+inre
    +" first="+n);
30 saveAs("Tiff", dirsave+name+b);
31 close("teste"+n + ".tif");
32 }
33 setBatchMode(false);
34 run("Image Sequence...", "open="+dirsave +name + "001.tif
    disable_these_sort");
```

Uma vez que esta macro esteja instalada no ImageJ basta colocar todas as imagens de todos os poços em uma única pasta importar todas as imagens usando a opção “File->Import->Image Sequence” executar a macro e informar na campo “Numero de imagens a serem criada” a quantidade de *rounds* executado pela Biostation e no “Incremento” quantos poços foram fotografados. Uma vez configurado as imagens do campo de visão serão salvas no mesmo diretório já devidamente montada e com a sua escala calibrada.

Apêndice B

Código fonte do modelo de Vicsek usado nas simulações

Segue o código fonte utilizado para a produção das amostras do modelo de Vicsek.

```
1 !*****
2 !
3 !   PROGRAMA: viseck_model_v1
4 !
5 !   DESCRICAO:   Este programa realiza uma simulacao baseado no
6 !               modelo de Vicsek.
7 !               Neste programa foi implementada a ideia de uma lista
8 !               tipo Verlet.
9 !
10 !   Tiago Venzel Rosembach - UFV
11 !*****
12 PROGRAM viseck_model
13 IMPLICIT NONE
14
15 !-----
16 !               DECLARACAO DAS VAIAVEIS
17 !-----
18 INTEGER:: n_pass, n_part, n1, n2, cont, frup_cont, viz_cont,
19           percento_cont, n, fr
20 REAL (KIND=8):: v, dt, r, ru, uptime, rvp, x1i, x1f, y1i, y1f, x2i,
21               x2f, y2i, y2f, lx, ly, ang, pi, short_calc, ra, v2xi, v2yi
22 CHARACTER (LEN=9):: name
23 CHARACTER (LEN=16):: name_fr
24 REAL (KIND=8), DIMENSION (2):: dim, vel_med
25 REAL (KIND=8), DIMENSION (101):: percento
```

```

22 REAL (KIND=8), DIMENSION (:), ALLOCATABLE:: frup(:)
23 REAL (KIND=8), DIMENSION (:,:), ALLOCATABLE:: viz(:, :)
24 REAL (KIND=8), DIMENSION (:,:,), ALLOCATABLE:: dados(:, :, :)
25
26 !-----
27 !           PARAMETROS DE ENTRADA
28 !-----
29 dim=[2000,2000]           !As dimensoes X e Y do campo de visao
    em micrometro.
30 n_part=4000             !Numero de particulas na simulacao.
31 n_pass=1000            !Numero passos.
32 v=2.0                  !Velocidade micrometro/min.
33 dt=1.0                 !Variacao de tempo entre passos em min.
34 r=50                   !Raio da vizinhanca em micrometro.
35 ru=0.00                !A metade da amplitude do ruido.
36 uptime=100             !Digite o periodo de atualizacao da
    vizinhaca.
37 rvp=500                !0 raio da vizinhanca em potencial.
38
39 !-----
40 !   REDIMENSIONANDO E ATRIBUINDO VALORES AS VARIAVEIS
41 !-----
42 CALL RANDOM_SEED()
43 pi=2*ASIN(1.0)
44 lx=dim(1)
45 ly=dim(2)
46 ALLOCATE(dados(1:n_part,1:5,1:n_pass+1)) !E vetor que vai salvar (x
    ,y,ang,vx,vy) para cada celula .
47 short_calc=(n_pass*dt/uptime)
48 ALLOCATE(frup(1:CEILING(short_calc)))
49 short_calc=uptime/dt
50 frup=[1:n_pass:CEILING(short_calc)]
51 ALLOCATE(viz(1:n_part,1:n_part))
52 viz=0.0
53 dados=0.0
54 short_calc=n_pass/100
55 porcento=[0:n_pass:NINT(short_calc)]
56
57 !-----
58 !           SORTEIO INICIAL DAS PARTICULAS
59 !-----

```

```

60 DO n1=1,n_part
61     CALL RANDOM_NUMBER(ra)
62     x1i=lx*(ra)
63     CALL RANDOM_NUMBER(ra)
64     y1i=ly*(ra)
65     CALL RANDOM_NUMBER(ra)
66     ang=2*pi*(ra)
67     dados(n1,1,1)=x1i
68     dados(n1,2,1)=y1i
69     dados(n1,3,1)=ang
70     short_calc=v*COS(ang)
71     dados(n1,4,1)=short_calc
72     x1f=x1i+short_calc*dt
73     short_calc=v*SIN(ang)
74     dados(n1,5,1)=short_calc
75     y1f=y1i+short_calc*dt
76
77     !APLICANDO AS CONDICÕES DE CONTO PERIODICAS
78     IF (x1f<0) THEN
79         x1f=x1f+lx
80     ELSE IF (x1f>lx) THEN
81         x1f=x1f-lx
82     END IF
83
84     IF (y1f<0) THEN
85         y1f=y1f+ly
86     ELSE IF (y1f>ly) THEN
87         y1f=y1f-ly
88     END IF
89
90     dados(n1,1,2)=x1f
91     dados(n1,2,2)=y1f
92
93 END DO
94
95 !LISTA DOS VIZINHOS EM POTENCIAIS PARA O PRIMEIRO FRAME
96 PRINT*, 'Criando a lista dos vizinhos em potenciais!'
97
98 DO n1=1,n_part
99     x1i=dados(n1,1,1)
100    y1i=dados(n1,2,1)

```

```

101     cont=1
102     DO n2=1,n_part
103         x2i=dados(n2,1,1)
104         y2i=dados(n2,2,1)
105         IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i)**2)<=rvp) THEN
106             viz(n1,cont)=n2
107             cont=cont+1
108         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i)**2)<=rvp) THEN
109             viz(n1,cont)=n2
110             cont=cont+1
111         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i)**2)<=rvp) THEN
112             viz(n1,cont)=n2
113             cont=cont+1
114         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i+ly)**2)<=rvp) THEN
115             viz(n1,cont)=n2
116             cont=cont+1
117         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=rvp) THEN
118             viz(n1,cont)=n2
119             cont=cont+1
120         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i+ly)**2)<=rvp) THEN
121             viz(n1,cont)=n2
122             cont=cont+1
123         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=rvp) THEN
124             viz(n1,cont)=n2
125             cont=cont+1
126         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i+ly)**2)<=rvp) THEN
127             viz(n1,cont)=n2
128             cont=cont+1
129         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=rvp) THEN
130             viz(n1,cont)=n2
131             cont=cont+1
132         END IF
133     END DO
134 END DO
135 PRINT*, 'Criada a listas dos vizinhos em potenciais!'
136
137 !-----
138 !                               PARA TODOS OS PASSOS
139 !-----
140 frup_cont=2
141 porcento_cont=2
    
```

```

142 DO fr=2,n_pass
143     !ATUALIZANDO A LISTA LISTA DOS VIZINHOS EM POTENCIAIS
144     IF (fr==frup(frup_cont)) THEN
145         frup_cont=frup_cont+1
146         PRINT*, 'Atualizando a lista dos vizinhos em potenciais!'
147         viz=0.0
148         DO n1=1,n_part
149             x1i=dados(n1,1,1)
150             y1i=dados(n1,2,1)
151             cont=1
152             DO n2=1,n_part
153                 x2i=dados(n2,1,1)
154                 y2i=dados(n2,2,1)
155                 IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i)**2)<=rvp) THEN
156                     viz(n1,cont)=n2
157                     cont=cont+1
158                 ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i)**2)<=rvp)
159                     THEN
160                     viz(n1,cont)=n2
161                     cont=cont+1
162                 ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i)**2)<=rvp)
163                     THEN
164                     viz(n1,cont)=n2
165                     cont=cont+1
166                 ELSE IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i+ly)**2)<=rvp)
167                     THEN
168                     viz(n1,cont)=n2
169                     cont=cont+1
170                 ELSE IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=rvp)
171                     THEN
172                     viz(n1,cont)=n2
173                     cont=cont+1
174                 ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i+ly)**2)<=rvp
175                     ) THEN
176                     viz(n1,cont)=n2
177                     cont=cont+1
178                 ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=rvp
179                     ) THEN
180                     viz(n1,cont)=n2
181                     cont=cont+1
    
```

```

176         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i+ly)**2) <=rvp
           ) THEN
177             viz(n1,cont)=n2
178             cont=cont+1
179         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i-ly)**2) <=rvp
           ) THEN
180             viz(n1,cont)=n2
181             cont=cont+1
182         END IF
183     END DO
184 END DO
185 END IF
186
187 !CALCULANDO A EVOLUCAO TEMPORAL
188 DO n1=1,n_part
189     x1i=dados(n1,1,fr)
190     y1i=dados(n1,2,fr)
191     viz_cont=1
192     vel_med=0.0
193     ang=0
194
195     !CALCULANDO A VELOCIDADE MEDIA DA VIZINHANCA
196     DO WHILE (viz(n1,viz_cont)/=0)
197         n2=viz(n1,viz_cont)
198         viz_cont=viz_cont+1
199         x2i=dados(n2,1,fr)
200         y2i=dados(n2,2,fr)
201         v2xi=dados(n2,4,fr-1)
202         v2yi=dados(n2,5,fr-1)
203         IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i)**2) <=r) THEN
204             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
205             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
206         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i)**2) <=r) THEN
207             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
208             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
209         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i)**2) <=r) THEN
210             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
211             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
212         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i+ly)**2) <=r) THEN
213             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
214             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
    
```

```

215         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=r) THEN
216             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
217             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
218         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i+ly)**2)<=r) THEN
219             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
220             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
221         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i+lx)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=r) THEN
222             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
223             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
224         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i+ly)**2)<=r) THEN
225             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
226             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
227         ELSE IF (SQRT((x1i-x2i-lx)**2+(y1i-y2i-ly)**2)<=r) THEN
228             vel_med(1)=vel_med(1)+v2xi
229             vel_med(2)=vel_med(2)+v2yi
230     END IF
231 END DO
232
233 !DETERMINACAO DO ANGULO DA CAMINHADA NESTE PASSO
234 IF (SQRT(vel_med(1)**2 + vel_med(2)**2)==0) THEN
235     ang=dados(n1,3,fr-1)
236 ELSE IF ((vel_med(1)>=0).AND.(vel_med(2)>=0)) THEN
237     ang=ATAN(vel_med(2)/vel_med(1))
238 ELSE IF ((vel_med(1)<0).AND.(vel_med(2)>=0)) THEN
239     ang=pi-ABS(ATAN(vel_med(2)/vel_med(1)))
240 ELSE IF ((vel_med(1)<0).AND.(vel_med(2)<0)) THEN
241     ang=pi+ABS(ATAN(vel_med(2)/vel_med(1)))
242 ELSE IF ((vel_med(1)>=0).AND.(vel_med(2)<0)) THEN
243     ang=2*pi-ABS(ATAN(vel_med(2)/vel_med(1)))
244 ELSE
245     PRINT*, 'Erro no angulo'
246 END IF
247 CALL RANDOM_NUMBER(ra)
248 ang=ang+ru*(ra-0.5)
249 dados(n1,3,fr)=ang
250 short_calc=v*COS(ang)
251 dados(n1,4,fr)=short_calc
252 x1f=x1i+short_calc*dt
253 short_calc=v*SIN(ang)
254 dados(n1,5,fr)=short_calc
255 y1f=y1i+short_calc*dt
    
```

```

256
257      ! APLICANDO AS CONDIÇÕES DE CONTO PERIÓDICAS
258      IF (x1f < 0) THEN
259          x1f = x1f + lx
260      ELSE IF (x1f > lx) THEN
261          x1f = x1f - lx
262      END IF
263
264      IF (y1f < 0) THEN
265          y1f = y1f + ly
266      ELSE IF (y1f > ly) THEN
267          y1f = y1f - ly
268      END IF
269
270      dados(n1, 1, fr+1) = x1f
271      dados(n1, 2, fr+1) = y1f
272
273      END DO ! Este é o do cal. evo. temp.
274      IF (porcento(porcento_cont) == fr) THEN
275          n = NINT(100 * porcento(porcento_cont) / n_pass)
276          WRITE(*, '(2X, I3.3, A)') n, '% da simulação concluída.'
277          porcento_cont = porcento_cont + 1
278      END IF
279  END DO ! Este é o do fr
280
281
282  ! -----
283  !   SALVANDO AS POSIÇÕES DE CADA PARTÍCULA AO LONGO DO TEMPO
284  ! -----
285
286  ! DADOS DE CADA CELULA (INDIVIDUALMENTE)
287  PRINT*, 'Salvando os dados.'
288      DO n1 = 1, n_part
289          WRITE (name, '(I5.5, A)') n1, '.dat'
290          OPEN(UNIT=1, FILE=name, STATUS="new", ACTION="write")
291          DO fr = 1, n_pass + 1
292              WRITE (1, '(I5.5, T11, E15.8, T29, E15.8, T47, I5.5)') fr,
293                  dados(n1, 1, fr), dados(n1, 2, fr), fr
294          END DO
295      CLOSE (1)
296  END DO
    
```

```

296
297 !DADOS DE CADA FRAME
298     DO fr=1,n_pass+1
299         WRITE (name, '(I5.5,A)') fr, '.dat'
300         name_fr='all_fr_'//name
301         OPEN(UNIT=1, FILE=name_fr, STATUS="new", ACTION="write")
302         DO n1=1,n_part
303             WRITE (1, '(3(E13.6,5X),E13.6)') dados(n1,1,fr), dados(
                 n1,2,fr), dados(n1,4,fr), dados(n1,5,fr)
304         END DO
305         CLOSE (1)
306     END DO
307     PRINT*, 'Dados salvo com sucesso.'
308     PRINT *, name
309     PAUSE
310
311 END PROGRAM viseck_model
    
```

Apêndice C

Código fonte do modelo de Caminhada Livre

Segue o código fonte utilizado para a produção das amostras do modelo de Caminhada Livre.

```
1 !*****
2 !
3 !   PROGRAMA: caminhada_livre_sem_exclusao
4 !
5 !   DESCRICAO:   Este programa realiza uma simulacao de uma
6 !               caminhada livre.
7 !               Neste caso a cada passo as celulas andam em uma direcao
8 !               escolida ini_
9 !               cialmente ao acaso, depois a cada passo esta direcao e
10 !              alterada por um ruido.
11 !
12 !   Tiago Venzel Rosembach - UFV
13 !*****
14 PROGRAM caminhada
15 IMPLICIT NONE
16
17 !-----
18 !               DECLARACAO DAS VAIAVEIS
19 !-----
20 INTEGER:: n_pass, n_part, n1, n2, cont, frup_cont, viz_cont,
21           porcento_cont, n, fr
22 REAL (KIND=8):: v, dt, ru, uptime, x1i, x1f, y1i, y1f, x2i, x2f,
23               y2i, y2f, lx, ly, ang, pi, short_calc, ra, v2xi, v2yi
24 CHARACTER (LEN=9):: name
```

```

20 CHARACTER (LEN=16):: name_fr
21 REAL (KIND=8), DIMENSION (2):: dim
22 REAL (KIND=8), DIMENSION (101):: porcento
23 REAL (KIND=8), DIMENSION (:), ALLOCATABLE:: frup(:)
24 !REAL (KIND=8), DIMENSION (:,:), ALLOCATABLE:: viz(:, :)
25 REAL (KIND=8), DIMENSION (:,:,), ALLOCATABLE:: dados(:, :, :)
26
27 !-----
28 !           PARAMETROS DE ENTRADA
29 !-----
30 dim=[2000,2000]           !As dimensoes X e Y do campo de visao
    em u.d.
31 n_part=4000              !Numero de particulas na simulacao.
32 n_pass=1000              !Numero passos.
33 v=2.0                    !Velocidade u.d/u.t.
34 dt=1                     !Variacao de tempo entre passos em u.t.
35 ru=00.00                 !0 dobro da amplitude do ruido.
36
37 !-----
38 ! REDIMENSIONANDO E ATRIBUINDO VALORES AS VARIAVEIS
39 !-----
40 CALL RANDOM_SEED()
41 pi=2*ASIN(1.0)
42 lx=dim(1)
43 ly=dim(2)
44 ALLOCATE(dados(1:n_part,1:5,1:n_pass+1)) !E vetor que vai salvar (x
    ,y,ang,vx,vy) para cada celula .
45 dados=0.0
46 short_calc=n_pass/100
47 porcento=[0:n_pass:NINT(short_calc)]
48
49 !-----
50 !           SORTEIO INICIAL DAS PARTICULAS
51 !-----
52 DO n1=1,n_part
53     CALL RANDOM_NUMBER(ra)
54     x1i=lx*(ra)
55     CALL RANDOM_NUMBER(ra)
56     y1i=ly*(ra)
57     CALL RANDOM_NUMBER(ra)
58     ang=2*pi*(ra)

```

```

59     dados(n1,1,1)=x1i
60     dados(n1,2,1)=y1i
61     dados(n1,3,1)=ang
62     short_calc=v*COS(ang)
63     dados(n1,4,1)=short_calc
64     x1f=x1i+short_calc*dt
65     short_calc=v*SIN(ang)
66     dados(n1,5,1)=short_calc
67     y1f=y1i+short_calc*dt
68     dados(n1,1,2)=x1f
69     dados(n1,2,2)=y1f
70 END DO
71
72 !-----
73 !           PARA TODOS OS PASSOS
74 !-----
75 frup_cont=2
76 porcento_cont=2
77 DO fr=2,n_pass
78     !CALCULANDO A EVOLUCAO TEMPORAL
79     DO n1=1,n_part
80         x1i=dados(n1,1,fr)
81         y1i=dados(n1,2,fr)
82         CALL RANDOM_NUMBER(ra)
83         ang=dados(n1,3,fr-1)+ru*(ra-0.5)
84         dados(n1,3,fr)=ang
85         short_calc=v*COS(ang)
86         dados(n1,4,fr)=short_calc
87         x1f=x1i+short_calc*dt
88         short_calc=v*SIN(ang)
89         dados(n1,5,fr)=short_calc
90         y1f=y1i+short_calc*dt
91
92         !APLICANDO AS CONDICOES DE CONTO PERIODICAS
93         IF (x1f<0) THEN
94             x1f=x1f+lx
95         ELSE IF (x1f>lx) THEN
96             x1f=x1f-lx
97         END IF
98
99         IF (y1f<0) THEN

```

```

100             y1f=y1f+ly
101             ELSE IF (y1f>ly) THEN
102                 y1f=y1f-ly
103             END IF
104
105             dados(n1,1,fr+1)=x1f
106             dados(n1,2,fr+1)=y1f
107
108         END DO !Este e o do cal. evo. temp.
109         IF (porcento(porcento_cont)==fr) THEN
110             n=NINT(100*porcento(porcento_cont)/n_pass)
111             WRITE(*,'(2X,I3.3,A)') n, '% da simulacao concluida.'
112             porcento_cont=porcento_cont+1
113         END IF
114     END DO !Este e o do fr
115
116     !-----
117     ! SALVANDO AS POSICOES DE CADA PARTICULA AO LONGO DO TEMPO
118     !-----
119
120     !DADOS DE CADA CELULA (INDIVIDUALMENTE)
121     PRINT*, 'Salvando os dados.'
122     DO n1=1,n_part
123         WRITE (name,'(I5.5,A)') n1, '.dat'
124         OPEN(UNIT=1, FILE=name, STATUS="new", ACTION="write")
125         DO fr=1,n_pass+1
126             WRITE (1,'(I5.5,T11,E15.8,T29,E15.8,T47,I5.5)') fr, dados(
127                 n1,1,fr), dados(n1,2,fr), fr
128         END DO
129         CLOSE (1)
130     END DO
131
132     !DADOS DE CADA FRAME
133     DO fr=1,n_pass+1,n_pass
134         WRITE (name,'(I5.5,A)') fr, '.dat'
135         name_fr='all_fr_'//name
136         OPEN(UNIT=1, FILE=name_fr, STATUS="new", ACTION="write")
137         DO n1=1,n_part
138             WRITE (1,'(3(E13.6,5X),E13.6)') dados(n1,1,fr), dados(n1,2,
139                 fr), dados(n1,4,fr), dados(n1,5,fr)
140         END DO

```

```
139     CLOSE (1)
140 END DO
141 PRINT*, 'Dados salvo com sucesso.'
142 !     PRINT *, name
143 PAUSE
144
145 END PROGRAM caminhada
```

Apêndice D

Versão bi-dimensional da distribuição de Maxwell-Boltzman

O Hamiltoniano de um gás ideal é dado por,

$$\mathcal{H} = \sum_{j=1}^N \frac{1}{2m} \vec{P}_j^2 \quad (\text{D.1})$$

onde N é o numero de partículas no gás, m é a massa de uma partícula do gás e \vec{P} é o momento linear da partícula [15, 36].

Já pela mecânica estatística de equilíbrio existe um fator de ponderação que determina a probabilidade relativa de um estado i ser encontrado no sistema. Este fator é conhecido como Fator de Boltzmann e pode ser descrito como

$$\frac{N_i}{N} \propto e^{-\frac{\mathcal{H}_i}{k_b T}} \quad (\text{D.2})$$

onde k_b é a constante de Boltzmann, T é a temperatura de equilíbrio do sistema, N_i é o número de partículas com energia \mathcal{H}_i e N é o número total de partículas[14, 15, 36].

Usando que $\vec{P} = m\vec{v}$ e substituindo D.1 em D.2 temos que

$$\frac{N(v)}{N} \propto e^{-\frac{\frac{m}{2}v^2}{k_b T}} \quad (\text{D.3})$$

Mas para o caso de um sistema bidimensional $v^2 = v_x^2 + v_y^2$ ¹. Logo o número de partículas com velocidade de módulo entre v e $v + dv$ será

¹Caso o leitor tenha dúvida sobre alguma das manipulações ou considerações consultar [15, 36]

$$N(v)dv \propto e^{-\frac{m}{2}(v_x^2 + v_y^2)} dv_x dv_y. \quad (\text{D.4})$$

Assumindo que o espaço é isotrópico e bidimensional e passando para coordenadas polares, vide [17], tem-se que

$$N(v)dv \propto \int_0^{2\pi} d\theta e^{-\frac{m(v^2)}{2k_b T}} v dv \quad (\text{D.5})$$

logo,

$$N(v)dv \propto e^{-\left(\frac{v}{v_0}\right)^2} v dv \quad (\text{D.6})$$

onde v_0 é $\frac{2k_b T}{m}$.

Desta forma é possível verificar que a probabilidade de encontrar uma partícula com módulo de velocidade entre v e $v + dv$ será proporcional a razão entre $N(v)$ e N , ou seja,

$$P(v, v + dv) = P_0 \cdot v \cdot e^{-\left(\frac{v}{v_0}\right)^2} \quad (\text{D.7})$$

esta equação, conforme discutido na Subseção 4.1.1, tem a forma da q-Weibull no limite onde $q \rightarrow 1$ e $r \rightarrow 2$ [20].

A critério de curiosidade, a distribuição de Maxwelliana (3D) é definida como [15, 36],

$$P(v, v + dv) = P_0 \cdot v^2 \cdot e^{-\left(\frac{v}{v_0}\right)^2} \quad (\text{D.8})$$

e como pode ser observado as duas distribuição, Weibull e Maxwelliana, diferem na potência de v que aparece antes da exponencial. No caso da distribuição de Weibull temos uma potencia de primeiro grau, já no caso da Maxwelliana é uma potência de segundo grau. Esta diferença surge ao considerar o número de dimensões do sistema. Em duas dimensões, conforme demonstrado neste apêndice, obtém-se a distribuição de Weibull, já em três dimensões encontra-se a distribuição Maxwelliana [15, 36].

Apêndice E

Gráficos extras dos histogramas de velocidades no modelo de Vicsek

Neste apêndice são apresentados mais alguns dos histogramas de velocidade. As Figuras E.1, E.3, E.5 e E.7 mostram os histogramas de velocidade macroscópica para quando as partículas tinham dado um único passo, com valores distintos de r e τ . Já as Figuras E.2, E.4, E.6 e E.8 mostram os histogramas de velocidade macroscópica para quando as partículas tinham dado 450 passos. Como podemos perceber as curvas com $r = 0,00$ e $r = 2,80$ mudam mais ao longo do tempo devido a forte interação existente entre as partículas, mas para ruídos muito altos esta interação vai se tornando mais fraca uma vez que o ruído dificulta o alinhamento entre as partículas. Com isso aproxima-se do que acontecia na Caminhada Livre, ou seja, as distribuições basicamente não mudavam com o tempo, dependendo somente dos parâmetros r e τ .

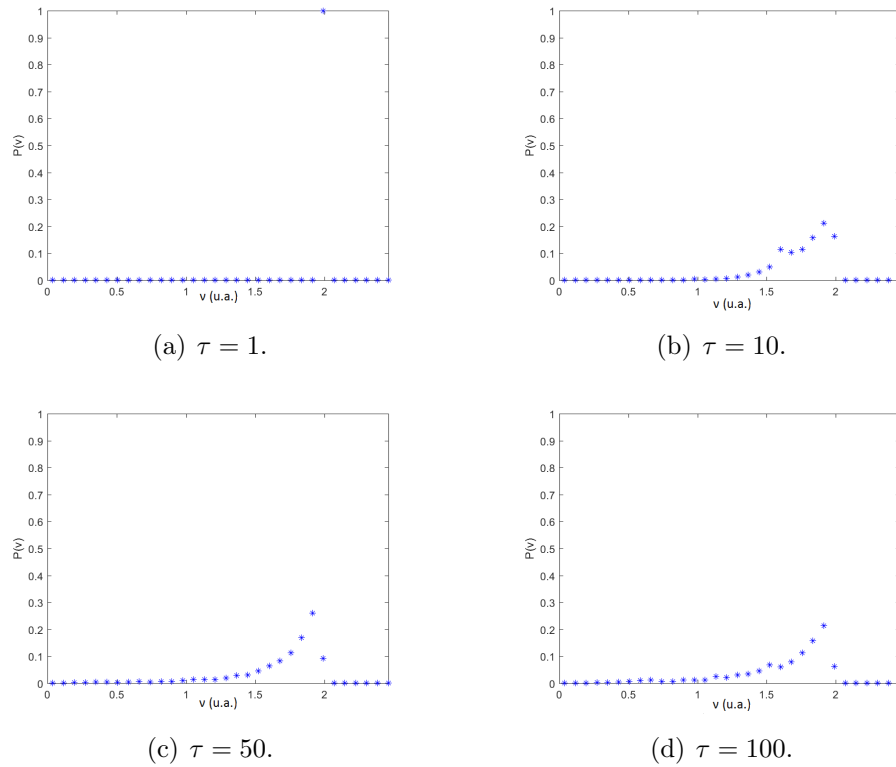


Figura E.1: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 0,00$ e valores distintos de τ após as partículas darem um único passo.

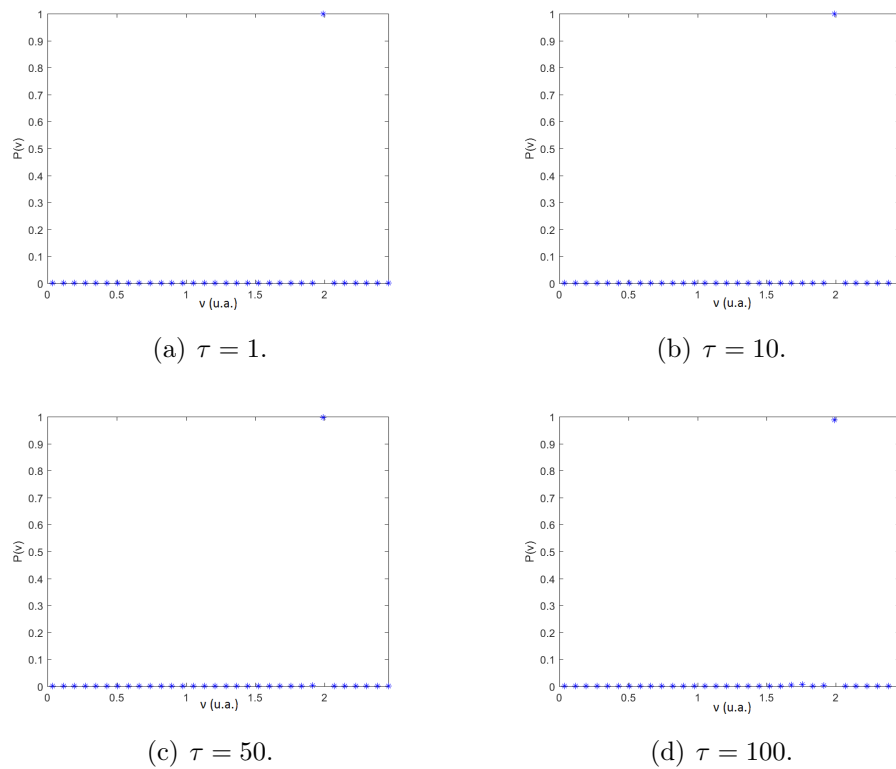


Figura E.2: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 0,00$ e valores distintos de τ após as partículas darem 450 passos.

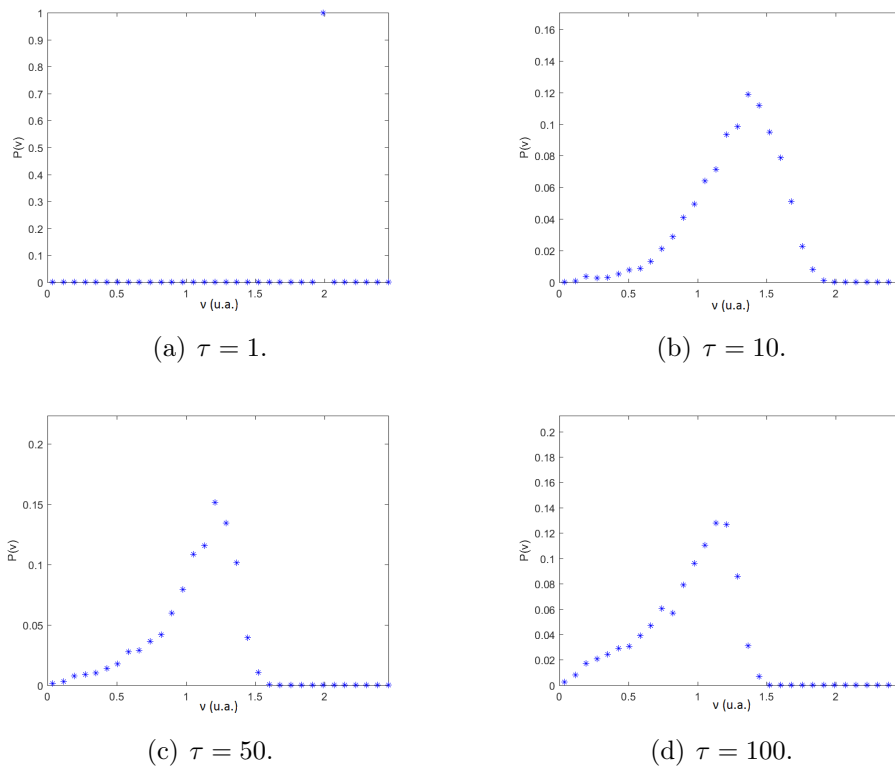


Figura E.3: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 2, 80$ e valores distintos de τ após as partículas darem um único passo.

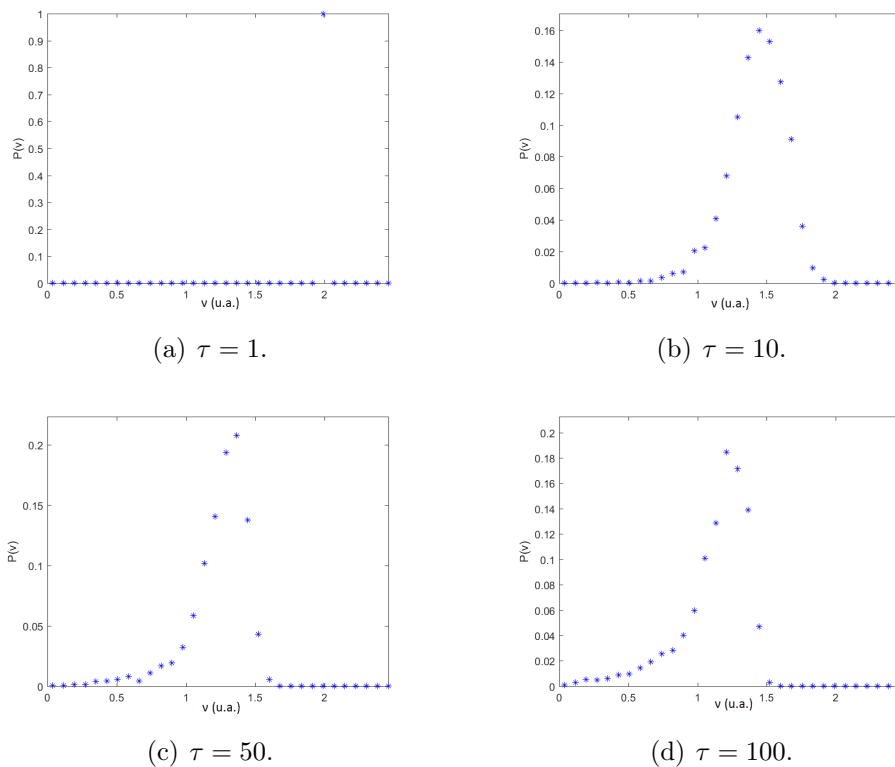


Figura E.4: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 2, 80$ e valores distintos de τ após as partículas darem 450 passos.

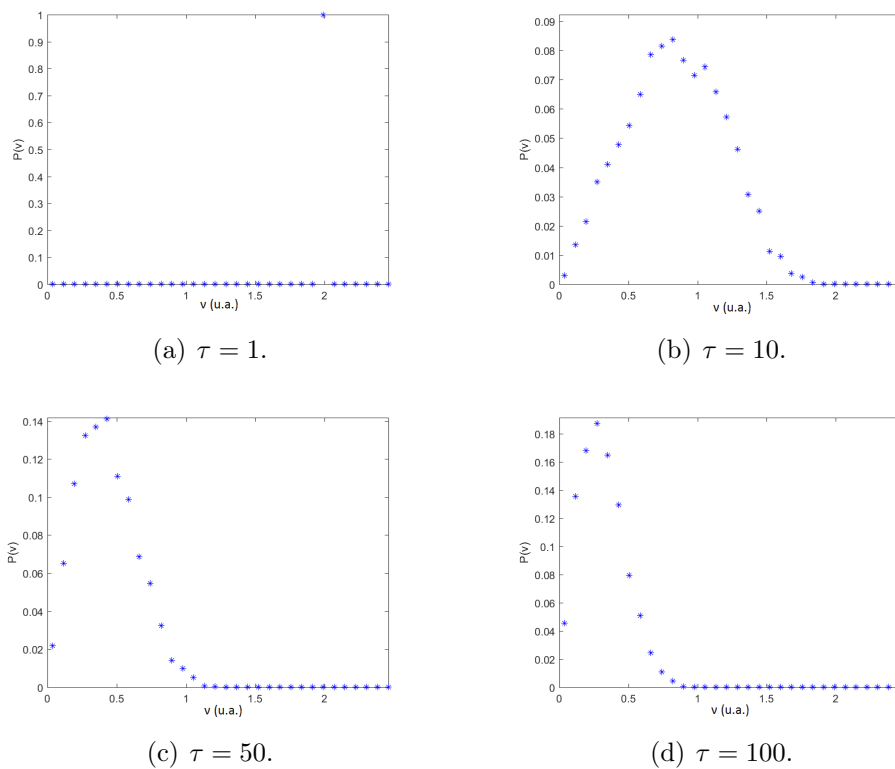


Figura E.5: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 4, 15$ e valores distintos de τ após as partículas darem um único passo.

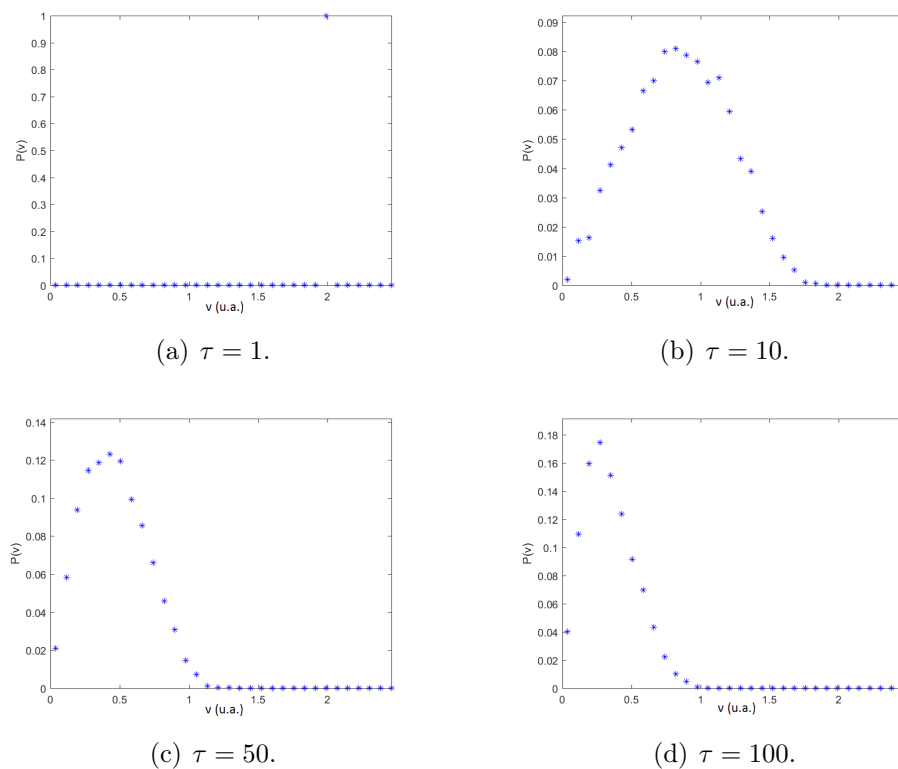


Figura E.6: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 4, 15$ e valores distintos de τ após as partículas darem 450 passos.

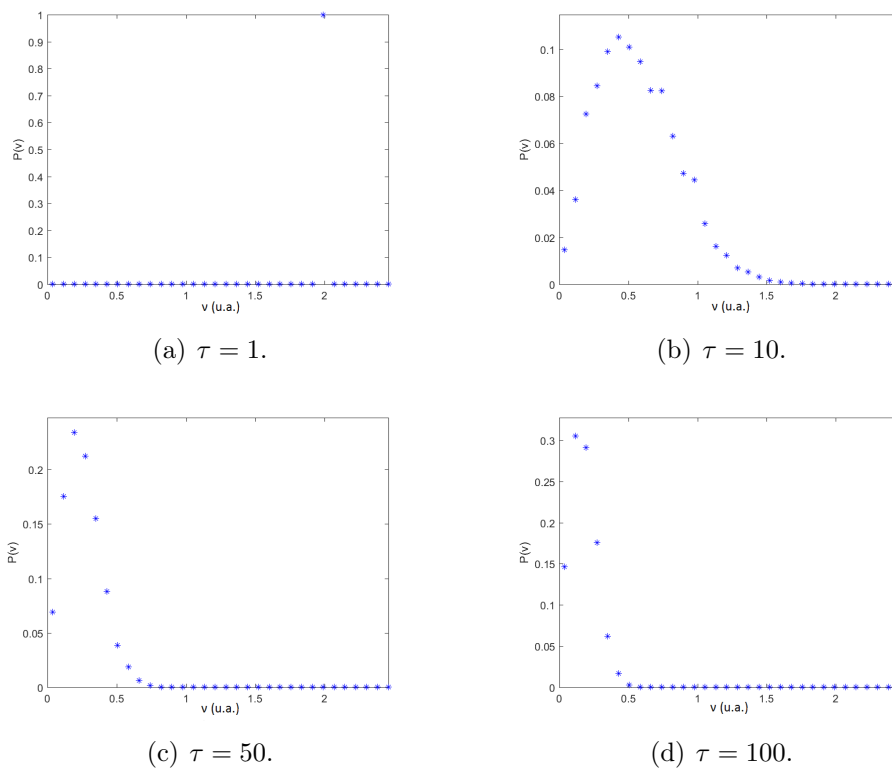


Figura E.7: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 6, 28$ e valores distintos de τ após as partículas darem um único passo.

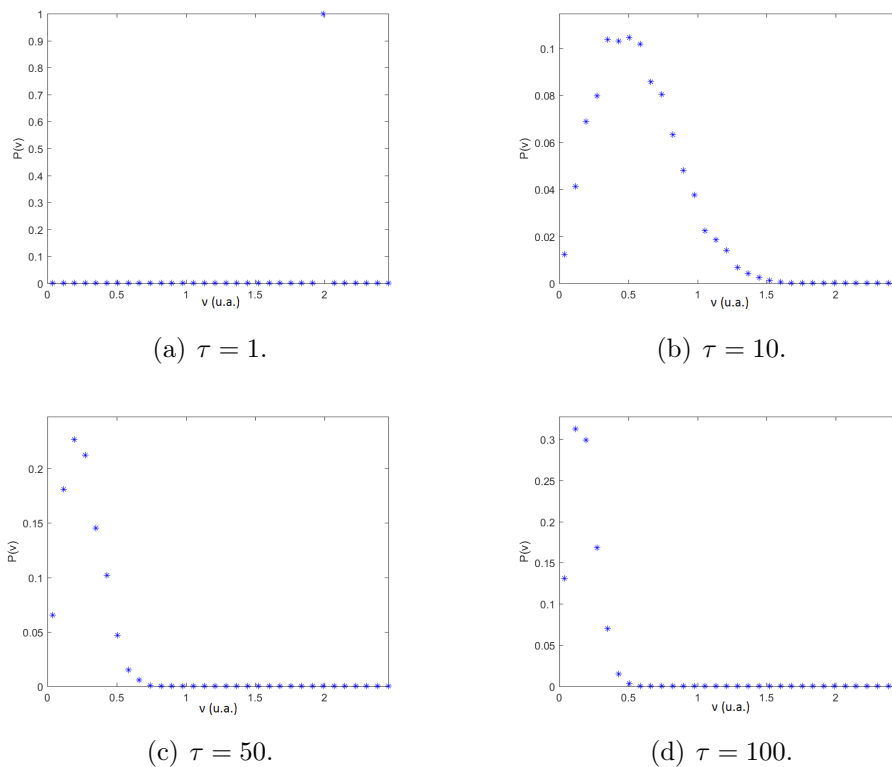


Figura E.8: Distribuições típicas de ν_τ para $r = 6, 28$ e valores distintos de τ após as partículas darem 450 passos.