Notas em Matemática Aplicada e-ISSN 2236-5915

Volume 13, 2012

Editado por

Eliana X.L. de Andrade
Universidade Estadual Paulista - UNESP
São José do Rio Preto, SP, Brasil

Rubens Sampaio
Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro -
Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Geraldo N. Silva
Universidade Estadual Paulista - UNESP
São José do Rio Preto, SP, Brasil

Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional

2012

A Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional - SBMAC publica, desde as primeiras edições do evento, monografias dos cursos que são ministrados nos CNMAC.

Para a comemoração dos 25 anos da SBMAC, que ocorreu durante o XXVI CNMAC em 2003, foi criada a série **Notas em Matemática Aplicada** para publicar as monografias dos minicursos ministrados nos CNMAC, o que permaneceu até o XXXIII CNMAC em 2010.

A partir de 2011, a série passa a publicar, também, livros nas áreas de interesse da SBMAC. Os autores que submeterem textos à série Notas em Matemática Aplicada devem estar cientes de que poderão ser convidados a ministrarem minicursos nos eventos patrocinados pela SBMAC, em especial nos CNMAC, sobre assunto a que se refere o texto.

O livro deve ser preparado em **Latex (compatível com o Miktex versão 2.7), as figuras em eps** e deve ter entre **80 e 150 páginas**. O texto deve ser redigido de forma clara, acompanhado de uma excelente revisão bibliográfica e de **exercícios de verificação de aprendizagem** ao final de cada capítulo.

Veja todos os títulos publicados nesta série na página
http://www.sbmac.org.br/notas.php

Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional

2012

MODELAGEM EM BIOMATEMÁTICA

"MODELAGEM MATEMÁTICA DO COMPORTAMENTO ELÉTRICO DE NEURÔNIOS E ALGUMAS APLICAÇÕES"

"REDES COMPLEXAS E APLICAÇÕES NAS CIÊNCIAS"

"POSSÍVEIS NÍVEIS DE COMPLEXIDADE NA MODELAGEM DE SISTEMAS BIOLÓGICOS"

Coraci Malta - USP
coraci@usp.br

Reynaldo D. Pinto - USP, SP

Jose Carlos Mombach - UNISINOS, RS

Henrique L. Lenzi, Waldemiro S. Romanha e Marcelo Pelajo-Machado
- FIOCRUZ, RJ

Sociedade Brasileira de Matemática Aplicada e Computacional

São Carlos - SP, Brasil
2012

Coordenação Editorial: Véra Lucia da Rocha Lopes

Coordenação Editorial da Série: Geraldo Nunes Silva

Editora: SBMAC

Capa: Matheus Botossi Trindade

Patrocínio: SBMAC

Copyright ©2012 by Coraci Malta, Reynaldo D. Pinto, Jose Carlos M. Mombach and Henrique L. Lenzi, Waldemiro S. Romanha e Marcelo Pelajo-Machado. Direitos reservados, 2012 pela SBMAC. A publicação nesta série não impede o autor de publicar parte ou a totalidade da obra por outra editora, em qualquer meio, desde que faça citação à edição original.

Catalogação elaborada pela Biblioteca do IBILCE/UNESP
Bibliotecária: Maria Luiza Fernandes Jardim Froner

Malta, Coraci.
Modelagem em Biomatemática.
- São Carlos, SP: SBMAC, 2012, 79 p., 20.5 cm - (Notas em Matemática Aplicada; v. 13)

e-ISBN 978-85-86883-80-4

1. Biomatemática . 2. Redes Neurais.
3. Redes Complexas. 4. Sistemas Complexos. 5. Modelos Matemáticos.
I. Malta, Coraci. II. Pinto, Reinaldo Daniel. III. Mombach, Jose Carlos.
IV. Lenzi, Henrique L. V. Romanha, Waldemiro de Souza.
VI. Pelajo-Machado, Marcelo. VII. Título. VIII. Série.

CDD - 51

Esta é uma republicação em formato de e-book do livro original do mesmo título publicado em 2004 nesta mesma série pela SBMAC.

Prefácio

O objetivo principal deste minicurso é apresentar algumas das ferramentas matemáticas utilizadas para modelar processos, fenômenos ou sistemas biológicos. As ferramentas serão descritas da maneira mais simples possível, e depois será feita pelo menos uma aplicação como ilustração. A modelagem matemática é muito útil no estudo de mecanismos que determinam o comportamento do sistema, bem como na predição de comportamentos a serem observados quando são variados parâmetros.

A primeira aula, ministrada pelo prof. Dr. Reynaldo D. Pinto (IFUSP, SP), apresentará modelos matemáticos que descrevem a atividade elétrica de neurônios biológicos. Esses modelos são extremamente úteis, não só para testar as hipóteses sobre o funcionamento das células, mas também para desenvolver dispositivos artificiais, capazes de simular e até substituir neurônios ou pequenos circuitos neurais biológicos danificados. Dispositivos neurais artificiais também podem ser usados para reconfigurar redes biológicas e produzir circuitos híbridos com novas funções/capacidades ou ainda promover a troca de informação entre tecido neural vivo e um computador digital, abrindo todo um novo horizonte de aplicações da neurociência.

A segunda aula, ministrada pelo prof. Dr José Carlos M. Mombach (Unisinos, RS), apresentará uma introdução à teoria dos grafos que é utilizada para modelar vários sistemas naturais complexos, como o metabolismo celular, ecossistemas e outros. Será dada uma visão geral da área, com ênfase nas aplicações em bioinformática envolvendo, especialmente, metabolismo celular, redes de proteínas e regulação de transcrição gênica.

A terceira aula, ministrada pelo prof. Dr. Hemrique Lenzi (Fiocruz, RJ), abordará os vários níveis de complexidade que podem ser considerados na modelagem de sistemas biológicos.

Conteúdo

1 Modelagem matemática do comportamento elétrico de neurônios e algumas aplicações **1**
1.1 Introdução 1
1.2 O Neurônio Biológico e a Equação da Membrana 3
1.3 Modelagem Macroscópica Clássica 8
1.3.1 A corrente de potássio I_K 12
1.3.2 A corrente de sódio I_{Na} 14
1.4 O modelo completo de Hodgkin-Huxley para uma secção da membrana do axônio gigante da lula 16
1.4.1 Limitações de modelos clássicos do tipo Hodgkin-Huxley . . . 18
1.5 Modelagem Dinâmica 20
1.6 Modelagem Microscópica Estocástica 27

2 Redes complexas e aplicações **34**
2.1 Introdução 34
2.2 Propriedades de Grafos Aleatórios 35
2.3 Redes Complexas 38
2.3.1 "World Wide Web"e Estrutura Física da Internet 38
2.3.2 Redes Metabólicas e de Interações entre Proteínas 41
2.3.3 Redes Sociais 42
2.3.4 Redes Elétricas 43
2.3.5 Robustez a Remoção de Nós em Redes 43
2.3.6 Modularidade e Motivos em Redes 44
2.4 Modelos e Aplicações de Redes 46
2.4.1 Modelo de Barabási e Albert 46
2.4.2 Modelo de Grafo Bipartido para o Metabolismo 46
2.4.3 Dano em redes de proteínas 49
2.5 Conclusões e Perspectivas 51

3 Possíveis níveis de complexidade na modelagem de sistemas biológicos -

Pode a matemática coreografar a dança biológica ? 54
3.1 Introdução geral e conceitual (noções fundamentais que todo o matemático deve saber sobre ser vivo) 54
3.2 Granuloma como exemplo de estrutura biológica e possível alvo de modelagem matemática 59
3.2.1 Agregação 61
3.2.2 Rotulagem ("Tagging") 61
3.2.3 Modelos internos 62
3.2.4 Blocos de construção ou montagem 63
3.2.5 Fluxos 63
3.2.6 Diversidade 64
3.2.7 Não-linearidade 65
3.3 Teleologia ou finalidade do granuloma 66
3.4 Como estudar estruturas biológicas complexas? A necessidade de interações inter e transdisciplinares no delineamento e configuração de modelos 68
3.4.1 O caminho do fim de uma era 68
3.4.2 O fenômeno da subdeterminação ("undetermination") nos sistemas biológicos 69
3.4.3 Como estudar, então, os fenômenos biológicos complexos ? . . 69
3.5 Conclusões gerais 74

Capítulo 1

Modelagem matemática do comportamento elétrico de neurônios e algumas aplicações

Reynaldo Daniel Pinto[1], Lab. Fenômenos Não-Lineares - Instituto de Física da USP, SP

1.1 Introdução

Uma das mais fascinantes fronteiras da ciência atual é o estudo dos processos mentais através dos quais somos capazes de perceber, agir, aprender, lembrar, e como essas capacidades produzem o que chamamos de consciência. Compreender o funcionamento de um sistema nervoso, mesmo dos mais simples, constitui um gigantesco desafio e muito esforço neste sentido tem sido feito pela comunidade científica recentemente.

O sistema nervoso dos animais evoluiu de modo a resolver problemas muito complexos, relacionados com o controle do comportamento em ambientes naturais multiparamétricos, não-estacionários e imprevisíveis. Todos os animais obtém informações sobre o meio ambiente através de uma variedade de receptores que convertem as informações em sinais elétricos. A informação destes sinais é transformada pelo cérebro em percepção e/ou nas ações apropriadas. Essas tarefas são

[1]Parcialmente Financiado por FAPESP e CNPq

realizadas usando apenas células nervosas capazes de produzir e processar impulsos elétricos (neurônios) e suas conexões (sinapses).

O sistema nervoso é um dos sistemas mais complexos existentes na natureza. Esta complexidade é o resultado não apenas da interação entre bilhões de neurônios que operam de maneira não-linear e comunicam-se usando uma sofisticada arquitetura de sinapses, mas da flexibilidade e plasticidade desses elementos: uma rede neural pode ser alterada pelo processo de aprendizado ou por substâncias neuromoduladoras produzidas pelo próprio sistema nervoso. Além disso, a complexidade se revela em praticamente todos os níveis: mesmo as propriedades elétricas de um único neurônio, quando isolado da interação sináptica com outras células, emergem da interação de milhares de canais iônicos microscópicos que possuem regras não-lineares de plasticidade e funcionamento, impossibilitando muitas vezes qualquer análise formal reducionista.

Por todos esses motivos, construir modelos matemáticos satisfatórios para a atividade elétrica do sistema nervoso ou mesmo de um único neurônio biológico não é uma tarefa fácil. Entretanto, a construção de modelos simplificados da atividade elétrica de neurônios é muito importante para a compreensão dos principais mecanismos de geração de sinais em redes neurais e quais os detalhes fisiológicos mais importantes para o seu funcionamento. Além disso, modelos simplificados podem ser usados para desenvolver dispositivos artificiais capazes de simular e até substituir neurônios ou pequenos circuitos neurais biológicos danificados. Dispositivos neurais artificiais também podem ser usados para reconfigurar redes biológicas e produzir circuitos híbridos com novas funções/capacidades ou ainda promover a troca de informação entre tecido neural vivo e um computador digital, abrindo todo um novo horizonte de aplicações.

A abordagem neurofisiológica de um sistema nervoso segue duas linhas de pesquisa muito pouco interagentes. Enquanto uma abordagem biofísica ou de neurofisiologia celular procura obter uma compreensão detalhada dos mecanismos de canais iônicos, sua estrutura, e sua função na transmissão de sinais entre células, a abordagem sistêmica observa a resposta e as propriedades dessas células quando conectadas em redes neurais relativamente intactas e procura explicar como as interações entre esse grande número de células produz um determinado comportamento motor a partir de um estímulo sensorial. Fazer a conexão entre os resultados obtidos com estas diferentes abordagens é freqüentemente bastante difícil, em parte devido à abordagem sistêmica basear-se em medidas extracelulares dos potenciais de ação em um ou mais locais do sistema nervoso e, portanto medidas que podem apenas demonstrar indiretamente os mecanismos sinápticos e celulares que produzem os padrões elétricos observados e sua correlação.

Estas duas diferentes abordagens do funcionamento do sistema nervoso têm um paralelo na construção de modelos formais. Iremos apresentar e discutir as vantagens, limitações e aplicações de três abordagens utilizadas na modelagem da atividade elétrica de neurônios biológicos: a modelagem macroscópica clássica, a modelagem dinâmica e a modelagem microscópica estocástica.

1.2 O Neurônio Biológico e a Equação da Membrana

Os neurônios podem apresentar uma grande variedade de formas e tamanhos, mas possuem determinados aspectos em comum. A célula nervosa é formada por um *corpo celular* que contém o núcleo e um grande número de fibras finas que se prolongam a partir desse corpo, conforme mostrado na figura 1.1. Cada neurônio geralmente tem uma única fibra longa (o *axônio*), que em grandes animais pode ter vários metros de comprimento, e um grande número de fibras mais curtas (*dendritos*), que são intensamente ramificados e na maioria das vezes possuem menos de 1mm de comprimento [**?**, **?**, **?**].

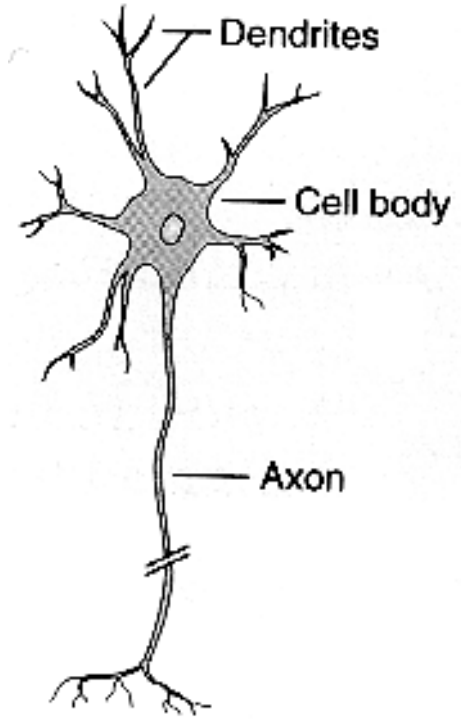


Figura 1.1: Esquema de um neurônio motor bipolar. No corpo celular (ou soma), de onde partem os dendritos e o axônio, ocorrem as principais reações relativas ao metabolismo do neurônio, tais como a respiração celular e a síntese das principais substâncias vitais. O axônio é o principal caminho por onde o sinal do neurônio é transmitido aos neurônios conectados a ele. O potencial de ação é gerado na região de interface entre o axônio e o soma, chamada cone de implantação ("axon hilock").Os dendritos são responsáveis principalmente pela transmissão de sinais provenientes de outros neurônios até o corpo celular.

Nos vertebrados, o corpo celular do neurônio têm, geralmente, menos de 0,1 mm de diâmetro e, as fibras, menos de 0,01 mm de espessura.

As fibras longas, os axônios, são as linhas de comunicação entre neurônios ou entre um neurônio e o tecido muscular. O que comumente é conhecido como um nervo, ou tronco nervoso, consiste de centenas ou milhares de axônios, cada um com origem em um neurônio distinto. Um nervo não possui corpos celulares; estes são encontrados no sistema nervoso central ou em grupamentos especiais conhecidos como gânglios.

Os pontos nos quais as células e suas extensões fazem contato com outras células nervosas são denominados sinapses e uma única célula nervosa pode, através das sinapses, estar ligada a milhares de outros neurônios. Em sinapses químicas (as mais comums) a transmissão de um impulso envolve a liberação de um neurotrasmissor (sinal químico) e pode ocorrer apenas em uma direção, do axônio para a célula adjacente, e não na direção contrária.

A membrana celular dos neurônios (e de qualquer outra célula biológica) é principalmente composta por uma bicamada de fosfolipídios (gorduras) que isola o conteúdo intracelular do meio extracelular. Esta membrana tem tipicamente uma espessura de 3 a 6 nm e possui também diversas proteínas imersas que a atravessam, formando um mosaico de lipídios e proteínas, conforme mostrado na figura 1.2.

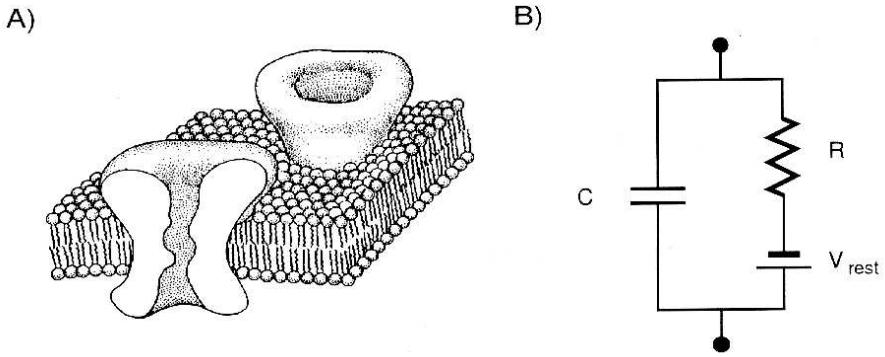


Figura 1.2: A) Representação de uma secção da membrana celular onde estão imersos os canais iônicos, poros que permitem a passagem seletiva de íons através da membrana dependendo do valor do potencial de membrana. B) Circuito que modela a atividade elétrica da membrana celular: a membrana funciona como um capacitor de placas paralelas conectado a uma bateria e um resistor. A bateria representa o potencial químico devido à diferença de concentração iônica nos meios intra e extracelular e o resistor representa o canal iônico e a resistência que ele proporciona à passagem de íons.

Quando penetramos em uma célula qualquer (inclusive células de vegetais) com um "fio" ligado a um voltímetro, logo percebemos que existe uma diferença de potencial entre o meio externo e o meio intracelular, chamada de potencial de mem-

brana. A diferença entre as "células normais" e os neurônios (células nervosas), é que estes podem alterar ativamente seu potencial de membrana e usar estas alterações para transmitir informação. Quando nenhum sinal está sendo gerado, o potencial de membrana atinge um equilíbrio dinâmico, permanecendo negativo no meio interno em relação ao meio exterior. Este potencial de equilíbrio é chamado de potencial de repouso.

Se considerarmos uma diferença de potencial de 60 mV (potencial de repouso típico em neurônios) entre as superfícies de uma membrana celular de 6 nm de espessura, temos um campo elétrico V/d ˜ 10 kV/mm, ou seja: um campo elétrico uma ordem de grandeza maior que o campo necessário para produzir uma descarga elétrica (faísca) no ar seco (1 kV/mm) - portanto a membrana celular é um isolante muito bom!

O potencial de repouso é produzido por uma distribuição desigual de íons dentro e fora das células: dos tipos de íons mais abundantes encontrados em ambos os lados da membrana, sódio (Na^+), cloro (Cl^-) e cálcio (Ca^{+2}) são encontrados em maior concentração no meio extracelular, enquanto que potássio (K^+) e ânions orgânicos (A^-) são encontrados em maior concentraccão no meio intracelular.

Muitas das proteínas que atravessam a membrana constituem poros que permitem a passagem passiva de íons por seu interior. Estas proteínas são chamadas *canais iônicos* e podem possuir mais duas características importantes: (i) seletividade a um determinado tipo de íon; (ii) através de mudanças conformacionais, podem abrir ou fechar em resposta a sinais elétricos, mecânicos ou químicos.

A membrana celular dos neurônios é normalmente permeável apenas a íons K^+, pois possui um grande número de canais iônicos seletivos a potássio que estão sempre abertos. Há também canais seletivos a Na^+ e a Cl^- mas consideremos inicialmente que estes estejam todos fechados e que a soma total de cargas positivas e negativas é igual dentro e fora do neurônio e, portanto seu potencial de membrana é nulo. Como os canais de potássio estão abertos, íons K^+ irão fluir para fora da célula na direção de menor gradiente de concentração. Ao sairem, os íons K^+ produzem um desequilíbrio de cargas elétricas (maior número de cargas positivas fora que dentro do neurônio), gerando um campo elétrico que se opõe ao movimento de mais cargas positivas para fora da célula. O valor do potencial elétrico necessário para opor completamente o fluxo de íons X devido à diferença de concentração é chamado de potencial de Nernst do íon X e é dado por:

$$E_X = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[X^+]_{ext}}{[X^+]_{int}}, \tag{1.1}$$

onde R é a constante dos gases, T a temperatura em Kelvin, z é a carga do íon e F é o Faraday (quantidade de carga de um mol de íons monovalentes). Entretanto, o númer total de íons K^+ necessário para estabelecer o potencial é muito pequeno quando comparado ao número de íons nos meios intra e extracelular, ou seja, o potencial de membrana é estabelecido sem provocar mudanças significantes no gradiente de concentração.

Se uma membrana for permeável a apenas um tipo de íon, o potencial de repouso desta membrana será igual ao potencial de Nernst do íon. Por exemplo,

consideremos o caso do axônio gigante da lula, uma das primeiras membranas nervosas estudadas, que possui boa permeabilidade à passagem de íons potássio e $[K^+]_{int} = 20[K^+]_{ext}$. O potencial de Nernst do potássio (E_k) para esta membrana é -75 mV. Intruduzindo um eletrodo e medindo o potencial real, um valor de -70 mV é encontrado, bastante próximo do valor de E_k.

Como além dos íons K^+a membrana é permeável a outros íons, como Na^+ e Cl^- (porém bem menos permeável que ao K^+) o potencial de repouso da membrana não é exatamente igual ao E_k. O potencial de repouso V_m pode ser obtido a partir das permeabilidades (p_i) da membrana e das concentrações de cada um dos íons usando a expressão de Goldman:

$$V_m = \frac{RT}{zF} \ln \frac{[K^+]_{ext} + (\frac{p_{Na}}{p_K})[Na^+]_{ext} + (\frac{p_{Cl}}{p_K})[Cl^-]_{int}}{[K^+]_{int} + (\frac{p_{Na}}{p_K})[Na^+]_{int} + (\frac{p_{Cl}}{p_K})[Cl^-]_{ext}}. \tag{1.2}$$

Como V_m não é igual ao potencial de Nernst de nenhum dos íons individuais, a membrana permanece em um estado de equilíbrio dinâmico, em que os íons permanecem se movendo em sentido contrário a seu gradiente de concentração, porém Vm permanece constante, pois a corrente total (devida a soma das correntes iônicas de cada tipo de íon) é nula.

Como há corrente iônica mesmo durante o "repouso" é necessário algum mecanismo para manter as diferenças de concentração dos íons, evitando que elas se anulem. Esta tarefa é executada nos neurônios biológicos por um tipo especial de proteínas que existe na membrana, chamadas transportadores iônicos ou bombas iô nicas. A mais comum destas proteínas é a sodio-potássio ATPase ou bomba de sódio-potássio. Esta proteína usa um ATP (forma celular de energia) para em um ciclo (que envolve algum tipo de movimento ou rotação da proteína) bombear dois íons Na^+ para fora do neurônio, ao mesmo tempo em que trêsíons K^+ são bombeados para dentro [**?**], conforme mostrado na figura 1.3.

Como o esqueleto da membrana dos neurônios é formado por uma bicamada isolante de 3 a 6 nm de espessura e há uma diferença de potencial, os íons que produzem o potencial de membrana tendem a se concentrar nas superfícies da membrana. Sempre que um isolante fino separa cargas elétricas, ele atua como uma capacitância. Ou seja, podemos associar uma capacitância C à membrana celular. Nesse caso, a carga total acumulada nas superfícies é dada por:

$$Q = C.V_m. \tag{1.3}$$

Para mudar a voltagem da membrana uma corrente elétrica deve ser aplicada. essa corrente capacitiva é obtida diferenciando de ambos os lados a equação da carga total:

$$\frac{dQ}{dt} = C.\frac{dV_m(t)}{dt} \ . \tag{1.4}$$

Mas como $\frac{dQ}{dt} = I_{total}$, temos para o potencial de membrana:

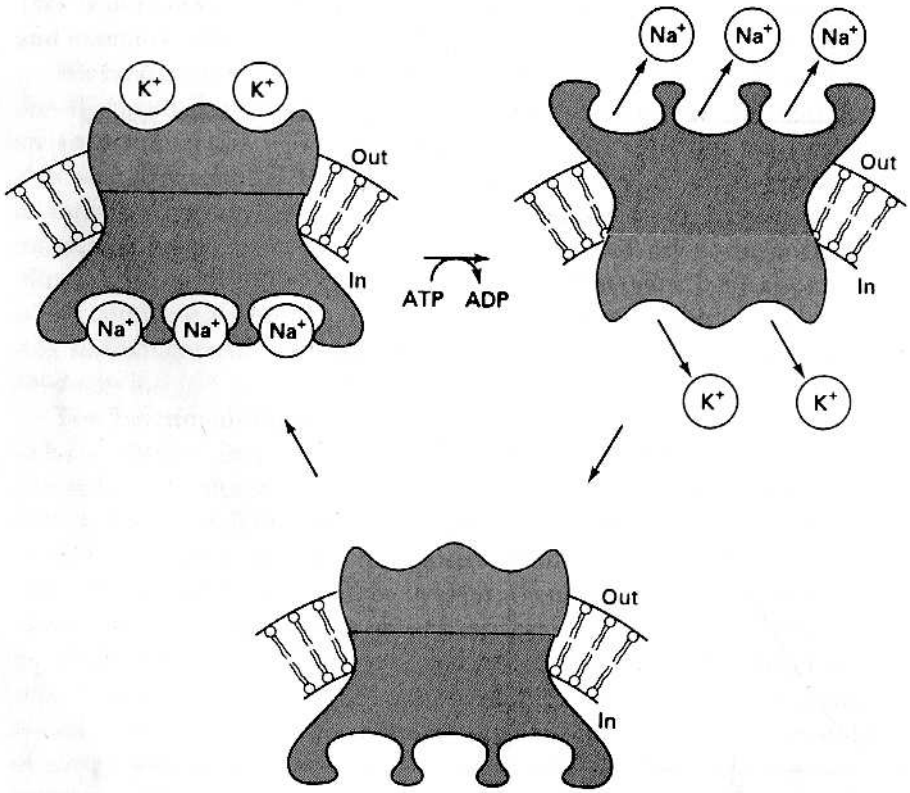


Figura 1.3: Bomba de sódio-potássio: a energia da hidrólise do ATP é usada para mover três íons de sódio de dentro para fora, e simultaneamente, dois íons de potássio de fora para dentro da membrana celular. Este mecanismo se encarrega de manter as diferenças de concentrações dos íons, fundamentais na determinação do potencial de membrana celular.

$$\frac{dV_m(t)}{dt} = \frac{1}{C}\sum I_{ion}. \tag{1.5}$$

Como o corpo celular, axônio e dendritos são estruturas extensas, nem a corrente iônica (que depende no número de canais iônicos locais), nem o potencial de membrana são os mesmos ao longo de toda a membrana. Ou seja, o potencial é uma grandeza que assume diferentes valores locais em cada ponto da membrana: $V_m = V_m(\overrightarrow{r}, t)$, onde $\overrightarrow{r}$ é o vetor que indica uma posição na membrana.

1.3 Modelagem Macroscópica Clássica

Os neurônios presentes nos mais diversos animais, tem outra caracterí stica em comum além do potencial de repouso: são capazes de produzir impulsos rápidos e estereotipados, como os mostrados na figura 1.4, conhecidos como potenciais de ação, que se propagam pelo axônio. O primeiro modelo capaz de explicar como um neurônio produz um impulso nervoso foi desenvolvido por Hodgkin e Huxley no meio do século passado [**?**].

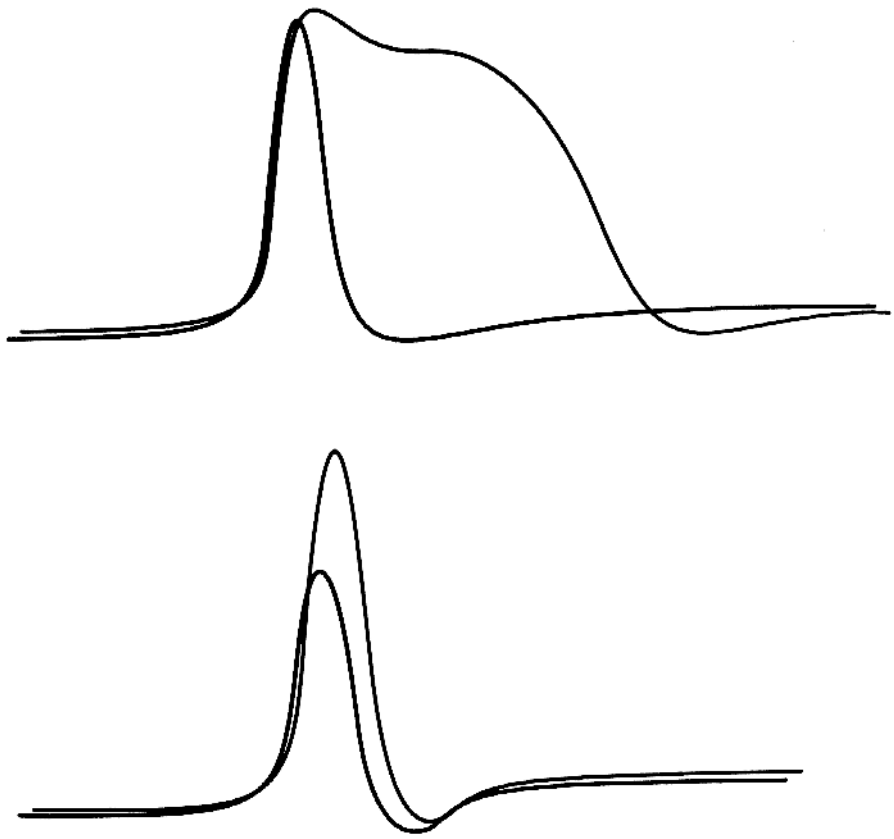


Figura 1.4: Formato dos potenciais de ação de diferentes neurônios. Quando a atividade elétrica de diferentes neurônios é medida, potenciais de ação de diferentes amplitudes e durações são observados.

Os experimentos que levaram ao modelo de Hodgkin-Huxley foram feitos com o axônio gigante da lula *Loligo*. Este axônio tem dimensões gigantescas (para uma fibra nervosa), com aproximadamente meio milímetro de diâmetro (um axônio típico do cortex de mamíferos tem di âmetro 3 ordens de grandeza menor). Para eliminar

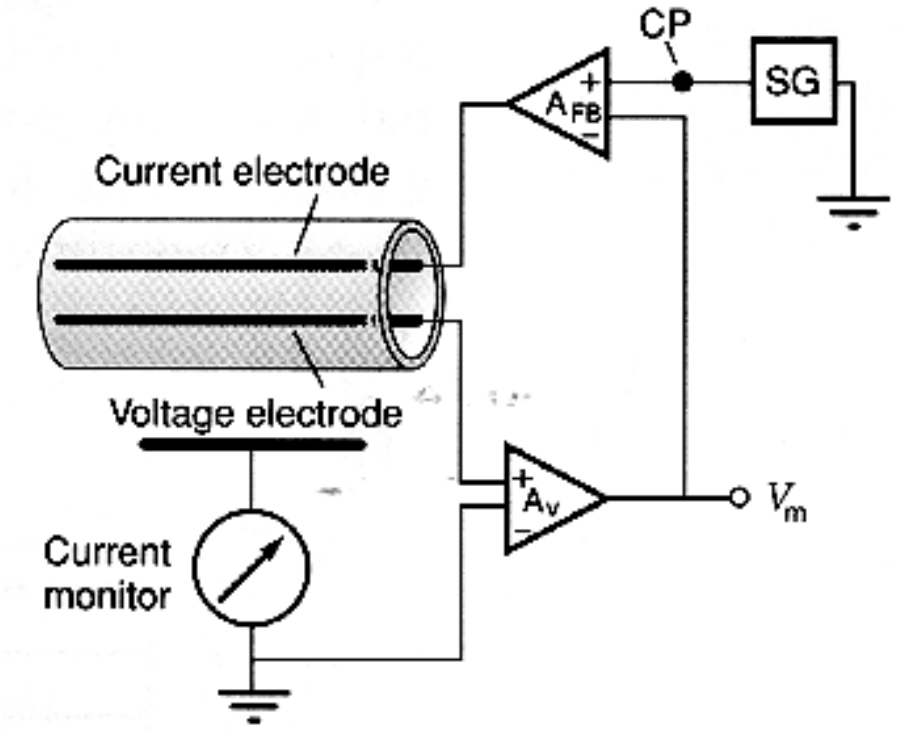


Figura 1.5: Esquema do aparato utilizado para realizar o experimento de fixação de voltagem ("voltage clamp") em um axônio, onde são introduzidos dois eletrodos, um responsável por medir o potencial interno e o outro por injetar a corrente elétrica. O potencial de membrana é medido pelo amplificador de voltagem (A_V) que é conectado ao eletrodo intracelular e ao terra do sistema, conectado ao banho (meio externo). O sinal do potencial de membrana (V_m) é mostrado no osciloscópio e é alimentado no terminal do amplificador de retorno (A_{FB}). Este amplificador tem duas entradas, uma para o potencial de membrana e o outro para o potencial de comando (C_P), que é um sinal elétrico escolhido pelo experimentador e que pode ter qualquer amplitude ou formato. O amplificador de retorno subtrai o potencial de membrana do potencial de comando e amplifica esta diferença, injetando uma corrente no eletrodo de corrente, mantendo o potencial interno sempre muito próximo a C_P.

a complexidade introduzida pela distribuição espacial dos canais iônicos, um fio axial condutor foi introduzido no axônio e utilizado para manter fixo o potencial elétrico através da membrana axonal (figura 1.5). Essa técnica ficou conhecida como "space clamp" pois elimina a dependência da posição onde é medido o potencial da membrana. Deste modo, o axônio se comporta como um capacitor, isopotencial em toda sua extensão. Hodgkin e Huxley (H-H) também desenvolveram uma técnica que ficou conhecida como "voltage clamp", em que a membrana do axônio é submetida a um potencial elétrico fixo (V_{clamp}) e a corrente elétrica (I_m) necessária para manter este potencial é medida. Desta forma, variando V_{clamp} é possível construir uma curva I_m vs. V_{clamp} como é normalmente feito para descobrir as características de componentes elétricos.

A corrente total da membrana I_m é a soma das correntes dos diversos íons mais a corrente capacitiva:

$$I_m(t) = I_{íons}(t) + C_m \frac{dV(t)}{dt}. \tag{1.6}$$

Além do "voltage-clamp", o uso de agentes farmacológicos, principalmente tetrodotoxina - TTX e tetraetilamônio - TEA, bloqueadores de canais iônicos de sódio e potássio, respectivamente, permitiu que H-H separassem a corrente iônica total em suas componentes. Assim após um grande número de experimentos, Hodgkin e Huxley postularam o seguinte modelo para a geração do potencial de ação no axônio gigante da lula [**?**, **?**]:

1. O potencial de ação envolve duas condutâncias iônicas principais da membrana do axônio, uma condutância de sódio, G_{Na}, e uma condutância de potássio, G_K. Estas condutâ ncias são independentes e o valor de cada uma delas depende de modo n ão-linear do tempo e do potencial de membrana. Há também uma terceira condutância, bem menor que as duas anteriores, chamada condut ância de "fuga", G_m, que é independente do potencial de membrana. A corrente iônica que flui pela membrana é a soma das correntes devido a essas condutâncias:

$$I_{íons}(t) = I_{Na}(t) + I_K(t) + I_{fuga}(t).$$

2. Cada corrente iônica individual $I_i(t)$ é linearmente relacionada (lei de Ohm) com o saldo de potencial elétrico após considerarmos o potencial de Nernst para o íon i:

$$I_i(t) = G_i\left(V\left(t\right), t\right).\left(V\left(t\right) - E_i\right),$$

onde o potencial iônico reverso E_i é dado pela equação de Nernst para o íon específico. Dependendo do balanço entre a diferença de concentração dos íons e do campo elétrico através da membrana, cada espécie iônica tem uma "bateria" iônica associada. Conceitualmente, podemos usar o circuito equivalente mostrado na figura 1.6 para descrever a membrana axonal.

3. Cada uma das duas condutâncias iônicas principais é expressa como uma condutância máxima, $G_{Na}^{máx}$ e $G_K^{máx}$, multiplicada por um coeficiente numérico que representa a fração da máxima condutância que se encontra aberta no momento. Estes coeficientes são funções que H-H chamaram de variáveis de ativação e inativação e estariam associados a "partículas" de ativação e inativação, uma vez que H-H ainda não conheciam os canais iônicos, muito menos detalhes de sua estrutura microscópica. Todas as propriedades cinéticas do modelo encontram-se na descrição do funcionamento dessas partículas hipotéticas.

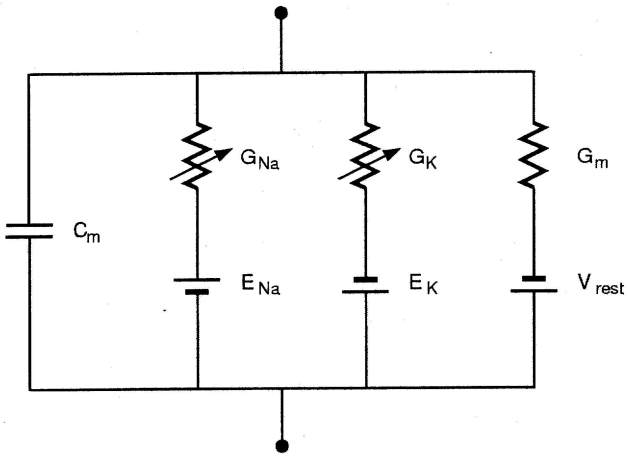


Figura 1.6: Circuito elétrico equivalente para o funcionamento da membrana do axônio gigante da lula. Hodgkin e Huxley elaboraram um modelo usando quatro ramos paralelos: dois passivos (a capacitância C_m e a condutância de fuga $G_m = 1/R_m$) e dois dependentes do tempo e da tensão, representando os canais de sódio e potássio.

1.3.1 A corrente de potássio I_K

A corrente de potássio (figura 1.7) foi modelada por H-H como:

$$I_K = G_K^{máx}.n^4.(V - E_K)\,, \tag{1.7}$$

onde a condutância máxima $G_K^{máx}$=36 mS/cm^2, e a bateria para o potássio é $E_K = -12$ mV , em relação ao potencial de repouso do axônio, n descreve o estado da partícula de ativação fictícia e é uma grandeza adimensional que assume valores entre 0 e 1. De acordo com a convenção adotada atualmente em fisiologia (corrente positiva é a que sai do neurônio), I_K é uma corrente positiva para $V \geq E_K$. Hoje sabemos que um canal iônico de potássio é uma proteína formada por quatro subunidades idênticas, e que essas quatro unidades tem que estar "abertas" para permitir o fluxo de íons, o que justifica o expoente 4 a que H-H chegaram apenas com seus ajustes a dados experimentais!!!

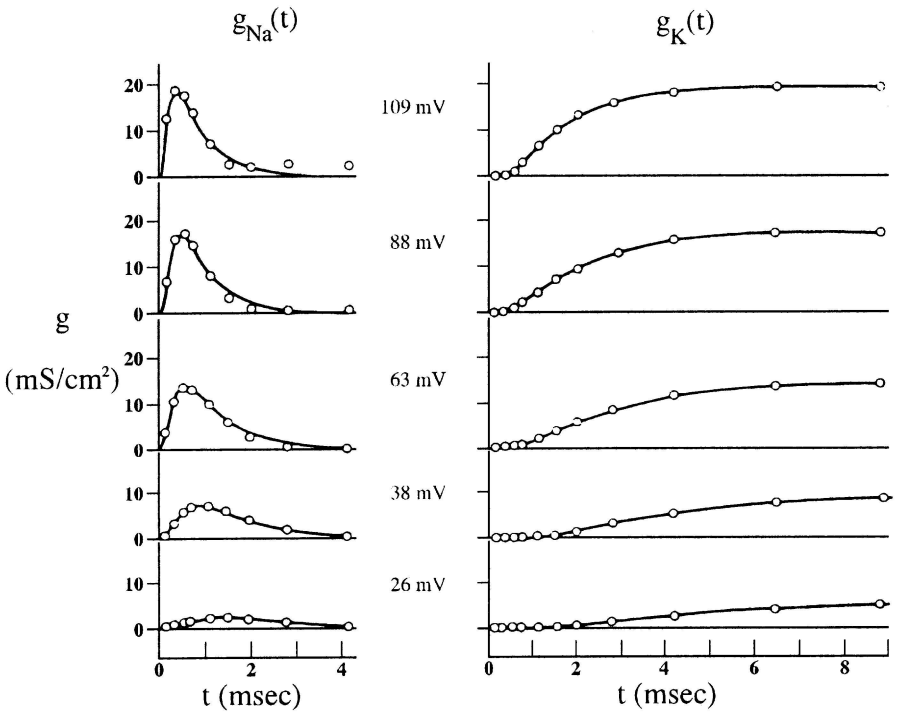


Figura 1.7: Os dados experimentais (círculos) e os valores calculados (linhas) de G_{Na} e G_K no neurônio gigante da lula a $6,3°$ C durante pulsos de despolarização distantes do potencial de repouso. Para grandes mudanças de potencial, G_{Na} rapidamente cresce e depois decai devido à inativação, enquanto G_K permanece ativado. Retirado de Hodgkin e Huxley (1958).

Um modo intuitivo de entender o significado de n é considerá-lo como a probabilidade de encontrar uma partícula de ativação no estado permissivo (aberto) em que os íons podem passar e uma probabilidade $1 - n$ de encontrá-la no estado não permissivo (fechado), em que a passgaem de íons é impedida. Se assumirmos que apenas estes dois estados existem, (para uma partícula única) e que a transição de um ao outro é governada por uma cinética de primeira ordem, ela deve obedecer o seguinte esquema:

$$n \underset{\alpha_n}{\overset{\beta_n}{\rightleftarrows}} 1 - n, \tag{1.8}$$

α_n (β_n) é a taxa, dependente de V_m, com que ocorrem as transições do estado fechado para o aberto (aberto para o fechado) em unidades de 1/s. Este esquema corresponde matematicamente a equação diferencial de primeira ordem:

$$\frac{dn}{dt} = \alpha_n(V).(1 - n) - \beta_n(V)n. \tag{1.9}$$

A chave do modelo H-H, e parte mais árdua de seu trabalho de modelagem, foi descrever quantitativamente a dependência em V das taxas de transição. Embora H-H tenham feito toda a formulação do modelo usando as taxas de transição α_n e β_n, uma maneira alternativa, que tem uma intrepretação física mais simples, é reescrever a equação diferencial para n em termos de $\tau_n(V)$, uma constante de tempo dependente da voltagem e de $n_\infty(V)$, o valor "assintótico" de n, o valor que n assumiria p/ t$\rightarrow \infty$ mantendo-se V constante:

$$\frac{dn}{dt} = \frac{n_\infty - n}{\tau_n}, \tag{1.10}$$

onde:

$$\tau_n = \frac{1}{\alpha_n + \beta_n}, \tag{1.11}$$

e

$$n_\infty = \frac{\alpha_n}{\alpha_n + \beta_n}. \tag{1.12}$$

Nesta descrição n tende exponencialmente a n_∞ com constante de tempo τ_n. As duas descrições, em termos de taxas de transição α_n e β_n ou em termos de τ_n e n_∞, são equivalentes.

Ao estudar o comportamento das condutâncias indivuduais, H-H perceberam que a relação entre a condutância e o potencial de membrana apresenta uma transição

brusca: abaixo de 20 mV, G_K, a condutância da membrana ao potássio é multiplicada por 3 a cada variação de 5 mV do potencial de membrana; a sensibilidade de G_{Na} ,a condutância de sódio, é ainda maior: uma alteraç ão de 4 mV do potencial de membrana é suficiente para multiplicar G_{Na} por 4. Para valores ainda mais despolarizados do potencial de membrana, ocorre uma saturação das condutâncias. HH assumiram que as taxas de transição deviam reproduzir a sensibilidade das condutâncias ao potencial de membrana e ajustaram aos dados experimentais as funções:

$$\begin{aligned} \alpha_n(V) &= \frac{10-V}{100(\exp(\frac{10-V}{10})-1)}, \\ \beta_n(V) &= 0.125\exp(\frac{-V}{80}), \end{aligned} \tag{1.13}$$

onde V é a diferença entre o potencial de membrana e o potencial de repouso em mV. Na figura 1.8 mostramos os gráficos de τ_n e n_∞ em função de V. τ_n apresenta valores má ximos nas proximidades do potencial de repouso enquanto é mais rápido quando nos afastamos de $V = 0$. n_∞ apresenta um crecimento monotônico com V. A curva que relaciona G_K com V apresenta uma transição ainda mais brusca, por causa do expoente 4. Esse comportamento é típico de quase todas as condutâncias iônicas, uma das poucas excessões é a chamada corrente retificadora anômala que é ativada com a hiperpolarização da membrana.

1.3.2 A corrente de sódio I_{Na}

A dinâmica da corrente de sódio é mais complexa que a do potássio (figura 1.7). Quando uma voltagem é estabelecida na membrana usando voltage-clamp a corrente de sódio aumenta com o passar do tempo, atinge um valor máximo, mas ao invés de se estabilizar como acontece com a corrente de potássio, ela volta a diminuir até parar de fluir completamente. Para ajustar este comportamento, H-H postularam além da existência de uma partícula de ativação (m) para o sódio, uma partícula de inativação h:

$$I_{Na} = G_{Na}^{máx}.m^3.h.\left(V - E_{Na}\right), \tag{1.14}$$

onde a condutância máxima $G_{Na}^{máx} = 120\frac{mS}{cm^2}$, e a bateria para o sódio é $E_{Na} = 115mV$ (em relação ao potencial de repouso do axônio). m e h são números adimensionais entre 0 e 1. Pela convenção que adotamos a corrente de sódio é negativa (íons Na^+ entram no axônio) na faixa de relevância fisiológica ($V < E_{Na}$).

A amplitude da corrente de sódio é determinada pelo estado de quatro partículas hipotéticas e suas transições entre os estados aberto ou fechado. Como as partículas são independentes, a probabilidade de encontrar três partículas m e uma h abertas é m^3h. Novamente, sem nenhuma informação sobre a estrutura dos canais iônicos de sódio, H-H acertaram o número de subunidades de ativação e inativação que compõe um canal de sódio!

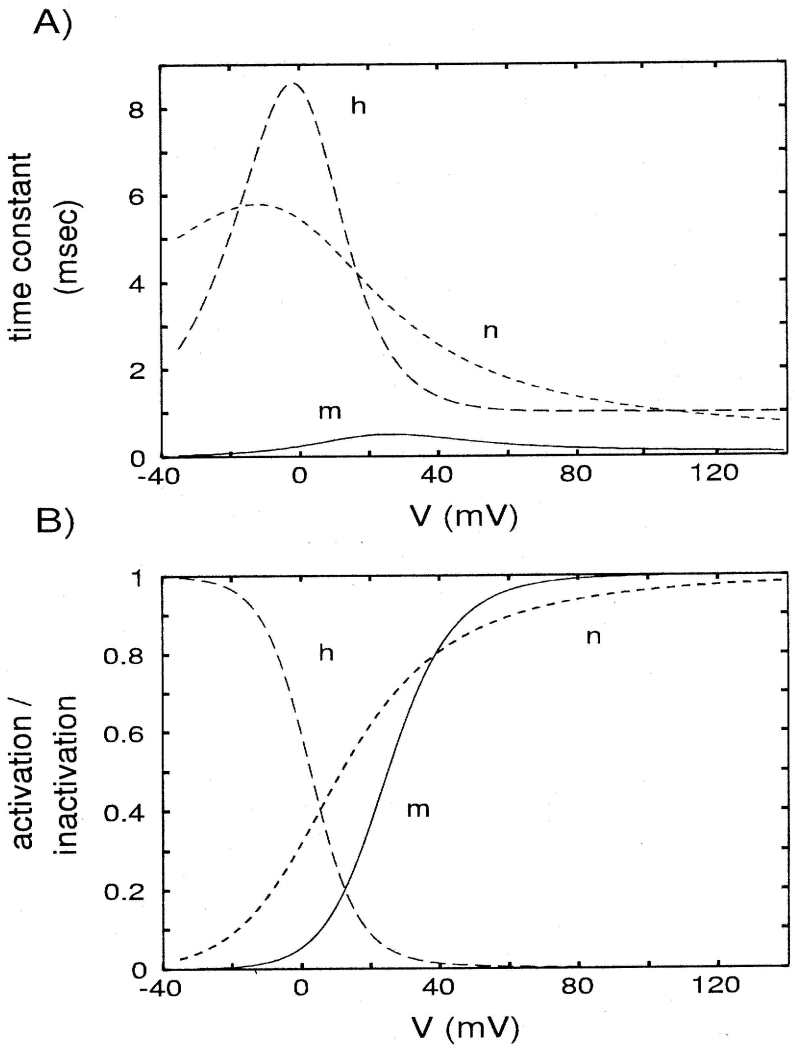


Figura 1.8: (A) Constantes de tempo e (B) ativação e inativação em estado estacionário em função do potencial de membrana relativo V para a ativação do sódio m (linha contínua), inativação h (linha tracejada) e ativação do potássio n (linha pontilhada).

A dinâmica das partículas m e h foi modelada por HH por duas equações diferenciais de primeira ordem:

$$\begin{aligned} \frac{dm}{dt} &= \alpha_m(V).(1-m) - \beta_m(V).m. \\ \frac{dh}{dt} &= \alpha_h(V).(1-h) - \beta_h(V).h. \end{aligned} \tag{1.15}$$

As taxas de transição α e β, obtidas empiricamente, são:

$$\begin{aligned} \alpha_m(V) &= \frac{25-V}{10(\exp(\frac{25-V}{10})-1)}, \\ \beta_m(V) &= 4\exp(\frac{-V}{18}), \\ \alpha_h(V) &= 0.07\exp(\frac{-V}{20}), \\ \beta_h(V) &= \frac{1}{\exp(\frac{30-V}{10})+1}. \end{aligned} \tag{1.16}$$

O comportamento das constantes de tempo (τ_m, τ_h) e os valores assintóticos das variáveis de ativação e inativação (m_∞, h_∞) em função de V é mostrado na figura 1.9. τ_m e τ_h possuem o formato de sino, caracter ístico destas constantes de tempo, m_∞ cresce monotonicamente com V (característica das partículas de ativação) enquanto h_∞ decresce monotonicamente, como deve ocorrer para partículas de inativação.

1.4 O modelo completo de Hodgkin-Huxley para uma secção da membrana do axônio gigante da lula

Como ocorre com outras membranas biológicas, o axônio gigante contém uma condutância de "fuga" G_m, constante no tempo e independente de V. O valor medido por H-H foi: $G_m = 0.3$ mS/cm ^{2}. Essa condutância passiva também tem um potencial reverso (E_r) assossiado a ela. H-H não mediram explicitamente E_r mas ajustaram-no para que a corrente total fosse nula para $V = 0$. Assim, o valor $E_r = 10.6$ mV foi obtido por:

$$G_{Na}(0)E_{Na} + G_K(0)E_K + G_m E_r = 0. \tag{1.17}$$

C_m, a capacitância da membrana para o axônio, vale $1\mu F cm^{-2}$ e a resistência efetiva da membrana, no potencial de repouso devida à condutância de fuga e à

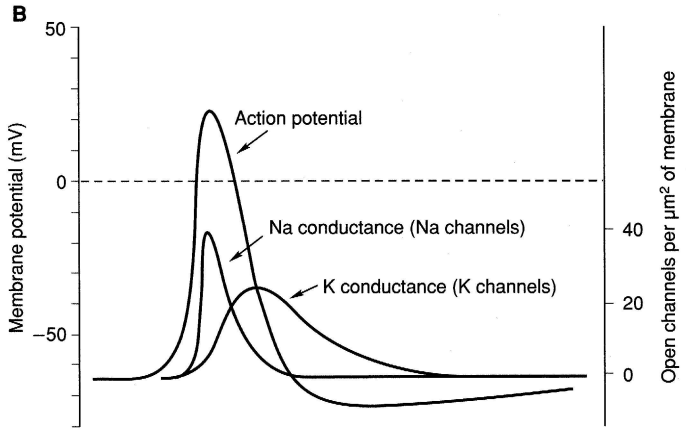


Figura 1.9: O potencial de ação juntamente com os valores das condutâncias dos canais de sódio e potássio. A forma do potencial de ação é determinada pelas modificações nas condutâncias dos canais de sódio e potássio.

pequena condutância ao sódio é 857Ω cm^{-2}, equivalendo a uma constante de tempo efetiva da membrana "passiva" de 0.85 ms.

Podemos escrever uma única equação para as correntes que fluem através de uma secção da membrana axonal:

$$C_m \frac{dV}{dt} = G_{Na}^{máx} m^3 h(E_{Na} - V) + G_K^{máx} n^4 (E_K - V) + G_m(E_r - V) + I_{ext}(t), \quad (1.18)$$

onde $I_{ext}(t)$ é uma corrente externa, injetada por um eletrodo inserido no axônio. Esta equação diferencial não-linear mais as três equações diferenciais lineares de primeira ordem que especificam a evolução das taxas de transição e sua dependência em V constituem o modelo clássico quadridimensional de H-H para uma secção do axônio gigante da lula sob "space clamp".

Este modelo é capaz de produzir potenciais de ação idênticos aos do axônio da lula quando um pulso de corrente externo é injetado (figura 1.9) e também a curva de frequência de disparos em função de uma corrente fixa injetada.

Se a membrana celular for apenas levemente perturbada com a injeção de uma pequena corrente, ocorre que o potencial de membrana sofre uma pequena variação mas logo tende a voltar para o potencial de repouso. No entanto, se a membrana é suficientemente excitada ($I_{ext} > 0$) ou inibida ($I_{ext} < 0$), é desencadeado um processo regenerativo que rapidamente despolariza mais ainda a membrana até inverter sua polarização e em seguida retornar a membrana ao seu potencial de repouso. A produção de potenciais de ação como resposta a uma inibição é chamada de "efeito rebote".

No modelo H-H existe um limiar bem definido do potencial de membrana, se esse limiar for ultrapassado durante uma perturbação acarreta o disparo de um potencial

de ação [**?**], e se não for ultrapassado, o potencial de membrana simplesmente retorna assintoticamente ao potencial de repouso. Este limiar é chamado de potencial de disparo.

1.4.1 Limitações de modelos clássicos do tipo Hodgkin-Huxley

Apesar do grande sucesso em reproduzir o potencial de ação dos neurônios obtido pelo modelo clássico H-H para a membrana axonal e sua grande popularidade entre os neurocientistas, principalmente devido à correspondência direta entre os parâmetros do modelo e valores que podem ser obtidos em experimentos, há limitações em sua utilidade.

A principal limitação do modelo é que, como ele é baseado em experimentos usando "space clamp" do potencial de membrana, as flutuações espaciais do potencial de membrana e as diferentes densidades de canais iônicos não são levadas em conta. O resultado é um comportamento puramente determinístico: dada uma condição inicial e uma corrente injetada $I_{ext}(t)$, a sequência de potenciais de ação produzida é completamente determinada e será sempre a mesma, desde que a condição inicial e $I_{ext}(t)$ sejam repetidos. Isso é bem diferente do que ocorre com axônios biológicos isolados submetidos a um sinal $I_{ext}(t)$ [**?**], conforme mostrado na figura 1.10.

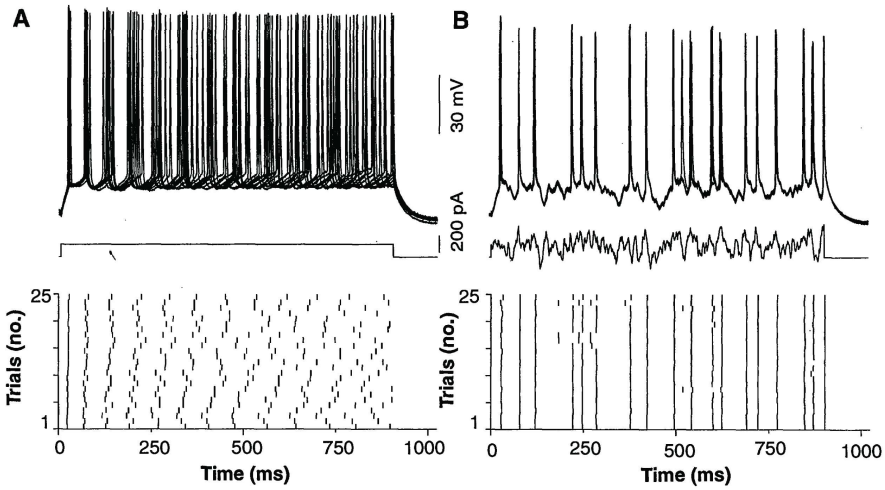


Figura 1.10: Reprodutibilidade do padrão de disparo de neurônios corticais causados por correntes constantes e irregulares. (A) Neste exemplo, um pulso de corrente contínua supra-liminar provocou trens de potenciais de ação irregulares, mostrado pelas diversas medidas superpostas. (B) A mesma célula foi novamente estimulada repetidamente, mas com um estímulo irregular (ruído gaussiano) e apresentou uma resposta mais regular. Retirado de Mainen e Sejnowski (1995).

Um modelo tipo H-H clássico mais realista de um neurônio completo, deve ser composto de vários compartimentos. Cada compartimento isopotencial é responsável por captar a dinâmica iônica de uma região especializada do neurônio. Assim, para modelar um neurônio de modo mais acurado, são necessários vários compartimentos conectados elétricamente: um compartimento axonal similar ao modelo H-H original, um compartimento somático e um ou vários compartimentos dendríticos [**?**].

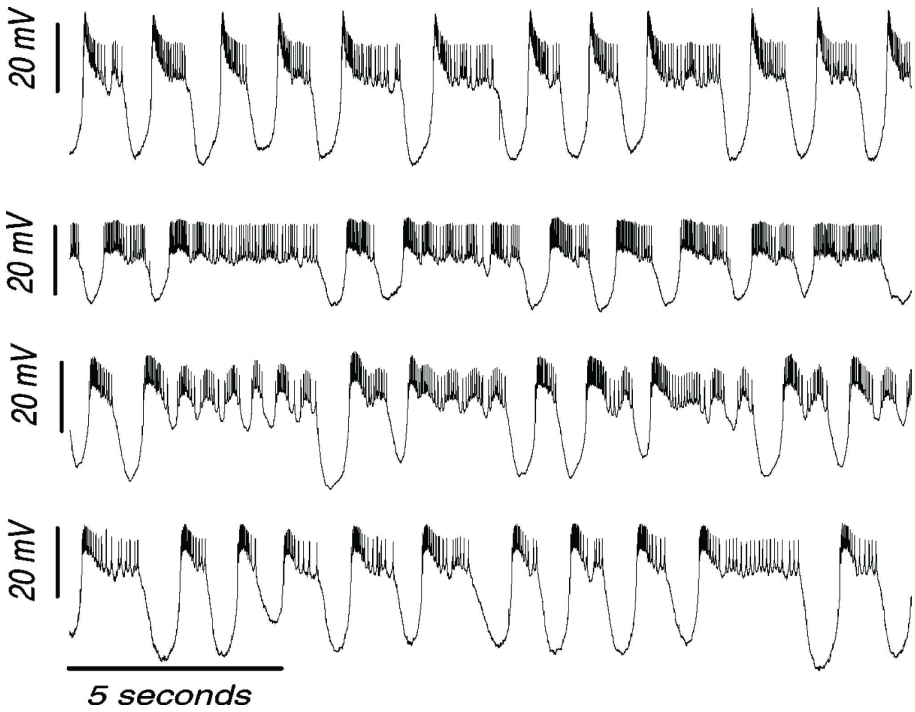


Figura 1.11: Séries temporais experimentais do potencial de membrana celular do neurônio lateral pilórico (LP) isolado de suas conexões sinápticas em quatro diferentes.O neurônio apresenta um padrão irregular de oscilação do potencial de membrana. Extraído de Falcke et al., 2000.

Mesmo quando não usamos vários compartimentos, o modelo precisa incluir a dinâmica de outros canais iônicos que existem na membrana neural, que produzem comportamentos mais complexos, como os mostrados na (na figura 1.11), além dos canais responsáveis pela produção de potenciais de ação considerados no modelo original de H-H. Nesses casos, mesmo um modelo de compartimento único de um neurônio "simples" de invertebrado precisa de pelo menos tipos de canais iô nicos diferentes, implicando na análise/simulação de 12 equações diferenciais não-lineares acopladas [**?**] e na necessidade de ajustar cada uma das funções que definem a ativação e inativação dos vários tipos de canais iônicos, conforme mostrado na

figura 1.12.

	p	m_{∞}	h_{∞}	τ_m	τ_h
I_{Na}	3	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+25.5}{-5.29}\right)}$	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+48.9}{5.18}\right)}$	$2.64-\frac{2.52}{1+\exp\left(\frac{V+120}{-25}\right)}$	$\frac{1.34}{1+\exp\left(\frac{V+62.9}{-10}\right)}*\left(1.5+\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+34.9}{3.6}\right)}\right)$
I_{CaT}	3	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+27.1}{-7.2}\right)}$	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+32.1}{5.5}\right)}$	$43.4-\frac{42.6}{1+\exp\left(\frac{V+68.1}{-20.5}\right)}$	$210-\frac{179.6}{1+\exp\left(\frac{V+55}{-16.9}\right)}$
I_{CaS}	3	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+33}{-8.1}\right)}$	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+60}{6.2}\right)}$	$2.8+\frac{14}{\exp\left(\frac{V+27}{10}\right)+\exp\left(\frac{V+70}{-13}\right)}$	$120+\frac{300}{\exp\left(\frac{V+55}{9}\right)+\exp\left(\frac{V+65}{-16}\right)}$
I_A	3	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+27.2}{-8.7}\right)}$	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+56.9}{4.9}\right)}$	$23.2-\frac{20.8}{1+\exp\left(\frac{V+32.9}{-15.2}\right)}$	$77.2-\frac{58.4}{1+\exp\left(\frac{V+38.9}{-26.5}\right)}$
I_{KCa}	4	$\frac{[Ca]}{[Ca]+3}*\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+28.3}{-12.6}\right)}$		$180.6-\frac{150.2}{1+\exp\left(\frac{V+46}{-22.7}\right)}$	
I_{Kd}	4	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+12.3}{-11.8}\right)}$		$14.4-\frac{12.8}{1+\exp\left(\frac{V+28.3}{-19.2}\right)}$	
I_H	1	$\frac{1}{1+\exp\left(\frac{V+75}{5.5}\right)}$		$\frac{2}{\exp\left(\frac{V+169.7}{-11.6}\right)+\exp\left(\frac{V-26.7}{14.3}\right)}$	

Figura 1.12: Correntes iônicas de um modelo baseado em condutâncias clássicas tipo H-H para um neurônio de crustáceo. Extraído de Prinz et al. (2003).

Um modelo complexo como este apresenta vários tipos de comportamento peri ódico observados nos neurônios biológicos e já representa um desafio computacional, principalmente se tentarmos acoplar vários desses neurônios em uma simulação de rede. Apesar do grande número de equações não-lineares, o modelo não reproduz as oscila ções irregulares encontradas em neurônios biológicos (figura 1.11) quando são utilizados valores de parâmetros numéricos biológicamente plausíveis, i.e., coerentes com os valores das condutâncias e outras grandezas obtidas experimentalmente.

Novamente, o comportamento irregular é suprimido pela simplificação determinística e pela ausência da dependência espacial tanto do valor do potencial de membrana quanto da distribuição de canias iônicos.

1.5 Modelagem Dinâmica

Estamos chamando de modelagem dinâmica as abordagens que consistem em modelar o comportamento dinâmico do potencial de membrana, sem levar em conta a contribuição individual de diferentes grupos iônicos, ou compartimentos, ou utilizar ferramentas e/ou argumentos da teoria de sistemas dinâmicos para auxiliar na modelagem de um comportamento desejado.

Diversas simplificações podem ser úteis para construir modelos com um número reduzido de equações diferenciais e possibilitar a simulação computacional de redes neurais compostas por vários neurônios.

Um modelo dinâmico bastante interessante da produção de potenciais de ação, que usa apenas duas equações diferenciais de primeira ordem, foi proposto por

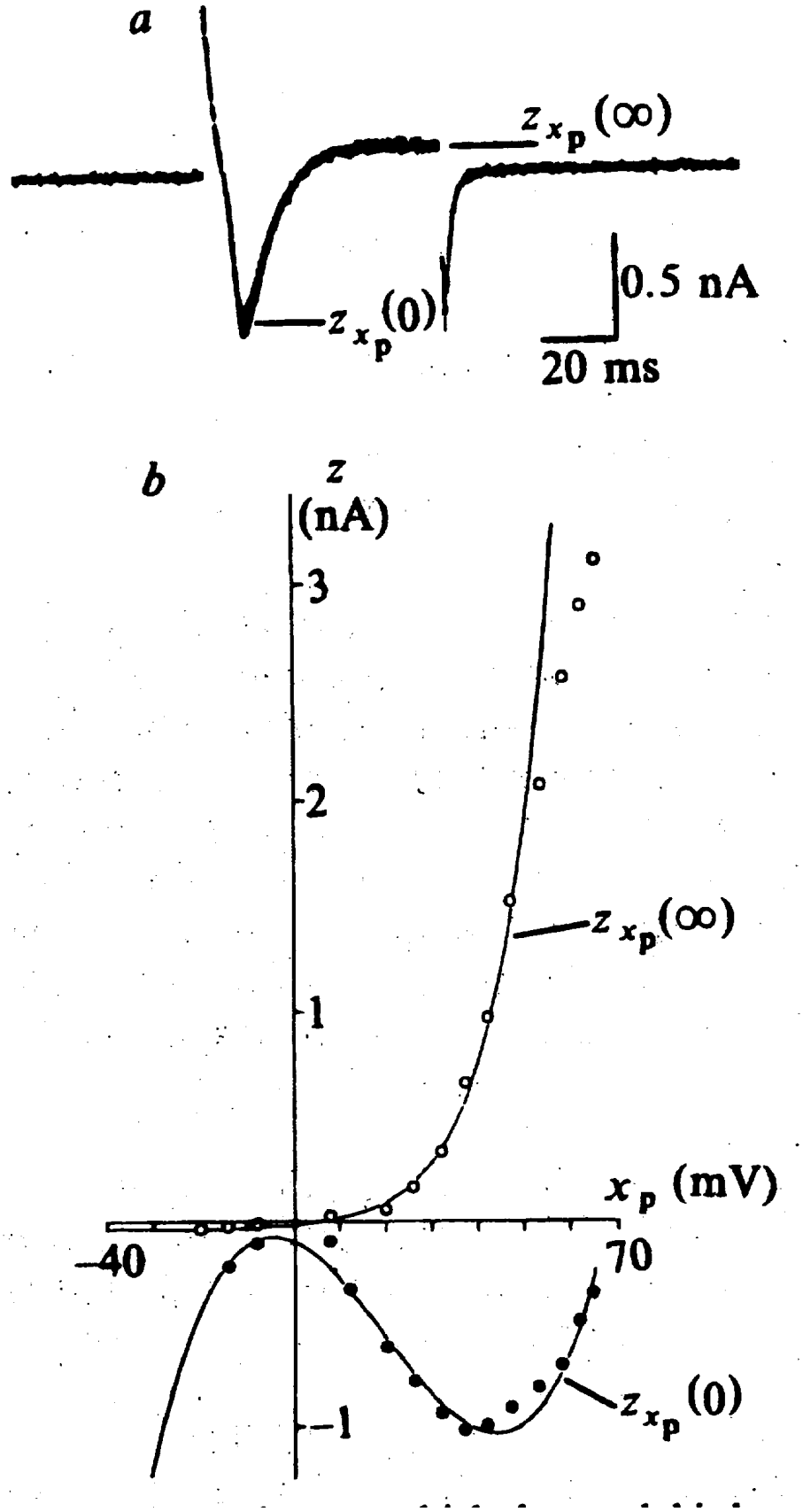


Figura 1.13: (a) Corrente z necessária para produzir um degrau de voltagem (x_p) de 25 mV a partir de $x_p = 0$ nos experimentos de Hindmarsh e Rose com neurônios de *Limnaea stagnalis*. (b) Valores das correntes $z_{x_p}(0)$ e $z_{x_p}(\infty)$ em função do potencial fixado e respectivas funções ajustadas. Extraído de Hindmarsh e Rose, 1982.

Hindmarsh e Rose (H-R) em 1982 [**?**]. O modelo H-R pode ser interpretado como umageneralizaç ão das equações de Fitzhugh [**?**], mas pode ser desenvolvido partindo de princípios básicos se assumirmos que a taxa de mudança do potencial de membrana depende linearmente de z, uma corrente introduzida através de um eletrodo, e de y, uma corrente intrínseca da membrana, e depende de maneira não linear do próprio potencial de membrana:

$$\frac{dx}{dt} = -a\left(f(x) - y - z\right). \tag{1.19}$$

H-R também supuseram que a taxa de variação de y é dada por:

$$\frac{dy}{dt} = b(g(x) - y). \tag{1.20}$$

Nestas equações, a e b são constantes e a equação para $\frac{dy}{dt}$ tem este formato para garantir que a evolução temporal de z em condições de "voltage-clamp" seja exponencial [**?**].

Para determinar a forma de $f(x)$ e de $g(x)$, H-R realizaram experimentos de "voltage-clamp" com células do gânglio visceral do molusco *Lymnaea stagnalis*, conforme mostrado na figura 1.13.

Para diferentes valores do potencial fixado x_p, H-R e mediram o valor da corrente $z_{x_p}(0)$ necessária para manter o potencial no início do "voltage clamp" e a corrente assintótica $z_{x_p}(\infty)$.

Nestas condições,

$$\begin{aligned} z_{x_p}(0) &= f(x_p), \\ z_{x_p}(\infty) &= f(x_p) - g(x_p), \end{aligned} \tag{1.21}$$

e os ajustes aos dados experimentais fornecem as funções $f(x)$ e $g(x)$.

Usando este modelo e as funções ajustadas:

$$\begin{aligned} f(x) &= cx^3 + dx^2 + ex + h, \\ g(x) &= f(x) - qe^{rx} + s, \end{aligned} \tag{1.22}$$

onde a - h, q, r e s são constantes, H-R reproduziram os potenciais de ação produzidos pelos neurônios de *Lymnaea* como mostrado na figura 1.14.

Este modelo de apenas duas variáveis, apesar de não reproduzir detalhes do formato dos potenciais de ação, foi capaz de capturar outras propriedades como o fato dos potenciais de ação serem separados por um longo intervalo, como acontece em neurônios bioló gicos e não era reproduzido por outros modelos simplificados como o modelo de Fitzhugh [**?**]. Em 1984, H-R propuseram uma adaptação de seu modelo bidimensional para permitir a reprodução do comportamento de de neurônios que disparam potenciais de ação em salvas ("bursts") [**?**].

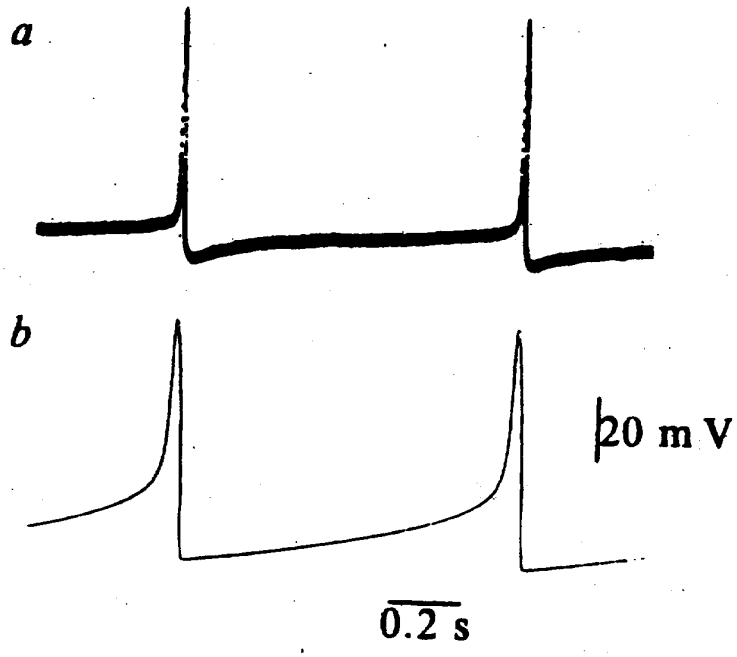


Figura 1.14: Comparação entre as formas dos potenciais de ação (a) medido e (b) originado pelo modelo bidimensional de Hindmarsh e Rose, 1982.

A representação do modelo original de H-R, após a mudança de variáveis: $v = x$, $r = y$, $I = z$, apresenta um único ponto fixo (foco instável) num espaço de fases $I - v$, que corresponde ao cruzamento das curvas nulclinas: $\frac{dv}{dt} = \frac{dx}{dt} = 0$ e $\frac{dr}{dt} = \frac{dy}{dt} = 0$, conforme mostrado na figura 1.15. O valor longo do intervalo entre potenciais de ação é produzido pela proximidade das nulclinas quando $v < 0$. nesta região a solução se move devagar ao longo do canal entre as nulclinas, durante a hiperpolarização e rapidamente quando as nulclinas estão afastadas, durante o potencial de ação.

A modificação do modelo para incluir o comportamento em salvas consistiu em deformar "levemente" a nulclina $\frac{dr}{dt} = 0$ para que ela cruzasse novamente a nulclina $\frac{dv}{dt} = 0$, produzindo mais dois pontos fixos no espaço de fases, conforme mostrado na figura 1.15.

H-R analizaram a estabilidade dos pontos fixos e mostraram que um deles corresponde a um ponto fixo estável para o qual a dinâmica se dirige assintóticamente, após produzir vários potenciais de ação.

Como as nulclinas continuam sempre próximas em $v < 0$, H-R introduziram uma terceira equação diferencial em seu modelo, com uma dinâmica mais lenta, que corresponderia a adicionar um valor a $\frac{dr}{dt}$ que pudesse chavear o sistema entre duas possibilidades: um único ponto fixo instável, correspondente a produção seguida de

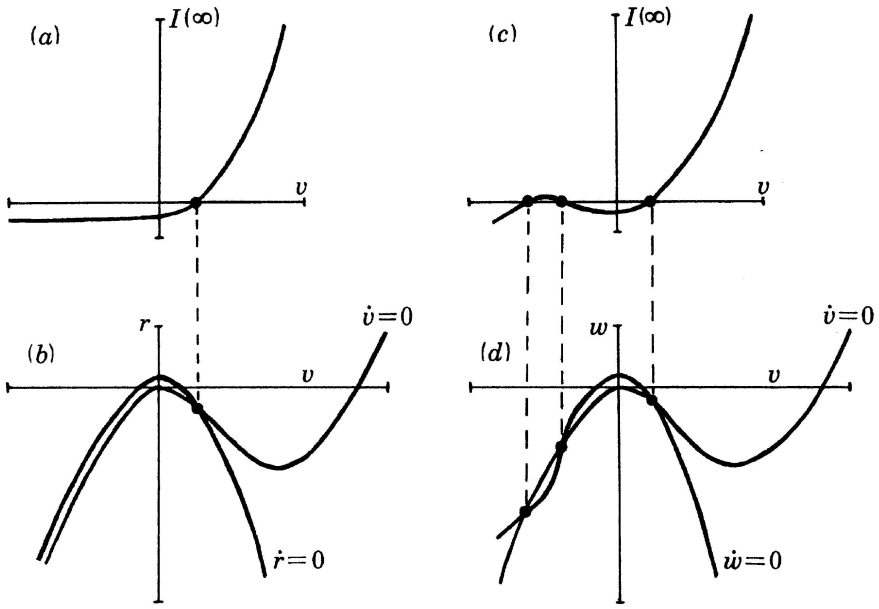


Figura 1.15: Curvas $I - v$ do modelo H-R bidimensional: (a) para o modelo com um único ponto fixo, (c) para o modelo com três pontos fixos; os respectivos espaços de fase $(r - v)$ em (b) e (d), mostrando o cruzamento das nulclinas de r e v.

potenciais de ação, e três pontos fixos, sendo um deles estável, para o qual o sistema se dirige assintóticamente, correspondendo a uma hiperpolarização ou relaxamento, conforme mostrado na figura 1.16.

O modelo de H-R tridimensional que apresenta salvas de potenciais de ação é dado por:

$$\begin{aligned} \frac{dx}{dt} &= y - ax^3 + bx^2 + I - z, \\ \frac{dy}{dt} &= c - dx^2 - y, \\ \frac{dz}{dt} &= r(s(x - x_1) - z), \end{aligned} \tag{1.23}$$

onde x, y, e z são as variáveis dinâmicas que representam respectivamente o potencial de membrana, uma corrente rápida e uma corrente lenta; todos os outros parâmetros são constantes.

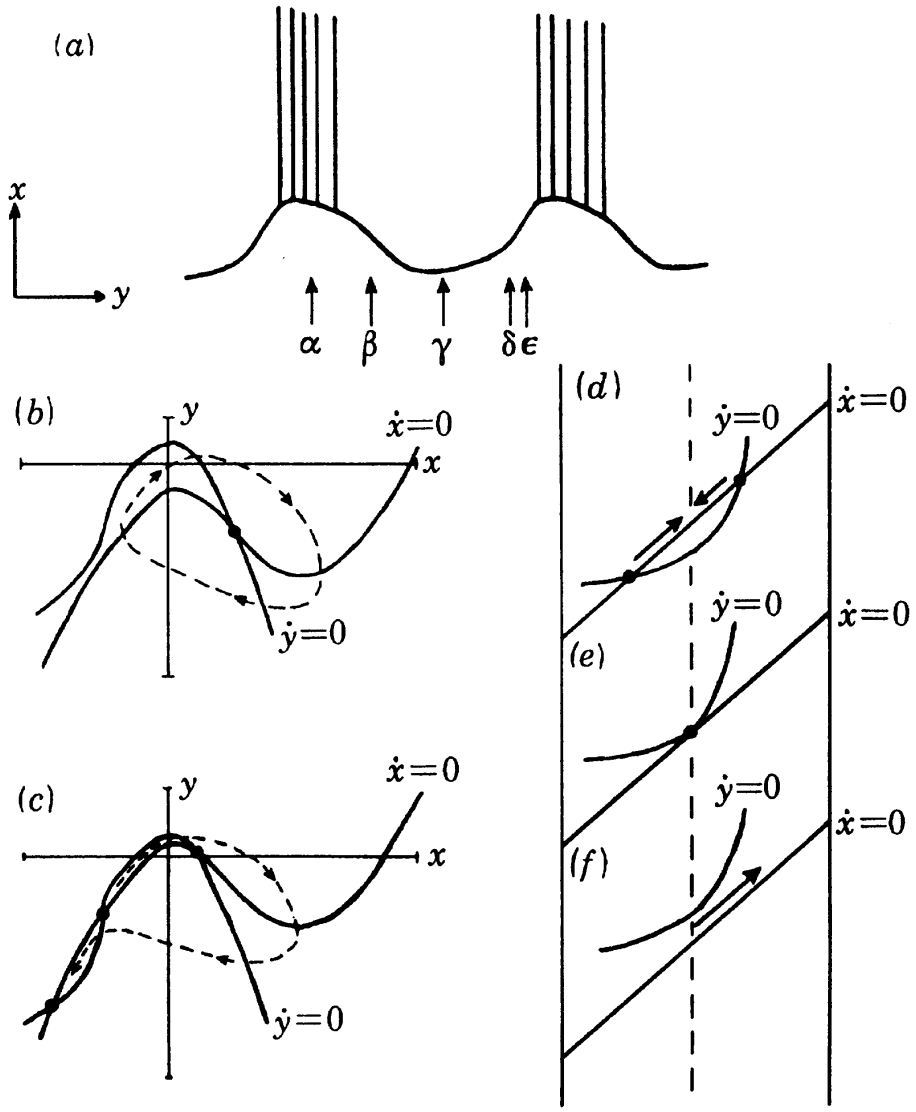


Figura 1.16: (a) Representação esquemática do ciclo de uma salva de potenciais de ação no modelo H-R; (b) e (c) são diagramas de fase do plano xy que correspondem aos tempos assinalados como α e β em (a); (d) a (f) mostram detalhes do plano de fase xy que correspondem respectivamente aos tempos γ a ε do ciclo da salva.

Uma característica notável deste modelo simplificado, com apenas 3 eq. diferenciais, foi sua capacidade não apenas de apresentar salvas de potenciais de ação, mas também sensibilidade às condições iniciais que produzem salvas de potenciais de ação com tempos de duração irregulares como os encontrados em neurônios biológicos.

Baseado-se nestas propriedades de produzir salvas irregulares, este modelo foi adaptado com a adição de mais uma equação diferencial para tornar seu comportamento ainda mais parecido com os neurônios biológicos do gânglio estomatogástrico de crustáceos (encher de referencias).

O modelo H-R adaptado aos crustáceos reproduziu qualitativamente os mesmos tipos de oscilação irregular encontrados nos neurônios biológicos, conforme pode ser visto comparando a figura 1.17 com a figura 1.11.

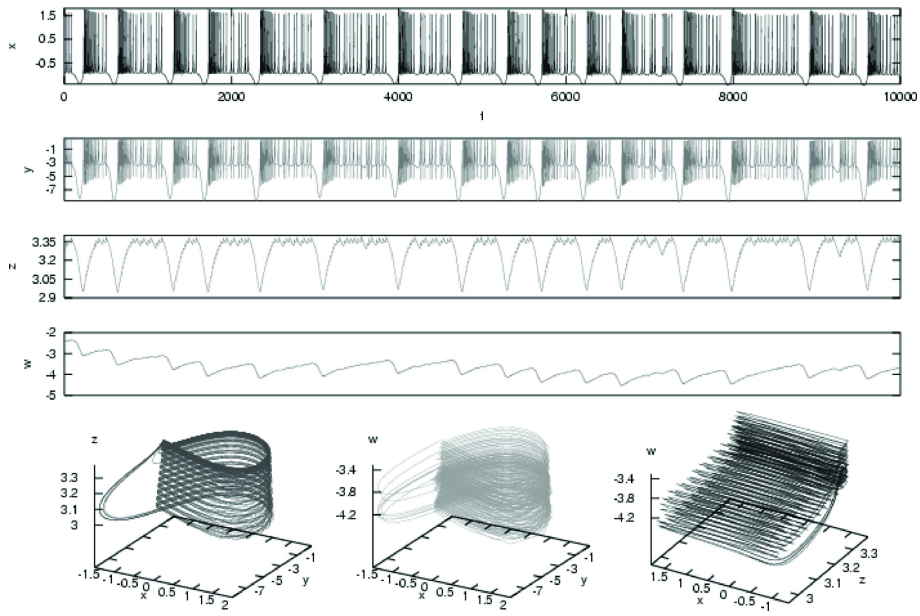


Figura 1.17: Séries temporais obtidas com o modelo H-R implementado em circuito eletrônico (superior) e projeções tridimensionais do atrator dinâmico caótico.

Como as equações diferenciais que compõe o modelo H-R são simples, envolvendo apenas polinômios em x, elas podem ser simuladas utilizando circuitos eletrônicos analógicos formados por multiplicadores e divisores de tensão e integradores. Um modelo deste tipo pode ser chamado de computador analógico ou de "neurônio eletr ônico" (EN). ENs baseados no modelo H-R [**?**] foram utilizados com sucesso para restaurar o funcionamento de um circuito neural biológico danificado [**?**].

Muito embora um único EN conectado a neurônios biológicos ou ENs conectados aos pares funcionem de modo muito similar a neurônios biológicos, eles não são capazes de reproduzir o funcionamento de uma pequena rede neural, composta por

três quatro neurônios, quando usamos apenas ENs. Isso acontece porque, apesar de apresentarem salvas de duração bastante variável, as hiperpolarizações, que definem a distância entre salvas, são muito parecidas e não permitem a mesma flexibilidade apresentada pelos neurônios biológicos.

Além dessa limitação, este modelo também é definido por equações diferenciais determinísticas, ou seja, não apresenta variabilidade na produção de potenciais de ação quando submetido repetidamente a um mesmo sinal.

1.6 Modelagem Microscópica Estocástica

No modelo clássico H-H a variação dos valores das diversas condutâncias da membrana são considerados como processos contínuos e determinísticos. Entretando, os processos de perfusão de íons através da membrana não são nem contínuos, nem determinísticos [**?**]. Canais iônicos são elementos discretos com propriedades que só podem ser dadas de maneira probabilística.

Como a membrana axonal é constituída por um número muito grande de canais iônicos, da ordem de até centenas de milhares para o caso do sódio [**?**], acreditou-se por muito tempo que o axônio tenderia a se comportar de modo determinístico, usando uma espécie de "média" do comportamento de todos os canais, justificando a utilização de modelos determinísticos.

Vários trabalhos experimentais, como o apresentado em [**?**], tem mostrado que o potencial de membrana macroscópio dos neurônios possuem características que não podem ser explicadas pelos modelos determinísticos da produção de potenciais de ação.

A justificativa para usar um modelo estocástico para a dinâmica dos canais iônicos vem do fato que, em condições normais e bem diferentes daquelas em que o axônio inteiro se encontra em "space clamp", os potenciais de ação são iniciados em uma região bem pequena do axônio, chamada cone de implantação ("axon hilock"). Esta região tem, tipicamente, 200 μm^2 e possui aproximadamente 3500 canais seletivos a potássio e 12000 canais seletivos a sódio [**?**]. Se considerarmos que o número de canais que se comportam de modo diferente da média seja da ordem de $\frac{\sqrt{N}}{N}$ canais, teríamos uma flutuação de aproximadamente 1%, que pode ser muito importante quando consideramos um sistema dinâmico não-linear como a membrana neuronal.

A modelagem estocástica parte dos mesmos princípios utilizados pelo modelo H-H clássico. H-H sugeriram um interpretação física para os expoentes que ajustaram a suas equações, dizendo que o termo n^4 indica que existem 4 portas independentes e um canal de potássio só estaria aberto se todas as portas estivesses abertas. Este é exatamente o caso, conforme foi descoberto mais tarde usando técnicas de biologia molecular: um canal seletivo a K^+possui quatro estruturas independentes e apenas um estado que corresponde a todas as estruturas em uma conformação aberta permite o fluxo de íons através do canal, conforme mostrado na figura 1.18.

Analogamente, o termo m^3h reflete a existência de 3 portas m e uma porta h em um canal iônico seletivo a sódio e que todas estas portas devem estar abertas

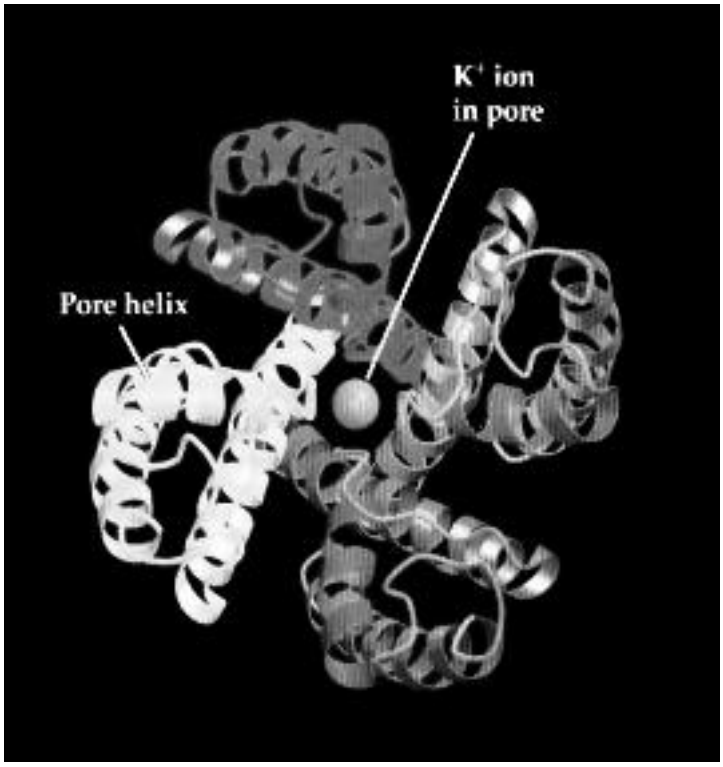


Figura 1.18: Representação da estrutura de um canal iônico de potássio revelando as estruturas que funcionam como portas: as quatro estruturas tem que estar na conformação espacial que corresponde a aberto para que os íons possam fluir pelo poro.

para permitir a passagem de um íon Na^+.

Este modelo sugere que os canais de K^+ podem existir em 5 estados diferentes, num esquema cinético que pode ser formalizado como uma cadeia Markoviana que incorpore a dinâmica das transições entre os estados, conforme mostrado na figura 1.19.

$[n_i]$ representa o número de canais com i portas abertas, portanto, $[n_4]$ é o único estado que significa canais de K^+ abertos. As taxas de transição entre os estados, α_n e β_n são idênticas às taxas de transição entre as partículas de ativação originalmente propostas por H-H.

Analogamente, cada canal de sódio, pode existir em 8 estados diferentes, conforme a cadeia Markoviana mostrada na figura 1.20.

Neste caso, $[m_i h_j]$ é o número de canais Na^+ no estado $m_i h_j$ e o único estado que corresponde a canais abertos é o $[m_3 h_1]$. Novamente as taxas de transição α_m, β_m, α_h e β_h são as taxas de transição do formalismo original clássico de H-H.

$$[\mathbf{n_0}] \underset{\beta_n}{\overset{4\alpha_n}{\rightleftharpoons}} [\mathbf{n_1}] \underset{2\beta_n}{\overset{3\alpha_n}{\rightleftharpoons}} [\mathbf{n_2}] \underset{3\beta_n}{\overset{2\alpha_n}{\rightleftharpoons}} [\mathbf{n_3}] \underset{4\beta_n}{\overset{\alpha_n}{\rightleftharpoons}} [\mathbf{n_4}]$$

Figura 1.19: Diagrama esquemático representando os cinco estados possí veis que um canal de potássio pode assumir e as taxas de transição entre cada par de estados. O índice indica o número de portas abertas do canal. O único estado que corresponde a um canal aberto é o N_4.

$$\begin{array}{ccccccc}
[\mathbf{m_0h_1}] & \underset{\beta_m}{\overset{3\alpha_m}{\rightleftharpoons}} & [\mathbf{m_1h_1}] & \underset{2\beta_m}{\overset{2\alpha_m}{\rightleftharpoons}} & [\mathbf{m_2h_1}] & \underset{3\beta_m}{\overset{\alpha_m}{\rightleftharpoons}} & [\mathbf{m_3h_1}] \\
\alpha_h \uparrow\downarrow \beta_h & & \alpha_h \uparrow\downarrow \beta_h & & \alpha_h \uparrow\downarrow \beta_h & & \alpha_h \uparrow\downarrow \beta_h \\
[\mathbf{m_0h_0}] & \underset{\beta_m}{\overset{3\alpha_m}{\rightleftharpoons}} & [\mathbf{m_1h_0}] & \underset{2\beta_m}{\overset{2\alpha_m}{\rightleftharpoons}} & [\mathbf{m_2h_0}] & \underset{3\beta_m}{\overset{\alpha_m}{\rightleftharpoons}} & [\mathbf{m_3h_0}],
\end{array}$$

Figura 1.20: Diagrama esquemático representando os 8 estados possíveis em que um canal de sódio pode ser encontrado e as taxas de transição α e β entre os estados. O único estado que corresponde a um canal que permite a passagem de íons é o m_3h_1.

No formalismo H-H estocástico as condutâncias do sódio e potássio são dadas por:

$$\begin{aligned}
G_K(V,t) &= \gamma_K\,[n_4]\,, \\
G_{Na}(V,t) &= \gamma_{Na}\,[m_3h_1]\,,
\end{aligned} \tag{1.24}$$

onde γ_K e γ_{Na} são os valores das condutâncias de um único canal iônico de K^+ ou Na^+ no estado aberto.

Ou seja, o problema original de H-H era integrar 3 equações diferenciais para obter os valores de n, m e h mais uma equaçã o diferencial para obter V, enquanto no modelo estocástico há apenas uma equação diferencial a ser integrada. Entretando a partir das taxas de transição temos que determinar, usando sorteios de n úmeros aleatórios, se cada cada canal iônico permanece no estado em que está ou muda para um estado próximo. Se considerarmos um numero de canais da ordem de 10^5 teríamos que sortear 10^5 n úmeros aleatórios a cada instante para determinar a "sorte" da população total de canais iônicos, o que é até factível, mas bastante dispendioso em termos de tempo de computação.

Na verdade este problema técnico é contornado usando métodos que calculam qual o número total de canais que mudam de um estado para outro, reduzindo bastante o tempo de computação. Se, em um dado instante de tempo t, há N_A canais no estado A, N_B canais no estado B e a taxa de trasferência de canais do estado A para o estado B vale r no instante t, então cada um dos canais no estado A pode se transferir para o estado B no intervalo entre t e $t + \Delta t$ com uma probabilidade $p = r\Delta t$. Assim, em cada passo de tempo Δt podemos determinar o número de canais que se movem de A para B, Δn_{AB}, escolhendo um número aleatório de uma distribuição binomial:

$$prob\,(\Delta n_{AB}) = \binom{n_A}{\Delta n_{AB}} p^{\Delta n_{AB}} (1-p)^{(n_A - \Delta n_{AB})}. \tag{1.25}$$

O resultado obtido com o modelo H-H estocástico comparado ao modelo H-H determinístico original pode ser observado na figura 1.21.

O modelo H-H estocástico do axônio reproduz os resultados de confiabilidade e reprodutibilidade da sequência de potenciais de ação obtidos em experimentos com neurônios biológicos quando sinais de corrente tipo degrau ou sinais com flutuação são aplicados repetidamente ao neurônio, enquanto o modelo H-H determinístico do axônio repete sempre a mesma sequência de potenciais de ação para o mesmo estímulo.

A variabilidade das respostas apresentadas pelos modelos estocástico podem ser a chave para resolver os problemas de flexibilidade que modelos H-H determinísticos e modelos dinâmicos tipo H-R apresentam. Entretanto um modelo completo do tipo H-H estocástico para um neurô nio inteiro, necessita de pelo menos de 2 compartimentos: uma pequena área de membrana axonal conectada elétricamente a um compartimento somático para produzir um potencial de membrana realístico. Além disso, o tempo necessário para computação depende muito do número de canais diferentes presentes no modelo, e a simulação estoc ástica é mais lenta que a integração do modelo H-H determinístico. As desvantagens dos modelos estocásticos são, em sua maioria, de ordem técnica e devem ser solucionadas em um futuro próximo, com o aparecimento de novas tecnologias computacionais mais velozes que as atuais.

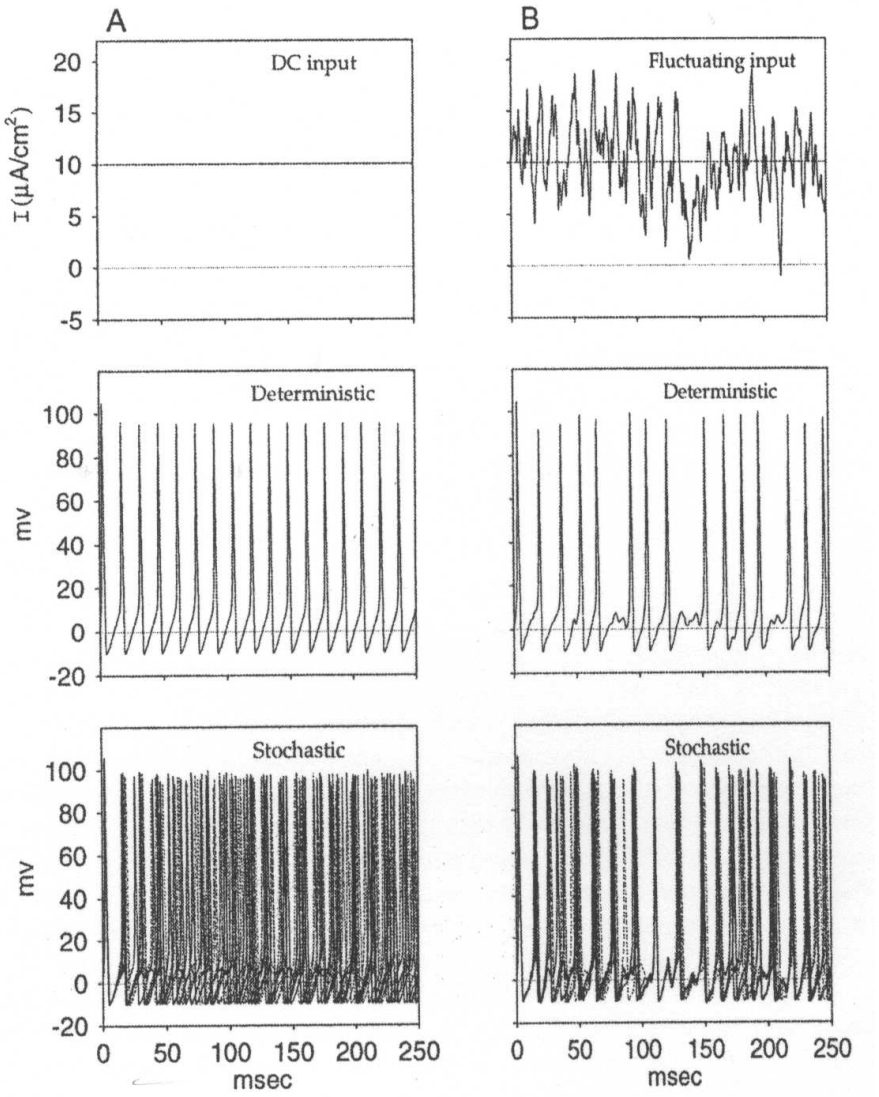


Figura 1.21: Comparação da confiabilidade e variabilidade dos padrões de disparos de potenciais de ação entre um modelo axonal tipo H-H clássico e um modelo axonal H-H estocástico; (A) representa a resposta dos modelos a um degrau de corrente contínua; (B) representa a resposta dos modelos a uma corrente que apresenta flutuações gaussianas em torno de um valor médio. Em ambos os casos, o sinal foi repetido dez vezes e as curvas obtidas para o potencial de membrana foram superpostas.

Bibliografia

[1] Kandel E.R., Schwartz J.H., e Jessel T.M. (1991): *Principles of Neural Science*, $\mathbf{3}^{rd}$ **ed.**, Appleton & Lange, Connecticut.

[2] Levitan, I.B., Kaczmareck, L.K. (1997), *The Neuron: cell and molecular biology*, Oxford University Press.

[3] Schmidt-Nielsen K. (1996): *Fisiologia animal*, $\mathbf{5}^{a}$ **ed.**, Santos Editora, São Paulo.

[4] Hodgkin, A. L. and Huxley, A. F. (1952): A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *J. Physiol. Lond.* **117**, 500-54.

[5] Koch, C. and Segev, I. (eds.) (1998): *Methods in Neuronal Modeling: from ions to networks.* $\mathbf{2}^{nd}$ **ed**. MIT Press, Cambridge, MA.

[6] Dayan, P. and Abbot, L.F. (2001): *Theoretical neuroscience: Computational and mathematical modeling of neural systems.* MIT Press, Cambridge, MA.

[7] Mainen, Z. F. and Sejnowski, T. J. (1995): Reliability of spike timing in neocortical neurons. *Science* **268**, 1503-8.

[8] Falcke M., Huerta R., Rabinovich M. I., Abarbanel H. D. I., Elson, R. and Selverston A. I. (2000): Modeling observed chaotic oscillations in bursting neurons: the role of calcium dynamics and IP3, *Biol. Cybern.* **82**, 517-527.

[9] Prinz, A.A., Thirumalai, V. and Marder, E.(2003): The functional consequences of changes in the strength and duration of synaptic inputs to oscillatory Neurons, *J. Neurosci.* **23**, 943-954.

[10] Hindmarsh, J.L. and Rose, R.M. (1982), A model of the nerve impulse using two first-order differential equations, *Nature* **296**, 162.

[11] Fitzhugh, R. (1961): Impulses and physiological states in theoretical models of nerve membrane. *Biophys. J.* **1**, 445-466.

[12] Hindmarsh, J. L. and Rose, R. M. (1984): A model of neuronal bursting using three coupled first order differential equations, *Proc. R. Soc. Lond.* **B. 221**, 87-102.

[13] Pinto R.D., Varona P., Volkovskii A.R., Szücs A., Abarbanel H.D.I. e Rabinovich M.I. (2000): Synchronous behavior of two coupled electronic neurons, *Phys. Rev. E* **62**, 2644.

[14] Selverston A.I., Rabinovich M.I., Abarbanel H.D.I., Elson R., Szucs A., Pinto R.D., Huerta R., Varona P. (2000), Reliable circuits from irregular neurons: A dynamical approach to understanding central pattern generators, *J. Physiol. Paris* **94**, 357-374.

[15] Schneidman, E., Freedman, B., Segev,I. (1998): Ion channel stochasticity may be critical in determining the reliability and precision of spike timing, *Neural Comput.* **10**, 1679-1703.

[16] Hille, B. (2001): *Ionic Channels of Excitable Membranes.* **3**rd **ed.**, Sinaur, Sunderland. MA.

Capítulo 2

Redes complexas e aplicações

José Carlos Mombach, Unisinos, RS

2.1 Introdução

Cada um de nós participa e tem a vida influenciada por alguma rede. Só recentemente começamos a desvendar a arquitetura das redes naturais que controlam as interações entre os componentes de um sistema complexo, como por exemplo, a rede de computadores na internet, a rede de reações químicas em uma célula (metabolismo), as redes de distribuição elétrica, a rede de colaborações entre cientistas, atores de cinema, parceiros sexuais e outras [**?**, **?**, **?**].

A nossa vida depende cada vez mais do bom funcionamento destas redes. Um defeito numa pequena central de distribuição elétrica pode se alastrar e causar blecautes em vários estados de um país. Um problema na central de processamento da internet na Fapesp em São Paulo pode deixar o país inteiro sem acesso à internet. A dispersão de doenças sérias como AIDS se deve, em maior parte, a pessoas com um número enorme de parceiros sexuais. Esta influência das redes na nossa sociedade começa a despertar um interesse crescente no entendimento de suas propriedades topológicas e evolutivas. A topologia de uma rede determina como uma doença se alastra e se uma rede de distribuição elétrica é estável.

As redes constituem-se no "esqueleto" dos sistemas complexos que permeiam todos os ramos do conhecimento humano e são um tema genuinamente transdisciplinar [**?**].

O estudo de redes naturais pertence à teoria de grafos aleatórios, cujos resultados são bem conhecidos e, alguns dos mais importantes, serão apresentados aqui. No entanto nossa intuição nos faz pensar que as redes naturais não podem ser completamente aleatórias e devem obedecer princípios de construção. Que princípios

serão esses?

Algumas características importantes das redes naturais são muito diferentes das propriedades conhecidas para grafos aleatórios como, mundo pequeno, clusterização e distribuição de conetividades. A característica de mundo pequeno é conhecida de grafos aleatórios que apesar do grande tamanho que uma rede aleatória possa ter, o comprimento médio de caminho entre dois nós quaisquer do grafo cresce muito lentamente (logaritmicamente) com o seu número de nós. Implicando que sempre há alguma trajetória curta unindo dois nós quaisquer sobre o grafo. O coeficiente de clusterização está relacionado à formação de módulos altamente conectados no interior de um grafo. Para redes naturais a formação destes módulos parece ser freqüente, enquanto que para redes aleatórias eles são raros. Já a distribuição de conetividades para um bom número de redes naturais tende a ter uma cauda tipo lei de potência que caracteriza a ausência de uma escala típica no sistema, diferentemente da distribuição para grafos aleatórios que obedece uma distribuição de Poisson. A ausência de escala típica é um fenômeno bem conhecido da física de fenômenos críticos que ocorrem próximos a uma transição de fase de segunda ordem. Por exemplo, para um sistema magnético na região crítica, os estados dos spins ficam todos fortemente correlacionados [**?**].

Nesta aula pretendo fornecer ao leigo no assunto uma visão sucinta sobre esta nova e fascinante área das ciências. Aqui vou me dedicar aos aspectos topológicos, deixando os aspectos dinâmicos para um segundo curso. Por questões de espaço, não serão abordadas aqui várias outras redes como as de ecossistemas, das palavras em um texto e outras. Sugerimos ao leitor interessado nestes sistemas que procure as referências no final deste texto.

Na seção 2.2 apresento algumas propriedades topológicas de grafos aleatórios que servirão para comparação com as redes complexas. Na seção 2.3 apresento alguns resultados empíricos sobre redes naturais. Na seção 2.4 apresento alguns modelos para descrever as redes complexas e na seção 2.5 as conclusões e perspectivas da área.

2.2 Propriedades de Grafos Aleatórios

Matematicamente, uma rede é definida por um grafo que consiste num conjunto de nós G e um conjunto de arestas A que conectam cada dois elementos no conjunto G. Na figura 2.1 (Aa) podemos ver uma ilustração de um grafo aleatório simples.

No que segue, listamos os resultados mais relevantes sobre a teoria de grafos aleatórios que estão diretamente relacionados aos nossos interesses sobre redes complexas e servirão como parâmetros de comparação entre os dois tipos de redes.

Um grafo aleatório é definido como um conjunto de N nós conectados por n arestas que são escolhidas aleatoriamente entre as $N(N-1)/2$ possíveis arestas. Existe um total de

$$C^{n}_{N(N-1)/2} = \frac{(N(N-1)/2)!}{n!(N(N-1)/2-n)!}$$

grafos diferentes que podem ser criados com N nós e n arestas, todos equiprováveis

estatisticamente.

Um grafo aleatório também pode ser definido pelo modelo binomial, no qual um par de nós qualquer é conectado com uma probabilidade p. Desta maneira, o número esperado de arestas no grafo será

$$E(n) = p[N(N-1)/2] \ .$$

A distribuição de conetividades de um grafo aleatório obedece uma distribuição binomial, mas para N grande, ela é bem aproximada por uma distribuição de Poisson,

$$P(k) \simeq e^{-\langle k \rangle} \frac{\langle k \rangle^k}{k!} \ . \tag{2.1}$$

Onde $\langle k \rangle$ é a conetividade média do nós no grafo. Ver fig. 2.1 (Ab).

Duas grandezas úteis para comparar grafos aleatórios e redes complexas são o comprimento médio de caminho l_r, isto é, a distância média entre um par qualquer de nós e o coeficiente de clusterização C_r. Estima-se que l_r escale com N e $\langle k \rangle$ da seguinte forma

$$l_r \sim \frac{\ln(N)}{\ln(\langle k \rangle)} \ .$$

e

$$C_r = p = \frac{\langle k \rangle}{N} \ .$$

O fato de l_r crescer logaritmicamente com N é uma característica chamada mundo pequeno, pois implica que existem caminhos bem curtos conectando dois nós escolhidos ao acaso no grafo.

O coeficiente de clusterização fornece uma medida estatística da formação de circuitos altamente conectados entre os nós de um grafo. No caso de um grafo aleatório, a formação destes circuitos é rara, pois dado um nó qualquer e seus primeiros vizinhos, a probabilidade de que dois destes vizinhos sejam conectados é igual a probabilidade de que dois nós selecionados aleatoriamente sejam conectados. Já em redes complexas, isto não é raro e, em geral, C é muito maior que para redes aleatórias. Além disso, C não depende de k em redes aleatórias e o mesmo acontece em muitas redes naturais. Ver figuras 2.1 (Ac) e 2.1 (Bc).

Muitas das redes naturais correspondem a grafos dirigidos. Neste caso as arestas possuem um sentido e costuma-se utilizar outras duas grandezas úteis que são as distribuições de incidência e divergência de um nó que medem a freqüência média com que as arestas chegam ou nascem de um nó, respectivamente.

Na tabela **??** apresento uma lista de valores destas grandezas estatísticas para redes naturais comparada com os valores para redes aleatórias de mesmo N e $\langle k \rangle$.

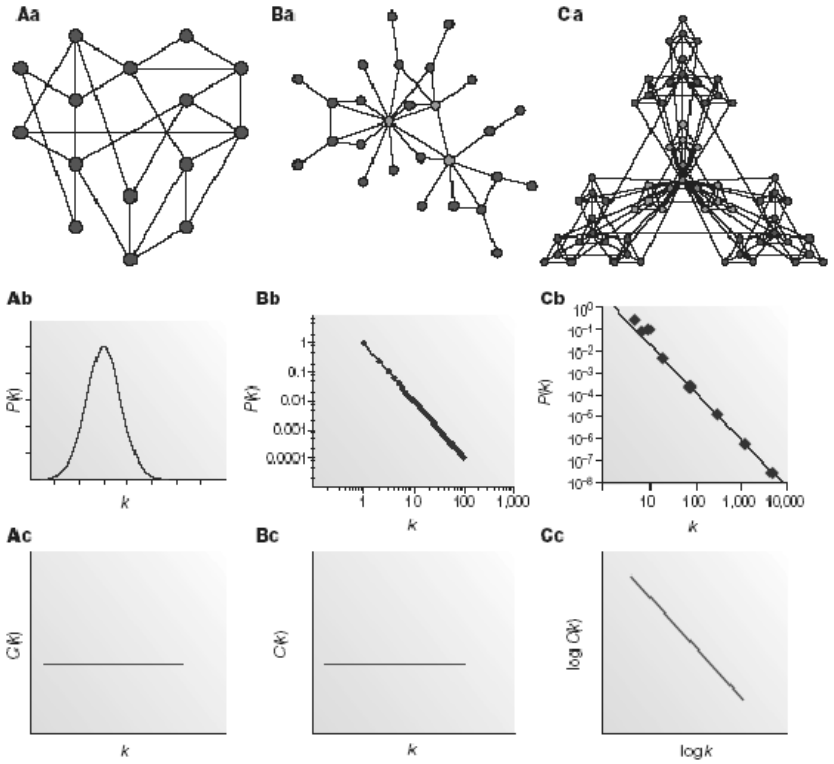


Figura 2.1: Modelos de redes. (Aa) Rede aleatória. (Ab) Distribuição de Poisson da conetividade de uma rede aleatória. (Ac) Coeficiente de clusterização C independe de k em uma rede aleatória. (Ba) Rede com distribuição de conetividades obedecendo lei de potência. (Bb) A distribuição de conetividades representada em um gráfico Log-Log é linear. (Ac) Coeficiente de clusterização C independe da conetividade k em uma rede com distribuição de conetividades obedecendo uma lei de potência. (Ca) Rede hierárquica. Possui, simultaneamente, distribuição de conetividades obedecendo uma lei de potência e C dependente de k. (Cb) A distribuição de conetividades representada em um gráfico Log-Log é linear. (Cc) C tem dependência em k. Extraído de [**?**].

2.3 Redes Complexas

2.3.1 "World Wide Web"e Estrutura Física da Internet

O exemplo motivador do conceito de rede complexa é o conjunto de páginas da "World Wide Web"(WWW) e os hyperlinks (chamemos de links, por simplicidade) que conectam estas páginas. Nesta rede os nós representam as páginas e os links entre as páginas representam as arestas do grafo. A rede é direcionada, pois os links são unidirecionais, isto é, quando uma página tem um link para outra, não necessariamente a segunda tem um link para a primeira. Determinou-se em uma amostra com $N = 2 \times 10^8$ da WWW que as distribuições de incidência e divergência obedecem leis de potência com expoente 2.1 e 2.7 (ver tabela **??**), respectivamente. A fig. 2.2 apresenta as distribuições de incidência e divergência para a WWW.

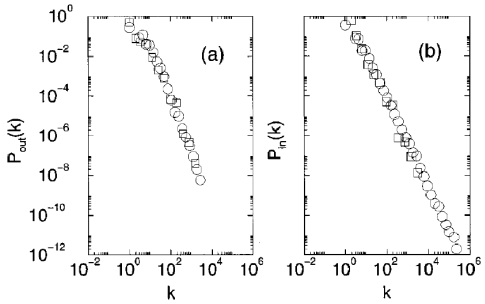


Figura 2.2: Distribuições de (a) divergência e (b) incidência para uma amostra de 325729 nós da WWW. Extraído de [**?**].

Um resultado interessante sobre esta rede é o seu caminho médio l que corresponde ao número médio de arestas percorridas em todos os caminhos que ligam dois nós escolhidos aleatoriamente na rede. Através de uma análise de tamanho finito, descobriu-se em uma amostra da WWW de tamanho $N = 2 \times 10^5$ que a relação entre l e o número de vértices N é logarítmica e obedece aproximadamente a relação:

$$l = 0.35 + 2.06 \log(N) \ . \tag{2.2}$$

Esta relação mostra que o crescimento de l com N é lento o que é característico de mundo pequeno. Extrapolando a relação (**??**) para o tamanho estimado de $N = 8 \times 10^8$ da WWW em 1999, obtém-se que $l \sim 19$. Isto é, na média bastam 19 cliques do mouse no computador para irmos de uma página escolhida aleatoriamente a outra qualquer na WWW. Além disso, a relação (**??**) mostra que um crescimento

da ordem de 10 vezes da WWW implica num pequeno aumento de l, crescendo de 19 para 21. Uma medida posterior sobre uma amostra maior da WWW com $N = 2 \times 10^8$ determinou que $l \sim 16$, verificando a eq. (**??**).

O fato da distribuição de conetividades destas redes obedecerem uma lei de potência, implica na existência de um número reduzido de nós de altíssima conetividade. Estes nós foram batizados de "hubs"(em analogia com os componentes utilizados em redes de computadores). Os hubs funcionam como uma espécie de atalho para percorrermos a rede. Exemplo, quando queremos descobrir uma página na internet, utilizamos alguma ferramenta de busca como o Google ou Yahoo. Estas ferramentas não passam de nós altamente conectados. Assim, se desejo encontrar um caminho curto entre dois nós numa rede deste tipo, devo procurar algum hub, pois a probabilidade de que o nó desejado esteja ligado a um hub é alta. Na seção 2.3.6 são apresentadas outras propriedades destas redes.

A estrutura física de conexão entre roteadores da internet também apresenta uma distribuição livre de escala. Uma rede de conexão entre, aproximadamente, 150.000 roteadores foi investigada e verificou-se uma lei de potência na distribuição de conetividades com expoente $\simeq 2.3$ (ver fig. 2.3 (a) e tabela **??**).

Rede	N	$\langle k \rangle$	l	l_r	C	C_r	γ_{in}	γ_{div}
WWW	2×10^8	7.5	16	8.85	-	-	2.1	2.72
internet, roteadores	150000	2.66	11	12.8	-	-	2.4	2.4
Metabolismo, *E. coli*	778	7.4	3.3	3.32	~ 0.45	~ 0.05	2.2	2.2
Proteínas, *S. cerevisiae*	1870	2.39	-	-	-	-	2.4	2.4
Atores	212250	28.78	4.54	3.65	0.79	0.00027	2.3	2.3
Coautoria de artigos	1520251	18.1	4.6	4.91	0.066	10^{-5}	-	-
Parceiros sexuais	2810	-	-	-	-	-	3.4	3.4
Rede elétrica	4941	2.67	18.7	12.4	0.08	0.005	-	-

Tabela 2.1: Grandezas estatísticas para vários tipos de redes. N é o número de nós. $\langle k \rangle$ é a conetividade média. l é o comprimento médio de caminho para a rede e l_r é o comprimento médio de caminho para uma rede aleatória de mesmo N e $\langle k \rangle$. C é o coeficiente de clusterização médio da rede e C_r de uma rede aleatória de mesmo N e $\langle k \rangle$. γ_{in} e γ_{div} são os expoentes das leis de potência das distribuições de incidência e divergência, respectivamente, para as redes. Extraído de [**?**].

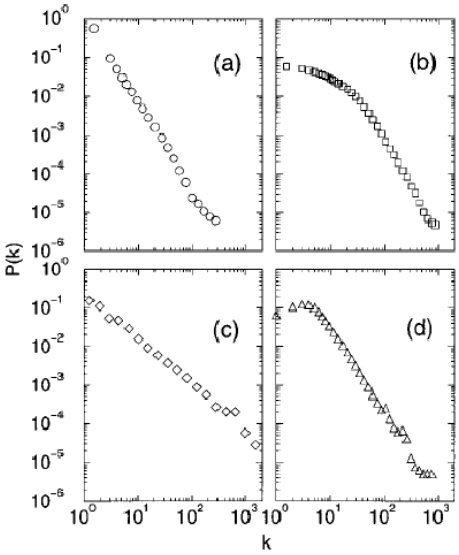


Figura 2.3: Distribuições de conetividades para diferentes tipos de redes: (a) rede de roteadores da internet, (b) rede de colaboração entre atores de cinema, (c) rede de coautoria de artigos científicos entre físicos e (d) entre neurocientistas. Extraído de [**?**].

2.3.2 Redes Metabólicas e de Interações entre Proteínas

Barabási e colaboradores estudaram o metabolismo de 43 organismos representando os 3 domínios da vida: bactérias, arqueobactérias e eucariotos. O metabolismo é o conjunto de todas as reações químicas celulares. A rede foi definida com os nós representando os metabólitos e as arestas sendo representadas por reações químicas que produzem ou utilizam os metabólitos. Esta rede é direcionada, pois as reações químicas tendem a ter uma direção preferencial, enquanto que algumas são reversíveis (bidirecionais). Eles descobriram que as distribuições de incidência e divergência obedecem leis de potência com expoentes entre 2 e 2.4 para todos os organismos estudados. l foi determinado como aproximadamente igual para os organismos com valor 3.3 (ver tabela **??**), sendo uma característica exclusiva das redes metabólicas. Na verdade, isto é surpreendente, pois há uma grande variação de tamanho das redes entre os organismos e, portanto esperava-se uma dependência entre l e N. Os autores explicaram esta característica em um trabalho posterior onde eles atribuem esta propriedade ao fato destas redes possuirem estrutura hierárquica (ver seção 1.3.6 e figs. 1.1 (Ca-Cc)). O coeficiente de clusterização foi estudado apenas no metabolismo da *Escherichia coli* (ver tabela **??**).

Um outro tipo de rede molecular importante é a rede de interação entre proteínas em uma célula. Proteínas trabalham associadas para executar muitas funções celulares e extracelulares. Para a levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) já foram mapeadas interações para praticamente todas as suas proteínas. A distribuição de conetividades destas interações entre as proteínas deste organismo segue uma lei de potência com um corte exponencial. A fig. 2.4 apresenta a rede de interações entre as proteínas do *Saccharomyces cerevisiae*. A rede mostrada corresponde ao maior cluster conexo dentre as interações mapeadas experimentalmente.

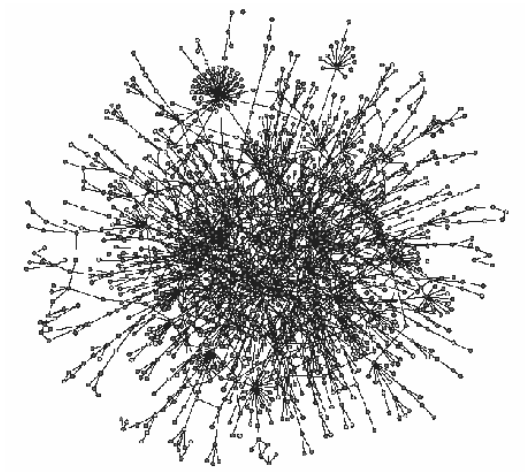


Figura 2.4: Rede de interações entre as proteínas do *Saccharomyces cerevisiae*. Os nós são proteínas e as arestas são as interações determinadas experimentalmente entre estas proteínas. A rede mostrada corresponde ao maior cluster conexo dentre as interações mapeadas experimentalmente. Extraído de [**?**].

2.3.3 Redes Sociais

Um dos mais interessantes exemplos de redes complexas envolve as interações entre seres humanos.

A rede de colaboração entre atores de cinema que contém informações desde o final do século 19 foi investigada. Os nós desta rede representam os atores e as arestas conectam os atores que atuaram em um mesmo filme. l para esta rede é próximo a de um grafo aleatório de mesmo tamanho e conetividade média. No entanto, C para esta rede é quase 100 vezes maior que o de um grafo aleatório (tabela **??**). A distribuição de conetividades tem uma cauda obedecendo uma lei de potência (fig. 2.3 (b)).

Um outro tipo similar de rede envolve as coautorias de artigos científicos. Os nós nesta rede correspondem aos cientistas e as arestas conectam cientistas que são coautores de um artigo científico. Esta rede apresenta uma distribuição de conetividades tipo lei de potência (tabela **??**). Nas figs. 2.3 (c-d) são apresentadas as distribuições de conetividades para coautorias de artigos científicos entre físicos

e neurocientistas.

Uma rede que tem sucitado muito interesse pelas sua utilidade em saúde pública é a que envolve parceiros sexuais. O entendimento em detalhe desta rede deve contribuir para o controle da dispersão de doenças. Um estudo sobre as relações sexuais em uma rede com 2810 indivíduos foi construída na Suécia em 1996. Apesar do seu tamanho pequeno, a distribuição de conetividades nesta rede também parece obedecer uma lei de potência (tabela **??**). Apesar do seu tamanho pequeno, a distribuição de conetividades nesta rede também parece obedecer uma lei de potência (tabela **??**).

Como vimos acima, a visão das redes está contribuindo para entendermos como as pessoas se conectam e, recentemente, constatou-se que o que as pessoas buscam em termos de sucesso pessoal é, em geral, tornarem-se hubs em alguma rede [**?**].

2.3.4 Redes Elétricas

Strogatz e colaboradores estudaram a rede de distribuição elétrica do oeste dos Estados Unidos e descobriram que ela obedece uma distribuição exponencial. A rede estudada tem 4941 nós. Os nós nesta rede representam transformadores, geradores e subestações. As arestas são as linhas de alta voltagem que conectam estes nós (ver tabela **??**).

2.3.5 Robustez a Remoção de Nós em Redes

A robustez é uma característica importante dos sistemas complexos, pois permite que eles se adaptem às mudanças ambientais sem grandes alterações do seu estado normal.

Em redes aleatórias, a remoção sistemática de nós leva à desintegração da rede. Este processo se dá por uma transição de fase na qual a rede é quebrada em pequenas ilhas que não se comunicam mais. As redes com distribuição de lei de potência na conetividade são altamente robustas a remoções aleatórias de nós. Como a maioria dos nós possui baixa conetividade, a probabilidade de uma remoção aleatória escolher um hub é baixa e, desta maneira, nós pouco conectados são removidos na maioria das vezes afetando muito pouco a rede. Como hubs são raros e possuem alta conetividade, estas redes se mantém conectadas num cluster gigante, mesmo se 80% dos nós são removidos, com os nós restantes sendo capazes de manter a integridade da rede. Contudo se é feito um ataque sistemático de remoção de hubs, estas redes se desintegram após a remoção de uns poucos hubs.

Análises de remoção sistemática de proteínas no *Saccharomyces cerevisiae* mostram que proteínas com mais que 15 interações têm probabilidade maior que 60% de serem essenciais, isto é, na sua ausência o organismo não sobrevive. Este fato corrobora a importância de hubs no funcionamento das redes reais.

2.3.6 Modularidade e Motivos em Redes

Muitos processos intra-celulares são realizados em estruturas modulares. A nível molecular, a modularidade é uma característica associada a grupos de moléculas que trabalham juntas para realizar uma dada função. Nas células existem módulos em complexos protéicos e complexos envolvendo RNA e proteínas que são essenciais em processos de síntese de proteínas, replicação do DNA e outros. O coeficiente de clusterização C fornece uma medida do nível de modularidade numa rede. Um módulo corresponde a regiões com alta conetividade entre nós que é identificada pela alta densidade de motivos de ordem 3 (triângulos, ver abaixo). Estas regiões são evidenciadas pelo coeficiente de clusterização C que é uma função de k. Na ausência de modularidade, uma rede real e uma aleatória possuem C independente de k (ver figs. 2.1 (Ac-Bc)). Contudo, o coeficiente de clusterização médio C de redes reais é, em geral, bem maior do que o de uma rede aleatória de mesmo tamanho e conetividade média $\langle k \rangle$ (ver tabela **??**).

As redes metabólicas têm $C(k)$ obedecendo uma lei de potência (ver fig. 2.1 (Cc)). Esta propriedade é conhecida como estrutura hierárquica e é devida ao fato destas redes terem distribuição como lei de potência na conetividade e simultaneamente terem C dependente de k (fig 2.1 (Cc). Isto indica que nós com uns poucos links têm alto valor de C e pertencem a pequenos módulos altamente interconectados. Em contraste, hubs altamente conectados têm baixo valor de C, pois eles têm um papel diferente que é o de conectar diferentes módulos. Esta característica pode ser entendida pela fig 2.1 (Ca) onde a rede apresenta uma estrutura auto-similar nas conexões entre seus nós.

Uma das propriedades importantes dos grafos é a existência de subgrafos. Um subgrafo é definido por um conjunto P_1 de nós e um conjunto A_1 de arestas de um grafo $G = \{P, A\}$, se todos os nós em P_1 são também nós de P e todas as arestas em A_1 são arestas de A. Os exemplos mais simples de subgrafos são ciclos. Um ciclo de ordem k é um laço fechado de k arestas, se a cada duas arestas consecutivas e somente estas têm um nó em comum. Assim, um triângulo é um subgrafo de ordem 3, um quadrado um subgrafo de ordem 4 e assim por diante. Existem outros tipos de subgrafos como árvores que não formam laços e subgrafos completos que correspondem a subgrafos onde todos os nós estão completamente conectados.

A alta clusterização das redes reais indica a existência de estruturas locais altamente conectadas que correspondem a subgrafos. Alguns subgrafos são conhecidos como motivos e aparecem em muito maior freqüência do que em uma versão aleatória da rede. Esta versão aleatória é construída preservando os nós e reconectando todos eles com o mesmo número de arestas da versão original, mas com probabilidade uniforme. Por exemplo, laços tipo "feed-forward"aparecem com alta freqüência em redes regulatórias de transcrição gênica e fazem um papel análogo ao de um circuito de controle que obedeça uma lógica booleana (ver fig. 2.5). Laços com quatro nós são comuns em redes elétricas, mas não em sistemas biológicos. Cada tipo de rede real possui seu conjunto característico de motivos. Nas redes moleculares biológicas parece existir uma grande conservação destes motivos entre organismos bem diferentes, indicando que eles têm relevância evolutiva.

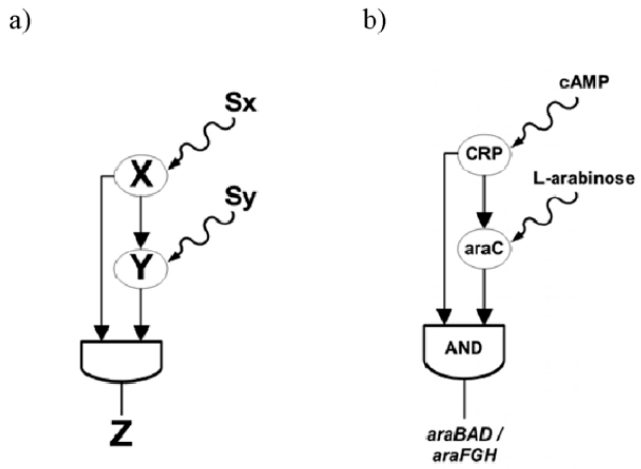


Figura 2.5: Ilustração do motivo "coherent feedforward loop". (a) A transcrição do fator X regula a transcrição do fator Y e ambos, conjuntamente, regulam o gene Z que pode ser um operon. S_x e S_y são os indutores do genes X e Y, respectivamente. O gene Z é expresso, apenas se X e Y são ativados, o que é equivalente a uma porta lógica AND. (b) Exemplo, para a *E. coli*, este motivo é utilizado no sistema ara que envolve a utilização da L-arabinose, onde S_x=cAMP e S_y=L-arabinose. Extraído de [**?**].

2.4 Modelos e Aplicações de Redes

2.4.1 Modelo de Barabási e Albert

Barabási e Albert propuseram um modelo que é capaz de explicar a lei de potência na distribuição de conetividades. Os autores argumentam que há dois ingredientes essenciais para que uma rede tenha esta caraterística e que não estão presentes nos grafos aleatórios: crescimento e conexão preferencial.

Redes naturais estão em constante crescimento, a WWW recebe mais e mais páginas a cada dia, novos artigos científicos continuam a ser produzidos e assim por diante. Assim, nas redes naturais, novos vértices são criados e conectados aos outros já presentes. No modelo de grafos aleatórios supõe-se que o número de vértices permanece constante e os nós são conectados de acordo com uma distribuição de probabilidades uniforme. Já na WWW uma nova página tem maior probabilidade de ser conectada a um site bem conectado.

O modelo proposto pelos autores inicia com um pequeno número inicial de vértices m_0 e a cada passo de tempo é adicionado um novo vértice com $m \leq m_0$ arestas que ligam o novo vértice a m diferentes vértices já presentes no sistema. A conexão preferencial é introduzida assumindo que a probabilidade de que um novo vértice será conectado a um vértice i é proporcional a conetividade k_i deste vértice. A rede evolui a um estado onde sua distribuição de conetividades toma a forma de uma lei de potência com expoente $\simeq 2.9$.

Para verificar que crescimento e conexão preferencial são realmente necessários para que a rede atinja este estado, os autores investigaram dois modelos que contém apenas um dos ingredientes cada um. No modelo A, a rede mantém o caráter de crescimento, mas a conexão preferencial é eliminada, supondo que um novo vértice conecta-se com igual probabilidade a qualquer outro vértice do sistema. Este modelo gera uma distribuição de conetividades exponencial. No modelo B a simulação inicia com N vértices e nenhuma aresta. A cada passo de tempo um vértice é selecionado aleatoriamente e conectado com probabilidade uniforme a outro vértice do sistema. Devido ao fato que N é constante, após um certo tempo $T \sim N^2$ todos os vértices estão conectados. O fato dos modelos A e B falharem em reproduzir a distribuição de lei de potência, indica que ambos os ingredientes são requeridos para a obtenção desta propriedade.

Cálculos analíticos sobre as propriedades topológicas deste modelo determinaram que l é menor neste tipo de rede do que em uma rede aleatória de mesmo tamanho e conetividade média $\langle k \rangle$. Mostrando que elas são mais eficientes em aproximarem os nós uns dos outros.

Encontrou-se que o coeficiente de clusterização é da ordem de cinco vezes maior do que o de uma rede aleatória de mesmo N e $\langle k \rangle$.

2.4.2 Modelo de Grafo Bipartido para o Metabolismo

Lemke *et al.* desenvolveram uma metodologia *in silico* para predição das enzimas essenciais do metabolismo de um organismo. Enzimas essenciais são aquelas que

pertencem ao conjunto mínimo de proteínas necessárias para que um organismo seja viável. Nem todas as proteínas codificadas num genoma são necessárias para um organismo funcionar normalmente. No metabolismo também existe uma enorme redundância funcional, pois há diversos caminhos metabólicos alternativos envolvidos na produção de compostos importantes para os organismos. Um método que seja capaz de indicar quais são enzimas essenciais é útil para a seleção de alvos enzimáticos para drogas, no caso de organismos patogênicos, e na bioengenharia de organismos geneticamente modificados.

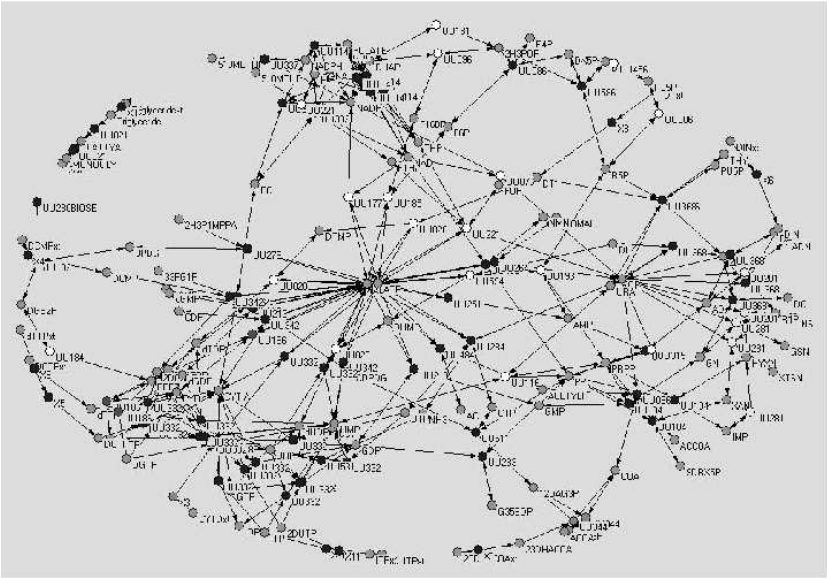


Figura 2.6: Rede metabólica do *Ureaplasma urealiticum*. No grafo são mostradas as enzimas e os metabólitos envolvidos nas reações catalisadas por elas.

O método utilizado para predizer a importância de uma enzima parte do genoma anotado do organismo, onde são coletadas todas as enzimas envolvidas em seu meta-

bolismo. A partir deste conjunto de enzimas determina-se, com ajuda de bancos de dados, todas as possíveis reações metabólicas que ocorrem neste organismo. A rede metabólica é construída em uma arquitetura diferente da proposta na seção 2.3.2 que não inclui as enzimas no grafo. Neste modelo as enzimas são incluídas no grafo que é bipartido, isto é, há dois tipos de nós, um para os metabólitos e outro para as enzimas (ver fig. 2.6 e fig. 2.7).

Para a predição de enzimas importantes, os autores introduzem o conceito de "dano"(d) à rede metabólica simulada em computador pela remoção de uma enzima. Esta abordagem foi motivada por experimentos de mutagênese, onde genes individuais que codificam enzimas em um organismo são desligados e verifica-se se o indivíduo mutante é viável, isto é, capaz de sobreviver sem o gene.

O algoritmo da simulação é definido da seguinte maneira: inicialmente escolhe-se uma enzima e remove-se todos os metabólitos produzidos exclusivamente pela reação catalisada pela enzima. O dano se propaga na rede e impede a ocorrência de outras reações e produção de outros metabólitos (fig. 2.7). O número total de metabólitos removidos é contado para se obter d. O método foi validado utilizando como organismo modelo a *Escherichia coli* que possui um metabolismo muito bem compreendido.

Todas as enzimas da *E. coli* foram analisadas neste estudo. As enzimas na simulação são ordenadas de acordo com o seu dano e, dentro de cada grupo de mesmo valor de dano, os autores contaram o número de enzimas que foram determinadas experimentalmente como essenciais para a *E. coli*. A fig. 2.8 mostra que há forte correlação (P-value=0.0228) entre o dano determinado *in silico* de uma enzima e a probabilidade de uma enzima ser essencial. Os autores afirmam que o método permite filtrar, do conjunto total de enzimas, a maioria das enzimas essenciais pela classificação das enzimas em dois grupos arbitrários: enzimas com $d\langle 5$ e enzimas com $d \geq 5$. O primeiro grupo contém 91% de todas as enzimas e o segundo 9%. Os autores descobriram que este segundo grupo contém 50% de todas as enzimas essenciais, confirmando a utilidade do método. Os autores não realizaram estudos sobre a topologia da rede.

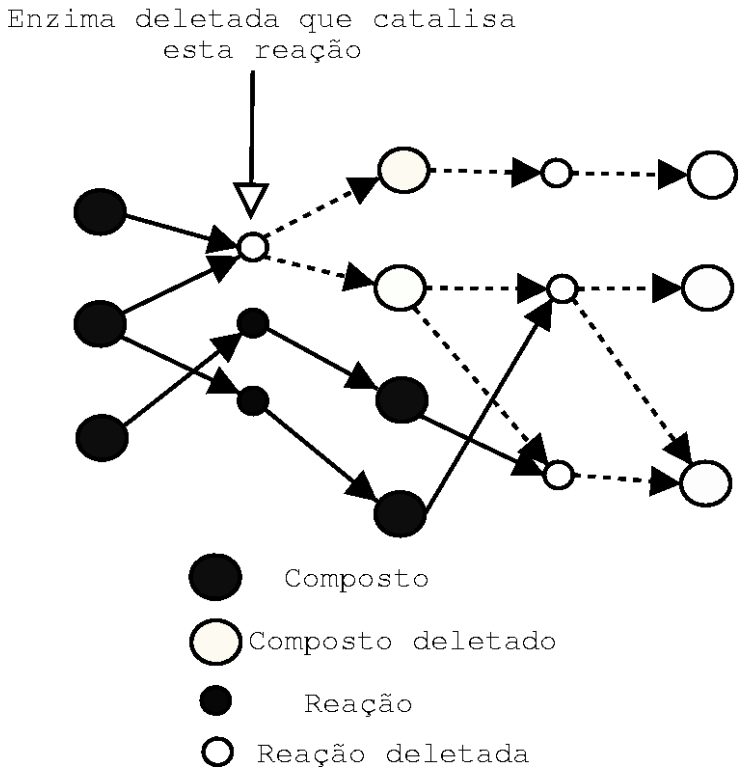


Figura 2.7: Grafo esquemático do algoritmo utilizado no modelo de Lemke *et al.* (ver Seção 1.4.2). Círculos grandes representam metabólitos e pequenos reações químicas. A figura mostra o efeito da remoção de uma enzima na simulação e a conseqüente cascata de reações bloqueadas.

2.4.3 Dano em redes de proteínas

Schmith *et al.* aplicaram o conceito de dano (seção 2.4.2) a redes de proteínas com o objetivo de testar a hipótese de Barabási e colaboradores (seção 2.3.2) que propõem que a conetividade de uma proteína seja uma boa medida de importância.

Em analogia ao conceito de dano em redes metabólicas, que procura determinar o efeito da remoção das enzimas sobre o metabolismo, no modelo de Schmith *et al.* o dano é realizado pela remoção de uma proteína do grafo e a contagem do número de proteínas que são afetadas (desconectadas) do grafo. O organismo investigado foi o *S. cerevisiae*.

Vários conjuntos de dados foram utilizados, alguns envolvendo não apenas as interações físicas entre proteínas, mas também interações entre as proteínas e o DNA do organismo que correspondem a processos regulatórios.

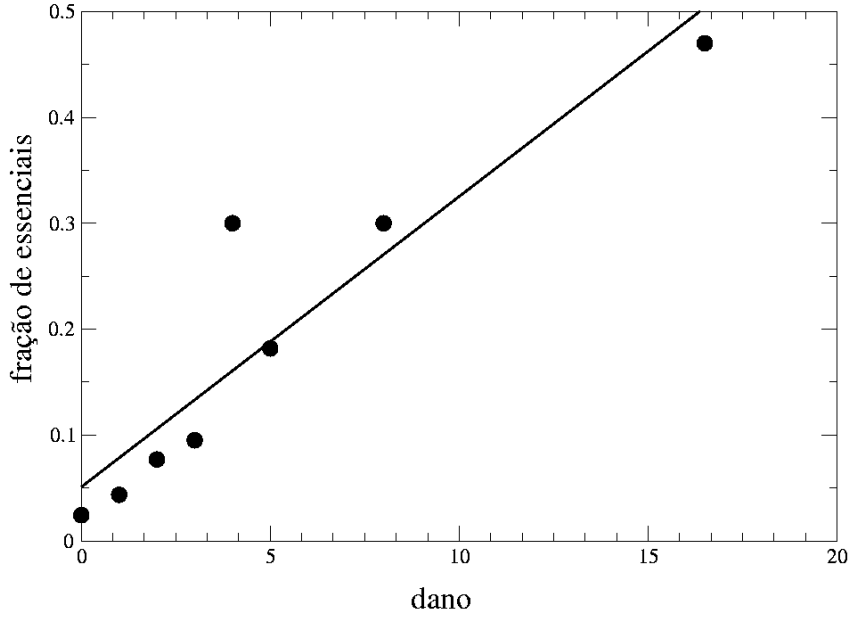


Figura 2.8: Histograma do número relativo de enzimas essenciais dentro dos grupos classificados pelo dano predito pela simulação do modelo de Lemke *et al.* (ver Seção 2.4.2). Maior dano implica em maior probabilidade da enzima ser essencial.

Nos processos celulares há, basicamente, três tipos possíveis de interações entre moléculas: interações entre proteínas, entre proteínas e metabólitos (metabolismo) e entre proteínas e o DNA (regulação). A biologia busca determinar o mapeamento completo destas interações moleculares que constituem a maquinaria envolvida no que chamamos de vida. As redes de proteínas são apenas parte da rede completa, chamada de integrada e, portanto não podem oferecer uma medida totalmente confiável da importância de uma proteína. A pequena quantidade de dados disponíveis, hoje, permite apenas que se monte, parcialmente, uma rede integrada de interações para algumas proteínas do *S. cerevisiae* .

Schmith *et al.* descobriram que para redes de proteínas a conetividade é uma medida de importância melhor que o dano, mas no entanto quando consideramos uma rede integrada, o dano torna-se uma melhor medida de importância. A fig. 2.9 mostra uma medida de correlação entre o número de proteínas essenciais versus conetividade e dano na rede integrada do *S. cerevisiae*.

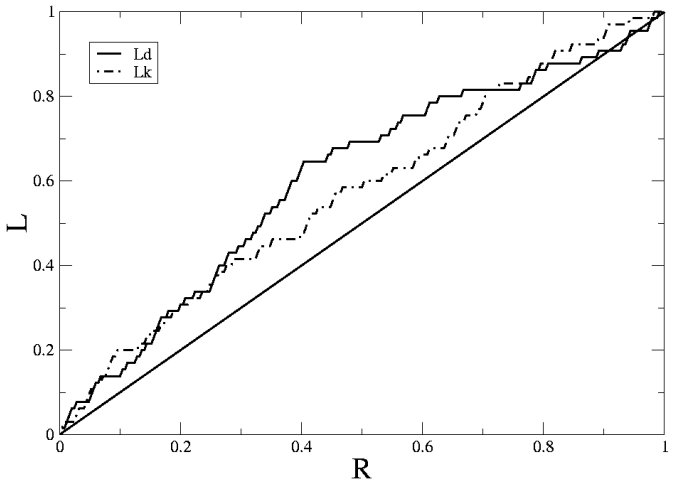


Figura 2.9: Comparação da correlação do dano (L_d) e da conetividade (L_k) das proteínas com a probabilidade de uma proteína ser essencial para a rede integrada envolvendo várias proteínas do *S. cerevisiae*. Para a construção deste gráfico as proteínas são ranqueadas (R) de acordo com seu dano e conetividade. Menor valor de R implica em maior conetividade e dano. O desvio da reta da identidade no gráfico implica na existência de correlação entre as variáveis. Se a curva é convexa, a correlação é positiva; se côncava, a correlação é negativa. A curva mostra que o dano em redes integradas é uma medida que apresenta uma maior correlação com essencialidade, especialmente para maiores altos de dano.

2.5 Conclusões e Perspectivas

Há mais ou menos 20 anos uma nova área de pesquisa, batizada de sistemas complexos, começou a surgir nos meios acadêmicos. Esta área foi motivada pela aparente similaridade no comportamento pouco previsível de sistemas envolvendo muitos subsistemas e pertencentes a diferentes áreas do conhecimento como o processo de dispersão de uma doença em uma sociedade, o crescimento da internet e outros que vimos acima. Até pouco tempo não se tinha uma idéia precisa das características partilhadas pelos sistemas complexos, sabia-se que eles eram constituídos, em geral, por subsistemas com comportamento não trivial formando uma teia (supostamente) aleatória de interações de curto e longo alcance.

Somente há cinco anos, com o início das investigações experimentais sobre a topologia das redes de interações dos sistemas complexos, começamos a desvendar a arquitetura de construção destes sistemas que está longe de ser aleatória (seção 2.2)

O modelo apresentado na seção 2.4.1 parece capturar alguns ingredientes básicos para explicar a topologia das redes com distribuição de lei de potência nas conexões. No entanto, ele representa uma primeira aproximação apenas. Por exemplo, a biologia molecular não foi capaz ainda de identificar os mecanismos que expliquem porque esta topologia está presente nas redes de interações entre proteínas. Além disso, o fato de que algumas redes apresentem uma distribuição de conetividades exponencial, não implica que elas sejam aleatórias (seção 2.2), na verdade sabe-se que seu processo evolutivo é diferente.

Nossa abordagem aqui foi meramente topológica e, portanto, incompleta. Se quisermos realmente entender a arquitetura destas redes temos que compreender o processo dinâmico subjacente. Uma analogia útil é fornecida pelo estudo dos sistemas caóticos. Sabe-se que o comportamento imprevisível de um sistema caótico está associado a um atrator estranho com estrutura fractal em seu espaço de fases. Analogamente, a topologia destas redes representa um processo dinâmico não bem entendido, da mesma maneira que um atrator fractal está associado a um comportamento caótico. Assim, temos que ir além da topologia para entendermos os sistemas complexos; o modelo da seção 2.4.1 é um exemplo Progressos nesta direção têm ocorrido e sugerimos as referências deste trabalho para um maior aprofundamento no tema.

Para a biologia esta área parece ser o caminho para um entendimento integrado, não reducionista, dos sistemas biológicos. Um exemplo interessante para ilustrar este aspecto é a investigação do distúrbio bipolar (antigamente conhecido como mania depressiva) que acredita-se afete de 1 a 5% da população e é responsável por quase metade das causas de suicídio em adultos. Em 1996, três grupos de pesquisa independentes publicaram trabalhos científicos reportando que a causa desta desordem envolvia o cromossomo 11. Mais tarde descobriu-se que os cromossomos 6, 13 e 15 também estão envolvidos nesta patologia. Outro estudo identificou a influência do cromossomo 18 e estudos mais recentes uma conexão com o cromossomo 4. Padrões similares foram encontrados na esquizofrenia. Claramente estamos lidando com uma patologia da rede de comunicação de nossos genes, e para sermos efetivos no entendimento de várias doenças genéticas, devemos reavaliar a busca reducionista de causas em genes únicos.

Bibliografia

[1] Albert, R. e Barabási, A.-L., 2002. Statistical Mechanics of Complex Networks. *Reviews of Modern Physics*, 74:47–97.

[2] Barabási, A.-L. e Oltvai, Z. N., 2004. Network biology: understanding the cell's functional organization. *Nature Reviews: Genetics*, 5:101–114.

[3] Barabási, A.-L. 2002. *Linked: The new science of networks.* Perseus Publishing, Cambridge.

[4] Carvalho, E. A. e Mendonça, T. 2004. *Ensaios de complexidade 2.* Editora Sulina, Porto Alegre.

[5] Lemke, N., Herédia, F., Barcellos, C. K., dos Reis, A. N., Mombach, J.C. M., 2004. *Bioinformatics*, 20:115–119.

[6] Mangan, S., Zaslaver, A., Alon, U. 2003. The coherent feedforward loop serves as sign-sensitive delay element in transcription networks. *Journal of Molecular Biology*, 334:197–204.

[7] Schmith, J., Lemke, N., Mombach, J.C. M., Benelli, P., Barcellos, C. K., Bedin, G. Damage, conectivity, and essentiality in protein-protein interaction networks. Artigo submetido à publicação.

[8] Stanley, E. H. 1971. *Introduction to Phase Transitions and Critical Phenomena.* Oxford Press, Oxford.

Capítulo 3

Possíveis níveis de complexidade na modelagem de sistemas biológicos - Pode a matemática coreografar a dança biológica ?

Henrique L. Lenzi[1], Waldemiro de Souza Romanha e Marcelo Pelajo-Machado, FIOCRUZ, RJ

3.1 Introdução geral e conceitual (noções fundamentais que todo o matemático deve saber sobre ser vivo)

O fulcro da vida, que resulta de fenômenos biológicos complexos e adaptativos, baseia-se numa dança criadora de conservação e mudan ça, de invariância e novidade, de fecho e abertura. Isto é, a dan ça biológica se processa na efetividade da ação, mantendo, contudo, contínua a conservação do sistema envolvido. O agente

[1]Parcialmente Financiado por CNPq

dos fenômenos biológicos é o ser vivo, não interessa qual, que se comporta como um *agente adaptativo*. A principal característica de um tal agente é que ele muda seu comportamento com o tempo, em funç ão do que aprende com a experiência (Holland, 1999). Então há uma unificação do problema da vida e do problema da cognição. É a noção de cômputo que dá corpo e sentido à idéia de que a vida é um processo cognitivo, precisamente no sentido em que a vida é um imenso processo de cômputo de si própria (Cerutti,1995). A estrutura do organismo gera a atividade de cômputo e ao mesmo tempo resulta dela (Cerutti,1995). Segundo Maturana (2001), sistemas vivos são sistemas cognitivos, e a vida como um processo é um processo de cognição. Esse processo depende de uma organização circular como observada no sistema nervoso. Maturana e Varela (1994) preocupados em encontrar uma descrição mais formal e mais completa da concepção de organização circular, mesmo antes de construir um modelo matemático, lançaram a noção de **autopoese**. Tendo esclarecido que seu interesse centrava-se na organização e não na estrutura, passaram a definir a noção de **autopoese** como organização característica de todos os seres vivos. Essa organização se caracteriza como uma rede de processos de produção, nos quais a função de cada componente consiste em participar da produção ou da transformação de outros componentes da rede. Desse modo, toda a rede, continuamente, de forma não hierárquica, ou hierárquica, a depender do sistema ou do estado do sistema, "produz a si mesma" . Então o produto é igual ao produtor, isto é, ela é produzida pelos seus componentes e, por sua vez, produz esses componentes. Em suma, "o produto de sua operaç ão é a sua própria organização" (Maturana & Varela, 1994). Definiram **organização** como o conjunto de relações entre os seus componentes que, ao ser distinguida pelo observador, define a identidade do sistema, ou seja, define-o como sistema de uma determinada classe (Ex: bactéria, girassol, gato, cérebro humano). A definição dessa organização é uma descrição abstrata de relações e não identifica os componentes. Já a **estrutura** é a configuração de relações concretas que caracteriza aquele sistema como um caso particular daquela classe, com aquela identidade ou organização. Portanto, estrutura configura os componentes estruturais e as suas relações dentro de uma determinada organização. Em outras palavras, a estrutura do sistema é a corporificação física de sua organização. A estrutura do sistema pode alterar-se sem que se perca a organização distinguida pelo observador. Um sistema autopoético, cuja forma de organização é uma auto-organização, é também, segundo Maturana (1997), **estruturalmente fechado**, o que quer dizer que é impossível determinar, de fora, o que o sistema fará, ou seja, que é impossível ter com ele uma interação instrutiva. Os sistemas vivos, portanto, devem ser tratados como sistemas determinados pela estrutura, definidos por determinadas organizações. Por isso, devem ser sistemas nos quais tudo o que vier a acontecer será determinado no seu interior pela sua estrutura. As interações por que passam irão apenas acionar as mudanças, mas não irão especificar o que deve acontecer a eles. Isto é, segundo Maturana (2000), nada pode acontecer a um sistema determinado pela estrutura, que não seja determinado por ele – pela forma como ele é construído, pela sua estrutura. Uma tensão constante atravessa assim a história do problema da auto-organização: a tensão entre duas lógicas, que correspondem a dois pontos de vista. De um lado está o reconhe-

cimento das regras de organização como *internas* ao sistema, que surge assim como organizativamente *fechado* (embora termodinamicamente aberto). De outro lado, o reconhecimento da existência, de fato, de um ponto de vista *externo* ao sistema, por exemplo, o do observador que estuda o sistema (Ceruti,1995). Recentemente, Kauffman (2000) definiu um ser vivo como um agente autônomo, que corresponde a um sistema catalítico capaz de se reproduzir e de realizar um ou mais ciclos de trabalho termodinâmico. Segundo ele, um agente molecular autônomo realiza dois tipos diferentes de fechamento ("closures"): a - fechamento "catalítico", onde todas as reações a serem catalizadas são catalizadas por elementos moleculares do sistema. b - fechamento de um conjunto de tarefas de trabalho de reprodução ("set of propagating work tasks") pelo qual o agente autônomo completa a construção de uma cópia tosca de si mesmo. Kauffmann destaca que nenhum dos dois tipos de fechamento pode ser definido "localmente". Nenhuma reação particular, nenhuma interação (espontânea ou não) entre diversos processos, bastam para especificar os fechamentos descritos. Eles decorrem de propriedades tipicamente organizativas do agente autônomo em seu ambiente. De fato, células atingem tal ordem de fechamento em suas tarefas através da qual propagam sua organização. Em outras palavras, as células transmitem organizações supramoleculares ao se reproduzirem (Sternberg, 2000). Portanto, o genético não está no gene (Atlan, 1999). O que é transmitido não é somente uma estrutura molecular estática, mas um estado de atividade funcional, isto é, uma certa expressão da significação funcional do conjunto das estruturas celulares (Atlan, 1999). Este conceito impõe o desafio de pensar a autonomia e a auto-organização dos sistemas (vivos e cognitivos) sem apelar para a idéia de " programa", e, portanto, sem imaginar um nível, localizado em alguma parte, de controle do processo auto-organizador. Nem o ambiente (influência externa), nem uma parte do sistema (influência interna) podem desempenhar este papel, mas sim o *ciclo das interações constitutivas*, o qual é, ao mesmo tempo, *causa e resultado* das regulações (Ceruti,1995). Para que esse ciclo das interações constitutivas opere em nível de ser auto-catalítico, requer uma diversidade crítica (Kauffmann, 1997; Csete & Doyle, 2002). Os seres vivos mais simples são os micoplasmas, os quais contêm em torno de seiscentos genes codificando proteínas por meio da maquinaria convencional. Por que razão, pergunta Kauffmann, as entidades vivas mais simples deveriam abrigar algo como seiscentos tipos de polímeros e um metabolismo com talvez mil pequenas moléculas ? Não há ainda resposta, mas apenas se sabe que é necessário atingir um nível crítico de diversidade molecular, a qual, quando ultrapassada gera a chance de existir um sistema coletivamente auto-catalítico (Kauffmann, 1997). Mesmo a *Escherichia coli* tem aproximadamente 4000 genes, dos quais menos de 300 são classificados como "essenciais" (Essencial aqui se refere à viabilidade, em laboratório, de nocautes de genes individuais). A razão provável desse "excesso" de complexidade decorre também da presença de redes regulatórias complexas necessárias para garantir robustez ao sistema (Csete & Doyle, 2002). A robustez confere as seguintes propriedades ao sistema: desempenho básico, habilidade para resistir ao trauma, versatilidade de interconexões toleradas, reaproveitamento de módulos, sacrifício das partes e evolução gradativa para um estado mais organizado ("evolvability"). Essas noções até aqui apresentadas são

consistentes com a asserção de que a complexidade biológica não é dominada por função mínima, mas por protocolos e alças reguladoras retroativas que conferem robustez e "evolvability" aos seres vivos. Protocolos são regras destinadas ao gerenciamento suave e efetivo de relações e processos, isto é, compreendem as receitas, arquiteturas, regras, interfaces, etiquetas, e códigos de conduta. Os módulos, por sua vez, correspondem aos ingredientes, partes, componentes, subsistemas e agentes atuantes ("players"). O dogma central da biologia molecular atual pode ser interpretado como um protocolo, com DNA, RNA, proteína, RNA polimerase, ribosomo, etc., como módulos. Nesse sentido, Atlan (1999) propõe para o DNA uma metáfora alternativa, onde as determinações genéticas que resultam da estrutura seqüencial dos DNA funcionariam, não como um programa (protocolo), mas como dados (módulos) memorizados, tratados e utilizados num processo dinâmico em que ele, sim, desempenharia o papel de programa. Esse processo seria produzido pelo conjunto das reações bioquímicas acopladas do mecanismo celular. Então os protocolos e módulos estariam distribuídos pela célula, que teria uma "inteligência" citoplamática-nuclear e não apenas nuclear-genética (Sternberg, 2000).

A complexidade crescente nos sistemas vivos pode, por outro lado, ocasionar novas e freqüentes fragilidades. Por exemplo, grandes organismos multicelulares não são afetados pela morte de células isoladas, mas a falência de um sistema de controle celular pode gerar doenças autoimunes fatais ou câncer (Csete & Doyle, 2002).

A heterogeneidade dos componentes de um sistema vivo não está em contraste com a relativa homogeneidade do sistema global, sendo antes a garantia de seu adequado funcionamento (Ceruti,1995). Esse aparente paradoxo entre heterogeneidade das partes e homogeneidade do todo é magistralmente analisado pelo embriologista Paul Weiss (1969). Nascido em 1898, ele tornou-se um grande teórico da biologia, opondo-se, ante a biologia molecular em ascensão, ao reducionismo, ao determinismo da informação genética e à conquista da biologia pela cibernética (Dupuy, 1994). Na sua obra, o princípio de ordem hierárquica passa a ser um fundamento da estrutura conceitual de toda a investigação biológica. Os níveis da organização biológica apresentam-se como sistemas dotados de uma dinâmica circular e auto-organizadora e não como simples conjuntos de cadeias causais rigidamente programadas. A característica fundamental da dinâmica dos sistemas (e, em particular, dos sistemas vivos) é, todavia, identificada por P.Weiss na *estabilidade* relativa da ordem do sistema global em oposição à geral *variabilidade* e indeterminação dos seus subsistemas. Enquanto um sistema, no seu conjunto, se configura de modo bem determinado no espaço e no tempo, os seus elementos constitutivos de nível inferior manifestam uma grande variabilidade de pormenores quanto à sua distribuição e às suas inter-relações. Um sistema vivo é assim constituído de maneira a *poder absorver as contingências que influenciam cada uma de suas partes constitutivas.* Esse caráter da dinâmica de um sistema é traduzido por Weiss através de uma simples relação:

$$Vs << (Va + Vb + Vc + ... + Vn)$$

(S = objeto com característica de sistema; $a, b, c, ...n$ = elementos que compõe o sistema; $Va, Vb, Vc, ..Vn$ = gama de variabilidade que cada um deles pode manifestar num determinado tempo; Vs = gama de variabilidade do objetos no mesmo tempo).

Então pode ser definido como um sistema se, e só se, a gama da sua variabilidade for significativamente inferior à soma da gama de variabilidade de seus componentes considerados individualmente. A fórmula pretende assim representar o elevado grau de invariabilidade de um sistema global em relação ao elevado grau de variabilidade dos seus componentes (Ceruti,1995). A dinâmica de um sistema não é, portanto, redutível à soma das dinâmicas de seus componentes, não porque o todo constitua uma entidade independente de suas partes, mas porque as partes, ao interagirem entre si, criam vínculos recíprocos que acabam por constituir as condições de fundo nas quais se baseiam as leis da dinâmica do sistema. Essa retroage sobre os comportamentos de cada uma das partes, provocando *constrições*. Há sempre, e em todo o sistema, e mesmo naqueles que suscitam emergências, imposições sobre as partes, que impõem restrições e sujeições. Essas imposições, restrições ou sujeições, fazem-lhes perder ou inibem neles qualidades ou propriedades. O todo é, portanto, neste sentido, inferior à soma das partes (Morin, 1977). Sabe-se hoje que cada célula de um organismo traz consigo a informação genética de todo o organismo (genoma). Mas a maior parte dessa informação é reprimida; só a parte mais ínfima correspondente à atividade especializada da célula pode exprimir-se (Morin, 1977).

Carlos Cirne-Lima (2003) destaca o processo circular e não linear que ocorre na auto-organização dos sistemas e salienta os principais elementos de um sistema de auto-organização: 1-Circularidade (retrodeterminação, realimentação, *feedback*); 2- Fechamento do sistema sob o aspecto organizacional e abertura sob o aspecto energético; 3- Estabilidade conjugada com plasticidade. O sistema é plástico, ou seja, ele está sujeito a perturbações, mas ele é também estável , isto é, quando perturbado em sua organização, tende a se reconstituir e se recompor; 4- Seletividade na interação com o meio ambiente. A forma da seletividade é determinada pela própria organização interna do sistema; 5- Capacidade de replicação e reprodução. Isso marca uma das características dos seres vivos, porém não existe só neles. Também se faz presente em cristais, em processos autocatalíticos, em processos iterativos de formação de fractais, etc. 6-Engendramento de novas formas de organização. Ilya Prigogine (1984, 1989, 1997) demonstrou que sistemas dinâmicos dissipativos de auto-organização, quando fora de seu ponto de equilíbrio, apresentam, em teoria, uma bifurcação: o sistema pode se dissipar e desaparecer ou, então, pode como que "escolher" e engendrar uma nova forma de auto-organização.

A autonomia de um sistema pode efetivamente defenir-se como a capacidade do sistema em subordinar todas as suas mudanças estruturais à conservação da invariância da sua organização, isto é, à conservação do fecho dos ciclos que definem a organização (Ceruti, 1995). É a própria definição da noção de adaptação que está em jogo, e que sofre uma profunda transformação na sua definição tradicional, onde o ambiente é considerado como primário e origem (causa) das mudanças do sistema. O esquema input/output é o dominante, sendo a adaptação definida como uma resposta do sistema às exigências do ambiente. Na nova acepção de

adaptação realiza-se, pelo contrário, uma verdadeira mudança de perspectiva, e o que passa a ser primário na definição da noção de adaptação é a conservação da autonomia do sistema, isto é, a conservação do fecho dos ciclos vitais que definem a sua organização (Ceruti, 1995). *A organização é indissociável da adaptação, definida em termos de estabilidade das trocas entre um sistema organizado e o seu ambiente.* Para Piaget (1967) a forma cíclica do sistema caracteriza a sua organização $[(A \times A') \rightarrow (B \times B') \rightarrow (C \times C') \rightarrow \ldots (Z \times Z') \rightarrow (A \times A')]$, ao passo que a permanência das interações $[(A \times A')]$ etc. caracteriza sua adaptação. No caso da ocorrência de perturbações, resta ao organismo introduzir modificações compensadoras (assimilação e acomodação), conservando o ciclo que define sua organização, ou, então, não consegue compensar, se desestrutura e morre. Por exemplo, perante uma perturbação B'' que obriga a substituição de B', o organismo pode introduzir uma modificação compensadora, convertendo o B em $B2[(A \times A') \rightarrow (B2 \times B'') \rightarrow (C \times C') \ldots]$, garantindo a sobrevivência do sistema.

3.2 Granuloma como exemplo de estrutura biológica e possível alvo de modelagem matemática

A Esquistossomose por *Schistosoma mansoni* é uma infecção ou doença resultante da penetração de cercárias pela pele, as quais se convertem em esquistossômulos, passam pelos pulmões, e, após vários circuitos migratórios na corrente sanguínea, estabelecem-se no interior de vasos venosos do fígado, onde amadurecem para vermes adultos machos e fêmeas. Esses, após acasalamento, migram, por mecanismos desconhecidos, contra a corrente circulatória, alojando-se em vasos venosos mesentéricos, próximos ao intestino, onde colocam ovos. Parte dos ovos é eliminada pelo lúmen intestinal e parte fica retida em vários órgãos (parede intestinal, fígado, pâncreas, pulmões e outros), provocando uma reação inflamatória peculiar, chamada de reação granulomatosa ou granuloma. O granuloma esquistossomótico é uma coleção compacta e organizada de células migrantes, que junto com células do órgão afetado, dispõem-se em meio a componentes de uma matriz extracelular heterogênea, formando uma estrutura esférica, que circunda cada ovo individualmente. Por essa razão, o ovo, neste caso, é rotulado como o agente granulomatogênico, isto é, capaz de provocar a reação granulomatosa através da liberação, para o tecido adjacente, de vários componentes próprios, em geral glicoproteínas (Fig. 1). O granuloma esquistossomótico constitui o melhor exemplo existente na literatura sobre reação granulomatosa provocada por agente extracelular (Lenzi et al. 1991), que é o ovo. O miracídio, forma larval que está no interior do ovo, tem uma vida média em torno de 21 dias (Prata, 1957). Portanto, o granuloma esquistossomótico é uma estrutura dinâmica que tem início, meio e fim, caracterizando morfologicamente fases de amadurecimento e de involução.

O granuloma esquistossomótico está perfeitamente ajustado ao conceito de caos estruturado (Demo 2002; Lenzi & Romanha, 2003). É caótico porque apresenta propriedades não-lineares, e é estruturado pelo fato que evolui de uma aparente desordem (estágio pré-granulomatoso) para um arranjo muito bem organizado (estágio

granulomatoso). Em trabalho anterior (Lenzi & Romanha, 2003), demonstraram que ele satisfaz as seguintes características de sistemas complexos: a) dinamismo; b) reconstrução e irreversibilidade; c) homeostasia; d) auto-organização. Neste trabalho, será mostrado, tendo como base a proposta de Holland (1995) para sistemas complexos adaptativos (SAC), que o granuloma esquistossomótico exibe também as quatro propriedades e o três mecanismos comuns a todos os SACs. Os principais exemplos de SAC compreendem a evolução (biologia evolutiva), sistema nervoso central, sistema imunológico, ontogênese (biologia do desenvolvimento), reação inflamatória (aguda e crônica), linguagem e Internet. A coerência e persistência de cada sistema dependem de amplas interações, da agregação de diversos elementos, e do aprendizado e adaptação. Mesmo que cada um dos sistemas apresente diferenças em detalhes, todos exibem o enigma central de manter a **coerência durante as mudanças** (Holland, 1995). O granuloma se encaixa como um tipo especial de reação inflamatória crônica, no qual o comportamento do todo é mais do que a simples soma do comportamento das partes. O seu comportamento depende da interação em rede dos agentes que o compõe (células e elementos da matriz extracelular). Os agentes ao se agregarem podem adicionar novos níveis de hierarquia à organização do granuloma como será mostrado a seguir. Segundo Holland (1995), os sete aspectos básicos dos SACs são subdivididos em quatro **propriedades** (agregação, não-linearidade, fluência e diversidade) e três **mecanismos** [(rotulagem ("tagging"), modelos internos (implícitos e explícitos) e blocos de construção ou montagem.

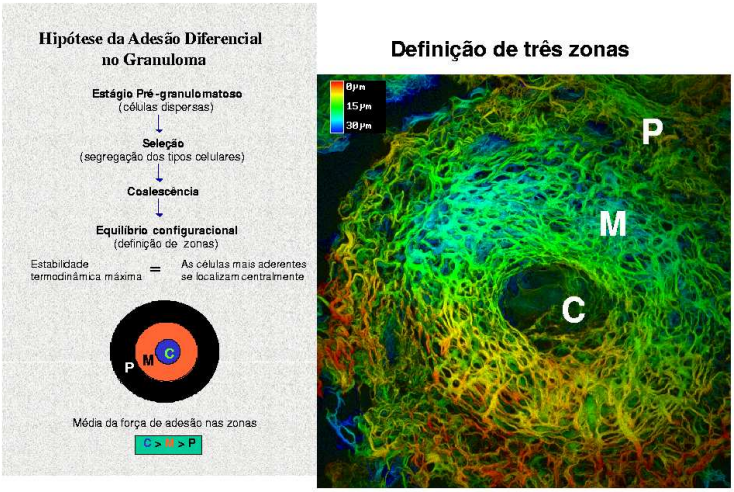
3.2.1 Agregação

A formação do granuloma envolve interações dinâmicas e intrincadas entre célula-célula e célula-matriz, que podem ser homo (moléculas idênticas) ou heterotípicas (moléculas diferentes). De uma fase inicial desordenada, as células começam a arranjar-se em agregados selecionados ("sorting"), formando agregados hierárquicos, denotando emergência da ordem a partir de uma desordem inicial (fase pré-granulomatosa). Participam várias famílias de moléculas de adesão celular (*Cellular adhesion molecules = CAMs*) e de moléculas de adesão ao substrato matricial (*Substrate Adhesion Molecules = SAMs*). Na fase madura do granuloma, chamada fase exsudativa-produtiva, caracterizada por uma grande riqueza de células migrantes (componente exsudativo) e locais (fibroblastos e miofibroblastos), que produzem vários componentes da matriz extracelular (componente produtivo), o granuloma mostra um arranjo em três zonas distintas: central, para-central e periférica (Fig. 2). Esse comportamento pode ser explicado pela hipótese da adesão diferencial (Steinberg, 1996). Essa hipótese postula que cada tipo de célula tem uma energia de adesão característica que, numa população mista, resulta em camadas celulares arranjadas concentricamente, devido a diferenças entre forças de adesão celular. Em outras palavras, quando dois tipos de células são misturados, o tipo celular com maior força adesiva maximiza sua área de contato com células semelhantes, formando um agregado central, circundado por células com adesão mais fracas. Então essa teoria mostra que as células do granuloma não se selecionam aleatoriamente, mas movem-se ativamente, criando regiões distintas e bem definidas, devido a diferenças entre as moléculas de adesão. Por exemplo, células dispersas e desordenadas ao redor de ovos caracteriza a fase pré-granulomatosa. Algumas células (macrófagos) passam a migrar centripetamente para a proximidade do ovo central, enquanto outras células (eosinófilos, fibroblastos) posicionam-se em régiões mais externas. Esse comportamento celular está de acordo com a proposição de Steinberg (1963) sobre o modelo termodinâmico de interação celular. Ele propõe que células misturadas interagem para formar um agregado com a menor energia livre interfacial. Isto é, as células procuram se organizar entre elas, visando o padrão termodinamicamente mais estável. A configuração de populações celulares conectadas com a menor energia livre interfacial (= configuração na qual o número de ligações célula-célula está maximizado) é a esfera dentro da esfera, onde as células com menor número de sítios de ligação ficam externamente segregadas, envolvendo aquelas com um número maior de ligações. Então, o granuloma consiste de uma comunidade segregante de células mutuamente adesivas, onde as menos coesivas tendem a envelopar, parcial ou completamente, a população mais coesiva e em equilíbrio termodinâmico (Fig. 3).

3.2.2 Rotulagem ("Tagging")

O mecanismo da rotulagem está diretamente relacionado à formação de agregados como exposto no item anterior. As moléculas de adesão e seus contrarreceptores (homotípicos ou heterotípicos) comportam-se, respectivamente, como etiquetas ou

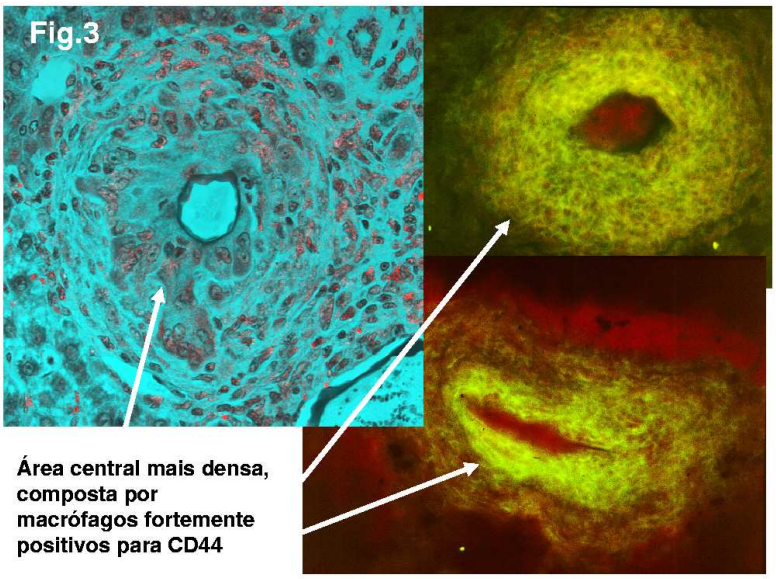
Fig. 2 Formação de três zonas em granuloma por adesão diferencial



rótulos, que interagem com seus respectivos perceptores do rótulo ou da etiqueta ("tag query"). O mecanismo da rotulagem é a expressão de um comportamento biossemiótico ou de percepção de sinais, isto é, o granuloma pode também se comportar como uma entidade semiótica. Em sistemas biológicos, é comum que os veículos dos signos sejam coisa físicas, como moléculas ou conjunto de moléculas (Emmeche & El-Hani, 2000). Um signo é constituído por um conjunto de relações que pode ser representado pelo triângulo semiótico, incluindo os seguintes elementos: o veículo do signo (chamado por Pierce de "representamen"), o significado (para Pierce, "interpretante") e o referente (para Pierce, o "objeto"). No caso do granuloma, o objeto ou referente é a própria célula. O veículo do signo ou representamen é o conjunto de moléculas na superfície da célula que possibilita seu reconhecimento como um determinado tipo de célula, e o interpretante corresponde ao significado daqueles sinais moleculares para as células contrarreceptoras.

3.2.3 Modelos internos

Modelo interno se refere, segundo Holland (1995, 1999), ao mecanismo para antecipação. Ele dá o seguinte exemplo: Quando dirigimos um carro, regressando do trabalho para casa, temos em nossa cabeça um modelo interno de percurso; se uma das ruas estiver bloqueada, sabemos como tomar um caminho alternativo. A questão é entender como um tal modelo é gerado e, uma vez formado, como é utilizado. No caso do granuloma esquistossomótico, cada etapa parece antecipar a próxima:



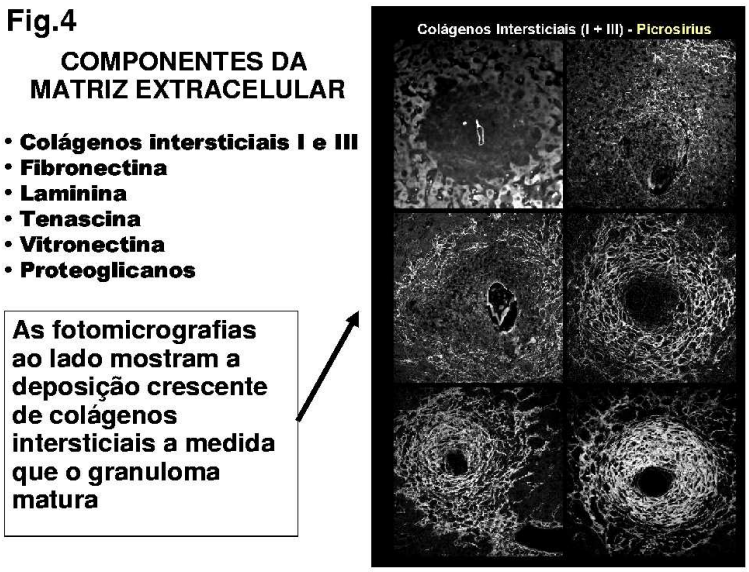
(estado pré-granulomatoso): reativo inicial → Exsudativo → (estado granulomatoso): Exsudativo-produtivo → produtivo recente → produtivo fibrótico → involutivo → desintegração. O que determina esse percurso evolutivo ainda é desconhecido, apesar dos padrões morfológicos estarem bem determinados. Essa idéia de modelo interno lembra um pouco os algoritmos genéticos.

3.2.4 Blocos de construção ou montagem

Segundo Holland (1995,1999), a idéia de blocos de construção ou de montagem é a mesma dos blocos usados em brinquedos de crianças ou na montagem digital de faces humanas: o número de blocos é pequeno, mas diferentes combinações dos mesmos podem gerar faces ou objetos variados. Em matemática, é a mesma noção dos geradores de um grupo finito. Em granuloma, pode-se exemplificar esse item, mostrando a construção progressiva de sua estrutura matricial, utilizando apenas os colágenos intersticiais I e III (Fig. 4). Na realidade, os blocos de montagem da trama matricial são mais variados, podendo compreender colágenos I, III, IV, fibronectina, laminina, tenascina, vitronectina, proteoglicanos e outros (Fig. 5).

3.2.5 Fluxos

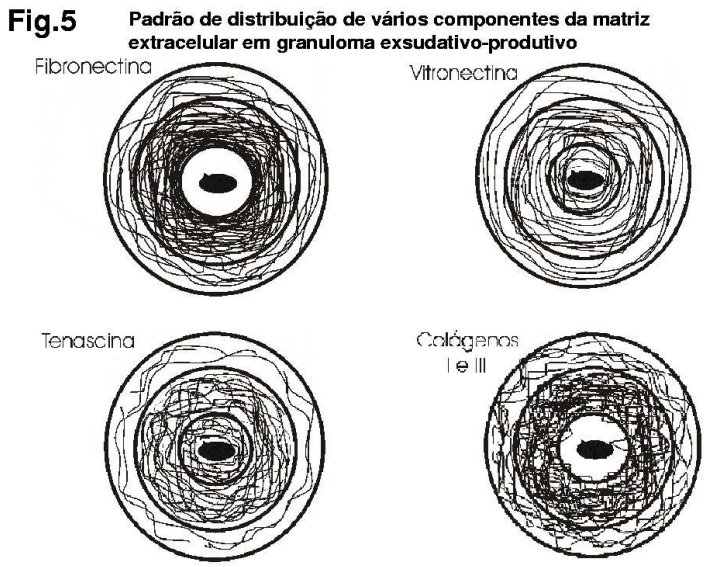
Apesar do granuloma ser, em geral, uma estrutura avascular, isto é, destituída de vasos sanguíneos, ocorrem fluxos de células e de produtos não celulares solúveis,



tanto no sentido centrípeto como centrífugo. Produtos do miracídeo (larva que vive no interior do ovo) costumam se difundir, em gradiente do centro para a periferia (movimento centrífugo). Por outro lado, esses mesmos produtos, direta ou indiretamente, podem exercer um efeito quimioatrator, atraindo células da periferia para o interior do granuloma (movimento centrípeto). Além disso, ocorrem fluxos de mensagens entre células aderidas, as quais passam a constituir verdadeiras redes ou circuitos. Segundo Holland (1995, 1999), os fluxos podem derivar em dois efeitos positivos: **efeito multiplicador e efeito de reciclagem**. Exemplificou esses efeitos, utilizando a floresta tropical como exemplo: Uma floresta tropical ocupa um solo pobre e, apesar disso, em enorme riqueza biológica. Como e por que ? Em parte, isso se deve ao efeito multiplicador. De fato, um nutriente do solo é utilizado em forma cooperativa, para evitar que seja lixiviado, isto é, arrastado de volta ao solo pelas chuvas. O nutriente é também reciclado, passando, por exemplo, de uma árvore para uma larva, dela para um pássaro e assim por diante. No caso do granuloma esses dois efeitos não estão bem estudados, conhecendo-se pouco sobre o seu dinamismo celular, bioquímico, fluxo *input* (migração e proliferação local) e *output* (apoptose, necrose) de células durante todo o processo de amadurecimento e involução (Fig. 6).

3.2.6 Diversidade

Como o granuloma é uma estrutura organizada, simulando a organização de um pequeno ser metazoário (Lenzi *et al.*, 1998), sua diversidade não é acidental e nem

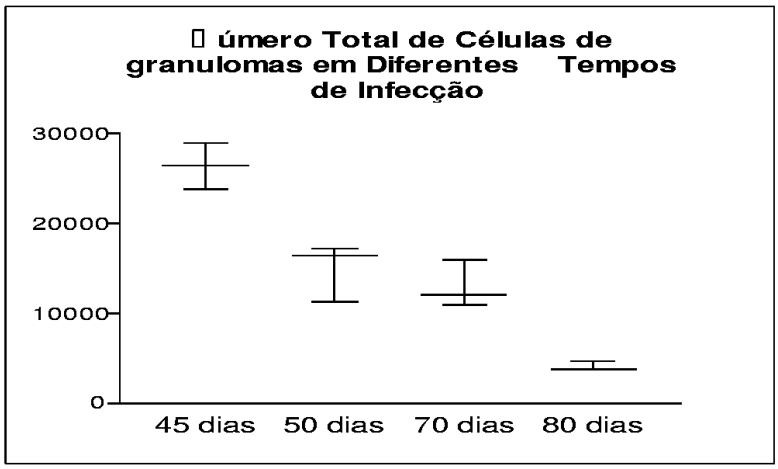


aleatória. Atualmente, conhece-se apenas a diversidade "macroscópica" do granuloma, expressa pela heterogeneidade de sua população celular, componentes da matriz extracelular, de moléculas de adesão e fatores de crescimento e seus receptores (Figs. 7 e 8). Contudo, novos equipamentos e procedimentos técnicos possibilitarão definir, em cada granuloma isolado, a totalidade de genes expressos (histogenômica), RNAs mensageiros (histotranscriptoma), proteínas (histoproteômica), interações entre proteínas (interactoma) e o conjunto de substratos, metabólitos e outra moléculas (metaboloma). Esses estudos poderão ser feitos em granulomas inteiros ou discriminados por zonas topográficas. A microdissecção por laser possibilitará o estudo das três zonas bem configuradas dos granulomas exsudativo-produtivos.

3.2.7 Não-linearidade

O granuloma, tanto em seu processo de formação, quanto em sua tessitura interna, resulta de processos não-lineares. Portanto se caracteriza como uma totalidade complexa e não complicada, onde a decomposição das partes desconstrói o todo, de tal sorte que é impraticável, a partir das partes, refazer o mesmo todo (Demo, 2002). Por essa razão, os modelos de granulomas *in vitro* são artificiais e não reproduzem a complexidade do granuloma *in vivo*. Em sistemas não lineares importa a idéia de emergência. Essa é, segundo Morin (1977), inseparável da morfogênese sistêmica, isto é, da criação de uma forma nova que constitui o todo: a unidade complexa

Fig.6



organizada. Trata-se realmente de morfogênese, visto que o sistema constitui uma realidade topológica, estrutural e qualitativamente nova no espaço e no tempo. A organização transforma uma diversidade descontínua de elementos numa forma global. As emergências são as propriedades, globais e particulares, saídas dessa formação, inseparável da transformação dos elementos (Morin, 1977). As aquisições e as perdas qualitativas indicam que os elementos que participam dum sistema (no caso o granuloma) são transformados em **partes de um todo**. Com isso, segundo Morin (1977) desemboca-se num princípio sistêmico-chave: a ligação entre formação e transformação, constituindo um circuito ininterrupto na organização de seres e/ou estruturas vivas.

3.3 Teleologia ou finalidade do granuloma

O granuloma opera como uma interface híbrida entre dois seres filogeneticamente diferentes [um trematódeo (S. mansoni) + um hospedeiro invertebrado (molusco) ou vertebrado (homem, camundongo, outros)], tentando favorecer uma coabitação simbiótica entre eles (Lenzi *et al.*, 1997). **Ele não se forma para atacar o ser coabitante, mas serve para proteger o hospedeiro de produtos antigênicos e/ou tóxicos originados pelo agente granulomatogênico** (miracídio no interior do ovo) (Reis & Andrade, 1987). Neste sentido, sua estrutura organóide está densamente arranjada, visando atuar como uma barreira eficiente. Além de inte-

Fig.7 **Componentes do granuloma**

TIPOS DE CÉLULAS	ELEMENTOS DA MATRIZ EXTRACELULAR
-monócitos/macrófagos	-COLÁGENOS (I,III)
-células epitelióides	-PROTEOGLICANOS
células gigantes	(vários tipos)
-eosinófilos	-fibronectina
-neutrófilos	-tenascina
-mastócitos	-vitronectina
-linfócitos (T,B, K)	-laminina
-fibroblastos	-outros
-miofibroblastos (variados)	

grinas e moléculas da super-família das imunoglobulinas (Ritter & McKerrow 1996; Jacobs & Van mark 1998, Jacobs *et al.*, 1997a,b, 1998, Romanha, 1999), as células do granuloma estão também conectadas por: 1- junções comunicantes ("gap junction"). Essas junções conectam funcionalmente duas células adjacentes e são formadas por conéxons [= estruturas tipo canais que possibilitam a passagem de pequenas moléculas (∼1.2 kDa) entre células]. Foram demostradas, pela primeira vez, em granuloma por Lenzi & Romanha (submetido) através da detecção in situ de conexina 43 (proteína que faz parte dos conéxons); 2- Junções de oclusão ("tight junction") que controlam a passagem de substâncias entre duas células adjacentes (via paracelular). No granuloma foram reveladas através de anticorpo contra ocludina (= fosfoproteína integral de membrana que interage com uma proteína transmembranosa da célula adjacente, chamada claudina) (Lenzi & Romanha, submetido) 3- Moléculas de adesão dependentes de Ca^2 como as caderinas, que juntam célula-célula. Assim o granuloma se constitui numa estrutura esférica altamente organizada, com consumo energético mínimo e baixa entropia, que circunscreve o ovo e seus produtos, atuando como uma barreira biológica eficiente, protegendo, assim, os tecidos adjacentes.

Em suma, o granuloma se adequaria à idéia de "complexidade organizada" (Weaver, 1948; Johnson, 2003), onde o sistema segue regras específicas e, através de sua interação, cria um macrocomportamento distinto, arrumando-se de forma específica ou, com o tempo, formando um padrão específico. Esse tipo de comportamento parece predominante na natureza.

Fig.8

Componentes do granuloma

MOLÉCULAS DE ADESÃO

-integrinas

-selectinas

-super família das imunoglobulinas

-caderina

-ocludinas

-conexinas

-outras

FATORES DE CRESCIMENTO E SEUS RECEPTORES

-fator estimulador de colônias (CSF)

-eritropoetina

-leptina

-fator transformador de crescimento beta (TGF-β)

-interferon gama (IFN-γ)

-outros

NEUROPEPTÍDEOS

O problema de "complexidade desorganizada" seria mais adequado à resposta inflamatória clássica. Ou seja, o sistema (ou a resposta) é complexo porque há muitos agentes se inter-relacionando, mas é desorganizado porque não cria qualquer comportamento de nível superior, além de amplas tendências estatísticas (Johson, 2003)

3.4 Como estudar estruturas biológicas complexas? A necessidade de interações inter e transdisciplinares no delineamento e configuração de modelos

3.4.1 O caminho do fim de uma era

"Os processos físicos e químicos, como aqueles biológicos, compreendem elementos distintos (discretos). Todavia há uma uniformidade básica dos processos físicos e químicos mesmo em extensa escala de sua expressão. Biologia, em contraste, dedica-se a processos amplamente diferentes, em várias escalas de interação, em sistemas vivos: de genes para proteínas, para células, para órgãos, para organismos, para espécies, para ecossistemas. Sistemas biológicos requerem, então, a discriminação de cada escala. A vida explora a falta de homogeneidade da matéria para

amplificar a complexidade" (Louzoun *et al.*, 2001). Todavia, no último século, a agenda da biologia tem sido, em sua maior parte, reducionista, trazendo contribuições importantes na descoberta e na intelecção de um grande número de "peças" que participam na estrutura dos seres vivos. O grande feito reducionista foi a caracterização da seqüência do genoma humano. Está, todavia, cada vez mais claro que a progressão crescente do reducionismo, reduzindo ainda mais as informações químicas microscópicas referentes a sistemas vivos, não será satisfatória para a intelecção de sua fisiologia macroscópica. Em outras palavras, um programa contínuo de reducionismo molecular, por si só, não explicará a emergência de complexidade macroscópica (Louzoun *et al.*, 2001). Então, impõe-se uma pergunta? Como estudar metodologicamente a complexidade dos sistemas vivos e de seus subsistemas (sistemas imunológico, nervoso, etc.) aproveitando ao máximo os dados obtidos pela análises reducionistas ? Os dados tradicionalmente obtidos são metodologicamente adequados para o estudo de sistemas complexos ou a comunidade de cientistas terá que migrar para outra forma de pensar, de delinear seus experimentos e de tratá-los ? Parece que numa fase de transição, que poderá durar o período de algumas gerações de cientistas, terá que ocorrer uma hibridação metodológica e conceitual entre reducionismo e biologia "organísmica" , calcada em sistemas complexos. Posteriormente, com surgimento de novas tecnologias adequadas para captura e análise mais integrais, dinâmicas e, acima de tudo, relacionais, dos dados, ocorrerá uma "nova ciência, advinda de uma nova forma de fazer ciência". Será uma revolução epistemológica ! A transdisciplinaridade será a regra !

3.4.2 O fenômeno da subdeterminação ("undetermination") nos sistemas biológicos

A diversidade e não-linearidade dos sistemas biológicos provocam o fenômeno da subdeterminação ("undetermination"), que, segundo Henry Atlan (2001), equivale à **geração do mesmo efeito por milhares de diferentes estados complexos**. Atlan, em palestra na Fiocruz, Rio de Janeiro, em 2001, colocou o seguinte exemplo: Uma rede de automação de apenas dois estados (liga e desliga), composta por apenas cinco unidades pode apresentar 2^5(=32) estados totais [número de estados: q^N ($q =$ estados; $N=$ unidades)] e número mínimo de estruturas de conexão ("connecting structures") de 2^{25} (10^7) [número de estruturas de conexão: $p(N^2)$ ($p =$ diferentes valores para a intensidade ou força das conexões)]. Segundo Atlan, somente não ocorre subdeterminação se $q \geq p^N (q^N \geq p(N^2))$. Para trabalhar com tão poucas variáveis, o pesquisador é obrigado a reduzir artificialmente os fenômenos biológicos, caindo num extremo reducionismo e artificialismo, muito distantes da "realidade".

3.4.3 Como estudar, então, os fenômenos biológicos complexos ?

A seguir, serão arroladas algumas estratégias metodológicas para estudar os fenômenos biológicos, que, para não ocorrer um primarismo como aqui exposto, deveriam ser abordadas por matemáticos e/ou físicos. Por isso, os autores ficariam muito

gratos se recebessem críticas e sugestões referentes a esse tópico. Mesmo assim, os autores farão uma tentativa, ainda muito preliminar, de apresentar, sucintamente, estratégias verificadas na literatura e/ou em prática no laboratório.

Análise bioestrutural

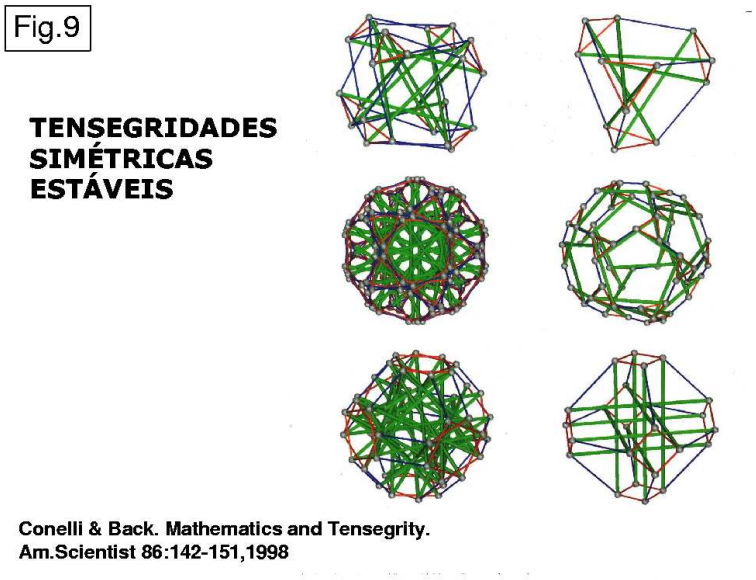
A natureza, apesar de sua grande variação e diversidade, utiliza um número limitado de formas geométricas e/ou de moléculas, criando o novo a partir de embaralhamentos diferentes e originais de formas e/ou moléculas primevas. Isso é aplicado desde a escala molecular até a macroscópica e alguns padrões, tais como espirais, pentágonos e triângulos são preferencialmente empregados. Esses padrões aparecem em estruturas que variam desde cristais altamente regulares até em proteínas relativamente irregulares e em organismos tão diversos como vírus, plâncton e humanos. Além disso, tanto matéria orgânica como inorgânica são constituídas pelos mesmos blocos : átomos de carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio e fósforo. A única diferença é como os átomos são arranjados em espaço tridimensional (Ingber, 1998). O fenômeno, no qual componentes se juntam para formar estruturas maiores e mais estáveis, adquirindo novas propriedades, imprevisíveis a partir da característica de suas partes individuais, é chamado de auto-montagem (moléculas grandes organelas células tecidos organismos) (Ingber, 1998). Durante as últimas décadas, alguns autores (Connelly & Back, 1998; Ingber, 1998) descobriram e exploraram um intrigante e fundamental aspecto da auto-montagem, rotulado de **tensegridade**, utilizado por uma grande variedade de sistemas naturais, incluindo átomos de carbono, moléculas de água, proteínas, vírus, células, tecidos e mesmo humano e outras formas de vida. O termo tensegridade se refere a um sistema que se estabiliza a si mesmo mecanicamente, porque as forças tensionais e compressivas estão distribuídas e balanceadas dentro da estrutura. A tensegridade ocorre de forma clara no citoesqueleto e parece comparecer também no granuloma esquistossomótico (Fig. 9).

Outros padrões estruturais podem também ser identificados em fenômenos biológicos, destacando-se a definição de **fractais**. Fractais de tipo difusão se aplicam aos centros de fibrose descritos no granuloma esquistossomótico (Lenzi et al.,1999), e parece haver uma certa relação entre o arranjo fractal e o nível de entropia tecidual (hipótese em análise no laboratório) (Figs. 10, 11 e 12).

O arranjo espacial de certas moléculas é tão relevante que, recentemente, várias doenças foram interpretadas como **doenças conformacionais**. Isto é, são doenças devidas primariamente à agregação de formas aberrantes de proteínas individuais, que trazem sérias repercussões principalmente em fígado e cérebro (cirrose em pacientes com deficiência de alfa$_1$-antitripsina, vários tipos de encefalopatias por anomalias conformacionais em várias proteínas, incluindo a doença de Parkinson Familiar e a Doença de Elzheimer) (Carrell & Lomas, 2002)

Modelos de engenharia ("Engineering models")

Um jovem cientista russo, Yuri Lazebnick (2002), em artigo cômico-dramático, mostrou que a mentalidade ainda predominante na biologia, baseada em concepção

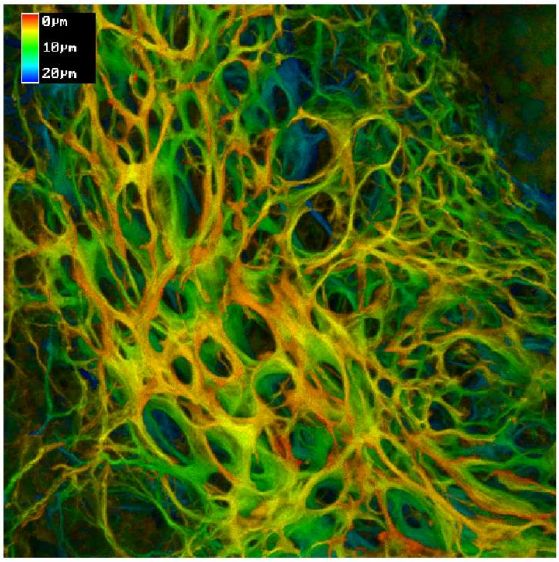


puramente linear de causa e efeito, não consegue sequer decifrar os problemas eletrônicos de um velho e simples rádio fabricado na Rússia. Ao contrário, o rádio seria facilmente concertado por um engenheiro eletrônico. Então ele pergunta: O que faz a diferença ? Ele atribui a diferenças na linguagem utilizada por cada grupo. A linguagem dos engenheiros possibilita identificar padrões familiares ou módulos num diagrama de um aparelho não familiar. A linguagem do engenheiro é adequada para análises quantitativas, incluindo modelagem, em oposição à linguagem do biólogo, que costuma ser vaga (e.g. "O equilíbrio entre proteínas Bcl-2 pró e anti-apoptóticas parece controlar a viabilidade celular, e parece se correlacionar com a viabilidade de formar tumores") e evita predições claras.

Equações diferenciais

As equações diferenciais, junto com cálculo até o nível de diferenciação parcial e integrais múltiplas, vetores e matrizes, probabilidade e estatística, constituem a principal base de quem deseja aplicar a matemática em biologia e entender os livros de Biomatemática. As técnicas para equações diferenciais, sejam ordinárias ou parciais, são muito empregadas em fenômenos biológicos, destacando-se, como exemplos, crescimento de bactérias em cultura, mistura de soluções, modelo predador-presa, difusão de moléculas através de membrana celular, propagação de infecção e outros (Rowe, 1994; Britton, 2003).

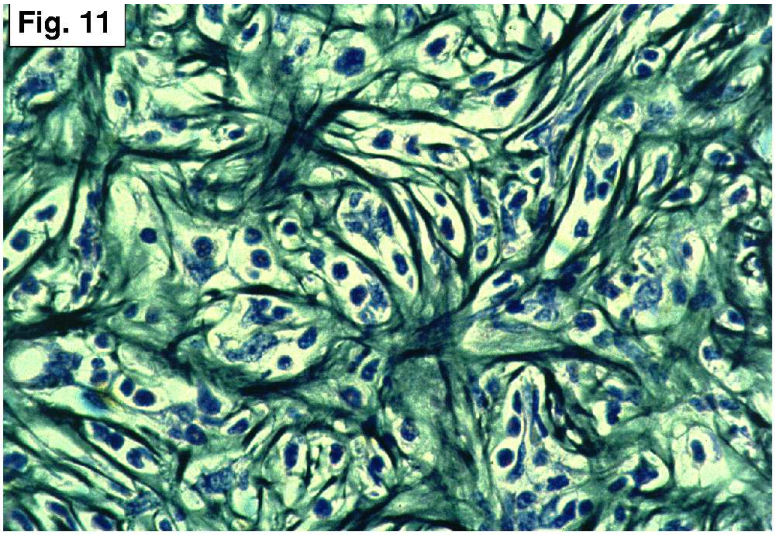
Fig.10



Tipo de estrutura ou arranjo colagênico predominante em granuloma exsudativo-produtivo

Redes sem escalas ("scale-free networks") de Barabási-Albert

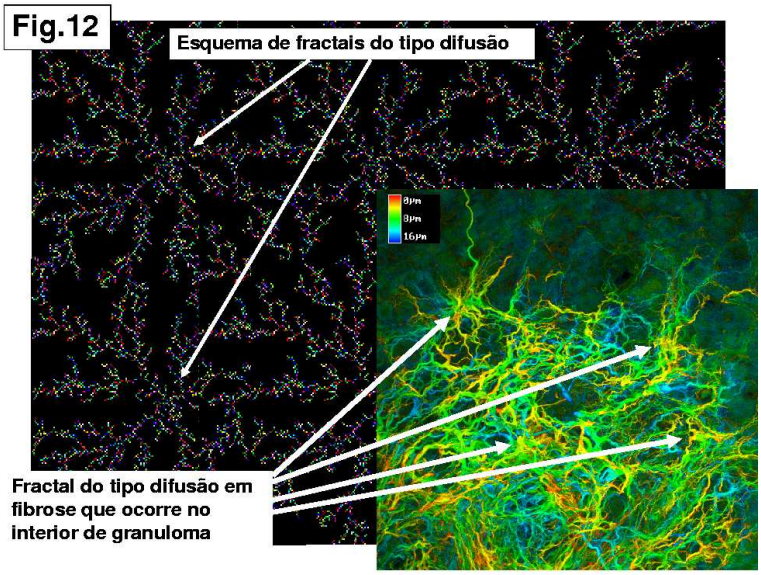
Cientistas descobriram recentemente que a arquitetura subjacente a vários sistemas complexos é governada pelos mesmos princípios organizadores. Um das características importantes dos sistemas complexos é serem estruturado através de redes. Mas, segundo Barabási e Bonabeau (2003), os cientistas nunca compreenderam muito bem suas estruturas e propriedades. Nos últimos anos, estudiosos de várias áreas descobriram que muitas redes (e.g. sistema metabólico de uma célula) são dominadas por uma quantidade relativamente pequena de nós conectados a muitos outros pontos. Os nós mais ocupados, denominados pólos de irradiação e convergência, podem ter centenas ou mesmo milhões de conexões. Nesse sentido, a rede parece não ter escala (Barabási e Bonabeau, 2003). Essas redes, diferentemente das redes aleatórias onde os nós obedecem a uma distribuição em forma de sino (a maioria dos nós possui aproximadamente a mesma quantidade de conexões) exibem uma distribuição segundo uma lei exponencial ("Power Law Distribution"). Isto é, a maior parte dos nós possui um pequeno número de conexões e alguns têm uma quantidade imensa deles. Talvez algumas áreas cerebrais e de órgãos linfóides funcionem como nós de rede sem escala. O conhecimento das propriedades desse tipo de rede será importante em muitas áreas, especialmente à medida que, além da topologia das redes, passem a ser investigadas as dinâmicas intricadas e muitas vezes sutis que ocorrem em certos sistema complexos (Barabási e Bonabeau, 2003).



Centros de irradiação de fibrose = fractais de difusão em granuloma

Abordagem de conjunto segundo Stuart Kauffmann (2002)

Segundo Kauffmann (2002), os biólogos moleculares estão começando a mudar a forma de pensar sobre a célula. Costumava-se pensar sobre um gene, uma proteína e agora se passou a considerar cascatas reguladoras, chamadas vias de desenvolvimento. Assim o principal desafio da Bioinformática, segundo ele, será desvendar essas redes ou circuitos reguladores. E isso não será um problema exclusivo da Bioinformática, pois haverá necessidade de um casamento com novos instrumentos matemáticos para resolver esse problema, gerando novas técnicas matemáticas e computacionais. A escala do problema poderá compreender 100.000 variáveis ! Então a solução será enfocar **ciclo de estados ou atratores**: o comportamento genérico é transitório, fluindo para um ciclo ou atrator. Isso requererá **computação poderosa; algoritmos adequados e grande intelecção biomolecular**. Isto é, será necessária uma expansão significativa do conhecimento biológico. Paul Weiss, ao fornecer uma definição geral de sistema e das propriedades dos sistemas adequadas às características dinâmicas do ser vivo, lançou o seguinte pressuposto fundamental: "As diferentes populações de unidades constituintes não estão dispersas de maneira difusa, nem misturadas ao acaso, mas distribuem-se elas próprias, por segregação e agregação, segundo distribuições características que representam o "modelo de campo" do sistema" . O modelo de campo do sistema equivale a um atrator, pois, segundo Weiss, ele tende a conservar a sua configuração e unidade durante as fases de equilíbrio estacionário, a despeito da relativa liberdade de movimento das subu-



nidades constituintes. Para Kauffmann (2002), os tipos celulares são atratores, caso contrário teria a ordem de $10^{30.000}$ diferentes tipos de células, quando, na realidade ocorrem, aproximadamente, apenas 260.

Kauffmann (2002) propõe também uma forma de inverter o problema, baseada numa interação estreita entre o trabalho computacional ("silico work") e o trabalho de bancada ("wet work"). Por exemplo, perante os dados de um microarranjo gênico (técnica que possibilita estudar, simultaneamente, a expressão de milhares de genes), o pesquisador de bancada mostraria o comportamento do sistema e o bioinformata deduzeria a lógica e as conexões entre os genes.

Em imunologia, modelos in silico podem ser usados como "análogos digitais" , criando, inclusive, "camundongos transgênicos digitais", visando simulação de respostas imunológicas (Chakraborty *et al.* 2003).

3.5 Conclusões gerais

Para os autores, o texto de Bialek & Bolstein, publicado na conceituada revista Science (Fevereiro de 2004) parece ideal para concluir este trabalho: "Avanços dramáticos na intelecção da biologia, acoplado com avanços igualmente dramáticos nas técnicas experimentais e nas análises computacionais, estão transformando a ciência da Biologia. A emergência de novas fronteiras de pesquisa em genômica funcional, evolução molecular, imagem intracelular e dinâmica, neurociência, doenças

complexas e integração, em nível de sistema, de sinalização-transdução de sinais e mecanismos reguladores, estão demandando uma grande fração de biólogos para confrontar, profundamente, problemas quantitativos com idéias de ciências matemáticas. Ao mesmo tempo, um número crescente de cientistas da física e da engenharia estão percebendo que as fronteiras estimulantes de suas disciplinas residem no estudo dos fenômenos biológicos. A característica dessa nova paisagem intelectual é a necessidade de fortes Interações perpassando os limites das disciplinas tradicionais". Bialek e Botstein propõe, então, nas escolas de biologia, um currículo introdutório e unificado de ciência, que incorpore matemática e pensamento quantitativo.

Quanto aos modelos matemáticos (Bassanezi, 2002) é importante lembrar o dito de Einstein: "Os modelos devem ser o mais simples possível, mas não mais do que isso". Isso alerta para o uso e abuso da matemática em Biologia. Segundo May (2004), talvez um dos abusos mais comum, e nem sempre fácil de ser reconhecido, decorre de situações onde os modelos matemáticos são construídos com uma grande abundância de detalhes em alguns aspectos, enquanto outras importantes facetas do problema estão obscuras ou então um parâmetro vital é incerto quanto à ordem de magnitude. O ideal será propiciar, nos ambientes acadêmicos, ambientes favoráveis para a efetivação de uma forte e fluente relação inter e transdisciplinar entre biólogos, matemáticos e físicos.

Bibliografia

[1] Barabási, A.-L. & Bonabeau, E., 2003. Redes sem escala. *Scientific American (Brasil)*, **13:** 64-69.

[2] Bassanezi, R. C., 2002. *Ensino-aprendizagem com modelagem matemática.* Editora Contexto, São Paulo, SP, p. 389.

[3] Bialek, W. & Botstein, D., 2004. *Introductory science and mathematics education for 21st-Century Biologists.* Science, **303:** 788-790.

[4] Britton, N. F., 2003. *Essential Mathematical Biology.* Springer-Verlag, Londres, p. 335.

[5] Carrel, R. W., & Lomas, D. A., 2002. *Alpha1-Antitrypsin deficiency: A model for conformational dideases.* N Engl J Med **346:** 45-53.

[6] Ceruti, M., 1995. *A dança que Evolução e cognição na epistemologia genética.* Instituto Piaget, Lisboa, Portugal, p. 342.

[7] Chakraborty, A. K., Dustin, M. L. & Shaw, A. S., 2003.*In silico models for cellular and molecular immunology: successes, promises and challenges.* Nature Immunology **4:** 933-936.

[8] Cirne-Lima, C., 2002. *Causalidade e auto-organização.* In: Cirne-Lima & Rohden L Eds. Dialética e auto-organização. Editora Unisinos, São Leopoldo, RS, p.17-56.

[9] Connelli, R. & Back, A., 1998. *Mathematics and Tensegrity.* American Scientist **86:** 142-151.

[10] Csete, M. E. & Doyle, J. C., 2002. *Reverse engineering of biological complexity.* Science **295:** 1664-1669.

[11] Demo, P.,2002. *Complexidade e Aprendizagem. A dinâmica não linear do Conhecimento.* Editora Atlas S.A., São Paulo, SP, p. 195.

[12] Emmeche, C. & El-Hani, C. N., 2000. *Definindo a vida.* In: El-Hani, C. N. & Videira, A. A. P. Eds. *O que é vida ? Para entender a Biologia do Século XXI.* Relume Dumará, Rio de Janeiro, RJ, p.31-56.

[13] Holland, J. H., 1995. *Hidden order. How adaptation builds complexity.* Perseus Books. Cambridge, MA, p. 185.

[14] Holland, J. H., 1999. *Sistemas complexos adaptativos e algoritmos genéticos.* In: Nussenzveig, H. M., Ed. Complexidade e Caos. Editora UFRJ/COPEA, Rio de Janeiro, RJ, p. 213-230.

[15] Ingberg, D. E., 1998. *The architecture of life.* Scientific American **278:** 30-39.

[16] Johnson, S., Emergências, 2003. *A dinâmica de rede em formigas, cérebros, cidades e softwares.* Jorge Zahar, Rio de Janeiro, p. 231.

[17] Kauffman, A. S., 1997. *"O que é a vida": Schrödinger estava certo ?* In: Murphy, M. P. & O'Neill, L. A. J. Eds. *"O que é a vida?" 50 anos depois*, p. 101-135.

[18] Kauffman, A. S., 2000. *Investigations.* Oxford University Press, NY, p. 287.

[19] Lazebnik, Y., 2002. *Can a biologist fix a radio ? Or, what I learned while studying apoptosis.* Cancer Cell **2:** 179-182.

[20] Lenzi, H. L., Kimmel, E., Schechtman, H., Pelajo-Machado. M., Roamha, M. S., Pacheco, R. G., Mariano, M. & Lenzi, J. A., 1998. *histoarchitecture of schistosomal granuloma development and involution: morphogenetic and biochemical approaches.* Mem Inst Oswaldo Cruz **93:** 141-151.

[21] Lenzi, H. L., Kimmel, E., Schechtman, H., Pelajo-Machado, M., Vale, B. S., Panasco, M. S. & Lenzi, J. A., 1999. *Collagen arrangement in hepatic granuloma in mice infected with Schistosoma mansoni: Dependence on fiber radiation centers.* Braz J Med Bio Res **32:** 639-543.

[22] Lenzi, H. L., Pacheco, R. G., Pelajo-Machado, M., Panasco, M., Roamha, W. S. & Lenzi, J. A., 1997. *Immunological system and Schistosoma mansoni: Co-evolutionary immunobiology. What is the eosinophil role in parasite-host relationship ?*, Mem Int Oswaldo Cruz **92** (Suppl. II): 19-32.

[23] Lenzi, H. L. & Romanha, W. S., 2003. *Schistosomal granuloma is like a small multicellular organism that operates as a complex system.* In: R. Mondaini, ed. Proceedings of the Second Brazilian Symposium on Mathematical and Computational Biology. E-papers Serviços Editoriais, Rio de Janeiro, p.257-282.

[24] Leutwyler, K., 2002. *Interview with Stuart Kauffman.* In: Scientific American Eds. *Understanding the genome.* Warner Books, NY, p.99-115.

[25] Louzoun, Y., Solomon, S., Atlan, H. & Cohen, I. R., 2001. *Modeling complexity in biology.* Physica A **297:** 242-252.

[26] Maturana, H., 2000. *O que se observa depende do observador.* In: Thompson, W. I. Ed. Gaia, *Uma teoria do conhecimento.* Editora Gaia LTDA. São Paulo, SP, p.61-90.

[27] Maturana, H., 1997. *A ontologia da realidade.* Editora UFMG, Belo Horizonte, p. 350 .

[28] Maturana, H., 2001. *Cognição, ciência e vida cotidiana.* Editora UFMG, Belo Horizonte, p. 203.

[29] Maturana, H. & Varela, F. J., 1994. *De máquinas y seres vivos Autopoiesis: la organization de lo viviente.* Editora Universitária, Santiago de Chile, p. 137.

[30] May, R. M., 2004. *Uses and abuses of mathematics in biology.* Science **303:** 790-793.

[31] Morin, E., 1977. *O método 1. A natureza da natureza.* Publicações Europa-América. Sintra, Portugal, p. 363.

[32] Piaget, J., 1967. *Biologia y conocimiento.* Siglo Veintiuno Editores, SA. Madrid, Espanha, p. 338.

[33] Rowe, G. W., 1994. *Theoretical models in biology The origin of life, the Immune System and the Brain.* Clarendon Press, Oxford, p. 420.

[34] Sternberg, R. V., 2000.*Genomes and form. The case for teleomorphic recursivity.* Ann. New York Acad. Sci. **901:** 225-236.

[35] Steinberg, M. S.. *Adhesion in development: an historical overview.* Development Biology **180:**377-388.

[36] Weaver, W., 1948. *Science and complexity.* American Scientist **36:** 535.

Índice

Neurônio biológico 3, 19, 20

Potencial de Nernst 5, 6

Capacitância da membrana 6

Bomba de sódio-potássio 6, 7

Hodgkin e Huxley (H-H) 8, 10, 11, 12, 13, 18, 27

Fixação de voltagem (voltage clamp) 9, 10

Corrente/canal de potássio 12, 27, 28

Corrente/canal de sódio 14, 27, 28, 29

Hindmarsh e Rose (H-R) 22, 23, 24, 29

Fitzhugh 22

Neurônio eletrônico (EN) 26

Modelo estocástico 27, 30

Redes complexas 34, 38

WWW 38, 39, 46,

Grafos aleatórios 35, 37, 42

Poisson 35, 36

Lei de potência 35, 37, 39, 44, 72

Conectividade 39, 40, 41, 42, 52

Rede metabólica 41, 44, 47

Coeficiente de clusterização 36, 37, 44

Barabási e Albert 46, 49, 72

Lemke 46, 49, 50

Autopoese 55

"Evolvability" 56, 57

Estabilidade 58, 59

Granuloma 59, 60, 66, 68, 72

Rotulagem ("tagging") 60, 61

CAM 61

SAM 61

Subdeterminação 69

Tensegridade 70, 71