

HALLAN SOUZA E SILVA

UM MODELO DE AUTÔMATOS CELULARES PARA A
DIFERENCIAÇÃO CELULAR

Tese apresentada à Universidade
Federal de Viçosa como parte das exi-
gências do programa de Pós-Graduação
em Física Aplicada para a obtenção do
título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL

2003

Aos meus pais,
Vilela e Mara

Agradecimentos

- A Deus, por haver vida e a oportunidade de questionar.
- A Ju, Camila, Diogo, Felipe e a ti Sílvia, pelos momentos felizes e pelo apoio aos meus estudos.
- A Marcelo, por sua amizade, confiança e por sua orientação nos trabalhos científicos e nos caminhos da vida.
- Ao meu amigo e colega Sidiney, pela ajuda na linguagem FORTRAN.
- A todos os professores do departamento de Física.
- Aos meus colegas de curso.
- A CAPES, pelo apoio financeiro, sem o qual, tornaria difícil a realização deste curso.

Conteúdo

Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	ix
Resumo	x
Abstract	xi
1 Introdução	1
2 Diferenciação Celular e Regulação Gênica	3
3 Autômatos Celulares	10
3.1 Introdução	10
3.2 Exemplos de autômatos celulares e suas aplicações	16
3.2.1 Regras elementares de Wolfram	16
3.2.2 Jogo da Vida (GAME OF LIFE)	18
3.2.3 AC para meios excitados	19
4 Modelo de Autômatos Celulares para a Diferenciação Celular	23
4.1 Introdução	23
4.2 Dinâmica Intracelular	24
4.3 Divisão Celular	27
4.4 Dinâmica Intercelular	27
4.5 Resultados	30
5 Conclusões	43

Lista de Figuras

2.1	a) Descrição feita por Marcello Malpighi do embrião de galinha. b) Representação artística de um homúnculo na parte anterior do espermatozóide.	4
2.2	Desenvolvimento em mosaico	5
2.3	Proteína reguladora de transcrição gênica	6
2.4	Ciclo vital do nematóide <i>C. elegans</i>	7
2.5	Ciclo vital do sapo <i>Xenopus laevis</i>	8
3.1	Sítio sendo influenciado por seus sítios vizinhos e enviando um sinal resposta.	11
3.2	Padrão espaço-temporal indicando o momento exato em que um AC unidimensional entrou em ciclo.	11
3.3	Bacias de atração para uma das regras de Wolfram	12
3.4	Padrões espaço-temporais característicos de regras típicas em cada uma das quatro classes de Wolfram.	13
3.5	Distância de Hamming em função do tempo para regras típicas em cada uma das quatro classes de Wolfram.	15
3.6	Padrão espaço-temporal (a) gerado pela regra 90 e concha marinha (b).	17
3.7	Vizinhança de Moore bidimensional envolvendo os 1º e 2º vizinhos do sítio central.	18
3.8	Padrões espaciais do jogo da vida para vários passos de tempo.	19
3.9	Reação de Belousov-Zhabotinsky (a) e excitações em tecidos cardíacos (b).	20

3.10 Ondas "circulares" (a) e espirais (b) geradas pelas regras de evolução do autômato celular para meios excitados.	21
4.1 Esquema para a o modelo de autômatos celulares para a diferenciação celular.	24
4.2 Esquema do acoplamento intercelular	29
4.3 Ilustração de células operando nos três regimes da dinâmica intracelular.	31
4.4 Diagrama de fase do modelo sem interações célula-célula para a sensibilidade as condições iniciais.	32
4.5 Dano final médio em função do dano inicial para os três regimes dinâmicos intracelulares.	33
4.6 Frequência da ocorrência de danos finais para os três regimes dinâmicos intracelulares.	33
4.7 Média do dano final dividido pelo dano inicial em função da probabilidade P_1	34
4.8 Número médio de atratores distintos (tipos celulares) como função de P_1	36
4.9 Número médio de tipos celulares como função do número de genes na célula.	36
4.10 Período médio dos diferentes atratores ou tipos celulares em função da probabilidade P_1	37
4.11 Período médio dos atratores em função do número de genes.	37
4.12 Evolução do número de células diferenciadas ao longo do desenvolvimento embrionário para os três regimes de diferenciação (congelado, marginal e caótico). No detalhe mostramos o regime marginal sendo comparada com dados experimentais.	38
4.13 Evolução do período médio das células ao longo do desenvolvimento embrionário.	39
4.14 Aumento da estabilidade celular com a diminuição da fração de genes oscilantes durante o desenvolvimento embrionário.	39

4.15	Evolução do número de células sem atrator definido ao longo do desenvolvimento embrionário.	41
4.16	Padrões de diferenciação celular nos três regimes dinâmicos do modelo.	42

Lista de Tabelas

3.1	Tabela contendo a regra 90 ($k = 2$ e $r = 1$) dos autômatos celulares unidimensionais de Wolfram	17
-----	---	----

Resumo

SILVA, Hallan Souza e, M.S., Universidade Federal de Viçosa, Março, 2003.

Um modelo de Autômatos Celulares para a Diferenciação Celular. Orientador: Marcelo Lobato Martins. Conselheiros: Gino Ceotto Filho, José Arnaldo Rezende e Ricardo Reis Cordeiro.

Um dos principais problemas da biologia é entender o controle da expressão gênica e a diferenciação celular. Neste trabalho, por meio de um modelo de autômatos celulares para a diferenciação celular, buscamos entender como um padrão de expressão gênica diferenciado pode ser estabelecido e gerar de forma ordenada um organismo com diferentes tipos celulares. O modelo leva em conta a evolução de redes de genes, cada uma delas representando uma célula (dinâmica intracelular), interações célula-célula por meio de acoplamentos entre os seus genes (dinâmica intercelular) e a divisão celular. As simulações computacionais do modelo mostram que a dinâmica intracelular de uma célula isolada das demais pode ser congelada, caótica ou marginal. Como reflexo da dinâmica intracelular, as simulações computacionais mostram que tipos celulares diferenciados surgem em células que interagem e se dividem nos regimes caótico e marginal. Contudo, análises de estabilidade e taxas de diferenciação celular sugerem que o comportamento biológico corresponde ao regime marginal. Assim, o presente modelo demonstra que a diferenciação celular compatível com o que se observa na natureza, ocorre em redes de genes operando nas bordas do caos (regime marginal).

Abstract

SILVA, Hallan Souza e, M.S., Universidade Federal de Viçosa, March, 2003.

A Cellular Automata model for Cell Differentiation. Adviser: Marcelo Lobato Martins. Committee members: Gino Ceotto Filho, José Arnaldo Redinz e Ricardo Reis Cordeiro.

One of the most challenging problems in modern biology is the understanding of the control of gene expression and cell differentiation. In this work a cellular automata model for cell differentiation is proposed in order to investigate how developmental processes can spontaneously generate coordinated and inhomogeneous spatiotemporal patterns with differentiated cell types. The model takes into account the time evolution of the gene networks representing each cell (intracellular dynamics), cell-cell interactions, through gene couplings (intercellular dynamics), and the cell division. Computer simulations of the model reveal that the intracellular dynamics of an isolated cell exhibits three regimes: frozen, chaotic and marginal. Furthermore, on the chaotic and marginal regimes cells differentiate through the interplay between intracellular dynamics and cell-cell interactions. However, stability analysis and the rates of cell differentiation suggest that the observed biological behavior corresponds to the marginal regime of the model. So, the present model show that a society with differentiated cell types exhibiting the main features observed in biological morphogenesis emerges from a marginally stable regime on the edge of chaos.

Capítulo 1

Introdução

Um dos maiores avanços da evolução natural, sempre em busca de uma melhor adaptação dos seres vivos ao meio ambiente, foi a diferenciação celular [1, 2]. A diferenciação celular apareceu com o surgimento dos primeiros organismos multicelulares e é o processo pelo qual as células se modificam tanto estrutural como funcionalmente levando à formação de diversos sistemas (sistema nervoso, circulatório, respiratório etc.) presentes em um organismo. Assim, a diferenciação celular é que forma um organismo altamente capacitado a realizar os mais variados tipos de funções necessárias à sua manutenção e reprodução. Como veremos mais adiante no capítulo 2 (Diferenciação Celular e Regulação Gênica), desde a antiguidade existem estudos sobre embriologia. Hoje, o que se sabe é que a diferenciação celular está ligada a atividade genética da célula, ou seja, que diferentes padrões de expressão gênica levam a diferentes tipos celulares.

O estudo dos fenômenos não-lineares envolvendo muitos agentes (partículas ou indivíduos) que interagem entre si é, em geral, muito difícil de ser feito com base em métodos analíticos. Entretanto, o uso intensivo dos computadores na investigação científica tem permitido um avanço considerável no entendimento dos aspectos básicos desses sistemas complexos. Como veremos em alguns exemplos de autômatos celulares no capítulo 3 (Autômatos Celulares), as simulações computacionais desses modelos discretos revelaram que comportamentos complexos podem ser gerados por um conjunto relativamente simples de sub-processos [3], o que os torna instrumentos im-

portantes para se estudar os fenômenos complexos.

Em biologia os sistemas complexos estão por toda a parte, desde o nível molecular, como ilustrado pelos mecanismos de regulação gênica, até a dinâmica de metapopulações ou a formação de teias tróficas em ecologia. Por essa razão, cada vez mais a biologia se alia à física em busca de ferramentas matemáticas e técnicas de simulação para o estudo de problemas difíceis de serem explorados experimentalmente. O objetivo de nossa pesquisa foi modelar os mecanismos do controle de expressão gênica e da diferenciação celular. Buscamos, por meio do estudo da dinâmica (estabilidade, transientes, ciclos limites, atratores [4]) de um modelo de autômatos celulares acoplados e capazes de replicação, discutido no capítulo 4 (Modelo de Autômatos Celulares para a Diferenciação Celular), compreender como um padrão de expressão gênica diferenciado pode ser estabelecido e gerar de forma ordenada um organismo com diferentes tipos celulares.

Finalmente, as conclusões obtidas desse estudo e as perspectivas futuras de seu desenvolvimento serão discutidas nos capítulos 5 e 6 respectivamente.

Capítulo 2

Diferenciação Celular e Regulação Gênica

Desde a antiguidade, por volta do século V a.C., na Grécia, já se estudava o problema da embriologia (hoje também conhecida como biologia do desenvolvimento). A embriologia é a ciência que trata da formação e do desenvolvimento do embrião. Dentre as teorias existentes na época, uma que chamou maior atenção e que durou por vários séculos, foi a do preformacionismo de Aristóteles (filósofo grego). Segundo o preformacionismo o embrião já estaria formado desde o início, cabendo-o apenas o aumento de tamanho. Ainda mais, segundo o preformacionismo, o primeiro embrião de uma determinada espécie continha todos os outros embriões que viriam a existir. Por volta do século XVII esta teoria ainda persistia e influenciava vários embriologistas da época, os quais, em sua maioria, não acreditavam que forças físicas pudessem moldar um ser vivo. Marcello Malpighi (anatomista italiano), por exemplo, utilizando-se de um microscópio, realizava descrições nítidas do estágio inicial do embrião de galinha (Figura 2.1 (a)), mas ainda assim, influenciado pela idéia do preformacionismo, acreditava que as partes do embrião eram tão pequenas que não podiam ser observadas. Outros preformacionistas acreditavam que o espermatozóide continha o embrião formado na sua parte anterior (Figura 2.1 (b)).

Um dos grandes avanços para a embriologia, já no século XIX, se deu com a teoria celular, proposta pelo botânico Mathais Schleiden e pelo fisiologista Theodor

Schwann, ambos alemães, que estabeleceu o fim do preformacionismo. Segundo esta teoria, todos os seres vivos eram constituídos de unidades básicas chamadas de células, sendo o óvulo fecundado (zigoto) uma única célula. Assim, novas células no embrião eram formadas por divisões celulares, a partir da qual surgiriam novos tipos celulares. A questão agora era determinar como poderiam surgir novos tipos celulares a partir do zigoto, ou seja, quais os mecanismos que levariam à diferenciação celular.

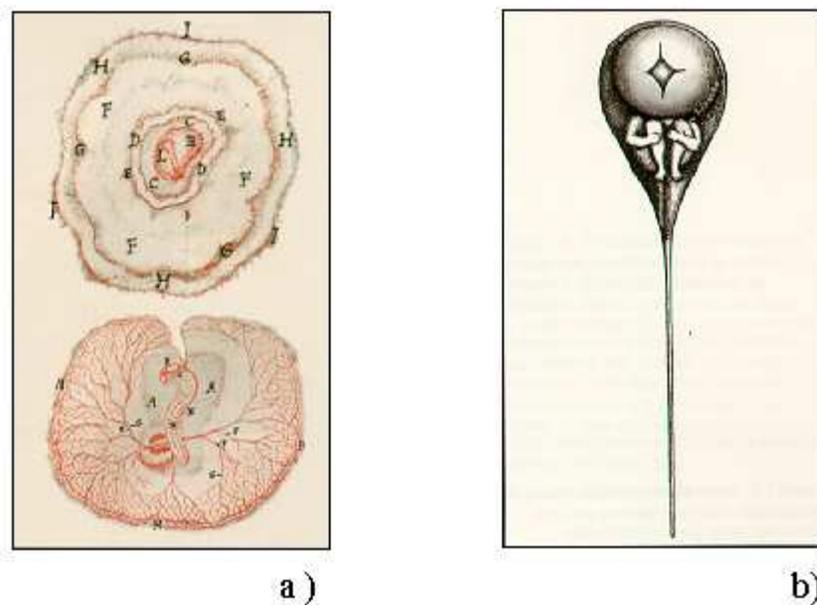


Figura 2.1: (a) Estágio inicial do embrião de galinha (superior), e dois dias depois (inferior). Em b) é mostrada a representação artística de um homúnculo na parte anterior do espermatozóide. Figura retirada da Ref. [2].

O desenvolvimento em mosaico, em 1880, foi uma das primeiras teorias para a diferenciação celular, proposta por August Weissmann (biólogo alemão). No desenvolvimento em mosaico, o ovo ou zigoto, continha substâncias nucleares capazes de influenciar o comportamento celular tanto funcional como estruturalmente. Estas substâncias estavam distribuídas de maneira irregular pelo ovo, portanto, ocorrendo a divisão celular, as duas células resultantes conteriam componentes diferentes, levando assim ao surgimento de tipos celulares diferentes (Figura 2.2).

Até a descoberta do gene e a sua importância na definição e na transmissão

das características do organismo, a embriologia andava separada da genética. O gene, segmento do DNA que codifica uma proteína, é o responsável pela especialidade das células. As células precursoras das células vermelhas expressam o gene da hemoglobina capacitando-as para o transporte de oxigênio. Nas células musculares, são expressos genes que sintetizam a actina e miosina, responsáveis pela contração muscular. Os genes responsáveis por uma proteína específica de uma célula, que a difere das outras células, formam um conjunto bem menor do que os outros genes ligados às atividades de manutenção da vida na célula.

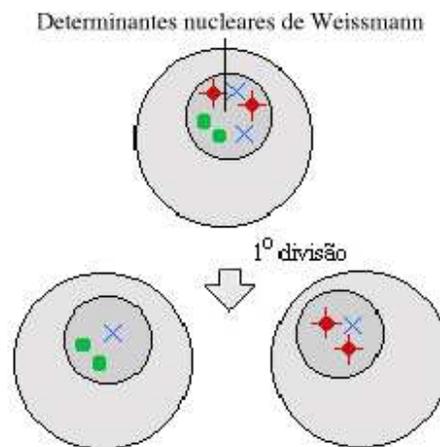


Figura 2.2: Desenvolvimento em mosaico: substâncias nucleares distribuídas de forma irregular no ovo levarão no futuro a diferentes tipos celulares.

Na célula ovo se encontra a informação genética que determinará as características genéticas do embrião e posteriormente do adulto. Por meio de divisões celulares, o número de células do embrião aumenta e os mesmos genes se repetem em todas as células resultantes do processo. Sendo o genótipo (constituição genética) de cada um desses tipos celulares idêntico, uma célula difere da outra apenas pelo padrão de expressão e repressão de certos subconjuntos de genes. Ou seja, uma célula nervosa é diferente de uma célula óssea porque existem diferentes atividades gênicas nelas e não porque existem diferentes genes. Essas células diferenciadas sintetizam e mantêm diferentes conjuntos de moléculas e proteínas, os quais são responsáveis

pelas funções específicas de cada célula. Portanto, a atividade genética diferenciada nas células estabelece uma forte conexão entre os processos de regulação gênica e de diferenciação celular.

A atividade genética diferenciada se deve à capacidade dos genes de modificar a atividade de outros genes por meio de fatores de transcrição (proteínas reguladoras) que podem ativar ou desativar outros genes (Figura 2.3). Os genes possuem regiões controladoras que contêm sítios de ligação para vários tipos de fatores de transcrição (ativadores e/ou inibidores). A presença de uma determinada combinação de proteínas regulatórias é o principal responsável pelo início e pela manutenção ou não da expressão de qualquer gene. A ativação ou inibição do gene correto no momento correto é uma questão central no desenvolvimento embrionário.

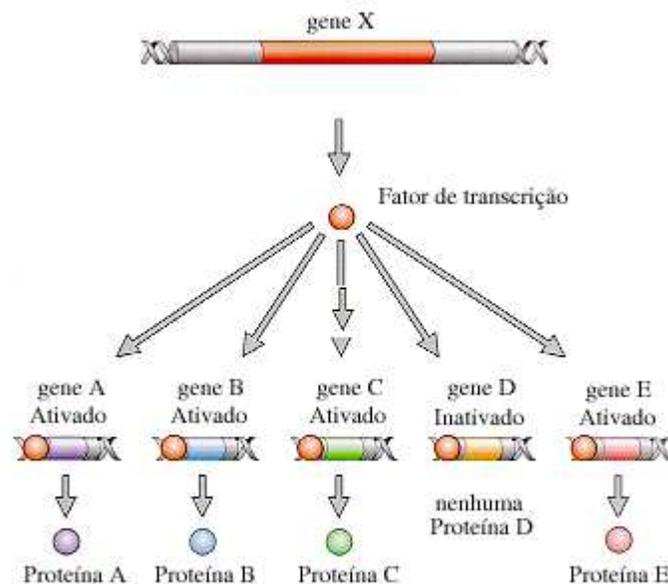


Figura 2.3: Proteína reguladora do gene X ativa os genes A, B, C e E a produzirem as suas proteínas e reprime a expressão do gene D impedindo-o desta forma de produzir a sua proteína D. Figura adaptada da Ref. [2].

A regulação gênica se deve também a mensagens químicas provenientes de outras células e de fatores não genéticos de origem ambiental, tais como a ação de drogas, radiações etc. Tais fatores levam por exemplo, gêmeos geneticamente idênticos

a terem aparências visivelmente diferentes.

Hoje o que se sabe sobre os mecanismos do desenvolvimento resulta de estudos envolvendo um número pequeno de organismos, escolhidos por sua facilidade de manipulação experimental e análise genética. Observa-se na figura 2.4 o ciclo vital do *Caenorhabditis elegans*, verme que apresenta apenas os órgãos necessários para a sua alimentação e reprodução, e cujo corpo é totalmente transparente, facilitando o acompanhamento de cada célula.

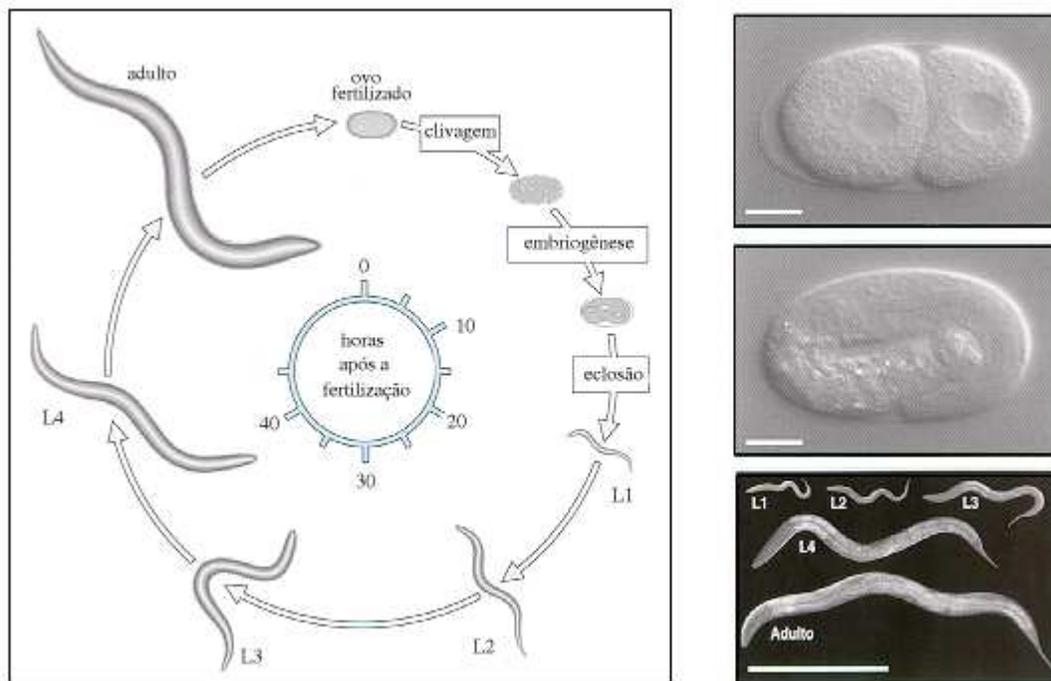


Figura 2.4: No lado esquerdo da figura, observa-se o ciclo vital do nematóide *C. elegans*. Após a clivagem (divisão das células sem aumento de tamanho do embrião) e a embriogênese, há quatro estágios larvais (L1-L4). No lado direito da figura, observa-se: a primeira divisão celular (alto, barra de escala = 0,1 mm); um embrião após a gastrulação (movimentos celulares e rearranjo de tecidos), larva enrolada (centro, barra de escala = 0,1 mm), estágios larvais e o adulto (embaixo, barra de escala = 0,5 mm). Figura adaptada da Ref. [2].

Um outro animal de bastante interesse na embriologia é a rã *Xenopus laevis*, que possui ovos grandes e embriões robustos que podem ser facilmente cultivados.

Observa-se na figura 2.5 o seu ciclo vital que pode representar os estágios básicos do desenvolvimento em todos os animais.

O conhecimento sobre a ontogenia, cuja expansão tem sido muito rápida graças aos avanços das técnicas da biologia molecular, sugere que a morfogênese progride via rotas de sinalização, mecanismos regulatórios e genes efetores universais ou conservados tanto nos invertebrados quanto nos vertebrados.

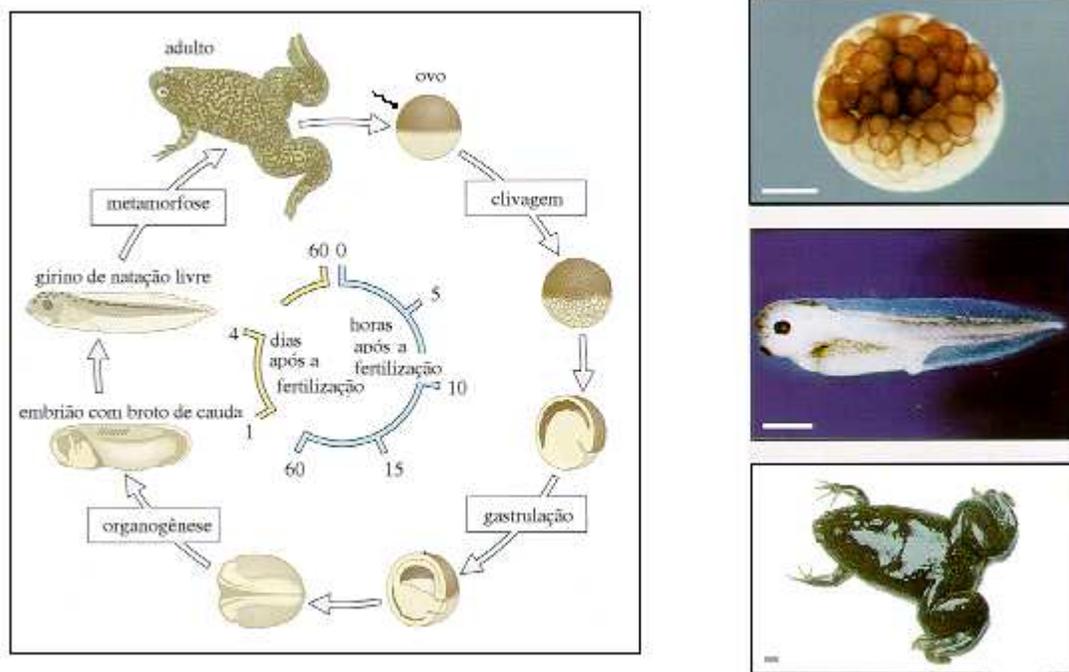


Figura 2.5: No lado esquerdo da figura, observa-se o ciclo vital da rã *Xenopus laevis*. No lado direito da figura, observa-se: um embrião logo após a clivagem (alto, barra de escala = 0.5 mm); um girino de natação livre (centro, barra de escala = 1 mm); e uma rã adulta (embaixo, barra de escala = 1 cm). Figura adaptada da Ref. [2].

Na morfogênese, células escolhem entre proliferação e diferenciação celular em todas as divisões celulares. A proliferação celular envolve a duplicação exata e segregação da informação genética na forma de ácidos nucleicos bem como a divisão equalitária dos constituintes citoplasmáticos, gerando células filhas que são essencialmente idênticas aos seus pais. Por outro lado, a diferenciação celular usa sinais regulatórios e a segregação assimétrica de determinantes do destino celular nas células

descendentes para produzirem células, diferentes das células da geração anterior. Tais células diferenciadas irão formar tecidos e órgãos tendo funções específicas.

Desde o trabalho seminal de Turing [5] no qual um mecanismo de reação-difusão foi proposto, a morfogênese tem atraído continuamente a atenção de cientistas interessados na formação de padrões e auto-organização. Nos últimos anos, vários modelos matemáticos baseados em mapas acoplados [6], equações diferenciais ordinárias [7-10] e autômato celulares [11] têm sido investigados. Em particular, a "teoria da diversificação isóloga" proposta por Kaneko e Yomo [12] como um mecanismo geral de diferenciação celular espontânea, inclui redes metabólicas, preservadas sob divisão mitótica, e interações celulares realizadas mediante o contato entre elas. De acordo com esta teoria, a diferenciação celular emerge da amplificação de pequenas diferenças entre as células por meio da dinâmica caótica das redes químicas intracelulares e as interações entre células.

Capítulo 3

Autômatos Celulares

3.1 Introdução

Uma das ferramentas computacionais utilizadas pela física para procurar entender fenômenos complexos são os chamados autômatos celulares (AC) [14]. Os autômatos celulares são N elementos idênticos, usualmente localizados em uma rede regular d -dimensional. Cada elemento, que também pode ser chamado de sítio ou célula, pode possuir k estados, por exemplo, 1 ou 0, ativo ou inativo, preto ou branco ou vermelho, morto ou vivo, ou outro conjunto de valores que irá depender do fenômeno a ser estudado. A atualização do estado de um sítio se dá por meio de regras de evolução, idênticas para todos os sítios. O sítio a ser atualizado analisa os sinais (**inputs**) enviados pelos sítios a ele conectados (usualmente seus vizinhos) e/ou um sinal enviado por ele mesmo e, de acordo com a regra de evolução, reage alterando o seu estado interno. Esse novo estado será o sinal de resposta atualizado (**output**) para outros sítios no próximo instante de tempo (Figura 3.1). Dependendo da regra de evolução, padrões complexos desenvolvem-se e se propagam por todo o sistema no espaço e no tempo. Nos ACs, a estrutura global emerge a partir de regras locais, uma característica de sistemas complexos [3].

Os autômatos celulares possuem um número finito de configurações possíveis. Por exemplo, para um AC com $k = 2$ estados e $N = 10$ sítios existirá um total de $k^N = 2^{10} = 1024$ configurações possíveis para serem visitadas. Logo, à medida que o

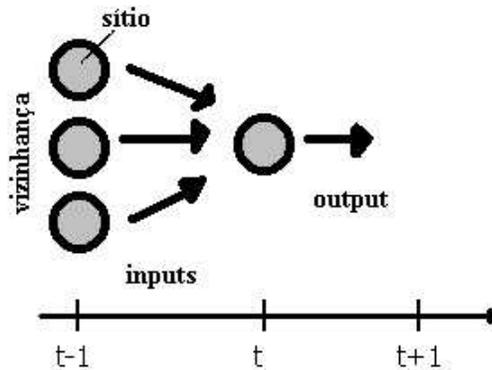


Figura 3.1: Sítio sendo influenciado por seus sítios vizinhos e enviando um sinal resposta.

tempo passa o AC terá que reentrar eventualmente em um conjunto de configurações que já visitou previamente. A partir daí, se as regras do AC forem determinísticas, o sistema segue em ciclo (Figura 3.2) que é chamado de atrator, ou seja, uma vez que o sistema cai em um atrator, permanecerá lá.

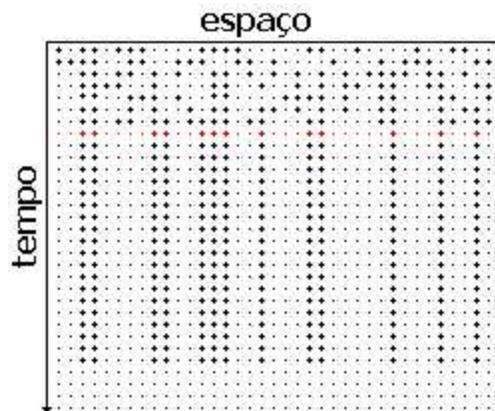


Figura 3.2: Padrão espaço-temporal de um AC unidimensional com $k = 2$ estados (cheio e vazio) e $N = 37$ sítios. Cada linha representa uma configuração. A linha em vermelho indica o momento exato em que este AC unidimensional entra em ciclo.

As trajetórias, ou sequências de configurações, que levam o AC determinístico (que usa regras determinísticas) a um determinado atrator, fazem parte da bacia de atração desse atrator e representam comportamentos transientes (Figura 3.3).

Os autômatos celulares foram classificados por Wolfram [14] em quatro classes (Figura 3.4) com base nos padrões espaço-temporais gerados por sua evolução:

Classe I: A evolução temporal leva o AC a um estado homogêneo no qual todos os sítios atingem um mesmo valor (pontos fixos). (Figura 3.4 (a))

Classe II: A evolução no tempo leva o AC a um estado estável e periódico no tempo e espacialmente não homogêneo, ou seja, no qual nem todos os sítios possuem o mesmo valor. (Figura 3.4 (b))

Classe III: A evolução no tempo leva o AC a um estado desordenado, não possuindo padrão reconhecível. (Figura 3.4 (c))

Classe IV: A evolução no tempo leva o AC a gerar estruturas complexas com evolução imprevisível, que podem se propagar, criar e/ou aniquilar outras estruturas. Essa evolução complexa pode terminar após transientes cujos comprimentos no tempo podem ser muito grandes. (Figura 3.4 (d))



Figura 3.3: Quatro bacias de atração e seus respectivos atratores (no centro) para uma das regras de Wolfram, em preto temos o espaço de configurações onde um círculo representa uma configuração, a figura foi extraída da Ref. [13].

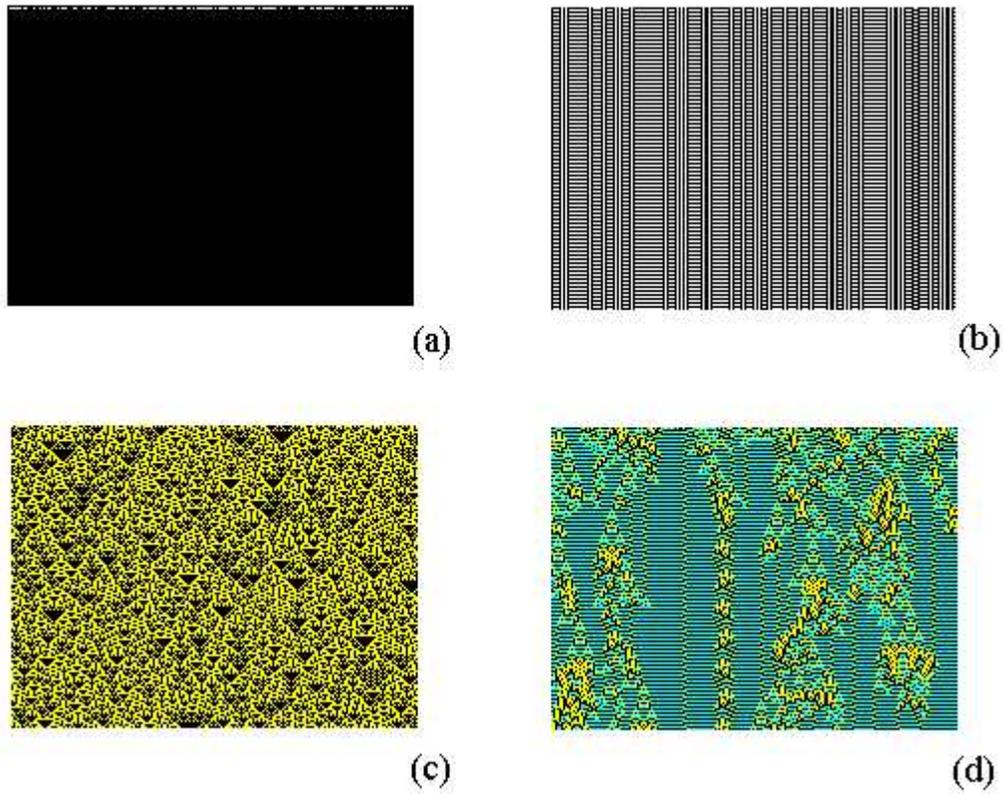


Figura 3.4: Padrões espaço-temporais característicos de regras típicas em cada uma das quatro classes de Wolfram. Classe I (a), classe II (b), classe III (c), classe IV (d).

Uma técnica para se estudar a estabilidade dos autômatos celulares consiste em comparar a evolução conjunta do sistema original e de uma réplica dele na qual foi introduzida uma perturbação (mutação, dano) qualquer em um sítio. Por exemplo, a conversão do estado desse sítio de ativo para inativo. Comparando-se a trajetória das configurações original e perturbada, podemos definir a **distância de Hamming (hd)** entre elas. A hd é o número total de sítios nos quais os estados na configuração original e na réplica perturbada diferem entre si dividido pelo número total de sítios (N).

Por exemplo, para um AC unidimensional com N sítios:

$$hd(N) = \frac{1}{N} \left[N - \sum_{i=1}^N \delta_{\sigma_i(t)\beta_i(t)} \right] \quad (3.1)$$

onde $\sigma_i(t)$ e $\beta_i(t)$ são os estados dos sítios i no tempo t , da configuração original e da réplica, respectivamente. O símbolo δ_{xy} é o delta de Kronecker, assumindo 1 se $x = y$ e 0, caso contrário. Dependendo da estabilidade do atrator no qual se encontrava o AC, a perturbação pode levar o sistema a uma bacia de atração diferente da original.

Podemos também distinguir as 4 classes de Wolfram a partir da distância de Hamming.

Classe I: A distância de Hamming desaparece com o passar do tempo (Figura 3.5 (a)). Portanto o atrator da dinâmica é estável a qualquer perturbação.

Classe II: A distância de Hamming permanece constante no tempo e pequena (Figura 3.5 (b)).

Classe III: A distância de Hamming cresce rapidamente com o tempo, atingindo um valor de equilíbrio geralmente alto (Figura 3.5 (c)). Ainda mais, mesmo se o dano inicial for mínimo, ele se propaga por toda a cadeia do AC. Portanto as regras de classe III são instáveis.

Classe IV: A distância de Hamming apresenta um longo período transiente até que atinja o seu valor de equilíbrio (Figura 3.5 (d)). O crescimento da hd é imprevisível. Além disso, o seu valor final pode variar muito, dependendo do tamanho e da localização do dano inicial. Em geral o dano final é semelhante aos ACs de classe II. Assim, nos ACs de classe IV a dinâmica é marcada por longos períodos transientes caóticos, até que um atrator periódico estável seja finalmente atingido.

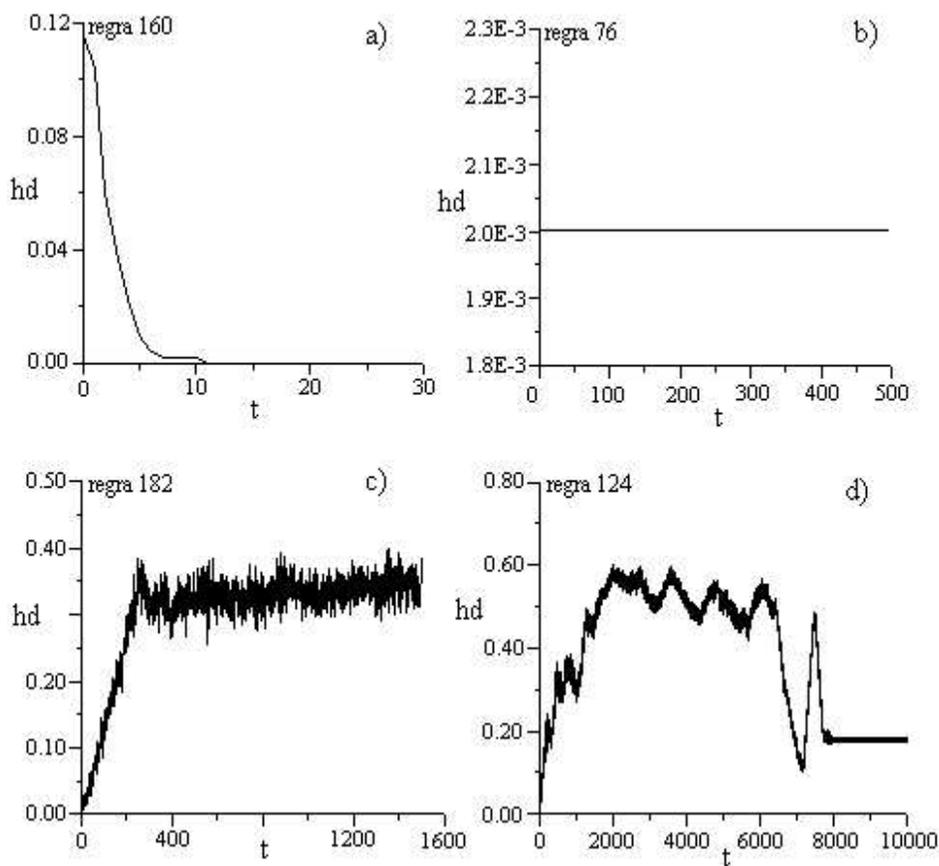


Figura 3.5: Distância de Hamming em função do tempo para regras típicas em cada uma das quatro classes de Wolfram. Classe I (a), classe II (b), classe III (c), classe IV (d).

Em suma, os autômatos celulares são modelos computacionais que são discretos no tempo, no espaço e nas variáveis dinâmicas, cujas evoluções são regidas por regras simples. Os autômatos celulares são fascinantes por sua autonomia e por seus padrões espaço-temporais, podendo servir como modelos úteis para a descrição de sistemas complexos. De fato, os ACs são sistemas formados por unidades simples que interagem entre si (uma unidade influencia o comportamento da outra) e, a medida que o sistema evolui dinamicamente, emergem comportamentos complexos decorrentes dessas influências mútuas, uma característica importante dos sistemas complexos.

3.2 Exemplos de autômatos celulares e suas aplicações

3.2.1 Regras elementares de Wolfram

Um grupo de ACs muito estudado são as regras unidimensionais de Wolfram [14], que consistem em uma cadeia linear com N sítios aos quais estão associadas variáveis dinâmicas σ_i , $i = 1, 2, \dots, N$, cada uma podendo assumir k estados, ou seja, $\sigma_i = 0, 1, \dots, k - 1$. Os valores σ_i nos autômatos celulares unidimensionais de Wolfram evoluem no tempo simultaneamente e podem, dependendo das regras locais e das condições iniciais, produzir tipos variados de comportamento. Os ACs normalmente utilizam condições periódicas de contorno $\sigma_{(i-1)} = \sigma_{(N+1-i)}$ e $\sigma_{(N+i)} = \sigma_i$, sendo $i = 1, 2, \dots, N$.

As regras de evolução dos autômatos celulares de Wolfram associam a cada uma das k^{2r+1} vizinhanças possíveis de raio r , um único valor para o seu sítio central no passo de tempo posterior

$$\sigma_i(t) = F_i \left[\sigma_{i-r}(t-1), \dots, \sigma_i(t-1), \dots, \sigma_{i+r}(t-1) \right] \quad (3.2)$$

sendo F_i uma função arbitrária que determina a regra do AC. Cada uma dessas regras é especificada por uma tabela, onde se mostra qual é o novo valor do sítio central associado a cada uma das k^{2r+1} vizinhanças no passo de tempo anterior. Na tabela da regra, qualquer vizinhança é representada por um número escrito na base k , uma vez que ela é uma sequência de $2r + 1$ dígitos capazes de assumir k valores. A tabela 3.1 mostra os valores atribuídos ao sítio central i de cada vizinhança no próximo passo de tempo para a regra 90, com $k = 2$ e $r = 1$. Nesse caso existem $2^{2+1} = 8$ vizinhanças possíveis.

Atribuiu-se o nome regra 90, porque os valores dos sítios centrais das respectivas vizinhanças no próximo passo de tempo (01011010), veja a tabela 3.1, equivale ao número 90 na base 2. Dizemos que 90 é o código decimal da regra; esse código define

completamente a regra de evolução temporal (a dinâmica) do AC.

vizinhança	111	110	101	100	011	010	001	000
$\sigma_i(t+1)$	0	1	0	1	1	0	1	0

Tabela 3.1: Valor a ser associado ao sítio central, da respectiva vizinhança, no passo de tempo posterior pela regra 90 ($k = 2, r = 1$).

Na Figura 3.6 (a) observa-se o padrão espaço-temporal caótico gerado usando-se a regra 90, a partir de uma condição inicial aleatória (preto ou branco com iguais probabilidades). Surpreendentemente tais padrões podem ser encontrados na natureza. A foto de uma concha marinha mostra uma pigmentação similar (Figura 3.6 (b)), o que nos sugere que padrões naturais, inclusive biológicos, podem ser gerados e controlados usando-se algoritmos ou regras simples.

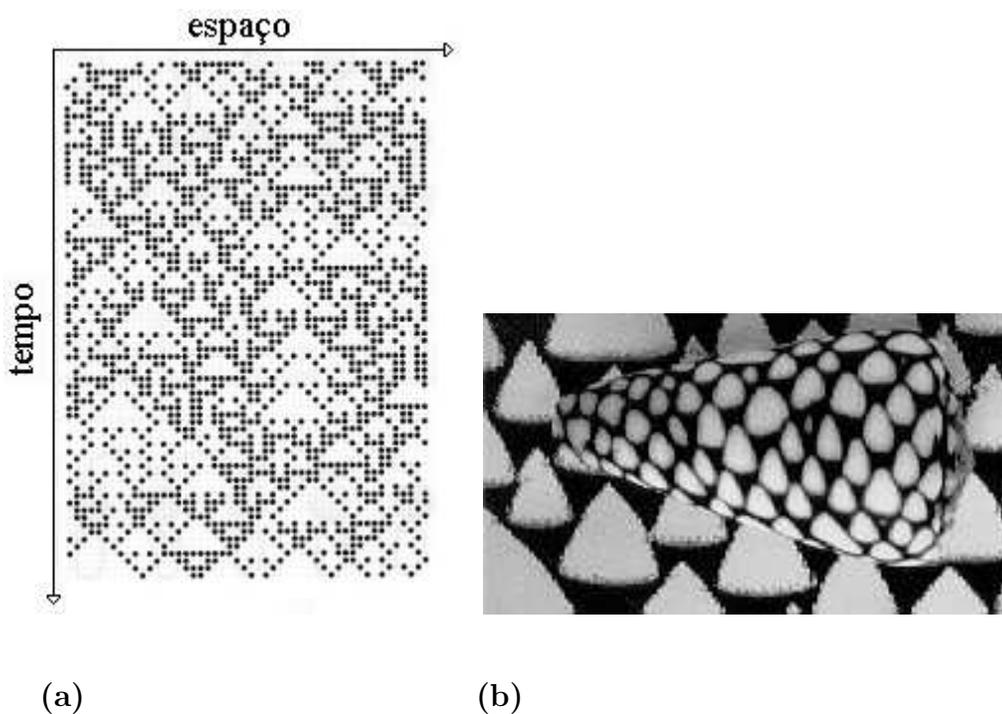


Figura 3.6: O padrão espaço-temporal (a) gerado pela regra 90 é similar à pigmentação de certas conchas marinhas (b) encontradas na natureza (parte (b) extraída da revista Ciência Hoje Vol.20; N.116; 1995).

3.2.2 Jogo da Vida (GAME OF LIFE)

Um outro exemplo de autômatos celulares muito lembrado é o clássico "GAME OF LIFE" de Conway, surgido em 1970. Neste AC bidimensional aparecem padrões de comportamento interessantes gerados a partir de regras de evolução simples que representam a competição pela sobrevivência numa população. Existem regiões onde temos pontos fixos, regiões de ciclos limites e regiões de transientes onde "criaturas" passeiam pela rede.

As regras de evolução para o **Jogo da Vida** são descritas a seguir.

1 - Em uma rede quadrada bidimensional cada célula possui 8 vizinhos contíguos, chamada vizinhança de Moore (1^o e 2^o vizinhos) (Figura 3.7).

2 - Cada célula viva sobreviverá na próxima geração se dois ou três dos seus vizinhos estiverem vivos.

3 - Se mais de três ou menos de dois de seus vizinhos estiverem vivos, a célula viva morrerá.

4 - Cada célula morta irá renascer se três dos seus vizinhos estiverem vivos.

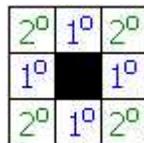


Figura 3.7: Vizinhança de Moore bidimensional envolvendo os 1^o e 2^o vizinhos do sítio central.

Na figura abaixo mostramos um padrão espaço-temporal intrigante e típico do jogo da vida.

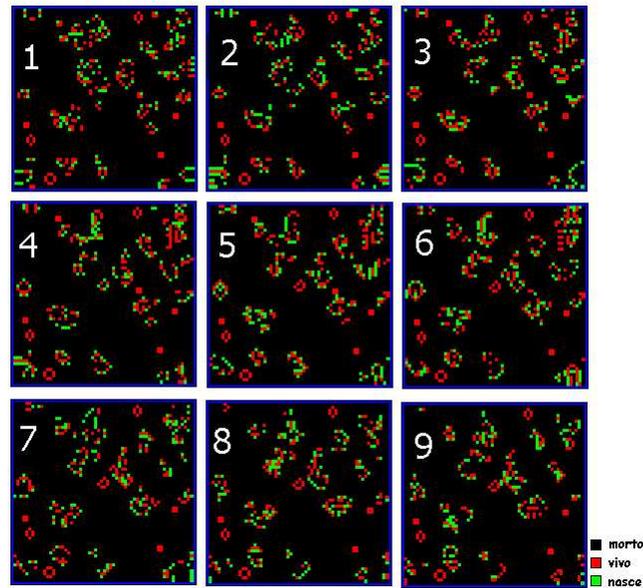


Figura 3.8: Padrões espaciais do jogo da vida para vários passos de tempo.

3.2.3 AC para meios excitados

Uma outra aplicação dos autômatos celulares está relacionada com o estudo dos meios excitados [15] (que demonstram propriedades de propagação e reflexão). Como exemplo de meio excitado temos a reação de Belousov-Zhabotinsky (Figura 3.9 (a)), onde reações químicas de oxidação autocatalíticas ocorrem. Também temos como exemplos incêndios florestais e a dinâmica de tecidos cardíacos (Figura 3.9 (b)).

Em meios de propagação bidimensional existem várias geometrias de ondas que podem ser observadas. Ondas originadas de um ponto podem, por exemplo, se espalhar em círculos concêntricos, analogamente às ondulações em um lago. Mas pode acontecer que duas ondas se aniquilem ao se encontrarem, se adequando às propriedades refratárias do meio. Um exemplo é a aniquilação das frentes de incêndios florestais ao se encontrarem devido à inexistência de vegetação para continuar a queimada. Assim, um meio excitado não-linear é diferente de um meio linear. Neste

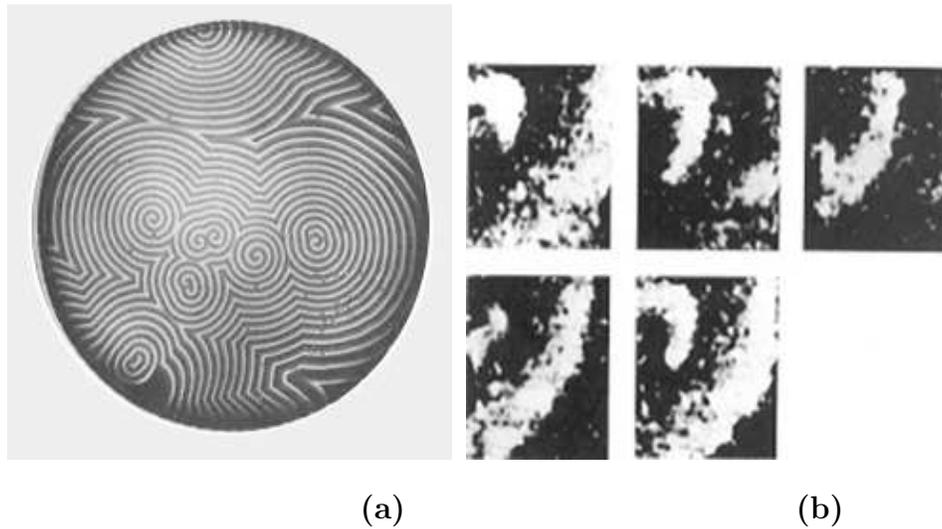


Figura 3.9: Reação de Belousov-Zhabotinsky (a) e excitações em tecidos cardíacos (b) (Figura extraída da Ref. [15]).

último, tais como ondas na superfície de um lago, passam uma pela outra sem se aniquilarem.

Um modelo de autômatos celulares bidimensional para meios excitados é descrito a seguir.

Os seus sítios podem possuir 3 estados (0 ou 1 ou 2) que representam as seguintes situações:

0 - **Quase excitado**. Este é o estado em que o sítio não está carregando uma onda, mas pode estar sendo estimulado.

1 - **Excitado**. Neste estado existe uma onda passando pelo sítio.

2 - **Refratário**. Este é o estado do sítio em que a onda passou recentemente

As regras de evolução são:

1 - Se um sítio está **quase excitado** no tempo t , então ele estará **quase excitado** no tempo $t + 1$ a menos que um ou mais dos seus vizinhos contíguos estejam **excitados** no tempo t , neste caso o sítio estará **excitado** no tempo $t + 1$.

2 - Se o sítio está **excitado** no tempo t , ele estará no estado **refratário** no tempo $t + 1$.

3 - Se o sítio está **refratário** no tempo t , ele estará quase **excitado** no tempo $t+1$. Dependendo do fenômeno estudado, pode se dar um intervalo maior para a passagem do estado **refratário** para o **quase excitado**, satisfazendo, assim, as propriedades refratárias do meio. Nos tecidos cardíacos, por exemplo, podemos ajustar o período refratário dependendo do intervalo entre as excitações.

As regras para o autômato celular não somente geram ondas se propagando como na Figura 3.10 (a), mas, também, ondas espirais como ilustrado na Figura 3.10 (b).

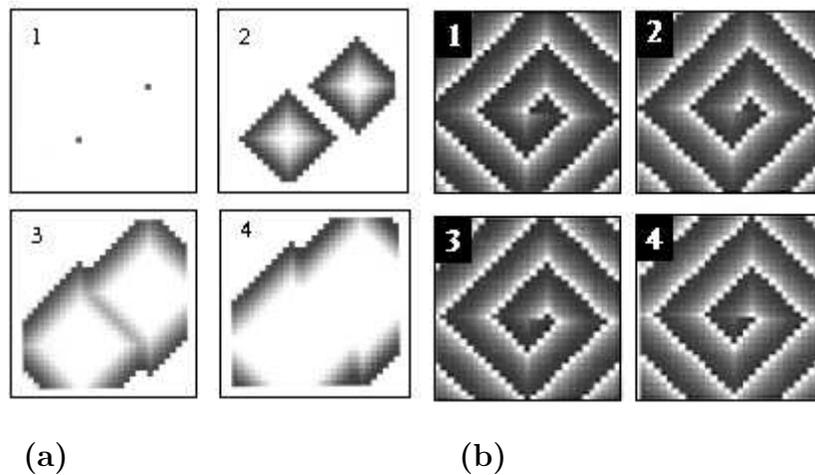


Figura 3.10: Ondas "circulares" (a) e espirais (b) geradas pelas regras de evolução do AC para meios excitados, discutido neste exemplo (Figura extraída da Ref. [15]).

Os exemplos anteriores mostram a grande versatilidade e potencial de aplicação dos autômatos celulares no estudo de sistemas complexos. Diferentemente das equações diferenciais, normalmente utilizadas pelos físicos no estudo de tais problemas e que necessitam de um grande tempo computacional, os autômatos celulares utilizam algoritmos simples (variáveis, espaço e tempo discretos). Isto permite uma rápida simulação e melhor exploração dos parâmetros relevantes do problema, o que é particularmente

importante no caso de sistemas onde os parâmetros relevantes ou mecanismos físicos envolvidos são poucos conhecidos.

Capítulo 4

Modelo de Autômatos Celulares para a Diferenciação Celular

4.1 Introdução

O modelo de autômatos celulares para a diferenciação celular envolve três ingredientes básicos (Figura 4.1): Uma dinâmica interna (intracelular) [16] que leva em conta a evolução de uma rede de genes interagentes entre si que representa uma célula, a divisão das células e uma dinâmica intercelular associada à interação mútua entre células vizinhas, criada por acoplamentos entre genes. Por meio dessas interações e acoplamentos a atividade de certos genes influencia a expressão de outros genes, sendo este o mecanismo essencial para a determinação e diferenciação celular. Como as interações célula-célula são de curto alcance (1^o e 2^o vizinhos), o modelo naturalmente incorpora a informação espacial, outro mecanismo importante para a diferenciação celular, por estar envolvido na formação de padrões no embrião (morfogênese).

A vantagem deste modelo é que ele usa variáveis binárias e regras de evolução simples o que facilita a análise do sistema. Ele parece particularmente adequado à descrição do desenvolvimento regulado encontrado em vertebrados, por exemplo, e no qual as células iniciais do embrião são multipotentes e a diferenciação é basicamente determinada pela informação posicional e sinais intracelulares independentes das linhagens celulares. Contudo, o modelo não inclui as migrações celulares cau-

sadas pela adesão celular diferenciada, que leva a importantes mudanças na forma do embrião [11]. A seguir discutiremos cada uma das dinâmicas do modelo.

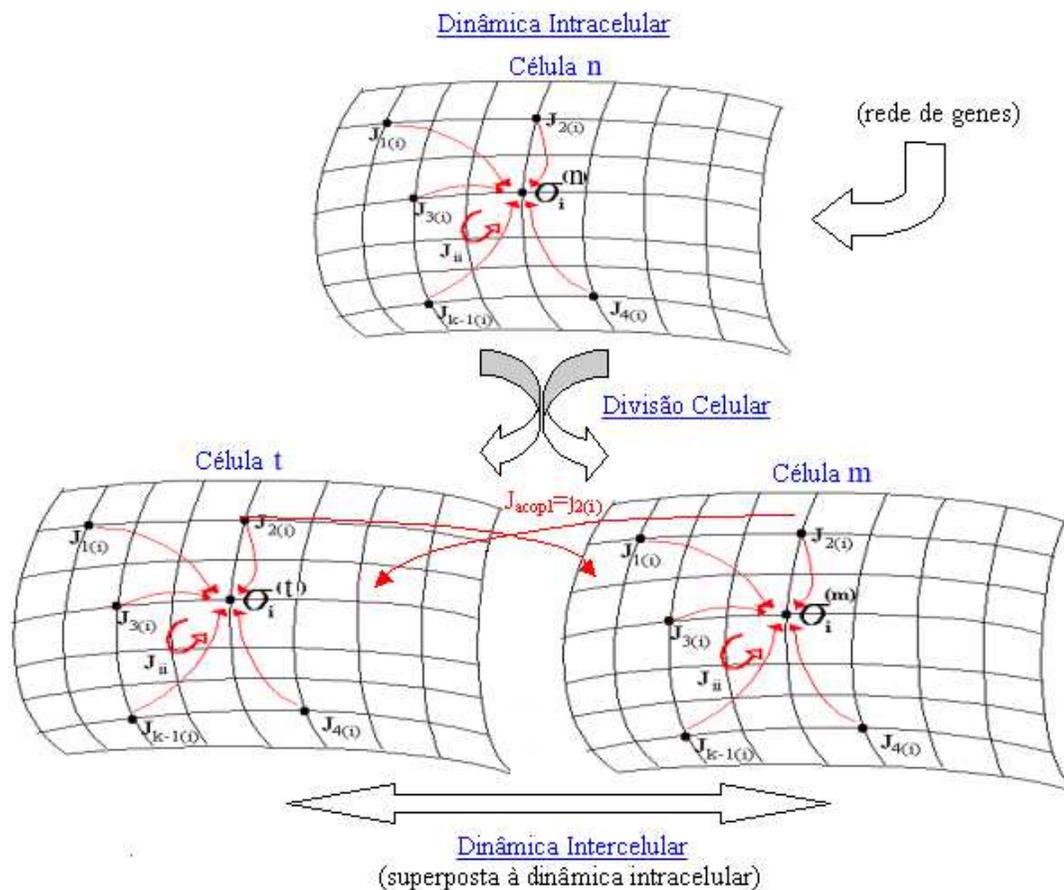


Figura 4.1: Esquema para a o modelo de autômatos celulares para a diferenciação celular.

4.2 Dinâmica Intracelular

Como na Ref. [16], o genoma de cada célula α ($\alpha = 1, 2, \dots$) é composto por um conjunto de N genes distribuídos em uma rede quadrada, caracterizados por estados binários σ_i^α , $i = 1, 2, \dots, N$. Cada σ_i^α assume o valor 1 se o gene está ativo para transcrever a proteína que ele codifica ou o valor 0 se o gene está inativo e sua proteína não é sintetizada. Cada gene i na célula α tem K sinais intracelulares (inputs) de regulação gênica. Dentre estes inputs um é a auto-regulação e os outros

$K - 1$ inputs do gene i são escolhidos da sua vizinhança de Moore com probabilidade $1 - P_2$ ou, com probabilidade P_2 , qualquer outro gene da célula que não pertença a sua vizinhança de Moore. Como observado em biologia um dado gene pode ser regulado por sua vizinhança e/ou por sequências distantes no DNA. A atividade de cada gene i na célula α é atualizada por meio da função

$$\sigma_i^\alpha(t + 1) = \text{sgn} \left[J_{ii} \sigma_i^\alpha(t) + \sum_{j=1}^{K-1} J_{j(i)} \sigma_{j(i)}^\alpha(t) \right] \quad (4.1)$$

a qual depende somente do estado anterior dos seus elementos de regulação. O termo $J_{j(i)}$ ($j = 1, 2, \dots, K - 1$) é uma constante de acoplamento que representa a ação do input j do gene i e J_{ii} é a constante de acoplamento que representa a auto-regulação. $\text{sgn}(x) = 0$ se $x \leq 0$ ou $\text{sgn}(x) = 1$ se $x > 0$. Todos os genes são atualizados simultaneamente. Portanto, de acordo com a expressão 4.1, um dado gene avalia o estímulo atual a ele conferido por todos os seus genes regulatórios inclusive ele mesmo, e se este estímulo é positivo o gene se ativa ou permanece ativo (se ele já estava ativo) no próximo passo de tempo. Caso contrário ele se torna inativo ou permanece inativo para a transcrição.

Os acoplamentos $J_{j(i)}$ modelam o conjunto de interações bioquímicas extremamente complexo e parcialmente desconhecido, característicos das redes metabólicas e genéticas. Nossa escolha das constantes $J_{j(i)}$ levou em consideração os seguintes aspectos biológicos. (i) Os produtos de um determinado gene podem ativar, inibir ou simplesmente não afetar a transcrição de um outro gene. Em nosso modelo todas as interações ativadoras assumirão um mesmo valor positivo $+J$ e as interações inibidoras $-J$. Quando o gene j não influencia a expressão do gene i , a constante de acoplamento será $J_{j(i)} = 0$. (ii) As interações entre os genes são assimétricas, isto é, $J_{i(j)} \neq J_{j(i)}$. O caso no qual um certo gene i ativa outro gene j que, por sua vez, inibe o gene i é biologicamente frequente. (iii) A auto-regulação de um gene (controle autogênico) é também frequente em organismos vivos. Em nosso modelo essa

auto-regulação é representada pelos acoplamentos J_{ii} .

Uma vez que os biólogos moleculares elucidaram apenas parcialmente a matriz de conectividade real entre os genes, os acoplamentos intracelulares $J_{j(i)}$ (e a auto-regulação J_{ii}) são escolhidos em nosso modelo de acordo com a distribuição de probabilidades.

$$P(J_{j(i)}) = P_1\delta(J_{j(i)}) + \frac{1 - P_1}{2} \left[\delta(J_{j(i)} - 1) + \delta(J_{j(i)} + 1) \right] \quad (4.2)$$

onde $\delta(x)$ é a função delta de Dirac. Cada constante de acoplamento pode ser ativadora (+1) ou inibidora (-1), com probabilidade $(1 - P_1)/2$, e inexistente (0), com probabilidade P_1 . Escolhido os inputs de cada gene e suas respectivas interações (valores dos $J_{j(i)}$ e J_{ii}), eles são fixados para a célula ovo e preservados sob divisão celular. Essa matriz de interação aleatória é uma escolha adequada pois estamos procurando levantar propriedades genéricas independentes de qualquer estrutura de interação particular, a qual certamente varia de um organismo para o outro.

Finalmente, faremos um último comentário acerca da fundamentação biológica para a estrutura de conectividades entre os genes adotada em nosso modelo. Quase todos os genes regulados em procariotos e eucariotos são diretamente controlados por até 6 ou 10 proteínas [17], daí nosso autômato envolver $K = 8$ inputs por gene. O limite $P_2 = 1$ corresponde a um modelo de alcance infinito, mais especificamente, a uma rede aleatória, enquanto que o caso $P_2 = 0$ corresponde a uma rede quadrada com vizinhança de Moore. Para qualquer outro valor de P_2 existem simultaneamente na rede acoplamentos de alcance curto e longo, refletindo o fato biológico que um dado gene pode ser regulado ou por uma sequência de DNA próxima ou por uma sequência distante na molécula ou até mesmo em outro cromossomo, cujas proteínas produzidas no citoplasma difundem-se em direção ao núcleo celular.

É importante observar que, como o espaço de configurações de cada rede de genes contém 2^N configurações diferentes, a dinâmica intracelular determinística (ex-

pressão 4.1) levará finalmente o sistema em direção a um atrator que pode ser um ciclo limite ou um ponto fixo. No contexto da diferenciação celular, Kauffman [13] interpretou os tipos celulares como sendo os padrões cíclicos estáveis de expressão gênica emergentes das interações entre os genes e os seus produtos. Consequentemente, o número total de atratores (ciclos limite) representa o repertório limitado de tipos celulares diferenciados exibidos por um organismo vivo. Além disso, os períodos desses atratores se relacionam aos vários ciclos celulares diferenciados. Nesse trabalho manteremos em mente esta interpretação biológica central.

4.3 Divisão Celular

Cada célula se divide sobre uma rede quadrada bidimensional logo após percorrer todo o seu ciclo limite, ou seja, se divide após ter percorrido o seu atrator. Isso porque para se dividir uma célula deve percorrer todo o seu ciclo celular, copiando os seus genes na fase S desse ciclo. A célula filha ocupará aleatoriamente um sítio da vizinhança de Moore da sua mãe, deslocando ou não outras células ao longo desta direção. Completada a divisão celular, as células mãe e filha terão exatamente a mesma estrutura de conexões e acoplamentos (intracelulares e intercelulares). As interações intercelulares na célula filha envolverão os mesmos genes que os da célula mãe, mas não necessariamente com as mesmas células vizinhas. Já o padrão de expressão gênica da célula filha conterà um número pequeno de perturbações mínimas (valores alterados dos σ_i^α) com probabilidade 10^{-4} , quando comparada à célula mãe. Esse valor representa a taxa típica de mutações que ocorrem nos eucariotas no processo de divisão celular [17]

4.4 Dinâmica Intercelular

A interação entre células da comunidade, fundamental para a diferenciação celular, é simulada pela criação de acoplamentos entre genes de células distintas. Após cada divisão celular, um mesmo subconjunto de genes da célula mãe e de sua célula

filha, escolhidos com probabilidade $P_3 = 1/N$, receberá ao acaso novas conexões provenientes de genes pertencentes a células vizinhas escolhidas com igual probabilidade. Tanto na célula mãe quanto na filha, cada um dos genes desse subconjunto formará apenas uma nova conexão com um mesmo gene selecionado, com igual chance, dentre os $(K - 1)$ inputs dos genes homólogos, em uma de suas células vizinhas. Além disso, os valores dos acoplamentos intercelulares são os mesmos dos respectivos acoplamentos intracelulares entre os genes correspondentes na própria célula. Cada uma dessas novas conexões gerará um termo adicional da forma

$$J_{j(i)}\sigma_{j(i)}^\beta(t)$$

no argumento da função sgn na expressão 4.1, ligando, por exemplo, o gene $\sigma_{2(i)}^\beta$ da célula β com interação $J_{2(i)}$ ao gene σ_i^α da célula α , como esquematizado na Figura 4.2. Os genes indutores $j(i)$ podem ser interpretados como uma rede regulatória posicional uma vez que os seus produtos mediam interações intracelulares.

Levando em conta os acoplamentos intercelulares, a atividade de um gene i em uma célula α é atualizada usando a função

$$\sigma_i^\alpha(t+1) = sgn \left[J_{ii}\sigma_i^\alpha(t) + \sum_{j=1}^{K-1} J_{j(i)}\sigma_{j(i)}^\alpha(t) + \sum_{\text{acoplamentos intercelulares } j} J_{j(i)}\sigma_{j(i)}^\beta(t) \right] \quad (4.3)$$

onde o segundo somatório envolve todos os acoplamentos intercelulares do gene i ao longo de sucessivas divisões mitóticas da célula α .

É importante notar que cada acoplamento intercelular preserva a rede regulatória presente no genoma da célula ovo. Além disso como cada acoplamento intercelular é escolhido aleatória e independentemente, as células mãe e filha possuem, em geral redes distintas de células interagentes. Do ponto de vista biológico os acoplamentos intercelulares correspondem aos processos complexos de sinalização e reconhe-

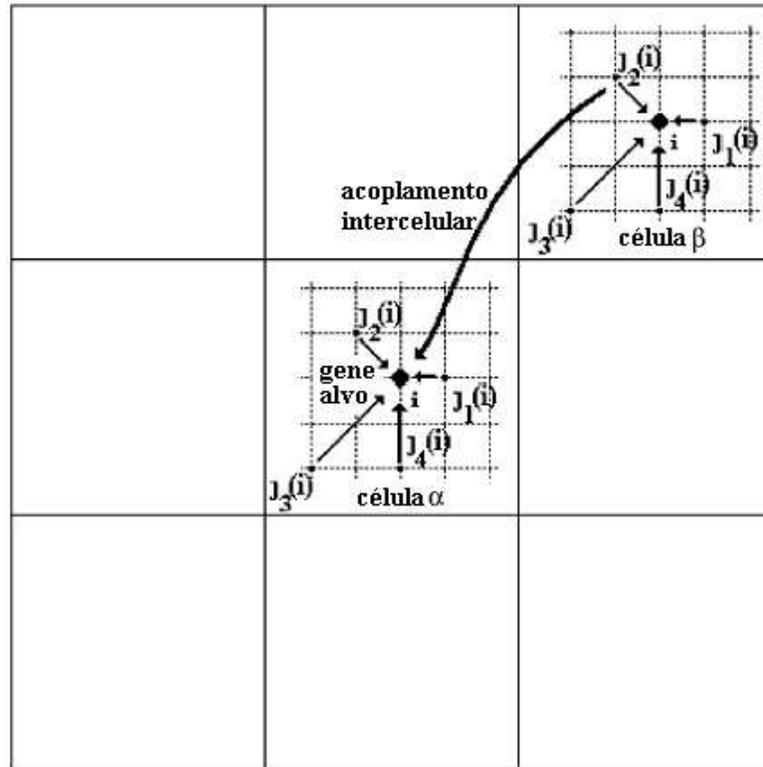


Figura 4.2: Esquema do acoplamento celular. O gene i , selecionado com probabilidade P_3 , em uma célula α , recebe um acoplamento de uma célula vizinha escolhida com igual chance dentre a vizinhança de Moore da célula α .

cimento de célula para célula, mediados por receptores de membrana, responsáveis pela capacidade das células de influenciarem o destino umas das outras pela produção e resposta a sinais. Os sinais indutores podem ser propagados por meio de algumas ou até de muitas células ou ser altamente localizados, podendo passar apenas de uma célula para a sua vizinha mais próxima [2]. Em nosso modelo as interações intercelulares são principalmente locais (entre células vizinhas mais próximas) ou não dependendo do deslocamento entre as células gerado pelas divisões mitóticas. Basicamente existem três maneiras pelas quais sinais intercelulares podem ser transmitidos, a saber, via espaço extracelular envolvendo a difusão de moléculas secretadas, interação direta mediada por moléculas de superfície e, finalmente, por canais de comunicação diretos entre o citoplasma de células adjacentes (junções do tipo fenda) através dos

quais pequenas moléculas podem passar. Nos dois primeiros casos, o sinal é em geral recebido por proteínas receptoras na membrana celular e subsequentemente retransmitidos pelo sistema de sinalização intracelular para produzir uma eventual resposta celular [2].

4.5 Resultados

Em todas as nossas simulações, cada gene é influenciado por $K = 8$ inputs intracelulares os quais, com probabilidade $P_2 = 0,50$, podem estar na vizinhança de longo alcance do gene considerado. Ao simularmos a evolução temporal da dinâmica intracelular (células isoladas das demais) para diversos valores dos parâmetros P_1 (inexistência de interações) e N (número de genes em uma célula), verificamos, como na Ref. [16], a existência de células operando em três regimes:

Regime congelado: A maioria dos genes permanecem congelados (fixos) no estado ativo ou inativo, enquanto outros poucos oscilam entre esses dois estados como se observa na a Figura 4.3 (a). Neste regime, os períodos dos atratores são pequenos, típicos de sistemas ordenados e permanecem estáveis à maioria das perturbações inseridas no sistema (alterações nos estados dos genes).

Regime marginal: Os genes congelados e oscilantes se encontram bem distribuídos, os períodos dos atratores são de tamanho médio, e a propagação de danos (medida pela distância de Hamming) é pequena, conferindo uma estabilidade dinâmica ao AC. Note que nesse regime os genes congelados ainda formam um grande agregado que percola a rede do AC (Figura 4.3 (b)).

Regime caótico: Neste regime a maioria dos genes estão oscilando e os períodos dos atratores são longos, indicando um sistema caótico. Poucos são os danos que não persistem e se propagam, levando o AC a uma bacia de atração diferente. Portanto, o sistema é instável a pequenas perturbações. Note que o agregado de genes congelados é agora muito pequeno e não percola o sistema (Figura 4.3 (c)).

Assim, a dinâmica de uma única rede de genes exhibe um diagrama de fase (Figura 4.4) no qual uma região marginal está localizada entre a ordem e o caos. A

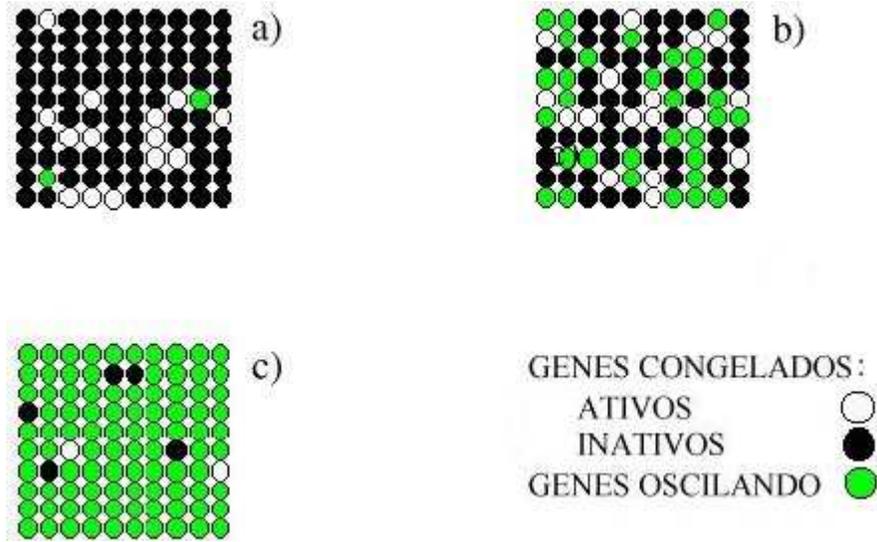


Figura 4.3: Ilustração de células operando nos três regimes da dinâmica intracelular. a) célula em regime congelado, b) célula em regime marginal, c) célula em regime caótico.

transição entre o regime caótico e o ordenado (marginal e congelado) está associado a um valor crítico da conectividade entre genes. Nesse ponto crítico uma componente gigante se forma: Para $K_{médio} < K_c$ a rede de genes é fragmentada em pequenas subredes, enquanto que para $K_{médio} > K_c$ uma fração grande dos genes estão conectados na rede. Como demonstrado na Ref. [16], o valor $K_c \sim 5.4$ é obtido para nossa dinâmica intracelular, e é maior que os valores críticos $K_c = 2$ e $K_c = 4$ observados para as redes booleanas aleatórias [13] e modelo local de redes neurais considerado por Kurten [18]. Em nosso modelo essa transição está associada principalmente à probabilidade P_1 dos acoplamentos entre os genes inexistirem. Para P_1 baixo a conectividade média é alta, frações grandes deles estão conectados na rede e o sistema opera no regime caótico. para P_1 alto, ao contrário, a conectividade média é baixa, a rede está fragmentada em subredes de genes conectados e o sistema opera na fase congelada. Separando estes dois regimes encontra-se o regime marginal. A importância desse fenômeno em termos das propriedades coletivas que emergem no ponto crítico é clara: a comunicação entre todo o sistema torna-se possível (a informação pode fluir das unidades para o todo e

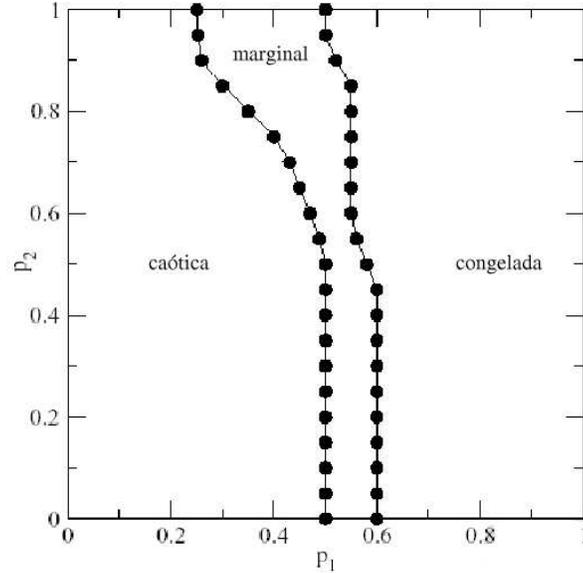


Figura 4.4: Diagrama de fase do modelo sem interações célula-célula para a sensibilidade as condições iniciais como obtido na Ref. [16]. O sistema apresenta três fases: congelada, marginal e caótica dependendo se a distância de Hamming (hd) para $t \rightarrow \infty$ desaparece, permanece do mesmo tamanho ou se aproxima de um valor finito independente da distância inicial $hd(0) \rightarrow 0$, respectivamente. Os dados correspondem a 1000 redes diferentes (células individuais) com $N = 400$ genes regulados por $K = 8$ inputs genes, cada rede foi testada com uma configuração inicial aleatória.

virce-versa). Além disso, a transição ocorre numa faixa estreita de P_1 (ou da conectividade média) e implica em uma inovação. Ainda mais, isto ocorre a um baixo custo com relação ao número de conexões exigidos, pois para se alcançar a integração da rede basta se ter um dado número (pequeno) de acoplamento por genes. Uma vez superado este limiar a diversidade e flexibilidade emergem espontaneamente.

Nas Figuras 4.5, 4.6 e 4.7, fizemos uma análise do efeito de perturbações em cada um dos regimes da dinâmica intracelular (células isolada das demais). O dano inicial $hd(0)$ foi introduzido no passo de tempo $t = 0$ e uma média sobre hd foi realizada por T passos de tempo a partir de $t = 200$.

Figura 4.5: Dano final médio em função do dano inicial para os três regimes dinâmicos intracelulares.

Figura 4.6: Frequência da ocorrência de danos finais para os três regimes dinâmicos intracelulares.

Figura 4.7: Média do dano final dividido pelo dano inicial em função da probabilidade P_1 . Ocorre uma transição contínua de um sistema fortemente sensível para um sistema insensível.

Como se pode ver, no regime congelado (Figura 4.5) a distância de Hamming final $hd(T)$ é sempre pequena, praticamente independente da distância de Hamming inicial $hd(0)$. São poucos os genes que, ao sofrerem mutação, geram danos adicionais em outros genes da rede. O tamanho dessas cascatas de mutações, é em geral, muito pequeno (Figura 4.6) e os valores máximos são da ordem de 0,6% do genoma. Ao contrário, no regime caótico a distância de Hamming final é alta e independe do dano inicial (Figura 4.5). Os genes quando mutados geram grandes cascatas de mutações, chegando até a 20% do genoma (Figura 4.6). No regime marginal temos uma situação intermediária (flexível) entre a forte rigidez do regime congelado e a desordem do regime caótico (Figuras 4.5 e 4.6).

Observa-se na Figura 4.7 a transição de um sistema caótico (fortemente sensível) para um sistema altamente ordenado (insensível), passando por um sistema marginal (sensível). Pela Figura 4.7 observamos que para pequenos valores de P_1 há grandes danos finais, ou seja, o sistema se encontra no regime caótico; já altos valores de P_1

nos mostram o regime congelado, no qual as distâncias de Hamming se estabilizam em valores muito baixos. Entre os dois extremos de valores acessíveis por P_1 encontramos o regime marginal.

Nas Figuras 4.8, 4.9, 4.10 e 4.11 fizemos o estudo dos atratores (tipos celulares) e dos períodos considerando-se apenas a dinâmica intracelular (células isoladas das demais). No regime congelado (valores maiores de P_1 , Figura 4.8) existem poucos tipos celulares (atratores). Nesse regime existe uma pequena diversidade celular que cresce linearmente com N (Figura 4.9). O sistema é bastante estável, como visto pela análise de estabilidade anterior, uma vez que após ser perturbado, ele quase sempre permanece no mesmo atrator. Os períodos (ciclos celulares) dos atratores são pequenos (Figura 4.10) e crescem linearmente com N (Figura 4.11), o que ressalta ainda mais a rigidez do sistema. No regime caótico (valores menores de P_1 , Figura 4.10) encontram-se os maiores valores de períodos, os quais crescem exponencialmente com N (Figura 4.11). O regime caótico possui um número maior de atratores (Figura 4.8) do que o regime congelado, mas tais atratores são totalmente instáveis e seu número cresce como uma lei de potência com N (Figura 4.9). Uma pequena perturbação leva o sistema para uma nova bacia de atração. Assim, o regime caótico corresponde a um sistema totalmente desordenado e com extrema sensibilidade às condições iniciais. No regime marginal (valores intermediários de P_1 , Figura 4.8) encontramos o maior número de atratores que, diferentemente da rigidez do regime congelado e da instabilidade do regime caótico, demonstram sensibilidade às perturbações, mas com significativa estabilidade. Assim como no regime caótico, o número de atratores distintos também cresce com N em lei de potência (Figura 4.9). Os seus períodos são de tamanhos intermediários (Figura 4.10) se comparados ao regime caótico e seu valor médio aumenta como uma lei de potência em N (Figura 4.11). Na Figura 4.10 observa-se o tamanho do período do atrator caindo exponencialmente com P_1 , evidenciando os longos períodos no regime caótico.

Figura 4.8: Número médio de atratores distintos (tipos celulares) como função de P_1 . A variabilidade celular é máxima na região de regime marginal.

Figura 4.9: Número médio de tipos celulares como função do número de genes na célula. A variabilidade celular cresce mais rapidamente no regime marginal.

Figura 4.10: Período médio dos tipos celulares em função da probabilidade P_1 . O período celular cai exponencialmente, do regime caótico para o regime congelado.

Figura 4.11: Período médio dos atratores em função do número de genes. No regime caótico o período médio dos atratores cresce exponencialmente.

Em resumo, o nosso resultado principal é que a fase marginal possui atratores estáveis (tipos celulares) dotados da flexibilidade necessária para permitir mutações e, portanto, evolução natural. Além disso, as leis de potência observadas no regime marginal estão na faixa sugerida pelos dados biológicos relativos ao comprimento dos ciclos celulares (períodos médios) e número de células diferenciadas (atratores distintos) observados nos organismos vivos [13].

A seguir mostramos os resultados referentes às simulações nos quais os três níveis do modelo (dinâmica intracelular, divisão celular e dinâmica intercelular) para a diferenciação celular são considerados (Figuras 4.12, 4.13, 4.14 e 4.15). A evolução foi feita a partir de uma célula ovo até que as várias divisões celulares produzissem um total de 150 células. Em nossas simulações computacionais foram observados três regimes distintos de diferenciação celular associados aos regimes (congelado, marginal e caótico) da dinâmica intracelular, uma vez que a diferenciação celular depende da dinâmica intracelular da célula ovo.

Figura 4.12: Evolução do número de células diferenciadas ao longo do desenvolvimento embrionário para os três regimes de diferenciação (congelado, marginal e caótico). No detalhe, a diferenciação celular do regime marginal sendo comparado com a diferenciação celular do verme *C. elegans* e a do cavalo marinho (*T. toreumaticus*).

Figura 4.13: Aumento da estabilidade no regime marginal com a diminuição do período médio das células ao longo do desenvolvimento embrionário.

Figura 4.14: Aumento da estabilidade celular nos regimes marginal e caótico com a diminuição da fração de genes oscilantes ao longo do desenvolvimento embrionário.

Cada um dos três regimes da diferenciação celular é descrito a seguir.

Regime congelado: Não apresenta diferenciação celular (Figura 4.12), a maioria dos genes permanece congelada, enquanto poucos oscilam entre os estados ativo e inativo (Figura 4.14), indicando um sistema fortemente ordenado e inflexível.

Regime marginal: No regime marginal são muitos os genes congelados, mas aparece um número significativo de genes oscilantes (Figura 4.14). A medida que o tempo passa e que as divisões vão ocorrendo, o tamanho médio do ciclo celular (período do atrator) diminui (Figura 4.13), assim como o número médio de genes oscilantes em cada célula (Figura 4.14), o que aumenta a estabilidade celular e, portanto, diminui a flexibilidade ou a capacidade de diferenciação do sistema. Podemos dizer que os vários tipos celulares estão ficando mais robustos a novas perturbações e, portanto, mais fortemente diferenciados, o que concorda com o processo biologicamente observado. O regime marginal apresenta taxas de diferenciação celular qualitativamente similares às observadas no desenvolvimento embrionário do cavalo marinho (*T. toreumaticus*) e do verme *C. Elegans* [19] (Figura 4.12).

Regime caótico: Apresenta alta taxa de diferenciação celular quando comparada aos outros regimes. O número de células diferenciadas cresce rapidamente com o total de células presentes (Figura 4.12). No regime caótico também encontramos um número médio de genes oscilantes maior do que nos outros regimes. A medida que as divisões vão ocorrendo, o período celular médio oscila em torno de um valor de equilíbrio (Figura 4.13) e como no regime marginal, o número médio de genes oscilantes em cada célula diminui (Figura 4.14), mas ainda assim continua sendo grande, o que não confere uma robustez ao sistema.

Nossas simulações revelaram ainda a existência de células cujos atratores não estão bem definidos, ou seja, que ficam saltando de um atrator para outro devido aos acoplamentos intercelulares e, portanto, são consideradas como indiferenciadas. Eventualmente após novas divisões celulares e, conseqüentemente o estabelecimento de novos acoplamentos intercelulares, tais células podem cair definitivamente na bacia de atração de um determinado atrator e portanto se diferenciarem. Claramente, a capacidade de diferenciação dessas células dependerá da região do espaço de con-

figuração que ela percorria. Essa região pode conter um número maior ou menor de atratores disponíveis para capturá-la. Essas células lembram as chamadas células tronco (toti ou multipotentes), cujas características básicas são: indiferenciação e capacidade de gerar não só novas células tronco como células diferenciadas funcionais, importantes na regeneração de tecidos. No regime congelado inexistem células indiferenciadas, enquanto que nos regimes marginal e caótico (Figura 4.15) elas aparecem. No regime marginal existe inicialmente uma pequena fração de células indiferenciadas, que cresce lentamente à medida que o número de células do organismo aumenta. Já no regime caótico, ao contrário do marginal, vemos um crescimento muito rápido de células indiferenciadas.

Figura 4.15: Evolução do número de células sem atrator definido (células indiferenciadas ou células tronco) ao longo do desenvolvimento embrionário nos regimes marginal e caótico.

Na Figura 4.16 observa-se padrões de diferenciação celular gerados em nossas simulações. A partir de uma célula inicial (zigoto) o crescimento do embrião prosseguiu até atingir a soma de 500 células. Cada cor corresponde a um tipo celular distinto. No regime congelado não há diferenciação celular, todas as células per-

manecem iguais, ou seja, apenas 1 tipo celular aparece (Figura 4.16 (a)). Já o regime caótico apresentou uma alta diferenciação, produzindo 86 tipos celulares e formando um padrão totalmente desordenado (Figura 4.16 (c)). O regime marginal apresenta diferenciação celular biologicamente aceitável, formando padrões ordenados e não homogêneos (Figura 4.16 (b)) onde conjuntos de células especializadas aparecem, mesmo o modelo não levando em conta migração e adesão celular, importantes mecanismos na formação de padrões e tecidos funcionais.

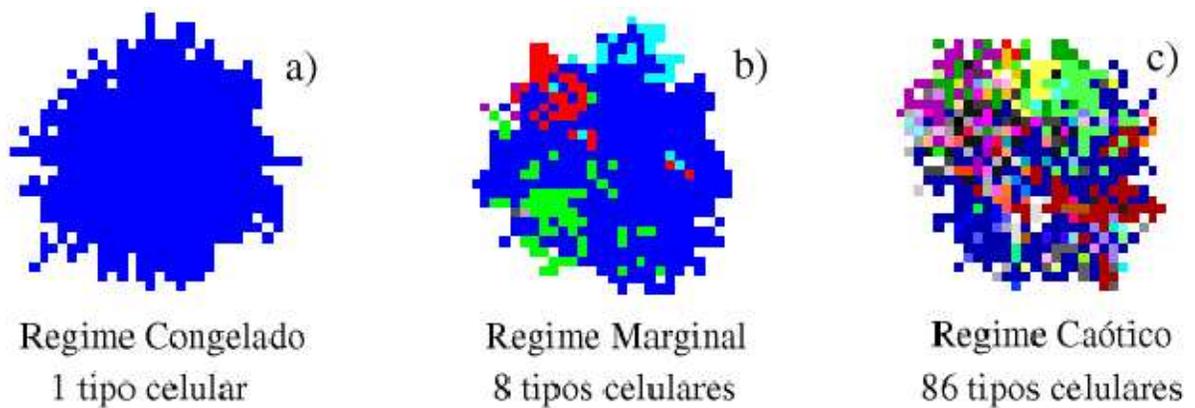


Figura 4.16: Padrões de diferenciação celular nos três regimes dinâmicos do AC. Cada cor corresponde a um tipo celular distinto. Regime congelado (a), regime marginal (b) e regime caótico (c).

Os principais resultados do nosso trabalho foram submetidos e aceito para publicação na PHYSICA A (2002), revista internacional especializada na área (Anexo).

Capítulo 5

Conclusões

Em evolução, à medida que se muda o meio ambiente, muda-se também as espécies e os mais bem adaptados sobrevivem, é o que se chama de seleção natural. A seleção natural é possível graças à variabilidade dos seres vivos, variabilidade que por sua vez, depende das mutações ocorridas no material genético. Em comparação com os três regimes encontradas no modelo de autômatos celulares para a diferenciação celular, o único que seria capaz de permitir um crescimento diferenciado com estabilidade é o regime marginal, pois ele é dotado de flexibilidade para permitir pequenas mutações genéticas. Já no regime congelado, as mutações genéticas dificilmente ocorrem, ou seja, o genoma é rígido demais em sua estrutura dinâmica, não permitindo assim a adequação dos indivíduos às flutuações do meio ambiente. No regime caótico quase todas as perturbações persistem, causando grandes danos que mudam completamente as características do genoma, o que não acontece com os seres vivos. Além disso, o regime marginal é o que possui o maior número de tipos celulares, ou seja, maior diversidade celular, o que implica em uma maior variabilidade de organismos. Desse modo, o regime marginal é o que mais se adequa às exigências da evolução natural, sempre experimentando novas formas de vida.

De acordo com o nosso modelo, a diferenciação celular com estabilidade ocorre em redes de genes operando na borda do caos (regime marginal). Tal diferenciação é gerada pelo jogo entre a dinâmica intracelular e as interações célula-célula. À medida que o número de células aumenta, novos acoplamentos locais entre genes de

células diferentes são estabelecidos, levando à defasagem das dinâmicas internas em cada célula até provocar uma transição para um novo atrator. Somente no regime marginal a diferenciação celular ocorre em taxas moderadas, gera tecidos primitivos espacialmente ordenados e uma fração pequena de células indiferenciadas ou células tronco. Esse resultado básico contrasta com o cenário de uma dinâmica global caótica (ou "caos aberto") para a diferenciação celular proposto por Kaneko e Yomo em sua teoria de diversificação isóloga.

Capítulo 6

Perspectivas Futuras

Recentemente, experimentos em levedura (*Saccaromyces cerevisiae*) [20] demonstraram que redes de genes estão estruturadas em redes complexas do tipo "scale-free" com a cauda em corte exponencial. A topologia em "scale-free" significa que a probabilidade $P(K)$ de que um elemento qualquer da rede seja conectado a K outros elementos obedece a distribuição em lei de potência $P(K) = CK^{-\gamma}$, onde γ é o expoente de "scale-free". Portanto esta estrutura de rede permite que poucos genes estejam fortemente conectados a outros genes, enquanto que muitos genes tem poucas conexões com outros genes. Os genes altamente conectados dominam a rede e quando alterados dão origem a um mutante inviável o que estabelece uma forte conexão entre o número de conectatos e letalidade. O estudo de redes complexas nos últimos anos tem recebido atenção especial e revelaram que uma ampla variedade de redes reais exibem topologia em "scale-free". Entre elas podemos citar a WWW, redes ecológicas, redes de citações e redes de proteínas [21, 22, 23].

Atualmente estamos simulando o nosso modelo de ACs para a diferenciação celular em redes complexas com topologia em "scale-free" do tipo Barabási-Albert [21]. Em redes do tipo Barabási-Albert os novos elementos da rede têm maior probabilidade de se conectarem a elementos com maior número de conexões. Esse ingrediente simples é suficiente para explicar o comportamento em "scale-free" das redes reais. Já fizemos a análise da estabilidade da dinâmica intracelular como função do parâmetro m de Barabási-Albert. Será necessário simular o processo de desenvolvimento embrionário.

Referências Bibliográficas

- [1] ALBERTS, B.; et al.; *Biologia Molecular da Célula*. 3^o ed., Artes Médicas, (1997).
- [2] WOLPERT, L.; et al.; *Princípios de Biologia do Desenvolvimento*. Artes Médicas, (2000).
- [3] LEWIN, R.; *COMPLEXITY, Life at the Edger of Chaos*. Chicago University Press, (1993).
- [4] KNUTH, D. E.; *The Art of Computer Programming*. Addison-Wesley, (1969), Vol. 2, pp.7 and 517.
- [5] TURING, A. M.; Philos. Trans. Roy. Soc. London B 237, 37 (1952).
- [6] KANEKO, K.; Physica D 103, 505 (1997).
- [7] FURUSAWA, C.; et al.; Bull. Math. Biol. 60, 659 (1998).
- [8] FURUSAWA, C.; et al.; Phys. Rev. Lett. 84, 6130 (2000).
- [9] FURUSAWA, C.; et al.; J. Theor. Biol. 209, 395 (2001).
- [10] CILIBERTO, A.; et al.; Bull. Math. Biol. 62, 37 (2000).
- [11] HOGEWEG, P.; J. Theoret. Biol. 203, 317 (2000).
- [12] KANEKO, K.; et al.; Bull. Math. Biol. 59, 139 (1997).
- [13] KAUFFMAN, S. A.; *The Origins of Order*. Oxford University Press, (1993).
- [14] WOLFRAM, S.; *Theory and Applications of Cellular Automata*. World Scientific, (1986).

- [15] KAPLAN, D.; et al.; *Understanding Nonlinear Dynamics*. Springer-Verlag, (1995).
- [16] SALES, J. A.; et al.; *A. Cellular Automata Model for Gene Networks*. Physical Review E 55(3), 3262 (1997).
- [17] DARNEL, Jr., J.; et al.; *Molecular Cell Biology*. Scientific American Books (1990).
- [18] KURTEN, K. E.; J. Phys. (France) 59, 2313 (1989).
- [19] RUSSO, V.E.A; et al.; *Development: Genetics, Epigenetics, and Environmental Regulation*. Springer, (1999).
- [20] PROVERO, P.; cond-mat/0207345 (2002).
- [21] ALBERT, et al.; *Statistical mechanics of complex networks*. R. Moder. Phys. 74, January 2002.
- [22] JEONG, H.; *Complex scale-free networks*. Physica A, IN PRESS (2003).
- [23] JEONG, H; et al.; Nature 411, 41 (2001).

Anexo

Publicação resultante do trabalho apresentado nesta dissertação.

