

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE FÍSICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FÍSICA

Modelo de animóides aplicado à segregação celular

Julio Monti Belmonte

Dissertação realizada sob orientação do professor Dr. Gilberto L. Thomas (IF-UFRGS) e apresentado ao Instituto de Física da UFRGS em preenchimento parcial dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Física.

Porto Alegre
Maio de 2007.

Agradecimentos

- ★ Aos meus orientadores (Rita, Gilberto e Leonardo) por terem acreditado em mim;
- ★ À minha família por sempre me incentivar aos estudos;
- ★ Ao biólogo, médico (e físico por osmose) Mauro Castro pelas valiosas informações sobre células e tecidos;
- ★ Ao professor Dr. Hugues Chaté pelas críticas e sugestões (que eu nem sempre segui);
- ★ Ao meu tio Rozendo Risk Atik por me ensinar o francês necessário para eu poder ler a tese de doutorado que inspirou este trabalho;
- ★ Ao meu primo Valdir Rossi Belmonte Filho, por ter salvado boa parte do meu trabalho quando meu HD pifou;
- ★ À minha namorada pela paciência;
- ★ A todos aqueles que, direta ou indiretamente, me ajudaram nesse empreendimento;
- ★ A Deus, por ter tornado tudo isso possível.

Resumo

Este trabalho apresenta uma generalização do modelo mínimo de movimento coletivo de Vicsek-Gregoire adaptado para a descrição da dinâmica celular de organismos pluricelulares de dois tipos de tecidos, como encontrado na *Hydra Vulgaris*. O trabalho se divide em duas partes. Na primeira é feita uma revisão histórica dos experimentos biológicos sobre o assunto assim como dos principais modelos matemáticos usados para descrever o problema. Ao final é apresentado o novo modelo mínimo de movimento coletivo (modelo de animóides) que será usado no restante da dissertação. Na segunda parte é feita uma exploração dos aspectos do modelo. Primeiro é construído um diagrama de fases para uma população homogênea de animóides (partículas), na qual se encontrou quatro fases distintas: gasosa, líquida, sólida e a de movimento coletivo. Também foi feito um estudo mais detalhado da difusão interna dos animóides dentro de um agregado, incluindo casos heterogêneos, onde se encontrou a existência de uma aparente superdifusão, assim como tempos de confinamento, para certos conjuntos de parâmetros. Finalmente ao final da segunda parte o modelo foi aplicado à simulação da segregação celular a partir de dois tecidos misturados. Além de se obter resultados que concordam perfeitamente com a principal hipótese biológica sobre o fenômeno, também foi estudado o papel que o movimento coletivo das células desempenha na segregação dos tecidos.

Abstract

This work presents a generalization of the minimal collective movement model of Vicsek-Gregoire adapted for the description of the dynamics of multi-cellular organisms with two kinds of tissues, like *Hydra Vulgaris*. This work is composed of two main parts. In the first one an historical review is made about the biological experiments concerning the subject and also about the main mathematical models used for the description of the problem. At the end a new minimal collective movement model (boids model), which will be used in the rest of this dissertation, is presented. In the second part the model is explored in a more systematic way. First a phase diagram is built for an homogeneous population of boids (particles) where is found the existence of four distinct phases: gas, liquid, solid and also the collective movement phase. A study of the internal diffusion of boids inside a cluster is also made for both homogeneous and heterogeneous cases. An apparent super-diffusion, as also a trap time, is founded for certain sets of parameters. Finally, at the end of the second part the model is used for the simulation of the tissue segregation phenomena. The results obtained are in perfect agreement with the main biological hypothesis, and a study of the role of the collective movement in the segregation dynamics is also made.

Conteúdo

Lista de Figuras	1
Lista de Tabelas	3
Introdução	4
Parte I – Status Quaestionis	7
Capítulo 1 - O problema biológico	8
1.1 - Retrospectiva histórica	8
1.2 - Hipótese da adesão diferenciada	12
1.3 - Adesão Celular	20
1.4 - Discussão	24
Capítulo 2 - Modelos matemáticos	26
2.1 - Primeiros modelos	27
2.2 - Animóides	33
2.3 - Modelo de Vicsek	34
2.4 - Adaptação de Grégoire	37
2.5 - Discussão e adaptação do modelo	39
Parte II – Desenvolvimento do modelo	42
Capítulo 3 – Reconstrução do diagrama de fases	43
3.1 - Parâmetros de ordem	43
3.2 - Exploração do diagrama	47

3.3 - Discussão	53
Capítulo 4 - Estudo da difusão	57
4.1 – Medidas de difusão	57
4.2 - Caso sem movimento coletivo	60
4.3 - Caso com movimento coletivo	64
4.3.1 - Agregado na fase líquida	65
4.3.2 - Agregado na fase Lc	70
4.4 - Discussão	71
Capítulo 5 - Segregação celular	73
5.1 - Parâmetro de ordem	73
5.2 - Testando a hipótese da adesão diferenciada	74
5.3 - Efeito do parâmetro α	78
5.4 - Dinâmica de segregação	81
5.5 - Leis de escala	85
5.6 - Discussão	88
Conclusão e perspectivas	90
Apêndice A - Escalabilidade	95
Referências	104

Lista de Figuras

1.1	Laboratório de Abraham Trembley e a Hydra Vulgaris	9
1.2	Reconstrução celular	10
1.3	Configuração final misturada (caso I)	13
1.4	Configuração final de envoltura total (caso II)	14
1.5	Configuração final de envoltura parcial (caso III)	15
1.6	Separação total dos dois tecidos	15
1.7	Envoltura do tecido menos adesivo sobre o mais adesivo	16
1.8	Diferentes dinâmicas de segregação	17
1.9	Hierarquia entre as envolturas de 3 tecidos	18
1.10	Correspondência entre tensões superficiais e hierarquia de envoltura	19
1.11	Estrutura da tripsina obtida via cristalografia por raios-X	20
1.12	Caderinas e suas ligações com o citoesqueleto das células	23
1.13	Diferenças nas distribuições de caderinas levam a graus de adesão intermediários	24
1.14	Crescimento linear da tensão superficial com o número de caderinas	25
2.1	Modelo de Goel retangular e hexagonal	27
2.2	Troca de posição não-local vista como uma sucessão de trocas locais	28
2.3	Envoltura total obtida pela modificação de Agarwal no CPL	29
2.4	Representação das células no modelo de Potts	30
2.5	Simulação da envoltura de dois tecidos	31
2.6	Representação do modelo de grafos	31
2.7	Troca de vizinhos no modelo de grafos	32
2.8	Repartição espacial de Voronoi	32
2.9	Demais modelos para a simulação de células	33
2.10	Regras de movimentação dos animóides	34
2.11	Estados do modelo de Vicsek	35
2.12	Variação de ϕ com η e ρ	36
2.13	Diagrama de fases de Vicsek-Gregoire	38
2.14	Comparação entre a forma das duas forças	39
3.1	ϕ em função do raio de vizinhança	44
3.2	Deslocamento quadrático médio de um animóide livre	46
3.3	Transição de ordem de Δ em função de β	47

3.4	Evidências da transição de segunda ordem	48
3.5	Exploração do diagrama de fases	49
3.6	Variação dos parâmetros em relação à α para $\beta=2,0$	49
3.7	Evolução da função $\phi(r)$ com o aumento de α	50
3.8	Efeito dos pulsos	51
3.9	Variação dos parâmetros em relação à α para $\beta=1,0$	53
3.10	Diagrama de fases do novo modelo	53
3.11	Fusão de dois agregados em movimento	55
3.12	Fragmentação de um agregado em movimento	55
4.1	Agregado de 3000 animóides	59
4.2	Difusão para diferentes valores de β	60
4.3	Ilustração do cálculo do tempo de confinamento do animóide	61
4.4	Cage-effetc na difusão dos animóides	62
4.5	Influência do agregado no comportamento do animóide	63
4.6	Exploração da difusão para $\alpha > 0$	64
4.7	Difusão para diferentes valores de α com $\beta=1,2$	65
4.8	Efeito de pulsos refletido na difusão dos animóides	66
4.9	α elevado do animóide difusivo gera pulsos em agregados estáticos	67
4.10	Ocorrência de superdifusão em agregados moventes	68
4.11	Animóides com baixo α não acompanham o movimento coletivo	69
4.12	Presença de tempos de confinamento para $\beta=2,0$	70
4.13	Alto valor de β não é suficiente para fazer o animóide acompanhar o movimento	71
5.1	Estado inicial do sistema e o estado de envoltura total	75
5.2	Segregação em função de β_{RG}	77
5.3	Confirmação das previsões da hipótese da adesão diferenciada	78
5.4	O parâmetro α não consegue induzir segregação	79
5.5	Efeito do α na dinâmica de segregação	80
5.6	Porcentagem de animóides isolados em função do tempo	82
5.7	Número de agregados e tamanho médio dos agregados no tempo	83
5.8	Variação do tamanho do agregado principal com o tempo	84
5.9	Oscilação no tamanho do agregado principal	85
5.10	Variação do parâmetro γ no tempo para vários tamanhos de sistema	86
5.11	Dependência do tempo de segregação e da segregação final com N	87

Lista de Tabelas

1.1 Família de proteínas e seus tipos de ligações	22
3.1 Valores de T para cada diferentes tamanhos de sistema	46
4.1 Valores de difusão e tempo de confinamento para as curvas da Fig. 4.2	61
4.2 Valores de difusão e tempo de confinamento para as curvas da Fig. 4.5b	64
4.3 Medidas de difusão para diferentes valores de α	65
4.4 Presença de dois regimes de difusão	66
4.5 Valores da constante D das curvas da Fig. 4.8 com $\alpha_a=0,6$	68
4.6 Inclinações das curvas da Fig. 4.10	69
4.7 Medidas de difusão e tempo de confinamento das curvas da Fig. 4.12	70
5.1 Valores do γ de envoltura total calculados por 4 procedimentos diferentes	76
5.2 Valores do ajuste linear das curvas da Fig. 5.7	84

Introdução

Este trabalho de mestrado tem a peculiaridade de abordar um assunto das ciências biológicas desde o ponto de vista da física teórica. Este tipo de estudo, embora pouco ortodoxo, vem se tornando cada vez mais freqüente entre os físicos nos últimos anos. Verdade seja dita, a divisão das ciências como vemos hoje nas universidades (que chegam a ter um prédio para cada departamento) é um fenômeno recente dos últimos séculos. Antigamente os cientistas, ou filósofos naturais, se ocupavam de um vasto leque de assuntos, desde astronomia até a biologia (passando, é verdade, por alguns assuntos que hoje não se considerariam muito científicos). Com o avanço das investigações e o acúmulo cada vez maior de conhecimento a separação das ciências em áreas distintas acabou sendo inevitável, principalmente quando surgiram os primeiros centros de ensino sistemáticos (as universidades) no fim da idade média. Desde então a separação das ciências em departamentos foi cada vez se tornando mais profunda, ao ponto de dois cientistas de áreas diferentes não se entenderem mais.

Porém, no último século houve uma reaproximação entre as diferentes áreas da ciência, principalmente da parte dos físicos, que cada vez mais se dedicam a assuntos que antes eram exclusivos da biologia e bioquímica. Um dos exemplos mais famosos disso é o livro “*O que é vida?*”, escrito pelo físico de partículas Erwin Schrödinger em 1944 [1]. Apesar do que o título pode sugerir, o livro tem abordagem mais voltada à química do que à biologia, no sentido de que o autor estava mais preocupado com a composição química dos genes e sua estabilidade, que só poderia ser explicada a partir da mecânica quântica.

Uma abordagem mais emergente foi dada no início daquele século por D'Arcy Wentworth Thompson que em 1917 publicou o livro “*On growth and form*” [2]. Nele o autor relata milhares de correlações entre formas biológicas e fenômenos mecânicos que até o momento, segundo as próprias palavras do autor, era ignorada pelos biólogos de sua época que estavam mais preocupados com a teoria da evolução.

Um das primeiras tentativas de explicação dessas formas biológicas foi dada pelo matemático Alan Turing que dedicou os dois últimos anos de sua vida ao assunto. Em 1952 ele publicou um artigo [3] em que propunha equações de reação-difusão entre dois reagentes

químicos para modelar vários padrões biológicos. A relevância de seu trabalho consiste em demonstrar como formas biológicas complexas podem nascer de mecanismos aparentemente simples. Uma confirmação experimental desta hipótese foi dada em 2006 por um grupo de biólogos do Instituto Max Planck [4].

Paralelamente a tudo isso houve o nascimento da biologia molecular na década de 30 e o rápido desenvolvimento da bioquímica, possibilitado pelos avanços técnicos da metade do século XX como a cromatografia, a ressonância magnética e a microscopia eletrônica. Como resultado, foi desvendado o funcionamento de inúmeros mecanismos internos da célula em nível molecular, desde a composição do ADN até síntese de proteínas.

Porém esse rápido avanço está chegando a um limite no qual se compreende o funcionamento de milhares de moléculas, ou grupos de moléculas, presentes nas células, mas não se sabe ao certo como essa infinidade de mecanismos microscópios funcionam em conjunto e como isso pode dar espaço ao aparecimento de uma ordem macroscópica. Em outras palavras, a biologia celular está se tornando um complexo problema de engenharia.

Tendo em vista que a explicação de um fenômeno nem sempre está na soma da descrição individual do funcionamento de suas partes, na última metade do século XX surgiram várias hipóteses que procuram dar uma visão geral de alguns problemas da biologia celular e do comportamento desses tecidos. Muitas vezes estas hipóteses são muito parecidas, diferenciando-se apenas em alguns pontos muito sutis que dificultam a elaboração de um experimento *in vitro* capaz de decidir entre elas. É nessa brecha que um físico¹ pode entrar na discussão com a elaboração de um modelo matemático que seja capaz de reproduzir o problema biológico e testar as várias hipóteses em jogo.

Este trabalho de mestrado está situado em uma dessas brechas. O objetivo dele é, a partir daquilo que consideramos os elementos chaves da interação entre células, elaborar um modelo matemático que seja capaz de reproduzir e explicar satisfatoriamente a dinâmica de segregação celular entre tecidos e ver qual é o papel do movimento coletivo nesse processo.

A dissertação divide-se em duas partes principais. A primeira é dedicada à revisão histórica do assunto, sendo o capítulo 1 dedicado à parte biológica, com uma retrospectiva dos experimentos que levaram a formulação do problema da segregação celular e as hipóteses levantadas para explicar-la. Já no capítulo 2 é feito um levantamento dos principais modelos matemáticos existentes para o modelamento de tecidos celulares e uma discussão de suas

¹ Nas últimas décadas a física teórica, com a ajuda da mecânica estatística, tem se dedicado muito ao estudo e simulação de modelos matemáticos diversos, desde problemas puramente físicos como também de outros provenientes de áreas biológicas, econômicas e sociológicas. Porém isso não é uma exclusividade dos físicos e nada impede que tais problemas também possam ser explorados por matemáticos, informatas e biólogos, como de fato acontece.

vantagens e desvantagens. Ao final, o modelo de animóides generalizado, usado neste trabalho, é apresentado como uma nova alternativa.

A segunda parte é dedicada à exploração do modelo e sua aplicação ao fenômeno da segregação. No capítulo 3 os parâmetros do modelo são variados sistematicamente e um diagrama de fases é construído com quatro fases distintas: gasosa, líquida, “sólida”² e a fase de movimento coletivo. No capítulo 4 é feito o estudo da difusão de partículas dentro das fases coesas, incluindo casos heterogêneos, onde a partícula difusiva tem parâmetros distintos daqueles compartilhados pelas partículas restantes que formam o agregado em que o primeiro se insere. No último capítulo começam finalmente as simulações dos fenômenos de segregação celular, nas quais são explorados os papéis desempenhados pelos diferentes parâmetros do modelo.

² Existe uma discussão no Cap. 3 sobre esta “fase”, cuja solução será dada somente no Cap. 4.

Parte I

Status Quaestionis

Capítulo 1

O problema biológico

O fenômeno biológico que será estudado neste trabalho de mestrado é a segregação celular de tecidos. Ela faz parte de um campo mais vasto da biologia de desenvolvimento chamado *morfogênese*, que é o estudo da criação das formas biológicas (do latim *morphê* forma e *genesis* criação). A retrospectiva histórica que pretendo expor aqui, mesmo dando preferência a esta sub-área da morfogênese, não tem a intenção de ser uma catalogação completa de todos os trabalhos feitos sobre o assunto, mas antes de dar uma visão geral do seu *status quaestionis*¹, isto é, de onde problema surgiu e como ele se apresenta atualmente. Também farei uma breve exposição das principais hipóteses elaboradas pelos biólogos para explicar o fenômeno, sendo que uma delas, a hipótese da adesão diferenciada, que será modelada e testada no capítulo 5, discutirei em mais detalhes.

1.1 Retrospectiva histórica

A morfogênese é uma área da biologia tão antiga quanto a própria biologia experimental, que nasceu do estudo da regeneração das hidras em 1740 por Abraham Trembley² [5-7]. A hidra é um pequeno ser vivo aquático composto por uma parte superior cheia de tentáculos (cabeça) e uma inferior firmemente ligada ao chão como se fosse uma raiz (pé), como pode ser vista do lado direito da Fig. 1.1. A fim de investigar se ela era uma planta ou um animal, Trembley cortou-a transversalmente em dois pedaços para observar sua estrutura interna. Para sua surpresa, algumas horas depois o pedaço que continha parte inferior da hidra formou uma cabeça e o

¹ Estado da questão, em latim.

² Para ilustrar o que foi dito na introdução sobre a interdisciplinaridade dos primeiros cientistas, Abraham Trembley se formou em teologia e filosofia, mas levou a vida como biólogo, matemático e diplomata.

pedaço com a parte superior, por sua vez, formou um pé, dando origem assim à dois organismos novos. Estava descoberto, então, o mecanismo de regeneração de tecidos celulares.



Fig. 1.1: Laboratório de Abraham Trembley [5] e a *Hydra Vulgaris*.

Devido ao grande ceticismo encontrado por Trembley em relação à sua descoberta, ele se sentiu obrigado a fazer uma série de demonstrações ao vivo de seu experimento para que o público finalmente o aceitasse. O seu esforço na divulgação dos resultados foi tão grande que ele também acabou ficando conhecido pela sua “estratégia da generosidade”, que consistia em enviar um recipiente de água cheio de hidras, assim como um manual de instruções, para qualquer pesquisador que estivesse interessado em reproduzir seu experimento. Desse modo se espalhou entre os biólogos europeus, que até então se limitavam à apenas dissecar e catalogar animais e plantas, a prática da experimentação biológica *in vitro*³.

Um século e meio depois, o pleno desenvolvimento da biologia experimental, iniciado em 1740, possibilitou que em 1886 o biólogo Schiefferdecker [8] conseguisse, pela primeira vez, separar dois tecidos celulares vivos através da incubação deles em um extrato pancreático. A descoberta desta técnica abriu caminho para inúmeros experimentos de dissociação de tecidos que seriam feitos mais adiante.

No século seguinte, em 1907, o pesquisador H. V. Wilson [9] fez o que se pode chamar hoje de uma das primeiras observações de fenômenos de segregação celular (um exemplo similar pode ser visto na Fig. 1.2, onde foram usadas células de embriões de galinha[10]). Utilizando um método um pouco mais rudimentar para se dissociar células, ele misturou células de diferentes

³ Assim que os resultados do experimento se popularizaram, eles acabaram também gerando um pequeno debate filosófico na época sobre a localização da alma.

tecidos de esponja e constatou que elas conseguiam se reunir de volta às suas configurações originais e formar uma nova esponja funcional. A partir desse experimento surgiram duas principais hipóteses para explicar o fenômeno.

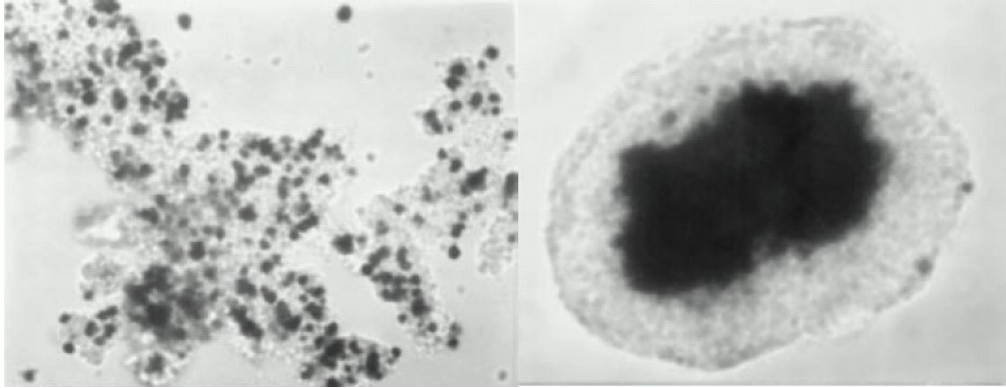


Fig. 1.2: *Exemplo de reconstrução celular de dois tecidos dissociados [10].*

A primeira, defendida em parte pelo próprio Wilson [11], sugeria que as células, após um certo período de rearranjo, sofriam uma transformação citológica de forma a se ajustar ao seu novo ambiente. Em outras palavras, cada célula receberia uma certa quantidade de informações sobre o ambiente em que se encontra e, se fosse o caso, mudaria a expressão do seu ADN⁴ de forma a se transformar no tipo de tecido que deveria estar ali.

A segunda hipótese, defendida por outros pesquisadores [12-14], afirmava que as células se movimentavam e trocavam de posições dentro do agregado de forma a separar os dois tecidos diferentes e assim reconstituir a forma funcional da esponja.

Esta questão permaneceu em aberto durante algum tempo devido à impossibilidade técnica de se observar o movimento individual das células dentro de agregados, mesmo em experimentos de duas dimensões. A resposta veio em 1944 quando o biólogo Holtfreter reproduziu em uma experiência o mesmo fenômeno de reconstrução de tecidos dissociados, porém com células de anfíbios [15]. A diferença desta experiência das outras era que as células dos diferentes tecidos dos anfíbios tinham graus de pigmentação diferentes. Holtfreter pode assim observar as células fracamente pigmentadas da mesoderme difundirem-se em direção ao centro da mistura, enquanto as células mais escuras da ectoderme, assim como as células sem pigmentação da endoderme, emergiram para a periferia do agregado. Estava provado que havia, de fato, segregação de tecidos via difusão celular.

⁴ Esta seria a explicação em termos atuais, pois na época a estrutura e o funcionamento do ADN não haviam sido descobertos.

Solucionado este ponto, faltava ainda descobrir mecanismo responsável pela difusão e segregação das células. Esta é uma discussão ainda em aberto na biologia com muitas hipóteses em vigor. Apresentarei aqui uma lista das principais com uma breve exposição de suas idéias centrais:

Adesão Específica - Esta foi uma das primeiras hipóteses a surgir e foi aceita por vários biólogos [16-22]. Ela defende a existência de fatores de “especificação de tecidos” (*tissue-specific factors*) responsáveis pela preferência entre adesões de células do mesmo tipo.

Reação-Difusão/Quimiotaxia - Sugerida inicialmente por Alan Turing em 1952 como uma explicação geral da formação de padrões biológicos [3] e defendida mais tarde por Townes e Holtfreter [19] [23] como explicação do fenômeno aqui descrito, esta hipótese defende que as células de diferentes tecidos se reorganizam de acordo com sinais químicos emitidos do ambiente em torno ou por elas próprias.

Adesão Diferenciada - Proposta em 1962 por M. S. Steinberg [24], é a hipótese mais aceita atualmente e na qual este trabalho se baseia. Segundo ela, células de diferentes tecidos possuem diferentes graus de adesão entre si proporcionados por alguma substância em suas membranas. Ao se difundirem dentro da mistura, as células mais adesivas acabam formando um agregado central com as células do tecido menos adesivo em torno.

Adesão Temporal - Proposta por A. Curtis em 1961 [25], esta teoria defende que os distintos padrões de reorganização de tecidos se devem aos diferentes tempos que células de tecidos diferentes levam para se aderirem. De acordo com esta hipótese, células que desenvolvem suas adesões mais rapidamente formam uma camada externa sobre o agregado, enquanto as demais permanecem no centro.

Contração Superficial – Surgida de uma crítica feita por A. K. Harris à hipótese da adesão diferenciada [26], esta teoria afirma que quanto mais contrativa é a superfície de uma célula em relação ao meio, mais internamente ela deve se posicionar dentro do agregado, enquanto que os tecidos menos contrativos se posicionam na superfície.

Força de Adesão Diferenciada - Esta é uma segunda alternativa que Harris oferece à hipótese da adesão diferenciada cuja principal diferença com a original está no processo pelo qual

as células se movem. Enquanto que na primeira as células difundem livremente dentro da mistura até encontrarem suas posições finais, nesta o processo é mais ativo: As células primeiro lançam braços e se prendem fortemente com suas vizinhas para depois contraírem suas superfícies o que as faz se deslocarem em direção às células com quem mais se aderem.

Velocidade Diferenciada - Defendida por B. M. Jones, P. M. Evans e D. A. Lee [28], esta hipótese, publicada em 1989, atribuiu os diferentes padrões de reorganização celular de acordo com a distribuição das velocidades de difusão das células. De acordo com os autores, as células que se deslocam mais rapidamente acabam ocupando o centro do agregado, enquanto que as células mais lentas ocupam a superfície.

É importante fazer aqui uma ressalva aos leitores com formação em ciências exatas, em especial àqueles formados em física. Nessas áreas a prova de uma certa teoria geralmente descarta por completo todas as hipóteses concorrentes. Já nas ciências biológicas a regra geral não é esta. Na biologia, quando surgem duas ou mais teorias para explicar certo fenômeno, o provável é que todas elas estejam certas de alguma maneira. Por exemplo, nada impede que o fenômeno da segregação celular de um certo conjunto de tecidos seja dirigido simultaneamente por um processo de reação-difusão e outro de adesão temporal das células. Do mesmo modo, em uma outra cultura pode ser que as células menos adesivas (ou contrativas) sejam também as que se deslocam mais rapidamente.

O que está em jogo, portanto, não é provar qual hipótese está mais certa, mas descobrir qual dos mecanismos citados acima é o predominante na segregação celular, ou se existe alguma forma de juntar dois ou mais mecanismos dentro de uma teoria mais abrangente.

1.2 Hipótese da Adesão Diferenciada

A terceira teoria citada na lista da seção anterior, a hipótese da adesão diferenciada (*DAH*, na sigla em inglês), é a mais aceita atualmente. Como é nela em que este trabalho de mestrado está baseado, convém expô-la de maneira mais detalhada.

Esta hipótese, postulada por Steinberg em 1963 [24], afirma que os rearranjos das células dependem essencialmente dos diferentes graus de adesão (*work of adhesion*) de cada tipo celular e também da mobilidade das células, de maneira análoga aos sistemas físicos inanimados como a

mistura de dois líquidos distintos [29]. Ainda de acordo com a hipótese, as células de tecidos com maior tensão superficial são mais adesivas entre si do que células de tecidos de menor tensão superficial. Quando estes dois tecidos são dissociados e misturados, as células do tecido de maior tensão superficial (por exemplo, as células escuras na Fig. 1.2) tendem a migrar para o centro da mistura, enquanto que as células menos adesivas (células claras) tendem se posicionar na borda.

Fiz uso intencional do verbo *tender*, pois a configuração final vista na Fig. 1.2, embora seja a mais comum, não será atingida para qualquer par de tecidos com diferentes graus de adesão (tensão superficial). O padrão final que a mistura pode apresentar dependerá do valor do grau de adesão entre os dois tecidos diferentes. Sejam dois tecidos distintos, um verde (simbolizado pela letra G, do inglês *green*) e outro vermelho (simbolizado pela letra R, do inglês *red*) cujos valores de grau de adesão interno sejam respectivamente A_{GG} e A_{RR} , tal que $A_{GG} > A_{RR}$. O grau de adesão entre as células dos dois tecidos, A_{GR} , pode ser classificado em 3 intervalos diferentes, cada um levando a um diferente padrão final:

Caso I - O valor do grau de adesão intermediário A_{GR} é maior ou igual à média dos graus de adesão internos dos tecidos verde (G) e vermelho (R):

$$(1.1) \quad A_{GR} \geq \frac{A_{GG} + A_{RR}}{2}$$

Quando isto acontece cada célula tende a ficar em contato com uma célula do tipo diferente do seu e a configuração final do experimento permanecerá no estado de mistura sem nenhuma segregação entre os tecidos (Fig. 1.3). Note que de acordo com a hipótese isto acontece mesmo que o grau de adesão intermediário seja maior que o do tecido mais adesivo (G).

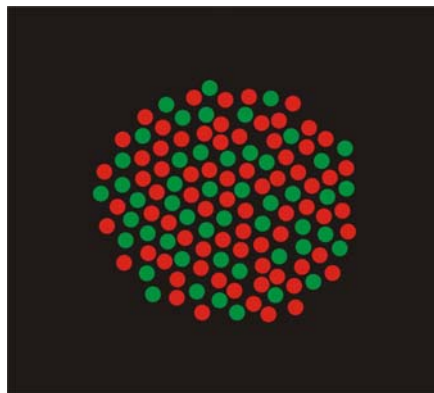


Fig. 1.3: Configuração final misturada (caso I).

Caso II - O valor do grau de adesão intermediário A_{GR} é menor que a média dos graus de adesão internos dos dois tecidos, porém maior ou igual ao grau de adesão interno do tecido menos adesivo (R):

$$(1.2) \quad A_{GG} > \frac{A_{GG} + A_{RR}}{2} > A_{GR} \geq A_{RR}$$

Neste caso as células do tecido verde, por serem as mais adesivas, acabam migrando para o centro da mistura formando um agregado, enquanto que as células menos adesivas do tecido vermelho se posicionam ao redor deste propiciando assim a configuração de envoltura total (Fig. 1.4), de modo semelhante ao visto anteriormente na Fig.1.2.

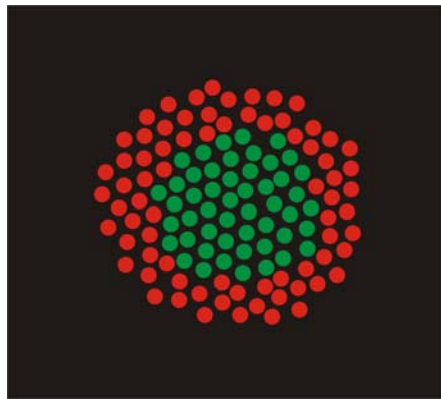


Fig. 1.4: *Configuração final de envoltura total (caso II).*

Caso III - O valor do grau de adesão intermediário A_{GR} é menor que o grau de adesão interno do tecido menos adesivo (R):

$$(1.3) \quad A_{RR} > A_{GR}$$

Assim como no caso anterior, o tecido verde, por ser mais adesivo, forma um agregado compacto no centro da mistura. Porém, como o grau de adesão entre os dois tecidos é mais fraco que a adesão interna do tecido vermelho, ele não encobrirá totalmente o tecido verde, mas apenas parcialmente (Fig. 1.5).

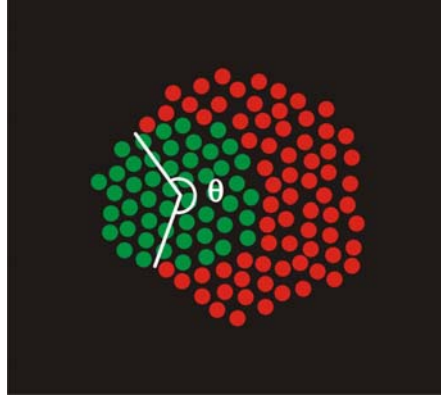


Fig. 1.5: *Configuração final de envoltura parcial (caso III).*

Dependendo do valor do grau de adesão intermediário A_{GR} em relação ao grau de adesão interno do tecido menos adesivo A_{RR} , a quantidade de envoltura, medida em termos do ângulo θ (ver Fig. 1.5), pode ser descrita de acordo com a equação de Young [24]:

$$(1.4) \quad 2 \frac{A_{GR}}{A_{RR}} = 1 + \cos \theta$$

Quando o valor de A_{GR} for igual ou menor que a metade do valor de adesão interno do tecido vermelho, a configuração final do sistema se constituirá de dois agregados completamente segregados e separados, conforme mostrado na figura abaixo:

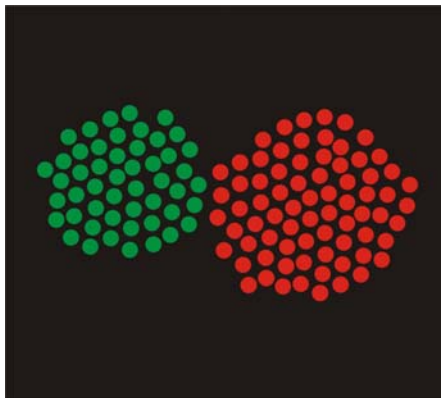


Fig. 1.6: *Separação total dos dois tecidos.*

Estes 3 resultados apresentados acima, obtidos da hipótese da adesão diferenciada, estão de acordo com o que é observado experimentalmente [29-30]. Porém isto não esgota o rol de

previsões acertadas da teoria. Em um artigo de revisão publicado em 1996 [31] o próprio Steinberg fez uma lista de 7 observações experimentais que segundo ele qualquer teoria concorrente deveria ser capaz de explicar:

- 1** - Arredondamento de fragmentos de tecidos, de formas iniciais irregulares, para uma forma final esférica;
- 2** - Envoltura do tecido menos adesivo sobre o mais adesivo quando ambos são colocados em contato (Fig. 1.7);
- 3** - Re-agrupamento de misturas de células de tecidos dissociados alcançando certas configurações topológicas específicas (os 3 casos descritos anteriormente);
- 4** - Dinâmica de segregação de tecidos misturados acontece via fusão de pequenos agregados dentro da mistura (Fig. 1.8);
- 5** - Aproximação da mesma configuração final pelos dois caminhos alternativos (descritos em 2 e 3);
- 6** - Relação hierárquica associativa da tendência dos tecidos de se cobrirem uns aos outros (Fig. 1.9);
- 7** - Perfeita correspondência entre a seqüência dos potenciais de envoltura com os valores de tensão superficial medidos.

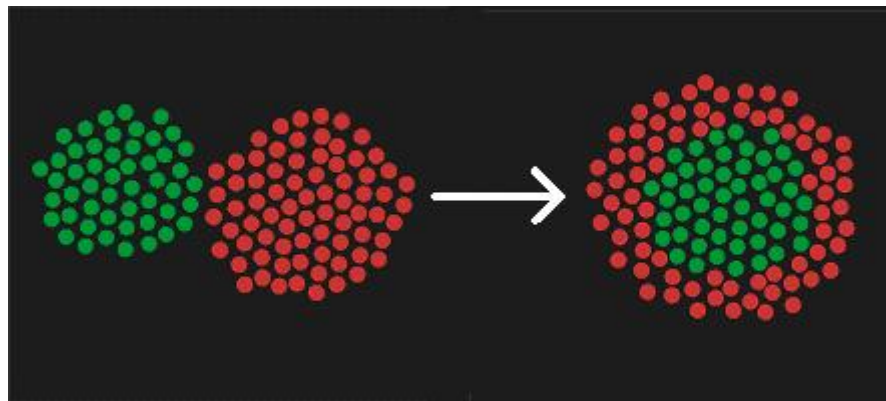


Fig. 1.7: *Envoltura do tecido menos adesivo sobre o mais adesivo. A configuração final dos tecidos deve ser independente das condições iniciais.*

O terceiro ponto da lista foi o já exposto anteriormente quando descrevi os 3 padrões finais possíveis que podem ser obtidos quando dois tecidos dissociados são misturados. Fiz assim, pois é esta a principal experiência que vem sendo feita e discutida sobre o assunto desde 1907 [9],

quando o problema surgiu originalmente, até os dias de hoje [30]. Esta observação, junto com as dos pontos 2 e 5 da lista anterior, afirmam que mesmo se a condição inicial for diferente, como no caso mostrado na Fig. 1.7, as configurações finais dos tecidos devem ser as mesmas que aquelas que foram descritas anteriormente, ou seja, os sistemas biológicos são robustos [32].

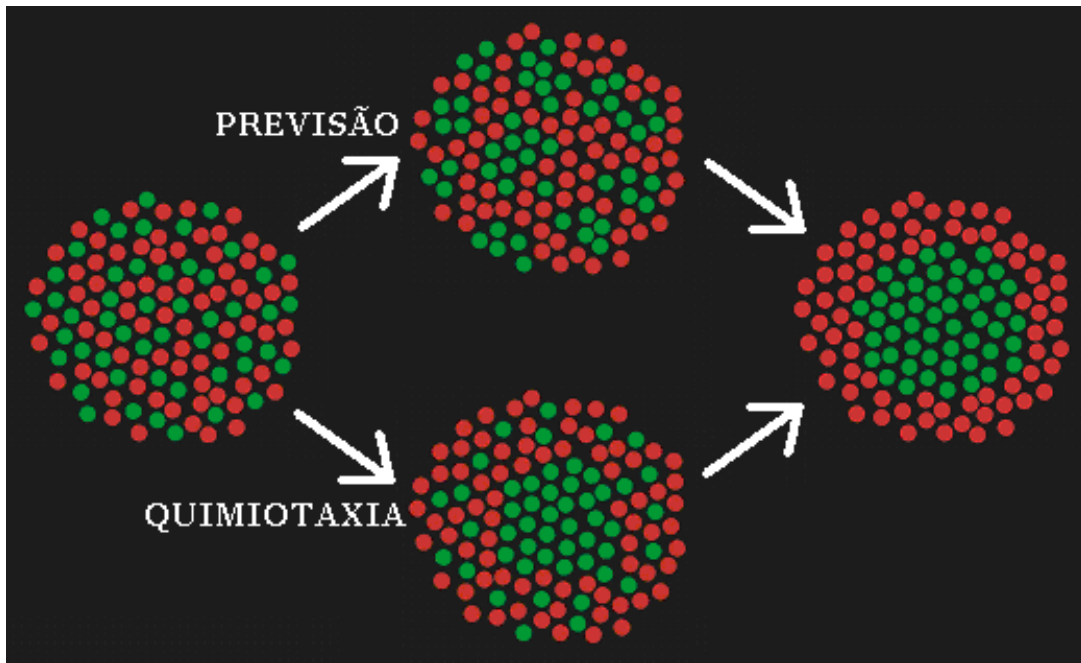


Fig. 1.8: *Diferentes dinâmicas de segregação.*

Se o processo predominante de segregação fosse a quimiotaxia as células migrariam diretamente para o centro da mistura ao invés de formar pequenos agregados.

A dinâmica de segregação dos tecidos, indicada pelo quarto item da lista de Steinberg, é central para a distinção entre as hipóteses de segregação. Por exemplo, se o processo dominante fosse a quimiotaxia todas as células verdes migrariam diretamente para o centro da mistura (ou algum outro ponto de onde esteja vindo o sinal químico) formando um único agregado deste tecido até a segregação total (ver o caminho inferior da Fig. 1.8).

Porém o que se observa nos experimentos de células dissociadas [31] é que, na verdade, as células do tecido mais adesivo (neste caso as verdes) vão se juntando aos poucos, formando assim pequenos agregados dentro da mistura que, via fusão uns com os outros, se tornam cada vez maiores até atingir a configuração de envoltura total (ver o caminho superior da Fig. 1.8).

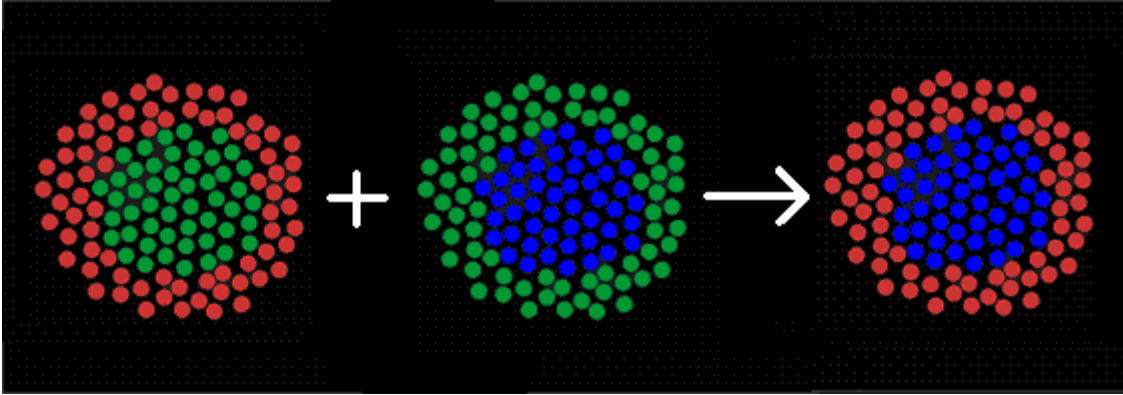


Fig. 1.9: Hierarquia entre as envolturas de 3 tecidos.

O ponto 6 pode ser melhor compreendido através da Fig. 1.9. Suponhamos que haja 3 tecidos diferentes, os já conhecidos verde e vermelho e mais um novo, azul. Este ponto afirma que, se o tecido vermelho (R) envolve o verde (G) e o tecido verde, por sua vez, envolve o azul (simbolizado pela letra B, do inglês *blue*), então o tecido vermelho envolverá o azul, pelo menos parcialmente, quando estes forem misturados.

Esta observação experimental [32] é corretamente prevista pela hipótese da adesão diferenciada. Em termos dos graus de adesão, as envolturas dos tecidos verde pelo vermelho e do azul pelo verde, podem ser descritas como:

$$(1.5) \quad A_{GG} > \frac{A_{GG} + A_{RR}}{2} > A_{GR} \geq A_{RR}, \quad \text{envoltura do tecido verde (G) pelo vermelho (R)}$$

$$(1.6) \quad A_{BB} > \frac{A_{BB} + A_{GG}}{2} > A_{BG} \geq A_{GG}, \quad \text{envoltura do tecido azul (B) pelo verde (G)}$$

Das inequações 1.5 e 1.6 segue-se imediatamente que $A_{BB} > A_{RR}$, o que, embora não seja suficiente para garantir a envoltura total de um sobre o outro, pelo menos garante que a tendência será do tecido vermelho encobrir o azul e nunca o contrário.

O último ponto afirma que o tecido que encobre o outro deve ter necessariamente uma menor tensão superficial que o tecido encoberto. Isto só foi totalmente comprovado em 1996 por Foty *et al.* [33]. Neste trabalho os pesquisadores utilizaram os mesmos tipos de tecidos de embriões de galinha que Steinberg usou no seu artigo de 1970 [32], quando verificou experimentalmente a já citada hierarquia entre as tendências de envoltura dos tecidos (ponto 6). Usando um equipamento que comprime o agregado de um tecido qualquer entre duas placas

paralelas (Fig. 1.10a) eles foram capazes de medir a tensão superficial (σ) de 5 tecidos diferentes de embriões de galinha (*limb bud*⁵, epitélio pigmentado, coração, fígado e retina neural). Os resultados do experimento confirmaram a correlação entre a hierarquia de envoltura desses tecidos com os valores de tensão superficial, conforme pode ser visto pela Fig. 1.10b.

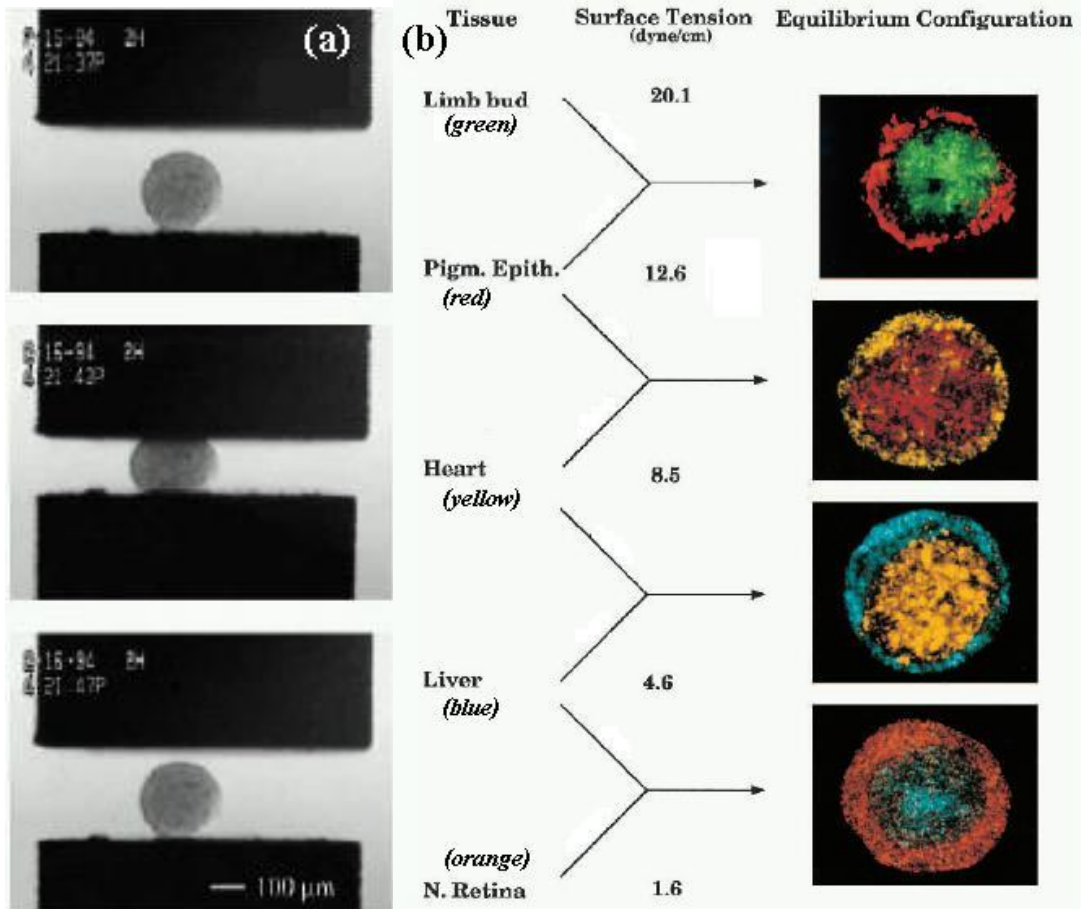


Fig. 1.10: Correspondência entre tensões superficiais e hierarquia de envoltura [33]. Em (a), aparelho usado no experimento; em (b), envoltura dos tecidos de maior tensão superficial pelos de menor (na segunda coluna estão os valores medidos para cada tecido).

Este trabalho termina concluindo que os valores de tensão superficial calculados devem corresponder diretamente a alguma *força física de atração entre as células* [33], porém os autores não especificaram a sua origem.

⁵ *Limb bud*: conjunto localizado de células não-diferenciadas do embrião de galinha que darão origem à asa.

1.3 Adesão celular

A identificação desta “força física de atração entre as células” corresponde a um outro tipo de problema que se desenvolveu paralelamente às hipóteses sobre os mecanismos de segregação celular vistos na seção 1.1.

Como já foi dito, em 1886 P. Schiefferdecker [8] conseguiu separar dois tecidos celulares vivos imergindo-os em um extrato pancreático. O fato de que a dissociação de dois tecidos pudesse ser feita através desse tipo de substância química sugeria que de alguma forma estes eram ligados via algum material protéico responsável por suas adesões.

Sessenta anos depois desta descoberta, outras técnicas de dissociação de tecidos foram desenvolvidas. Em 1944 Holtfreter [15] descobriu que um fragmento de gástrula de um anfíbio colocado em um ambiente com alto pH (em torno de 10) tinha suas células dissociadas e separadas umas das outras. Restabelecendo-se em seguida o nível normal de pH as células voltavam a se re-agrupar formando um novo agregado.

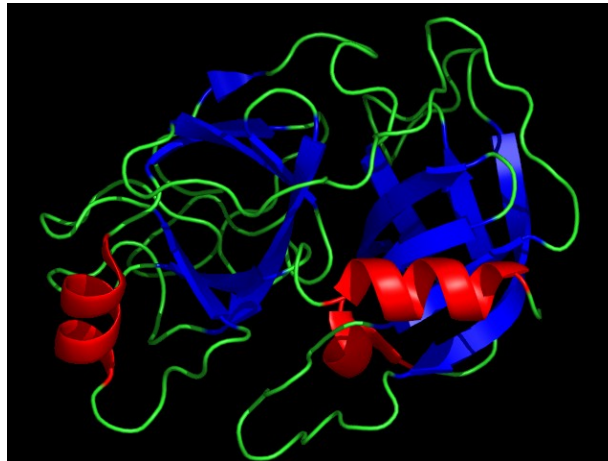


Fig. 1.11: *Estrutura da tripsina obtida via cristalografia por raios-X⁶.*

Em 1952, oito anos depois, Moscona [34-35] desenvolveu a técnica de dissociação de tecidos via tripsina (Fig. 1.11), que era a substância por trás do experimento de dissociação feito anteriormente por Schiefferdecker. Em 1954 [36] também foi descoberta a técnica de dissociação de tecidos via ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA, na sigla em inglês), porém o uso da tripsina continuou sendo predominante.

⁶ Figura extraída da página <http://en.wikipedia.org/wiki/Image:1UTN.png> no dia 01/01/2006.

Todos esses resultados reforçavam uma crença, defendida desde pelos menos 1862 pelo trabalho de F. von Recklinghausen [37], de que as células são mantidas juntas por alguma espécie de substância (*ground substance*) que as permeavam e fazia o papel de cola entre elas. Esta interpretação foi defendida por muitos biólogos [38-41] até pelo menos 1960, época na qual Moscona acreditou ter visto a tal substância [21].

Esta hipótese da “cola” foi posta em cheque com a descoberta posterior de Beug *et al.* em 1973 [42] de que há pelo menos dois mecanismos independentes responsáveis pela adesão entre as células, sendo um deles sensível ao tratamento de EDTA e outro não.

Paralelamente a isso, também se fizeram experimentos nos quais a dissociação das células não era obtida através da imersão dos tecidos em uma substância qualquer, mas sim pela remoção de cálcio do meio em que estavam. Este fenômeno é conhecido desde o final do século XIX com os trabalhos de Ringer em 1890 [43] e Herbst em 1900 [44], mas só meio século depois que se conjecturou hipóteses a respeito.

A primeira delas surgiu em 1941 com o trabalho de F. O. Schmitt [45] e foi aperfeiçoada mais tarde por outros trabalhos que seguiam a mesma linha [46-47]. Segundo eles, as membranas das células possuem cargas negativas que são neutralizadas por íons de cálcio positivos Ca^{2+} . Ao remover estes íons do meio em que se encontravam, as membranas das células voltavam a ser negativas e a repulsão eletrostática entre elas fazia com que os tecidos se dissociassem.

Uma segunda hipótese defendida por J. Gray [48] e L. M. J. Rinaldini [41] associava os íons de cálcio à formação de estruturas moleculares presentes e necessárias ao bom funcionamento da já citada substância responsável pela adesão entre as células.

Uma das dificuldades dessa segunda hipótese sobre o papel do íon Ca^{2+} era a observação experimental de tecidos que não se dissociavam apesar da remoção de Ca^{2+} , assim como de tecidos que em presença de uma solução de tripsina e Ca^{2+} também não se dissociavam [49]. Esta observação (que corroborava o trabalho anterior de Beug *et al.* [42]) sugeria a existência de dois mecanismos paralelos de adesão entre as células: um dependente de cálcio (que se “dissolve”, ou perde a funcionalidade, com a sua remoção) e outro independente (que requer o tratamento com tripsina para perder a aderência).

Na época desta observação experimental (década de 70), muitos biólogos estavam focados em uma terceira hipótese (surgida duas décadas antes) sobre o papel do íon Ca^{2+} na adesão molecular: a de que ele estava associado ao funcionamento de alguma ponte molecular que ligava grupos de fosfato e/ou carboxila presentes na superfície das células [50-53], ou seja, que a adesão entre as células era devida a alguma molécula presente em suas membranas.

A primeira molécula a ser identificada foi a N-CAM, entre 1976 e 1977 por um grupo de pesquisadores da Rockefeller University [54-57], mas ainda não estava claro na época de que modo esta molécula funcionava. Havia basicamente 3 hipóteses em jogo:

- 1** - Cada molécula se ligava diretamente a mesma molécula presente na outra célula;
- 2** - Elas se ligavam através de alguma terceira molécula que formava a ponte entre as duas;
- 3** - Elas se ligavam a uma molécula/região receptora presente na membrana da outra célula.

Seus descobridores acreditavam na primeira hipótese, embora ainda não tivessem os meios de prová-la. Mais tarde se comprovou que isto era de fato verdade.

Outras moléculas de adesão celular foram descobertas com o passar dos tempos [58-63], fazendo desta hipótese um fato consumado. Cada uma destas moléculas faz parte de uma família de proteínas responsáveis pelos diferentes tipos de adesão celular, conforme pode ser visto na Tab. 1.1.

Família	Ligandos	Tipo
Integrinas	Matriz Extracelular	Heterofilico
Selectinas	Carboidratos	Heterofilico
Superfamília Ig	Superfamília Ig	Heterofilico
	Integrinas	Heterofilico
	Superfamília Ig	Homofilico
Caderinas	Caderinas	Homofilico ⁷

Tab. 1.1: Família de proteínas e seus tipos de ligações.

Destas, deve-se dar especial atenção à família das caderinas (Fig. 1.12), descoberta por C. Yoshida e M. Takeichi em 1982 [64], que desempenham um papel de destaque nos fenômenos da morfogênese [65]. O nome deste tipo de proteína veio da combinação das palavras *calcium* e *adhere* [66], pois as primeiras moléculas que foram investigadas necessitavam da presença do íon

⁷ Ver observação na próxima página.

Ca^{2+} para funcionarem [49]. Hoje se atribui o nome de caderinas a um vasto número de proteínas adesivas que também incluem algumas independentes de cálcio.

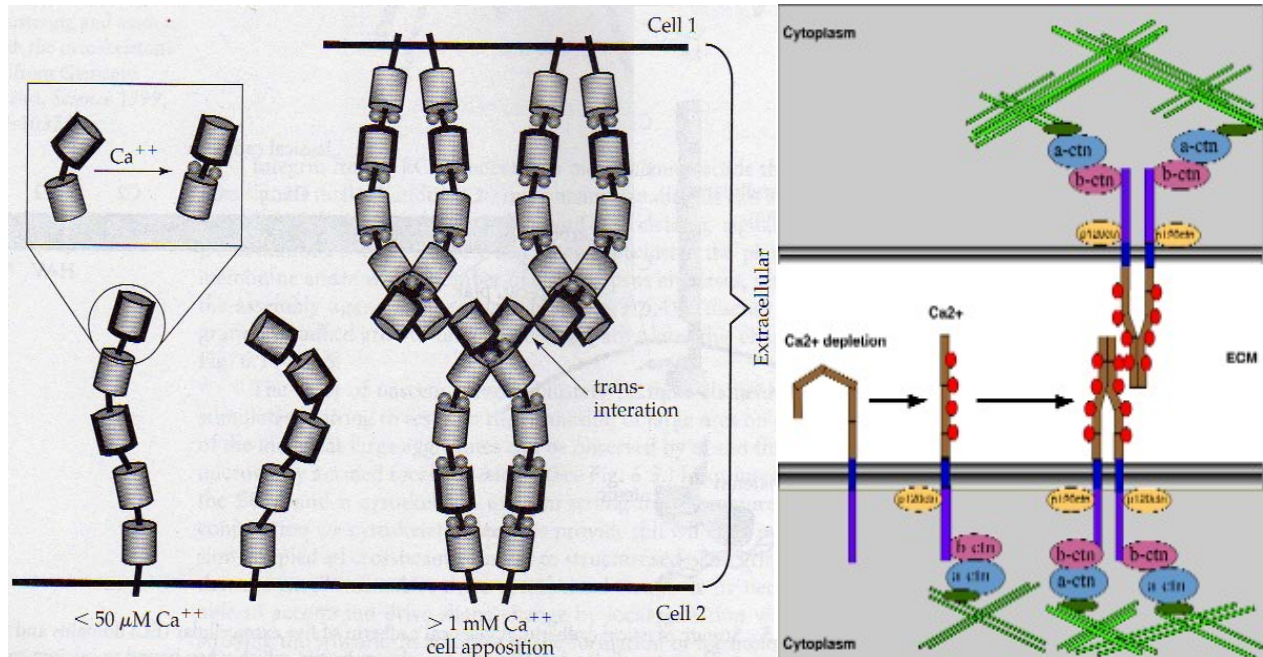


Fig. 1.12: Caderinas e suas ligações com o citoesqueleto das células⁸.

O papel de destaque das caderinas na morfogênese vem do fato de suas ligações serem muito mais fortes e estáveis do que das demais famílias. Isto acontece por que elas estão ligadas diretamente ao filamento de actina, que faz parte do citoesqueleto da célula [68-70] (Fig. 1.12). Além disso, as caderinas, assim como a maior parte das proteínas de adesão, ligam-se diretamente umas às outras, o que responde as 3 hipóteses levantadas pelos descobridores da primeira molécula de adesão [54], a N-CAM, que mais tarde se mostrou ser uma caderina.

As primeiras experiências com caderinas [71-70] sugeriam que essas ligações fossem essencialmente homofílicas, isto é, duas caderinas somente se aderiam caso pertencessem ao mesmo tipo (adesão seletiva). Porém esta idéia se mostrou parcialmente errônea mais tarde com a observação de adesões entre caderinas de tipos diferentes [72-73]. Embora estas adesões demorem mais tempo para serem formadas, elas não são necessariamente muito mais fracas que as adesões homofílicas, o que vem ao encontro das hipóteses da adesão diferenciada [24] e, de certo modo, também da adesão temporal [25].

⁸ Figuras extraída do livro [67] (esq.) e da página pessoal de Sandra Rieger, disponível em: http://sandra.kaminik.de/?page_id=3, em 31/11/2006 (dir.).

1.4 Discussão

Mesmo que as ligações entre as caderinas fossem totalmente homofílicas, isto não seria uma prova da hipótese da adesão seletiva, tampouco uma refutação da hipótese da adesão diferenciada, pois nada descarta que uma célula possua mais de um tipo de caderina presente em sua membrana. E ainda que as células de dois tecidos diferentes tivessem apenas o mesmo tipo de caderina, uma simples diferença quantitativa no número de caderinas presentes em suas células já bastaria para dar suporte a hipótese da adesão diferenciada (Fig. 1.13), conforme já foi confirmado experimentalmente por Steinberg e Takeichi em 1994 [74].

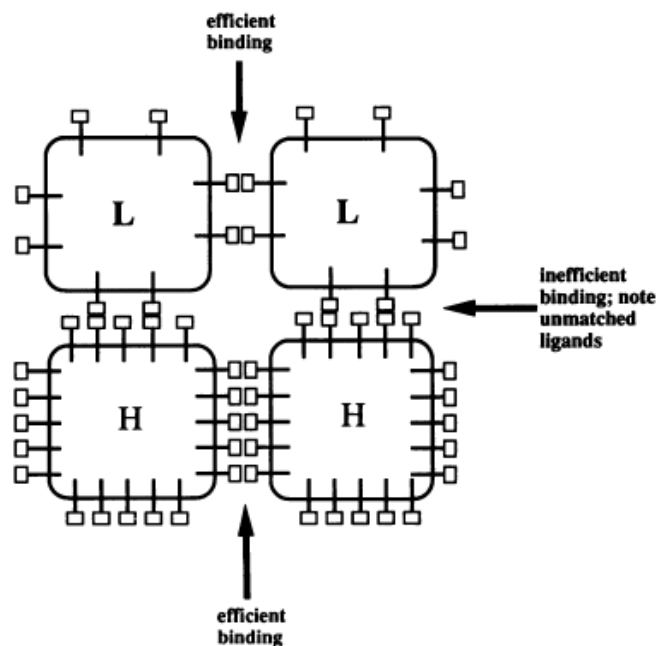


Fig. 1.13: *Diferenças nas distribuições de caderinas levam a graus de adesão intermediários [74].*

A proposta de Steinberg, portanto, conseguiu não só permanecer firme como uma hipótese válida ao longo desses anos, como também foi corroborada por estas mesmas observações experimentais que surgiram. Uma delas está no trabalho recente conduzido por A. Foty e M. Steinberg feito em 2004 [30]. Nele os pesquisadores conseguiram demonstrar que a tensão superficial de um tecido cresce linearmente com a quantidade de caderinas presente na membrana de suas células (Fig. 1.14) e que dois tecidos com diferentes tensões superficiais, produzidas por este método, corretamente envolve um ao outro.

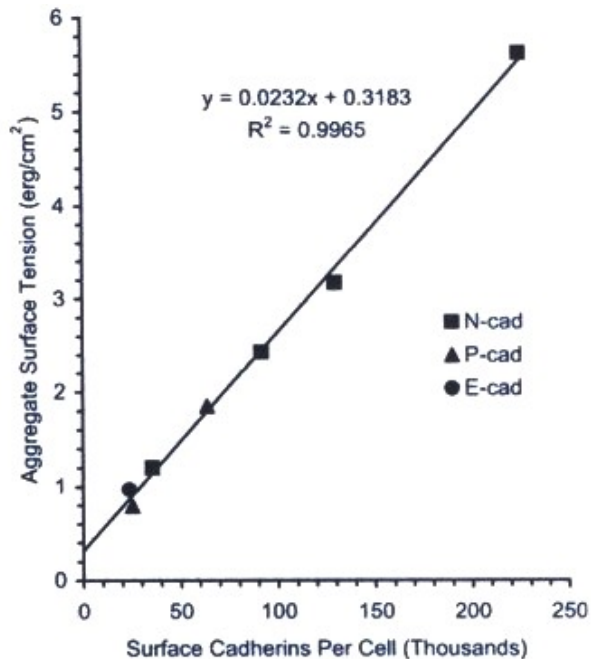


Fig. 1.14: Crescimento linear da tensão superficial com o número de caderinas [30].

Embora todas estas verificações experimentais favoreçam a hipótese da adesão diferenciada, os experimentos com células vivas, por mais cuidadosos que possam estar sendo conduzidos, por sua própria natureza possuem inúmeros fatores ocultos influenciando no resultado. Como já dito anteriormente, em biologia a corroboração de uma hipótese não a torna necessariamente mais correta que uma concorrente. Fora a hipótese citológica sobre os processos de segregação (descartada pela observação de Holtfreter do deslocamento das células [15]) e a recém discutida sustentação da adesão específica frente à ambígua especificidade das caderinas, pouco ou nada foi dito sobre as demais hipóteses levantadas na seção 1.1.

Portanto, apesar de tudo, ainda se faz necessário o uso de modelos puramente teóricos para validar ou descartar certas hipóteses como abstrações válidas em si mesmas. No próximo capítulo apresentarei modelos matemáticos e computacionais que testam a validade destas teorias e discutirei alguns de seus resultados e deficiências em relação ao modelamento de células. Adianto já as duas principais carências encontradas: (1) a limitação dos modelos em sua capacidade de modelar mais de umas das hipóteses apresentadas na seção 1.1; e (2) ausência completa do papel do movimento coletivo das células durante os processos de segregação, já observado experimentalmente como uma realidade nos trabalhos de Rieu *et al.* [75-76].

Capítulo 2

Modelos matemáticos

Como dito ao final do capítulo anterior, uma das utilidades dos modelos matemáticos é possibilidade de, baseado em teorias acerca de fenômenos naturais, testar se elas têm consistência. Outras vantagens que justificam a matematização da natureza são a possibilidade de se testar novas configurações e condições iniciais, que seriam impossíveis ou muito difíceis de se fazer com o sistema real, e a capacidade de se fazer previsões baseadas nestas *experiências virtuais* (simulações).

Devo ressaltar aqui a importância em não se tomar o modelo matemático como um substituto da natureza. O uso destes modelos tem uma grande utilidade metodológica na investigação científica e possibilitam um entendimento maior dos fenômenos, porém eles têm seus limites. Por maiores que sejam seus êxitos, não se deve conferir a eles um sentido ontológico. Os modelos de células que serão apresentados aqui são apenas representações de certos aspectos delas já escritas matematicamente por alguma fórmula que se acredita ser a chave de seu funcionamento. É exatamente esta suposição inicial que é testada pelas simulações. Assim sendo os modelos apresentados neste capítulo (incluindo o que será usado no restante deste trabalho) são apenas tentativas de se descrever certas funções celulares isoladas e não constituem, portanto, uma célula real, da mesma maneira que um modelo de rede neurais não constitui um cérebro real, mas apenas uma idealização dele. Este é um erro de interpretação que procurarei evitar ao longo desta dissertação.

Com isto em mente, pretendo fazer neste capítulo uma breve retrospectiva e discussão dos modelos mais comumente usados para a descrição de células e de tecidos. Em seguida apresentarei uma nova classe de modelos que, embora não tenham sido desenvolvidos para este fim¹, servirá de base para o modelamento de células proposto por este trabalho.

¹ Como se verá em seguida isto não é bem verdadeiro, já que ele foi usado em uma ocasião anterior para simular o movimento de bactérias.

2.1 Primeiros modelos

O primeiro modelo matemático propriamente dito sobre os fenômenos da morfogênese reúne as equações diferenciais usadas por Alan Turing [3], quando ele sugeriu que os diferentes padrões biológicos se deviam a difusão de sinais químicos no meio em que as células se encontravam. Desde essa data milhares de variantes do modelo original de Turing foram propostas e usadas para modelar inúmeros processos diferentes, desde a formação de tecidos até distribuição de listras na pele de animais [77]. Porém, conforme foi demonstrado por Steinberg em 1996 [31], a quimiotaxia não faz a correta previsão da dinâmica de segregação de tecidos misturados (Fig. 1.9). Sendo assim, as equações diferenciais que modelam os processos de reação-difusão não serão abordadas aqui.

Descartando-se as tentativas de modelagem desta primeira hipótese sobre a segregação celular sobram essencialmente poucos modelos sobre o assunto. A primeira tentativa de se modelar processos de segregação celular foi feita por Goel *et al.* em 1970 [78]. Neste trabalho cada célula é representada por um sítio que se encontra em uma rede retangular de tamanho $L \times L$ (Fig. 2.1a).

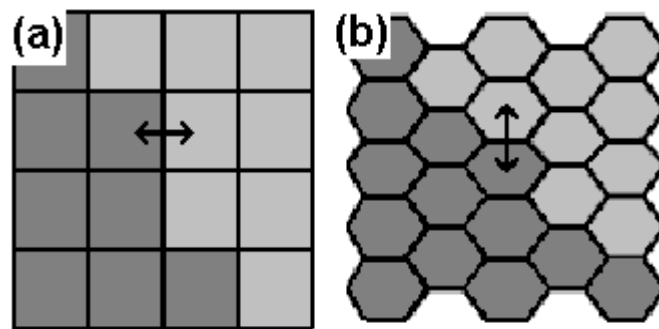


Fig. 2.1: Modelo de Goel retangular(a) e hexagonal(b).

Cada célula assim representada pertence a um tipo diferente, cada um com diferentes propriedades de adesão. Inicialmente todos os tipos de células começam de um estado misturado. A cada passo de tempo as células podem trocar de lugar com alguma célula no seu sítio vizinho

desde que isso diminua² suas energias de adesão. O que se esperava era que ao final das simulações o sistema atingisse o estado de envoltura total do tecido mais adesivo pelo menos adesivo, porém tudo o que se conseguiu foram estados finais “*histologicamente insignificantes*”, como os próprios autores reconheceram. O uso de diferentes regras de troca de células não trouxe novos resultados [79].

Houve duas tentativas frustradas para contornar a situação. Em um trabalho posterior N. Goel e A. Leith [80] usaram células anisotrópicas, nas quais cada lado poderia ter uma energia de adesão diferente. Desta vez eles conseguiram obter resultados mais interessantes, como a formação de anéis abertos e fechados. Porém a envoltura total de um tecido por outro ainda não foi alcançada. Outra tentativa foi feita por Antonelli *et al.* em 1973 [81]. Neste trabalho eles usaram o mesmo modelo de Goel, porém em uma rede com geometria hexagonal, isto é, agora cada célula tinha 6 vizinhos, ao invés de 4 (Fig. 2.1b). Com esta modificação as células mais adesivas conseguiram formar rapidamente pequenos agregados, mas o padrão final de envoltura continuou sem ser atingido.

O modelo só conseguiu reproduzir a envoltura total de um tecido por outro em 1978, quando N. Goel e G. Rogers [82] aboliram a localidade da troca de células. Nos trabalhos anteriores cada célula podia trocar de posição com a vizinha, caso isto fosse energeticamente favorável. No modelo modificado, uma célula não só pode trocar de posição com uma mais distante, como a troca é sempre feita com aquela que vai proporcionar a melhor configuração energética resultante.

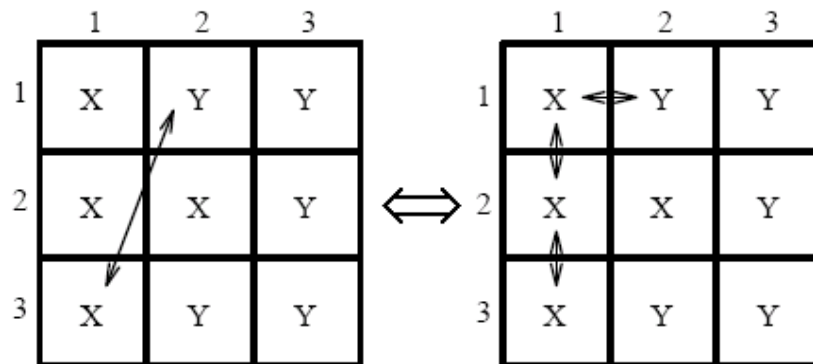


Fig. 2.2: Troca de posição não-local vista como uma sucessão de trocas locais [83].

² Nos artigos originais deste tipo de modelo o critério para a troca era o aumento da energia de adesão, porém, para evitar confusões, inverterei o critério para ficar de acordo com o padrão usado em sistemas termodinâmicos.

Se o modelo original de Goel já era passível de críticas por sua dinâmica simplista do movimento celular apresentada (além da representação da morfologia de uma célula através de um quadrado), a última modificação o torna ainda mais suspeito. Goel e Rogers a justificam alegando que a troca de posição não-local pode ser interpretada como sendo o resultado de várias trocas adjacentes locais que resultaram naquela posição estável (Fig. 2.2). Porém se este é o caso por que o modelo original, constituído de trocas locais, não foi capaz de reproduzi-lo?

A resposta está na completa ausência de movimento aleatório. No modelo acima duas células somente trocam de posição caso esta troca seja energeticamente favorável. Tal regra leva o sistema a ficar rapidamente preso (ou congelado) em um estado de energia mínima local sem conseguir sair deste para um estado de menor energia.

Isto foi demonstrado em 1995 pelo informata P. Agarwal [83]. Usando a sua Linguagem de Programação de Células (*CPL*, na sigla em inglês), desenvolvido na sua tese de doutorado de 1993 [84], ele reproduziu o modelo de Goel (em uma rede hexagonal) com a seguinte modificação: a troca de células vizinhas energeticamente mais favorável passa a ocorrer com probabilidade de $\frac{1}{2}$ (antes era de 1); enquanto que uma troca aleatória entre dois vizinhos quaisquer (mesmo que seja energeticamente desfavorável) acontece com probabilidade de $\frac{1}{4}$. Esta pequena modificação já foi o suficiente para que o sistema atingisse o padrão de envoltura total em todas as simulações conduzidas (Fig. 2.3).

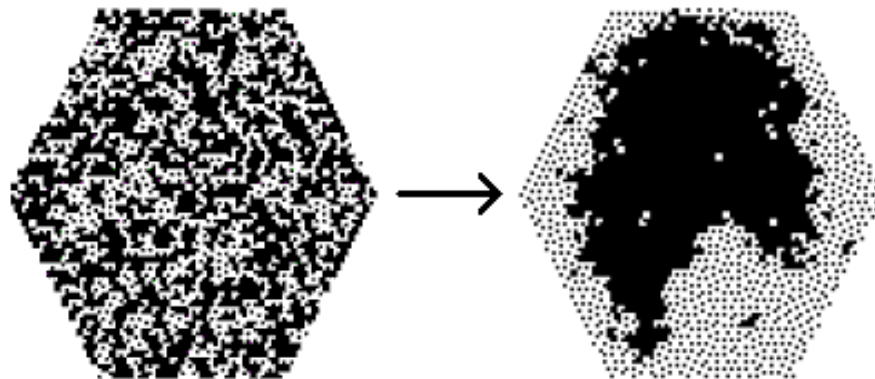


Fig. 2.3: *Envoltura total obtida pela modificação de Agarwal no CPL [83].*

Embora o trabalho de Agarwal tenha mostrado mais didaticamente a necessidade da presença de flutuações para o modelo atingir o seu estado de minimização global de energia, isto não chega a ser uma descoberta propriamente dita, pois este processo é um fenômeno largamente conhecido por todos aqueles que já estudaram termodinâmica. Além do mais, o mesmo princípio

já tinha sido usado em um outro modelo para simular a envoltura total de um tecido por outro pelo menos três anos antes, em 1992, pelos físicos F. Graner e J. A. Glazier [85].

4	4	4	4	4	3	3	3	3	3
4	4	4	1	1	1	3	3	3	3
4	4	1	1	1	1	1	3	3	3
4	1	1	1	1	1	1	1	3	3
0	1	1	1	1	1	1	1	3	3
0	1	1	1	1	1	1	2	2	2
0	0	1	1	1	1	2	2	2	2
0	0	0	0	2	2	2	2	2	2
0	0	0	0	2	2	2	2	2	2

Fig. 2.4: Representação das células no modelo de Potts.

O trabalho deles se baseia em uma adaptação do modelo de Potts generalizado, originalmente usado para simulações de espumas [86] e crescimento de domínios magnéticos em metalurgia [87]. Neste modelo, batizado de Potts Celular (*Cellular Potts Model*), cada célula é representada não por um, mas por um conjunto de sítios³ dentro de uma rede retangular (Fig. 2.4). A evolução do sistema não se dá através da troca de uma célula inteira por outra, mas da troca de sítios situados na sua borda. Estes sítios são sorteados aleatoriamente e suas energias de adesão são calculadas através de uma função hamiltoniana, que contém em si um termo de energia de adesão local e outro de conservação de volume (em algumas versões há também um termo de conservação de perímetro). Logo em seguida se calcula a mesma função com o sítio pertencendo a uma célula vizinha. Se a diferença de energia for negativa, ou zero, a troca é realizada; caso contrário, a troca ocorre com a seguinte probabilidade:

$$(2.1) \quad P = \exp(-\Delta E/kT) ,$$

sendo T a temperatura do sistema e k a constante de Boltzmann.

Com este modelo, F. Graner e J. Glazier simularam a mistura de dois tecidos com diferentes energias de adesão entre si. Depois de testarem várias combinações de valores,

³ Para não cometer nenhuma injustiça, devo ressaltar que o CPL também é capaz de simular células como um conjunto de sítios, embora isto não tenha sido usado, até o momento, para simular a segregação de tecidos.

verificaram que a envoltura total de um tecido por outro (Fig. 2.5) sempre ocorria quando as energias (ou graus) de adesão obedeciam às mesmas relações de valores previstos pela hipótese da adesão diferenciada (Eq. 1.2).

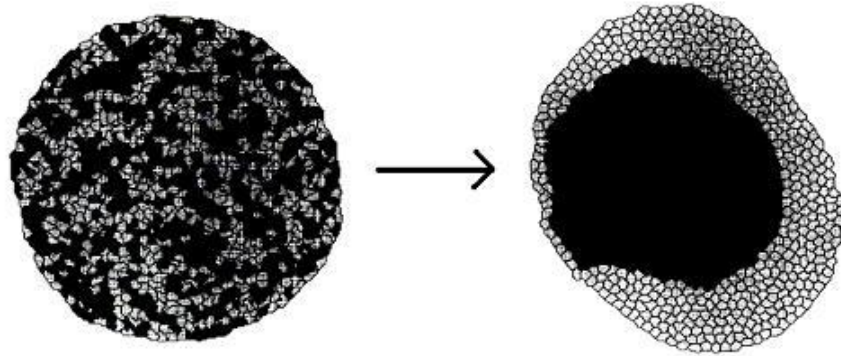


Fig. 2.5: Simulação da envoltura de dois tecidos [85].

Todos os modelos apresentados até agora funcionam com alguma rede (retangular ou hexagonal) de fundo, onde as células são constituídas de um ou vários sítios da rede. Tais modelos, embora distorçam um pouco a forma das células, têm a vantagem de serem computacionalmente mais rápidos. Porém existe uma outra classe de modelos, se posso chamar assim, que se caracterizam pela ausência desta rede.

O primeiro modelo deste tipo foi proposto em 1979, por Matela e Fletterick [88], e é baseado em grafos. Neste modelo, cada célula é representada por um ponto solto em um espaço bidimensional e células vizinhas (que estão em contato umas com as outras) são ligadas por uma linha (Fig. 2.6) formando assim um conjunto de vértices interligados.

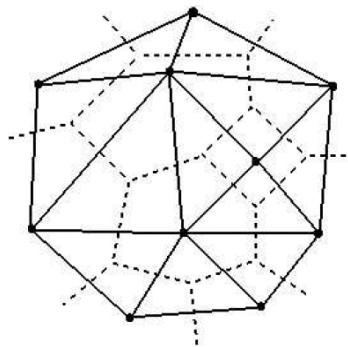


Fig. 2.6: Representação do modelo de grafos [89].

Cada vértice é uma célula e suas linhas indicam os seus vizinhos. As linhas pontilhadas representam a partição do espaço ocupado pelas células.

No ano seguinte o modelo foi utilizado para simular a segregação de células [90]. O método era associar a cada ligação entre os vértices uma força de adesão de acordo com os tipos de células que eles representavam. Essas forças entre os vértices que determinariam então a direção de movimento da célula e sua troca de vizinhança, que consistia em desmanchar a ligação entre dois vértices vizinhos e formar uma ligação nova com um terceiro vértice comum aos dos vizinhos em questão (conforme ilustrado na Fig. 2.7). Porém, assim como o modelo de Goel, as simulações não conseguiram sair de mínimos energéticos locais e o estado de envoltura total não foi alcançado.

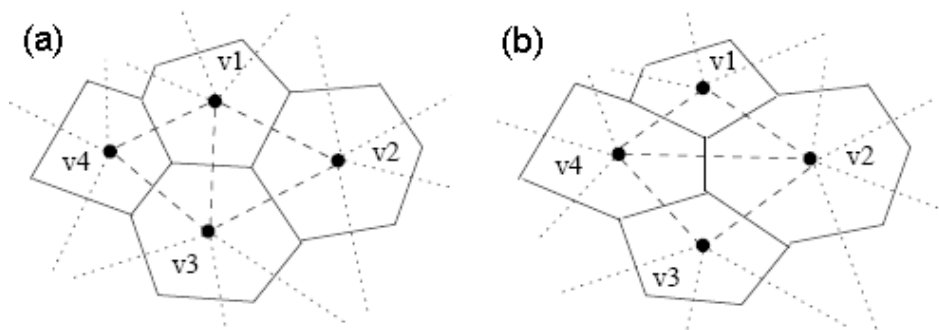


Fig. 2.7: Troca de vizinhos no modelo de grafos [91].

Um outro modelo similar foi construído em 1984 por D. Sulsky [92], baseado na proposta de H. Honda [93]. Da mesma maneira que o modelo anterior, as células são representadas por pontos soltos em um espaço bidimensional, porém sem linhas as conectando. A repartição do espaço é feita usando-se a técnica de Voronoi [94] na qual todos os pontos do espaço que estão mais próximos de uma célula do que qualquer outra pertencem a esta primeira (Fig. 2.8).

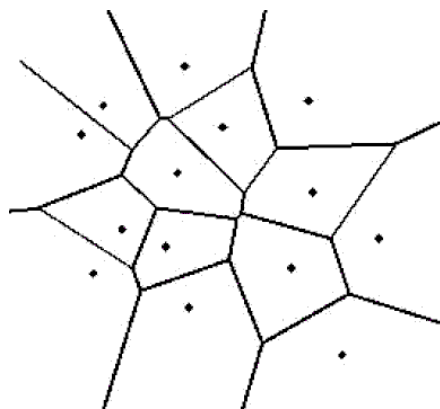


Fig. 2.8: Repartição espacial de Voronoi [89].

Uma vez definida a estrutura geométrica de cada célula, a força de adesão entre elas é proporcional ao tamanho da suas linhas de contato. O movimento das células é então implementado de modo a minimizar a energia de adesão entre elas, porém há a presença de um termo de dissipação que permite ao modelo chegar em configurações energeticamente favoráveis, incluindo a envoltura total de um tecido por outro.

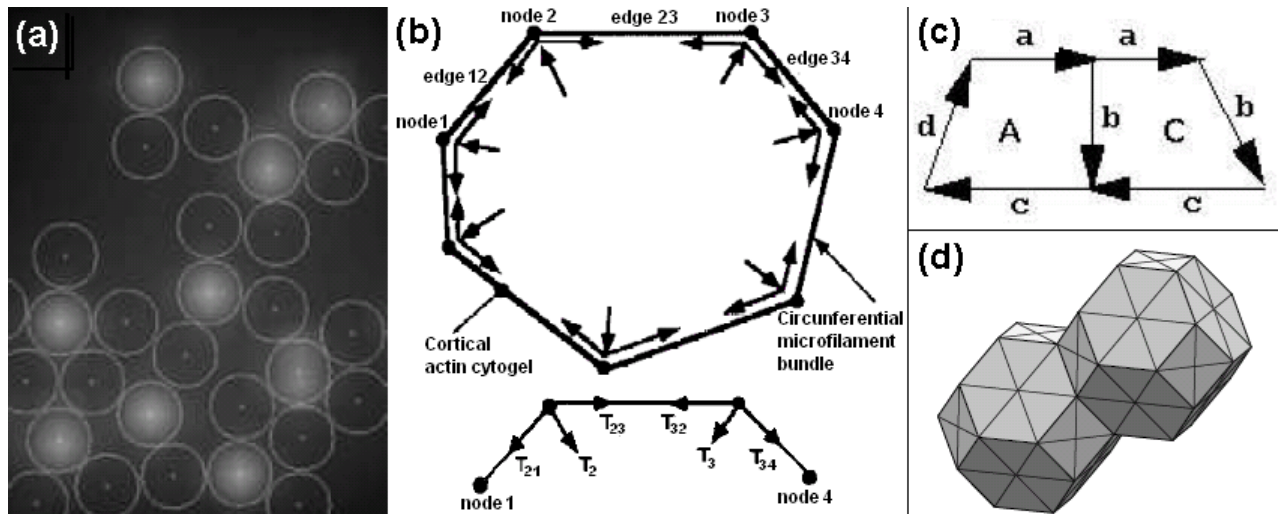


Fig. 2.9: Demais modelos para a simulação de células.

(a) modelo de esferas [89]; (b) conjunto de vértices [95]; (c) modelo de mapas de Lyndenmayer [89]; e (d) *surface evolver* [96].

Existem dezenas de outros modelos que já foram usados para se descrever sistemas celulares, tais como os que usam esferas ou discos (Fig. 2.9a) para se modelar células [97-100]; que usam um conjunto de vértices (Fig. 2.9b) para modelar cada célula [95]; mapas de Lyndenmayer (Fig. 2.9c) [101-104]; e o *surface evolver* (Fig. 2.9d) [96]. Porém, nenhum deles foi usado até o momento para se modelar segregação de células a partir da mistura de tecidos dissociados.

2.2 Animóides

O modelo de animóides surgiu em 1986, e foi criado por Craig W. Reynolds, um cientista da computação que trabalhava com animação digital. O seu objetivo não era criar nenhum modelo para descrever células, mas somente desenvolver um mecanismo que simulasse realisticamente o

movimento coletivo de peixes ou pássaros. O nome do modelo vem da adaptação para o português da palavra francesa *animóide*, que por sua vez é inspirada no termo originalmente usando em inglês como *boïd* (ou *bird-oid*).

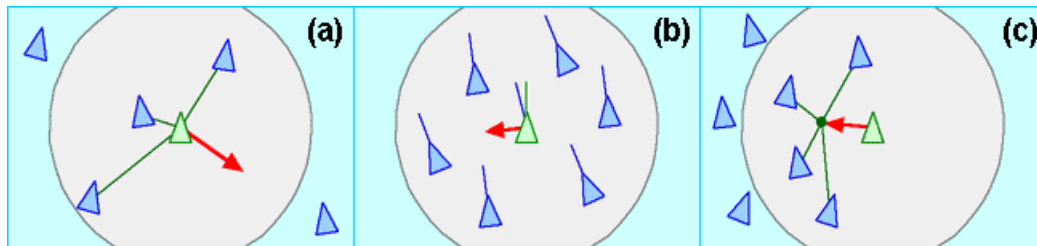


Fig. 2.10: Regras de movimentação dos animóides⁴.

(a) Separação dos animóides; (b) alinhamento com os vizinhos; (c) coesão com o bando.

No seu trabalho original cada animóide se movimentava seguindo 3 regras simples: manter uma certa separação dos outros animóides para evitar colisões (Fig. 2.10a); alinhar-se de acordo com a direção de movimento dos animóides vizinhos (Fig. 2.10b); e aproximar-se dos demais animóides se por acaso se afastar do bando (Fig. 2.10c).

Craig Reynolds apresentou seu trabalho em uma conferência de 1987 sobre computação gráfica [105]. Mais tarde este mesmo modelo foi usado para gerar animações computadorizadas de morcegos e pingüins no filme *Batman Returns*, de Tim Burton.

2.3 Modelo de Vicsek

Embora o modelo tenha surgido em 1986, foi somente uma década depois que ele recebeu um devido estudo sistemático. Isso foi feito por um grupo de físicos liderados pelo húngaro T. Vicsek em 1995 [106].

O objetivo do estudo era compreender com mais detalhes as condições necessárias para o surgimento do movimento coletivo sem a presença de líderes ou de forças externas. Para isso eles confinaram os animóides dentro de um espaço bidimensional com condições de contorno periódicas e fizeram a seguinte adaptação/simplificação do modelo original:

⁴ Figura extraída da página pessoal de Craig Reynolds, disponível em www.red3d.com/cwr/animóides/ no dia 23/01/07.

“At each time step a given particle driven with a constant absolute velocity assumes the average direction of motion of the particles in its neighborhood of radius r with some random perturbation added.”⁵

Essa simples regra pode ser expressa matematicamente como:

$$(2.2) \quad \vec{x}_i(t+1) = \vec{x}_i(t) + \vec{v}_i(t)\Delta t,$$

na qual a velocidade \vec{v}_i é construída de modo que seu valor absoluto (v_0) seja sempre constante e sua direção seja dada por:

$$(2.3) \quad \theta_i(t) = \langle \theta(t-1) \rangle_{viz} + \eta(\Delta\theta)_i,$$

sendo que a média do lado direito é feita dentro do raio de vizinhança do animóide e η é a intensidade do ruído que multiplica um ângulo aleatório $\Delta\theta$ que varia dentro do intervalo $[-\pi, +\pi]$.

A simples variação de dois parâmetros, a densidade de partículas ρ e o nível de ruído η , já é suficiente para produzir variados efeitos (Fig. 2.11), desde a total desordem do sistema (η alto), passando pelo aparecimento de pequenos grupos de animóides movendo-se junto (η e ρ pequenos) até uma situação na qual todos os animóides se movem juntos (η pequeno e ρ grande).

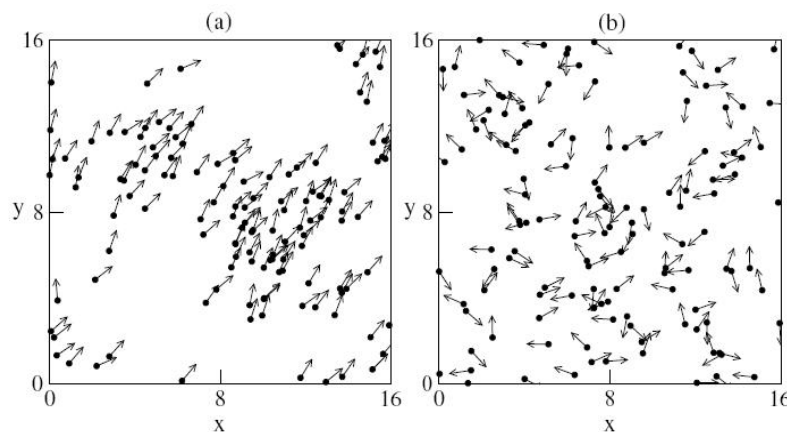


Fig. 2.11: Estados do modelo de Vicsek [107].

Em (a) há um movimento global coerente, já em (b) os animóides se deslocam aleatoriamente.

⁵ “A cada passo de tempo uma dada partícula, que se move com velocidade absoluta constante, alinha-se com a média das direções de movimento das partículas vizinhas dentro de um raio r adicionada de um termo perturbação aleatório”.

A transição para o movimento coletivo é caracterizado pelo seguinte parâmetro de ordem:

$$(2.4) \quad \phi_t = \frac{\langle \vec{v}_t \rangle_i}{v_0},$$

sendo v_0 o módulo da velocidade dos animóides. Quando todos os animóides estiverem andando em direções diferentes a soma vetorial das velocidades será nula e ϕ será zero. Quando todos andarem na mesma direção o parâmetro tenderá a +1.

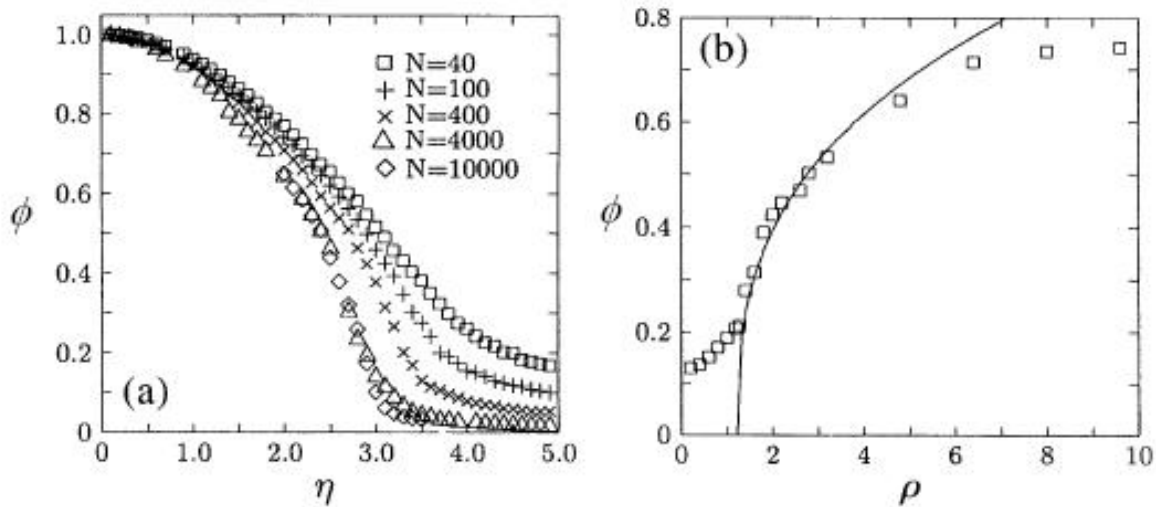


Fig. 2.12: Variação de ϕ com η e ρ [106].

Na figura (a) a densidade foi fixada em $\rho=4$, e em (b) o tamanho do sistema é de $L=20$.

Inicialmente Vicsek encontrou uma transição de fase de segunda ordem [106] tanto para a variação do ruído η como da densidade ρ (Fig. 2.12) com expoentes críticos $0,45 \pm 0,07$ e $0,35 \pm 0,06$, respectivamente. Porém, em um artigo de 2004, Grégoire *et al.* [108] contestaram tal medida afirmando ser esta uma transição de primeira ordem. De acordo como eles, o erro de Vicsek se deve a algum efeito de tamanho finito do sistema⁶.

⁶ Na elaboração deste trabalho o modelo de Vicsek foi reproduzido e os resultados obtidos concordam com o artigo de 2004 [108] de Grégoire *et al.*

2.4 Adaptação de Grégoire

Em 2003, Grégoire *et al.* [109] adicionaram um ingrediente “físico” que propiciou volume aos animóides. Uma força \vec{f}_{ij} , semelhante à derivada de um potencial tipo Lennard-Jones, foi introduzida ao cálculo no modelo:

$$(2.5) \quad \theta(t+1) = \arg \left[\alpha \sum_{j \sim i} \vec{v}_j(t) + \beta \sum_{j \sim i} \vec{f}_{ij}(t) + N_i \eta \vec{u}_i(t) \right],$$

aqui α controla a influência da velocidade dos vizinhos na nova direção (termo de movimento coletivo) enquanto β determina a influência da nova força de atração/repulsão dos animóides. Além da adição do termo de força, o ruído deixou de ser angular e passou para dentro da função argumento⁷, no qual \vec{u}_i é um vetor unitário de direção aleatória e N_i é o número de vizinhos da partícula.

A forma da força \vec{f}_{ij} usada foi a seguinte (ver Fig. 2.14 a duas páginas adiante):

$$(2.6) \quad \vec{f}_{ij} = \vec{e}_{ij} \begin{cases} \infty & \text{se } r_{ij} < r_c \\ \frac{1}{4} \frac{r_{ij} - r_e}{r_a - r_e} & \text{se } r_c \leq r_{ij} \leq r_a \\ -1 & \text{se } r_a < r_{ij} < r_0 \\ 0 & \text{se } r_0 < r_{ij} \end{cases},$$

sendo \vec{e}_{ij} é o vetor unitário apontando da partícula i para a j e r_{ij} a distância entre as duas. Os valores usados para as distâncias r_c , r_e , r_a e r_0 foram 0,2, 0,5, 0,8 e 1,0, respectivamente.

É importante salientar que, embora o trabalho original tenha se baseado na força apresentada acima (Eq. 2.6), os autores afirmam que a forma precisa dela é de pouca importância e que os resultados podem ser generalizados para a de qualquer outra força que tenha uma forma semelhante [109]. Farei uso desta observação mais tarde, quando questionarei a força de interação que melhor descreve as células. Outro detalhe importante do modelo de Grégoire foi o

⁷ A função argumento, que opera sobre unidades vetoriais, retorna o ângulo destes, que no presente caso será a direção de movimento do animóide.

uso da partição espacial de Voronoi (Fig. 2.8) como critério para a determinação dos primeiros vizinhos.

Uma vez definido o modelo, Grégoire *et al.* foram bem mais longe do que o grupo de Vicsek na sua análise. Eles não apenas observaram como as duas fases “originais” (desordem e movimento coletivo global) respondem à presença da nova força de interação entre os animóides, como também identificaram em seus comportamentos as fases gasosa, líquida e sólida (Fig. 2.13).

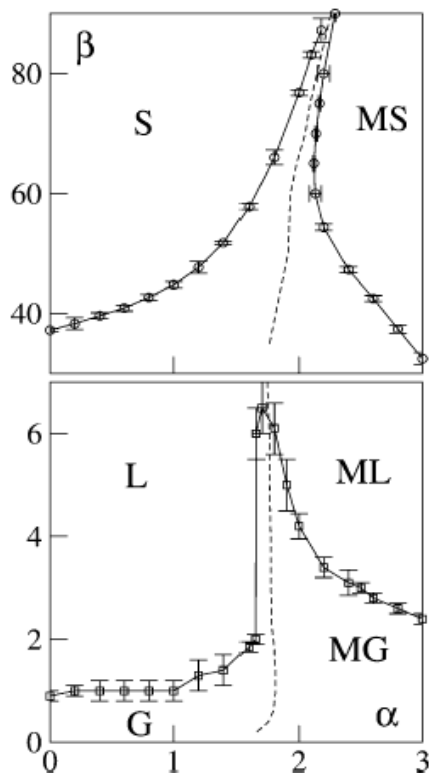


Fig. 2.13: Diagrama de fases de Vicsek-Gregoire [109].

As letras indicam as fases sólida (S), líquida (L), gasosa (G) e suas respectivas fases em movimento coletivo (MS, ML e MG). ($\eta = 1/16$ e $L = 180$)

O critério usado para determinar a transição Gás/Líquido é se o tamanho (número de animóides) do maior aglomerado de células for igual ou maior que a metade do número total de animóides. Para a transição Líquido/Sólido o critério usado na existência ou ausência de troca de vizinhos durante uma certa janela de tempo transcorrido. A transição para o movimento coletivo foi determinado pelo mesmo critério do trabalho de Vicsek *et al.* (Eq. 2.4). Estes serão os mesmos parâmetros que usarei para caracterizar o as fases do novo modelo, cuja descrição mais detalhada se encontra na seção 3.1.

2.5 Discussão e adaptação do modelo

Os dois modelos aqui apresentados foram criados originalmente para descrever o surgimento do comportamento coletivo de grupos de animais macroscópicos, tais como bandos de pássaros, cardumes de peixes e rebanhos de gado. Acredito que tais modelos podem muito bem serem usados para descrever sistemas celulares desde que feito o devido ajuste dos parâmetros. Cada célula pode ser representada por um animóide e seu tamanho definido pela forma de um força \vec{f}_{ij} , adaptado para uma descrição mais adequada de sua natureza.

É claro que, sendo um sistema de partículas, tal modelo servirá basicamente para descrever a evolução das posições relativa das células e suas distribuições conforme a variação dos parâmetros α , β e também do nível de ruído η . Uma das limitações dessa descrição é a impossibilidade de modelar células sem simetria esférica, como neurônios ou células musculares. Porém sua grande vantagem em relação aos demais modelos apresentados aqui é a sua capacidade de reproduzir o movimento coletivo das células em sua dinâmica de segregação, fator que é completamente ignorado pelos demais.

Tendo tudo isso em conta, a primeira mudança a ser feita em relação ao modelo original de Vicsek-Grégoire será a introdução de uma nova forma da força de atração/repulsão entre os animóides que esteja mais de acordo com a natureza das células (Fig. 2.14).

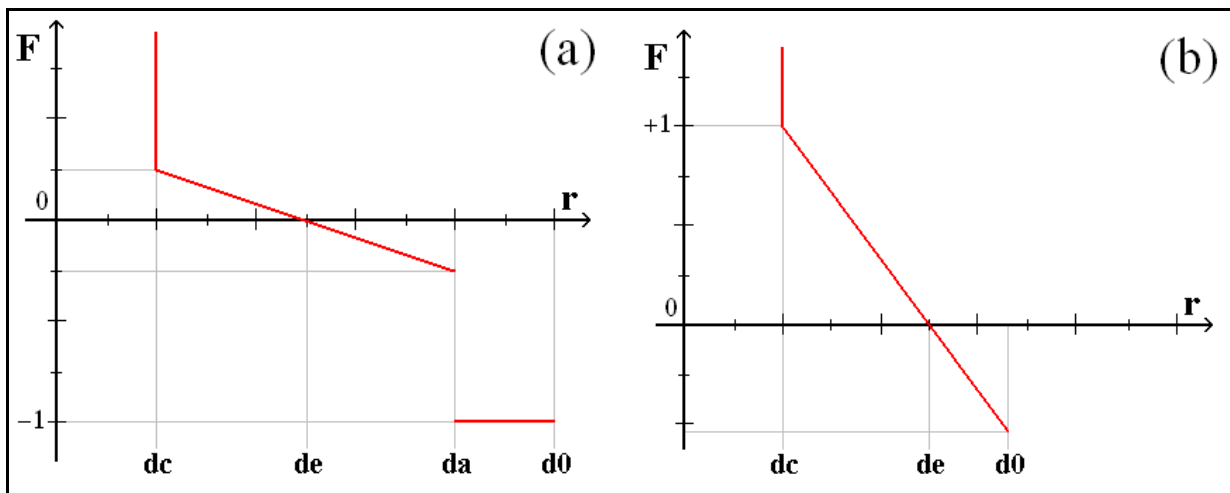


Fig. 2.14: Comparação entre a forma das duas forças.
Em (a), a força usado por Grégoire et al. Em (b), a nova.

Enquanto a primeira fórmula da força (Eq. 2.6) era descontínua (Fig. 2.14a) a nova já não mais o deve ser (Fig. 2.14b), pois não faz mais sentido um aumento abrupto da força de atração quando as células estão mais afastadas entre si. De fato, a nova força deve ser de curtíssimo alcance, ou, se assim me for permitido chamá-la, uma força de contato. Nomeio-a assim, pois, devido ao fato da adesão celular se dar através de ligações entre proteínas presentes em suas membranas (conforme visto no capítulo anterior), duas células somente podem interagir se estiverem em contato direto umas com as outras⁸. Assim sendo, a força de atração deve ser de tal forma que a distância máxima de interação (d_o) deve ser muito próxima de sua distância de equilíbrio (d_e):

$$(2.7) \quad \bar{f}_{ij} = \bar{e}_{ij} \begin{cases} \infty & \text{se } r_{ij} \leq d_c \\ \frac{r_{ij} - d_e}{d_e - d_c} & \text{se } d_c < r_{ij} < d_o \\ 0 & \text{se } d_o < r_{ij} \end{cases}$$

Outra mudança fundamental do modelo que este trabalho propõe diz respeito à natureza de sua variável estocástica. No modelo original de Vicsek-Grégoire o ruído é proporcional ao número de vizinhos do animóide (Eq. 2.5). A justificativa disso, conforme eles mesmos relataram em [108], é que há um erro não somente na escolha da direção de movimento do animóide, mas também na leitura das posições e direções dos seus vizinhos, que servem de base para o cálculo da nova direção a ser tomada.

Tal escolha, assim como a forma da força, talvez só se justifique em vista à modelagem de bandos de pássaros ou cardumes de peixes. Nesse sentido a descontinuidade (e aumento) da “força” de atração entre os animóides para maiores distâncias reflete o desejo ou medo instintivo destes seres de ficarem isolados do grupo que, quando muito afastados do resto, voltam correndo ao encontro do bando. Nessa interpretação d_o seria o limite de visão dos animóides, a partir do qual eles não enxergam mais o que está ao seu redor, ou seja, nesse caso o pássaro ou peixe teria se perdido.

Da mesma forma, a proporcionalidade do ruído com o número de vizinhos faz sentido por que os animóides (peixes ou pássaros), embora tenham uma distancia de equilíbrio entre eles, esta não reflete um contato direto entre estes seres. Já no caso de modelagem de células, na distância de equilíbrio, e até mesma na distância d_o , já há um contato físico (caderina-caderina)

⁸ Existem de fato interações de longa-distância entre alguns tipos de células [110], porém este tipo de atração, embora possa estar presente, é de intensidade muito fraca [111].

associado aos animóides. Deste modo não faz mais sentido dizer que há um erro de leitura em relação às distâncias e orientações dos animóides vizinhos. O animóide (célula) já sabe quase que exatamente a distância dos seus vizinhos ao sentir a força com que ele está sendo empurrado ou puxado pelos outros (componente β), assim como já sabe a direção dos vizinhos ao sentir o arrasto do meio ao seu redor (componente α). Portanto aqui o ruído foi restaurado à sua forma original no que diz respeito a sua invariância com o número de vizinhos. Ele não se refere mais à erros de leitura, mas sim à temperatura (no sentido estatístico) associada ao sistema.

Portanto, a forma final para a direção do animóide no novo modelo ficou sendo:

$$(2.8) \quad \theta(t+1) = \arg \left[\sum_{j \sim i} \alpha_{\sigma(i)\sigma(j)} \bar{v}_j(t) + \sum_{j \sim i} \beta_{\sigma(i)\sigma(j)} \bar{f}_{ij}(t) + \eta \bar{u}_i(t) \right],$$

sendo \bar{f}_{ij} a força de interação (Eq. 2.7.) e $\sigma(i)$ e $\sigma(j)$ os tipos de tecidos das células i e j .

Embora este novo modelo aqui proposto aparentemente preserve o modelo original em sua essência, as adaptações feitas para adequá-lo a descrição das células já bastam para mudar pelo menos quantitativamente muitos resultados apresentados anteriormente pela tese de doutorado de Grégoire [107], no qual o modelo foi originalmente desenvolvido. Portanto uma nova exploração do diagrama de fases, assim como um novo estudo da difusão, se fazem necessários antes de eu poder seguir em diante no estudo da interação entre duas populações (tecidos) de animóides (células) diferentes e suas descrições dos fenômenos da morfogênese, em particular da segregação de tecidos.

A grande vantagem desse modelo em relação aos demais listados no começo do capítulo está na sua capacidade de testar a maioria das hipóteses biológicas que surgiram na última metade do século. O modelo de Potts celular [85], por exemplo, por se basear em um modelo estatístico de minimização de energias (que é o modelo de Potts, propriamente dito), conduz a estados de equilíbrio finais confiáveis, mas não tem uma dinâmica bem definida. O modelo de Sulsky [92], por sua vez, não define a princípio um tamanho mínimo nem máximo das células, o que além de não ser muito realista, dificulta uma exploração apropriada da hipótese da contração superficial de Harris [26]. Além disso, em nenhuma dessas representações as células tem uma velocidade bem definida, o que também impede-as de testar a hipótese de Jones *et al* [28].

O modelo de animóides, por sua vez, além de ter uma velocidade bem definida para cada célula, inclui em sua dinâmica o movimento coletivo destas durante os processos de segregação, o que o enriquece ainda mais, justificando assim o seu uso para o modelamento de tais fenômenos.

Parte II

Desenvolvimento do modelo

Capítulo 3

Reconstrução do diagrama de fases

Como já foi dito ao final do capítulo 2, o modelo de Vicsek-Grégoire sofreu modificações na sua essência de tal maneira que já não é mais possível tomar seus resultados quantitativos como ponto de partida. A reconstrução do diagrama de fases é de vital importância no estudo que pretendo fazer, pois ele não só dará uma clara idéia da região de interesse do espaço de parâmetros que deverá ser usado nos capítulos seguintes como também ajudará a desvendar muitas particularidades do modelo ao longo de sua reconstrução.

3.1 Parâmetros de ordem

Os parâmetros de ordem que usarei na investigação do novo diagrama de fases são exatamente os mesmos que foram usados na tese de doutorado do Grégoire [107]. Talvez o uso deles não seja o mais adequado para a devida caracterização das fases do novo modelo, porém ao longo das investigações feitas eles pareceram satisfatórios. Existem basicamente 3 transições possíveis no modelo que são definidas numericamente pelas fórmulas abaixo:

$$(3.1) \quad \text{Estático-Movimento:} \quad \phi_t = \frac{\langle \vec{v}_t \rangle_i}{v_0}$$

$$(3.2) \quad \text{Líquido-Gasoso:} \quad \left\langle \frac{n}{N} \right\rangle_t$$

$$(3.3) \quad \text{Sólido-Líquido:} \quad \Delta = \left\langle \frac{1}{n_i(t)} \sum_{j \sim i} \left(1 - \frac{r_{ij}^2(t)}{r_{ij}^2(t+T)} \right) \right\rangle_{i,t}$$

A transição para o movimento coletivo (Eq. 3.1) é a mesma proposta originalmente por Vicsek (Eq. 2.8). Quando todos os animóides estiverem andando na mesma direção a soma vetorial de suas velocidades dividida pelo passo unitário v_0 (definimos $\Delta t=1$) será igual à 1. Se não houver movimento coletivo a soma vetorial das velocidades será em média zero (por isso a importância da média temporal) e o parâmetro de ordem será zero também. Uma carência deste parâmetro é que ele mede apenas a existência de um movimento global. Caso haja no sistema vários agregados, cada um se movendo em direções diferentes, o parâmetro não o distinguirá de um sistema totalmente parado, ou caótico. Para compensar isso também será medido ϕ como uma função do raio de vizinhança:

$$(3.4) \quad \phi(r) = \left\langle \frac{1}{v_0} \left\langle \frac{1}{1+n(r)} \left(\bar{v}_i + \sum_{j \sim i} \bar{v}_j \right) \right\rangle_i \right\rangle_t,$$

sendo $n(r)$ o número de vizinhos do animóide i dentro da distância r . O que se espera é que, para uma determinada configuração do sistema, o gráfico de $\phi(r)$ seja uma curva com um máximo indicando a velocidade e o tamanho típico dos agregados em movimento (Fig. 3.1). Para r muito grande (se aproximando de $L/2$, com L igual ao tamanho do sistema), a curva decresce, pois cada agregado anda numa direção diferente. Para r muito pequeno também se espera que o parâmetro decresça, pois mesmo dentro de um agregado em movimento alguns animóides eventualmente andarão na direção contrária, seja devido ao ruído ou à preservação da distância de equilíbrio. Ao se olhar uma vizinhança maior esses efeitos perdem peso e o parâmetro cresce atingindo seu pico.

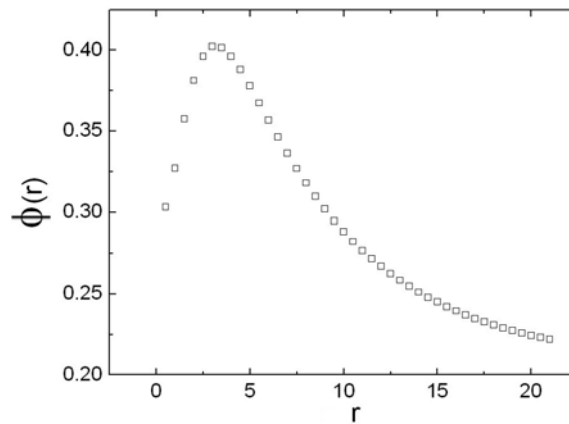


Fig. 3.1: ϕ em função do raio de vizinhança.

Parâmetros: $\beta=2,0$; $\alpha=0,3$; $L=68$; $N=1000$.

A transição gás-líquido (Eq. 3.2) é caracterizada pela normalização do número de animóides do maior agregado do sistema (n) pelo número total de animóides (N). Em todas as simulações feitas neste trabalho o sistema começa de um estado inicial, no qual todos os animóides estão juntos. Se o sistema estiver na fase líquida (ou sólida) espera-se que os animóides se mantenham coesos num agregado principal, assim o parâmetro de ordem deve ser algo próximo ou igual à 1. Caso o agregado perca a coesão e os animóides comecem a evaporar e andar aleatoriamente no sistema, o tamanho do maior agregado (n) diminuirá até o valor mínimo de 1 animóide e o parâmetro (Eq. 3.2) se aproximará de zero, o que indica a fase gasosa.

A definição da transição sólido-líquido é um pouco mais complicada, pois é medida por um efeito secundário de longo prazo no sistema. A Eq. 3.4 mede a correlação entre a distância dos primeiros vizinhos de um animóide no tempo t ($r^2_{ij}(t)$) e a distância posterior em um tempo $t+T$ ($r^2_{ij}(t+T)$), no qual T é o tempo de correlação. O que se espera é que na fase sólida os primeiros vizinhos permaneçam os mesmos, se afastando muito pouco do animóide foco, o que leva à razão $r^2_{ij}(t)/r^2_{ij}(t+T)=1$ e conseqüentemente $\Delta=0$. Já na fase líquida os animóides conseguem difundir mais facilmente e a distância de um animóide para os seus primeiros vizinhos aumenta depois de um certo tempo T , o que leva à $\Delta=1$, que caracteriza a fase líquida.

Em princípio a fórmula funciona, porém o problema está na definição do tempo de correlação T . Com certeza ele deve ser grande o suficiente para dar tempo dos animóides difundirem, mas quanto tempo é tempo suficiente? Novamente, o critério aqui adotado foi o mesmo da tese de Guillaume Grégoire:

*"L'idée est de laisser le temps à un marcheur aléatoire de traverser son propre troupeau de part en part."*¹

Com tal critério, a medição do parâmetro de ordem Δ é feita muito antes de sua estabilização temporal, o que pode ser visto como uma definição insatisfatória da transição sólido-líquido. Tentei esperar pela estabilização do parâmetro, mas o tempo computacional de simulação acaba ficando tão alto (aproximadamente 2 meses para cada amostra) que o estudo do diagrama de fases se torna completamente inviável. Além disso, a espera pela estabilização de Δ acabaria identificando como sólido apenas os sistemas totalmente congelados (cristalinos), nos quais absolutamente nenhuma troca de posição relativa dos animóides é possível. Caso o seja, ainda que por um infinitésimo de probabilidade, ao se esperar um tempo infinito (que corresponderia ao

¹ "A idéia é de deixar transcorrer o tempo que um caminhante aleatório levaria para atravessar seu próprio agregado de ponta a ponta".

tempo de estabilização nesse caso) todos os animóides acabariam se difundindo e o parâmetro indicaria a fase líquida. Obviamente esta não é uma diferenciação útil entre fases líquidas e sólidas, portanto parece sensato que o critério original seja preservado.

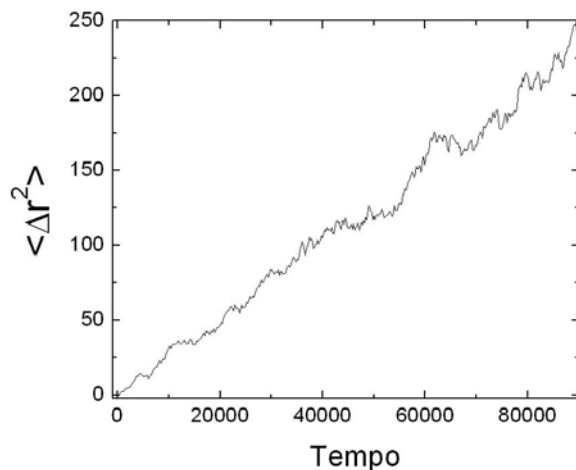


Fig. 3.2: *Deslocamento quadrático médio de um animóide livre.*

A figura acima, feita com uma média sobre 20 amostras, mostra a curva que foi usada como critério para a escolha do tempo de correlação T . Os raios médios ($\langle r \rangle$) dos agregados foram medidos para diferentes tamanhos de sistemas e com base neles calculei, através de um ajuste linear da Fig. 3.2, o tempo que um animóide livre levaria para atravessá-los (Tab. 3.1).

N	T
200	~25.000
400	~46.000
600	~66.000
1.000	~107.000
10.000	~890.000

Tab. 3.1: *Valores de T para cada diferentes tamanhos de sistema.*

Assim como no trabalho anterior, o tempo de correlação T é diretamente proporcional à N . Isso já era esperado, pois em uma difusão normal a distância média percorrida por uma partícula livre é diretamente proporcional ao tempo ($\langle d^2 \rangle \propto t$), e como raio do agregado deve crescer com a raiz de sua área, que por sua vez é diretamente proporcional ao número de animóides, tem-se que $r \propto N$, que combinado com a primeira fórmula resulta em $N \propto t$.

3.2 Exploração do diagrama

Definidos todos os parâmetros de ordem, a exploração do diagrama de fases é iniciada com α fixado em zero e β variante a fim de descobrir o ponto de transição entre as fases sólida e líquida. O parâmetro β foi variado de 1,1 até 1,8 em intervalos de 0,1. No gráfico abaixo está a variação do parâmetro Δ (Eq. 3.3) em função de β para 4 tamanhos de sistema diferentes:

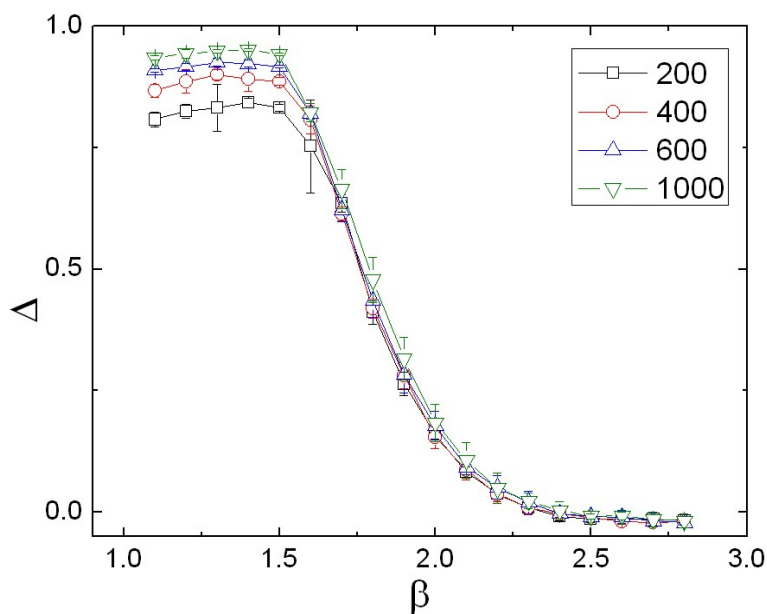


Fig. 3.3: *Transição de ordem de Δ em função de β .*

O parâmetro de movimento coletivo α foi fixado em zero.

As curvas vistas acima (Fig. 3.3), por não serem simétricas e terem diferentes “níveis” do lado esquerdo, sugerem ser esta uma transição de segunda ordem em torno do ponto $\beta_{\Delta}=1,55\pm 0,05$. Para verificar isto, existem basicamente dois procedimentos. O primeiro é construir o histograma da distribuição do parâmetro de ordem Δ para cada animóide do sistema para diferentes valores de β (Fig. 3.4a) e ver se há ou não a coexistência de fases, que indicaria uma transição de primeira ordem. Outro procedimento é, com base no valor do ponto crítico β_{Δ} calculado, verificar se existe uma lei de potências nas proximidades deste (Fig. 3.4b).

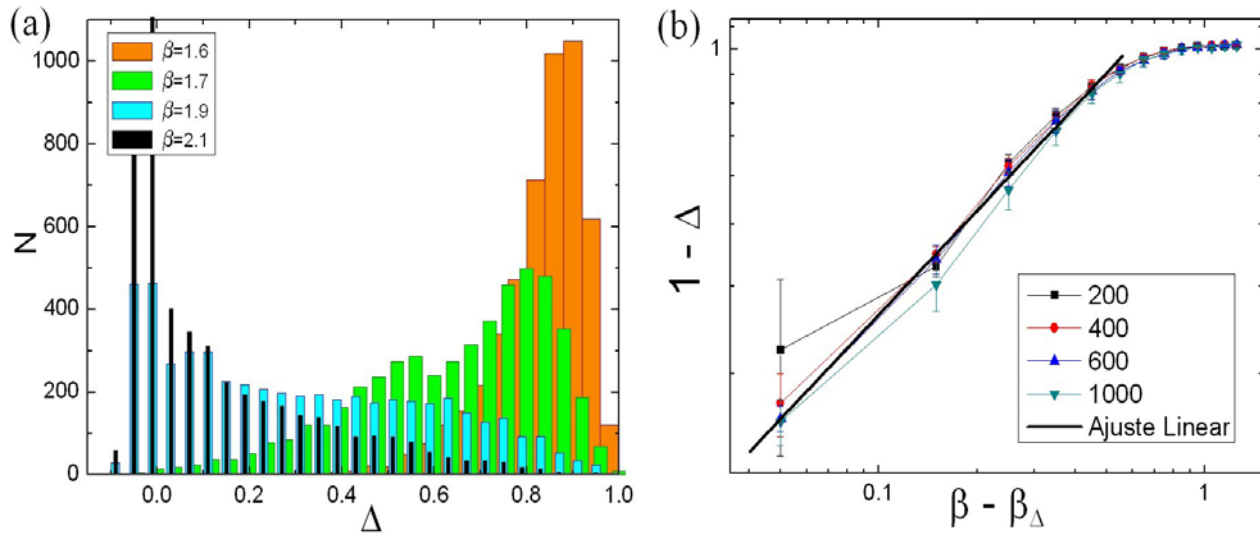


Fig. 3.4: Evidências da transição de segunda ordem.

Em (a) está a distribuição de Δ para quatro valores diferentes do parâmetro β : 1,6; 1,7; 1,9 e 2,1.

Em (b) está o gráfico log-log de $1-\Delta$ com $\beta-\beta_{\Delta}$.

No primeiro gráfico pode-se ver que realmente não há a coexistência de fases típica de uma transição de primeira ordem. Já no segundo pode-se conferir que o comportamento do parâmetro $1-\Delta$ realmente segue uma lei de potências quanto β se aproxima do ponto crítico β_{Δ} :

$$(3.5) \quad 1 - \Delta \propto (\beta - \beta_{\Delta})^{\delta}, \quad \delta \cong 0,71 \pm 0,052$$

Este resultado é de certa forma desconcertante, pois o que se espera de uma transição sólido-líquida é que ela seja de primeira ordem e nunca de segunda. Porém, como se pode verificar pelas medidas (Figs. 3.3 e 3.4) ela aparenta ser de segunda ordem. O que pode estar acontecendo então é que o parâmetro de ordem usado (Eq. 3.3) não serve para caracterizar a fase sólida deste sistema e o que está ocorrendo é na verdade um outro tipo de transição ou mudança de comportamento do sistema. Esta questão só será respondida definitivamente no próximo capítulo, onde se estudará as propriedades difusivas dos animóides com a variação dos parâmetros β e α . Enquanto isso, continuarei a usar o valor de $\beta_{\Delta}=1,55\pm 0,05$ como indicador de uma transição, ou mudança de comportamento do sistema, e chamarei esta fase provisoriamente de “pseudo-sólido” (pS).

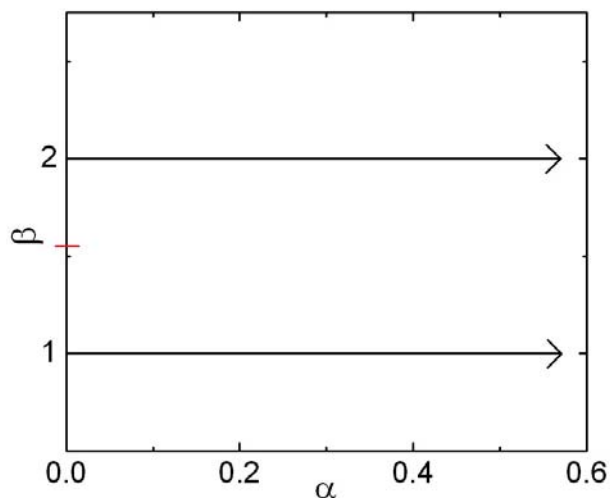


Fig. 3.5: Exploração do diagrama de fases.

O traço vermelho no eixo $\alpha=0$ indica a transição pS-L.

Estabelecido então o primeiro ponto de transição pseudo-sólido-líquido para $\alpha=0$, lanço duas linhas de exploração novas com α variante, uma com β fixado na fase pseudo-sólida, em $\beta=2,0$, e outra na fase líquida, em $\beta=1,0$ (Fig. 3.5).

O gráfico da Fig. 3.6 mostra a evolução dos 3 parâmetros de ordem com a variação de α para $N=1000$ animóides. Assim como na exploração anterior, para cada ponto foi feita uma média sobre 10 amostras.

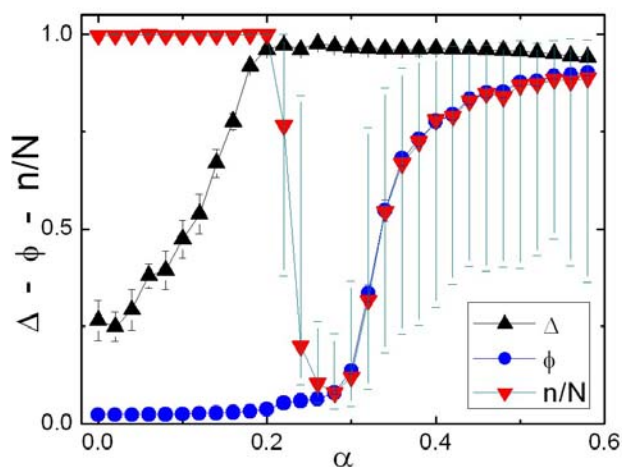


Fig. 3.6: Variação dos parâmetros em relação à α para $\beta=2,0$.

O sistema começa na fase pseudo-sólida com um único agregado principal e logo em seguida sofre uma transição de ordem pS-La em torno de $\alpha=0,19$, mantendo-se assim até o final do intervalo de variação de α estudado. Não há como saber com certeza se esta transição se deve a algum efeito de movimento coletivo dos animóides ou apenas a perda de peso do parâmetro β em relação ao ruído η . Provavelmente a razão principal é esta última, pois o parâmetro ϕ se mantém zerado ao longo da transição, o que sugere que o aumento de peso de α serviu apenas para diminuir a proporção β/η .

Após esta transição o parâmetro n/N indica que o sistema perde a unidade e se desfaz em pequenos agregados. E isto acontece ao mesmo tempo em que o parâmetro ϕ sofre um leve aumento entre $\alpha=0,22$ e $\alpha=0,28$. Seguindo a mesma interpretação anterior, concluo que a perda de unidade do sistema se deve, agora sim, ao surgimento do efeito de movimento coletivo dentro do agregado principal. Esta interpretação é corroborada pela evolução da função de correlação $\phi(r)$ (Eq. 3.4) com a variação de α para esta região de desmembramento do agregado (Fig. 3.7). O surgimento de um pico na curva com o aumento de α demonstra a existência de pequenas regiões de movimento.

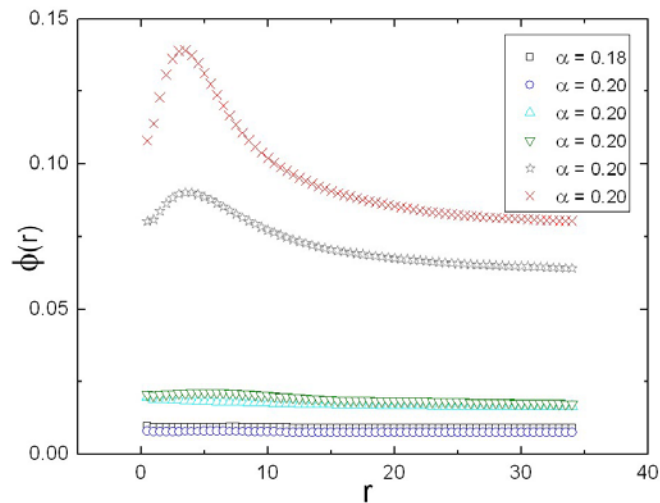


Fig. 3.7: Evolução da função $\phi(r)$ com o aumento de α .

De fato, imagens da simulação com $\beta=2,0$ e $\alpha=0,22$ mostram claramente um agregado principal com movimentos coletivos em algumas de suas regiões internas (Fig. 3.8). Isso acontece por que, de tempos em tempos, as direções de movimento de alguns animóides vizinhos coincidem e, por causa do α relativamente elevado, desencadeia-se um pequeno movimento

coletivo de pouca duração, uma espécie de “coice”, que deforma o agregado. A esses efeitos locais de súbito movimento interno de uma região de um agregado darei o nome de pulsos.

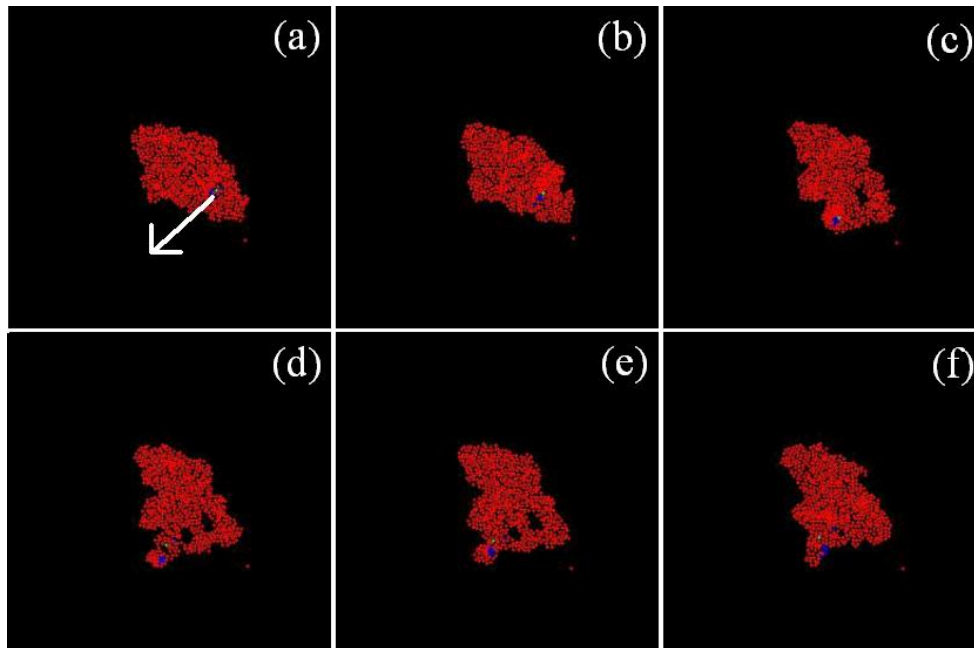


Fig. 3.8: *Efeito dos pulsos.*

A seta em (a) indica a direção do pulso, que deixou buracos em seu percurso (c,d,e).

Por causa da ainda forte coesão do sistema, dado por um parâmetro β elevado, o efeito dos pulsos logo se desfaz, principalmente quando sua propagação chega na borda do agregado (Fig. 3.8). Um leve aumento de α para 0,24 parece ser o suficiente para quebrar a coesão do sistema principal e fragmentá-lo em pequenos agregados. Porém, como se pode ver na Fig. 3.6, isso ainda não é suficiente para a existência de um movimento coletivo global. Vídeos das simulações de $\alpha=\{0,24; 0,26 \text{ e } 0,28\}$ mostram que estes agregados andam e param toda hora, sem conseguir se manter em um movimento coletivo coerente por muito tempo.

A partir de $\alpha=0,30$ o parâmetro ϕ começa a subir indicando a transição para o movimento coletivo global. O interessante é que ele sobe praticamente junto com o parâmetro n/N (Fig. 3.6). Esta correlação não é uma coincidência, mas antes uma característica intrínseca do modelo. Depois de quebrada e fragmentada a unidade do sistema em torno de $\alpha=0,28$, o aumento subsequente do parâmetro α forma pequenos agregados com movimento coletivo ao lado de alguns animóides soltos em volta. Como a contribuição desses animóides soltos ao parâmetro ϕ é

nula, a composição de ϕ pode ser escrita como a soma das contribuições individuais de cada um desses pequenos agregados:

$$(3.6) \quad \phi = \frac{\sum_a \vec{\phi}_a \cdot n_a}{N},$$

sendo n_a o número de animóides do agregado c e ϕ_a a sua contribuição ao parâmetro ϕ .

Porém tal descrição é insatisfatória, pois se cada um desses agregados estiver andando em uma direção diferente a soma da Eq. 3.6 acabará sendo zero. O que eu posso fazer é, dentre desses agregados, discriminar o maior deles e evidenciá-lo na soma:

$$(3.7) \quad \phi = \frac{\vec{\phi}_+ \cdot n_+ + \sum_a \vec{\phi}_a \cdot n_a}{N},$$

no qual n_+ e ϕ_+ se referem ao maior agregado. Agora o somatório na Eq. 3.7 se refere somente aos demais agregados. Como a sua soma será inevitavelmente zero, salvo alguma coincidência passageira e improvável, o parâmetro ϕ chegará fatalmente em um valor próximo do parâmetro de ordem da transição gás-líquido (Eq. 3.2):

$$(3.8) \quad \phi = \frac{\vec{\phi}_+ \cdot n_+ + \sum_a \vec{\phi}_a \cdot n_a}{N} = \frac{\vec{\phi}_+ \cdot n_+ + 0}{N} = \vec{\phi}_+ \cdot \frac{n_+}{N} \cong \frac{n}{N}$$

Esta é a razão pela qual os dois parâmetros de ordem sobem praticamente juntos no gráfico da Fig. 3.6. Isto também acaba mostrando que a transição da fase gasosa para a de movimento global coerente se dá pela fusão gradual de pequenos agregados e animóides soltos em um agregado movente principal. Sendo assim, as duas transições só podem ser de primeira ordem.

A gráfico da variação de α com $\beta=1,0$ (Fig. 3.9) apenas confirma novamente o que acabou de ser dito sobre os dois parâmetros. Para $\alpha < 0,34$ o sistema está na fase gasosa, logo o parâmetro de ordem Δ nessa região não faz mais sentido e pode ser ignorado.

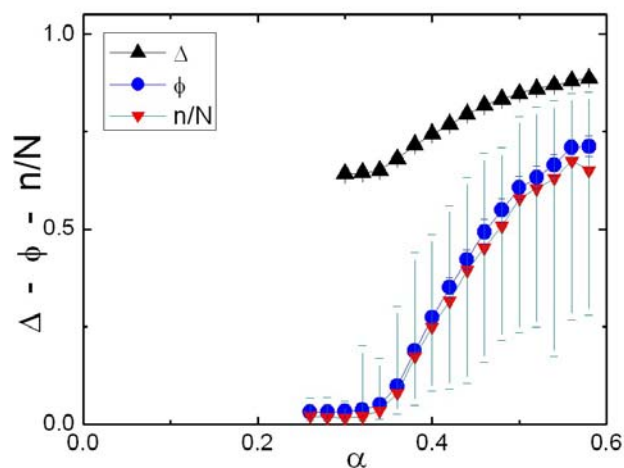


Fig. 3.9: *Variação dos parâmetros em relação à α para $\beta=1,0$.*

3.3 Discussão

Além das duas linhas de exploração mostradas anteriormente também verifiquei as transições de fases em outras regiões. Para todas elas supus que a natureza das transições permaneceu inalterada. O diagrama de fases resultante foi o seguinte:

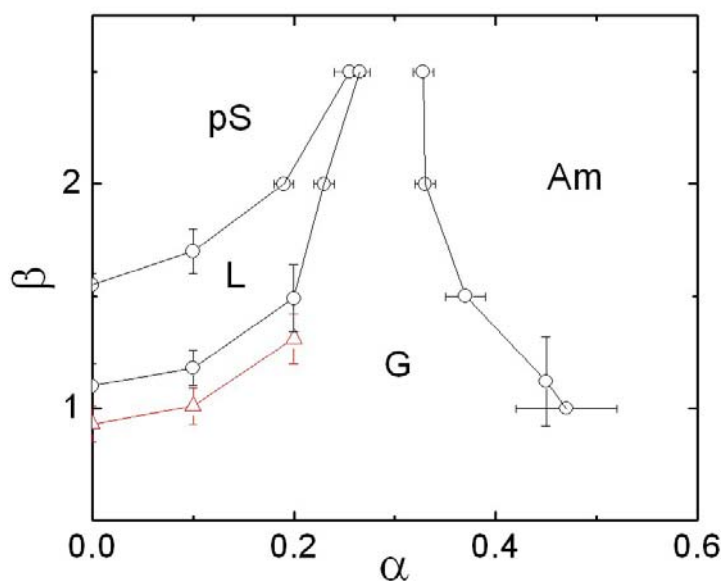


Fig. 3.10: *Diagrama de fases do novo modelo.*

A linha vermelha se refere a uma transição L-G para uma densidade 4x maior.

As duas curvas entre as fases líquida e gasosa indicam a dependência desta transição com a pressão de vapor. Na linha mais de baixo o sistema tem uma densidade quatro vezes maior que na de cima. Esta pode ser dita como a primeira grande diferença no diagrama de fases do novo modelo. Isto não acontecia no original por duas razões: Primeiro por que força usada então tinha um alcance atrativo maior que mantinha a coesão do sistema. E em segundo lugar, porém tão relevante quanto, por que a proporcionalidade do ruído com o número de vizinhos fazia com que a borda do agregado fosse menos “agitada” que o seu centro. Como a densidade foi mantida fixa durante todas as demais simulações, esta dependência do diagrama de fases não foi aprofundada.

A segunda grande diferença é a inexistência de uma fase gasosa em movimento. Novamente isto se deve ao menor alcance da força usada. No modelo original os animóides podem influenciar a direção do movimento seus vizinhos à uma distância relativamente grande quando comparada ao que seria sua distância de equilíbrio (duas vezes). No modelo apresentado aqui, como é necessário o contato entre dois animóides (estarem próximos à distância de equilíbrio) para que um consiga influenciar na direção de movimento do outro, a fase movente só pode ser coesa e por isto ela é chamada de Am (Agregado movente).

A terceira diferença é inexistência de interfaces de transição entre as fases líquida e pseudo-sólida com a movente. Antes do movimento coletivo o sistema sempre passa por uma fase gasosa. Esta diferença se deve a dois fatores. O primeiro é a localidade da manifestação do parâmetro α . Ao contrário do parâmetro β , cujo efeito se faz sentir em todos os animóides imediatamente não importando a posição ou quantidade de vizinhos ao seu redor, o parâmetro α só se manifesta quando um certo número mínimo de vizinhos do animóide apresentam direções convergentes. Quando α é muito pequeno, essas configurações fortuitas de direções de movimento dos animóides dentro do agregado passam despercebidas. Mas à medida em que o parâmetro se eleva isso acaba desencadeando um movimento coletivo desses animóides, porém ainda não forte o suficiente para arrastar todo o agregado. O que acontece então é que devido às forças de atração estes animóides também não conseguem romper seus contatos com os animóides em repouso e assim o movimento é dispersado. O evento que acabei de descrever se torna cada vez mais freqüente com o aumento de α , acontecendo em diferentes lugares do agregado simultaneamente. Esta é uma das razões pela quais o agregado inevitavelmente se fragmenta com o aumento do α dando origem à fase gasosa. As outras são novamente o curto alcance da força em relação à distância de equilíbrio e o ruído independente do número de vizinhos. Assim como isto dá origem à evaporação de animóides da superfície do agregado, também qualquer movimento mais forte de um grupo de animóides perto da borda já é suficiente para romper o contato com o agregado.

Uma última diferença em relação ao modelo original que deve ser frisada diz respeito à fase movente. Nessa fase, embora o parâmetro n/N indique a existência de um agregado principal, ele não se mantém coeso durante o processo, como pode ser visto nas figuras abaixo:

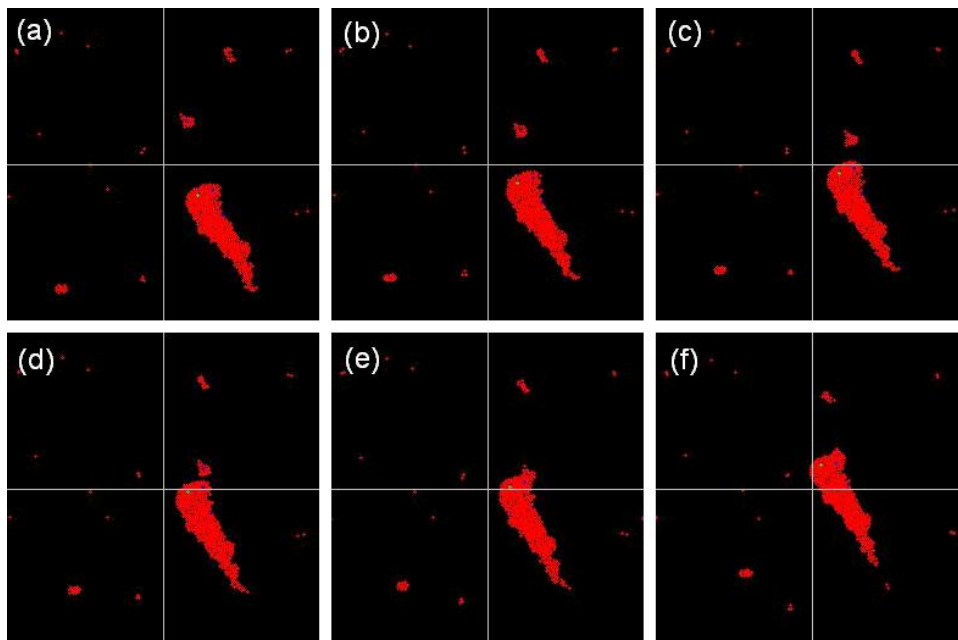


Fig. 3.11: *Fusão de dois agregados em movimento.*

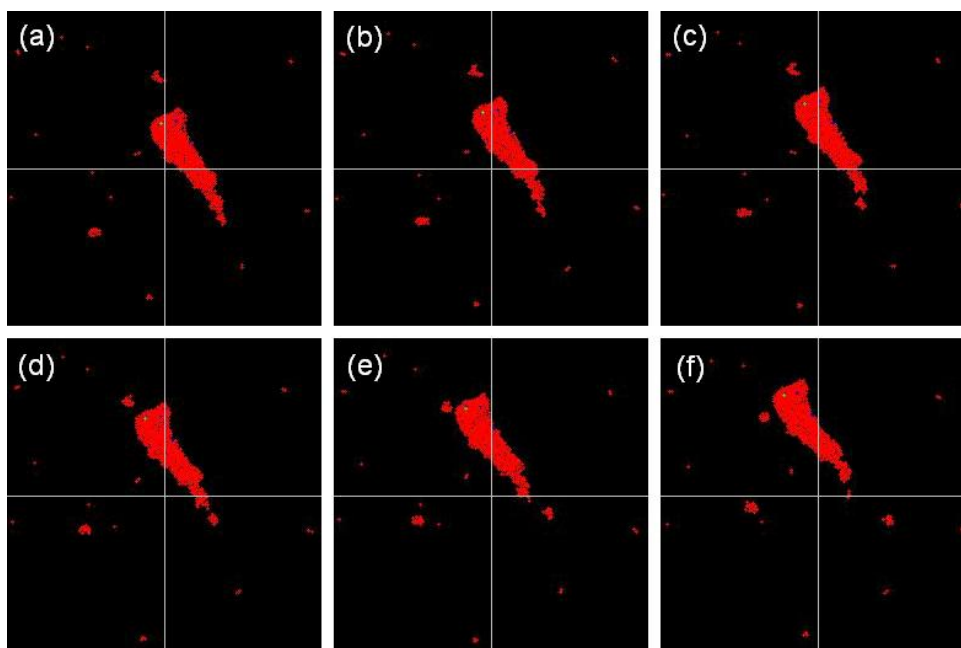


Fig. 3.12: *Fragmentação de um agregado em movimento.*

A Fig. 3.11 mostra a colisão e posterior fusão de dois agregados em movimento. Como um deles é muito menor em relação ao outro o agregado resultante segue a mesma direção de movimento do maior, o que mostra uma certa inércia no sistema. Já a Fig. 3.12 mostra o processo contrário, onde um pedaço do agregado movente se desprende deste. Como este processo acontece mais freqüentemente na cauda do agregado e a fusão na sua dianteira a forma do agregado movente tende a se aproximar a de um triângulo alongado na direção de seu eixo de movimento.

Capítulo 4

Estudo da difusão

Conhecendo-se então as diferentes fases do sistema para diferentes combinações dos parâmetros α e β , resta saber como é o movimento individual do animóide em cada uma dessas fases (caso homogêneo) e também como ele se moveria dentro de um agregado onde sua interação com os demais animóides diferisse da interação interna daqueles (caso heterogêneo). A fim de compreender o comportamento microscópico dos animóides, será feito neste capítulo o estudo de suas propriedades difusivas.

4.1 Medidas de difusão

A palavra difusão pode ser entendida de duas maneiras diferentes: ela pode designar tanto o fenômeno no qual uma certa concentração de matéria se espalha dentro de um meio poroso (ou permeável), assim como designar o movimento de uma partícula devido à temperatura do meio em que ela se encontra. Ambas as definições estão relacionadas, já que é o movimento individual das partículas que vai dar origem à disseminação da matéria no meio em que ela se encontra.

Este fenômeno, porém, pode se apresentar de muitas formas diferentes, dependendo das propriedades da matéria e do meio onde ela se difunde. Para caracterizá-lo, define-se uma constante de difusão D como:

$$(4.1) \quad D = \frac{\langle \Delta r^2 \rangle}{2d \langle \Delta t \rangle^\xi}$$

sendo $\langle \Delta r^2 \rangle$ o deslocamento quadrático médio das partículas difusivas no meio, $\langle \Delta t \rangle$ o intervalo (janela) de tempo durante o qual o deslocamento foi medido, d a dimensão do espaço e ξ o

expoente de difusão. Como todas as simulações feitas aqui são em duas dimensões, d será sempre igual a 2.

Há duas maneiras de se medir a constante de difusão (Eq. 4.1), a primeira é esperar um intervalo de tempo (Δt) muito grande e medir o deslocamento quadrático médio ($\langle \Delta r^2 \rangle$) das partículas. Porém, para isso é necessário conhecer o valor do expoente de difusão ξ . Em sistemas normais, onde o movimento das partículas tem um caráter predominantemente aleatório, o deslocamento quadrático médio é diretamente proporcional ao tempo decorrido ($\langle \Delta r^2 \rangle \propto \langle \Delta t \rangle$), logo o expoente de difusão é $\xi = 1$. Quando a difusão é dificultada por alguma razão o expoente medido é < 1 e o sistema é dito subdifusivo. Já no caso contrário, com $\xi > 1$, o sistema é dito superdifusivo, o que geralmente acontece quando há alguma força não estocástica atuando nas partículas. Particularmente, quando em média essas forças compensam as forças estocásticas que dificultam o movimento das partículas, o deslocamento delas acaba sendo diretamente proporcional ao tempo decorrido ($\langle \Delta r \rangle \propto \langle \Delta t \rangle$). Nestes casos o expoente é igual a 2 e o sistema é dito balístico. Esse valor também estabelece um limite teórico no valor do expoente difusivo, já que um valor de $\xi > 2$ significaria um sistema onde as partículas estariam acelerando. Partículas sujeitas a um campo externo podem apresentar tal comportamento, mas nesse caso já não se trata mais de sistemas difusivos.

Porém, como saber se o sistema é subdifusivo, normal, superdifusivo ou balístico? *A priori* não se tem como saber isso, exceto alguns casos muito simples. Portanto deve-se usar um outro método que consiste em medir no sistema o deslocamento quadrático médio ($\langle \Delta r^2 \rangle$) em função da janela temporal (Δt). Isto significa que, dada uma certa trajetória da partícula correspondente a uma simulação (ou experimento), será feita uma média ao longo dessa trajetória de quanto ela se deslocou ($\langle \Delta r^2 \rangle$) dentro de um certo intervalo de tempo ($\langle \Delta t \rangle$).

$$(4.2) \quad \langle \Delta r^2 \rangle = \langle [\vec{r}(t_0) - \vec{r}(t)]^2 \rangle_{t_0} = 2dD \langle \Delta t \rangle^\xi$$

Se esta função for colocada em escala logarítmica, então o expoente ξ pode ser calculado a partir da inclinação da curva e a constante D pela intersecção da curva com o eixo das ordenadas:

$$(4.3) \quad \ln(\langle \Delta r^2 \rangle) = \ln(2dD) + \xi \ln(\langle \Delta t \rangle)$$

Em todas as simulações conduzidas neste capítulo a difusão será caracterizada por estes dois valores, a constante D e o expoente ξ , que serão medidos por esse último método aqui

descrito. Os sistemas serão compostos por $N=3000$ animóides e as medidas de difusão serão feitas com médias de 6 amostras. O animóide localizado no centro de massa do agregado (Fig. 4.1) será o animóide difusivo, que pode ter valores dos parâmetros α_a e β_a diferentes dos demais animóides do agregado (α_{Agr} e β_{Agr}).

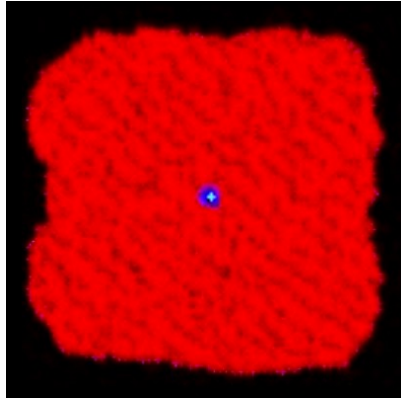


Fig. 4.1: Agregado de 3000 animóides.

Em verde, ao centro, está o agregado difusivo e em volta, em azul, seus primeiros vizinhos.

Como o estudo a ser feito aqui inclui agregados na fase movente ($\alpha > 0$), a medição do deslocamento quadrático médio do animóide difusivo ($\langle \Delta r^2 \rangle$) não pode ser feita em relação à sua posição original. Uma solução seria calcular seu deslocamento em relação ao centro de massa do agregado, que acompanha o movimento do sistema. Porém, como foi visto ao final do Capítulo 3, o agregado movente está constantemente perdendo animóides na sua “cauda” e ganhando animóides em sua “dianteira”. Desse modo o centro de massa está sempre se movendo em direção a “dianteira” do agregado e uma medida de $\langle \Delta r^2 \rangle$ nesse referencial indicaria uma difusão (tanto na constante D como no expoente ξ), maior do que a esperada. Em tal situação, mesmo que o animóide nunca trocasse de posição em relação aos vizinhos, a medida indicaria um deslocamento da parte dele. Além disso, a quantidade de animóides perdidos não é necessariamente igual à quantidade de animóides absorvidos, o que complica ainda mais a situação.

A solução utilizada para contornar o problema consiste em calcular o deslocamento quadrático do animóide em relação aos seus primeiros vizinhos (em azul, na Fig. 4.1):

$$(4.4) \quad \langle \Delta r^2 \rangle = \frac{1}{n_{viz}} \sum_{viz} (\vec{r}_a - \vec{r}_{viz})^2 = \langle (\vec{r}_a - \vec{r}_{viz})^2 \rangle$$

sendo r_a a posição do animóide difusivo, n_{viz} o seu número de vizinhos no início da simulação e r_{viz} a posição atual desses vizinhos.

4.2 Caso sem movimento coletivo

Por simplicidade de análise, o estudo da difusão será primeiramente feito para sistemas que não apresentam movimento coletivo ($\alpha=0$). Destes, o primeiro caso a ser explorado é o homogêneo, no qual todos os animóides possuem o mesmo parâmetro de força β .

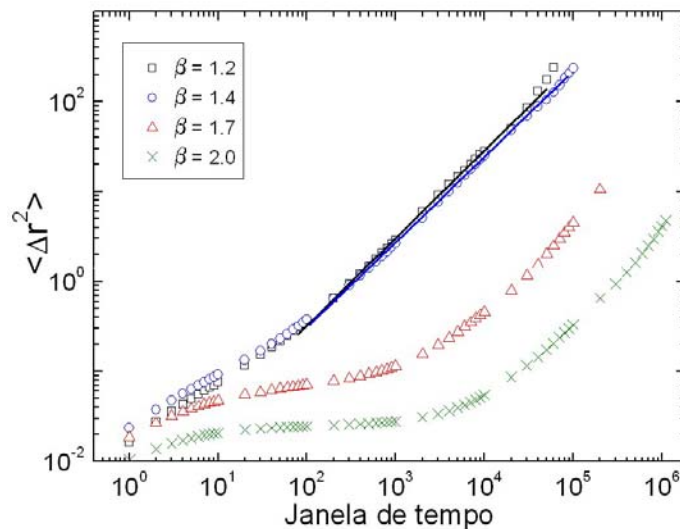


Fig. 4.2: Difusão para diferentes valores de β .

A Fig. 4.2 acima apresenta $\langle \Delta r^2 \rangle \times \langle \Delta t \rangle$ para quatro valores de β . Nela pode-se identificar claramente dois comportamentos distintos para $\langle \Delta r^2 \rangle$. Enquanto em dois casos ($\beta=1,2$ e $1,4$) o comportamento é linear, como era de se esperar, nos outros dois ($\beta=1,7$ e $2,0$) o comportamento é bastante diferente. Para janelas de tempo menores que um certo valor (algo em torno de 200 mil passos) o comportamento é linear com inclinação perto de zero e para janelas de tempo maiores as curvas voltam a ter a mesma inclinação que as primeiras. Essa diferença de comportamento reflete a fase não-líquida (ou pseudo-sólida) em que os dois agregados com $\beta=1,7$ e $2,0$ se encontram (rever o diagrama de fases apresentado na Fig. 3.10). Nessa região do diagrama o animóide fica preso dentro da estrutura aproximadamente hexagonal do agregado, sendo preciso decorrer um grande intervalo de tempo para trocar de posição com algum animóide vizinho. Esse

tempo de espera é chamado de tempo de confinamento do animóide (simbolizado por t_{conf}) e é calculado pelo ponto em que as extrapolações dos ajustes lineares das duas diferentes inclinações da curva se cruzam, conforme pode ser visto na Fig 4.3a.

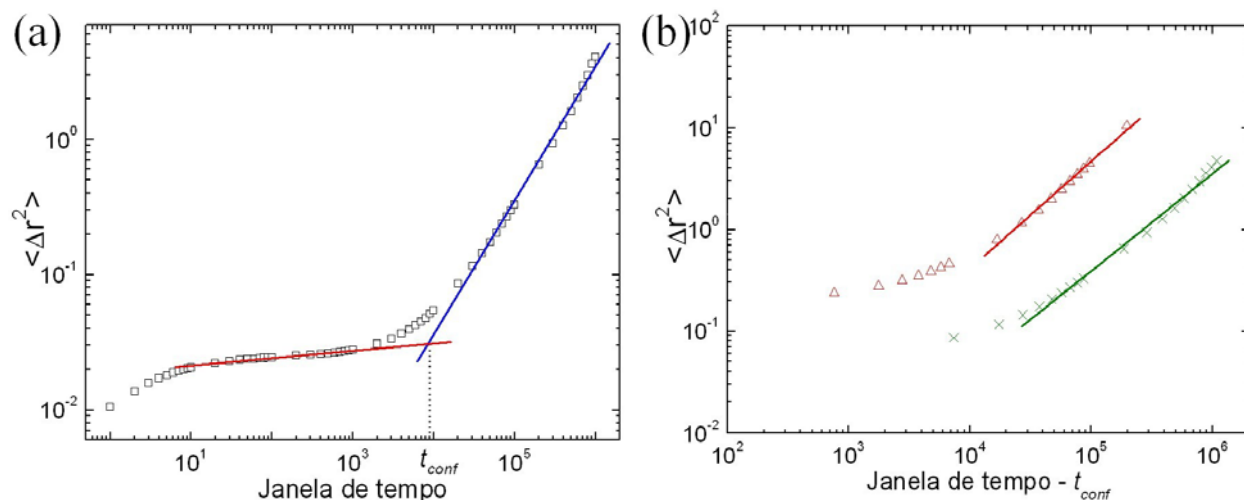


Fig. 4.3: Ilustração do cálculo do tempo de confinamento (t_{conf}) do animóide. Em (b) as duas últimas curvas da Fig. 4.2 ($\beta=1,7$ e $2,0$) com o t_{conf} descontado.

Os valores das inclinações finais das curvas (ξ), assim como a constante de difusão D foram medidos descontando-se o tempo de confinamento dos animóides (t_{conf}), cujos valores podem ser vistos na tabela abaixo.

β	1,2	1,4	1,7	2,0
ξ	~0,97461	~0,95553	~1,0554	~0,95635
D	~9,01E-4	~9,25E-4	~6,192E-6	~1,617E-6
t_{conf}	-	-	~3240,0	~12647,7

Tab. 4.1: Valores de difusão e tempo de confinamento para as curvas da Fig. 4.2.

Como se pode ver da Tab. 4.1, o expoente ξ medido nos 4 sistemas tem um valor próximo de 1, o que indica que sua difusão permanece normal em todos os casos. Já a medida da constante D indica que nos agregados pseudo-sólidos (com $\beta > 1,55$) a difusão dos animóides é mais lenta, o que é um reflexo da estrutura hexagonal em que se encontram.

A difusão apresentada pelos sistemas com $\beta=1,2$ e $1,4$ é típica de um líquido, onde as partículas se movimentam livremente, o que não ocorre para os sistemas com $\beta=1,7$ e $2,0$, nos

quais o movimento dos animóides é mais limitado. Porém, apesar da difusão nestes dois últimos casos não ser livre, ela também não é totalmente nula, pois os animóides eventualmente trocam de posição, levando a uma difusão normal para longos períodos de tempo. Então se por um lado eles não são um líquido típico, também não pode se dizer que sejam um sólido típico, onde se espera que as partículas permaneçam fixas em suas posições.

Em 1969 o físico Martin Goldberg [112] já havia discutido e teorizado a existência de dois comportamentos distintos para os líquidos. Para temperaturas altas as moléculas se difundem livremente, como se é esperado. Mas a medida em que a temperatura for diminuindo, se atingirá um ponto no qual ela será da mesma ordem de grandeza dos potenciais de interação das moléculas. A partir daí as moléculas ficarão presas em mínimos locais de energia e o movimento ocorrerá por eventuais pulos de um mínimo para outro, que é o conhecido *cage-effect* que ocorre nas transições vítreas [113].

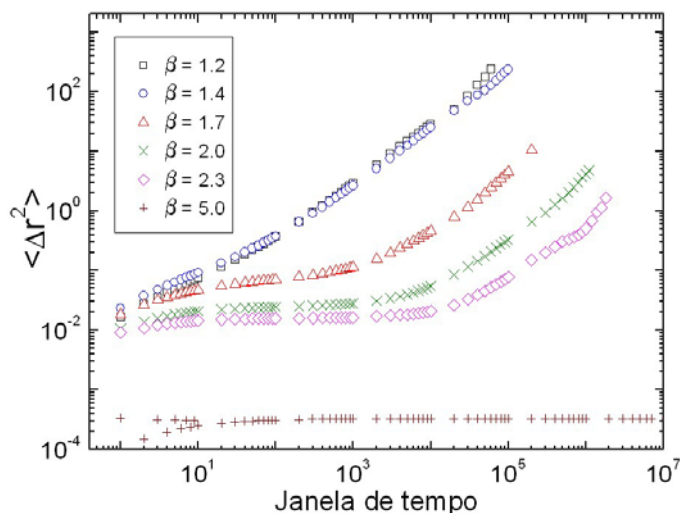


Fig. 4.4: Cage-effect na difusão dos animóides.

A partir de $\beta=5,0$ o tempo de confinamento (t_{conf}) tende a infinito.

Tendo isso em mente, a aparente transição de segunda ordem vista no capítulo anterior fica explicada como sendo uma transição do comportamento difusivo, ou fluído, do líquido para o comportamento confinado, ou viscoso, que a partir desse momento será designado como líquido-confinado (Lc). Para β maiores, espera-se que o *cage-effect* domine a dinâmica do sistema e que o t_{conf} tenda infinito¹. Como se pode ver na Fig. 4.4 isto acontece para valores de β acima de 5,0.

¹ Infinito ou suficientemente grande (maior que os tempos de observação experimental ou de simulação possíveis). Este é um dos assuntos de grande debate acerca das transições vítreas e não pretendo me estender muito neste ponto.

Para o caso heterogêneo, em que o parâmetro de força do agregado (β_{Agr}) é diferente do parâmetro de força do animóide (β_a), descobriu-se que a fase do agregado (líquida ou Lc) influi no movimento do animóide. Mesmo que ele tenha um valor de β_a na fase Lc, a fase líquida do agregado em torno acaba induzindo o animóide a se comportar como um líquido. Isto porque, não havendo mais a estrutura hexagonal à sua volta, o animóide deixa de estar preso pelos seus vizinhos e fica livre para se movimentar dentro do agregado, onde todos os demais animóides estão constantemente trocando de posição. A Fig. 4.5a a seguir apresenta essa situação. Nela o β_{Agr} foi mantido na fase líquida ($=1,2$) enquanto o β_a foi variado de 1,2 até 2,0. Mesmo quando o animóide difusivo tem um β alto ($\beta_a=1,7$ e 2,0) há a ausência do tempo de confinamento, que caracterizaria a fase de líquido-confinado (Lc).

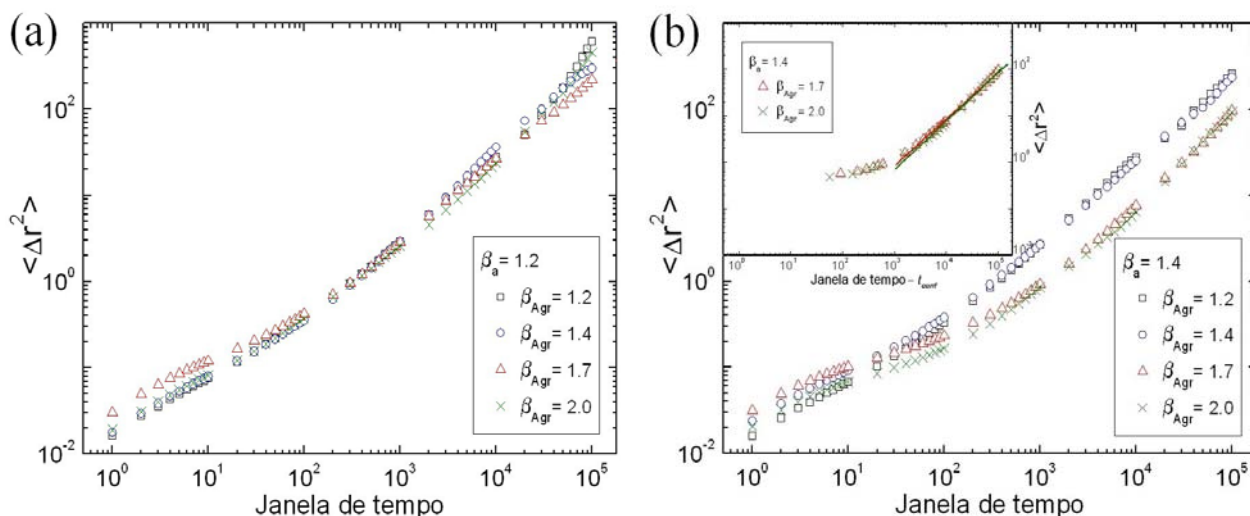


Fig. 4.5: Influência do agregado no comportamento do animóide.

Em (a) o agregado líquido faz com que todos os animóides comportem-se como líquidos também. Em (b) o aumento do β_{Agr} induz o aparecimento de tempos de confinamento no animóide líquido. No gráfico interno estão as curvas para $\beta_{Agr}=1,7$ e 2,0 com o tempo de confinamento (t_{conf}) descontado.

Já na Fig. 4.5b foi variado o β_{Agr} enquanto o β_a foi mantido fixo em 1,4 (líquido). Neste gráfico pode-se notar o efeito inverso. O aumento de β_{Agr} para fases Lc (1,7 e 2,0) faz surgir o aparecimento de tempos de confinamento e, conseqüentemente, a diminuição do valor da constante de difusão D . O expoente de difusão ξ , porém, manteve-se em torno de 1 nas 4 curvas,

como se pode ver na Tab. 4.2 a seguir. Para outras combinações de β_{Agr} com β_a o expoente ξ também retornou valores próximos de 1.

β_{Agr}	1,2	1,4	1,7	2,0
ξ	~0,97764	~0,95553	~1,0073	~1,047
D	~8,074E-2	~9,25E-4	~1,987E-4	~1,247E-4
t_{conf}	-	-	~410,1	~444,6

Tab. 4.2: Valores de difusão e tempo de confinamento para as curvas da Fig. 4.5b.

4.3 Caso com movimento coletivo

Uma vez entendido como se comporta a difusão em sistemas heterogêneos “estáticos”, passa-se agora à exploração dos casos em que o agregado está em movimento ($\alpha > 0$). Pretende-se aqui responder a duas questões principais: se a difusão interna do agregado continua normal e se, para os casos heterogêneos, o animóide difusivo com α pequeno acompanha o agregado movente.

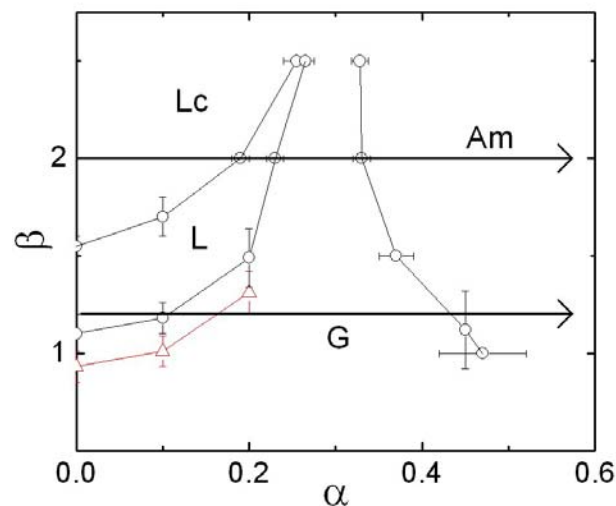


Fig. 4.6: Exploração da difusão para $\alpha > 0$.

As simulações foram feitas em duas linhas de exploração diferentes, indicadas na Fig. 4.6. Na primeira série de simulações fixei os valores de β_{Agr} em 1,2 (na fase líquida) e variei somente o parâmetro coletivo α . Na segunda o método foi o mesmo, mas β_{Agr} foi fixado em 2,0 (na fase Lc).

4.3.1 Agregado na fase líquida ($\beta=1,2$)

Começo pelo estudo do caso em que β está na fase líquida. O primeiro resultado a ser apresentado é o caso homogêneo, em que a variação do parâmetro α é igual tanto para o animóide difusivo como para o agregado. A Fig. 4.7 a seguir apresenta $\langle \Delta r^2 \rangle \times \langle \Delta t \rangle$ para três valores de α .

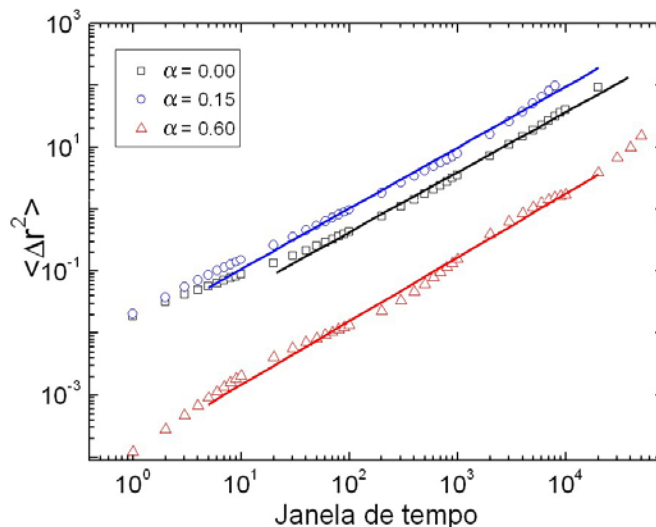


Fig. 4.7: Difusão para diferentes valores de α com $\beta=1,2$.

Nota-se inicialmente que a curva com parâmetro $\alpha=0,60$ aparece deslocada para baixo em relação às demais. Isso ocorre devido a duas razões, a primeira é que para esse valor de α o sistema está na fase movente (Fig. 4.6), e a segunda é devido ao tamanho de passo fixo (v_0) dos animóides. Como todos eles têm que se movimentar na mesma direção devido ao parâmetro α , e como não há como fazer um deslocamento maior ou menor por passo de tempo, acaba sobrando pouca margem de movimento lateral para os animóides difundirem em relação ao eixo de deslocamento do agregado. Conseqüentemente a velocidade relativa de um animóide em relação a outro fica reduzida, o que se reflete em uma baixa constante de difusão D (Tab. 4.3).

α	0,00	0,15	0,60
ξ	~0,96903	~0,98258	~1,02874
D	~1,229E-3	~2,798E-3	~3,414E-5

Tab. 4.3: Medidas de difusão para diferentes valores de α .

De acordo com os valores da Tab. 4.3, a difusão é normal nos 3 casos ($\xi \sim 1$), o que indica que a transição do agregado para a fase movente não alterou de maneira significativa o comportamento dos animóides, salvo a já mencionada diminuição de sua constante de difusão D .

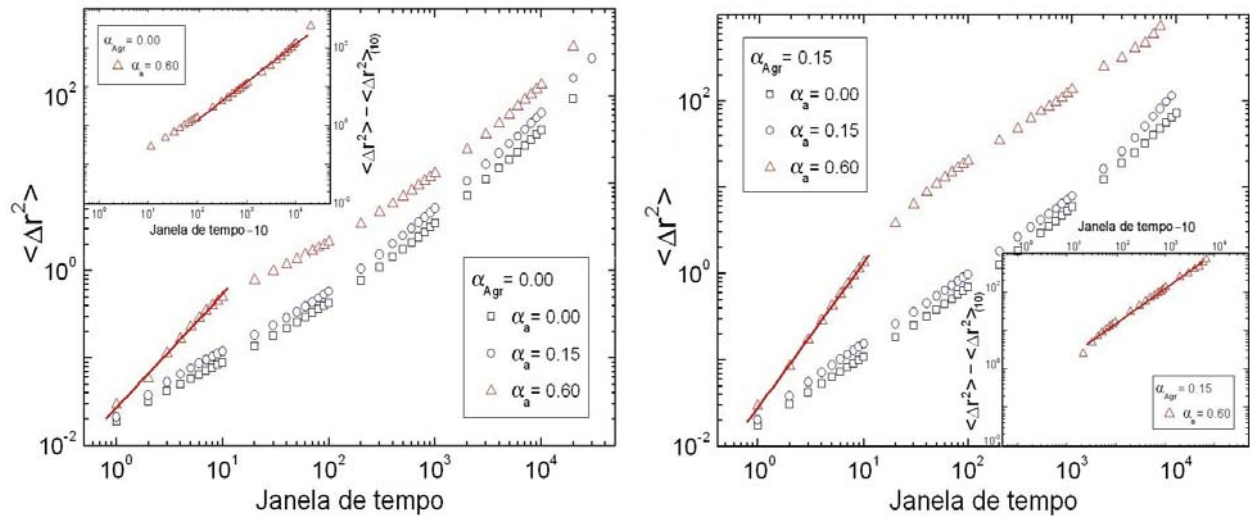


Fig. 4.8: Efeito de pulsos refletido na difusão dos animóides.

Nos gráficos internos são mostradas as curvas para $\alpha_a=0,60$ descontados o tempo de troca de comportamento ($\Delta t = 10$ passos) e o valor de $\langle \Delta r^2 \rangle$ nesse tempo.

Porém, no caso heterogêneo existem duas mudanças significativas na natureza da difusão dos animóides. O primeiro pode ser visto nos gráficos da Fig 4.7, onde o parâmetro α_{Agr} foi mantido fixo (em 0,00 e 0,15), enquanto α_a foi variado. Quando o valor desse é de 0,6, pode-se notar uma superdifusividade para pequenos intervalos de tempo ($\Delta t < 10$ passos), que logo voltam ao normal para janelas de tempo maiores (Tab. 4.4).

α_{Agr}	0,00	0,15
ξ ($\Delta t < 10$ passos)	$\sim 1,29774$	$\sim 1,68755$
ξ ($\Delta t > 10$ passos)	$\sim 0,98764$	$\sim 0,91365$

Tab. 4.4: Presença de dois regimes de difusão.

Os expoentes se referem às curvas da Fig. 4.8 com $\alpha_a=0,6$.

Pode-se imaginar duas hipóteses para se explicar tal fenômeno. A primeira é de que esta superdifusividade do animóide para pequenos intervalos de tempo está diretamente associada aos

fenômenos de pulsos, que foram observados ao final do capítulo anterior. Outra hipótese é de que isso seja apenas uma maior agitação em torno da posição de equilíbrio induzida pelo aumento do parâmetro de movimento coletivo α_a .

Se a primeira hipótese for a correta então os animóides vizinhos ao animóide difusivo estaria acompanhando-o nos seus deslocamentos, quanto que na segunda hipótese o movimento dos animóides vizinhos estariam descorrelacionados com o animóide difusivo. Portanto uma maneira de distinguir entre as duas hipóteses é medir o parâmetro de movimento coletivo ϕ em torno do animóide difusivo. Para isso pode-se usar a função $\phi(r)$, definida pela Eq. 3.4, que correlaciona o movimento coletivo com o raio de vizinhança dos animóides. Porém, como essa função é medida para todos os animóides do sistema, se faz necessário discriminá-la em $\phi_{Agr}(r)$ e $\phi_a(r)$, sendo que a primeira se refere à média do agregado e a última é feita apenas para o animóide difusivo.

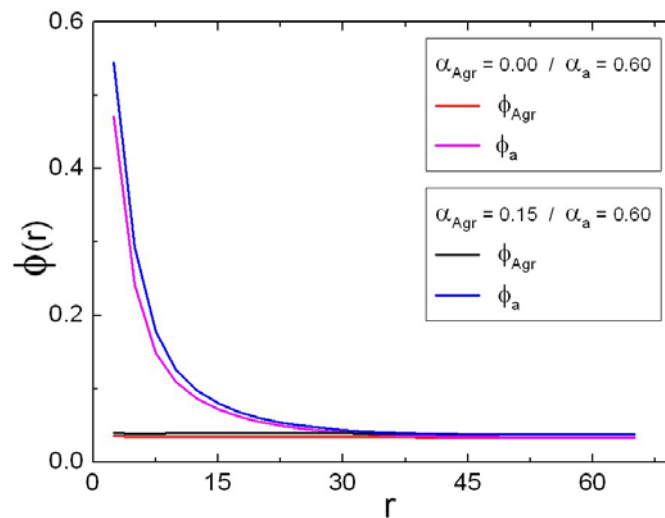


Fig. 4.9: α elevado do animóide difusivo gera pulsos em agregados estáticos.

A Fig. 4.9 mostra que, enquanto o agregado como um todo não apresenta movimento coletivo, o animóide difusivo possui um valor de ϕ_a muito elevado em torno de sua vizinhança. Isto acaba descartando totalmente a segunda hipótese, pois segundo ela não deveria haver correlação entre o movimento do animóide difusivo e seus vizinhos. Portanto fica claro que o mecanismo responsável pela superdifusividade em pequenos intervalos de tempo são os pulsos.

Outra informação que pode ser tirada da Fig 4.8 é o aumento da intensidade dos pulsos com o aumento do α_{Agr} . A curva de ϕ_a para $\alpha_{Agr}=0,15$ está levemente acima da curva de ϕ_a para

$\alpha_{Agr}=0,00$. Isso também pode ser notado nos gráficos da Fig. 4.8, onde para $\alpha_{Agr}=0,15$ a curva inteira foi deslocada mais para cima.

α_{Agr}	0,00	0,15
$D (\Delta t > 10 \text{ passos})$	$\sim 4,543E-3$	$\sim 5,971E-2$

Tab. 4.5: Valores da constante D das curvas da Fig. 4.8 com $\alpha_a=0,6$.

Além de aumentar o expoente de difusão (ξ) do animóide para curtos períodos de tempo (Tab. 4.4), a presença dos pulsos também afeta o seu movimento a longo prazo, como se pode ver pelos valores da constante de difusão (D) do animóide na Tab 4.5.

Uma última informação que se pode tirar da Fig. 4.8 é que o mesmo deslocamento para cima das curvas que se observa para $\alpha_a=0,60$, ocorre também para valores menores de α_a ($=0,15$). Isto sugere que nestes casos também há a presença de pulsos que ajudam o animóide a se deslocar mais rapidamente. Este resultados será importante mais tarde para explicar o efeito do parâmetro α na segregação celular.

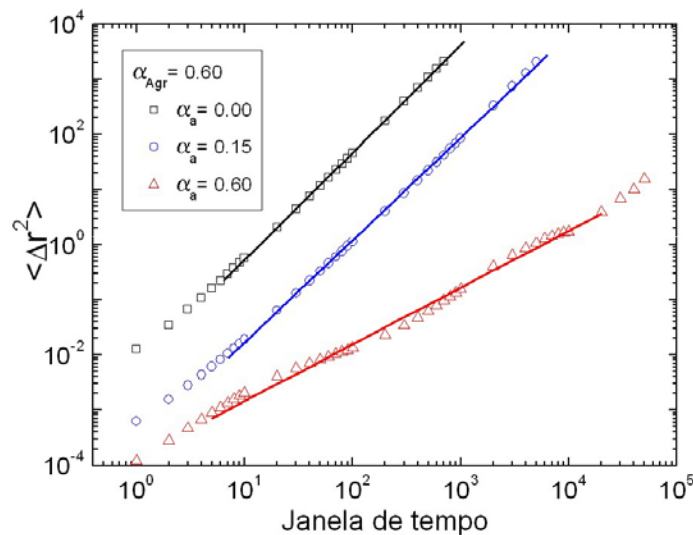


Fig. 4.10: Ocorrência de superdifusão em agregados moventes.

A segunda mudança significativa na difusão diz respeito ao caso onde o agregado está na fase movente ($\alpha_{Agr}=0,60$). Como se pode ver no gráfico acima (Fig. 4.10), quando o animóide difusivo tem um valor de α_a pequeno ele acaba apresentado uma superdifusão, enquanto que no caso em que $\alpha_a=\alpha_{Agr}$ sua difusão é normal (Tab. 4.6).

α_a	0,00	0,15	0,60
ξ	~1,9469	~1,85108	~1,02874

Tab. 4.6: *Inclinações das curvas da Fig. 4.10.*

De fato, quando o α_a é zero, sua difusão dentro do agregado movente chega a ser quase balística, com ξ muito perto de 2 (~1,9469). Como seria totalmente inverossímil uma hipótese em que o animóide difusivo com $\alpha_a < \alpha_{Agr}$ esteja andando mais rápido que o agregado, a conclusão é de que, devido ao pequeno valor (nesse caso específico, a inexistência) do parâmetro α_a , o animóide difusivo não consegue acompanhar o movimento do agregado e acaba sendo deixado para trás. Mais uma vez isso pode ser demonstrado pelo gráfico da função $\phi(r)$ na Fig. 4.11:

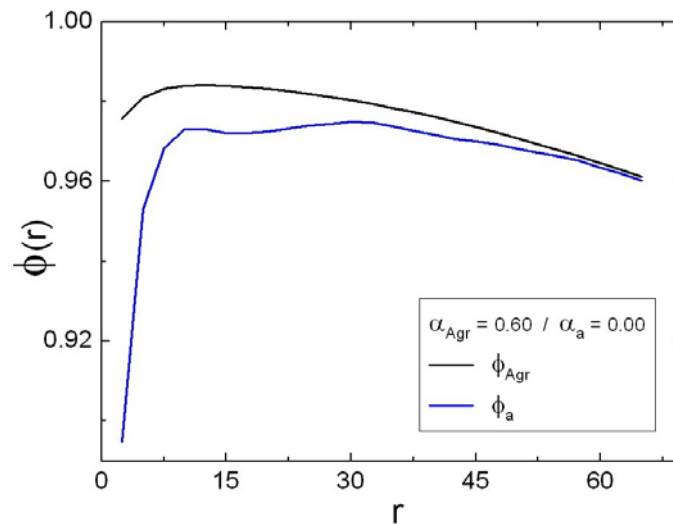


Fig. 4.11: *Animóides com baixo α não acompanham o movimento coletivo.*

Quando a média de $\phi(r)$ é feita para pequenas distâncias, pode-se notar que o valor do parâmetro ϕ_a (com $\alpha_a=0,0$) é menor do que a da média dos animóides do agregado (com $\alpha_{Agr}=0,6$). Isto demonstra que o animóide difusivo não segue perfeitamente o movimento coletivo do agregado, como já era esperado. Porém, devido ao ainda grande valor de ϕ_a para pequenas distâncias, pode-se concluir que um certo arraste ainda existe. Isto acontece porque dentro do agregado ele está constantemente se chocando com outros animóides que se deslocam na direção do movimento coletivo. Como o animóide difusivo deve preservar o seu volume devido à força f_{ij} (Eq. 2.7), ele acaba sendo empurrado pelo movimento dos animóides que vêm de trás, o que também explica o porquê do expoente ξ não chegar a ter um valor balístico (=2). Esse arraste,

porém, não é suficiente para fazê-lo acompanhar o movimento do agregado, e o animóide difusivo acaba ficando para trás, o que gera a sua aparente superdifusão. Um fenômeno semelhante foi observado em um experimento conduzido por Libchaber e Wu [114] (e mais tarde modelado por Grégoire *et al.* [115]), no qual uma pequena bola de poliestireno era arrastada por bactérias.

4.3.2 Agregado na fase Lc ($\beta=2,0$)

Na segunda linha de exploração (Fig. 4.6), com $\beta=2,0$ (fase líquido-confinado), não há muitas mudanças em relação aos resultados recém mostrados, com exceção da existência de tempos de confinamento para agregados com α muito pequeno, como pode se ver na Fig. 4.12a:

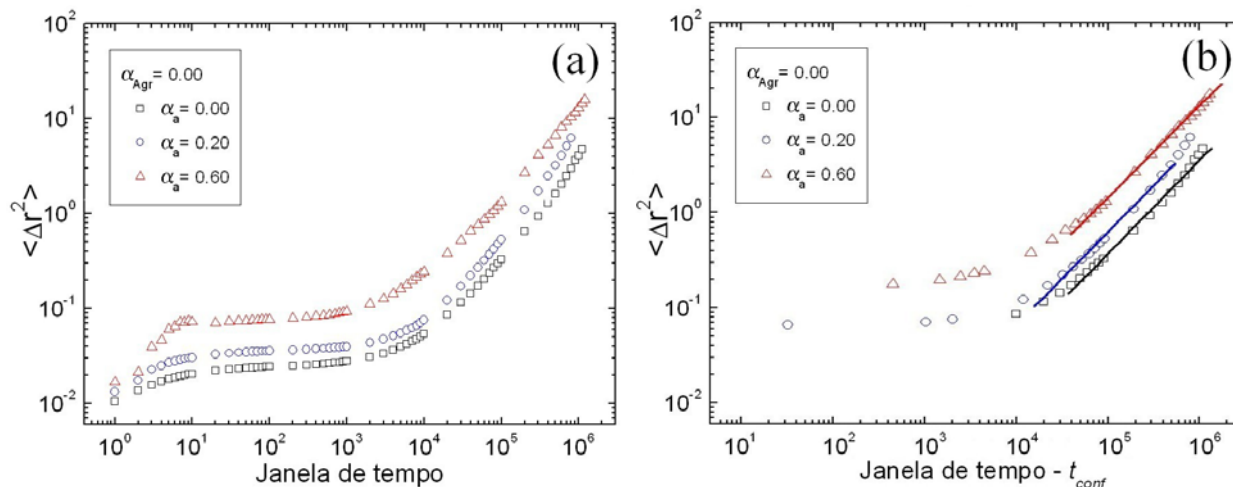


Fig. 4.12: (a) Presença de tempos de confinamento para $\beta=2,0$.

Em (b) está o mesmo gráfico descontado o tempo de confinamento.

α_a	0,00	0,20	0,60
ζ	~0,98617	~0,97399	~0,96306
D	~1,087E-7	~2,251E-7	~5,635E-6
t_{conf}	~10118,0	~7967,9	~5550,2

Tab. 4.7: Medidas de difusão e tempo de confinamento das curvas da Fig. 4.12.

Nesse caso pode-se notar mais claramente a existência dos pulsos pela clara elevação das curvas para pequenas janelas de tempo ($\Delta t < 10$ passos) com o aumento de α_a . Descontando-se

esse tempo de confinamento (t_{conf}), os animóides passam a difundir normalmente, como se pode ver pelos valores da Tab. 4.7, calculados a partir da Fig. 4.12b.

Quando o agregado está na fase movente o valor elevado de seu β ($=2,0$) poderia fazer com que o animóide difusivo com baixo valor de α fosse forçado a acompanhar o deslocamento do sistema. Porém, como se pode ver no gráfico abaixo (Fig. 4.13), isso não acontece e o animóide acaba sendo deixado para trás.

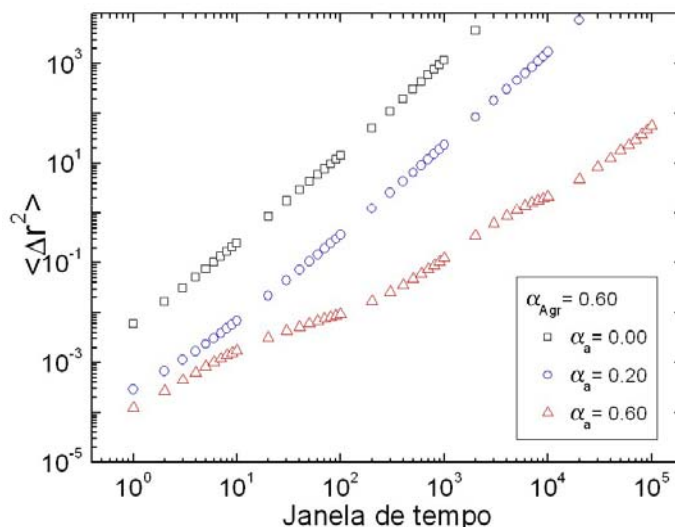


Fig. 4.13: Alto valor de β não é suficiente para fazer o animóide acompanhar o movimento. Para $\beta=2,0$ as medidas de difusão para agregados moventes ($\alpha=0,60$) foram quantitativamente iguais às das simulações para agregados moventes com $\beta=1,2$ (comparar com Fig. 4.10).

4.4 Discussão

Ao longo das simulações aqui feitas, pode-se notar que para a maioria dos casos os animóides difundem normalmente, ou seja, o valor de seus expoentes difusivos ξ é de aproximadamente 1. Isso acontece inclusive quando os agregados estão na fase Lc, onde após um tempo de confinamento t_{conf} , que caracteriza essa fase, os animóides continuam difundindo-se normalmente (Fig. 4.2 e Tab. 4.1).

As duas exceções acontecem quando o α_{Agr} é maior que zero. Nessa região do diagrama de fases (Fig. 4.6) podem acontecer dois efeitos distintos: (1) Quando o agregado está parado e o valor de α_a é aumentado, começam a surgir os pulsos, que são definidos como movimentos

coletivos localizados de curta duração. Como consequência disso a curva de $\langle \Delta r^2 \rangle$ em função de Δt apresenta uma superdifusão ($\xi > 1$) para pequenas janelas de tempo. (2) Quando o agregado está na fase movente e o animóide tem valor de $\alpha_a < \alpha_{Agr}$, ele não consegue mais acompanhar o deslocamento dos demais e é deixado para trás. Como consequência o gráfico de $\langle \Delta r^2 \rangle$ em função de Δt (medido através da Eq. 4.4) acaba apresentando uma superdifusão aparente. O valor do seu expoente ξ não chega a ser balístico porque há um pouco de arraste devido à força de interação f_{ij} (Eq. 2.7) dele com os demais.

O primeiro efeito descrito acima, sobre os pulsos, é de especial interesse, pois ele desempenhará um papel importante no próximo capítulo, onde se estudará a segregação de tecidos. Outro efeito relevante é influência que o β_{Agr} , tem no comportamento do animóide difusivo. Um animóide na fase Lc dentro de um agregado líquido acaba se movendo como se fosse um líquido (Fig. 4.5a). O efeito contrário, porém, é menos acentuado, já que o agregado na fase Lc induz apenas um pequeno tempo de confinamento no animóide líquido (Fig. 4.5b). Essas são boas notícias, já que numa mistura de animóides nas fases líquida e Lc, todos os animóides conseguirão se difundir com relativa facilidade. A única exceção ficará por conta daqueles animóides na fase Lc cuja vizinhança seja composta apenas de animóides também nesta fase. Porém, longe de constituir um problema, esse será justamente o efeito que possibilitará o uso do modelo para a simulação da segregação celular.

Capítulo 5

Segregação celular

Nesta terceira parte do meu trabalho de mestrado pretendo começar de forma sistemática a aplicação do modelo proposto ao estudo da interação entre dois tecidos de animóides dentro de um mesmo sistema. Embora o modelo possua uma grande quantidade de parâmetros que possam ser variados, tais como a velocidade dos animóides e seus tamanhos, entre outras quantidades extensivas, o estudo será focado na variação de suas quantidades intensivas, α e β , da mesma maneira que fiz nos dois últimos capítulos. Estudarei o papel que diferentes combinações de valores desses parâmetros têm na forma final da estrutura do sistema e como se dá essa evolução.

5.1 Parâmetro de ordem

Como caracterizar então a organização espacial de dois tecidos distintos? Imagens do sistema nos dão muitas informações valiosas sobre isto, porém é necessário quantificar esta configuração, preferencialmente de maneira local, a fim de possibilitar um estudo quantitativo e sistemático do modelo. Ou seja, é necessário criar um parâmetro de ordem para o sistema.

Umas das formas usadas por J. Graner e F. Glazier no seu artigo sobre segregação usando o modelo de Potts Celular [85] foi a medida do número total de vizinhos iguais e diferentes para cada tecido. Porém esta medida não parece muito adequada, pois necessita de dados externos para se fazer compreensível. Uma quantidade X de vizinhos diferentes para um certo tecido só é significativa se você já souber antecipadamente quantos vizinhos diferentes este tecido poderia ter, o que inclui saber se elas estão em um espaço de duas ou três dimensões e também se há homogeneidade ou heterogeneidade nos tamanhos relativos das células dos dois tecidos.

Levando em conta todas estas dificuldades, foi elaborada uma medida cujo valor absoluto visa ser significativo em si mesmo sem a ajuda de informações externas. Para isto é necessário que a contagem do número de vizinhos diferentes de um tecido esteja em contraste com o número de vizinhos iguais que ele tem, além de estar normalizado pelo número total de vizinhos no momento da medida. Esta medida se transcreve matematicamente como:

$$(5.1) \quad \gamma_T = \left\langle \frac{n_i - n_d}{n_i + n_d} \right\rangle, \quad T \text{ corresponde ao tipo de tecido (verde, } G, \text{ ou vermelho, } R)$$

no qual n_i é o número de vizinhos iguais de uma célula, n_d é o número de vizinhos diferentes e a média é feita sobre todas as células pertencentes ao tecido em questão.

Esta medida sempre vai resultar em um número entre -1 (caso em que todas as células do tecido estão espalhadas, não tendo contato com nenhuma igual) e $+1$ (caso em que todas as células de um tecido estariam juntas sem manter contato com nenhuma diferente). O valor zero seria correspondente àquela configuração na qual as células de um tecido têm em média o mesmo número de vizinhos iguais e diferentes.

5.2 Testando a hipótese da adesão diferenciada (Caso sem α)

O estudo aqui apresentado segue a mesma divisão geral feita na segunda parte: começo o estudo do caso em que o termo de movimento coletivo é zero para, depois de entendidos os fenômenos principais, passar ao estudo do caso com $\alpha > 0$. Como a hipótese da adesão diferenciada, na qual este trabalho se baseia, trata sempre de dois (ou mais) tecidos com adesividade interna diferente¹, montei um sistema onde um dos tecidos (verde, G) tem grau de adesão $\beta_{GG}=2,0$ (na fase de líquido-confinado) e o outro (vermelho, R) tem grau de adesão menor, $\beta_{RR}=1,2$ (na fase líquida). De maneira também semelhante aos experimentos biológicos mencionados no primeiro capítulo, as simulações aqui conduzidas começam de um estado onde todos os animóides estão misturados aleatoriamente dentro de um agregado (Fig. 5.1a). O sistema é composto por um total de 2400 animóides, sendo 1800 na fase líquida (vermelho) e 600 na fase Lc (verde). Essa proporção entre o número de partículas verdes e vermelhas serve para facilitar o

¹ Uma explicação mais detalhada da hipótese encontra-se no capítulo 1, seção 1.2.

processo de segregação de tecidos, economizando o tempo de processamento necessário para o sistema atingir a envoltura total de um tecido pelo outro, que é a configuração final desejada (Fig. 5.1b).

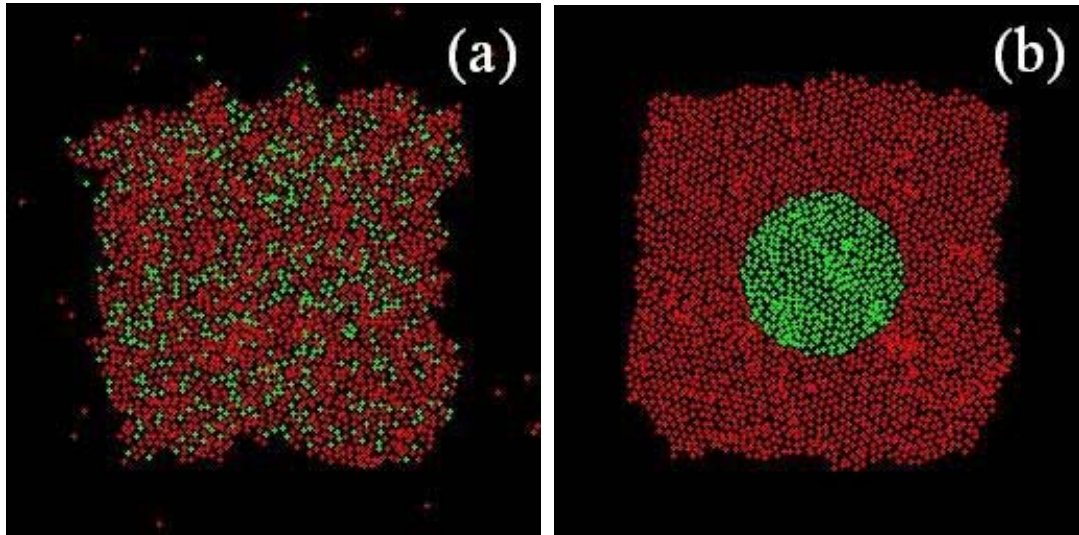


Fig. 5.1: (a) Estado inicial do sistema e (b) o estado de envoltura total².

A partir deste estado inicial foram conduzidas várias simulações com diferentes valores para o grau de adesão entre os dois tecidos (β_{RG}) de modo que o sistema deve passar pelos 3 padrões descritos pela hipótese da adesão diferenciada (rever nota de rodapé 1):

- 1** - Mistura de tecidos para $\beta_{RG} \geq (\beta_{RR} + \beta_{GG})/2$ (Fig. 1.3);
- 2** - Envoltura total de tecidos para $(\beta_{RR} + \beta_{GG})/2 > \beta_{RG} \geq \beta_{RR}$ (Fig. 1.4);
- 3** - Separação de tecidos para $\beta_{RR} > \beta_{RG}$ (Figs. 1.5 e 1.6).

Porém, antes de apresentar os resultados desta série de simulações e conferir se eles concordam com a hipótese de Steinberg, deve-se antes discutir como o parâmetro de ordem γ (Eq. 5.1) distinguirá entre estes 3 padrões. Cabe ressaltar que esse parâmetro pode ser medido tanto em relação ao tecido vermelho (γ_R) como ao tecido verde (γ_G). Como é este último que tende a ser envolvido, usarei γ_G em todas as análises que seguirem e simplificarei sua notação para γ .

² A Fig. 5.1b foi gerada artificialmente através de uma condição inicial especial na qual todos os animóides dentro de um certo raio passam a pertencer a um tecido diferente. Tal estado “perfeito” não corresponde ao resultado de nenhuma das simulações conduzidas ao longo deste trabalho, que apenas se aproximam de tal ideal.

Tendo o sistema um estado inicial onde os animóides estão misturados aleatoriamente (Fig. 5.1a) e uma proporção de tecidos onde para cada animóide verde se encontram 3 animóides vermelhos, o valor esperado de γ no estado inicial é de:

$$(5.2) \quad \gamma(t=0) = \left\langle \frac{n_i - n_d}{n_i + n_d} \right\rangle \cong \frac{1-3}{1+3} = -\frac{1}{2} = \gamma_0$$

Portanto qualquer valor de γ medido acima de γ_0 indicará uma segregação e qualquer valor abaixo indicará um processo contrário no qual os animóides verdes evitarão o contato uns com os outros. A esses tipos de sistemas é dado o nome de *micelar*.

Além do valor de $\gamma=\gamma_0$, que delimita a separação entre os dois primeiros padrões listados acima, pode-se construir um outro para separar os dois últimos padrões, que consiste em calcular o valor máximo que γ pode assumir antes de começar a separação dos tecidos (Fig. 1.5). Tal cálculo pode ser feito de maneira analítica (ver Apêndice A) ou ser medido diretamente no sistema através da construção artificial deste estado (ver nota de rodapé 2 referente a Fig. 5.1b). Devidas as aproximações feitas nos cálculos analíticos, será usada a última medição (ver Tab. 5.1).

Procedimento	1º cálculo	2º cálculo	3º cálculo	medição
γ_{Env}	~0,895578	~0,884372	~0,905739	~0,901

Tab. 5.1: Valores do γ de envoltura total (γ_{Env}) calculados por 4 procedimentos diferentes.

Resumindo, para valores de β_{RG} maiores que $(\beta_{RR}+\beta_{GG})/2=1,6$, espera-se que a medida de γ retorne um valor menor que $\gamma_0=-0,5$, ou seja, que o sistema se torne micelar; para valores de β_{RG} entre $\beta_{RR}=1,2$ e $(\beta_{RR}+\beta_{GG})/2=1,6$, espera-se um γ entre $\gamma_0=-0,5$ e $\gamma_{Env}=0,901$, que é a região de segregação e envoltura total de tecidos; e para valores de β_{RG} menores que $\beta_{RR}=1,2$ espera-se que a medida de γ fique acima de $\gamma_{Env}=0,901$, pois este é o caso em que os dois tecidos começam a se separar³⁴.

Uma vez definido o que se espera das medidas do parâmetro de ordem, resta comparar as previsões com os resultados numéricos obtidos das simulações. Estas foram conduzidas para 16

³ Quando totalmente separados $\gamma = \langle n_i/n_i \rangle = 1$ tanto para o tecido verde como para o vermelho.

⁴ Este valor de $\gamma_{Env}=0,901$ depende da proporção entre os tecidos e do número total destes (N). Para uma população muito grande de animóides o valor de γ_{Env} seria muito próximo de 1 e este critério de distinção entre os padrões ficaria comprometido. Porém para $N=2400$ este método me pareceu suficientemente eficaz.

valores diferentes de β_{RG} , que foi variado entre 0,4 e 10, e as medidas de segregação foram feitas após a estabilização do parâmetro γ , que para alguns casos levou aproximadamente 40 milhões de passos. Os resultados podem ser conferidos no gráfico abaixo (Fig. 5.2), que de maneira geral concorda com as previsões:

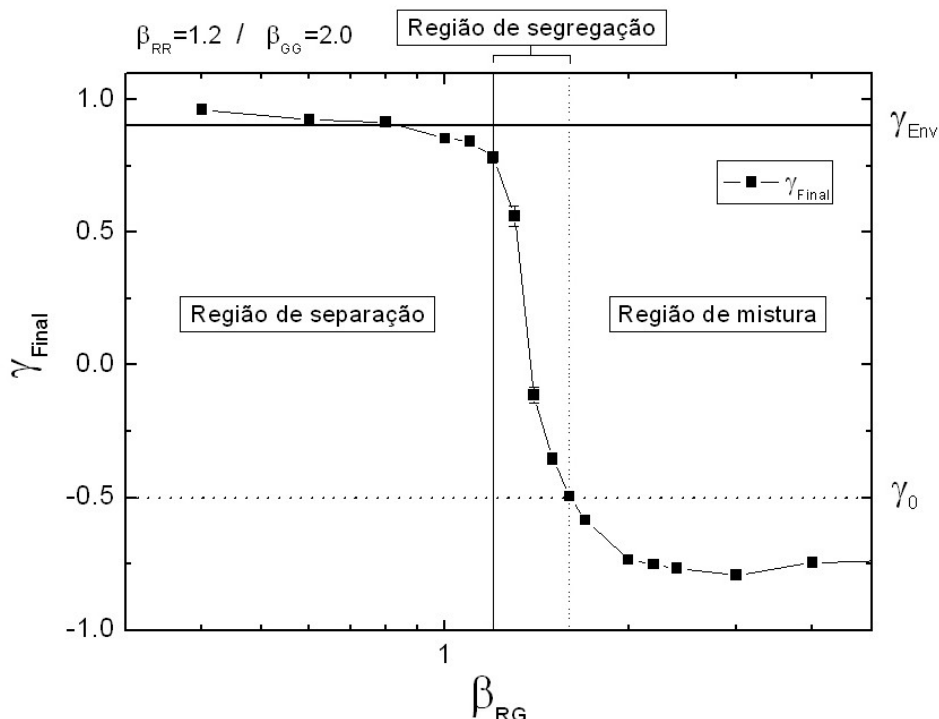


Fig. 5.2: Segregação em função de β_{RG} .

O eixo horizontal β_{RG} está em escala logarítmica para melhor visualização.

Como se pode ver, os valores medidos de γ estão de pleno acordo com a hipótese da adesão diferenciada no que diz respeito ao limite inferior: de transição entre as regiões de mistura e segregação de tecidos. Já no limite superior, as medidas aparentemente não concordam muito com as previsões descritas anteriormente, já que as simulações com $\beta_{RG}=1,1$ e $1,0$ estão visivelmente abaixo do limite de separação γ_{Env} . Essa diferença, porém, se deve ao fato deste limite ter sido calculado em relação a um estado ideal, que não leva em conta as deformações inerentes do sistema devido à presença da temperatura (ruído). Tendo isso em consideração, conclui-se que, para o tecido verde se aproximar do limite γ_{Env} , é necessário, ou que ele se livre momentaneamente de todo o ruído em torno de modo a diminuir a sua área de contato com tecido vermelho, ou que ele realmente comece a se separar daquele, o que também irá diminuir sua área de contato com o outro tecido e, conseqüentemente, o fator n_d na Eq. 5.1.

Com certeza a segunda é a mais plausível das duas explicações, porém há uma terceira explicação, ainda mais simples, que é a de se concluir que o modelo simplesmente não conseguiu reproduzir a hipótese neste ponto em particular. Porém, a verificação de imagens extraídas das simulações desta região em discussão (que podem ser vistas na Fig. 5.3) mostra que, de fato, o tecido verde se mantém submerso no tecido vermelho durante toda a simulação em $\beta_{RG}=1,2$, enquanto que em $\beta_{RG}=1,1$ os dois tecidos começam a se separar, confirmando as previsões feitas anteriormente.

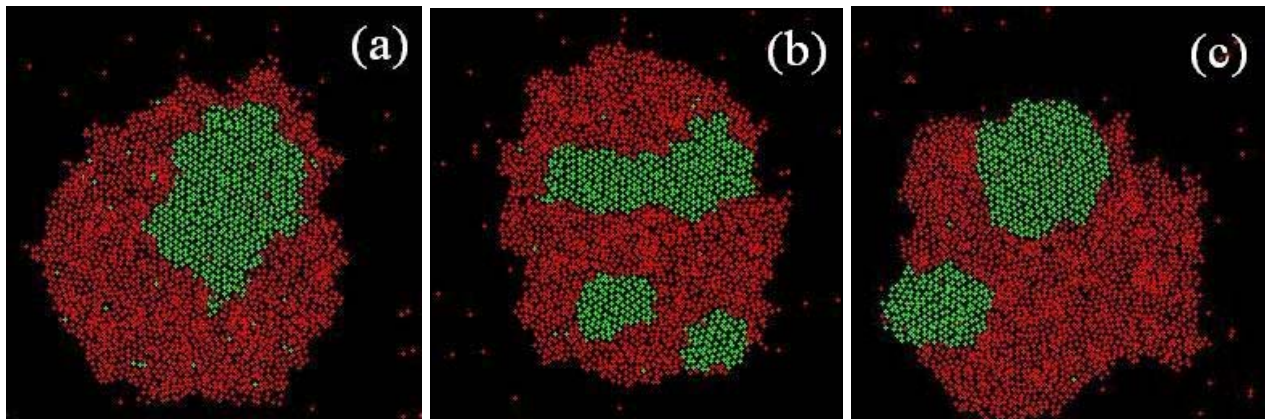


Fig. 5.3: *Confirmação das previsões da hipótese da adesão diferenciada.*

Em (a) há a envoltura total do tecido verde pelo vermelho para $\beta_{RG}=1,2$. Nos outros dois casos, para $\beta_{RG}=1,1$ (b) e $\beta_{RG}=1,0$ (c) os dois tecidos começam a se separar.

5.3 Efeito do parâmetro α

Uma vez confirmado que o modelo consegue reproduzir com razoável sucesso as previsões da hipótese da adesão diferenciada apenas com o uso do parâmetro β , falta agora estudar o efeito do parâmetro α nos processos de segregação. A primeira pergunta que pretendo responder é se, semelhantemente ao que se sucedeu com outro parâmetro, é possível ocorrer o mesmo fenômeno em um sistema homogêneo em β , ou seja, se heterogeneidade do parâmetro de movimento coletivo α consegue gerar por si mesmo a segregação de dois tecidos.

A primeira série de testes foi feita com β fixado em 1,2 (na fase líquida) para os dois tecidos. Com β neste valor, um tecido pode ter o seu α variado de 0 até 0,15 antes de entrar na fase gasosa. Após isso o tecido pode voltar a formar um agregado movente a partir de $\alpha=0,45$, porém

um tecido deste tipo, que se desloca inteiramente em uma direção, não teria sentido biológico para o problema da segregação celular, pois nenhum dos experimentos relatados no capítulo 1 fizeram uso de tais tipos de culturas celulares. Tendo isso em vista a região de variação de α está restrita entre 0 e 0,15.

Se o termo de movimento coletivo de fato induz alguma segregação entre dois tecidos, poder-se-ia esperar que tal efeito fosse mais acentuado quanto maior fosse a diferença entre os seus α . Baseado nesta primeira intuição, construí um sistema onde um dos tecidos tem $\alpha_{RR}=0,0$ e o outro $\alpha_{GG}=0,15$, e variei o parâmetro intermediário α_{RG} em 0,0, 0,06 e 0,15. O resultado final foi completamente frustrante, como se pode ver pela Fig. 5.4a:

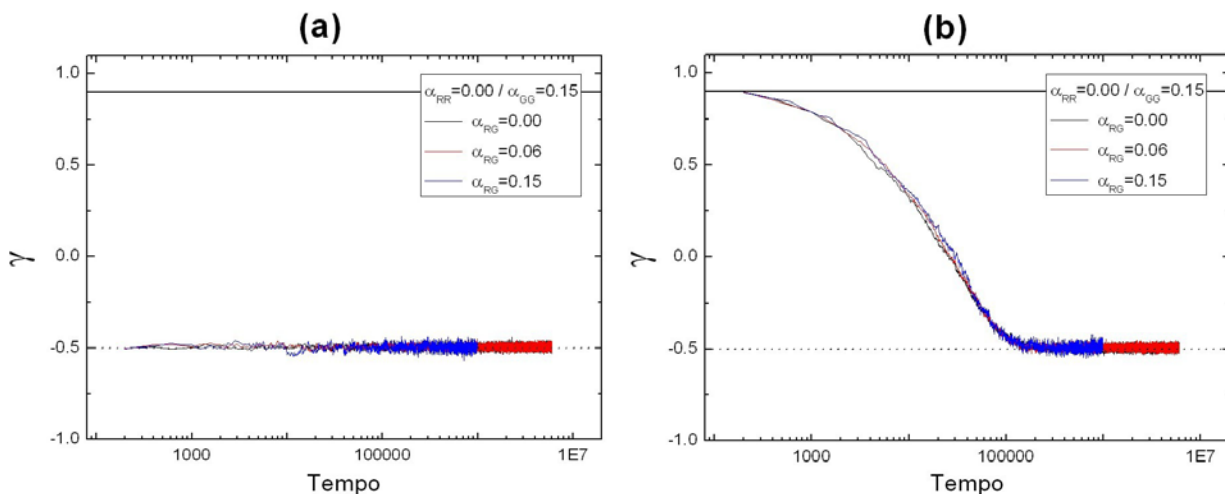


Fig. 5.4: O parâmetro α não consegue induzir segregação.

As simulações foram feitas a partir de um estado inicial misturado (a) e outro com um estado inicial já segregado (b). As duas linhas paralelas tem o mesmo significado que na Fig. 5.2.

Além do fato de nenhum dos 3 casos apresentar qualquer segregação entre os tecidos, eles nem mesmo conseguem sustentar uma situação de segregação (Fig. 5.4b) caso o sistema já comece com os dois tecidos segregados, como na Fig. 5.1b. Dezenas de outras simulações para diferentes combinações de valores de α foram feitas, porém todas apresentaram a mesma inocuidade.

Uma segunda série de testes também foi feita com os dois tecidos na fase de Lc com $\beta=2,0$, mas novamente os resultados das simulações foram decepcionantes, forçando a conclusão inevitável de que o parâmetro α , isoladamente, é incapaz de induzir segregação no sistema.

Diante desses primeiros resultados infrutíferos pode-se duvidar da utilidade de qualquer exploração subsequente do termo de movimento coletivo. Porém, como se verá mais adiante, esta

impressão se mostrará falsa. Pois, se de um lado a variação do parâmetro α nos intervalos usados não gerou nenhum efeito na dinâmica de segregação de tecidos, por outro é um fato já verificado (rever capítulo 3) que ele realmente muda o comportamento de um agregado gerando pequenos surtos de movimento coletivo localizado, aos quais foi dado o nome de pulsos. Portanto, embora o parâmetro α não seja capaz de gerar segregação por si, a sua presença em um sistema composto de tecidos com diferentes graus de adesão β (como os testados na seção 5.2), pode gerar mudanças na dinâmica de segregação.

Para verificar tal possibilidade foi montado um sistema composto de 800 animóides de dois tipos de tecidos (na mesma proporção anterior) com valores de β que estimulem a melhor segregação possível. Para isso o grau de adesão interno do tecido vermelho foi aumentado para $\beta_{RR}=1,5$ (ainda na fase líquida) e do tecido verde foi aumentado para $\beta_{GG}=2,3$ (na fase Lc) a fim de diminuir a presença de flutuações na medida de γ . Visando também otimizar a envoltura total entre os dois tecidos, o valor do grau de adesão intermediário foi fixado em $\beta_{RG}=1,52$. A partir desta base o parâmetro α foi variado de 0 até 0,15 a fim de observar seu efeito na segregação:

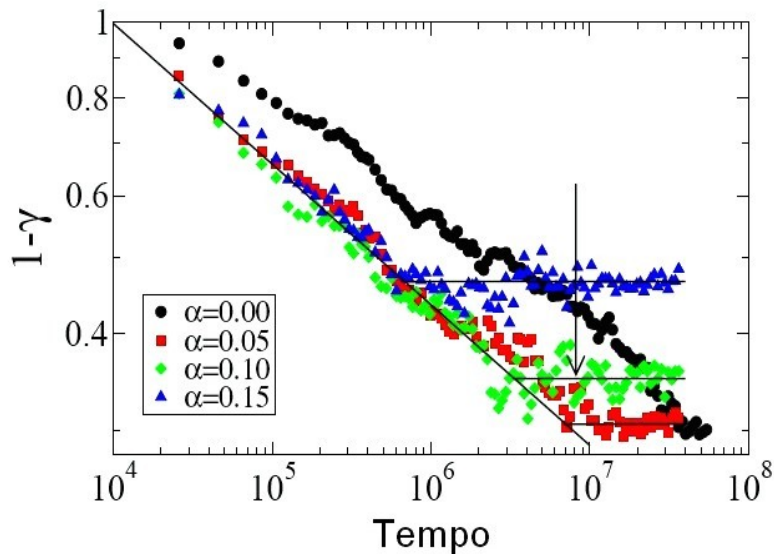


Fig. 5.5: Efeito do α na dinâmica de segregação.

A seta indica a melhor relação entre γ final e o seu tempo de saturação.

Como se pode ver na figura acima a introdução do termo α aumentou a velocidade de segregação dos tecidos, porém sua presença também diminuiu o valor de segregação final do parâmetro γ quando comparado ao caso sem α . Para se entender porquê isto ocorre é necessário se estudar mais detalhadamente o processo de segregação, o que será feito a seguir.

5.4 Dinâmica de segregação

Como já foi dito no capítulo 1, um dos principais aspectos que os modelos (matemáticos ou não) precisam explicar corretamente é como ocorre a dinâmica de segregação de tecidos que levam ao padrão de envoltura total (Fig 5.3a). Para se estudar como isto se forma neste modelo, serão conduzidas simulações para 4 tamanhos diferentes de sistema (número total de animóides, $N=800, 1600, 3200$ e 6400) com os mesmos valores dos parâmetros β usados na segunda parte da seção 5.3. O valor de α a ser usado é de $0,1$ (indicado na Fig. 5.5 por uma seta), pois sua segregação ($\gamma \cong 0,65$) é quase tão boa quanto o da simulação com $\alpha=0,05$ ($\gamma \cong 0,60$), com a vantagem desta medida levar a metade do tempo para se estabilizar ($\sim 3,5$ milhões de passos).

Para se caracterizar a dinâmica de segregação o parâmetro de ordem γ não é adequado, pois ele dá uma informação global do sistema que pouco ajuda na descrição da evolução de suas partes, que é o que está em jogo aqui. Tudo o que ele nos indica é que o sistema começa de uma mistura, com o tecido verde espalhado dentro do vermelho (Fig. 5.1a), e termina com o tecido verde reunido em um único grupo (agregado⁵) bem definido dentro do tecido vermelho (Fig. 5.3a). Entre esses dois estados o sistema pode passar por basicamente 3 processos diferentes que serão listados e discutidos a seguir:

1 - Os animóides verdes, que estão inicialmente espalhados, começam a se juntar uns com os outros e formar pequenos agregados dentro da mistura. Após isso vem uma segunda etapa, na qual estes agregados, por não estarem parados dentro da mistura, eventualmente encontram e fundem-se até a formação de um único agregado que contém todos (ou a maior parte) dos animóides verdes. Este é o processo observado nos experimentos biológicos ao qual se refere Steinberg no quarto ponto de sua lista⁶.

2 - Inicialmente os animóides também se juntam formando pequenos agregados. Porém nenhum deles é totalmente estável e podem, portanto, perder animóides. Por outro lado, esta probabilidade de perder animóides estaria relacionada com o tamanho de cada agregado. Agregados pequenos têm uma curvatura de superfície maior e conseqüentemente os animóides que estão na sua borda possuem mais vizinhos do outro tecido do que agregados com curvatura de superfície menor. Assim sendo, dado um conjunto de agregados, os menores tenderão a

⁵ Um agregado é definido como um conjunto de dois ou mais animóides verdes em contato. Animóides sem contato com nenhum outro do mesmo tipo serão chamados de isolados.

⁶ Rever o capítulo 1, seção 1.2.

desaparecer enquanto os maiores crescerão através da absorção dos animóides que aqueles perderam. Este processo é conhecido como *Ostwald ripening*⁷ [116] e é usado para descrever a difusão de gases em meios líquidos (que se “condensam” em bolhas).

3 - Os animóides verdes, que estão inicialmente fragmentados, não formam pequenos agregados, mas dirigem-se coletivamente em direção a algum ponto dentro da mistura formando desde o início um agregado principal que, aos poucos, vai absorvendo todos os animóides verde.

Esta última hipótese, embora possível, não faz o menor sentido dentro deste modelo, pois para isso seria preciso haver alguma forma de comunicação de longa distância entre os animóides. Em sistemas celulares reais tal processo pode ocorrer, mas para isso deve haver um gradiente químico na matriz extracelular onde elas residem (haptotaxia) ou a emissão de um sinal químico de alguma fonte (quimiotaxia)⁸. Para que o modelo pudesse reproduzir tal processo seria preciso quebrar a isotropia do espaço ou acrescentar-lhe uma força central atrativa em algum ponto. Uma medida do número total de animóides verdes isolados (n_i) dentro da mistura (ver nota de rodapé 5) pode demonstrar que de fato este processo não ocorre no sistema:

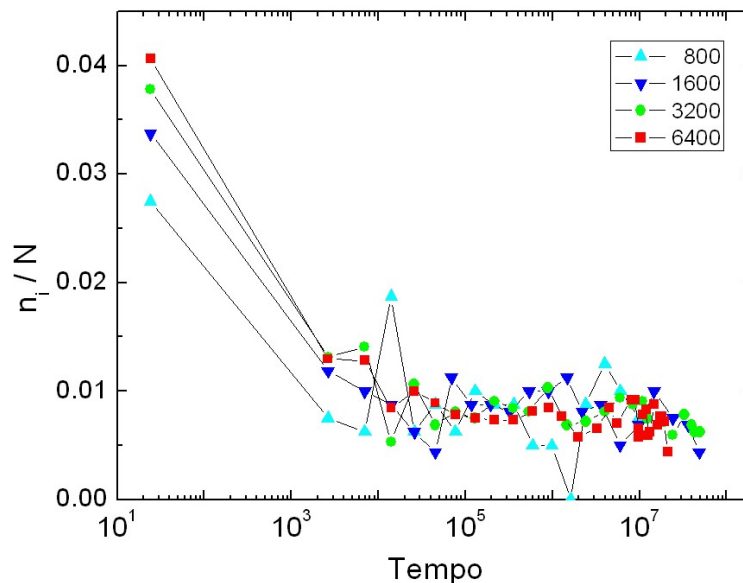


Fig. 5.6: Porcentagem de animóides isolados em função do tempo.

⁷ “*Amadurecimento de Ostwald*”, numa tradução literal para o português.

⁸ Cabe ressaltar que em todos os experimentos discutidos no capítulo 1, assim como na lista de modelos levantados na seção 1.1, este caso especial não estava sendo levado em consideração por pertencer à outra classe de fenômenos.

A Fig. 5.6 demonstra que logo no início das simulações o número de animóides isolados cai rapidamente para algo em torno de 1% do tamanho do sistema (64 animóides para o sistema de 6400) e assim permanece durante todo o resto da simulação. Se a terceira hipótese estivesse certa, o número de animóides isolados deveria cair gradualmente ao longo das simulações conforme estes fossem aos poucos se aderindo ao agregado principal. Como isto não ocorre esta alternativa está definitivamente descartada.

Sobram então apenas as duas primeiras hipóteses. Porém é complicado pensar em um método de diferenciá-las. A Fig. 5.6, por exemplo, pouco ajuda, pois em ambas hipóteses espera-se que o número de animóides isolados caia no início da simulação devido à agregação espontânea dos animóides que começaram de posições próximas. E em ambas também espera-se que o número de animóides isolados permaneça constante depois. Na primeira por eles terem absolutamente nenhuma participação no processo posterior de combinação de agregados. E na segunda pode se alegar que o fluxo de animóides entre os agregados pequenos (que os perdem) e os grandes (que os ganham) permaneceu constante.

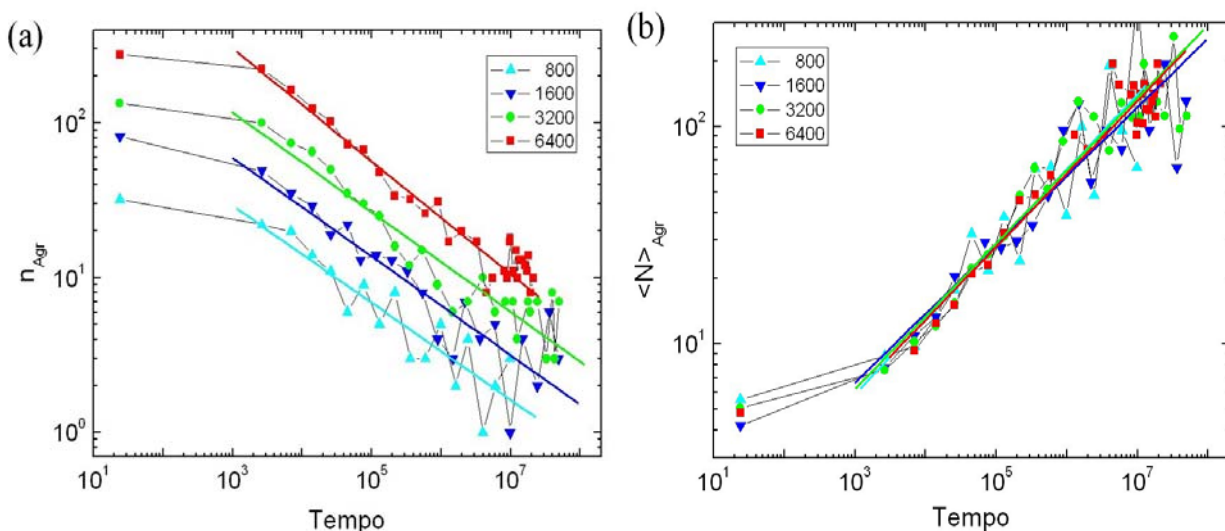


Fig. 5.7: (a) Número de agregados (n_{Agr}) e (b) tamanho médio dos agregados ($\langle N \rangle_{Agr}$) no tempo.

Argumentos semelhantes podem ser ditos tanto sobre a contagem do número de agregados no sistema (Fig. 5.7a), que deve diminuir com o tempo, como sobre a medida do tamanho médio dos agregados (Fig. 5.7b), que em ambas hipóteses deve aumentar com o tempo. Porém, sobre esta última medida, algo a mais pode ser extraído. Nos processos de *Ostwald ripening* espera-se que o raio médio dos agregados cresça com $t^{1/2}$ ou $t^{1/3}$, o que implicaria em um crescimento da área média dos agregados (aqui medido em termos do número de animóides) proporcional a t ou

$t^{2/3}$. Porém os ajustes lineares feitos nas curvas da Fig. 5.7b (que podem ser vistos na terceira coluna da Tab. 5.2) não concordam com esta predição, apresentando ao invés disso um expoente de crescimento de aproximadamente $1/3$ para os 4 sistemas usados.

Sistema	Inclinação (n_{Agr})	Inclinação ($\langle N \rangle_{Agr}$)
800	$-0,31355 \pm 0,04065$	$0,34469 \pm 0,04061$
1600	$-0,31906 \pm 0,03838$	$0,31646 \pm 0,03998$
3200	$-0,32205 \pm 0,02241$	$0,33466 \pm 0,02164$
6400	$-0,36434 \pm 0,02078$	$0,33563 \pm 0,01844$

Tab. 5.2: Valores do ajuste linear das curvas da Fig. 5.7 (n_{Agr} e $\langle N \rangle_{Agr}$).

Essa discrepância nos valores dos expoentes, embora ponha a segunda hipótese em descrédito, não chega a descartá-la definitivamente, pois a diferença nos expoentes ainda pode ser explicada como uma peculiaridade do modelo ou pela presença de ambos os processos na evolução do sistema. Tal impasse pode ser tirado a limpo por um outro critério. Em ambos processos, pode-se identificar, após um certo período de tempo, um agregado principal que absorve os demais animóides. Segundo a primeira hipótese, isso acontece via fusão de agregados menores nele e, de acordo com a segunda, isso acontece pela absorção individual de animóides que se desprenderam dos agregados menores. Sendo assim, a evolução do tamanho do agregado principal deve ser marcado por descontinuidades no primeiro caso, enquanto que no segundo seu crescimento deve ser contínuo.

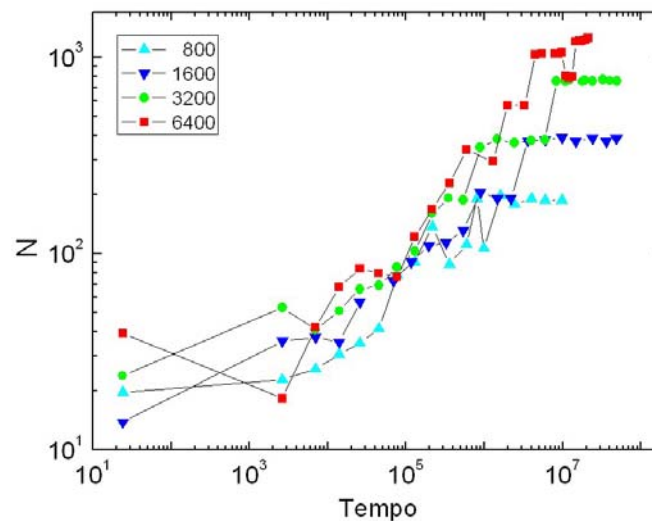


Fig. 5.8: Variação do tamanho do agregado principal com o tempo.

Como se pode ver na Fig. 5.8, para todos os tamanhos de sistema existe a presença de descontinuidades no crescimento do tamanho do agregado principal com o tempo. De fato há alguns períodos de crescimento contínuo, mas isto pode ser explicado pela absorção de pequenos agregados. Porém o que descarta totalmente a segunda hipótese é a presença de fortes quedas no tamanho do agregado (seguidas de uma rápida “recuperação”). Na primeira hipótese tal fenômeno pode ser explicado por uma fusão incompleta de um agregado menor no principal (Fig. 5.9). Já de acordo com a segunda hipótese isso não poderia acontecer jamais, pois o processo deveria ser de crescimento contínuo.

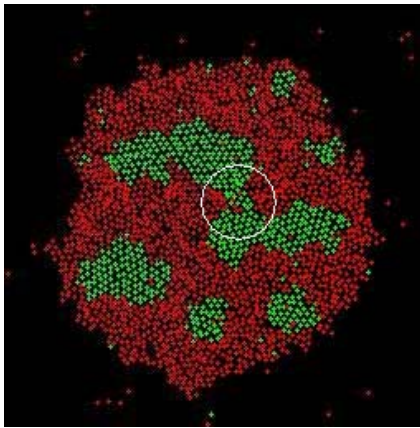


Fig. 5.9: *Oscilação no tamanho do agregado principal.*

A ligação indicada entre os dois agregados ainda é muito frágil e pode ser desfeita por alguma flutuação do sistema, dando origem a uma oscilação no tamanho do agregado principal.

Descartada então a segunda hipótese como dominante, chega-se a conclusão de que de fato o sistema está se segregando via concentração de pequenos agregados que aos poucos se fundem para formar um agregado principal, o que concorda perfeitamente com o quarto ponto da lista de Steinberg.

5.5 Leis de escala

A variação do tamanho do sistema feita na seção anterior para analisar a dinâmica de segregação também serviu para se estudar como o parâmetro de segregação γ escala com N (número total de animóides). Nas simulações apresentadas a seguir, N foi variado de 100 até 3200

animóides, sendo que a proporção de animóides verdes e vermelhos, assim como os valores dos parâmetros α e β , são os mesmos da seção anterior. O resultado pode ser visto no gráfico abaixo:

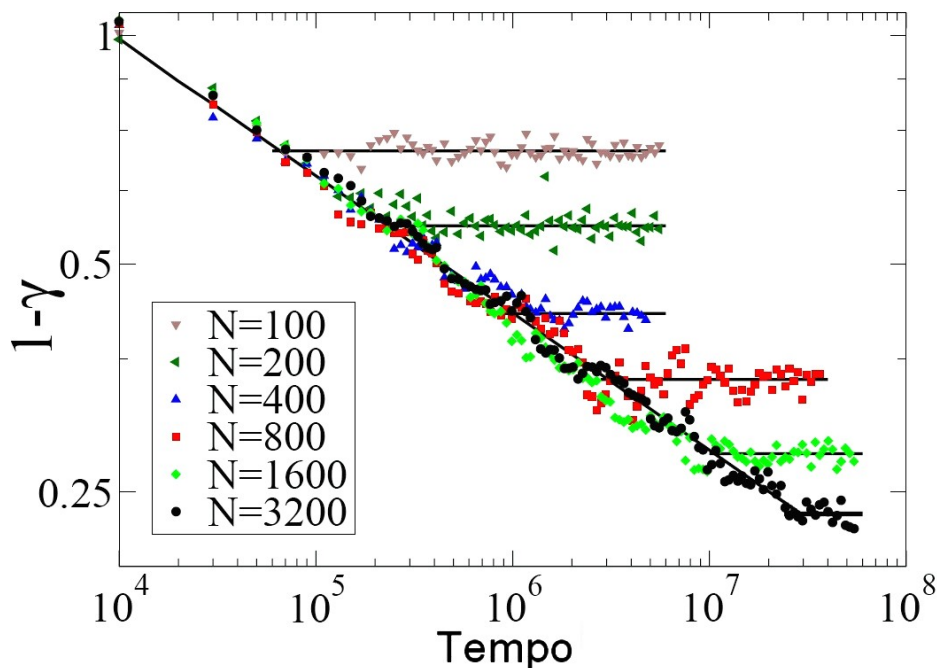


Fig. 5.10: *Variação do parâmetro γ no tempo para vários tamanhos de sistema. As linhas horizontais, assim como a diagonal, servem como orientação visual.*

Duas informações podem ser extraídas imediatamente do gráfico acima (Fig. 5.10): primeiro, que quanto menor o sistema menor é o tempo de segregação, porém, e esta é a segunda informação, quanto menor o sistema também é menor o valor de $1-\gamma$, e, portanto, pior a segregação. Como o gráfico está em escala logarítmica nos dois eixos, espera-se que estes dois valores, tempo de segregação (t^*) e o valor final de segregação ($1-\gamma^*$), dependam potencialmente de N , ou seja:

$$(5.4) \quad t^* \propto N^{\nu} \quad \text{e} \quad 1-\gamma^* \propto N^{\mu},$$

nos quais ν e μ são os expoentes dinâmico e de saturação, respectivamente. Os valores de ambos podem ser obtidos a partir de um ajuste linear dos dois gráficos abaixo:

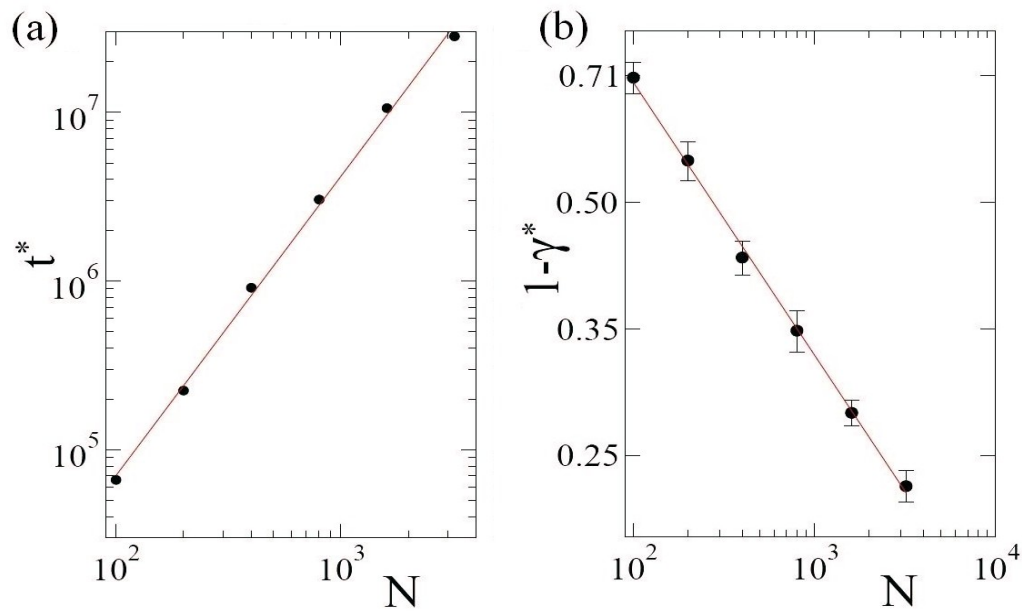


Fig. 5.11: Dependência do tempo de segregação (a) e da segregação final (b) com N .

Com os dois expoentes calculados, a dependência das suas medidas com N fica:

$$(5.5) \quad t^* \propto N^{+1,77 \pm 0,04}$$

$$(5.6) \quad 1 - \gamma^* \propto N^{-0,324 \pm 0,007}$$

Além desses dois expoentes, existe um terceiro que é o expoente de crescimento, que diz como o parâmetro de ordem $(1-\gamma)$ cresce até atingir o seu valor de saturação $(1-\gamma^*)$. A sua dependência é com o tempo de simulação transcorrido (t) e não com o N , como nos outros dois casos anteriores. De fato, pode-se ver pela Fig. 5.10 que ele é o mesmo para todos os tamanhos de sistema e sua dependência com t é:

$$(5.7) \quad 1 - \gamma \propto t^\lambda,$$

tendo λ valor de $-0,18 \pm 0,002$.

A diferença desta relação para as outras é que, enquanto aquelas podem ser consideradas constantes para um dado tamanho de sistema (dado os expoentes e qualquer valor de N , sabe-se automaticamente os valores de t^* e $1-\gamma^*$), esta última não é válida para qualquer t , pois a relação

deixa de ser válida no momento em que $t=t^*$ (e conseqüentemente $1-\gamma=1-\gamma^*$). Este limite pode ser escrito explicitamente como:

$$(5.8) \quad 1 - \gamma^* \propto (t^*)^\lambda$$

Se agora as duas relações de dependências de t^* e $1-\gamma^*$ com N (Eq. 5.4) forem substituídas no limite acima, obter-se-á:

$$(5.9) \quad N^\mu \propto (N^\nu)^\lambda = N^{\lambda\nu},$$

o que leva a:

$$(5.10) \quad \mu = \lambda\nu,$$

que é uma lei de escala conhecida como Family-Vicsek [117]. De fato esta lei é obedecida pelo modelo, pois ao se multiplicar o expoente de crescimento (λ) com o dinâmico (ν) o resultado será de aproximadamente 0,3186, o que está dentro do intervalo de erro da medida feita para o expoente de saturação $\mu=0,324 \pm 0,007$.

5.6 Discussão

Fora esta última seção, que discutiu como as medidas de segregação escalam com o aumento do tamanho do sistema, o restante do capítulo, que contém em si a essência deste trabalho de mestrado, pode ser resumido logicamente em algumas poucas linhas:

Definido o parâmetro de ordem de segregação γ , foi demonstrado que o modelo de animóides é capaz de reproduzir os resultados teóricos previstos pela hipótese da adesão diferenciada através da variação do parâmetro β , independentemente de α . A variação deste por sua vez, com β homogêneo, não é capaz de gerar segregação por si próprio. Por outro lado, dado um conjunto de β favorável à segregação celular, o acréscimo do parâmetro coletivo α ajuda a acelerar a envoltura total de um tecido por outro.

O último passo a ser feito agora é explicar porque a presença do parâmetro α ajuda na segregação. Como visto na seção 5.4, a dinâmica de segregação de tecidos a partir de um estado inicial misturado ocorre via formação e posterior fusão de agregados. Por outro lado foi demonstrado no capítulo 4 que o aumento de α aumenta a difusão dos animóides dentro um sistema, o que facilitaria a formação dos agregados no começo das simulações e já serviria como uma possível explicação do fenômeno. Mas, mais importante que isto, o aumento de α induz o surgimento dos chamados pulsos, rápidos movimentos coletivos localizados em pequenas regiões de um agregado. Ora, uma vez formados os agregados, o parâmetro α passa a fazer com que eles tenham estes pulsos de movimento, o que acaba ajudando-os a difundir como um todo dentro da mistura e conseqüentemente a se fundirem mais rapidamente em agregados maiores.

Portanto pode-se dizer que o parâmetro α atua em dois momentos distintos da segregação: primeiro na fase inicial, ajudando os animóides a se difundirem mais rapidamente e formar os agregados, e depois na fase de fusão de agregados, ajudando-os a se deslocarem dentro da mistura. Porém, se α for muito grande, estes mesmos pulsos que ajudam na fusão dos agregados podem se tornar muito fortes, quebrando os agregados já formados. Isso explicaria o porquê de, apesar de ajudar na velocidade de segregação, o parâmetro também diminuir o valor final de segregação γ (Fig. 5.5).

Conclusão e perspectivas

O trabalho desenvolvido aqui insere-se dentro um quadro mais geral de pesquisas que remontam desde pelo menos o começo do século XX, quando Wilson observou pela primeira vez a segregação de tecidos a partir de uma mistura artificial de células [9]. Desde então se sucederam uma série de experimentos e hipóteses em busca de uma maior compreensão e explicação desse fenômeno.

Entre os experimentos destacam-se: o de Holtfreter [15], que em 1944 constatou que segregação acontece via difusão de células ao invés de re-diferenciação; o de Steinberg em 1970 [32], no qual foi observada a relação hierárquica entre as envolturas de tecidos diferentes; o de Foty *et al.* em 1996 [33], que associa estas hierarquias à tensão superficial dos tecidos; além dos experimentos de Takeichi *et al.* [64] [65] [70] que identificaram a principal proteína responsável pela adesão celular.

Entre as hipóteses destacam-se: a da adesão diferenciada, proposta por Steinberg em 1963 [24]; da adesão específica, proposta por vários autores [16-22]; da adesão temporal, proposta por Curtis *et al.* em 1961 [25]; da contração superficial, proposta por Harris em 1976 [26]; e a da velocidade diferenciada, proposta por Jones *et al.* em 1989 [28].

Para simular os experimentos listados acima, assim como testar as hipóteses que se seguiram para explicá-los, foram desenvolvidos alguns modelos matemáticos (a maioria baseada na hipótese da adesão diferenciada), dos quais se destacam: o modelo de Potts celular, desenvolvido por Graner e Glazer em 1992 [85]; e o baseado na repartição espacial de Voronoi, desenvolvido por D. Sulsky em 1984 [92], que conseguiram reproduzir satisfatoriamente os resultados dos experimentos.

É nesse contexto que entra o modelo de animóides apresentado aqui neste trabalho. Embora os dois modelos citados acima, inspirados na hipótese da adesão diferenciada, consigam reproduzir os resultados dos experimentos, eles não são versáteis o suficiente ao ponto de poderem testar todas as hipóteses levantadas pelos biólogos. O modelo de animóides, entretanto, é capaz de simular a maioria dos modelos levantados anteriormente, além de incluir em sua dinâmica o movimento coletivo das células durante os processos de segregação. Este trabalho foi

desenvolvido com base nessas vantagens que o modelo de animóides apresenta em relação aos demais, assim como nas possíveis contribuições que ele ainda pode dar aos estudos sobre o fenômeno de segregação.

Justificado o uso do novo modelo, a primeira providência tomada foi adaptá-lo para uma melhor descrição das células. Como os modelos de animóides originais [105-107] visam a simulação de animais macroscópicos, a força de interação entre os animóides (cuja intensidade é dada pelo parâmetro β) não precisava ser algo realmente físico, pois parte dela estava associada ao campo de visão do animal e a resposta “psicológica” deles em relação às distâncias que se encontravam dos vizinhos. Já no caso das células essa força reflete algo mais físico, como a compressibilidade do citoesqueleto das células. Portanto a sua forma teve que ser mudada em relação à original (Fig. 2.14). Além disso, no novo modelo não há mais um erro de leitura associado às posições e velocidades dos vizinhos, logo o ruído deixou de ser proporcional ao número de vizinhos do animóide (Eq. 2.5) e passou a ser fixo, estado assim associado à mobilidade das células (Eq. 2.8).

Devido às alterações feitas, se fez necessário uma nova elaboração do diagrama de fases do modelo (Cap. 3). Utilizando os mesmos 3 parâmetros de ordem do modelo original de Vicsek-Grégoire (Eqs. 3.1, 3.2 e 3.3) foram encontrados 4 fases distintas (Fig. 3.10): gasosa, líquida, sólida e de movimento coletivo. Perto da transição entre as fases líquida e sólida com a gasosa foi encontrado um fenômeno digno de nota. O aumento do termo de movimento coletivo α faz surgir “pulsos” dentro do agregado, que são ocorrências de movimentos coletivos em regiões localizadas de curta duração temporal (Fig. 3.8). Estes pulsos também são os responsáveis pelo intervalo gasoso que separa a fase movente das líquida e sólida no diagrama de fases.

Em seguida foi conduzido um estudo sobre a difusão dos animóides dentro dos agregados (Cap. 4). Nele foram considerados não só casos homogêneos, nos quais o animóide difusivo possui os mesmos parâmetros dos demais, como também casos heterogêneos, quando os parâmetros α e β são diferentes do resto dos animóides. Para os casos homogêneos, a difusão dos animóides é normal para as 3 fases coesas do modelo (líquida, sólida e movente). Cabe salientar que na fase sólida foi encontrado um tempo de confinamento dos animóides que aumenta com o valor de β (Tab. 4.1) e que na fase movente a constante de difusão é menor. Nos casos heterogêneos observou-se a influência da fase do agregado no comportamento do animóide. Quando o agregado está na fase sólida e o animóide difusivo na líquida, este apresenta um pequeno tempo de confinamento devido à estrutura hexagonal do agregado (Fig. 4.4b). No caso inverso, o animóide na fase sólida acaba se comportando como um líquido quando dentro de um agregado na fase líquida (Fig. 4.4a). E finalmente, quando o agregado está na fase movente e o animóide difusivo

não, este não consegue acompanhar o deslocamento daquele, resultando em uma superdifusão aparente do animóide (Fig. 4.9).

Após essas explorações iniciais, o modelo foi finalmente utilizado para simular os fenômenos de segregação celular descritos no primeiro capítulo. Para isso criou-se um sistema com duas populações de animóides com diferentes valores de α e β . Descobriu-se então que, para α homogêneo, a variação do parâmetro β conduziu o sistema aos resultados previstos pela hipótese da adesão diferenciadas (Fig. 5.2). Já no caso inverso, em que β foi o mesmo para os dois tecidos e α foi variado, não se observou nenhum efeito de segregação (Fig. 5.4). Porém, dado um conjunto de valores de β favoráveis à envoltura total de um tecido sobre outro, a adição de um valor de α moderado levou o sistema a atingir o padrão final mais rapidamente (Fig. 5.5). Isso ocorre porque, sendo a dinâmica de segregação via formação e posterior fusão de agregados, o aumento de α induz o aparecimento de pulsos. Estes por sua vez aumentam o deslocamento dos agregados dentro da mistura, facilitando assim a fusão entre eles. Entretanto, pela mesma razão que o aumento de α leva o sistema à fase gasosa (Fig. 3.10), um valor muito elevado desse parâmetro também diminui a qualidade da segregação (Fig. 5.5), que é medido pelo parâmetro de ordem γ , definido no começo do capítulo 5 (Eq. 5.1). Os valores finais desse parâmetro de segregação, assim como o tempo de segregação do sistema, variam com o número total de animóides do sistema de acordo com uma lei de escala bastante conhecida, batizada de Family-Vicsek em homenagem aos seus formuladores [115].

O modelo de animóides se mostrou não só capaz de reproduzir corretamente as previsões da hipótese da adesão diferenciada, que é uma das mais aceitas entre os biólogos, como também mostrou a influência que o movimento coletivo das células podem ter na dinâmica desses processos. Esses resultados positivos, além de encorajarem o uso do modelo para testar as demais hipóteses sobre a segregação celular, também sugerem a sua aplicação a outros fenômenos biológicos, desde aqueles nos quais existe a presença explícita de movimentos coletivos, tais como os estágios iniciais do *Dictyostelium Discoideum*¹, assim como aqueles em que não se conhece exatamente o papel que esses movimentos desempenham, como foi parte do foco dessa dissertação.

Além do teste de teorias gerais sobre o comportamento de células, existe um segundo tipo de abordagem que pode ser feita com tais modelos matemáticos que é a de estabelecer algum tipo de correspondência direta entre os parâmetros do modelo e as medidas obtidas em experimentos

¹Trata-se de um ser vivo que está no limite evolutivo entre os organismos unicelulares e pluricelulares. Quando o ambiente onde se encontram está escasso de alimentos, as células, que outrora estavam separadas, juntam-se formando um ser pluricelular.

biológicos. Um modelo que conseguisse fazer isso com sucesso seria de grande utilidade prática, pois poderia ser usado para prever o comportamento de células em situações de difícil reprodução e/ou medição em laboratório.

Uma das medidas mais comuns em experimentos biológicos, principalmente no que se refere ao fenômeno da segregação celular, é a da tensão superficial de tecidos [30] [33] [116]. Para esses casos, os modelos de Potts Celular [85] e do Surface Evolver [96] oferecem uma correspondência quase direta a essas medidas já que suas células, além de possuírem uma forma bem definida, contam com um termo de conservação de volume (ou de área, em duas dimensões). Uma correspondência similar entre estas medidas experimentais e os dados do modelo de animóides seria mais limitada, já que apesar de os animóides possuírem um termo de conservação de área, seus perímetros não estão bem definidos. Portanto, enquanto nos dois modelos supracitados há como se fazer medidas de tensão superficial não só em tecidos, como também em células individuais, no modelo de animóides tal medida talvez só seja possível em agregados que se encontram na fase sólida. Dificuldades similares também se encontram nos modelos de grafos [88] e de Voronoi [92], enquanto que nos modelos de esferas [89] e de Goel [78-82] tal medida constitui uma impossibilidade total.

Por outro lado, no que se refere à difusão de células dentro de tecidos, o modelo de animóides apresenta vantagens sobre os demais, já que nele o movimento das células está bem definido. Desse modo uma exploração mais detalhada do movimento dos animóides comparada a medidas experimentais pode ser feita nos mesmos moldes que Mombach *et al.* fizeram em 1995 para o modelo de Potts Celular [117]. Uma vez estabelecida esta correspondência entre a dinâmica dos animóides e a das células reais de um certo tecido, o modelo pode então ser usado para simular e dar novas informações sobre outros fenômenos envolvendo deslocamentos (coerentes ou não) de células, tais como os observados nos experimentos de Rieu *et al.* com células de Hidra [75] [76].

Uma terceira perspectiva para o modelo de animóides, além do teste das hipóteses de segregação celular e da possível correspondência entre seus parâmetros e as medidas experimentais, seria uma generalização ainda maior do modelo na qual cada célula fosse representada não por um animóide, mas por um conjunto deles². A partir daí se abrem duas possibilidades para a exploração do modelo. Na primeira cada célula seria composta por um número fixo de animóides. Nesse caso o modelo poderia servir não só para simular medidas de

² Uma generalização semelhante foi feita em 1993 por Agarwal [84]. Em sua tese de doutorado ele generalizou o modelo de Goel [78-82] modelando as células como um conjunto de sítios cujos componentes seguem a mesma dinâmica do modelo original.

tensão superficial, como também para o estudo de configurações espaciais de espumas sem *coarsening*³ [118].

A outra possibilidade diz respeito ao caso onde as células não têm um número de animóides fixo. Isso pode ocorrer por dois processos diferentes: (1) pela criação e morte de animóides de uma certa célula ou (2) pela troca de animóides entre duas células vizinhas. O primeiro processo é mais simples de ser implementado e poderia ser usado para a simulação de crescimento de tumores ou tecidos. Já no segundo processo precisar-se-ia estabelecer o mecanismo de troca de vizinhos. Uma alternativa muito interessante seria usar o mesmo critério termodinâmico dos modelos de Potts (Eq. 2.1), nesse caso o modelo de animóides se transformaria em um modelo de Potts Celular definido no espaço contínuo (*off lattice*). Com as duas dinâmicas sobrepostas tal modelo combinaria os pontos mais fortes de ambos, que é a possibilidade de simular processos com movimento coletivo ao mesmo tempo em que as células possuem uma forma e uma tensão superficial bem definida. Tal tipo de modelo também poderia ser usado para a simulação de *coarsening* em espumas.

Porém, tal tipo de generalização enfrentaria dois problemas. Do lado teórico, a combinação de dois processos diferentes (o movimento individual de cada animóide e a troca deles entre as células) seria muito arbitrária, pois haveria não só duas escalas temporais como dois parâmetros de ruído estocásticos. Já do lado prático, o uso de tal modelo seria computacionalmente muito custoso quando comparado aos modelos originais de animóides e de Potts Celular de ponto fixo. Portanto, embora tal proposta se mostre bastante promissora, não terá preferência nos meus trabalhos futuros.

³ *Coarsening*: Fenômeno no qual as bolhas que formam uma espuma trocam de massa/tamanho devido à difusão de gás por suas paredes.

Apêndice A

Escalabilidade

No capítulo 5, foi anunciada a necessidade de se estabelecer algum critério numérico para distinguir as configurações finais de envoltura total da separação de tecidos. Teoricamente, segundo a hipótese da adesão diferenciada, tal critério está bem definido e corresponde às relações dadas nas Eqs. 1.2 e 1.3. Porém na prática, é necessário associar a tal limite algum valor numérico do parâmetro de ordem γ , definido pela Eq. 5.1. Tal valor corresponde ao γ medido em uma situação na qual há a perfeita envoltura de um tecido pelo outro (Fig. A.1). Qualquer valor de γ medido acima desse limite corresponderia então a uma situação na qual os dois tecidos começam a se separar.

O que se fará aqui é calcular analiticamente esse limite em função do número total de animóides N e da fração F entre o número de animóides verdes (*Green*) n_G e o número de animóides vermelhos (*Red*) n_R , que na configuração final ideal envolve o primeiro.

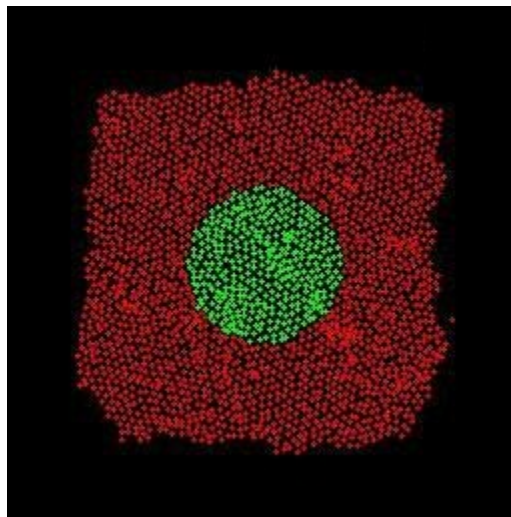


Fig. A.1: *Estrutura alvo.*

Note que na estrutura alvo, os animóides verdes que estão na borda de contato com os animóides vermelhos tem 4 vizinhos iguais e 2 diferentes (Fig. A.2), o que resulta em um valor do parâmetro de ordem local igual a $\gamma=1/3$, o mesmo ocorrendo para os animóides vermelhos nesta borda. Porém isto não ocorre para os animóides vermelhos na borda externa, pois estes, embora também tenham somente 4 vizinhos iguais, não possuem vizinhos diferentes (estão em contato “direto” com o meio), logo eles possuem um valor de $\gamma=1$ assim como os demais animóides que não estão em contato com a borda interna. Então há 4 regiões diferentes para se fazer os cálculos, a região interna verde, a borda verde em contato com a vermelha, a borda vermelha em contato com a verde (que não é necessariamente igual em comprimento à primeira borda) e a região externa vermelha.

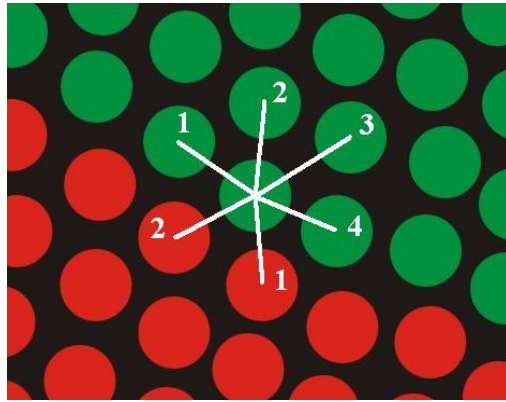


Fig. A.2: Os animóides da borda têm 4 vizinhos iguais e 2 diferentes e possuem γ igual a $(4-2)/6=1/3$.

Portanto para se calcular os parâmetros de ordem do tecido verde (γ_G) e vermelho (γ_R) deve-se descobrir primeiro quantos animóides de cada tecido estão na borda (N_b) e a partir daí deduzir quantos estão localizados internamente nos tecidos (N_{in}). Após isso basta multiplicar essas quantidades pelos seus valores de γ (1/3 e 1 respectivamente), somá-las e, por fim normaliza-las pelo número total de animóides do tipo em questão (n_R ou n_G).

$$\gamma_{G(R)} = \frac{N_{in,G(R)} \cdot 1 + N_{b,G(R)} \cdot 1/3}{n_{G(R)}}, \quad \text{parâmetro de ordem para o tecido verde (vermelho)}$$

Durante a simulação isso é feito automaticamente pelo programa, mas o que se quer aqui é descobrir qual seria o valor ideal de γ para qualquer número de animóides verdes e vermelhos em

qualquer proporção. Para isto há 3 cálculos teóricos possíveis, cada um fazendo uma aproximação diferente por uma linha diferente.

A.1 Primeira aproximação

Nesta primeira aproximação o procedimento é calcular a área ocupada por cada uma das 4 regiões e dividi-las pela área individual de cada animóide de modo a obter quantos animóides há em cada lugar.

Animóides verdes: Para calcular a área interna do tecido verde ($A_{in,G}$) é necessário primeiro saber o raio interno dessa área. Isso é dado pela diferença entre o raio total do tecido verde (R_G) e a espessura da camada externa de animóides que estão em contato com o outro tecido ($2r$):

$$A_{in,G} = \pi(R_G - 2r)^2$$

Por outro lado a área total dos animóides verdes (A_G) pode ser reescrita em termos do número de animóides verdes n_G vezes a área individual de cada um (A_a):

$$A_G = \pi(R_G)^2 = n_G A_a = n_G \pi r^2 \quad \Rightarrow \quad R_G = r\sqrt{n_G}$$

O que leva a:

$$A_{in,G} = \pi(r\sqrt{n_G} - 2r)^2$$

que dividido pela área de cada animóide verde, πr^2 , dá o número de animóides na região interna do agregado:

$$\boxed{N_{in,G} = (\sqrt{n_G} - 2)^2}$$

O cálculo do número de animóides vermelhos na borda é mais simples, bastando subtrair do número de animóides vermelhos totais o último valor:

$$N_{b,G} = n_G - N_{in,G} \quad \Rightarrow \quad \boxed{N_{b,G} = n_G - (\sqrt{n_G} - 2)^2}$$

O que resta fazer agora é somar os dois valores (multiplicados por seus devidos pesos) e dividir tudo pelo número de animóides verdes para achar o valor de γ deste tecido:

$$\begin{aligned} \gamma_G &= \frac{1}{n_G} \left[N_{in,G} + \frac{1}{3} N_{b,G} \right] = \frac{1}{n_G} \left[(\sqrt{n_G} - 2)^2 + \frac{1}{3} n_G - \frac{1}{3} (\sqrt{n_G} - 2)^2 \right] = \\ &= \frac{1}{n_G} \left[\frac{1}{3} n_G + \frac{2}{3} (\sqrt{n_G} - 2)^2 \right] = \frac{1}{3} + \frac{2}{3n_G} (\sqrt{n_G} - 2)^2 \end{aligned}$$

Fazendo agora a substituição de variáveis $\boxed{F = n_G/n_R}$ e $\boxed{N = n_R + n_G}$ obtém-se:

$$\boxed{\gamma_G = \frac{1}{3} + \frac{2(1+F)}{3NF} \left(\sqrt{\frac{NF}{1+F}} - 2 \right)^2}$$

Animóides vermelhos: Os procedimentos aqui seguem a mesma lógica anterior. Para se descobrir o número de animóides vermelhos na borda primeiro calcula-se a área de um círculo cujo raio é R_G (o raio total do tecido verde) mais o diâmetro de um animóide individual ($2r$). Após isso basta subtrair a área dos animóides verdes (ver a Fig. A.1 como referência visual):

$$A_{b,R} = \pi(R_G + 2r)^2 - A_G = \pi(r\sqrt{n_G} + 2r)^2 - n_G\pi \cdot r^2$$

Dividindo pela área de cada animóide individual obtêm-se o número de animóides vermelhos em contato com o tecido verde:

$$\boxed{N_{b,R} = (\sqrt{n_G} + 2)^2 - n_G}$$

O cálculo do número de animóides externos é a simples subtração do número total de animóides vermelhos pelo número de animóides vermelhos da borda:

$$N_{in,R} = n_R - N_{b,G} = n_R - (\sqrt{n_G} + 2)^2 + n_G \quad \Rightarrow \quad \boxed{N_{in,R} = N - (\sqrt{n_G} + 2)^2}$$

Somando os termos com seus respectivos pesos e dividindo pelo número de animóides vermelhos obtêm-se o valor do parâmetro de ordem do tecido vermelho:

$$\begin{aligned} \gamma_R &= \frac{1}{n_R} \left[N_{in,R} + \frac{1}{3} N_{b,R} \right] = \frac{1}{n_R} \left[N - (\sqrt{n_G} + 2)^2 + \frac{1}{3} (\sqrt{n_G} + 2)^2 - \frac{1}{3} n_G \right] = \\ &= \frac{1}{n_R} \left[N - \frac{2}{3} (\sqrt{n_G} + 2)^2 - \frac{1}{3} n_G \right] = \frac{N}{n_R} - \frac{2}{3n_R} (\sqrt{n_G} + 2)^2 - \frac{n_G}{3n_R} \end{aligned}$$

Fazendo a troca de variáveis:

$$\boxed{\gamma_R = 1 + \frac{2F}{3} - \frac{2}{3} \left(\sqrt{F} + 2\sqrt{\frac{1+F}{N}} \right)^2}$$

A.2 Segunda aproximação

O procedimento aqui é parecido com o primeiro, com a diferença de que para as regiões de borda o cálculo do número de animóides está baseado não na área, mas no perímetro ocupado.

Animóides verdes: Como dito acima o número de animóides internos $N_{in,G}$ permanece igual. A diferença é para o número de animóides da borda, que é calculado a partir do perímetro da área formada pelo raio do tecido verde, descontado o raio do animóide que ocupa a última camada. Dividindo-se esse perímetro pelo diâmetro $2r$ de cada animóide obtêm-se o número de animóides na borda de contato:

$$N_{b,G} = \frac{1}{2r} 2\pi(R_G - r) = \frac{1}{2r} 2\pi(r\sqrt{n_G} - r) \quad \Rightarrow \quad \boxed{N_{b,G} = \pi(\sqrt{n_G} - 1)}$$

Somando os termos e normalizando:

$$\begin{aligned}\gamma_G &= \frac{1}{n_G} \left[N_{in,G} + \frac{1}{3} N_{b,G} \right] = \frac{1}{n_G} \left[(\sqrt{n_G} - 2)^2 + \frac{\pi}{3} (\sqrt{n_G} - 1) \right] = \\ &= \frac{1}{n_G} \left[n_G + 4 - 4n_G + \frac{\pi\sqrt{n_G}}{3} - \frac{\pi}{3} \right] = 1 + \left(\frac{1}{n_G} - \frac{1}{\sqrt{n_G}} \right) \left(4 - \frac{\pi}{3} \right)\end{aligned}$$

Substituindo as variáveis:

$$\boxed{\gamma_G = 1 + \left(\frac{1+F}{NF} - \sqrt{\frac{1+F}{NF}} \right) \left(4 - \frac{\pi}{3} \right)}$$

Animóides vermelhos: O número de animóides vermelhos externos é igual ao do primeiro cálculo ($N_{in,R}$), enquanto o número de animóides na borda segue o mesmo procedimento via perímetro feito anteriormente:

$$N_{b,R} = \frac{1}{2r} 2\pi(R_G + r) = \frac{1}{2r} 2\pi(r\sqrt{n_G} + r) \Rightarrow \boxed{N_{b,R} = \pi(\sqrt{n_G} + 1)}$$

Somando e normalizando pelo número total de animóides vermelhos:

$$\begin{aligned}\gamma_R &= \frac{1}{n_R} \left[N_{in,R} + \frac{1}{3} N_{b,R} \right] = \frac{1}{n_R} \left[N - (\sqrt{n_G} + 2)^2 + \frac{\pi}{3} (\sqrt{n_G} + 1) \right] = \\ &= \frac{N}{n_R} - \frac{n_G}{n_R} - \left(\frac{1}{n_R} + \frac{\sqrt{n_G}}{n_R} \right) \left(4 - \frac{\pi}{3} \right)\end{aligned}$$

Por fim, substituindo as variáveis temos:

$$\boxed{\gamma_G = 1 - \left(\frac{1+F}{N} \right) \left(1 + \sqrt{\frac{NF}{1+F}} \right) \left(4 - \frac{\pi}{3} \right)}$$

A.3 Terceira aproximação

Neste último o cálculo é feito a partir da suposição de que os animóides se organizam de forma hexagonal e não circular.

Animóides verdes: Para calcular o número de animóides verdes internos subtraí-se do número total de animóides deste tecido o número de animóides que estão na borda (perímetro) hexagonal do agregado, que é dado por:

$$N_{b,G} = 6(C_G - 1)$$

sendo que C_G é o número de camadas da estrutura hexagonal (contadas a partir do animóide central). Por outro lado, o número de animóides para um hexágono de C camadas é dado por:

$$n = 3R^2 - 3R + 1$$

Assim se deduz que o número de camadas C_G é:

$$C_G = \frac{1}{2} \left(1 + \sqrt{1 - \frac{4}{3}(1 - n_G)} \right)$$

Já o número de animóides internos é dado pela simples subtração do número total de animóides verdes:

$$\boxed{N_{in,G} = n_G - N_{b,G} = n_G - 6C_G + 6}$$

Em relação ao número de animóides internos não há nenhuma problema, pois todos eles possuem a mesma proporção de vizinhos iguais e diferentes (no caso todos os vizinhos são do mesmo tipo). Porém isso já não é verdade para os animóides da borda, pois os 6 que estão nos vértices têm mais vizinhos diferentes (e menos iguais) do que os outros, logo suas contribuições ao parâmetro de ordem γ não podem ser iguais a $1/3$. Como eles têm o mesmo número de vizinhos iguais e diferentes suas contribuições são nulas. Assim sendo, esses animóides que estão no

vértice da estrutura hexagonal podem ser ignorados, o que leva a um número efetivo de animóides verdes na borda de:

$$\boxed{N_{b,G}^* = N_{b,G} - 6 = 6C_G - 12}$$

Juntando tudo agora com os seus respectivos pesos e normalizando:

$$\begin{aligned} \gamma_G &= \frac{1}{n_G} \left[N_{in,G} + \frac{1}{3} N_{b,G}^* \right] = \frac{1}{n_G} \left[n_G - 6C_G + 6 + \frac{1}{3} (6C_G - 12) \right] = \frac{1}{n_G} [n_G - 4C_G + 2] \\ &= 1 - 2 \frac{2C_G - 1}{n_G} = 1 - \frac{2}{\sqrt{3}} \frac{\sqrt{4n_G - 1}}{n_G} \end{aligned}$$

Trocando as variáveis:

$$\boxed{\gamma_R = 1 - 2 \sqrt{\frac{1+F}{3NF}} \sqrt{4 - \frac{1+F}{NF}}}$$

Animóides vermelhos: De maneira semelhante ao último cálculo, o número de animóides vermelhos na borda será calculado com base no número de camadas da estrutura hexagonal do tecido verde mais 1:

$$N_{b,R} = 6(C_G + 1 - 1) = 6C_G$$

E assim como no caso anterior, os 6 animóides localizados no vértice têm uma contribuição para γ diferente de $1/3$. Como o número de vizinhos iguais é 5 e o número de vizinhos diferentes é 1, suas contribuições para o parâmetro de ordem é de $2/3$. Como seus valores de γ são o dobro dos demais, o número efetivo de animóides vermelhos na borda pode ser pensado como:

$$\boxed{N_{b,R}^* = N_{b,R} + 6 = 6C_R + 6 = 6(C_R + 1)}$$

O número de animóides que não estão na borda é dado pelo número total de animóides vermelhos menos a sua quantidade presente na borda (a contagem normal e não a efetiva).

$$\boxed{N_{in,R} = n_R - N_{b,R} = n_R - 6C_G}$$

Mais uma vez deve somar-se as duas contribuições com os seus respectivos pesos e normaliza-los pelo número de animóides vermelhos para se obter o valor de γ :

$$\begin{aligned} \gamma_R &= \frac{1}{n_R} \left[N_{in,R} + \frac{1}{3} N_{b,R}^* \right] = \frac{1}{n_R} \left[n_R - 6C_G + \frac{1}{3} 6(C_G + 1) \right] = \frac{1}{n_R} [n_R + 2 - 4C_G] \\ &= 1 + \frac{2}{n_R} - \frac{4C_G}{n_R} \end{aligned}$$

Fazendo a substituição das variáveis:

$$\boxed{\gamma_R = 1 - 2\sqrt{\frac{1+F}{N} - \frac{4}{3}\left(\frac{1+F}{N}\right)^2}}$$

A.4 Aplicação numérica

Para os casos explorados no capítulo 5, em que $F=1/3$ e $N=2.400$ animóides, as 3 aproximações dão, respectivamente, os seguintes resultados:

1^a: $\gamma_G=0,895578$ $\gamma_R=0,962230$

2^a: $\gamma_G=0,884372$ $\gamma_R=0,958177$

3^a: $\gamma_G=0,905739$ $\gamma_R=0,952877$

Referências

- [1] SCHRÖDINGER, E. *O que é vida?*; São Paulo: Editora UNESP, 1977.
- [2] THOMPSON, D. W. *On growth and form*; Mineola: Dover Publications, June, 1992.
- [3] TURING, A. M. The chemical basis of morphogenesis, *Phil. Trans. Roy. Soc. London*, v. B 237, p. 37-72, 1952.
- [4] SICK, S.; REINKER, S.; TIMMER, J.; SCHLAKE, T. WNT and DKK determine hair follicle spacing through a reaction-diffusion mechanism, *Science*, v. 314, p. 1447-1450, 2006.
- [5] RATCLIFF, M. J. Abraham Trembley's strategy of generosity and the scope of celebrity in the mid-eighteenth century, *Isis*, v. 95, p. 555-575, 2004.
- [6] LENHOFF, S. G.; LENHOFF, H. M. *Hydra and the birth of experimental biology-1744*; Pacific Grove: The Boxwood Press, Nov. 1986.
- [7] OKADA, T. S. A brief history of regeneration research: For admiring professor Niazi's discovery of the effect of vitamin A on regeneration, *J. Biosci.*, v. 21, p. 261-271, 1996.
- [8] SCHIEFFERDECKER, P. Methode zur Isolierung von Epithelzellen, *Z. Wiss. Mikr.*, v. 3, p. 483-484, 1886.
- [9] WILSON, H. V. On some phenomena of coalescence and regeneration in sponges, *J. Exp. Zool.*, v. 5, p. 245-258, 1907.

- [10] MOMBACH, J. C. M.; GLAZIER, J. A.; RAPHAEL, R. C.; ZAJAC, M. Quantitative comparison between differential adhesion models and cell sorting in the presence and absence of fluctuations, *Phys. Rev. Lett.*, vol. 75, p. 2244-2247, 1995.
- [11] WILSON, H. V.; PENNEY, J. T. The regeneration of sponges (microciona) from dissociated cells, *J. Exp. Zool.*, v. 56, p. 73-147, 1930.
- [12] HUXLEY, J. S. Some Phenomena of Regeneration in Sycon, *Phil. Trans. Roy. Soc. London*; v. B 202, p. 165-189, 1911.
- [13] GALTISOFF, P. S. Regeneration after dissociation (an experimental study of sponges), *J. Exp. Zool.*; v. 42, p. 183-255, 1925.
- [14] BRØNSTED, H. V. Entwicklungsphysiologische Studien ilber Spongilla lacustris, *Acta Zool. Stockholm*, v. 17, p. 75-172, 1936.
- [15] HOLTFRETER, J. Experimental studies on the development of the pronephros, *Rev. Can. Bio.*, v. 3, p. 220-250, 1944.
- [16] HOLTFRETER, J. Gewebeaffinität, ein Mittel der embryonal Formbildung, *Arch. Exp. Zellforsch. Gewebezucht*, v. 23, p. 169-209, 1939.
- [17] WEISS, P. Nerve patterns: the mechanics of nerve growth, *Growth*, v. 5 (suplemento), p. 163-203, 1941.
- [18] WEISS, P. The problem of specificity in growth and development, *Yale J. Biol. Med.*, v. 25, p. 177-198, 1947.
- [19] TOWNES, P. L.; HOLTFRETER, J. Directed movements and selective adhesion of embryonic amphibian cells, *J. Exp. Zool.*; v. 128, p. 53-120, 1955.
- [20] CURTIS, A. S. G. Cell contacts: some physical considerations, *Am. Nat.*, v. 94, p. 37-56, 1960.

- [21] MOSCONA, A. Patterns and mechanism of tissue reconstruction from dissociated cells. Em: *Developing cell systems and their control*, XVII Growth Symposium, p. 45-70, New York: Ronald Press, 1960.
- [22] MOSCONA, A.; HAUSMAN, R. E. Biological and biochemical studies on embryonic cell-cell recognition. Em: *Cell and tissue interactions*, New York: Raven Press, 1977.
- [23] HOLTFRETER, J. Cellular affinity. Em: *McGraw-Hill Yearbook of science and technology*, p. 143, New York: McGraw-Hill, 1966.
- [24] STEINBERG, M. S. Reconstruction of tissues by dissociated cells; *Science*, v. 141, p. 401-408, 1963.
- [25] CURTIS, A. S. G. Timing mechanism in the specific adhesion of cells, *Exp. Cel Res.*, Suplemento 8, p. 107-122, 1961.
- [26] HARRIS, A. K. Is cell sorting caused by differences in the work of intercellular adhesion? A critique of the Steinberg hypothesis, *J. Theor. Biol.*, v. 61, p. 267-285, 1976.
- [27] BRODLAND, G. W. The differential interfacial hypothesis (DITH): A comprehensive theory for the self-arrangement of embryonic cells and tissues, *J. Biomech. Eng.*, v. 124, p. 188-197, 2002.
- [28] JONES, B. M.; EVANS, P. M.; LEE, D. A. Relation between the rate of cell movement under agarose and the positioning of cells in heterotypic aggregates, *Exp. Cel Res.*, v. 180, p. 287-296, 1989.
- [29] BEYSENS, D. A.; FORGACS, G.; GLAZIER, J. A. Cell sorting is analogous to phase ordering in fluids, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 97, p. 9467-9471, 2000.
- [30] FOTY, A.; STEINBERG, M. S. The differential adhesion hypothesis: a direct evaluation, *Dev. Biol.*, v. 278, p. 255-263, 2004.

- [31] STEINBERG, M. S. Adhesion in development: an historical overview, *Dev. Biol.*, v. 180, p. 377-388, 1996.
- [32] STEINBERG, M. S. Does differential adhesion govern self-assembly processes in histogenesis? Equilibrium configurations and the emergence of a hierarchy among populations of embryonic cells, *J. Exp. Zool.*, v. 173, p. 395-434, 1970.
- [33] FOTY, A.; PFLEGER, C. M.; FORGACS, G.; STEINBERG, M. S. Surface tensions of embryonic tissues predict their mutual envelopment behavior, *Development*, v. 122, p. 1611-1620, 1996.
- [34] MOSCONA, A. Cell suspensions from organ rudiments of chick embryos, *Exp. Cell Res.*, v. 3, p. 535-539, 1952.
- [35] MOSCONA, A.; MOSCONA, H. Dissociation and aggregation of cells from organ rudiments of the early chick embryo, *J. Anat.*, v. 86, p. 287-301, 1952.
- [36] ZWILLING, E. Dissociation of chick embryo cells by means of a chelating compound, *Science*, v. 120, p. 219, 1954.
- [37] von RECKLINGHAUSEN, F. *Die Lymphgefasse und ihre Beziehung zum Bindegewebe*, Berlin: August Hirschwald, 1862.
- [38] BAITSELL, G. A. On the origin of the connective-tissue ground substance in the chick embryo, *Q. J. Microsc. Sci.*, v. 69, p. 571-590, 1925.
- [39] WEISS, P. Functional adaptation and the role of ground substances in development, *Am. Natl.*, v. 67, p. 322-340, 1933.
- [40] GROBSTEIN, C. Tissue interaction in the morphogenesis of mouse embryonic rudiments *in vitro*. Em: *Aspects of synthesis and order in growth*, XIII Growth Symposium, p. 233-268, Princeton: Princeton Univ. Pres, New Jersey, 1954.

- [41] RINALDINI, L. M. J. The isolation of living cells from animal tissues, *Int. Rev. Cytol.*, v. 7, p. 587-647, 1958.
- [42] BEUG, H.; KATZ, F. E.; GERISCH, G. Dynamics of antigenic membrane sites relating to cell aggregation in *Dictyostelium discoideum*, *J. Cell Biol.*, v. 56, p. 647-658, 1973.
- [43] RINGER, S. Concerning experiments to test the influence of lime, sodium and potassium salts on the development of ova ad growth tadpoles, *J. Physiol.*, v. 11, p. 79-84, 1890.
- [44] HERBST, C. Über das Auseinandergehen von Furchungs und Gewebezellen in kalkfreien Medium, *Arch. f. Ent.-Mech.*, v. 9, p. 424-463, 1900.
- [45] SCHMITT, F. O. Some protein patterns in cells, *Growth*, v. 5 (suplemento), p. 1-20, 1941.
- [46] CURTIS, A. S. G. The role of calcium in cell aggregation of *Xenopus* embryos, *Proc. R. Phys. Soc. Edinburgh*, v. 26, p. 25-32, 1957.
- [47] WEISS, P. Studies on cellular adhesion in tissue culture. III. Some effects of calcium, *Exp. Cell Res.*, v. 21, p. 71-77, 1960.
- [48] GRAY, J. The properties of an intercellular matrix and its relation to electrolytes, *Br. J. Exp. Biol.*, v. 3, p. 167-187, 1926.
- [49] TAKEICHI, M. Functional correlation between cell adhesive properties and some cell surface proteins, *J. Cell Biol.*, v. 75, p. 464-474, 1977.
- [50] COMAN, D. R. Cellular adhesiveness in relation to the invasiveness of cancer: electron microscopy of liver perfused with a chelating agent, *Cancer Res.*, v. 14, p. 519-521, 1954.
- [51] STEINBERG, M. S. On the chemical bonds between animal cells. A mechanism for type-specific association, *Am. Nat.*, v. 92, p. 65-82, 1958.
- [52] deHAAN, R. L. Cell migration and morphogenetic movements. Em: *A symposium on the chemical basis of development*, p. 339-374, Baltimore: Johns Hopkins Press, 1958.

- [53] BANGHAM, A. D.; PETHICA, B. A. The adhesiveness of cells and the nature of the chemical groups at their surfaces, *Proc. R. Phys. Soc. Edinburgh*, v. 28, p. 43-50, 1959.
- [54] RUTISHAUSER, U.; THIERY, J. -P.; BRACKENBURY, R.; SELA, B. -A.; EDELMAN, G. M. Mechanisms of adhesion among cells from neural tissues of the chick embryo, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 73, p. 577-581, 1976.
- [55] BRACKENBURY, R.; THIERY, J. -P.; RUTISHAUSER, U.; EDELMAN, G. M. Adhesion among neural cells of the chick embryo. I. An immunological assay for molecules involved in cell-cell binding, *J. Biol. Chem.*, v. 252, p. 6835-6840, 1977.
- [56] THIERY, J. -P.; BRACKENBURY, R.; RUTISHAUSER, U.; EDELMAN, G. M. Adhesion among neural cells of the chick embryo. II. Purification and characterization of a cell adhesion molecule, *J. Biol. Chem.*, v. 252, p. 6841-6845, 1977.
- [57] RUTISHAUSER, U.; THIERY, J. -P.; BRACKENBURY, R.; EDELMAN, G. M. Adhesion among neural cells of the chick embryo. III. Relationship of the surface molecule CAM to the cell adhesion and the development of histotypic patterns, *J. Cell Biol.*, v. 79, p. 371-381, 1977.
- [58] GERISH, G.; MÜLLER, K. A specific glycoprotein as the target site of adhesion blocking Fab in aggregating Dictyostelium cells, *Nature*, v. 274, p. 445-449, 1978.
- [59] URUSHIHARA, H.; TAKEICHI, M. Cell-cell adhesion molecule: identification of a glycoprotein relevant to the Ca²⁺-independent of aggregation of Chinese hamster fibroblast, *Cell*, v. 20, p. 363-371, 1980.
- [60] HYAFIL, F.; MORELLO, D.; BABINET, C.; JACOB, F. A cell surface glycoprotein involved in the compaction of embryonal carcinoma cells and cleavage stage embryos, *Cell*, v. 21, p. 927-934, 1980.

- [61] GRUNWALD, G. B.; PRATT, R. S.; LILIEN, J. Enzymatic dissection of embryonic cell adhesion mechanisms. III. Immunological identification of a component of the calcium-dependent adhesive system of embryonic chick neural retina cells, *J. Cell Sci.*, v. 55, p. 69-83, 1982.
- [62] DAMSKY C. H.; RICHA, J.; SOLTER, D.; KNUDSEN, K.; BUCK C. A. Identification and purification of a cell surface glycoprotein mediating intercellular adhesion in embryonic and adult tissue, *Cell*, v. 34, p. 455-466, 1983.
- [63] VOLK, T.; GEIGER, B. A 135-kd membrane protein of intercellular adherens junctions, *J. Cell Biol.*, v. 101, p. 1307-1315, 1984.
- [64] YOSHIDA, C.; TAKEICHI, M. Teratocarcinoma cell adhesion: Identification of a cell-surface protein involved in calcium-dependent cell aggregation, *Cell*, v. 28, p. 217-224, 1982.
- [65] TAKEICHI, M. The cadherins: cell-cell adhesion molecules controlling animal morphogenesis, *Development*, v. 102, p. 639-655, 1988.
- [66] SIPP, D. Discovery and characterization of the cadherin family: an interview with Masatoshi Takeichi, *Int. J. Dev. Biol.*, v. 48, 387-396, 2004.
- [67] TOZEREM, A.; BYERS, S. W. *New biology for engineers and computers scientists*, Upper Saddle River: Prentice Hall, april, 2003.
- [68] BOLLER, K.; VESTWEBER, D.; KEMLER, R. Cell adhesion molecule uvomorulin is localized in the intermediate junctions of adult intestinal epithelial cells, *J. Cell Biol.*, v. 100, p. 327-332, 1985.
- [69] VOLK, T.; GEIGER, B. A-CAM: a 135kd receptor of intercellular adherens junctions, *J. Cell Biol.*, v. 103, p. 1441-1464, 1986.

- [70] HIRANO, S.; NOSE, A.; HATTA, K.; KAWAKAMI, A.; TAKEICHI, M. Calcium-dependent cell-cell adhesion molecules (cadherins): sub-class specificities and possible involvement of actin bundles, *J. Cell Biol.*, v. 105, p. 2501-2510, 1987.
- [71] TAKEICHI, M.; ATSUMI, T.; YOSHIDA, C.; UNO, K.; OKADA, T. S. Selective adhesion of embryonal carcinoma cells and differentiated cells by Ca^{2+} -dependent sites, *Dev. Biol.*, v. 87, p. 340-350, 1981.
- [72] VOLK, T.; COHEN, O.; GEIGER, B. Formation of heterotypic adherens-type junctions between L-CAM-containing liver cells and A-CAM-containing lens cells, *Cell*, v. 50, p. 987-994, 1987.
- [73] DUGUAY, D.; FOTY, R. A.; STEINBERG, M. S. Cadherin-mediated cell adhesion and tissue segregation: qualitative and quantitative determinants, *Dev. Biol.*, v. 253, p. 309-323, 2003.
- [74] STEINBERG, M. S.; TAKEICHI, M. Experimental specification of cell sorting, tissue spreading and specific spatial patterning by quantitative differences in cadherin expression, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 91, p. 206-209, 1994.
- [75] RIEU, J. -P.; UPADHYAYA, A.; GLAZIER, J. A.; OUCHI, N. B.; SAWADA, Y. Diffusion and deformations of single hydra cells in cellular aggregates, *Biophys. J.*, v. 79, p. 1903-1914, 2000.
- [76] RIEU, J. -P.; SAWADA, Y. Hydrodynamics and cell motion during the rounding of two dimensional hydra cell aggregates, *European Phys. J. B*, v. 27, p. 167-172, 2002.
- [77] MURRAY, J. D.; MYERSCOUGH, M. R. Pigmentation pattern formation on snakes, *J. Theor. Biol.*, v. 149, p. 339-360, 1991.
- [78] GOEL, N.; CAMPBELL, R.; GORDON, R.; ROSEN, R.; MARTINEZ, H.; YČAS, M. Self-sorting of isotropic cells, *J. Theor. Biol.*, v. 28, p. 423-468, 1970.

- [79] LEITH, A.; GOEL, N. Simulation of movement of cells during self-sorting, *J. Theor. Biol.*, v. 33, p. 171-188, 1971.
- [80] GOEL, N.; LEITH, A. Self-sorting of anisotropic cells, *J. Theor. Biol.*, v. 28, p. 469-482, 1970.
- [81] ANTONELLI, P.; ROGERS, T.; WILLARD, M. Cell aggregation kinetics, *J. Theor. Biol.*, v. 41, p. 1-21, 1973.
- [82] GOEL, N.; ROGERS, G. Computer simulation of engulfment and other movements of embryonic tissues, *J. Theor. Biol.*, v. 71, p. 103-140, 1978.
- [83] AGARWAL, P. Cellular segregation and engulfment simulations using the CPL, *J. Theor. Biol.*, v. 176, p. 79-89, 1995.
- [84] AGARWAL, P. Cell-Based Computer Models in Developmental Biology; 1993; 108 f., thesis (Doctor of Philosophy) - New York University, New York, sep. 1993.
- [85] GRANER, F.; GLAZIER, J. Simulation of biological cell sorting using a two-dimensional extended potts model; *Phys. Rev. Lett.*, v. 69, p. 2013-2016, 1992.
- [86] WEJCHERT, J.; WEAIRE, D.; KERMODE, J. P.; Monte Carlo simulation of the evolution of a two-dimensional soap froth, *Phil. Mag. B*, v. 53, p. 15-24, 1986.
- [87] SAHNI, P. S.; GREY, G. S.; ANDERSON, M. P.; SROLOVITZ, D. S. Kinetics of the Q-state Potts model in two-dimensions, *Phys. Rev. Lett.*, v. 50, p. 263-266, 1983.
- [88] MATELA, R.; FLETTERICK, R. A topological exchange model for cell self-sorting, *J. Theor. Biol.*, v. 76, p. 406-414, 1979.
- [89] LANTIN, M. A. Computer simulations of developmental process; 1999; 31 f., thesis (Doctor of Philosophy) - Simon Fraser University, Burnaby, april 1999.

- [90] MATELA, R.; FLETTERICK, R. Computer simulation of cellular self-sorting: a topological exchange model, *J. Theor. Biol.*, v. 84, p. 673-690, 1980.
- [91] DUVDEVANI-BAR, S.; SEGEL, L. On topological simulations in developmental biology, *J. Theor. Biol.*, v. 131, p. 33-42, 1988.
- [92] SULSKY, D.; CHILDRESS, S.; PERCUS, J. A model of cell sorting, *J. Theor. Biol.*, v. 103, p. 275-301, 1984.
- [93] HONDA, H. Description of cellular pattern by Dirichlet domains: the two-dimensional case, *J. Theor. Biol.*, v. 72, p. 523-543, 1978.
- [94] VORONOI, G. F. Nouvelles applications des paramètres continus à la théorie des formes quadratiques, *Journal für die Reine und Angewandte Mathematik*, v. 133, p. 97-178, 1907.
- [95] WELILY, M.; OSTER, G. The mechanical basis of cell rearrangement. I. Epithelial morphogenesis during *fundulus* epiboly, *Development*, v. 109, p. 373-386, 1990.
- [96] BRAKKE, K. A. The surface evolver, *Experimental Mathematics*, v. 1, p. 141-165, 1992.
- [97] BEZEM, J. J.; RAVEN, C. P. Computer simulation of early embryonic development, *J. Theor. Biol.*, v. 57, p. 47-61, 1975.
- [98] ODELL, G. M.; OSTER, G.; ALBERCH, P.; BURNSIDE B. The mechanical basis of morphogenesis. I. Epithelial folding and invagination, *Dev. Biol.*, v. 85, p. 446-462, 1981.
- [99] BODENSTEIN, L. A dynamic simulation model of tissue growth and cell patterning, *Cell Differentiation*, v. 19, p. 14-33, 1986.
- [100] FLEISCHER, K.; BARR, A. H. A simulation testbed for the study of multicellular development: the multiple mechanisms of morphogenesis. Em: *Artificial life XVII*, p. 384-415, Santa Fé: Addison-Wesley, Jun. 1992.

- [101] LYNDENMAYER, A.; ROZENBERG, G. Parallel generation of maps: developmental system for cell layers. Em: *Graph grammars and their application in computer science*, p. 301-316, Berlin: Springer-Verlag, 1979.
- [102] LÜCK, J.; LÜCK, H. B. Generation of 3-dimensional plant bodies by double wall map and stereomap systems. Em: *Graph grammars and their application in computer science*, p. 219-231, Berlin: Springer-Verlag, 1983.
- [103] LYNDENMAYER, A. Models for plant tissue development with cell division orientation regulated by preprophase band of microtubules, *Differentiation*, v. 26, p. 1-10, 1984.
- [104] NAKAMURA, A.; LYNDENMAYER, A.; AIZAWA, K. Some systems for map generation. Em: *The book of L*, p. 323-332, Berlin: Springer-Verlag, 1986.
- [105] REYNOLDS, C. W. Flocks, herds, and schools: a distributed behavioral model. Em: *Computer Graphics*, 21(4) (SIGGRAPH '87 Conference Proceedings), p. 25-34, 1987.
- [106] VICSEK, T.; CZIRÓK, A.; BEN-JACOB, E.; COHEN, I.; SCHOCHET, O. Novel type of phase transition in a system of self-driven particles, *Phys. Rev. Lett.*, v. 75, p. 1226-1229, 1995.
- [107] GRÉGOIRE, G. Mouvement collectif et physique hors d'équilibre; 2002; 181 p., thèse (Docteur de l' Université Paris 7) - Université Paris 7, Paris, 2002.
- [108] GRÉGOIRE, G.; CHATÉ, H. Onset of collective and cohesive motion, *Phys. Rev. Lett.*, v. 92, p. 25702-25705, 2002.
- [109] GRÉGOIRE, G.; CHATÉ, H.; TU, Y. Moving and staying together without a leader, *Physica D*, v. 181, p. 157-170, 2003.
- [110] ALBRECHT-BUEHLER, G. A long-range attraction between aggregating 3T3 cells mediated by near-infrared light scattering, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v. 102, p. 5050-5055, 2005.

- [111] GINGELL, D.; I. TODD, I.; PARSEGIAN, V. A. Long-range attraction between red cells and a hydrocarbon surface, *Nature*, v. 268, p. 767-769, 1977.
- [112] GOLDSTEIN, M. Viscous liquid and the glass transition: A potential energy barrier picture, *J. Chem. Phys.*, v. 51, p. 3728-3739, 1969.
- [113] WEEKS, E. R.; WEITZ, D. A. Properties of cage rearrangements observed near the colloidal glass transition, *Phys. Rev. Lett.*, v. 89, p. 95704-95707, 2002.
- [114] WU, X.-L.; LIBCHABER, A. Particle diffusion in a quasi-two-dimensional bacterial bath, *Phys. Rev. Lett.*, v. 84, p. 3017-3020, 2000.
- [115] GRÉGOIRE, G.; CHATÉ, H.; TU, Y. Active and passive particles: Modelling beads in a bacterial flow, *Physical Review E*, v. 64, p. 11902-11909, 2001.
- [116] MARQUEE, J. A.; ROSS, J. Kinetics of phase transitions: theory of Ostwald ripening, *J. Chem. Phys.*, v. 79, p. 373-378, 1983.
- [117] FAMILY, F.; VICSEK, T. Scaling of the active zone in the Eden process on percolation networks and the ballistic deposition model, *J. Phys. A*, v. 18, p. 75-18, 1985.
- [118] PEREIRA, A. C. S. Medidas reológicas em agregados celulares; 2006; 91 f., dissertação (Mestre em Física) – UFRGS, Porto Alegre, Brasil, jul. 2006.
- [119] MOMBACH, J. C. M.; GLAZIER, J. A. Single cell motion in aggregates of embryonic cells, *Phys. Rev. Lett.*, v. 76, p. 3032-3035, 1996.
- [120] GRIENEISEN, V. A. Estudo do estabelecimento de configurações em estruturas celulares; 2004; 173 f., dissertação (Mestre em Física) – UFRGS, Porto Alegre, Brasil, nov. 2004.