



Walisson da Silva Soares

Impacto da Doença de Alzheimer sobre Diferentes Topologias de Astrócitos em um Sistema de Comunicação Molecular

João Pessoa – PB

Junho/2020



Walisson da Silva Soares

Impacto da Doença de Alzheimer sobre Diferentes Topologias de Astrócitos em um Sistema de Comunicação Molecular

Dissertação de Mestrado submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica do Instituto Federal da Paraíba, como requisito necessário para a obtenção do grau de Mestre em Ciências no Domínio da Engenharia Elétrica.

Área de Concentração: Processamento de Sinais.

Carlos Danilo Miranda Regis, Prof. Dr.

Orientador

Michael Taynman Barros, D.Sc.

Coorientador

João Pessoa - PB, Junho de 2020

© Walisson da Silva Soares – walissonsilva10@gmail.com

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Biblioteca Nilo Peçanha do IFPB, *campus* João Pessoa

S676i

Soares, Wallisson da Silva.

Impacto da doença de *Alzheimer* sobre diferentes topologias de astrócitos em um sistema de comunicação molecular / Wallisson da Silva Soares. – 2020.

98 f. : il.

Dissertação (Mestrado – Engenharia Elétrica) – Instituto Federal de Educação da Paraíba / Programa de Pós-Graduação em Engenharia Elétrica (PPGEE), 2020.

Orientador : Prof. D.r Carlos Danilo Miranda Regis.

Coorientador : Prof. D.Sc Michael Taynnan Barros.

1.Sistema nervoso - doença de *Alzheimer*. 2. Comunicação molecular. 3. Engenharia de comunicação. 4. Nanoredes. I. Título.

CDU 612.8:621.391(043)

Lucrecia Camilo de Lima
Bibliotecária – CRB 15/132

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da Paraíba
Programa de Pós Graduação em Engenharia Elétrica

Impacto da Doença de Alzheimer sobre Diferentes Topologias de Astrócitos em um Sistema de Comunicação Molecular

Walisson da Silva Soares

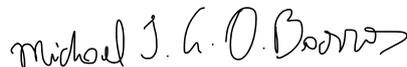
Dissertação de Mestrado defendida e aprovada em 12 / 06 / 2020 .

Banca examinadora:



Prof. Carlos Danilo Miranda Regis, D.Sc.

Orientador (IFPB)



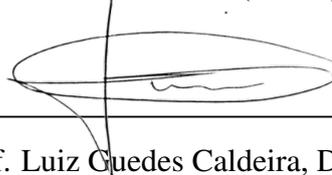
Michael Taynnan Barros, D.Sc.

Coorientador (Tampere University)



Prof. Waslon Terllizzie Araújo Lopes, D.Sc.

Membro da Banca (UFPB)



Prof. Luiz Guedes Caldeira, D.Sc.

Membro da Banca (IFPB)

João Pessoa, Paraíba, Brasil

12 de Junho de 2020

©Walisson da Silva Soares

Agradecimentos

- ▣ Em primeiro lugar, gostaria de agradecer a Deus. Foi Ele quem me deu a vida e as condições necessárias para que eu chegasse aqui. Sem Ele eu jamais teria adquirido o conhecimento necessário para o desenvolvimento desse trabalho. Sem Ele eu nada seria, logo, não teria chegado ao término dessa etapa da minha vida. Sem Ele eu jamais teria a perspectiva de futuro que hoje tenho. Sem Deus não teria conhecido as pessoas incríveis que citarei em seguida. Devo tudo, primeiramente, a Ele, o criador de todas as coisas, inclusive, o criador dos astrócitos e de todo o processo de sinalização de cálcio. Portanto, a Ele seja toda a glória!
- ▣ Agradeço à minha incrível esposa, o amor da minha vida, a melhor companheira e amiga que eu poderia ter ao meu lado. Você merece páginas de agradecimento! Seus ouvidos sempre estiveram disponíveis para ouvir meus conflitos e as minhas preocupações, assim como os seus lábios sempre estiveram aptos para pronunciar palavras de sabedoria, conforto e paz; o que é, na minha perspectiva, uma prova clara do seu amor por mim. Obrigado por acreditar mais em mim do que eu mesmo. Nesses dois anos, você sempre me deu o incentivo que eu precisava, me fez acreditar que eu era capaz, me incentivou a arriscar, a ir onde eu achava que era impossível; me fez lembrar que para Deus não há impossível, porque Ele é Aquele que me capacita e que tem um plano perfeito para mim... Para nós. Eu te agradeço imensamente pelo o que você faz por mim, todos os dias; sou grato por quem você é, e por quem você tem me ajudado a ser. Sei que isso é apenas o começo; iremos muito além juntos, nesse novo ciclo da nossa vida. Amo muito você, e continuarei te amando intensamente!
- ▣ Agradeço aos meus pais por todo o apoio ao longo de toda a minha trajetória. Foram vocês que me instruíram a seguir o caminho da vida e a amar a Palavra de Deus. Vocês que também me ensinaram a ser disciplinado e a buscar com empenho todos os meus sonhos. Vocês dedicaram a vida de vocês para me oferecerem sempre o melhor; eu reconheço isso e espero lhes retribuir ao longo de toda a vida.

-
- ▣ Ao meu professor e orientador, Danilo Regis, pelos ensinamentos, pelos conselhos, pelo apoio, por acreditar em mim e confiar esse trabalho em minhas mãos. Obrigado pelo amigo que você tem sido para mim, desde que nos conhecemos. Obrigado por me incentivar, me ajudar a enxergar a importância dessa pesquisa. Obrigado pela paciência, pela compreensão, mas também pelas chamadas de atenção para manter o foco. Agradeço por me incentivar a ir além.
 - ▣ A Michael Barros, por estar sempre disponível para me ajudar e por toda a contribuição na construção desse trabalho, com suas ideias, correções, sugestões, comentários e suporte. Por sempre me incentivar, me ajudar a entender a importância dessa pesquisa e acreditar no meu potencial, mesmo quando eu pensei em desistir.
 - ▣ À banca examinadora do meu trabalho, por aceitarem avaliar este trabalho, de forma a compartilhar os seus conhecimentos e acrescentar mais valor a este trabalho;
 - ▣ Aos meus amigos do GPDS, em especial, José Raimundo, Ittalo, Tainá, Rafael e José Anderson. Todos vocês tiveram um papel decisivo na minha vida nesses dois anos. Obrigado pelos momentos de diversão, mas também de incentivo, de frases de (des)motivação. Vocês me ajudaram a chegar aqui e sempre acreditaram que eu poderia ir além. Vocês são grandes amigos, grandes profissionais e sei que vocês também vão longe.
 - ▣ A todo o corpo docente do IFPB. Serei eternamente grato pela excelente formação acadêmica e profissional que me ofereceram. Um conjunto admirável de profissionais, cujos exemplos irei carregar para a minha vida.

“Strength is not born from strength. Strength can be born just from weakness. So be glad of your weakness now, they are the beginnings of your strength.”

Dr. Claire Weekes

“But he said to me, “My grace is sufficient for you, for my power is made perfect in weakness.” Therefore I will boast all the more gladly about my weaknesses, so that Christ’s power may rest on me.”

2 Corinthians 12.9, NIV

Resumo

A Internet das Bio Nano-Coisas é um novo paradigma que visa proporcionar novas técnicas remotamente controladas de detecção e atuação dentro do corpo humano. Para o desenvolvimento desse paradigma, é necessário que sejam modelados e investigados modelos capazes de conduzir a uma melhor compreensão e uma detecção precoce de doenças. A doença de Alzheimer é uma doença neurodegenerativa crônica que causa perda de memória e não tem cura, sendo desenvolvida pelo acúmulo de placas do peptídeo β -amilóide. Essa doença causa sérios danos em neurônios e também em células da glia, como os astrócitos. Por esse motivo, o presente trabalho investiga o efeito das placas de β -amilóide em astrócitos com doença de Alzheimer. Para tal, foi desenvolvido um modelo computacional para a simulação de um sistema de comunicação molecular baseado na sinalização de Ca^{2+} , composto de astrócitos saudáveis e, também, de astrócitos acometidos pela Doença de Alzheimer. O simulador foi construído a partir de modelos matemáticos concebidos por meio de resultados experimentais, os quais levam em consideração a dinâmica intracelular do astrócito, a dinâmica do IP_3 , as junções comunicantes, os canais de cálcio controlados por tensão e o volume dos astrócitos. O simulador implementado também leva em consideração as diferentes topologias de redes de astrócitos, incluindo a rede de Grau Regular, rede de Raio de Ligação, rede de Atalho e a rede Erdős-Rényi. Um resolvidor estocástico proposto em várias escalas captura a relação entre as reações intracelulares e intercelulares. Com isso, foram avaliadas algumas métricas que são capazes de avaliar o desempenho deste sistema de comunicação, a saber, a extensão de propagação, o atraso molecular, o ganho de canal, a capacidade do canal e o ruído da comunicação. Os resultados revelam que as oscilações mais instáveis, mas ao mesmo tempo mais baixas, das redes de astrócitos sob a influência da Doença de Alzheimer podem criar um efeito em várias escalas na comunicação entre astrócitos como maior atraso molecular, maior ruído na comunicação, menor ganho de canal e menor capacidade de canal em comparação com astrócitos saudáveis.

Palavras-Chave: Comunicações Moleculares, Doença de Alzheimer, Nanorredes, Engenharia de Comunicação.

Abstract

The Internet of Bio-Nano-Things is a new paradigm that can bring novel techniques of detecting and acting remotely controlled within the human body. For the development of this paradigm, it is necessary investigate models capable of leading to a better understanding and an early detection of diseases and then develop it. Alzheimer's disease is a chronic neurodegenerative disease that causes memory loss and has no cure, being developed by the accumulation of plaques of the β -amyloid peptide. This disease causes serious damage to neurons and also to glial cells, such as astrocytes. For this reason, the present work investigates the effect of β -amyloid plaques on astrocytes with Alzheimer's disease. To this end, a computational model was developed for the simulation of a molecular communication system based on Ca^{2+} signaling, composed of healthy astrocytes and, also, of astrocytes affected by Alzheimer's Disease. The simulator was built from mathematical models designed by means of experimental results, which take into consideration the intracellular dynamics of the astrocyte, the dynamics of IP_3 , the gap junctions, the voltage-gated calcium channels and astrocytes volumes. The implemented simulator also takes into account the different topologies of astrocytes networks topologies, including Regular Degree networks, Link Radius networks, Shortcut networks and the Erdős-Rényi networks. A stochastic solver proposed at various scales captures the relationship between intracellular and intercellular reactions. Finally, some metrics were evaluated that are able to describe the communication system performance, such as propagation extent, molecular delay, channel gain, channel capacity and communication noise. The results show that the more unstable, but at the same time lower, oscillations of the astrocytes networks under the influence of Alzheimer's Disease can create an effect on various scales in the communication between astrocytes such as greater molecular delay, greater noise in communication, less gain channel and less channel capacity in comparison to healthy astrocytes.

Keywords: Molecular Communication, Alzheimer's Disease, Nanonetworks, Communication Engineering.

Lista de Siglas e Abreviaturas

DA – Doença de Alzheimer

IP₃ – Inositol trifosfato (do inglês, *Inositol trisphosphate* ou *inositol 1,4,5-trisphosphate*)

PLC – Fosfolipase C (do inglês, *Phospholipase C*)

CICR – Liberação de Cálcio induzida pelo Cálcio (do inglês, *Calcium-induced calcium release*)

ATP – Adenosina trifosfato (do inglês, *adenosine triphosphate*)

SNC – Sistema Nervoso Central

AMPC – Adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

DAG – Diglicerídeo ou diacilglicerol (do inglês, *diglyceride*)

VGCC – Canais de cálcio controlados por tensão (do inglês, *Voltage-gated calcium channel*)

Lista de Figuras

2.1	Sinalização de Ca^{2+}	10
2.2	Diagrama de blocos que delinea o modelo de comunicação molecular baseado em sinalização de Ca^{2+}	12
2.3	Células da glia do sistema nervoso central.	13
2.4	Vista lateral da junção comunicante.	17
2.5	Vista superior das junções comunicantes.	17
2.6	Modelo da Sinalização de Cálcio em um tecido saudável.	21
2.7	Modelo da Sinalização de Cálcio em um tecido sob influência do β -amilóide (Doença de Alzheimer).	27
2.8	Os diferentes valores para os parâmetros a , b , c e d em cada um dos diferentes padrões de disparos de neurônios.	31
2.9	Diferentes padrões de disparos de neurônios em um intervalo de 60 ms: (a) RS; (b) IB; (c) CH; (d) LTS; (e) FS; (f) LS.	33
2.10	Os diferentes tipos de redes tridimensionais de astrócitos dentro do córtex somatossensorial do cérebro.	34
2.11	Ilustração dos acoplamentos em uma rede de grau regular.	35
2.12	Ilustração dos acoplamentos em uma rede de raio de ligação.	35
2.13	O posicionamento das Redes de Pequeno Mundo entre as Redes de Grau Regular e as Redes Aleatórias, no que se refere a aleatoriedade.	36
3.1	Modelo da rede de astrócitos e do sistema de comunicação molecular baseado em cálcio.	38
3.2	Fluxograma do algoritmo de simulação dos sistemas de comunicação desenvolvidos e analisados.	38
3.3	Comprimento de um astrócito.	40

3.4	Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Grau Regular.	41
3.5	Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Raio de Ligação, em que $radius = 2$	42
3.6	Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Raio de Ligação, em que $radius = 3$	43
3.7	Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Atalho.	44
3.8	Representação de um corte do tecido celular tridimensional. As reações que ocorrem no interior dos astrócitos e o processo de difusão para os astrócitos vizinhos são apresentados.	47
4.1	(a) Padrões de oscilação de Ca^{2+} para astrócitos saudáveis e com Alzheimer – com o coeficiente de aumento de IP_3 fixado em 0,3 (σ_3 para o saudável, e J_{prod} para a DA). (b) Valores máximo e mínimo de concentração de Ca^{2+} para astrócitos saudáveis e com Alzheimer. (c) Análise da bifurcação da concentração de Ca^{2+} e IP_3 para astrócitos saudáveis e com a DA.	56
4.2	Extensão de propagação de cada topologia para um tecido saudável e com a doença de Alzheimer.	57
4.3	Atraso molecular (em segundos) na propagação do Ca^{2+} em função da distância (número de células) entre o transmissor e o receptor, para as quatro topologias.	58
4.4	Ganho do canal (em dB) em função da distância (número de células) entre o transmissor e o receptor, para as quatro topologias.	59
4.5	Ganho do canal (em dB) em função da frequência de oscilação espontânea, para as quatro topologias.	60
4.6	Capacidade do canal (em bits) em função da distância (número de células) entre transmissor e receptor para cada uma das topologias, considerando o sistema de comunicação baseado no tecido saudável.	61
4.7	Capacidade do canal (em bits) em função da distância (número de células) entre transmissor e receptor para cada uma das topologias, considerando o sistema de comunicação baseado no tecido acometido pela DA.	62
4.8	Relação sinal-ruído (SNR) para a topologia de Grau Regular, considerando cada tipo de ruído e a uma frequência de oscilação de IP_3 de 0,3 Hz.	63
4.9	Relação sinal-ruído (SNR) para a topologia de Raio de Ligação, com raio 2, considerando cada tipo de ruído e a uma frequência de oscilação de IP_3 de 0,3 Hz.	64

-
- 4.10 Relação sinal-ruído (SNR) para a topologia de Raio de Ligação, com raio 3, considerando cada tipo de ruído e a uma frequência de oscilação de IP_3 de 0,3 Hz. 65

Lista de Tabelas

1.1	Resumo das principais referências utilizadas no desenvolvimento do trabalho. .	7
2.1	Equações para cada tipo de corrente de cálcio.	29
3.1	Reações intracelulares e transições de estado que podem ocorrer em um astrócito.	45
3.2	Valores dos parâmetros utilizados no modelo do tecido saudável e do tecido acometido pela DA.	49

Sumário

1	Introdução	1
1.1	Motivação	3
1.2	Objetivo Geral	4
1.2.1	Objetivos Específicos	4
1.3	Estado da Arte	4
1.4	Estrutura do Texto	8
2	Sistema de Comunicação Molecular baseado na Sinalização de Cálcio	9
2.1	Conceitos Biológicos sobre a Sinalização de Cálcio	9
2.1.1	Astrócitos	12
2.1.2	Junções Comunicantes	16
2.2	Doença de Alzheimer	18
2.3	Modelagem do Tecido Saudável	19
2.3.1	Modelo da Sinalização de Cálcio	19
2.3.2	Modelo das Junções Comunicantes	20
2.4	Modelo do Tecido sob Influência da Doença de Alzheimer	22
2.4.1	Modelo da Sinalização	23
2.4.2	Dinâmica do IP_3	25
2.4.3	Modelo das Junções Comunicantes	27
2.4.4	Modelos do VGCC das Membranas Celulares	27
2.4.5	Modelo do Volume do Astrócito	29
2.5	Modelos de Disparos dos Neurônios	29
2.5.1	Neurônios de Disparos Regulares (RS)	31
2.5.2	Neurônios <i>Intrinsically Bursting</i> (IB)	32
2.5.3	Neurônios <i>Chattering</i> (CH)	32

2.5.4	Neurônios <i>Fast Spiking</i> (FS)	32
2.5.5	Neurônios <i>Low-threshold Spiking</i> (LTS)	32
2.5.6	Neurônios <i>Late Spiking</i> (LS)	32
2.6	Modelo das Topologias da Rede de Astrócitos	33
2.6.1	Redes de Grau Regular	35
2.6.2	Redes de Raio de Ligação	35
2.6.3	Redes de Atalho	36
2.6.4	Erdős-Rényi	36
3	Simulador Computacional para o Sistema de Comunicações Moleculares 3D baseado na Sinalização de Ca^{2+}	37
3.1	Modelagem 3D da Estrutura do Tecido Celular	40
3.1.1	Estrutura do Tecido na Topologia de Grau Regular	41
3.1.2	Estrutura do Tecido na Topologia de Raio de Ligação	41
3.1.3	Estrutura do Tecido na Topologia de Atalho	43
3.1.4	Estrutura do Tecido na Topologia Erdős-Rényi	44
3.2	Resolvedor Estocástico	44
3.3	Hipóteses sobre o β -amilóide	50
3.4	Parâmetros de Desempenho do Sistema de Comunicação entre os Astrócitos	50
3.4.1	Ganho do Canal	50
3.4.2	Atraso (<i>Delay</i>) na Comunicação entre os Astrócitos	51
3.4.3	Capacidade do Canal	52
3.4.4	Ruído na Comunicação	53
4	Resultados	55
4.1	Análise em Escala Única	55
4.2	Análise em Múltipla Escala	56
4.2.1	Extensão de Propagação	56
4.2.2	Atraso Molecular	58
4.2.3	Ganho do Canal	59
4.2.4	Capacidade do Canal	60
4.2.5	Ruído do Canal	62

5 Conclusão	66
5.1 Sugestões de Trabalhos Futuros	67
5.2 Artigos Publicados	68
Referências Bibliográficas	82

A possibilidade de uma futura integração de sistemas biológicos com a Internet por meio de dispositivos bionano moleculares, um paradigma chamado de Internet das Bionano-Coisas, nos conduzirá a interfaces celulares de alta resolução minimamente invasivas (Akyildiz *et al.* , 2015).

Os dispositivos bionano implantáveis permitirão o monitoramento remoto em tempo real e o tratamento de doenças (Barros, 2017; Wirdatmadja *et al.* , 2017). Os mecanismos moleculares que regulam a homeostase de sistemas biológicos são desenvolvidos para serem completamente compreendidos por modelos matemáticos, que conduzem a uma completa descrição da propagação do sinal dentro das redes de comunicação biológica (Akan *et al.* , 2017).

A área da Comunicação Molecular tem focado seus esforços, desde a década passada, em prover esses modelos para a análise de sistemas de comunicação em tecidos vivos que apresentam diferentes transportadores de informação molecular; por exemplo, DNA, cálcio, hormônios ou sangue. Entretanto, ainda são poucos os esforços empregados na compreensão desses sistemas quando eles se encontram acometidos por uma doença ou algum outro mecanismo que conduz a um comportamento dessa natureza (Akan *et al.* , 2017).

As doenças neurodegenerativas, como um todo, afetam 50 milhões de pessoas ao redor do mundo com um custo de tratamento anual de 818 bilhões de dólares, aproximadamente (Haughey & Mattson, 2003). Na Doença de Alzheimer (DA), em particular, existe a necessidade de um cuidado médico constante devido aos inúmeros prejuízos que os sintomas trazem ao indivíduo (Latulippe *et al.* , 2018).

Tanto a origem quanto a cura da doença de Alzheimer estão longe de serem completamente conhecidas; além disso, a complexidade dessas desafiantes questões de pesquisa tem incentivado a utilização de métodos interdisciplinares nos últimos anos (Barros *et al.* , 2018).

As pesquisas acerca da Doença de Alzheimer alcançaram um progresso crescente pela integração da neurociência com as áreas da ciência da computação, nanotecnologia, biologia sintética e engenharia de comunicação. Nas últimas décadas, os pesquisadores estão focados em duas novas abordagens da DA (Latulippe *et al.*, 2018):

1. Estudo sobre como essa patologia afeta na perda de informação neuronal no cérebro;
2. Desenvolvimento de modelos de doenças que potencialmente permitam o progresso da pesquisa para a descoberta de medicamentos, e teste com precisos modelos computacionais.

A propagação de informação molecular dentro do cérebro, em particular, envolve diferentes tipos de células (neurônios e não-neurônios), o que corresponde a diferentes tipos de sistemas de comunicação. A organização dos astrócitos, uma célula glial presente no sistema nervoso central, em suas diferentes topologias de redes, tem sido estudada para uma caracterização detalhada da propagação dos sinais de informação dessas células. A neurodegeneração também afeta a propagação do sinal, uma vez que eles interferem diretamente com a organização do cérebro em multiescala, o que inclui os caminhos dos sinais intracelulares, as comunicações intercelulares e as topologias de redes hierarquicamente mais elevadas (Lallouette *et al.*, 2014a).

Uma vez que a propagação do sinal de comunicação molecular em doenças degenerativas é uma abordagem interessante para a compreensão, em nível molecular, de processos neurodegenerativos, uma análise que leva em consideração uma modelagem intracelular e intercelular, neste cenário, é um passo fundamental para uma descrição mais detalhada da fisiologia celular e a distribuição espacial do sinal, que pode ser obtida por meio de uma simulação computacional em multiescala (Barros *et al.*, 2018).

Na DA, a propagação intracelular de informação de cálcio dentro de células não-neurônios, como os astrócitos, impacta na propagação das sinapses tripartite das células neurônios, causando a perda de conexão (Hardy & Allsop, 1991; Selkoe & Hardy, 2016). A hipótese do peptídeo β -amilóide sugere que a acumulação de β -amilóide no cérebro é a principal causa da doença de Alzheimer e muda o comportamento das sinapses (Hardy & Selkoe, 2002; Selkoe, 1991; Latulippe *et al.*, 2018).

Nesta hipótese, a formação de placas e fibrilos de β -amilóide – uma proteína de 40-42 aminoácidos de auto-agregação – como um resultado de um processo de desequilíbrio

subjacente, provoca um lento acúmulo desses peptídeos que pode alterar os processos de sinalização de cálcio, levando à falha sináptica e à morte neuronal. Apesar da ligação entre o β -amilóide e a homeostase do cálcio intracelular ainda não estar clara, inúmeros estudos fornecem crescentes evidências de que o β -amilóide interfere diretamente no inositol trifosfato (IP_3) (Demuro & Parker, 2013; Matrosov *et al.*, 2017), nas junções comunicantes (Haughey & Mattson, 2003; Cruz *et al.*, 2010), nos canais chaveados por tensão com membrana celular (Zeng *et al.*, 2009a) e no volume da célula (Olabarria *et al.*, 2010).

Diante disso, no presente trabalho, foi analisado o processo de sinalização intracelular de cálcio sob a influência do β -amilóide, como uma forma de observar o efeito da DA dentro de nanoredes de astrócitos. A partir dos resultados de experimentos e de modelos biológicos computacionais, foram extraídas informações que determinam como o β -amilóide afeta a sinalização intracelular de cálcio e, dessa forma, criou-se um novo modelo computacional que leva em consideração as mudanças no caminho do cálcio: a dinâmica do IP_3 ¹, as junções comunicantes, a membrana celular e o volume celular.

Além disso, também foi desenvolvido um modelo de simulação que levam em consideração, tanto o processo de sinalização intracelular quanto o processo de sinalização intercelular, por meio do qual serão quantificados os parâmetros de propagação do sinal dentro das redes de astrócitos.

1.1 – Motivação

O desenvolvimento desta nova abordagem computacional pode beneficiar a pesquisa da DA, fornecendo novas perspectivas sobre a caracterização da comunicação molecular de doenças em tecidos biológicos, como os astrócitos.

As principais contribuições são:

- ▣ Um modelo computacional da doença de Alzheimer baseado na influência das placas β -amilóide sobre a propagação do cálcio na célula.
- ▣ Implementação de diferentes topologias de redes de astrócitos, incluindo a rede de Atalho, a rede de Grau Regular, a rede Erdős-Rényi e rede de Raio de Ligação.

¹Inositol trifosfato (IP_3) é uma molécula de mensagem secundária que viaja através do citosol e estimula a liberação de Ca^{2+} do retículo endoplasmático para o citosol.

- ▣ Quantificação dos efeitos em multiescala da DA nos níveis intracelular e intercelular, e em nível de rede.

1.2 – Objetivo Geral

O objetivo do presente trabalho é desenvolver um algoritmo capaz de simular o processo de sinalização de Cálcio (Ca^{2+}) em um tecido celular tridimensional de astrócitos com diferentes topologias de acoplamento das junções comunicantes em uma rede de astrócitos, considerando-se dois cenários distintos: um tecido saudável e um tecido acometido pela doença de Alzheimer – considerando a hipótese do β -amilóide. Com isso, serão avaliados alguns parâmetros de comunicação.

1.2.1 – Objetivos Específicos

- ▣ Estudar e implementar os modelos matemáticos mais recentes que descrevem o processo de sinalização de Ca^{2+} em um tecido de astrócitos;
- ▣ Estudar os efeitos causados pela Doença de Alzheimer (hipótese do β -amilóide) sobre todos os componentes presentes em um tecido de astrócitos;
- ▣ Definir um novo modelo computacional que leva em consideração os efeitos do β -amilóide no processo de sinalização de Ca^{2+} e realizar a sua implementação computacional;
- ▣ Avaliar o processo de sinalização intracelular de Ca^{2+} nos astrócitos nos dois cenários;
- ▣ Avaliar a dinâmica de propagação de cálcio no tecido de astrócitos, considerando quatro topologias de acoplamento das junções comunicantes, com base em cinco parâmetros de comunicação: extensão de propagação, ganho do canal, atraso molecular, capacidade do canal e ruído na comunicação.

1.3 – Estado da Arte

A pesquisa sobre a sinalização de cálcio em astrócitos é uma tentativa recente de descrever as leis que governam a propagação da informação no cérebro, relacionando os astrócitos e os neurônios (Giaume, 2010). Muitos pesquisadores, através dos anos, forneceram

a base matemática para a sinalização de cálcio em astrócitos (Goldberg *et al.* , 2010; Fujii *et al.* , 2017; Matrosov *et al.* , 2017; Manninen *et al.* , 2017; Lenk *et al.* , 2016; Wallach *et al.* , 2014; Szabó *et al.* , 2017).

Como existe uma relação dual intrínseca com os neurônios, os astrócitos podem alterar significativamente a plasticidade sináptica dos neurônios. Sua organização em rede, a partir de então, tem um impacto fundamental no fornecimento de informações aos neurônios codificadas em muitas moléculas diferentes, que regulam tanto sua energia quanto seu funcionamento (Giaume, 2010).

Evidências experimentais permitem a observação da propagação de ondas de cálcio dentro de redes de astrócitos, confiável em sua região cerebral, mas comumente exibindo dependência da topologia na dinâmica de propagação de informação (Lallouette *et al.* , 2014a). Por exemplo, este fenômeno é descrito em trabalhos sobre os glomérulos olfativos (Roux *et al.* , 2011) ou o córtex somatossensorial (Houades *et al.* , 2008).

Modelos computacionais são suficientes para descrever com precisão a mesma propagação de ondas de cálcio dos experimentos com a variação da topologia. No entanto, o uso das abordagens experimentais é, muitas vezes, limitado a observar o impacto total da propagação do sinal de cálcio nestas topologias de rede de astrócitos. Os resultados intracelulares e os modelos de saída não são usados em termos de funcionamento da rede e mudanças. Modelos computacionais moleculares podem ser introduzidos para quantificar a variabilidade da propagação do sinal, e os modelos resultantes podem ser responsáveis pelas propriedades de comunicação intercelular dos astrócitos, ou seja, junções comunicantes, organização da rede e entendimento da atividade da população celular (Lallouette *et al.* , 2014a).

A pesquisa de Alzheimer tem se concentrado historicamente em abordagens experimentais que analisaram a gênese da doença, e o resultado final é a hipótese do β -amilóide. Existem outros peptídeos que também estão correlacionados com a gênese da DA, incluindo a hipótese τ Volgyi *et al.* (2015). Os pesquisadores não descartam a possibilidade de que esses peptídeos trabalhem juntos, no entanto, a pesquisa atual sobre a gênese da DA é lenta devido aos numerosos esforços experimentais na validação dessas hipóteses. Em particular aos astrócitos, os estágios mais avançados da compreensão da DA e sua sinalização de cálcio estão distribuídos em trabalhos que consideram o trifosfato de inositol (IP₃) (Demuro & Parker, 2013; Matrosov *et al.* , 2017), as junções comunicantes (Cruz *et al.* , 2010; Haughey & Mattson,

2003), os canais dependentes de tensão com a membrana celular (Zeng *et al.* , 2009b) e o volume celular (Olabarria *et al.* , 2010).

Mais recentemente, os pesquisadores começaram a criar modelos computacionais para ajudar o pesquisador no entendimento de como a DA afeta o cérebro, em diferentes tipos de células (Latulippe *et al.* , 2018; Toivari *et al.* , 2011; De & Dupont, 2013). No entanto, não há nenhum esforço para compilar os recentes avanços experimentais da literatura em um novo modelo computacional, além disso, não há esforços em analisar como os danos causados à sinalização de cálcio, sob a influência da DA – de uma abordagem molecular computacional com o β -amilóide –, pode afetar as redes inteiras de astrócitos (Barros *et al.* , 2018).

Observando os trabalhos já publicados, pode-se inferir que as técnicas de modelagem em pesquisas da DA é muito limitada. A partir da literatura é possível notar que a investigação experimental dos princípios moleculares da DA é limitada para obter sua compreensão global; por exemplo, não é possível visualizar a relação entre a comunicação molecular da rede de astrócitos e a organização espacial dessa rede (Pitta *et al.* , 2009).

Modelos computacionais moleculares são bem aceitos na área de pesquisa de biologia da sinalização de cálcio com uma pluralidade de modelos que são validados através de experimentos, incluindo variabilidade astrócito a astrócito de parâmetros de sinalização intracelular, regeneração IP_3 local, subtipos de receptores, afinidade de canais de recepção de IP_3 em depósitos de cálcio ou cinética de transporte de IP_3 através de junções comunicantes (Höfer *et al.* , 2002; Lallouette *et al.* , 2014a; Iacobas *et al.* , 2006).

Os astrócitos também foram estudados no campo das comunicações moleculares com o duplo objetivo de entender tanto as suas propriedades naturais de comunicação quanto a transmissão de informações artificiais. Barros *et al.* (2015a) compararam como o desempenho de comunicação natural dos astrócitos difere de outros tipos de células, incluindo células musculares epiteliais e lisas. Para isso, os autores utilizaram as métricas de ganho do canal, atraso molecular, capacidade do canal, dentre outros parâmetros.

Mesiti *et al.* (2015) adotaram uma abordagem diferente, estudando como os astrócitos se comunicam com os neurônios nas sinapses tripartites. Mais recentemente, Barros & Dey (2017b) desenvolveram um controle do cálcio no citosol dos astrócitos mediante estimulação celular pré-definida, o que permitiu o desenvolvimento de um sistema de comunicação eficaz que permite um ótimo desempenho na transmissão de bits em comunicações de curto alcance (Barros & Dey, 2017a).

A aplicação dos estudos supracitados na biologia e medicina, através de novas técnicas de nanobiossensores (Barros *et al.*, 2014), pode produzir um grande impacto interdisciplinar; no entanto, ainda existem grandes problemas de modelagem e projeto de sistema. Uma delas é a configuração de topologias de redes 3D astrocíticas que compõem os tecidos (Barros *et al.*, 2018).

Em Pitta *et al.* (2009), existem várias topologias de rede de astrócitos que não foram levadas em consideração na literatura de comunicação molecular. Este tipo de abordagem também é importante para outros tipos de células, onde suas formas não-lineares e configuração heterogênea podem levar a um grande impacto no desempenho do sistema de comunicação. Além disso, o sistema de comunicação molecular baseado na sinalização de cálcio, sob cenários de doença, também é uma abordagem ausente para alcançar um quadro teórico completo.

A Tabela 1.1 apresenta um resumo das principais referências, previamente citadas, que foram utilizadas como base para o presente trabalho, e dentre as quais foram exploradas as lacunas presentes.

Tabela 1.1 – Resumo das principais referências utilizadas no desenvolvimento do trabalho.

Autor	Ano	Contribuição
Zeng <i>et al.</i>	2009	Influência da DA sobre os canais de Ca^{2+} controlados por tensão.
Lavrentovich & Hemkin	2010	Modelo matemático para a dinâmica de Ca^{2+} intracelular nos astrócitos.
Olabarria <i>et al.</i>	2010	Influência da DA sobre o volume do astrócito.
Toivari <i>et al.</i>	2011	Efeitos do β -amilóide nos sinais de Ca^{2+} intracelular em astrócitos corticais de ratos.
Demuro & Parker	2013	Influência da DA sobre o IP_3 .
Lallouette <i>et al.</i>	2014	Modelo computacional para a simulação da comunicação intra e intercelular de astrócitos considerando diferentes topologias de rede.
Barros <i>et al.</i>	2015	Comparação do desempenho da comunicação de astrócitos com outros tipos de células.

Fonte: Elaborada pelo autor.

No presente trabalho, foram exploradas essas lacunas presentes na literatura, modelando as topologias de redes de astrócitos em um sistema de comunicação molecular baseado na sinalização de cálcio e, dessa forma, melhorando os esforços existentes na compreensão desse complexo canal de comunicação. Estendeu-se, também, esse modelo para considerar a presença de DA nesses sistemas de comunicação, com o intuito de analisar a propagação do sinal dentro

das redes de astrócitos quando esse tipo de neurodegeneração estiver em estágios posteriores de desenvolvimento.

1.4 – Estrutura do Texto

Este trabalho de Dissertação de Mestrado está organizado em cinco capítulos que compreendem todos os aspectos teóricos acerca dos tópicos associados à área da pesquisa, bem como a metodologia empregada e os resultados obtidos neste trabalho.

Além deste capítulo introdutório, no Capítulo 2 serão apresentados os conceitos biológicos envolvidos na dinâmica da sinalização de cálcio nos astrócitos, bem como os conceitos relacionados à doença de Alzheimer e a sua influência nesse processo de sinalização. Além disso, este capítulo aborda a modelagem matemática do processo de sinalização de cálcio, considerando um tecido saudável e um tecido acometido pela doença de Alzheimer. Os diferentes modelos de topologias da rede de astrócitos também serão descritos.

O Capítulo 3 é dedicado à descrição da metodologia que foi empregada nesse trabalho para o desenvolvimento do simulador computacional utilizado para analisar o processo de sinalização de Ca^{2+} em ambos os cenários descritos no Capítulo 2, bem como os parâmetros mensurados.

O Capítulo 4 contém os primeiros resultados obtidos para os parâmetros de comunicação mensurados, assim como a análise desses resultados. Por fim, as conclusões, as sugestões para trabalhos futuros e os artigos publicados são apresentados no Capítulo 5, sendo este seguido pelas referências utilizadas neste trabalho.

Sistema de Comunicação Molecular baseado na Sinalização de Cálcio

Neste capítulo serão apresentados os principais conceitos teóricos e matemáticos necessários para a compreensão dos processos biológicos, bem como a modelagem desses processos. Na Seção 2.1 serão apresentados os conceitos biológicos relacionados a um tipo específico de comunicação molecular baseada em difusão: a sinalização de Ca^{2+} . Na Seção 2.2 serão apresentadas algumas informações sobre a Doença de Alzheimer, bem como a sua influência no processo de sinalização.

As Seções 2.3 e 2.4 descrevem os modelos matemáticos dos canais de comunicação compostos por um tecido saudável e um tecido acometido pela doença de Alzheimer, respectivamente. A Seção 2.5 descreve os padrões de sinapses dos neurônios, enquanto a Seção 2.6 descreve as diferentes topologias de acoplamento das junções comunicantes. Sendo assim, todos esses conceitos explorados nas próximas seções serão de suma importância para a compreensão do canal de comunicação que será estudado no presente trabalho.

2.1 – Conceitos Biológicos sobre a Sinalização de Cálcio

Nos últimos anos, uma crescente comunidade de pesquisa se formou em torno de modelos de comunicação biológica em nanoescala, um campo de pesquisa conhecido como Comunicações Moleculares (Kilinc & Akan, 2014; Atakan *et al.*, 2012; Akyildiz & Jornet, 2010; Kuran *et al.*, 2012; Akyildiz *et al.*, 2012).

Desde o nascimento deste campo de pesquisa, inúmeros componentes e processos biológicos foram analisados quanto à adequação para a realização de sistemas de comunicação molecular, incluindo: sistemas baseados em difusão (Pierobon & Akyildiz, 2011, 2013, 2014),

comunicação baseada em bactérias (Balasubramaniam & Lio, 2013), FRET¹ (Kuscu & Akan, 2012; Kuscu *et al.*, 2012) e a comunicação baseada em neurônios (Malak & Akan, 2013; Balasubramaniam *et al.*, 2011).

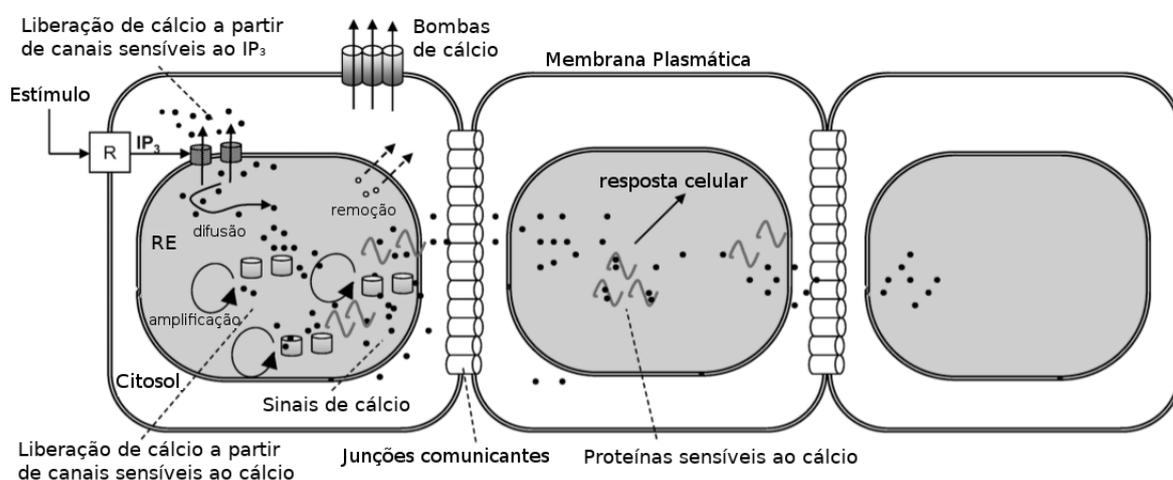
Um processo particular de sinalização biológica proposto como base para a comunicação molecular, que é encontrado na maioria dos sistemas multicelulares, é a sinalização de cálcio (Ca^{2+}). A sinalização de Ca^{2+} é um processo de comunicação de curto alcance comumente usado por células dentro de um tecido. A propagação de Ca^{2+} pode ser dividida em dois estágios: sinalização intracelular e intercelular (Nakano *et al.*, 2007), como pode ser visto na Figura 2.1.

A sinalização intracelular resulta da estimulação interna que leva à geração, amplificação ou remoção das concentrações de Ca^{2+} citosólicas (no interior do citosol). A sinalização intercelular envolve a propagação do Ca^{2+} citosólico em todo o tecido celular, por meio da difusão. A difusão de íons Ca^{2+} é mediada por portas que ligam duas áreas citosólicas das células; essas portas são denominadas junções comunicantes (Barros *et al.*, 2015b).

A sinalização intercelular de Ca^{2+} é central para vários fins fisiológicos e regulatórios (por exemplo, crescimento e proliferação celular, fertilização, contração muscular, transmissão neuronal, motilidade² celular e diferenciação), e é iniciada pela estimulação de IP_3 , ou através de sinalização hormonal ou neurotransmissora (Barros *et al.*, 2015b).

A Figura 2.1 ilustra uma versão simplificada da sinalização de Ca^{2+} , incluindo os processos de sinalização intracelular e intercelular.

Figura 2.1 – Sinalização de Ca^{2+} .



Fonte: Adaptado de (Nakano & Liu, 2010).

¹FRET é um método de comunicação molecular baseado na transferência de energia de ressonância de Förster.

²Habilidade de se mover espontânea ou ativamente, consumindo energia no processo.

Na célula, Ca^{2+} é armazenado no retículo endoplasmático (RE), que libera Ca^{2+} para o citosol via canais de liberação de cálcio. Existem dois tipos de canais: um tipo que não é sensível ao Ca^{2+} (sensível ao IP_3) e um tipo sensível ao Ca^{2+} . Quando os estímulos externos (por exemplo, sinais hormonais) chegam aos receptores de superfície celular (R), são produzidas moléculas de mobilização de cálcio (por exemplo, inositol 1,4,5-trifosfato ou IP_3), que difundem no citosol e produzem canais insensíveis a Ca^{2+} para liberar Ca^{2+} do RE. O Ca^{2+} liberado difunde-se livremente no citosol enquanto é amplificado através de canais sensíveis ao Ca^{2+} , e/ou removido no citosol (Nakano & Liu, 2010).

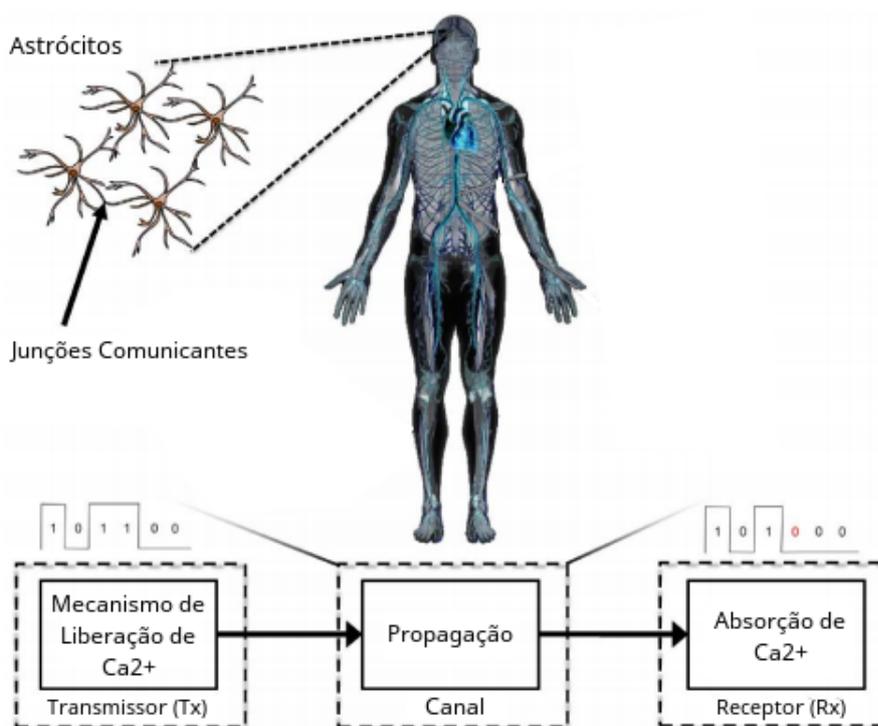
Os três principais processos envolvidos na sinalização de Ca^{2+} , descritos acima, são difusão, amplificação e remoção (Nakano & Liu, 2010):

- ▄ **Difusão:** Ca^{2+} difunde espacialmente no citosol, incluindo o citosol de células adjacentes nos casos em que os canais de junções comunicantes são formados entre as células.
- ▄ **Amplificação:** O Ca^{2+} é amplificado no citosol através de canais sensíveis ao Ca^{2+} , conhecido como Liberação de Cálcio induzida pelo Cálcio (CICR, do inglês, *Calcium-induced calcium release*). No CICR, Ca^{2+} liga-se diretamente aos canais sensíveis ao Ca^{2+} , que se abrem para liberar Ca^{2+} . O Ca^{2+} liberado ativa ainda mais os canais. Essa realimentação positiva permite a auto-amplificação de Ca^{2+} e aumenta rapidamente a concentração de Ca^{2+} citosólico.
- ▄ **Remoção:** O Ca^{2+} citosólico livre é removido por vários mecanismos (Hilton Arlington, 2008; Eckford, 2007), incluindo bombas de Ca^{2+} da membrana plasmática (isto é, Ca^{2+} -ATPase) que expulsam o Ca^{2+} citosólico para o espaço extracelular e organelas celulares que isolam o Ca^{2+} , resultando na diminuição da concentração de Ca^{2+} citosólico.

Esse esquema de comunicação biológica é encontrada em uma variedade de tipos de células, incluindo: astrócitos (Scemes & Giaume, 2006; Scemes *et al.*, 2007) (abordados na Seção 2.1.1), neurônios (Charles *et al.*, 1996), epitélio (Motoyama *et al.*, 1999; Robb-Gaspers & Thomas, 1995), endotélio (Gomes *et al.*, 2006), músculo liso (Halidi *et al.*, 2011), cardiomiócitos (Suadcani *et al.*, 2000), hepatócitos (Gaspers & Thomas, 2005), osteócitos (Jørgensen, 2005), condrócitos (Kono *et al.*, 2006), rim (Peti-Peterdi, 2006), glândula mamária (Enomoto *et al.*, 1992), mastro (Osipchuk & Cahalan, 1992), pâncreas (Yule *et al.*, 1996) e queratinócitos (Koizumi *et al.*, 2004).

Na Figura 2.2, o processo de sinalização de Ca^{2+} é mapeado para um modelo de sistema de comunicação. O mecanismo de liberação de Ca^{2+} é considerado como o transmissor, a propagação de Ca^{2+} através do tecido é considerada como o canal, e, por fim, o receptor é representado pelas regiões das células, onde o nível de concentração de Ca^{2+} é mensurado e analisado. As células são conectadas, como mencionado anteriormente, via junções comunicantes, as quais, uma vez abertas, permitem a propagação de Ca^{2+} de uma célula para outra. A Figura 2.2 destaca um tipo de célula que utiliza o mecanismo de sinalização de Ca^{2+} , os astrócitos.

Figura 2.2 – Diagrama de blocos que delinea o modelo de comunicação molecular baseado em sinalização de Ca^{2+} .



Fonte: Adaptado de (Barros *et al.*, 2015b).

2.1.1 – Astrócitos

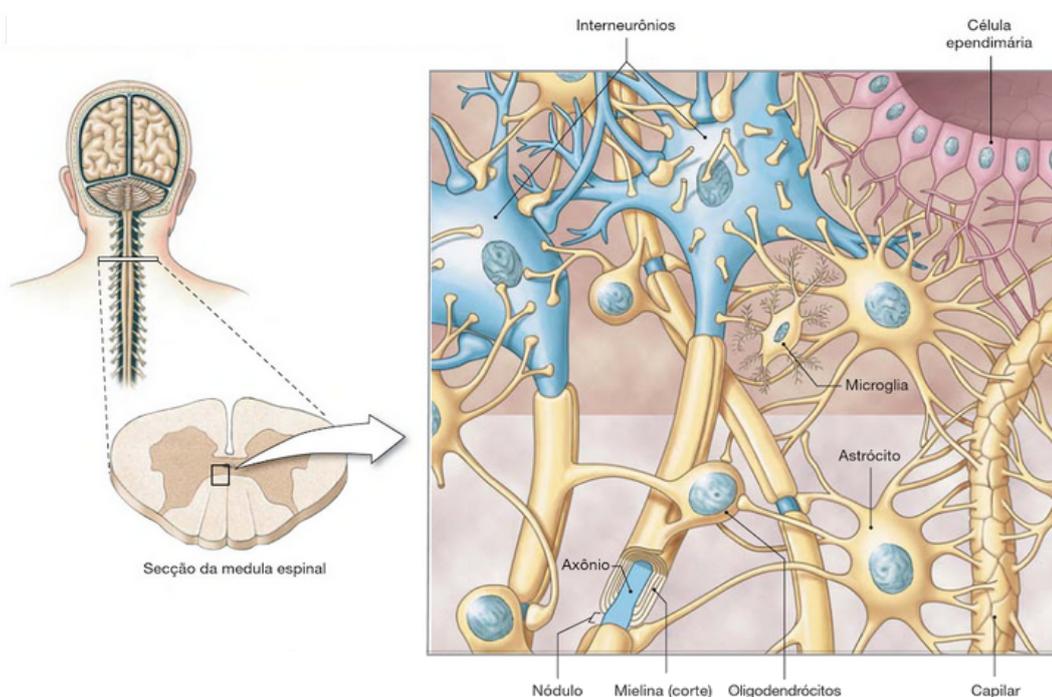
O cérebro é uma montagem de células organizadas em uma estrutura altamente refinada. Sua função no organismo animal é processar a informação recebida do meio ambiente através dos órgãos sensoriais, bem como de sua própria atividade, e elaborar diferentes respostas biológicas que são executadas pelos órgãos efetores³. O sistema nervoso é formado por dois

³Constituídos por músculos e glândulas, são órgãos que recebem estímulos do Sistema Nervoso Central e atuam sobre um sistema muscular ou glandular já existente na anatomia humana.

grandes tipos celulares, os neurônios e as células gliais – ou células da glia (Araque & Navarrete, 2010).

As células da glia estão presentes no sistema nervoso em um número de 10 a 50 vezes maior em relação aos neurônios. No sistema nervoso periférico existem dois tipos de células da glia, as células de Schwann e as células de satélite; enquanto no sistema nervoso central (SNC) existem quatro tipos diferentes: oligodendrócitos, microglia, astrócitos e células ependimárias, como é possível observar na Figura 2.3 (Silverthorn, 2010).

Figura 2.3 – Células da glia do sistema nervoso central.



Fonte: (Silverthorn, 2010).

A partir das descrições originais da base celular do sistema nervoso, os neurônios foram prontamente reconhecidos como os principais elementos celulares envolvidos na transferência e processamento de informações, talvez porque mostram processos celulares que se estendem para órgãos sensoriais, músculos e glândulas. Além disso, como a eletricidade era conhecida como fundamental na função do sistema nervoso, o fato de que os neurônios fossem eletricamente excitantes ainda apoiava essa ideia.

Por outro lado, as células gliais e, em particular, os astrócitos – o tipo de células gliais mais abundante no sistema nervoso central – foram considerados por desempenhar papéis de apoio simples para os neurônios, provavelmente porque eles não possuem processos longos que conectam órgãos sensoriais e efetores (Araque & Navarrete, 2010).

Os astrócitos são conhecidos por desempenhar papéis relevantes em numerosos processos de desenvolvimento e fisiologia do sistema nervoso central, como suporte trófico e metabólico para neurônios, sobrevivência, diferenciação neuronal e orientação neuronal. Eles também são elementos-chave na homeostase cerebral, regulando as concentrações locais de íons e neurotransmissores (Schousboe, 2003; Huang & Bergles, 2004; Seifert & Steinhäuser, 2001; Wallraff *et al.*, 2006) e no controle do fluxo sanguíneo cerebral (Zonta *et al.*, 2003; Metea & Newman, 2006a; Gordon *et al.*, 2007a; Iadecola & Nedergaard, 2007).

Apesar disso, os astrócitos continuavam a ser considerados como células passivas que ofereciam suporte trófico, estrutural e metabólico para os neurônios, sem participar ativamente do processamento da informação pelo sistema nervoso (Zonta *et al.*, 2003; Metea & Newman, 2006b; Gordon *et al.*, 2007b). No entanto, a evidência obtida nos últimos anos desafiou o conceito de astrócitos como elementos passivos que simplesmente fornecem as condições adequadas para a função neuronal apropriada e, em vez disso, indicam que os astrócitos desempenham um papel ativo como processadores de informações no funcionamento do cérebro (Araque & Navarrete, 2010).

Como a função neuronal se baseia, principalmente, nos sinais elétricos e os astrócitos não são células eletricamente excitáveis, eles foram largamente negligenciados como células de sinalização ao considerar a função da rede neuronal. No entanto, o uso de corantes fluorescentes sensíveis ao Ca^{2+} , que monitora os níveis intracelulares de íons em células vivas, demonstrou que os astrócitos apresentam uma forma de excitabilidade celular com base em variações da concentração de Ca^{2+} no citosol, em vez de mudanças elétricas na membrana (Perea & Araque, 2005; Cornell-Bell *et al.*, 1990; Charles *et al.*, 1991)

Os neurônios usam os gradientes eletroquímicos em toda a membrana plasmática para gerar sinais elétricos devido à alta expressão de canais específicos de íons ligados e de tensão (Hille *et al.*, 2001). Os canais de tensão expressos pelos astrócitos funcionam principalmente como um mecanismo para a manutenção homeostática dos níveis extracelulares de íons, com implicações menores, se houver, para a sinalização celular (Seifert *et al.*, 2006).

Em contraste, os astrócitos utilizam principalmente o Ca^{2+} armazenado no retículo endoplasmático como fonte de Ca^{2+} citoplasmático, que atua como sinal celular. Portanto, enquanto os neurônios baseiam sua excitabilidade celular em sinais elétricos gerados através da membrana, os astrócitos baseiam sua excitabilidade celular em variações da concentração de Ca^{2+} no citosol. Essas variações de Ca^{2+} podem servir como um sinal intracelular e intercelular

que pode se propagar no próprio astrócito e entre astrócitos, sinalizando para diferentes regiões da célula e para diferentes células. Este sinal de cálcio pode estimular diferentes respostas com implicações importantes para a função neuronal (Perea & Araque, 2005).

Durante um longo período, a sinalização intercelular de transferência e processamento fundamental no cérebro foi considerada como ocorrendo exclusivamente entre os neurônios. No entanto, estudos realizados nos últimos anos, estabeleceram a existência de sinalização bidirecional entre neurônios e astrócitos. A excitabilidade celular baseada em cálcio exibida pelos astrócitos pode ser desencadeada pela atividade neuronal e sináptica através da ativação de receptores de neurotransmissores expressos por astrócitos (Perea & Araque, 2005).

Por sua vez, as elevações de cálcio nos astrócitos estimulam a liberação de diferentes substâncias neuroativas – chamadas gliotransmissores – como o glutamato, o ATP⁴ e a Serina⁵, que regulam a excitabilidade neuronal e a transmissão sináptica (Haydon, 2001; Volterra & Bezzi, 2002; Perea *et al.*, 2009). Essas descobertas levaram ao estabelecimento de um novo conceito na fisiologia sináptica, a sinapse tripartite, na qual os astrócitos trocam informações com os elementos sinápticos neuronais. Conseqüentemente, os astrócitos são parte integrante das sinapses, envolvidos não apenas no controle homeostático passivo de condições adequadas para a função sináptica, mas também ativamente na função sináptica (Araque *et al.*, 1999; Perea *et al.*, 2009).

Um neurônio típico no sistema nervoso central de mamíferos pode entrar em contato com milhares de terminais sinápticos e conseqüentemente pode receber uma grande riqueza de informações sinápticas que devem integrar e ser processadas para elaborar um único sinal de saída sob a forma de potenciais de ação transmitidos pelo axônio. Essa integração se baseia em propriedades funcionais dos neurônios, incluindo a capacidade de resposta seletiva a diferentes sinais de entrada e a existência de propriedades intrínsecas neuronais que representam a relação entrada-saída não-linear (Llinas & Sugimori, 1980; Agmon-Snir *et al.*, 1998).

As descobertas mostram que os astrócitos não respondem passivamente às sinapses realizando uma leitura linear do nível da atividade sináptica. Em vez disso, experimentos mostram que os astrócitos apresentam resposta seletiva a insumos sinápticos específicos, revelando uma excitabilidade baseada em cálcio que exhibe relações de entrada-saída não-lineares e possui propriedades intrínsecas que concedem essa não-linearidade (Araque, 2008),

⁴Adenosina trifosfato é uma molécula de alta energia, necessária para as diferentes funções das células, tais como contração, funcionamento de bombas iônicas e processos secretórios de hormônios e citosinas.

⁵Um dos aminoácidos componentes das proteínas nos seres vivos.

o que significa que a comunicação neurônio-astrocítico apresenta propriedades de processamento complexo de informações que são classicamente consideradas exclusivas da comunicação neurônio-neurônio. Isso também indica que os astrócitos podem ser considerados como processadores celulares de informação sináptica (Perea *et al.* , 2009).

Os astrócitos são conhecidos por desempenhar papéis importantes na homeostase⁶ do ambiente extracelular, proporcionando condições adequadas para o funcionamento adequado de neurônios e sinapses. Como os processos astrocíticos são elementos subcelulares altamente dinâmicos, capazes de mobilidade, retração e extensão, os astrócitos podem moldar dinamicamente o espaço extracelular, o que pode ter um forte impacto na rede neuronal, influenciando a difusão extracelular de neurotransmissores (Syková & Nicholson, 2008; Theodosis *et al.* , 2008).

Os limites estruturais e funcionais impostos pelos astrócitos causam um grande impacto nas redes neuronais, favorecendo o controle da hiperexcitabilidade neuronal e da atividade epiléptica. Além disso, eles conferem uma comunicação ponto-a-ponto entre os neurônios ou, alternativamente, permitem uma ação mais difusa de neurotransmissores que possam atuar em diferentes alvos celulares (Rusakov, 2001).

2.1.2 – Junções Comunicantes

Muitas células estão ligadas entre si por estruturas intercelulares conhecidas como junções comunicantes, que permitem a transferência direta de íons e moléculas pequenas, incluindo mensageiros secundários⁷, como AMPc, IP₃, DAG e Ca²⁺ (Bennett & Verselis, 1992).

Na comunicação intercelular, os íons Ca²⁺ são propagados através dos tecidos celulares por meio de estruturas físicas que ligam as áreas citosólicas de duas células vizinhas; essas estruturas são chamadas de junções comunicantes. A Figura 2.4 mostra como as junções comunicantes interligam dois citosóis. A junção intracelular estreita (2 nm) separa as duas células vizinhas, as quais são conectadas via junção comunicante. Isso permite que o influxo e o efluxo de Ca²⁺ atravesse as membranas celulares (Barros *et al.* , 2015b).

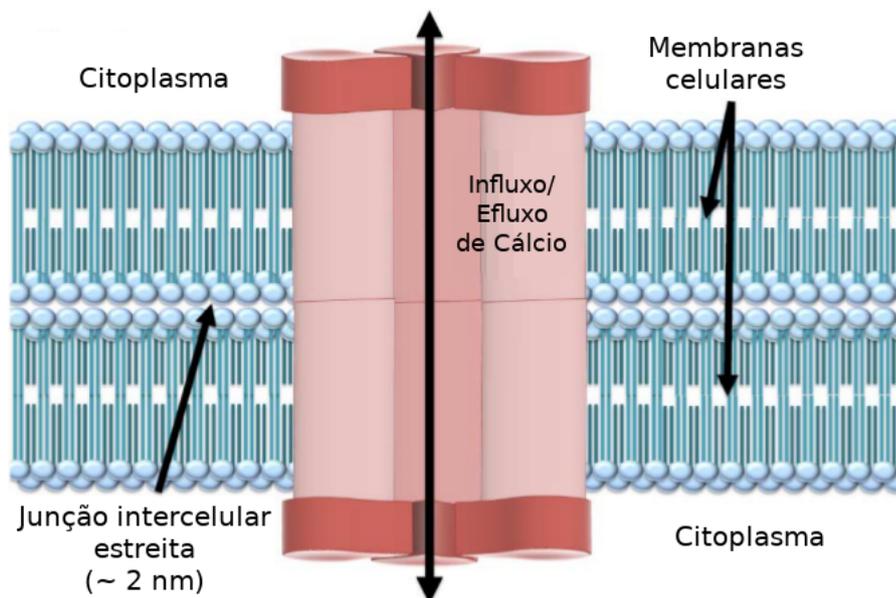
As junções comunicantes são compostas por dois *conexons*, um em cada célula que está conectada, o qual é formado por seis proteínas chamadas *conexinas*, conforme ilustrado na Figura 2.5. Esses *conexons* têm dois estados: estado de alta condutância e estado de baixa

⁶Uma condição de estabilidade que o organismo precisa ter para exercer corretamente as suas funções.

⁷Íons ou pequenas moléculas que transmitem sinais no interior das células (agente sinalizadores intracelulares).

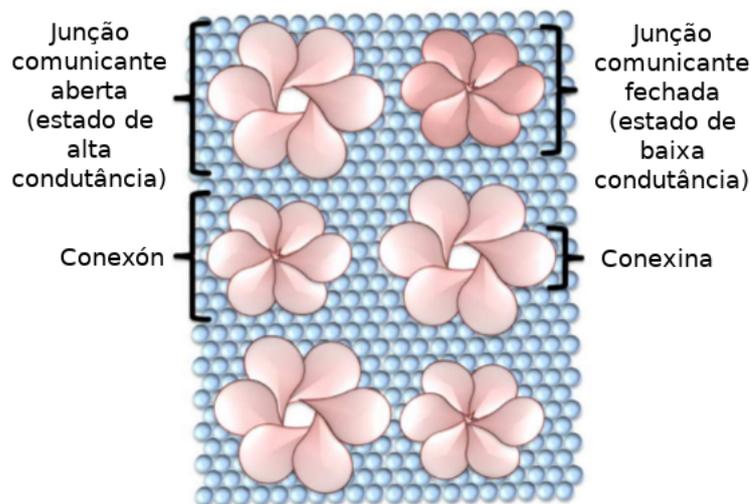
condutância, o que equivale ao estado aberto ou fechado da junção e está relacionado à sua permeabilidade (Barros *et al.* , 2015b).

Figura 2.4 – Vista lateral da junção comunicante.



Fonte: Adaptado de (Barros *et al.* , 2015b).

Figura 2.5 – Vista superior das junções comunicantes.



Fonte: Adaptado de (Barros *et al.* , 2015b).

A permeabilidade (ou seletividade) das junções comunicantes está associada aos aspectos químicos e físicos do ambiente intracelular. A permeabilidade das junções depende, por exemplo, da diferença de potencial intercelular (Slack & Warner, 1975; Spray *et al.* , 1981) ou das concentrações de íons, como Ca^{2+} (Rose & Loewenstein, 1976), H^+ (Turin & Warner,

1980) e AMP cíclico (Tsien & Weingart, 1976; De Mello, 1984). Algumas dessas dependências são conhecidas como não-lineares. Além disso, a alteração na permeabilidade da junção devido a uma mudança de estado celular não ocorre instantaneamente, mas geralmente apresenta um transiente exponencial. Assim, as junções comunicantes proporcionam acoplamento dependente do tempo e do estado das células (Baigent *et al.*, 1997a).

As junções comunicantes são encontradas em muitos tecidos celulares animais com diversas configurações. A distribuição das conexinas por célula tem um impacto fundamental no comportamento de difusão. As mudanças nessas características podem levar a diferentes tipos de doenças, incluindo câncer, isquemia cardíaca e hipertrofia cardíaca (M Kumar & B Gilula, 1996).

Diante disso, o controle do comportamento das junções comunicantes é uma possível ferramenta para sistemas de distribuição de medicamentos e tratamento de doenças. O crescimento celular está diretamente associado com o controle das junções comunicantes: os sinais de crescimento regulatório são transmitidos através de junções comunicantes e a diminuição da capacidade de comunicação pode levar ao crescimento descontrolado em casos extremos, como no câncer (R Loewenstein, 1981).

A sinalização intercelular de Ca^{2+} desempenha dois papéis fundamentais na influência dos canais das junções comunicantes. Ela não apenas ativa o canal das junções comunicantes, com oscilações intercelulares, mas o Ca^{2+} também pode ser transferido para uma célula vizinha por difusão. A difusão intercelular ocorre apenas quando ambos os *conexons* estão abertos (Barros *et al.*, 2015b).

2.2 – Doença de Alzheimer

O principal fator de risco para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas e, em particular, a doença de Alzheimer (DA) é o envelhecimento (Heneka *et al.*, 2015). Existem vários estágios da DA, porém, o mais conhecido, um estágio tardio da DA com demência grave, está ligado à presença de depósitos extracelulares de peptídeo β -amilóide fibrilar e ao acúmulo intraneuronal de agregados da proteína *tau* hiperfosforilada Selkoe (2001). A neurodegeneração ocorre gradualmente e a demência pode refletir o estágio final de um acúmulo de alterações patológicas que começam a desenvolver década(s) antes do início dos sintomas clínicos (Rodriguez-Vieitez *et al.*, 2016).

A hipótese de cálcio para o envelhecimento e a formação da neurodegeneração, inspirada nos experimentos pioneiros de Philip Landfield, surgiu há mais de 30 anos (Khachaturian, 1987; Landfield, 1987; Landfield & Pitler, 1984). Esta hipótese postulou que a desregulação lenta e crescente em cascatas homeostáticas de Ca^{2+} com a idade afeta progressivamente a homeostase celular, a sinalização celular, a transmissão sináptica e, finalmente, a sobrevivência celular; na neurodegeneração, esse processo de desregulação do Ca^{2+} é acelerado, o que leva à morte celular maciça, atrofia cerebral e demência, como são observados na DA (Toescu *et al.*, 2004; Verkhratsky & Toescu, 1998).

Diversas cascatas moleculares reguladoras de Ca^{2+} parecem estar desreguladas em neurônios submetidos a transformações degenerativas. Essas alterações surgem tanto de interações diretas entre moléculas que manipulam β -amilóide quanto de Ca^{2+} , ou podem se desenvolver independentemente das primeiras, sendo provavelmente uma parte da evolução patológica. A capacidade do β -amilóide para formar canais permeáveis ao Ca^{2+} plasmático e causar influxo maciço e deletério de Ca^{2+} nas células neuronais foi observada no início da década de 1990 (Mattson *et al.*, 1992; Arispe *et al.*, 2007; Resende *et al.*, 2008).

2.3 – Modelagem do Tecido Saudável

2.3.1 – Modelo da Sinalização de Cálcio

O modelo desenvolvido neste trabalho para o processo de sinalização de Ca^{2+} em astrócitos se baseia nas equações diferenciais ordinárias (EDO) propostas por Lavrentovich & Hemkin (2008b). Esse modelo está em concordância com observações experimentais (Lavrentovich & Hemkin, 2008b), e foi estudado, também, em sistemas de comunicação molecular por Barros *et al.* (2015a). Os três reservatórios da célula inclusos no modelo são: a concentração de Ca^{2+} no citosol, C_a (Equação 2.1); a concentração de Ca^{2+} no retículo endoplasmático, E_a (Equação 2.2); e a concentração de IP_3 , I_a (Equação 2.3). Esses reservatórios são representados pela seguintes equações:

$$\frac{dC_a}{dt} = \sigma_0 - \kappa_o C_a + \sigma_1 - \sigma_2 + \kappa_f (E_a - C_a), \quad (2.1)$$

$$\frac{dE_a}{dt} = \sigma_2 - \sigma_1 - \kappa_f (E_a - C_a), \quad (2.2)$$

$$\frac{dI_a}{dt} = \sigma_3 - \kappa_d I_a, \quad (2.3)$$

A variável σ_0 representa o fluxo de Ca^{2+} do espaço extracelular para o interior do citosol, $k_o C_a$ é a taxa de fluxo de Ca^{2+} do citosol para o espaço extracelular, $k_f(E_a - C_a)$ é o fluxo líquido do retículo endoplasmático para o interior do citosol, e $k_d I_a$ é a degradação de IP_3 .

O termo σ_1 (Equações 2.1, 2.2 e 2.4) modela o fluxo de Ca^{2+} do retículo endoplasmático para o citosol, via estimulação por IP_3 . Observa-se que esse mecanismo afeta diretamente a concentração citosólica de Ca^{2+} .

$$\sigma_1 = 4v_{M3} \frac{\kappa_{C1}^n C_a^n}{(C_a^n + \kappa_{C1}^n)(C_a^n + \kappa_{C2}^n)} \cdot \frac{I_a^m}{\kappa_I^m + I_a^m} (E_a - C_a) \quad (2.4)$$

Em que v_{M3} é o valor máximo de fluxo de Ca^{2+} no citosol, κ_{C1}^n e κ_{C2}^n são as variáveis ativadoras e inibitórias para o IP_3 , e m e n são os coeficientes de Hill (Barros *et al.*, 2018).

O efluxo de Ca^{2+} do retículo sarco(endo)plasmático para o retículo endoplasmático é modelado por σ_2 (Equações 2.1, 2.2 e 2.5),

$$\sigma_2 = v_{M2} \frac{C_a^2}{\kappa_2^2 + C_a^2}, \quad (2.5)$$

em que v_{M2} é o fluxo máximo de Ca^{2+} no processo de efluxo de Ca^{2+} do retículo sarco(endo)plasmático para o retículo endoplasmático. Por fim, σ_3 (Equações 2.3 e 2.6) descreve a geração de IP_3 pela proteína PLC,

$$\sigma_3 = v_p \frac{C_a^2}{k_p^2 + C_a^2}, \quad (2.6)$$

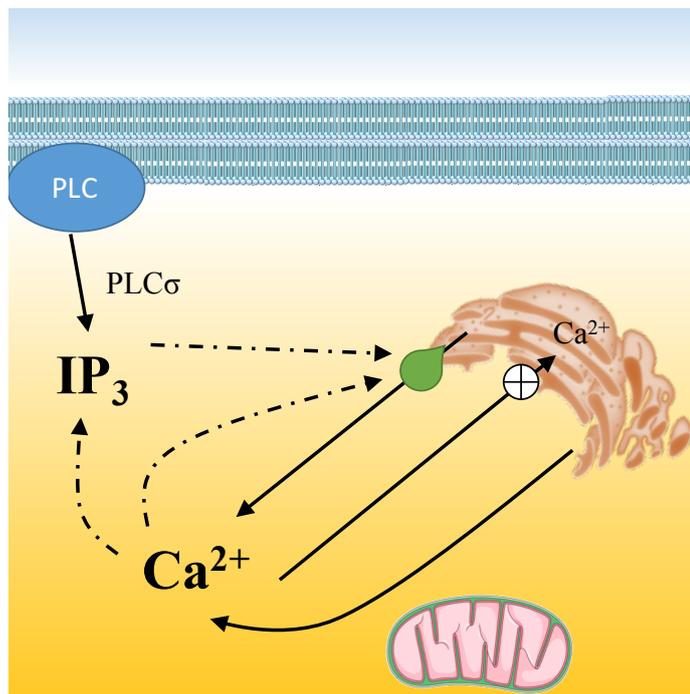
em que v_p é o fluxo máximo de Ca^{2+} no processo de geração de IP_3 pela proteína PLC, e p é o coeficiente de Hill (Barros *et al.*, 2018).

A Figura 2.6 ilustra os processos e variáveis envolvidas nas equações diferenciais apresentadas anteriormente. Como pode ser observado, os níveis de Ca^{2+} e IP_3 são regulados pela proteína PLC e o retículo endoplasmático.

2.3.2 – Modelo das Junções Comunicantes

O modelo estocástico das junções comunicantes, introduzido por Baigent *et al.* (1997b), foi primeiro estudado para a comunicação molecular por Kilinc & Akan (2013) e,

Figura 2.6 – Modelo da Sinalização de Cálcio em um tecido saudável.



Fonte: (Barros *et al.*, 2018)

posteriormente, por Barros *et al.* (2015a). Foram consideradas junções comunicantes sensíveis à tensão com dois estados de condutância para cada conexina: um estado aberto de alta condutância e um estágio fechado de baixa condutância. Em seguida, as quatro combinações básicas dos estados foram consideradas:

- ▣ Estado *HH*: ambas as estruturas estão abertas, ou seja, em um estado de alta condutância. Essa probabilidade é indicada por p_{HH} ;
- ▣ Estado *HL*: Uma estrutura está em um estado de alta condutância (aberta) e a outra está em um estado de baixa condutância (fechada). Esta probabilidade é indicada por p_{HL} ;
- ▣ Estado *LH*: Uma estrutura está em um estado de baixa condutância (fechada) e a outra está em um estado de alta condutância (aberta). Esta probabilidade é indicada por p_{LH} ;
- ▣ Estado *LL*: ambas as estruturas estão fechadas, ou seja, em um estado de baixa condutância. Esta probabilidade é indicada por p_{LL} .

A validação experimental do modelo indicou que o estado *LL* apresenta taxas de ocorrência muito baixas (Bukauskas *et al.*, 2001), e, dessa forma, pode ser desprezado. Assim,

$$p_{HH} + p_{HL} + p_{LH} = 1. \quad (2.7)$$

Além disso, p_{HH} , p_{HL} e p_{LH} estão inter-relacionadas da seguinte forma:

$$\frac{dp_{HL}}{dt} = \beta_1(\vartheta_j) \times p_{HH} - \alpha_1(\vartheta_j) \times p_{LH}, \quad (2.8)$$

$$\frac{dp_{LH}}{dt} = \beta_2(\vartheta_j) \times p_{HH} - \alpha_2(\vartheta_j) \times p_{HL}, \quad (2.9)$$

em que o controle da permeabilidade das junções comunicantes é mediado por meio da diferença de potencial da membrana de duas células adjacentes (ϑ_j), a taxa de abertura da estrutura é α e a taxa de fechamento da estrutura é β . Os termos $\alpha_1(\vartheta_j)$, $\alpha_2(\vartheta_j)$, $\beta_1(\vartheta_j)$ e $\beta_2(\vartheta_j)$ são definidos como:

$$\alpha_1(\vartheta_j) = \lambda e^{-A_\alpha(\vartheta_j - \vartheta_0)}, \quad (2.10)$$

$$\alpha_2(\vartheta_j) = \lambda e^{A_\alpha(\vartheta_j + \vartheta_0)}, \quad (2.11)$$

$$\beta_1(\vartheta_j) = \lambda e^{A_\beta(\vartheta_j - \vartheta_0)}, \quad (2.12)$$

$$\beta_2(\vartheta_j) = \lambda e^{-A_\beta(\vartheta_j + \vartheta_0)}, \quad (2.13)$$

em que ϑ_0 é a tensão de junção, e as taxas de abertura e de fechamento das junções comunicantes têm o mesmo valor comum, λ ; A_α e A_β são constantes que indicam a sensibilidade de uma junção comunicante à tensão de junção (Barros *et al.*, 2015a).

2.4 – Modelo do Tecido sob Influência da Doença de Alzheimer

A hipótese do β -amilóide é essencial para capturar mudanças na sinalização de cálcio nos astrócitos com o objetivo de quantificar o sinal propagado no cérebro como um todo. Em estágios posteriores – mais avançados – da DA, as placas β -amilóide no cérebro interagem com as células; e, nos astrócitos, a concentração global de cálcio é alterada (Barros *et al.*, 2018).

Os efeitos temporais e espaciais deste aumento não são bem explorados pela comunidade neurocientífica e a caracterização da relação entre os astrócitos afetados e suas redes ainda está ausente. Como os esforços experimentais nesse cenário são raros devido às limitações de recursos e de infra-estrutura, as abordagens computacionais são o método mais acessível para estudar tais sistemas (Barros *et al.*, 2018).

Rumo a essa direção, será apresentado um modelo de sinalização de cálcio intracelular em um tecido de astrócitos sob a influência de placas β -amilóides, visando estudar o efeito da DA nessas células. O modelo desenvolvido é uma tentativa de integrar tanto modelos computacionais validados existentes quanto resultados experimentais na direção de uma descrição mais completa do cenário estudado. Não é um processo de integração simples, pois sua construção foi cuidadosamente realizada para manter relações lineares e não-lineares válidas entre as variáveis.

2.4.1 – Modelo da Sinalização

O modelo de referência para a sinalização de cálcio intracelular de astrócitos utilizado neste trabalho se baseia no trabalho de Toivari *et al.* (2011). Foram utilizados quatro reservatórios e, portanto, quatro EDOs para quantificar as alterações ao longo do tempo: a concentração de Ca^{2+} citoplasmático (C), concentração de Ca^{2+} no retículo endoplasmático (E), concentração de IP_3 (I) e IP_3R ativo (R). Primeiro, consideremos

$$\frac{dC}{dt} = J_{VGCC} + v_{CCE} + v_{iR} - V_{OUT} + V_{ER(leak)} + V_{ER(rel)} - V_{SERCA}, \quad (2.14)$$

$$\frac{dE}{dt} = \beta (v_{SERCA} - v_{ER(leak)} - v_{ER(rel)}), \quad (2.15)$$

em que J_{VGCC} , v_{CCE} , v_{iR} , V_{OUT} , $V_{ER(leak)}$, V_{SERCA} e β representam, respectivamente, o influxo de cálcio através dos canais de cálcio controlados por tensão, captação de cálcio CCE (entrada de cálcio capacitiva; do inglês, *capacitive calcium entry*), taxa de receptor ionotrópico, extrusão de cálcio, taxa de vazamento de cálcio do retículo endoplasmático, taxa de liberação de cálcio do retículo endoplasmático, bombeamento de cálcio do retículo endoplasmático, e proporção dos volumes eficazes de cálcio de citoplasma e do RE. Nas Equações 2.14 e 2.15, os efeitos do armazenamento de cálcio (rápido) nas reservas do citoplasma e do retículo endoplasmático são

contabilizados pela definição de constantes de velocidade efetivas e um coeficiente de difusão efetivo.

Assumiu-se uma taxa não-linear de cálcio regulador de capacitância, conforme descrito em Di Garbo *et al.* (2007),

$$v_{CCE} = \frac{k_{CCE}H_{CCE}^2}{H_{CCE}^2 + E^2}, \quad (2.16)$$

em que k_{CCE} e H_{CCE} são a constante de taxa máxima para o influxo CCE e a constante de meia inativação para o influxo CCE, respectivamente. A taxa de influxo de cálcio, induzida por receptores ionotrópicos, do espaço extracelular para o citosol foi modelada como em Di Garbo *et al.* (2007):

$$v_{iR} = k_{ATP(p2x)} \frac{[ATP]_{ex}^{1.4}}{(H_{ATP(p2x)} + [ATP]_{ex}^{1.4})}, \quad (2.17)$$

em que $k_{ATP(p2x)}$ e $H_{ATP(p2x)}$ são a taxa máxima de influxo de cálcio ionotrópico evocado por estímulos e a constante de meia saturação para cálcio ionotrópico evocado por estímulos.

As seguintes equações de lei de taxa são escolhidas para modelar a liberação de cálcio induzida por cálcio e pelo IP_3 , bem como a regulação do cálcio do retículo endoplasmático. Eles são modelados da seguinte forma:

$$V_{OUT} = k_5C, \quad (2.18)$$

$$v_{ER(leak)} = k_1(E - C), \quad (2.19)$$

$$v_{ER(rel)} = \frac{k_2RC^2I^2}{[(K_a^2 + C^2)(K_{IP_3}^2 + I^2)]}(E - C), \quad (2.20)$$

$$v_{SERCA} = k_3C, \quad (2.21)$$

em que os termos k_5 , k_1 , k_2 , k_a , K_{IP_3} e k_3 são a taxa de extrusão de cálcio da membrana plasmática, a taxa de vazamento de cálcio do retículo endoplasmático, a taxa de liberação de cálcio através de receptores de IP_3 , a constante de meia saturação para ativação de cálcio do receptor de IP_3 e a constante de meia saturação para ativação de IP_3 do receptor correspondente,

respectivamente. Embora existam evidências de que o retículo endoplasmático sofre estresse sob a influência do β -amilóide (Alberdi *et al.*, 2013), não foi possível encontrar dados suficientes para construir um modelo baseado em equações, portanto, este fenômeno não foi explorado dentro do presente modelo.

2.4.2 – Dinâmica do IP_3

A dinâmica IP_3 dos astrócitos permite modelar o processo de sinalização dos astrócitos da DA com o controle direto do cálcio citosólico, o que ajuda na obtenção de resultados próximos às experiências *in-vitro*. Além da ativação do IP_3R pelo cálcio citoplasmático, também foi considerada a inativação mais lenta induzida pelo cálcio. Foram utilizados a concentração do IP_3 (I), e o IP_3R ativo (R), sendo descritos como:

$$\frac{dR}{dt} = v_{IP3R(Rec)} - v_{IP3R(Inact)}, \quad (2.22)$$

$$\frac{dI}{dt} = J_{prod} - v_{IP3(Deg)} + \mathcal{D}_i^I(I_i, I_j | j \in \mathcal{N}_i), \quad (2.23)$$

$$v_{IP3(Deg)} = k_9 I, \quad (2.24)$$

$$v_{IP3R(Rec)} = k_6 \frac{K_i^2}{(K_i^2 + C^2)}, \quad (2.25)$$

$$v_{IP3R(Inact)} = k_6 R, \quad (2.26)$$

em que $v_{IP3R(Rec)}$ e $v_{IP3R(Inact)}$ são as taxas de produção e inativação de IP_3R , respectivamente. k_9 , k_6 e K_i são a constante de taxa de degradação de IP_3 , a constante de taxa de inativação de IP_3 e a constante de meia saturação para ativação de cálcio do receptor de IP_3 , respectivamente.

A modelagem de sinais de cálcio complexos deve incluir processos estocásticos no caminho do IP_3 e, assim, imitar os efeitos do β -amilóide sobre o cálcio intracelular (Matrosov *et al.*, 2017). Portanto, foi adicionado mais um termo à produção estocástica de IP_3 por ativação espontânea de $PLC\delta$ ou por ativação de $PLC\beta$ por entradas sinápticas

estocásticas (Lavrentovich & Hemkin, 2008b; Aguado *et al.*, 2002). Assim, a produção de IP_3 por isoenzimas de PLC é descrita por Wu *et al.* (2014) com

$$J_{prod}(t) = O_\beta \mathcal{U}_\beta(0, 1|t_k) \sum_k \delta(t - t_k) + O_\delta \mathcal{U}_\delta(0, 1|v_n) \sum_n \delta(t - v_n), \quad (2.27)$$

onde $\mathcal{U}_x(0, 1|t)$ (com $x = \beta, \delta$) denota a geração de um número aleatório no tempo t seguindo uma distribuição uniforme, e representa modulações da taxa máxima de produção de IP_3 ; t_k e v_n representam, respectivamente, os instantes de nucleação sináptica evocada e espontânea de picos de IP_3 /cálcio, que podem ser aproximado pela distribuição de Poisson, seguindo observações experimentais (Softky & Koch, 1993; Skupin *et al.*, 2008).

Para explicar a distribuição esparsa de IP_3 dentro da rede, incorporamos sua difusão no modelo geral de dinâmica IP_3 . O fluxo de difusão global é definido como uma soma de um conjunto do fluxo individual de IP_3 da célula i a j dentro do conjunto de células vizinhas \mathcal{N}_i , e é matematicamente definido como

$$\mathcal{D}_i^I(I_i, I_j | j \in \mathcal{N}_i) = \sum_{j \in \mathcal{N}_i} J_{ij}, \quad (2.28)$$

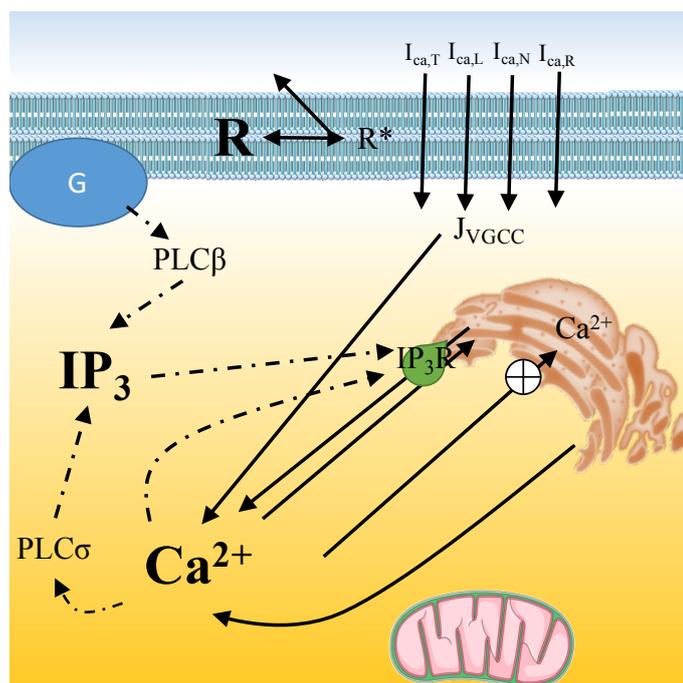
em que cada fluxo J_{ij} é denifido por (Lallouette, 2014):

$$J_{ij} = -\frac{\zeta_{ij}}{2} \cdot \left(1 + \tanh \left(\frac{|\Delta I_{ij} - I_\theta|}{\omega_I} \right) \right) \cdot \frac{\Delta I_{ij}}{|\Delta I_{ij}|}, \quad (2.29)$$

em que ΔI_{ij} é o gradiente de IP_3 entre j e i ; I_θ é o limiar do gradiente de IP_3 difusivo, inclinação de aumento ω_I de ΔI_{ij} e ζ_{ij} é o fluxo máximo do coeficiente de difusão. Este modelo permite a influência direta de multi-escala de β -amilóide ao interferir com a produção de IP_3 dentro dos astrócitos, e sua propagação na rede, com o processo de transporte não-linear apresentado acima.

A Figura 2.7 ilustra os processos e variáveis envolvidas nas equações diferenciais apresentadas nesta seção e na seção anterior (Seção 2.4.1). Neste novo cenário, como pode ser observado, os níveis de Ca^{2+} e IP_3 são regulados pela proteína G, proteína PLC, retículo endoplasmático e pelos canais de cálcio controlados por tensão.

Figura 2.7 – Modelo da Sinalização de Cálcio em um tecido sob influência do β -amilóide (Doença de Alzheimer).



Fonte: (Barros *et al.*, 2018)

2.4.3 – Modelo das Junções Comunicantes

Foi investigado como as pesquisas existentes na literatura, referentes à Doença de Alzheimer, poderiam impactar no modelo de junção comunicantes apresentado na Seção 2.3.2. Estudos experimentais apresentaram resultados para o comportamento de junções comunicantes sob a influência de β -amilóide para astrócitos em ambos os contextos *in vitro* e *in vivo* (Cruz *et al.*, 2010; Haughey & Mattson, 2003). Esses estudos observaram que mesmo com as mudanças nas vias de cálcio, amplitude e velocidade do sinal, o desempenho das junções comunicantes não foi alterado e, portanto, resultados inconclusivos foram alcançados. Por esse motivo, foi utilizado o mesmo modelo das junção comunicantes apresentado na Seção 2.3.2.

2.4.4 – Modelos do VGCC das Membranas Celulares

Os canais de cálcio controlados por tensão são mecanismos que aumentam a concentração de cálcio das células devido aos valores do potencial da membrana, que podem ser provenientes de diferentes fontes que são caracterizadas com diferentes tipos de corrente. Estudos sobre a influência do β -amilóide no VGCC dos astrócitos podem ser encontrados no trabalho de Zeng *et al.* (2009b).

Para analisar essa influência é necessário que, primeiramente, seja calculada a contribuição atual para o aumento da concentração de cálcio, que é expressa em termos da corrente nos canais, a qual é convertida no fluxo como

$$J_{VGCC} = -\frac{I_{VGCC}}{zFV_{ast}}, \quad (2.30)$$

em que V_{ast} é o volume de um astrócito, considerado como um soma⁸ esférico com um raio de 5 mm; z é a valência do cálcio e F é a constante de Faraday. J_{VGCC} é a taxa de variação da concentração de cálcio.

O total de fluxo de corrente de cálcio através de VGCCs em uma célula individual (I_{VGCC}) é dado por

$$I_{VGCC} = I_{Ca,T} + I_{Ca,L} + I_{Ca,N} + I_{Ca,R}, \quad (2.31)$$

em que, $I_{Ca,T}$, $I_{Ca,L}$, $I_{Ca,N}$ e $I_{Ca,R}$ (respectivamente, a corrente do canal de cálcio do tipo T, a corrente do tipo L, a corrente de tipo N, a corrente de canal de cálcio residual ativada por alta tensão) são as correntes de estado estacionário de VGCCs que fornecem o I_{VGCC} . Elas podem ser definidas genericamente como demonstrado por Zeng *et al.* (2009b), no entanto, neste trabalho são fornecidas as fórmulas específicas para cada tipo de corrente, as quais estão dispostas em detalhes na Tabela 2.1. Dessa forma, não apenas o fluxo total de cálcio, mas também o influxo de rede via diferentes VGCCs podem ser calculados. Eles dependem da ativação do canal (m) e da inativação do canal (h), que pode ser definida como

$$\frac{dm}{dt} = \frac{\bar{m} - m}{\tau_m}, \quad \frac{dh}{dt} = \frac{\bar{h} - h}{\tau_h}. \quad (2.32)$$

As fórmulas também são dependentes da tensão de membrana (V) e do potencial de cálcio de Nernst (E_{ca}), sendo definidas:

$$E_{ca} = \frac{GT}{zF} \cdot \ln\left(\frac{V_{OUT}}{C}\right), \quad (2.33)$$

em que G é a constante do gás ideal, e T é a temperatura (em Kelvin).

⁸Ou corpo celular.

Tabela 2.1 – Equações para cada tipo de corrente de cálcio.

Tipo de Canal	Equação da cinética do canal
Tipo T	$I_{Ca,T} = \bar{g}_T m_T (h_{Tf} + 0.04h_{Ts})(V - E_{Ca})$ $\bar{m}_T = \frac{1.0}{1.0 + e^{-(V+63.5)/1.5}} \bar{h}_T = \frac{1.0}{1.0 + e^{(V+76.2)/3.0}}$ $\tau_{h_{Tf}} = 50.0e^{-((V+72)/10)^2} + 10$ $\tau_{h_{Ts}} = 400.0e^{-((V+100)/10)^2} + 400$ $\tau_{m_T} = 65.0e^{-((V+68)/6)^2} + 12$
Tipo L	$I_{Ca,L} = \bar{g}_L m_L h_L (V - E_{Ca})$ $\bar{m}_L = \frac{1.0}{1.0 + e^{-(V+50.0)/3.0}} \bar{h}_L = \frac{0.00045}{0.00045 + Ca_{cyt}}$ $\tau_{m_L} = 18.0e^{-((V+45)/20)^2} + 1.5$
Tipo N	$I_{Ca,N} = \bar{g}_N m_N h_N (V - E_{Ca})$ $\bar{m}_N = \frac{1.0}{1.0 + e^{-(V+45.0)/7.0}}$ $h_N = \frac{0.00010}{0.00010 + Ca_{cyt}}$ $\tau_{m_N} = 18.0e^{-((V+70)/25)^2} + 0.30$
Tipo R	$I_{Ca,R} = \bar{g}_R m_R h_R (V - E_{Ca})$ $\bar{m}_R = \frac{1.0}{1.0 + e^{-(V+10.0)/10.0}} \bar{h}_R = \frac{1.0}{1.0 + e^{(V+48.0)/5.0}}$ $\tau_{m_R} = 0.1e^{-((V+62.0)/13.0)^2} + 0.05$ $\tau_{h_{Rf}} = 0.5e^{-((V+55.6)/18.0)^2} + 0.5$

2.4.5 – Modelo do Volume do Astrócito

Utilizando uma abordagem imuno-histoquímica, Olabarria *et al.* (2010) observaram a atrofia dos astrócitos pela medição da superfície, volume e a relação entre os astrócitos e as placas neuríticas. Seus resultados são relevantes para observações temporais das mudanças do volume dos astrócitos. No entanto, uma vez que nos concentramos nos estágios posteriores da DA, modificamos o volume de astrócitos com base em seus resultados de $19,635 \mu\text{m}^3$ para $11,027 \mu\text{m}^3$, representando um total de 43,84% do volume celular inicial.

2.5 – Modelos de Disparos dos Neurônios

Nesta seção serão apresentadas as seis classes mais comuns de padrões de disparos de neurônios observados no neocórtex de mamíferos. Embora muitos biólogos apontem que essa classificação apresentada é muito simplificada (Markram *et al.*, 2004), que a distinção entre as classes não é nítida, que existem subclasses dentro de cada classe (Nowak *et al.*, 2003) ou que os neurônios podem mudar sua classe de disparos dependendo do estado do cérebro, a maioria dos biólogos concordam com essa classificação (Wang *et al.*, 2004).

Cada um dos principais padrões de disparos em neurônios contidos nessa classificação podem ser simulados computacionalmente. Esse modelo deve ser: 1) computacionalmente simples, e 2) capaz de reproduzir com fidelidade o padrão de disparos apresentados por neurônios biológicos reais. O modelo desenvolvido por (Izhikevich, 2003), conhecido por Modelo Simples de Disparos de Neurônios, é capaz de satisfazer as duas condições descritas anteriormente. Dependendo de quatro parâmetros, o modelo reproduz os padrões de disparos conhecidos de neurônios.

Esse modelo descreve os neurônios, matematicamente, como um sistema de equações diferenciais ordinárias bidimensional na forma

$$v' = 0,04v^2 + 5v + 140 - u + I \quad (2.34)$$

$$u' = a(bv - u), \quad (2.35)$$

com uma redefinição pós-disparo definida pela relação:

$$\text{se } v \geq 30 \text{ mV, então, } \begin{cases} v \leftarrow c \\ u \leftarrow u + d \end{cases} . \quad (2.36)$$

Nas Equações 2.34, 2.35 e 2.36, v e u são variáveis adimensionais; a , b , c e d são parâmetros adimensionais, e $' = d/dt$, em que t é o tempo (Izhikevich & Moehlis, 2008).

A variável v representa o potencial de membrana do neurônio e u representa a corrente de recuperação da membrana. Depois que o disparo atinge o seu ápice (+30 mV), a tensão de membrana e a corrente de recuperação são redefinidas de acordo com a Equação 2.36. A variável I é responsável por entregar correntes sinápticas ou injetar um componente CC (Izhikevich & Moehlis, 2008).

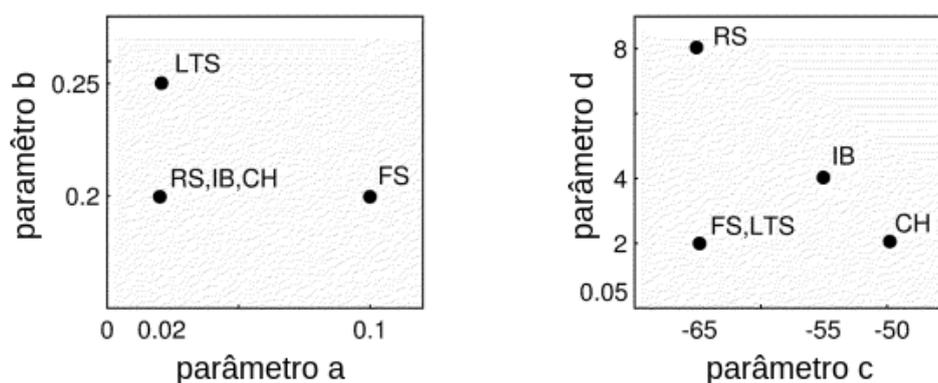
O potencial de repouso neste modelo é entre -70 e -60 mV, dependendo do valor de b . Como na maioria dos neurônios reais, o modelo não tem um limiar fixo; dependendo do histórico do potencial de membrana que antecede o disparo, o limiar do potencial pode ser -55 mV ou mesmo -40 mV (Izhikevich, 2003).

Os quatro parâmetros utilizados no modelo – presentes nas Equações 2.34 e 2.35 – são descritos abaixo (Izhikevich, 2003):

- ▣ O parâmetro a descreve a escala de tempo da variável de recuperação u . Valores menores para esse parâmetro resultam em recuperações mais lentas.
- ▣ O parâmetro b descreve a sensibilidade da variável de recuperação u às flutuações dos limiares do potencial de membrana v . Valores maiores de v e u resultam mais intensamente em possíveis oscilações nos limiares e produzem uma dinâmica de disparos com limiares baixos. Um valor típico é $b = 0,2$.
- ▣ O parâmetro c representa o valor de redefinição após o pico do potencial de membrana v causado pelas condutâncias K^+ de alto limiar rápido. Um valor típico é $c = -65$.
- ▣ O parâmetro d descreve a redefinição após o pico da variável de recuperação u causada pelas condutâncias Na^{2+} e K^+ de alto limiar lento. Um valor típico é $d = 2$.

A variação dos parâmetros acima produz os diversos padrões de disparos. Neste trabalho serão considerados os seis principais padrões de disparos em neurônios, os quais serão descritos com detalhes nas próximas subseções, incluindo os valores dos parâmetros elencados anteriormente que devem ser utilizadas no processo de simulação computacional, os quais também são apresentados por meio dos gráficos da Figura 2.8.

Figura 2.8 – Os diferentes valores para os parâmetros a , b , c e d em cada um dos diferentes padrões de disparos de neurônios.



Fonte: Adaptado de (Izhikevich, 2003).

2.5.1 – Neurônios de Disparos Regulares (RS)

Os neurônios de disparos regulares (RS) são a principal classe de neurônios excitatórios no neocórtex. Quando apresentam um estímulo prolongado, os neurônios disparam alguns picos com um curto período entre os picos e, então, o período aumenta. Isso é chamado de adaptação

da frequência de pico. Aumentar a força da corrente CC injetada aumenta a frequência entre picos, embora nunca se torne muito rápido devido a grandes picos após hiperpolarizações. No modelo, isso corresponde a $c = 0,65$ mV e $d = 8$ (Izhikevich, 2003).

2.5.2 – Neurônios *Intrinsically Bursting* (IB)

Os neurônios IB (do inglês, *intrinsically bursting*) disparam uma explosão de picos seguidos por picos únicos repetitivos (ver Figura 2.9). No modelo, esse padrão corresponde a $c = 0,55$ mV e $d = 4$. Durante a explosão inicial, a variável u se acumula e, em seguida, muda a dinâmica de explosão para disparos (Izhikevich, 2003).

2.5.3 – Neurônios *Chattering* (CH)

Os neurônios CH (do inglês, *chattering*) podem disparar rajadas de picos espaçados. A frequência entre essas rajadas pode chegar a 40 Hz. No modelo, esse padrão corresponde a $c = 0,50$ mV e $d = 2$ (Izhikevich, 2003).

2.5.4 – Neurônios *Fast Spiking* (FS)

Os neurônios de FS (do inglês, *fast spiking*) podem disparar trens periódicos de potenciais de ação com frequência extremamente alta, praticamente sem nenhuma adaptação (desaceleração), como se pode ver na Figura 2.9. No modelo, isso corresponde a $a = 0.1$ (Izhikevich, 2003).

2.5.5 – Neurônios *Low-threshold Spiking* (LTS)

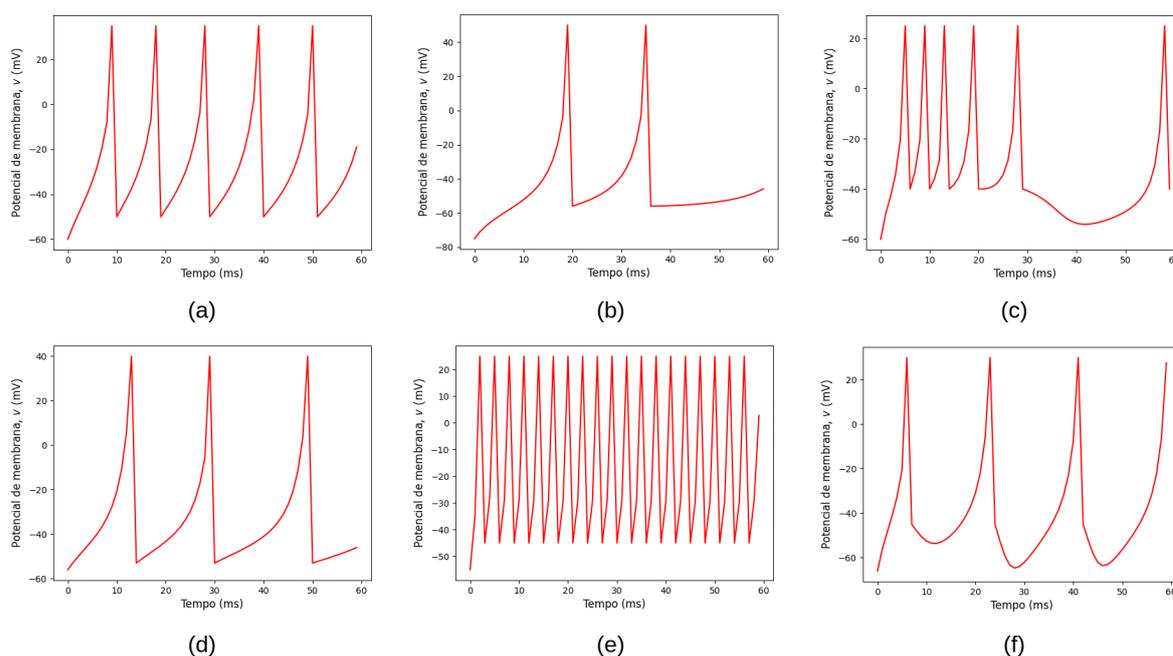
Os neurônios LTS (do inglês, *low-threshold spiking*) também podem disparar trens de alta frequência de potenciais de ação (ver Figura 2.9), mas com uma adaptação notável da frequência de pico. Esses neurônios têm limiares de disparo baixos, o que é explicado por $b = 0,25$ no modelo. Para obter um melhor ajuste quantitativo com os neurônios LTS reais, outros parâmetros do modelo também precisam ser alterados (ver Figura 2.8) (Izhikevich & Moehlis, 2008).

2.5.6 – Neurônios *Late Spiking* (LS)

Os neurônios LS (do inglês, *late spiking*, ou de pico tardio) apresentam um aumento linear de tensão de membrana em resposta à corrente DC injetada, resultando em pico de

atraso com latências de, em média, 1 segundo. Há uma oscilação acentuada do limiar durante o aumento linear, mas a frequência de descarga é muito menor que a dos neurônios FS (Izhikevich & Moehlis, 2008). Morfologicamente, os neurônios LS são interneurônios não-piramidais encontrados em todas as camadas do neocórtex, especialmente na camada 1 (Kubota & Kawaguchi, 1997; Kawaguchi *et al.*, 1995; Chu *et al.*, 2003).

Figura 2.9 – Diferentes padrões de disparos de neurônios em um intervalo de 60 ms: (a) RS; (b) IB; (c) CH; (d) LTS; (e) FS; (f) LS.



Fonte: Elaborada pelo autor.

2.6 – Modelo das Topologias da Rede de Astrócitos

A distribuição espacial dos astrócitos e sua conectividade podem determinar o padrão de propagação espacial das ondas de Ca^{2+} e alterar o desempenho do sistema de comunicação molecular utilizando esse canal. É importante que esses padrões sejam caracterizados e analisados para que possam surgir novas técnicas para lidar, especificamente, com os detalhes que envolvem esse tipo (ou padrão) de tecido.

As redes de astrócitos são caracterizadas por exibir um grande número médio de conexões por célula, conexões célula-célula de longa distância, ou conexões de atalho que podem promover, coletivamente, a propagação do sinal. O processo de mapeamento das topologias de redes de astrócitos é desafiador e baseia-se em abordagens experimentais

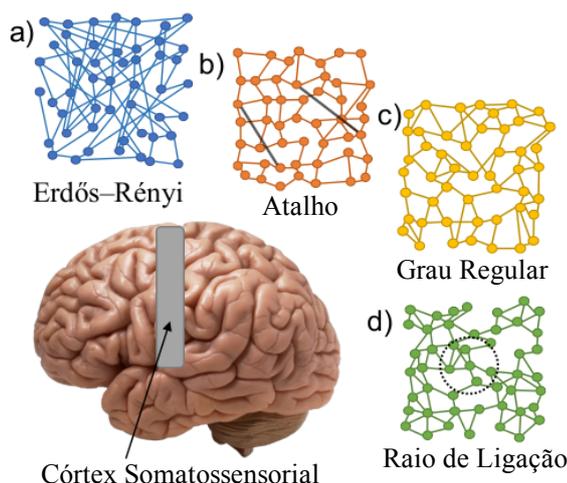
sofisticadas que combinam tanto o processo molecular que regula a sinalização quanto a abordagem em imagens, que, em conjunto, permitem a obtenção de uma reconstrução da topologia.

Em Lallouette *et al.* (2014a), os autores apresentaram uma coleção de quatro topologias, que foram coletadas a partir de uma revisão de literatura na área, incluindo as topologias de grau regular, raio de ligação, redes de atalho e Erdős-Rényi. Eles foram capazes de obter topologias de rede de astrócitos a partir de modelos de teoria de grafos conhecidos, os quais representam a diversidade de conexões encontrada no córtex somatossensorial do cérebro (Houades *et al.* , 2008).

Neste trabalho foi utilizada a mesma metodologia para modelar as topologias de rede de astrócitos, que serão detalhadas a seguir, e integrar em nosso modelo computacional molecular apresentado nas seções anteriores. No final, esses modelos nos permitirão obter também a caracterização espaço-temporal da propagação do sinal de cálcio em diferentes topologias de redes de astrócitos. As topologias utilizadas neste trabalho são apresentadas na Seção 3.1.

A Figura 2.10 ilustra os diferentes tipos de configurações de rede de astrócitos que são encontrados no interior do córtex somatossensorial do cérebro. Esses tipos de configurações de rede serão apresentados com maiores detalhes nas próximas subseções.

Figura 2.10 – Os diferentes tipos de redes tridimensionais de astrócitos dentro do córtex somatossensorial do cérebro.

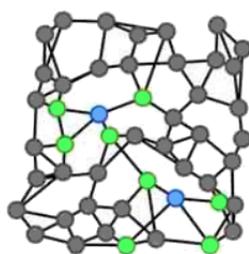


Fonte: Adaptado de (Houades *et al.* , 2008).

2.6.1 – Redes de Grau Regular

As redes de grau regular (do inglês, *Regular Degree networks*) são construídas acoplando cada vértice da rede aos seus k vizinhos, espacialmente, mais próximos. Em geral, esses k vértices mais próximos podem ser definidos pelo cálculo da distância euclidiana ou podem ser definidos, simplesmente, mediante à geometria da rede. Cada vértice nessa rede é, portanto, acoplado exatamente ao mesmo número de vértices (k). Na Figura 2.11 é apresentado um esquema de acoplamento para esta topologia para o caso em que $k = 4$ (Lallouette *et al.* , 2014b).

Figura 2.11 – Ilustração dos acoplamentos em uma rede de grau regular.

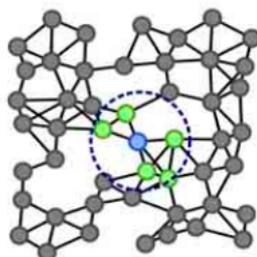


Fonte: Adaptado de (Lallouette *et al.* , 2014b).

2.6.2 – Redes de Raio de Ligação

As redes de Raio de Ligação (do inglês, *Link Radius networks*) são construídas por meio do acoplamento de cada vértice a todas os vértices que são encontrados a uma distância inferior ou igual a d , em que d é o raio. Portanto, o número de vértices distintos acopladas a cada vértice em redes de raio de ligação é uma variável aleatória, cujo valor médio ($\langle k \rangle$) aumenta com d (Lallouette *et al.* , 2014b). Na Figura 2.12 é apresentado um esquema de acoplamento dessa topologia.

Figura 2.12 – Ilustração dos acoplamentos em uma rede de raio de ligação.

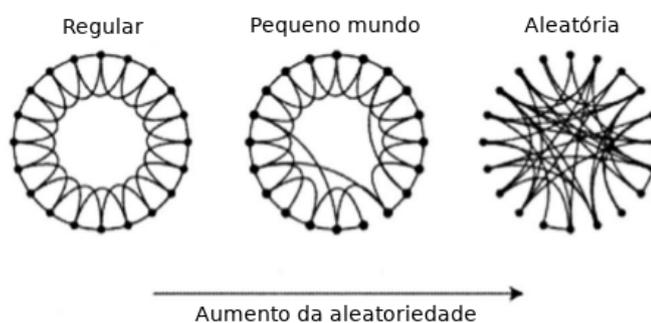


Fonte: Adaptado de (Lallouette *et al.* , 2014b).

2.6.3 – Redes de Atalho

A rede de Atalho (do inglês, *Shortcut networks*) – ou rede de Pequeno Mundo – foi proposta por Watts e Strogatz (1998). Eles projetaram um modelo de rede que está entre uma rede de grau regular de dimensões finitas e uma rede aleatória, conforme apresentado na Figura 2.13.

Figura 2.13 – O posicionamento das Redes de Pequeno Mundo entre as Redes de Grau Regular e as Redes Aleatórias, no que se refere a aleatoriedade.



Fonte: Adaptado de (Albert & Barabási, 2002).

Esse modelo tem suas raízes em sistemas sociais em que a maioria das pessoas são amigas de seus vizinhos imediatos – vizinhos na mesma rua, colegas, pessoas que os seus amigos os apresentam. No entanto, todos têm um ou dois amigos que estão muito longe – pessoas de outros países, velhos conhecidos – que são representados pelas bordas de longo alcance obtidas pela reconexão no modelo Watts-Strogatz (Albert & Barabási, 2002).

2.6.4 – Erdős-Rényi

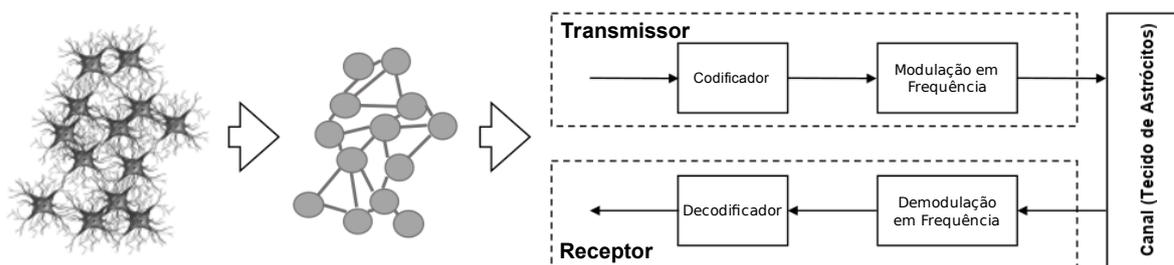
Esta topologia é utilizada para fornecer uma distribuição de conexão espacial irrestrita entre os nós. Para tal, considera-se que as células estão conectadas a outras células com base em uma probabilidade p . Dessa forma, cada célula se conectará ao máximo de n células, mas não necessariamente a seus vizinhos (Barros *et al.*, 2018).

Simulador Computacional para o Sistema de Comunicações Moleculares 3D baseado na Sinalização de Ca^{2+}

Neste capítulo serão descritos os métodos utilizados para a implementação do algoritmo de simulação computacional. Esse algoritmo simula um sistema de comunicação que envia informações por meio das redes de astrócitos com o objetivo de medir os efeitos de propagação do sinal e calcular a extensão da propagação, o atraso molecular, o ganho do canal, o ruído na comunicação e a capacidade do canal. O sistema de comunicação é ilustrado pela Figura 3.1, e consiste em três elementos: transmissor, receptor e canal, os quais são descritos a seguir.

- ▣ **Transmissor:** o transmissor é uma célula posicionada no centro do corte intermediário do tecido celular. Presume-se que este astrócito tenha uma fonte infinita de cálcio com base em um mecanismo de estimulação abstraído que permite a execução da modulação da frequência do sinal.
- ▣ **Canal:** o canal é a rede tridimensional de astrócitos. Foram modeladas as diferentes topologias que uma rede de astrócitos pode formar, que descrevem a organização da conexão entre as células, a qual será explicada mais adiante (ver Seção 3.1). Cada astrócito na rede tem uma concentração inicial de cálcio que é controlada independentemente por suas vias regulatórias de cálcio e, além disso, tem sua propagação de sinais intercelulares aleatórios. Esse mecanismo é importante para a regeneração do cálcio ao longo do tecido, mas pode se tornar uma fonte de ruído ou interferência.
- ▣ **Receptor:** o receptor é um astrócito que fica a poucas células de distância do transmissor. Uma vez que o cálcio chega em uma concentração determinada, o receptor é ativado e inicia a recepção das moléculas de cálcio. Para esta análise, não assumimos nenhuma interferência intracelular.

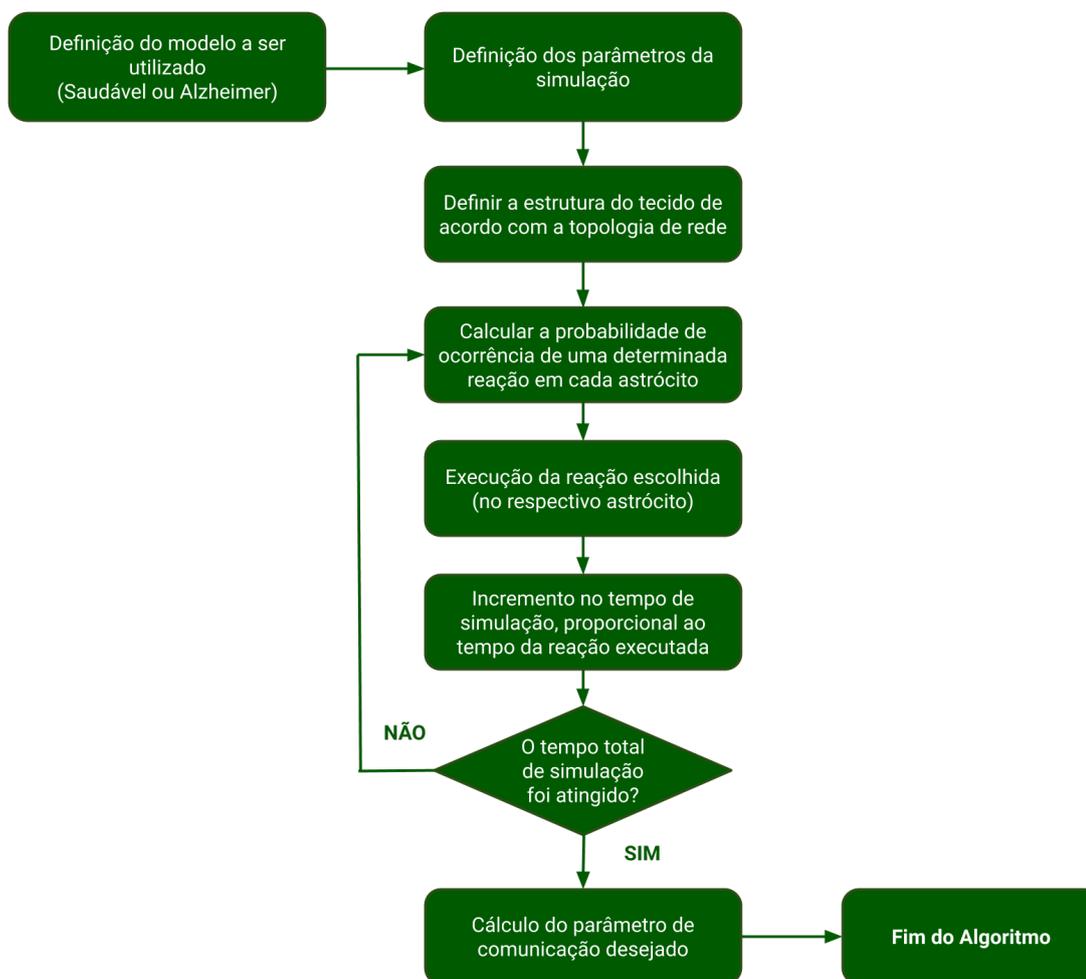
Figura 3.1 – Modelo da rede de astrócitos e do sistema de comunicação molecular baseado em cálcio. As redes reais de astrócitos são modeladas como um grafo e usadas para construir as conexões entre as células. Este grafo é usado então para a criação dos modelos computacionais de astrócitos de célula única para criar as simulações estocásticas em multi-escala. Transmissor e receptor também são projetados.



Fonte: Adaptado de Barros *et al.* (2018).

O algoritmo desenvolvido neste trabalho foi baseado no algoritmo proposto em Barros *et al.* (2015b). O fluxograma do algoritmo proposto é ilustrado pela Figura 3.2.

Figura 3.2 – Fluxograma do algoritmo de simulação dos sistemas de comunicação desenvolvidos e analisados.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Inicialmente, tendo em vista que existem dois cenários distintos a serem considerados e analisados – saudável e Doença de Alzheimer –, é necessário definir o modelo que será utilizado. Caso seja escolhido o cenário saudável, será utilizado o modelo baseado nas equações descritas na Seção 2.3. Por outro lado, caso seja escolhido o cenário da Doença de Alzheimer, será utilizado o modelo baseado nas equações descritas na Seção 2.4.

Com a definição do modelo a ser utilizado durante o processo de simulação, o próximo passo é a definição dos valores dos parâmetros, constantes e variáveis que serão utilizados na simulação, os quais serão apresentados na Subseção 3.2 (ver Tabela 3.2). Essa etapa procede a anterior pelo fato de que os parâmetros utilizados, bem como os seus respectivos valores, dependerão do cenário que será utilizado na simulação. Além disso, esses parâmetros incluem também as dimensões do tecido, o diâmetro da célula, o tempo total de simulação, a frequência de oscilação espontânea de Ca^{2+} , a métrica a ser calculada ao término do algoritmo, dentre outros.

A próxima etapa, por sua vez, consiste em definir a estrutura do tecido de acordo com a topologia de acoplamento das junções comunicantes que será aplicada na rede (no tecido) de astrócitos. O tecido é representado como uma matriz e as conexões entre os seus elementos será estabelecida de acordo com os critérios da topologia da rede. A estrutura do tecido, bem como os esquemas de conexões para cada uma das topologias analisadas, serão descritos na Subseção 3.1.

A próxima etapa consiste no cálculo da probabilidade de cada reação ocorrer, em um determinado astrócito do tecido, o qual é realizado por meio de um resolvidor estocástico que se baseia no algoritmo de Gillespie (Gillespie, 1977) (Subseção 3.2). A reação escolhida será executada no respectivo astrócito, podendo ser uma reação intracelular – no interior do próprio astrócito – ou uma reação intercelular – ocorrendo uma difusão entre o astrócito selecionado e um dos astrócitos com os quais ele está conectado. O tempo de execução da reação selecionada será incrementado ao tempo atual da simulação (Equação 3.4). Na Subseção 3.2 serão apresentados mais detalhes sobre esse processo de simulação estocástica.

Enquanto o tempo atual da simulação não exceder o tempo total de simulação, o algoritmo continuará escolhendo e executando uma nova reação, e incrementando o tempo da reação ao tempo atual da simulação, conforme pode ser observado no fluxograma da Figura 3.2. Em contrapartida, ao atingir o tempo total de simulação, o processo estocástico de escolha de

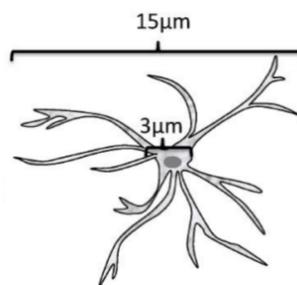
reações é encerrado e os níveis de Ca^{2+} são avaliados. Nesse momento, o parâmetro (ou métrica) de comunicação previamente escolhido será calculado.

O tempo total de simulação é definido na inicialização dos parâmetros, podendo ser alterado ao longo da execução. O algoritmo é encerrado logo após o cálculo da métrica desejada.

3.1 – Modelagem 3D da Estrutura do Tecido Celular

O tecido celular consiste no canal de propagação do Ca^{2+} . Foi considerado um tecido celular composto por $I \times J \times K$ células (c), em que $c_{i,j,k}$ ($i = 1, \dots, I$; $j = 1, \dots, J$ e $k = 1, \dots, K$) representa uma célula (astrócito) específica no tecido. O tecido celular foi definido com dimensões de $3 \times (5 \times l) \times (15 \times l)$, em que l é o comprimento de cada astrócito. A Figura 3.3 apresenta um exemplo das dimensões do astrócito.

Figura 3.3 – Comprimento de um astrócito.



Fonte: (Barros *et al.*, 2015b).

É importante destacar que o astrócito transmissor foi posicionado no centro do corte intermediário do tecido celular, enquanto o receptor foi posicionado abaixo do transmissor, sendo referenciado, ao longo do trabalho, com base na sua distância ao transmissor, em função do número de células – como exemplo, ver a Figura 3.7 e sua descrição.

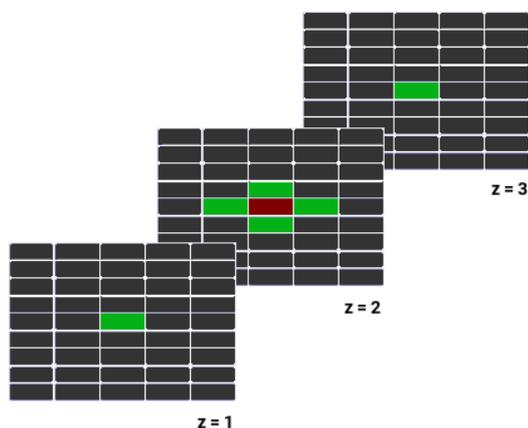
Cada astrócito estará conectado com, no máximo, seis outros astrócitos, devido à uma limitação no algoritmo. Como apresentado no Capítulo 2 (Seção 2.6), a organização do tecido celular dependerá da topologia de acoplamento das junções comunicantes. Portanto, como uma extensão do trabalho desenvolvido por Barros *et al.* (2015b), foi analisado o comportamento da comunicação molecular em redes de astrócitos para outras três topologias de acoplamento das junções comunicantes e considerando os dois diferentes cenários. As particularidades no desenvolvimento da estrutura do tecido para cada uma das topologias serão apresentadas na seção a seguir.

3.1.1 – Estrutura do Tecido na Topologia de Grau Regular

Nesta topologia, conforme descrito no Capítulo 2 (Seção 2.6), cada nó ou vértice – astrócito, nesse caso – se conecta a um determinado número (k) de vizinhos mais próximos. No presente trabalho, foi escolhido $k = 6$, como pode ser observado na Figura 3.4, a qual ilustra o esquema de conexões entre os astrócitos para essa topologia.

Para simplificar a visualização, cada astrócito é apresentado em um formato retangular, e os astrócitos destacados na cor verde são aqueles que estão conectados ao astrócito destacado na cor vermelha. Além disso, o tecido possui as dimensões $3 \times (3 \times l) \times (9 \times l)$, sendo possível observar os três cortes, de $z = 1$ a $z = 3$ ¹.

Figura 3.4 – Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Grau Regular.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Na Figura 3.4 é possível verificar que o astrócito central (vermelho) está acoplado apenas aos seis astrócitos (vizinhos) mais próximos. O mesmo esquema de conexões se repetirá para cada um dos outros astrócitos presentes no tecido celular.

3.1.2 – Estrutura do Tecido na Topologia de Raio de Ligação

Nesta topologia, conforme descrito no Capítulo 2 (Seção 2.6), define-se um raio para as conexões de um astrócito aos outros, que estarão no interior do círculo formado pelo raio definido. Tendo em vista que o tecido celular foi construído em um formato de paralelepípedo, aplicar esse conceito da rede levaria a uma simulação de alta complexidade, não apenas devido ao número de conexões – que poderia ser muito elevado – como também, pelo número de

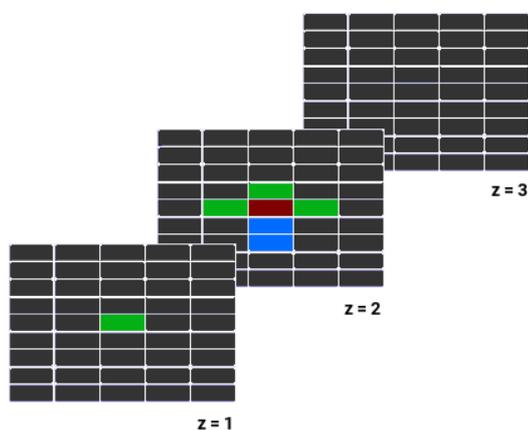
¹O z se refere a cada matriz do tecido, como pode ser observado na Figura 3.4.

cálculos que deveriam ser realizados a fim de definir os astrócitos que estariam em uma distância inferior ao raio.

Diante disso, foi realizada uma pequena variação dessa topologia, a fim de manter o número máximo de conexões (seis) e reduzir a complexidade do simulador desenvolvido. A proposta desenvolvida consiste em definir o raio (*radius*) com base no nível da vizinhança do astrócito.

A Figura 3.5 ilustra como foram feitas as conexões entre os astrócitos para o caso em que $radius = 2$ e o tecido possui as dimensões $5 \times (5 \times l) \times (9 \times l)$. Neste caso, o astrócito central (vermelho) está conectado, também, a seis outros astrócitos, porém, na direção do (astrócito) receptor foram feitas duas conexões: uma conexão com o astrócito do primeiro nível de vizinhança e a outra conexão com o astrócito do segundo nível de vizinhança (ambos destacados na cor azul). Tendo em vista que os parâmetros da comunicação são analisados com base nos níveis de Ca^{2+} no transmissor e no receptor, foi possível, com esse esquema de conexões, simular uma topologia de Raio de Ligação e avaliar o seu impacto com a mudança do raio, apesar das simplificações realizadas.

Figura 3.5 – Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Raio de Ligação, em que $radius = 2$.



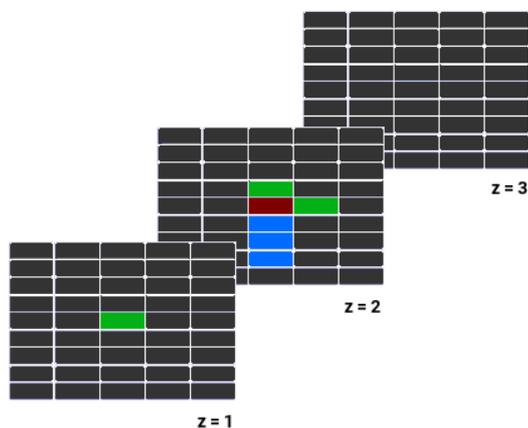
Fonte: Elaborada pelo autor.

As outras quatro conexões foram feitas com astrócitos do primeiro nível de vizinhança (destacados em verde), conforme pode ser observado na Figura 3.5. O mesmo esquema de conexões se repetirá para cada um dos outros astrócitos presentes no tecido celular.

Quando $radius = 3$ as conexões entre os astrócitos foram definidas conforme ilustra a Figura 3.6. Como se pode observar, nesse caso, também foi simulada uma topologia de Raio de Ligação, com raio 3, na direção do receptor, criando, para cada astrócito, conexões com astrócitos do primeiro, segundo e terceiro níveis de vizinhança, nessa direção. As outras três

conexões foram feitas com astrócitos do primeiro nível de vizinhança (destacados em verde), conforme pode ser observado na Figura 3.6.

Figura 3.6 – Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Raio de Ligação, em que $\text{radius} = 3$.



Fonte: Elaborada pelo autor.

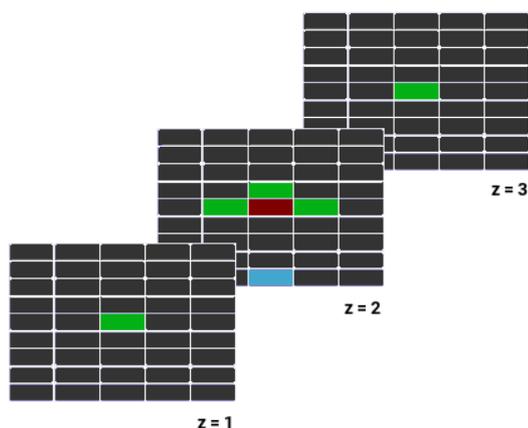
Devido ao número limitado de conexões, não foi possível estabelecer *links* à esquerda dos astrócitos nem na direção de $z + 1$. No entanto, considerando que as reações intracelulares alteram o nível de Ca^{2+} no citosol, os astrócitos dessas regiões do tecido acabam experimentando alterações em sua concentração de Ca^{2+} , ocorrendo, inclusive, difusões mediante o esquema de conexões apresentado pela Figura 3.6.

3.1.3 – Estrutura do Tecido na Topologia de Atalho

Nesta topologia, originalmente, cada vértice da rede se comunica com alguns vértices vizinhos e outros vértices que estão distantes. No entanto, com o intuito de reduzir a complexidade do algoritmo desenvolvido, optou-se por retirar uma das conexões apenas do transmissor e, em seguida, criar uma nova conexão, de longa distância, entre o transmissor (Tx) e o receptor (Rx), mantendo o restante da rede com a topologia de grau regular, ou seja, cada astrócito se comunicando com seus seis vizinhos mais próximos.

A Figura 3.7 ilustra a forma como foi feita essa alteração para criar um *link* direto entre o Tx (o astrócito central, destacado na cor vermelha) e o Rx (o astrócito destacado na cor azul). Nesse caso, o Rx está a uma distância de 4 (quatro) células com relação ao Tx.

Figura 3.7 – Esquema de conexões entre os astrócitos na topologia de Atalho.



Fonte: Elaborada pelo autor.

3.1.4 – Estrutura do Tecido na Topologia Erdős-Rényi

Nesta topologia, cada astrócito se conecta a seis astrócitos de forma aleatória. Para isso, geram-se seis números inteiros aleatórios dentro do intervalo correspondente ao número de astrócitos presentes na rede para cada astrócito. Esses números devem ser diferentes entre si e diferentes do número que corresponde ao astrócito a partir do qual será gerada a conexão. Dessa forma, as conexões são produzidas na rede.

A cada execução do simulador, a mesma rede aleatória é gerada, uma vez que foi escolhida uma *seed*² fixa para a geração dos números inteiros aleatórios. Sendo assim, embora a rede seja aleatória, ela mantém a mesma configuração, o que evita que a cada execução sejam produzidos resultados que diferem muito entre si; isso impossibilitaria uma análise dos parâmetros da rede.

3.2 – Resolvedor Estocástico

O resolvedor estocástico se baseia no algoritmo de Gillespie (T. Gillespie, 1977), que consiste em um método de simulação estocástica de reações químicas. Neste trabalho, o algoritmo de Gillespie foi utilizado para simular a sinalização de Ca^{2+} e, assim, determinar a quantidade de Ca^{2+} de cada reservatório dos astrócitos, ao longo do tempo.

Em cada passo do tempo, o algoritmo de Gillespie é executado para selecionar um astrócito específico e uma reação específica que ocorre nesse astrócito com base na

²Na programação, trata-se de um método utilizado para definir o gerador de números aleatórios. Se a *seed* é fixa, os números gerados serão os mesmos a cada execução.

probabilidade $P(r_j, \tau_t)$ (Equação 3.5), além de determinar o intervalo de tempo (t) em que a reação deve ocorrer, ou seja, a duração da reação (Equação 3.4). Os reservatórios do astrócito serão afetados negativa ou positivamente por uma constante α quando uma certa reação é executada.

Caso a reação escolhida seja uma reação intracelular, a reação ocorre apenas no interior do astrócito escolhido, ou seja, haverá uma alteração na concentração de Ca^{2+} apenas em seu próprio reservatório. Por outro lado, caso a reação escolhida seja uma reação intercelular, o astrócito escolhido, bem como o astrócito para o qual o Ca^{2+} será difundido sofrerão uma alteração na concentração de Ca^{2+} em seus reservatórios.

A Tabela 3.1 apresenta as reações intracelulares e as suas respectivas transições de estado, ou seja, as alterações na concentração de Ca^{2+} por uma constante α (ver Tabela 3.1), no citosol (C) ou no retículo endoplasmático (E), que acontecem devido à reação. Essas reações químicas foram inseridas no algoritmo e podem ocorrer em qualquer astrócito do tecido celular tridimensional.

Tabela 3.1 – Reações intracelulares e transições de estado que podem ocorrer em um astrócito.

Reação	Transição de Estado
Lançamento de Ca^{2+} do Tx	$C+ = \alpha$
Escoamento de Ca^{2+} do citosol para o RE	$C+ = \alpha$
Transporte de Ca^{2+} do citosol para o RE	$C- = \alpha$ $E+ = \alpha$
Lançamento de Ca^{2+} do RE para o citosol	$C+ = \alpha$ $E- = \alpha$
Escoamento de Ca^{2+} do RE para o citosol	$C+ = \alpha$ $E- = \alpha$
Transporte de Ca^{2+} do citosol para o espaço extracelular	$C- = \alpha$

Além das reações intracelulares, foram também simuladas as reações intercelulares, ou seja, as difusões. A modelagem da difusão em uma área do tecido celular captura a dinâmica espaço-temporal da sinalização intercelular de Ca^{2+} . A diferença de concentração de Ca^{2+} foi utilizada para modelar essa característica espaço-temporal, como apresentado na Equação 3.1,

$$Z_{\Delta}(i, j, k, n, m, l) = \frac{D}{v} (|Z_{n,m,l} - Z_{i,j,k}|) \times p(\cdot), \quad (3.1)$$

em que (i, j, k) e (n, m, l) correspondem às coordenadas, no tecido celular, do astrócito que recebe Ca^{2+} e do astrócito que cede Ca^{2+} , respectivamente; D é o coeficiente de difusão, v é o

volume da célula, $p(\cdot)$ é a probabilidade das junções comunicantes estarem abertas ou fechadas, $Z_{i,j,k}$ é a concentração de Ca^{2+} no citosol do astrócito que recebe Ca^{2+} , $Z_{n,m,l}$ é a concentração de Ca^{2+} no citosol do astrócito que cede Ca^{2+} , e Z_{Δ} é a diferença na concentração de Ca^{2+} dos astrócitos.

Sendo assim, é possível observar que a difusão ocorre do astrócito que se encontra nas coordenadas (n, m, l) para o astrócito que se encontra nas coordenadas (i, j, k) . Após a difusão, os níveis de concentração de cada um desses astrócitos será alterado pela constante α , ou seja, $Z_{n,m,l} = Z_{n,m,l} - \alpha$ e $Z_{i,j,k} = Z_{i,j,k} + \alpha$. A localização da célula cedente é definida pelo algoritmo de Gillespie. A posição da célula que recebe Ca^{2+} dependerá da reação selecionada e da topologia de acoplamento das junções comunicantes.

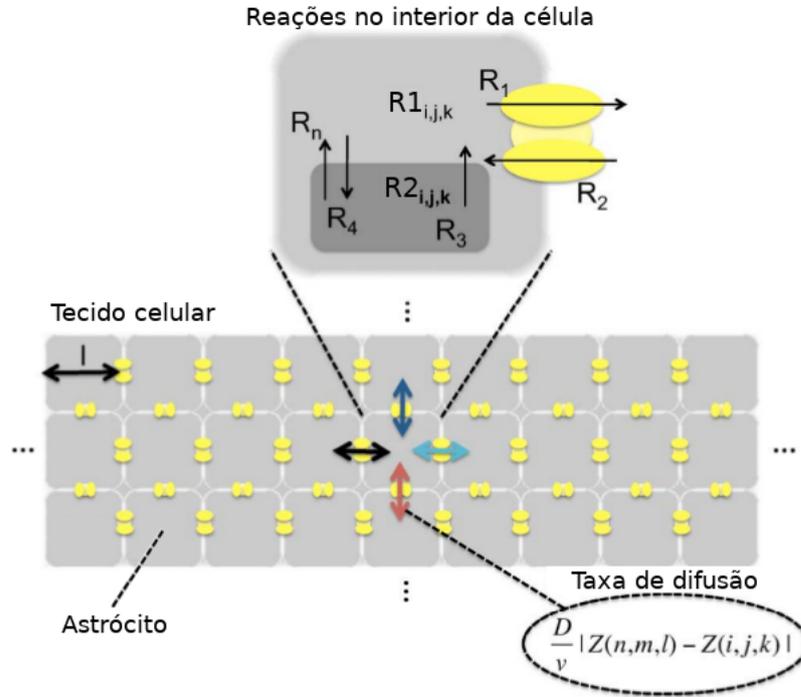
Cada astrócito contém um conjunto de reações internas, conforme está ilustrado na Figura 3.8. A Figura 3.8 ilustra um exemplo de como ocorrem as reações intracelulares e as difusões (reações intercelulares) nos astrócitos do tecido. Para simplificar a visualização, essa figura apresenta um corte do tecido tridimensional, no qual é possível observar que a difusão ocorre entre o astrócito localizado nas coordenadas (i, j, k) e os astrócitos vizinhos a ele. Portanto, a Figura 3.8 ilustra o processo de difusão em uma topologia de grau regular (ver Subseção 2.6.1).

Além disso, pode-se observar que um conjunto de reações ocorrem no interior da célula, as quais foram representadas pelas reações R_1 a R_n – que podem ser comparadas às reações descritas na Tabela 3.1. $R1_{i,j,k}$ e $R2_{i,j,k}$ são dois reservatórios que se encontram no interior do astrócito; eles representam o citosol e retículo endoplasmático dessa célula.

O processo de execução de uma reação dentro do conjunto de todas as reações (intracelulares e intercelulares), R , é dividido em duas fases: definição da reação e definição do intervalo de tempo em que a reação ocorrerá. Cada reação recebe uma constante de reação (a_r). Considerando que α_0 é o somatório de todos os a_r em R , a próxima reação escolhida será:

$$r_u = \text{MAX} \left[\frac{a_{r_j}}{\alpha_0} = \frac{a_{r_j}}{\sum_{j=1}^{|R|} a_{r_j}} \right], u \in \mathbb{N}, u \in R, \quad (3.2)$$

Figura 3.8 – Representação de um corte do tecido celular tridimensional. As reações que ocorrem no interior dos astrócitos e o processo de difusão para os astrócitos vizinhos são apresentados.



Fonte: Adaptada de (Barros *et al.*, 2015b).

que segue o processo *roulette wheel selection*, um processo que seleciona os eventos com base em seus valores de probabilidade. No entanto, u deve satisfazer a seguinte equação:

$$\sum_{j=1}^{u-1} \frac{\alpha r_j}{\alpha_0} < \rho_2 \leq \sum_{j=1}^u \frac{\alpha r_j}{\alpha_0}, \quad (3.3)$$

em que ρ_2 é uma variável aleatória uniforme com valores no intervalo de (0, 1).

Em cada passo do tempo de execução do simulador (t), o intervalo de tempo da próxima reação é estimado pela Equação 3.4,

$$\tau = \frac{1}{\alpha_0} \times \ln\left(\frac{1}{\rho_1}\right) \quad (3.4)$$

em que ρ_1 é uma variável aleatória uniforme com valores no intervalo (0,1]. Esse processo de simulação termina quando $\sum_{i=0}^{|T|} \tau_i < t_0$, em que T é o conjunto de t e t_0 é o tempo máximo de simulação.

O efeito da execução de uma reação é, basicamente, a mudança dos valores dos reservatórios de cada astrócito. Os valores dos reservatórios mudarão de acordo com o efeito positivo ou negativo da reação executada. A probabilidade de selecionar uma reação ($P(r_j, \tau_t)$)

é definida pela Equação 3.5. O $P(r_j, \tau_t)$ favorece uma célula $c_{i,j,k}$ com um valor alto em seu reservatório. Consequentemente, uma grande quantidade de Ca^{2+} levará à difusão, que modelará a propagação das moléculas através do espaço celular.

$$P(r_j, \tau_t)dt = \alpha e^{-\alpha_0 \tau_t} dt \quad (3.5)$$

Os valores para cada parâmetro da simulação podem ser encontrados na Tabela 3.2. A tabela dispõe dos parâmetros utilizados no modelo do tecido saudável (Seção 2.3) e no modelo desenvolvido para a simulação de um tecido acometido pela doença de Alzheimer (Seção 2.4), bem como os seus respectivos valores e referências.

Tabela 3.2 – Valores dos parâmetros utilizados no modelo do tecido saudável e do tecido acometido pela DA.

Parameter	Reference	Normal Value	Alzheimer Value	Unit
σ_0	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,05	–	μM
κ_0	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,5	–	s^{-1}
κ_f	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,5	–	s^{-1}
κ_d	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,08	–	s^{-1}
u_{M2}	Barros <i>et al.</i> (2015a)	15	–	$\mu\text{M}/\text{s}$
κ_2	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,1	–	μM
u_p	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,05	–	$\mu\text{M}/\text{s}$
κ_p	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,3	–	μM
n	Barros <i>et al.</i> (2015a)	2,02	–	
κ_{C1}	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,15	–	μM
κ_{C2}	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,15	–	μM
κ_I	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,1	–	μM
u_{M3}	Barros <i>et al.</i> (2015a)	40	–	s^{-1}
m	Barros <i>et al.</i> (2015a)	2,2	–	
D	Barros <i>et al.</i> (2015a)	350	350	$\mu\text{m}^2/\text{s}$
α	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0,01	–	μM
k_1	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.0004	0.1	1/s
k_2	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.2	1.5	1/s
k_3	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.5	0.1	1/s
k_5	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.5	0.05	1/s
k_6	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	4	0.5	1/s
k_9	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.08	0.5	1/s
v_7	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.02	15	$\mu\text{M}/\text{s}$
K_{IP3}	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.3	0.5	μM
K_a	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.2	2.02	μM
K_i	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.2	0.15	μM
K_{Ca}	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.3	0.15	μM
β	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	–	35	–
H_{CCE}	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	10	40	μM
k_{CCE}	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.01	2.2	$\mu\text{M}/\text{s}$
$k_{ATP(P2X)}$	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.08	free	$\mu\text{M}/\text{s}$
$H_{ATP(P2X)}$	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.09	0.15	μM
$k_{ATP(P2Y)}$	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	0.5	0.5	$\mu\text{M}/\text{s}$
K_D	Alberdi <i>et al.</i> (2013)	10	0.8	μM
λ	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0.37	0.37	
ϑ_j	Barros <i>et al.</i> (2015a)	90	90	mV
ϑ_0	Barros <i>et al.</i> (2015a)	60	60	mV
A_α	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0.008	0.008	$(\text{mV})^{-1}$
A_β	Barros <i>et al.</i> (2015a)	0.67	0.67	$(\text{mV})^{-1}$
z	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	2	
T	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	300	K
R	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	8.31	J/(mole· K)
F	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	96,485	J/(Coul/mole)
\bar{g}_T	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	0.06	pS
\bar{g}_L	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	3.5	pS
\bar{g}_N	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	0.39	pS
\bar{g}_R	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	0.2225	pS
V_{ast}	Zeng <i>et al.</i> (2009a)	–	5.223×10^{-13}	l
O_β	Matrosov <i>et al.</i> (2017)	–	0.15	$\mu\text{M}/\text{s}$
O_δ	Matrosov <i>et al.</i> (2017)	–	0.15	$\mu\text{M}/\text{s}$
t_k	Matrosov <i>et al.</i> (2017)	–	0.3	s
v_n	Matrosov <i>et al.</i> (2017)	–	30	s
ζ	Lallouette (2014)	–	3.64	s^{-1}
I_θ	Lallouette (2014)	–	0.15	μM
ω_I	Lallouette (2014)	–	0.05	μM

3.3 – Hipóteses sobre o β -amilóide

Devido aos efeitos desconhecidos do β -amilóide sobre o funcionamento e a organização geral das redes de astrócitos, bem como sua sinalização de cálcio (Latulippe *et al.*, 2018), neste trabalho são consideradas algumas hipóteses:

1. **Hipótese 1:** Existem diferentes estágios de desenvolvimento da DA que estão correlacionados com diferentes concentrações de β -amilóide. Foi considerado apenas um curto espaço de tempo dentro do estágio estudado da DA. Não é objetivo deste trabalho modelar as mudanças do β -amilóide ao longo do tempo.
2. **Hipótese 2:** Foi considerado que a DA está em fases posteriores de desenvolvimento e que o β -amilóide é esparsamente distribuído com um efeito homogêneo na rede de astrócitos. Não há atualmente nenhuma descrição espacial detalhada da difusão de β -amilóide dentro do cérebro.
3. **Hipótese 3:** As redes são mantidas em uma configuração constante durante toda a análise. Isso, de certa forma, negligencia os efeitos da proliferação celular e da morte celular que podem ocorrer em virtude do estresse celular causado por uma determinada concentração de β -amilóide, entretanto, devido a Hipótese 1, essa suposição não afeta significativamente os resultados do trabalho.

3.4 – Parâmetros de Desempenho do Sistema de Comunicação entre os Astrócitos

Esse processo biológico foi mapeado em um sistema de comunicação com a intenção de proporcionar uma maior compreensão das redes de astrócitos utilizando ferramentas de comunicação e teoria da informação. Nas próximas subseções serão apresentados os parâmetros de comunicação que foram avaliados nessas redes.

3.4.1 – Ganho do Canal

O parâmetro avaliado na comunicação entre os astrócitos da rede (tecido) foi o ganho do canal. Devido à probabilidade de direção da difusão ser diferente para os diversos esquemas

de conexões entre os astrócitos do tecido, o Ca^{2+} pode atingir o receptor (Rx) com diferentes intensidades. Naturalmente, a amplitude do sinal recebido é afetada negativamente por longas distâncias entre o transmissor (Tx) e o receptor.

Portanto, esse fenômeno foi analisado por meio do ganho, o qual é calculado mediante a Equação 3.6:

$$\Gamma(f) = 10 \log \left(\frac{\Gamma_{R_m}(f)}{\Gamma_{T_m}(f)} \right), \quad (3.6)$$

em que $\Gamma_{R_m}(f)$ é concentração média de Ca^{2+} no Rx e $\Gamma_{T_m}(f)$ é o concentração média de Ca^{2+} no Tx. Para o cálculo do ganho foram realizadas simulações com um tempo total de 200 segundos³.

O ganho foi avaliado, inicialmente, em função da distância (número de células) entre o Tx e o Rx, mantendo constante a frequência de oscilação espontânea de Ca^{2+} no Tx, sendo equivalente a 1 Hz, ou seja, a cada 1 segundo $0,5 \mu\text{M}$ é adicionado ao nível de Ca^{2+} citosólico do transmissor.

Em seguida, o ganho foi avaliado em função da frequência de oscilação espontânea de Ca^{2+} , tendo em vista que, segundo dados experimentais, essa frequência pode variar entre valores baixos (Lavrentovich & Hemkin, 2008a). Portanto, o ganho foi avaliado para as frequências: 0 Hz, 0,01 Hz, 0,02 Hz, 0,04 Hz, 0,1 Hz, 0,5 Hz e 1 Hz.

3.4.2 – Atraso (*Delay*) na Comunicação entre os Astrócitos

Uma das principais características da comunicação molecular em comparação com a comunicação eletromagnética é que as moléculas são transmitidas espacialmente a taxas muito mais lentas. Sendo assim, é compreensível que o atraso do Tx ao Rx seja uma consideração crítica. Para medir com precisão a quantidade de moléculas que são transmitidas, bem como o tempo que elas levam para atingir uma certa distância de um tecido celular, foi mensurada a quantidade de Ca^{2+} transmitida em comparação com a quantidade Ca^{2+} recebido ao longo do tempo. O método proposto é modelado pela Equação 3.7.

$$\int_0^{T_R} C_R(x, t) dt = \int_0^{T_T} C_T(t) dt \quad (3.7)$$

Em que C_R é uma função que retorna a concentração de Ca^{2+} no receptor, no tempo t ; C_T retorna a concentração de Ca^{2+} no transmissor, no tempo t ; T_T é o intervalo de tempo

³Esse tempo não é referente ao tempo de simulação do algoritmo, mas ao somatório dos intervalos de tempo de cada uma das reações ocorridas.

do transmissor; T_R é o intervalo de tempo do receptor e x é distância entre o transmissor e o receptor. Logo, o atraso de propagação do transmissor ao receptor é T_R (Barros *et al.*, 2015b).

Computacionalmente, a concentração de Ca^{2+} no Tx é mantida, constantemente, no valor de $0,5 \mu\text{M}$, ao longo da simulação. A partir do momento em que o somatório da concentração de Ca^{2+} no Rx se torna maior ou igual ao somatório da concentração de Ca^{2+} no Tx, a simulação é encerrada e o tempo total da simulação corresponde ao *delay* na propagação. Enquanto essa condição não for satisfeita, o tempo atual da simulação é incrementado na proporção do tempo de cada reação ocorrida.

O *delay* na propagação foi avaliado para diferentes distâncias entre o Tx e o Rx (em função do número de células), bem como para as topologias de Raio de Ligação e de Atalho.

3.4.3 – Capacidade do Canal

Para a análise da capacidade do canal foi definido um processo de transição de estado para o Tx e o Rx. No transmissor, dois estados são definidos, a estimulação e a liberação de Ca^{2+} ($x = x_1$), e o silêncio ($x = x_0$). Essas definições são semelhantes àquelas utilizadas na modulação *On-Off Keying* (OOK), na qual $x = x_1$ na transmissão do bit 1, e $x = x_0$ quando o bit 0 é transmitido.

Para o receptor, a quantidade de Ca^{2+} recebido irá alterar o seu estado entre ativo ($y = y_1$) e inativo ($y = y_0$). Baseado em uma sequência de bits B , o Tx alterará o seu estado de acordo com os respectivos bits dessa sequência, enquanto o Rx infere a sequência de bits recebida.

Para a transmissão de um único bit, o tempo é discretizado em intervalos de tempo (de duração T_b), considerando-se que ambos, o Tx e o Rx, são completamente sincronizados. Essa sincronização implica no fato de que o receptor possui o mesmo *clock* do transmissor e, portanto, estará ciente de cada transmissão de bit de um específico intervalo de tempo. Essa consideração é bastante comum na literatura e pode ser justificada pelos altos valores de T_b , o qual habilita um tempo de sincronização muito maior comparado a sistemas de comunicação convencionais.

A entropia de Shannon pode ser utilizada em sistemas biológicos para representar quantidade de informação (em bits) no processo de comunicação Barros *et al.* (2015a):

$$H(X) = - \sum_{x \in X} x \log_2 P(x). \quad (3.8)$$

A entropia condicional é definida baseada na distribuição conjunta e a distribuição condicional de x e y

$$H(X|Y) = - \sum_{x \in X} \sum_{y \in Y} p(x, y) \log_2 p(x|y), \quad (3.9)$$

em que, $Y = y_0, y_1$. Todas as probabilidades são definidas como apresentado a seguir:

$$p(x) = p(x = x_0) + p(x = x_1) \quad (3.10)$$

$$p(y) = (p(y = y_0) + p(y = y_1)) \cdot p(y|x) \quad (3.11)$$

$$p(y = y_0 | x = x_0) = 1 - p(y = y_1 | x = x_0) \quad (3.12)$$

$$p(y = y_0 | x = x_1) = 1 - p(y = y_1 | x = x_1) \quad (3.13)$$

Na análise realizada neste trabalho, foi utilizada a informação mútua $I(X; Y)$ para analisar a quantidade de informação transmitida do transmissor para o receptor. As probabilidades $p(x)$ e $p(y)$ representam a probabilidade de cada estado sobre o Tx e o Rx, respectivamente. Uma vez que T_b é relativamente grande, os efeitos de memória na transmissão de bits são minimizadas e pode-se assumir que o canal é sem memória. Sendo assim, a capacidade é definida como:

$$C(X; Y) = \max_{p(x)} I(X; Y). \quad (3.14)$$

3.4.4 – Ruído na Comunicação

O ruído na comunicação foi calculado considerando-se o termo t_k presente na Equação 2.27. Tendo em vista que esse termo indica que a produção do IP_3 (J_{prod}) está associado com a frequência da atividade sinápticas (disparos) dos neurônios, os diferentes padrões de disparos dos neurônios apresentados na Seção 2.5 foram considerados como uma variável que pode adicionar ruído ao sistema de comunicação molecular.

O ruído, portanto, foi calculado por meio da relação sinal-ruído (SNR), a qual é definida pela Equação 3.15.

$$SNR = 20 \log \left(\frac{A_{sinal}}{A_{ruído}} \right) \quad (3.15)$$

em que A_{signal} é a amplitude do sinal sem ruído, que corresponde ao nível de concentração de Ca^{2+} resultante das reações de amplificação; enquanto $A_{\text{ruído}}$ corresponde à amplitude do sinal do ruído, ou seja, corresponde ao nível de concentração de Ca^{2+} resultante das reações de amplificação de Ca^{2+} que ocorreram por influência dos disparos dos neurônios.

O nível de concentração de cálcio foi utilizado ao invés do nível de IP_3 na célula devido ao fato de que o aumento na produção de IP_3 ocasionará no aumento (amplificação) da produção de Ca^{2+} no citosol da célula (ver Equação 2.4).

O ruído na comunicação foi mensurado considerando cada tipo de ruído apresentado na Seção 2.5, para as topologias de Grau Regular e Raio de Ligação, nos cenários saudável e da Doença de Alzheimer.

Seguindo as etapas descritas nesse capítulo, foi desenvolvido o simulador proposto, por meio do qual foram obtidos os resultados que serão apresentados no próximo capítulo.

O objetivo dessa seção é fornecer uma caracterização detalhada da propagação do sinal quando o canal (rede de astrócitos) é alterado, em múltipla escala, devido à presença do β -amilóide. Essas alterações são quantitativamente agravadas quando existe uma diversidade de topologias; portanto, serão utilizadas as topologias apresentadas anteriormente para obter também a correlação entre as diferentes topologias de redes de astrócitos e a propagação do sinal.

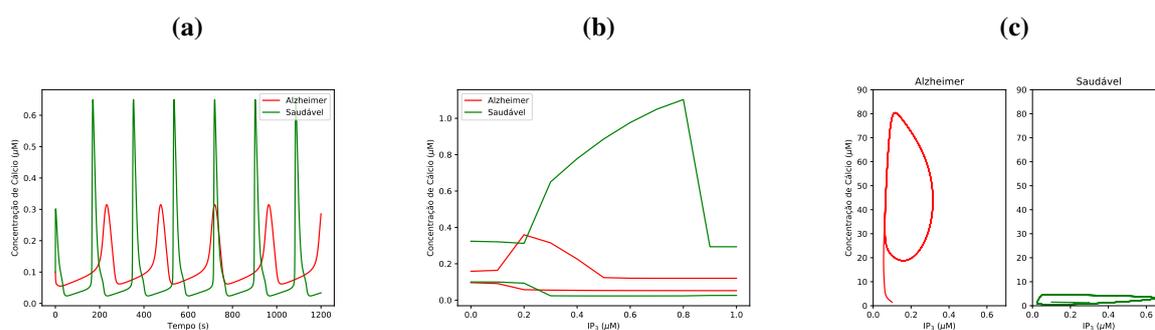
Primeiro, serão analisados os resultados referentes à uma célula única (análise em escala única). Em seguida, serão apresentados os resultados para a análise em múltipla escala, utilizando métricas como a extensão de propagação, o ganho do canal e o atraso molecular para a avaliação de desempenho. Os valores utilizados para as variáveis de simulação podem ser encontrados na Tabela 3.2. Todo esse modelo computacional permite obter a correlação de múltiplas escalas dos processos de comunicação dos astrócitos, a partir da escala intracelular (0-15 μm) até a sinalização intercelular e a rede (15-800 μm) e fornecer uma comparação entre astrócitos saudáveis e com a DA. É necessário reconhecer que a comparação entre o cenário do tecido saudável (Seção 2.3) e o cenário com a DA (Seção 2.4) são válidos para a análise do sistema de comunicação, mas ainda se caracterizam como resultados introdutórios no que se refere à estratégias de tratamento da doença.

4.1 – Análise em Escala Única

Na Figura 4.1, são apresentados os resultados obtidos a partir da solução das equações diferenciais do modelo do tecido saudável (Equações 2.1, 2.2 e 2.3) e com a presença da DA (Equações 2.14, 2.15, 2.22 e 2.23). Esses resultados fornecerão uma melhor compreensão dos efeitos do β -amilóide nos astrócitos para que, em seguida, sejam apresentados os resultados da análise em múltipla escala. Na Figura 4.1(a) são apresentados os padrões de oscilação de cálcio

para o cenário saudável e com a DA. Pode-se observar que tanto a frequência quanto o pico da oscilação mudam consideravelmente, o que é decorrente dos efeitos gerais das mudanças do β -amilóide na célula, incluindo a dinâmica do IP_3 , canais de VGCC e vias intracelulares. As mesmas mudanças são melhor capturadas pela resposta da concentração de cálcio à variação de IP_3 nos valores máximo e mínimo, observados na Figura 4.1(b). Para este gráfico, considerou-se o IP_3 com um valor fixo entre $0,01-1 \mu M$. Na DA, as oscilações limitam-se a menor diferença nos valores que o cálcio pode alcançar. No entanto, na Figura 4.1(c), mostrou-se pela análise de bifurcação que, mesmo com diferenças menores nos valores de cálcio na DA, o sinal no citosol é instável comparado ao caso saudável.

Figura 4.1 – (a) Padrões de oscilação de Ca^{2+} para astrócitos saudáveis e com Alzheimer – com o coeficiente de aumento de IP_3 fixado em $0,3$ (σ_3 para o saudável, e J_{prod} para a DA). (b) Valores máximo e mínimo de concentração de Ca^{2+} para astrócitos saudáveis e com Alzheimer. (c) Análise da bifurcação da concentração de Ca^{2+} e IP_3 para astrócitos saudáveis e com a DA.



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2 – Análise em Múltipla Escala

Na análise em múltipla escala, ao invés de um cenário com apenas uma única célula, tem-se um cenário que captura os efeitos da propagação, intracelular e intercelular, do cálcio em um tecido (rede de astrócitos) saudável e com a presença do Alzheimer. O simulador estocástico apresentado na Seção 3.2 permite que este fenômeno seja capturado por uma abordagem computacional.

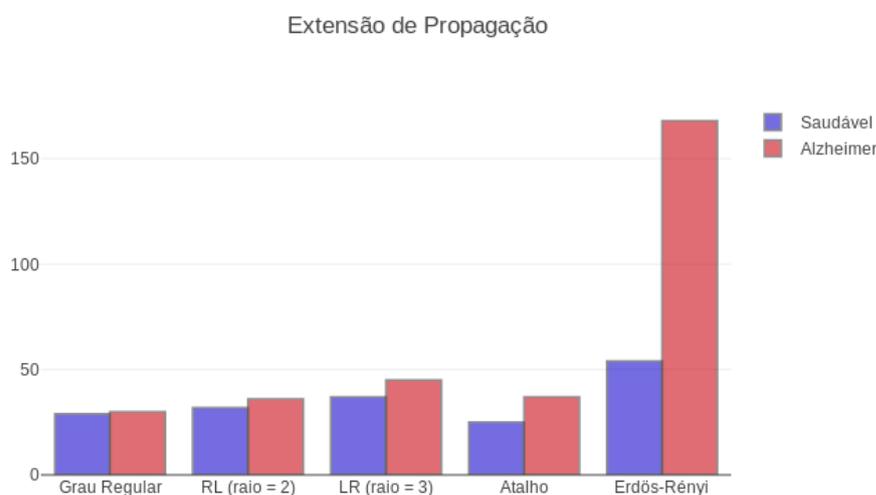
4.2.1 – Extensão de Propagação

A extensão da propagação dos sinais de cálcio nos cenários e topologias que foram propostos pode ser encontrada na Figura 4.2. Por meio dos resultados obtidos nesta métrica, foi

possível observar como a transmissão de um astrócito desencadeia a ativação da produção de cálcio em muitos outros astrócitos. Esses resultados sugerem que o nível de organização da rede pode impactar, significativamente, o número de células que são ativadas, o que significa que, dependendo da distância entre o transmissor e o receptor, isso pode desencadear interferências provenientes de outras células, especialmente para a rede Erdős-Rényi, na qual a dinâmica de geração de conexões pode aumentar a extensão total da propagação.

Para redes de astrócitos saudáveis e com a DA, o desempenho da Erdős-Rényi é superior ao restante das topologias. Enquanto as outras topologias têm uma extensão de propagação em torno de 25 para tecidos saudáveis e 35 para tecidos acometidos pela DA, a topologia Erdős-Rényi apresenta 51 para tecidos saudáveis e 165 para tecidos com DA. Podemos então observar que o efeito do β -amilóide na propagação do sinal pode aumentar a extensão da propagação em todos os casos, o que significa que os sinais de cálcio têm uma distribuição espacial mais ampla quando o tecido é afetado pela DA.

Figura 4.2 – Extensão de propagação de cada topologia para um tecido saudável e com a doença de Alzheimer.

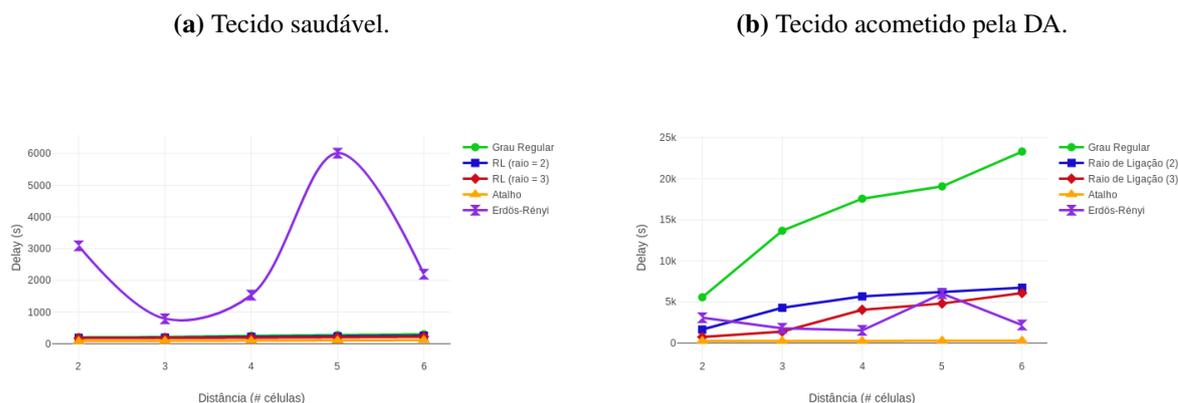


Fonte: Elaborada pelo autor.

4.2.2 – Atraso Molecular

Os resultados obtidos referentes ao atraso molecular para um tecido saudável de astrócitos e para um tecido com a presença da DA são exibidos nas Figuras 4.3(a) e 4.3(b), respectivamente.

Figura 4.3 – Atraso molecular (em segundos) na propagação do Ca^{2+} em função da distância (número de células) entre o transmissor e o receptor, para as quatro topologias.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Primeiro, vale a pena mencionar os diferentes padrões de atraso que são obtidos a partir das diferentes topologias de rede, tanto para o cenário saudável quanto para o patológico. A topologia de rede Erdős-Rényi é apresentada com um atraso oscilatório dependente da variação de distância devido a sua distribuição de probabilidade de conexão através da rede, que pode criar mais caminhos para a célula receptora e permitir que mais cálcio flua em direção a ela. Esse efeito não foi observado, na mesma dimensão, nas outras topologias, visto que os atrasos aumentam com o aumento da distância.

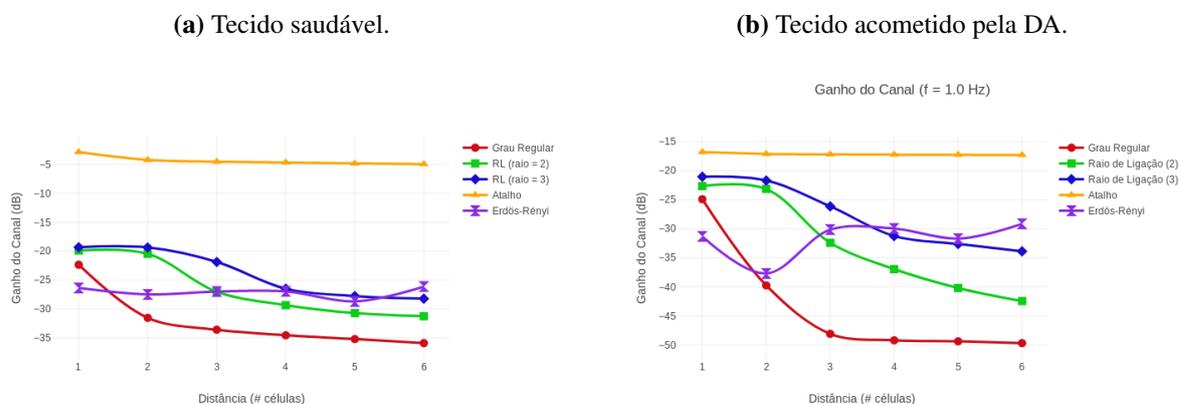
Na presença da Alzheimer, há um aumento maior ou menor do atraso molecular, dependendo da topologia da rede. A topologia de grau regular é aquela que apresentou o maior fator de aumento do atraso, sendo cerca de 100 s de atraso, no tecido saudável, para um valor máximo de 25000 s. O aumento para os outros tipos de rede foi mais modesto, vindo de uma média de 2000 s para um máximo de 5000 s, o que pode ser explicado pela alteração do volume celular e dos canais VGCC, que são alterados pelo efeito do β -amilóide nos astrócitos. Além disso, isso também é baseado no processo de contagem molecular que foi utilizado para medir o atraso.

Devido à diminuição do volume celular (ver Subseção 2.4.5), a taxa de fluxo da difusão é alterada (Equação 3.1) em conformidade, sofrendo um aumento, e esse aumento conduzirá a uma propagação mais acelerada das moléculas, aumentando, dessa forma, a propagação em múltiplos caminhos dentro do tecido. Para uma rede com o grau regular, isso significa que a configuração homogênea da rede contribui para esta dispersão de moléculas causando os efeitos de múltiplos caminhos. Os canais VGCC também contribuem para este efeito, uma vez que o estímulo de tensão pós-sináptica é capturado pelas Equações 2.30 e 2.31, uma vez que a diminuição dos ritmos neurais é um modulador direto da atividade dos astrócitos.

4.2.3 – Ganho do Canal

O ganho do canal é uma medida de quantas das moléculas inicialmente enviadas foram recebidas dentro de um intervalo pré-determinado. Esse parâmetro do canal foi avaliado em função da distância entre o transmissor e o receptor – Figuras 4.4(a) e 4.4(b) – e da frequência de oscilações espontâneas de Ca^{2+} no transmissor – Figuras 4.5(a) e 4.5(b).

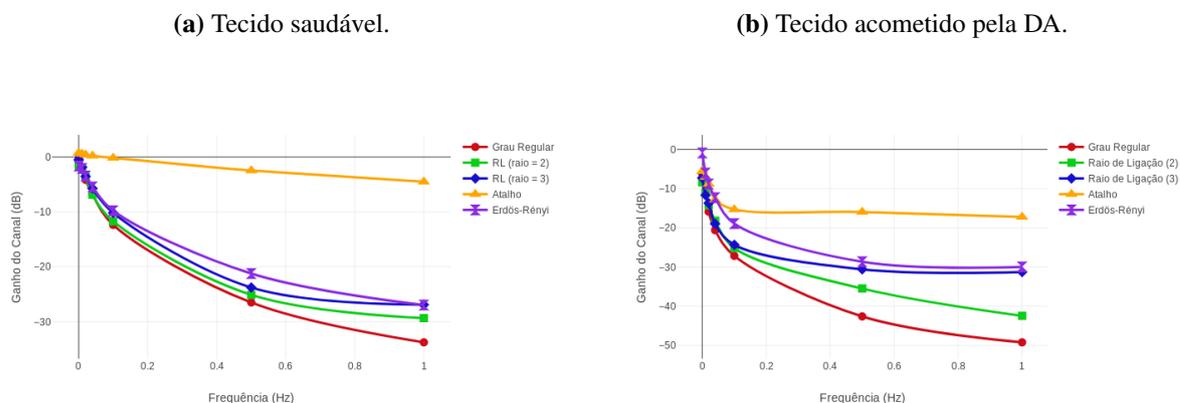
Figura 4.4 – Ganho do canal (em dB) em função da distância (número de células) entre o transmissor e o receptor, para as quatro topologias.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Para todos os gráficos, fica claro que a topologia de atalho apresenta o melhor desempenho de ganho de canal, o que é esperado com uma média de -10 dB. Por apresentar uma maior aleatoriedade nas probabilidades de conexão da rede, nas topologias Raio de Ligação e Erdős-Rényi o ganho do canal tem melhor desempenho, dependendo da distância e da frequência. A topologia de Raio de Ligação possui uma distribuição mais homogênea, permitindo que as células de curta distância recebam mais moléculas com uma média de -22 dB, no entanto, para distâncias mais longas e também alta frequência, a configuração

Figura 4.5 – Ganho do canal (em dB) em função da frequência de oscilação espontânea, para as quatro topologias.



Fonte: Elaborada pelo autor.

heterogênea do Erdős-Rényi favorece um aumento de cálcio no receptor devido ao aumento da propagação por múltiplos caminhos, apresentando uma média de -28 dB. Como esta análise está sujeita às configurações de tempo, o aumento ou a diminuição do intervalo pré-determinado pode alterar os resultados apresentados. Por fim, a DA parece piorar a propagação de cálcio no tecido celular devido à dinâmica IP_3 , que cria efeitos não-lineares no mecanismo de regeneração de cálcio dentro das células, o que pode ser concluído a partir das Equações 2.27 e 2.28.

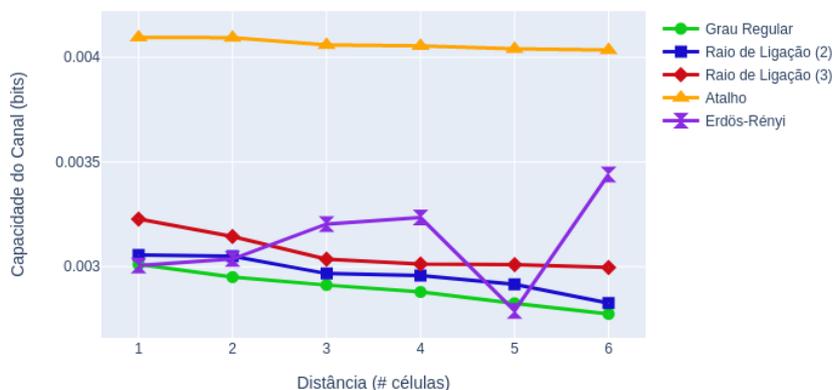
4.2.4 – Capacidade do Canal

A Figura 4.6 apresenta os gráficos com os resultados referentes à capacidade do canal em função da distância (número de células/astrocitos) entre o transmissor e o receptor, para as topologias de Grau Regular e Raio de Ligação, no cenário saudável.

Como já era esperado, o aumento da distância afeta negativamente no desempenho do sistema, visto que a capacidade do canal é inferior com o aumento da distância. Além disso, é possível observar que o sistema apresenta baixos valores de capacidade, sendo na ordem de 10^{-3} .

Esse resultado pode ser atribuído ao fato de que, apesar dos astrócitos possuírem um processo de regeneração de Ca^{2+} bastante eficaz, devido à sua produção de IP_3 , e essa característica contribuir positivamente na capacidade do canal; por outro lado, o seu eficiente processo de difusão – decorrente do seu elevado coeficiente de difusão – conduz a uma baixa concentração de Ca^{2+} nas células, uma vez que esse comportamento resulta em uma propagação de Ca^{2+} mais rápida ao longo do tecido inteiro.

Figura 4.6 – Capacidade do canal (em bits) em função da distância (número de células) entre transmissor e receptor para cada uma das topologias, considerando o sistema de comunicação baseado no tecido saudável.



Fonte: Elaborada pelo autor.

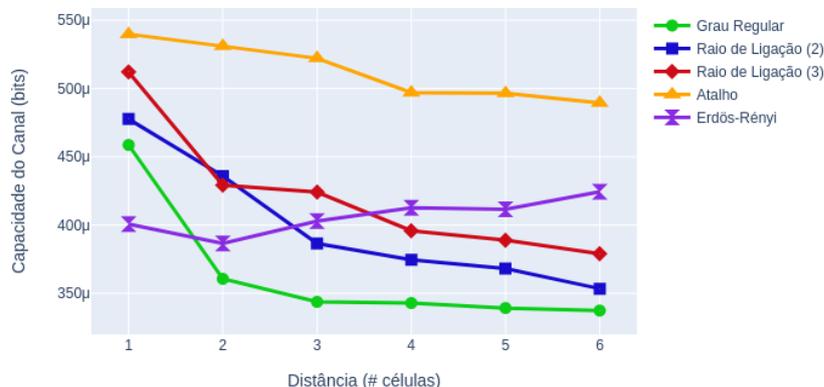
Em relação aos valores obtidos para cada uma das topologias, observa-se que na topologia de Atalho o canal apresenta uma maior capacidade de transmissão entre transmissor e receptor, o que já era previsto, levando-se em consideração o fato de que existe uma conexão direta entre esses dois nós (astrócitos) da rede (tecido). Além disso, os valores da capacidade não variam muito, uma vez que essa conexão existe independentemente da distância entre Tx e Rx.

A topologia de Grau Regular, por outro lado, é aquela que apresenta, em média, o desempenho inferior. O aumento do raio na topologia de Raio de Ligação (RL) resulta em um aumento do desempenho. Sendo assim, a topologia RL com raio 3 (três) apresenta um maior desempenho em comparação com a mesma topologia com raio 2 (dois) e a topologia de Grau Regular. É válido destacar, também, que os maiores valores de capacidade são atingidos para distâncias inferiores ou iguais ao valor de raio utilizado.

Por fim, a topologia Erdős-Rényi apresenta resultados bastante aleatórios, o que é coerente com a estrutura da rede em si. A depender do esquema aleatório de conexões realizadas na definição dessa rede, os valores de capacidade podem variar substancialmente.

A Figura 4.7 apresenta os gráficos com os resultados referentes à capacidade do canal em função da distância (número de células/astrócitos) entre o transmissor e o receptor, para as topologias de Grau Regular e Raio de Ligação, no cenário em que o tecido está acometido pela Doença de Alzheimer.

Figura 4.7 – Capacidade do canal (em bits) em função da distância (número de células) entre transmissor e receptor para cada uma das topologias, considerando o sistema de comunicação baseado no tecido acometido pela DA.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Assim como no cenário saudável, sob a influência da DA, em todas as topologias, o aumento da distância implica na redução da capacidade do canal. No entanto, com a DA, o sistema apresenta uma redução significativa da capacidade do canal, sendo 6 (seis) vezes inferior, aproximadamente. Esse comportamento está relacionado aos mesmos fatores mencionados na análise feita para o cenário saudável, a saber, o processo de regeneração de Ca^{2+} e o processo de difusão.

Em um tecido acometido pela Doença de Alzheimer, o processo de regeneração de Ca^{2+} não é tão eficaz quanto em um tecido saudável, uma vez que a presença do β -amilóide reduz a produção de IP_3 nos astrócitos (Kurumatani *et al.*, 1998).

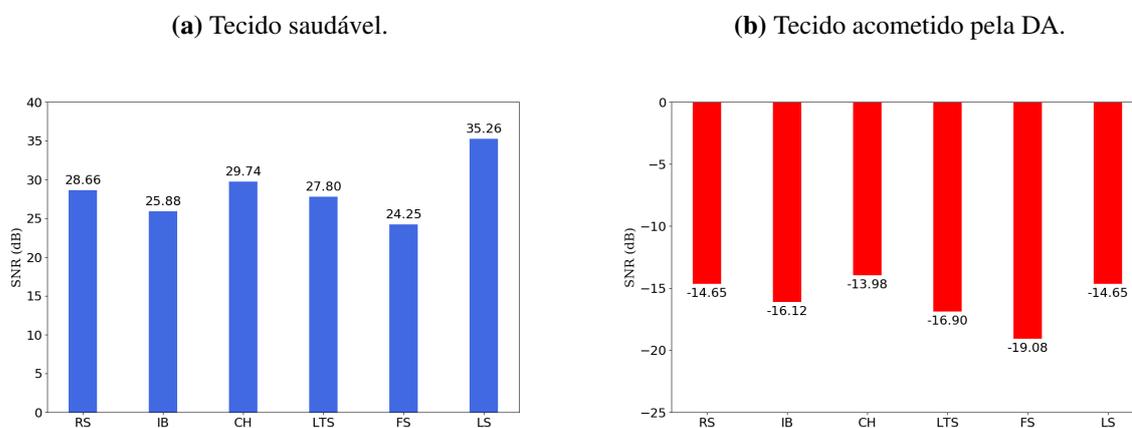
Em adição a esse efeito, a presença da DA também aumenta ainda mais a eficiência do processo de difusão, o que foi constatado, inclusive, nos resultados referentes à extensão de propagação (Seção 4.2.1). Portanto, essa ainda maior eficiência na difusão conduz a uma menor concentração de Ca^{2+} nas células, pelo mesmo motivo de que esse comportamento resulta em uma propagação de Ca^{2+} mais rápida ao longo do tecido inteiro. Sendo assim, esses dois fatores supracitados contribuem negativamente na capacidade do canal.

4.2.5 – Ruído do Canal

O ruído da comunicação proveniente dos neurônios foi analisado, considerando a frequência de oscilação de IP_3 igual a 0,3 Hz, para cada topologia de rede, em ambos os cenários – saudável e Alzheimer. Os resultados da relação sinal-ruído (SNR) referentes à topologia de

Grau Regular, no cenário saudável e da Doença de Alzheimer, são apresentados nas Figuras 4.8a e 4.8b, respectivamente.

Figura 4.8 – Relação sinal-ruído (SNR) para a topologia de Grau Regular, considerando cada tipo de ruído e a uma frequência de oscilação de IP_3 de 0,3 Hz.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Para o cenário saudável (Figura 4.8a), nota-se que os valores da SNR variam entre 24 e 36 dB, aproximadamente. Nesses níveis, pode-se considerar que o ruído não compromete o desempenho da rede, visto que os valores da SNR são satisfatórios quando comparados, por exemplo, com os níveis desejáveis em um sistema de comunicação tradicional, como um rede Ethernet ou um sistema de comunicação óptica.

Comparando os valores de SNR para cada padrão de disparo, nota-se que, em média, o padrão que apresenta os menores valores de SNR e, portanto, o menor desempenho, é o *Fast Spiking* (FS), o que era esperado, tendo em vista que esse é o padrão com a maior frequência de disparos e, conseqüentemente, aquele que introduz mais ruído ao sistema. Por outro lado, o LS e o CH são aqueles que apresentam os melhores valores de SNR.

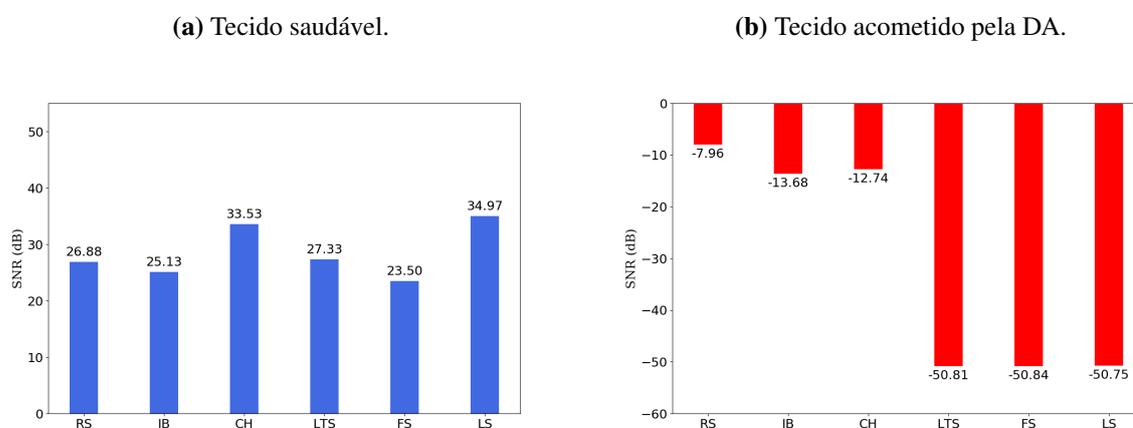
Observando-se os resultados obtidos para o cenário da Doença de Alzheimer (Figura 4.8b), é possível verificar que os valores de SNR mensurados são consideravelmente inferiores àqueles obtidos no cenário saudável (Figura 4.8a). Os resultados variam em valores negativos de -19 dB a -14 dB, aproximadamente, o que significa que o ruído afeta com maior intensidade esse sistema de comunicação.

Essa diminuição abrupta nos níveis da SNR se deve ao fato de que, embora a DA provoque uma desregulação da homeostase do Ca^{2+} intracelular, o que se revela em um aumento dos níveis de Ca^{2+} , o ruído proveniente dos neurônios produz uma demasiada intensificação

desse processo de desregulação, conduzindo o sistema a um aumento ainda maior nos níveis de Ca^{2+} . Dessa forma, a contribuição do ruído na amplificação do Ca^{2+} é mais expressiva em comparação com a contribuição produzida pelo próprio sistema, o que conduz os níveis da SNR a valores significativamente inferiores e negativos.

As Figuras 4.9a e 4.9b apresentam os resultados da relação sinal-ruído (SNR) referentes à topologia de Raio de Ligação, com raio 2, no cenário saudável e da Doença de Alzheimer, respectivamente.

Figura 4.9 – Relação sinal-ruído (SNR) para a topologia de Raio de Ligação, com raio 2, considerando cada tipo de ruído e a uma frequência de oscilação de IP_3 de 0,3 Hz.



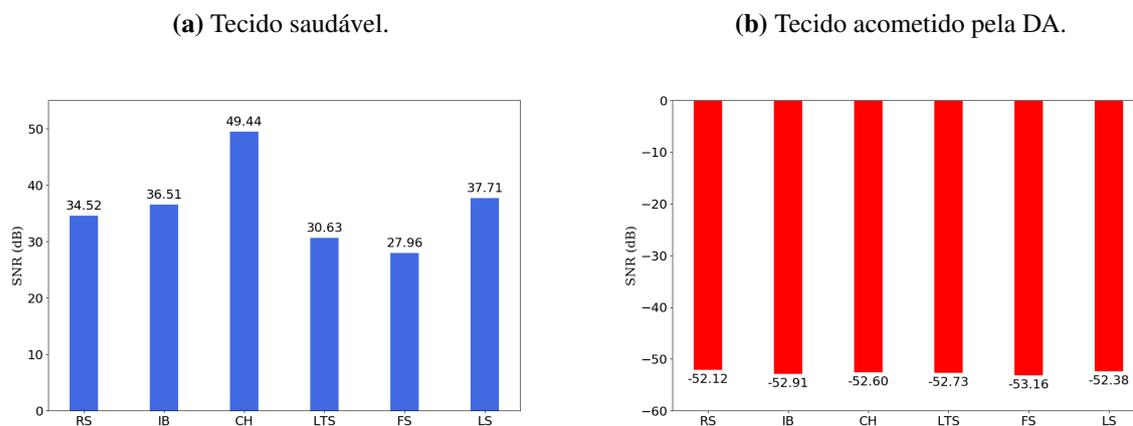
Fonte: Elaborada pelo autor.

No cenário saudável, os resultados obtidos para a SNR são, em média, notavelmente próximos àqueles obtidos na topologia de Grau Regular (Figura 4.8). Mais uma vez, o padrão FS é aquele que apresenta o menor valor de SNR, enquanto os padrões LS e CH apresentam os valores mais altos.

Pela Figura 4.9b, é possível constatar que, para esta topologia, com raio 2, os três primeiros padrões de disparos – RS, IB e CH – apresentaram menor influência no desempenho do sistema em comparação com a topologia anterior, uma vez que a SNR foi superior, embora ainda se apresentem com valores negativos. Apesar de os valores obtidos para os outros três padrões – LTS, FS e LS – serem próximos, o padrão FS ainda afeta mais negativamente no desempenho do sistema.

Os resultados da relação sinal-ruído (SNR) referentes à topologia de Raio de Ligação, com raio 3, no cenário saudável e da Doença de Alzheimer, são apresentados nas Figuras 4.10a e 4.10b, respectivamente.

Figura 4.10 – Relação sinal-ruído (SNR) para a topologia de Raio de Ligação, com raio 3, considerando cada tipo de ruído e a uma frequência de oscilação de IP_3 de 0,3 Hz.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Nesse caso, considerando os resultados obtidos para o tecido saudável, verifica-se que os níveis de SNR são, de um modo geral, superiores àqueles mensurados nas topologias anteriormente apresentadas. Por outro lado, a influência de cada tipo de ruído continua apresentando o mesmo comportamento, com o padrão FS sendo aquele com que mais afeta negativamente o sistema, ao passo que o LS e o CH são aqueles que menos afetam o desempenho do sistema.

A comunicação molecular é uma área de estudo bastante recente e, nos últimos anos, tem levado os engenheiros de comunicação a estudarem a possibilidade de modelar sistemas de comunicação que utilizam componentes biológicos. Essa área de estudo tem se mostrado bastante desafiadora, considerando-se a interdisciplinaridade das pesquisas, além do eminente nível de complexidade para a compreensão dos processos biológicos, bem como sua modelagem.

Por outro lado, pesquisas nesta área se provam bastante relevantes, tendo em vista que as futuras técnicas de bionanossensores dependerão de técnicas de inferência baseadas em modelos computacionais de tecidos para obter uma descrição detalhada da comunicação em redes celulares. No cérebro, as redes de astrócitos apresentam diferentes tipos de topologias. Elas são severamente afetadas pela presença de placas β -amilóides, que estão ligadas como uma das causas da doença de Alzheimer. Diante disso, neste trabalho, foi proposta uma abordagem computacional que captura o efeito do β -amilóide na sinalização de cálcio de diferentes redes de astrócitos em múltipla escala.

Foram implementadas as redes de Atalho, Grau Regular, Erdős-Rényi e Raio de Ligação. Com isso, foi projetado um sistema de comunicação molecular para avaliar a extensão da propagação dos sinais de Ca^{2+} , o atraso molecular, o ganho do canal, o ruído na comunicação e a capacidade do canal.

Os resultados mostram que a Doença de Alzheimer é mais instável na escala de células únicas, bem como oscilações de cálcio em níveis mais baixos. Esse efeito em escala única – apenas uma célula – pode criar um impacto em várias escalas na comunicação entre astrócitos acometidos pela DA, alterando o prolongamento da propagação em todas as topologias de rede, aumentando o atraso molecular e os níveis de ruído no sistema, e diminuindo o ganho de canal e a capacidade do canal, em comparação com astrócitos saudáveis. Essas observações são

diferentes nas muitas topologias de rede, mas com um impacto maior nas redes Erdős-Rényi e nas topologias de redes de Raio de Ligação.

Desde a análise em escala única, foi possível notar que a presença do β -amilóide provocou uma forte desregulação nos níveis de Ca^{2+} nos astrócitos, tanto em termos de amplitude, quanto em termos de frequência. Essa desregulação é visível na análise em múltipla escala, ontem temos uma divergência considerável entre os resultados para o cenário saudável e para aquele sob a influência da Doença de Alzheimer.

A extensão de propagação do Ca^{2+} na topologia Erdős-Rényi é sempre superior em comparação às demais, inclusive no cenário da DA, entretanto, embora esse resultado pareça ser positivo para o cenário patológico, com os resultados posteriores foi possível observar que essa propagação acelerada ocorre em múltiplos caminhos, o que afeta negativamente as demais métricas do sistema de comunicação. Por esse motivo, as métricas de ganho, atraso, capacidade e ruído apresentaram desempenho inferiores nesse segundo cenário, conforme mencionado anteriormente.

No que se refere ao impacto da DA sobre as topologias, pode-se concluir que, nas métricas de ganho, atraso e capacidade, a topologia de Atalho é a menos afetada pela presença do β -amilóide e, portanto, um tecido com essa topologia seria preferível, em comparação às demais topologias. Além disso, observou-se que o aumento do raio diminui o impacto da DA, bem como a aleatoriedade da rede amplia os efeitos de multipercorso e, portanto, prejudica seriamente o desempenho do sistema de comunicação – por esse motivo a topologia Erdős-Rényi foi aquela que apresentou uma maior queda de desempenho no cenário patológico.

5.1 – Sugestões de Trabalhos Futuros

Embora tenha sido elaborada uma investigação holística para capturar o efeito da DA nas redes de astrócitos em uma abordagem computacional, trabalhos complementares precisam ser levados adiante. Por exemplo, redes de astrócitos com DA devem ser implementadas com conexões com microcolunas de neurônios do córtex. Além disso, os efeitos das placas β -amilóides precisam ser considerados na fenda sináptica e nos neurônios para uma caracterização mais precisa do impacto da DA no cérebro. Outros trabalhos complementares são elencados a seguir:

1. Análise em função dos estágios da Doença de Alzheimer, bem como o seu avanço ao longo do tempo.
2. Análise da difusão do β -amilóide ao longo do tecido, a fim de avaliar os seus efeitos aos parâmetros desse sistema de comunicação.
3. Utilização de um sistema SIMO e/ou MIMO para analisar os efeitos de múltiplos caminhos do sistema.
4. Ampliação da análise da influência dos neurônios sobre as redes de astrócitos, inclusive considerando os efeitos do β -amilóide sobre essa outra célula.

5.2 – Artigos Publicados

1. M. T. Barros; REGIS, C. D. M.; SOARES, W. S. The Multi-Scale Impact of the Alzheimer's Disease on the Topology Diversity of Astrocytes Molecular Communications Nanonetworks. **IEEE Access**, v. 6, p. 78904-78917, 2018.
2. SOARES, W. S.; REGIS, C. D. M.; M. T. Barros. Análise sobre o Impacto de Topologias de Astrócitos em um Sistema de Comunicação Molecular baseado em Sinalização de Ca^{2+} . In: Simpósio Brasileiro de Telecomunicações e Processamento de Sinais, 2018, Campina Grande - PB.

Referências Bibliográficas

- Agmon-Snir, Hagai, Carr, Catherine E, & Rinzel, John. 1998. The role of dendrites in auditory coincidence detection. *Nature*, **393**(6682), 268–272.
- Aguado, Fernando, Espinosa-Parrilla, Juan F, Carmona, Maria A, & Soriano, Eduardo. 2002. Neuronal activity regulates correlated network properties of spontaneous calcium transients in astrocytes in situ. *Journal of Neuroscience*, **22**(21), 9430–9444.
- Akan, Ozgur B, Ramezani, Hamideh, Khan, Tooba, Abbasi, Naveed A, & Kuscu, Murat. 2017. Fundamentals of molecular information and communication science. *Proceedings of the IEEE*, **105**(2), 306–318.
- Akyildiz, I., Pierobon, M., Balasubramaniam, S., & Koucheryavy, Y. 2015. The internet of Bio-Nano things. *IEEE Communications Magazine*, **53**(3), 32–40.
- Akyildiz, Ian, & Jornet, Josep. 2010. The Internet of Nano-Things. **17**(12), 58 – 63.
- Akyildiz, Ian, Fekri, Faramarz, Sivakumar, R, Forest, Craig, & Hammer, Brian. 2012. Monaco: Fundamentals of molecular nano-communication networks. **19**(10), 12–18.
- Alberdi, Elena, Wyssenbach, Ane, Alberdi, María, Sánchez-Gómez, M^a V, Cavaliere, Fabio, Rodríguez, José J, Verkhatsky, Alexei, & Matute, Carlos. 2013. Ca²⁺-dependent endoplasmic reticulum stress correlates with astrogliosis in oligomeric amyloid β -treated astrocytes and in a model of Alzheimer's disease. *Aging Cell*, **12**(2), 292–302.
- Albert, Réka, & Barabási, Albert-László. 2002. Statistical mechanics of complex networks. *Reviews of modern physics*, **74**(1), 47.
- Araque, Alfonso. 2008. Astrocytes process synaptic information. *Neuron glia biology*, **4**(1), 3–10.

- Araque, Alfonso, & Navarrete, Marta. 2010. Glial cells in neuronal network function. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, **365**(1551), 2375–2381.
- Araque, Alfonso, Parpura, Vladimir, Sanzgiri, Rita P, & Haydon, Philip G. 1999. Tripartite synapses: glia, the unacknowledged partner. *Trends in neurosciences*, **22**(5), 208–215.
- Arispe, Nelson, Diaz, Juan C, & Simakova, Olga. 2007. A β ion channels. Prospects for treating Alzheimer's disease with A β channel blockers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, **1768**(8), 1952–1965.
- Atakan, Baris, Akan, Ozgur B, & Balasubramaniam, Sasitharan. 2012. Body area nanonetworks with molecular communications in nanomedicine. *IEEE Communications Magazine*, **50**(1).
- Baigent, Stephen, Stark, Jaroslav, & Warner, Anne. 1997a. Modelling the effect of gap junction nonlinearities in systems of coupled cells. *Journal of theoretical biology*, **186**(2), 223–239.
- Baigent, Stephen, Stark, Jaroslav, & Warner, Anne. 1997b. Modelling the Effect of Gap Junction Nonlinearities in Systems of Coupled Cells. *Journal of Theoretical Biology*, **186**, 223–239.
- Balasubramaniam, Sasitharan, & Lio, Pietro. 2013. Multi-Hop Conjugation Based Bacteria Nanonetworks. **12**(02).
- Balasubramaniam, Sasitharan, Boyle, Noreen T, Della-Chiesa, Andrea, Walsh, Frank, Mardinoglu, Adil, Botvich, Dmitri, & Prina-Mello, Adriele. 2011. Development of artificial neuronal networks for molecular communication. *Nano Communication Networks*, **2**(2), 150–160.
- Barros, M. T., Balasubramaniam, S., & Jennings, B. 2015a. Comparative End-to-end Analysis of Ca²⁺ Signaling-based Molecular Communication in Biological Tissues. *IEEE Transactions on Communications*, **63**(12), 5128–5142.
- Barros, Michael Taynnan. 2017. Ca²⁺-signaling-based molecular communication systems: Design and future research directions. *Nano Communication Networks*, **11**(1), 103–113.
- Barros, Michael Taynnan, & Dey, Subhrakanti. 2017a. Feed-forward and Feedback Control in Astrocytes for Ca²⁺-based Molecular Communications Nanonetworks. *bioRxiv*, August, 177154.

- Barros, Michael Taynnan, & Dey, Subhrakanti. 2017b. Set Point Regulation of Astrocyte Intracellular Ca²⁺ Signalling. *Pages 315–320 of: The 17th IEEE International Conference on Nanotechnology (IEEE NANO 2017)*,.
- Barros, Michael Taynnan, Balasubramaniam, Sasitharan, & Jennings, Brendan. 2014. Using Information Metrics and Molecular Communication to Detect Cellular Tissue Deformation. *IEEE Transactions on Nanobioscience*, **13**(3), 278–288.
- Barros, Michael Taynnan, Balasubramaniam, Sasitharan, & Jennings, Brendan. 2015b. Comparative end-to-end analysis of Ca²⁺-signaling-based molecular communication in biological tissues. *IEEE Transactions on Communications*, **63**(12), 5128–5142.
- Barros, Michael Taynnan, Silva, Walisson, & Regis, Carlos Danilo Miranda. 2018. The Multi-Scale Impact of the Alzheimer's Disease on the Topology Diversity of Astrocytes Molecular Communications Nanonetworks. *IEEE Access*, **6**, 78904–78917.
- Bennett, MVL, & Verselis, VK. 1992. Biophysics of gap junctions. *Pages 29–47 of: Seminars in cell biology*, vol. 3. Elsevier.
- Bukauskas, Feliksas F, Bukauskiene, Angele, Bennett, Michael VL, & Verselis, Vytas K. 2001. Gating properties of gap junction channels assembled from connexin43 and connexin43 fused with green fluorescent protein. *Biophysical journal*, **81**(1), 137–152.
- Charles, Andrew C, Merrill, Jean E, Dirksen, Ellen R, & Sandersont, Michael J. 1991. Intercellular signaling in glial cells: calcium waves and oscillations in response to mechanical stimulation and glutamate. *Neuron*, **6**(6), 983–992.
- Charles, Andrew C, Kodali, Susheel K, & Tyndale, Rachel F. 1996. Intercellular calcium waves in neurons. *Molecular and Cellular Neuroscience*, **7**(5), 337–353.
- Chu, Zhiguo, Galarreta, Mario, & Hestrin, Shaul. 2003. Synaptic interactions of late-spiking neocortical neurons in layer 1. *Journal of Neuroscience*, **23**(1), 96–102.
- Cornell-Bell, Ann H, Finkbeiner, Steven M, Cooper, Mark S, & Smith, Stephen J. 1990. Glutamate induces calcium waves in cultured astrocytes: long-range glial signaling. *Science*, **247**(4941), 470.

- Cruz, Nancy F, Ball, Kelly K, & Dienel, Gerald A. 2010. Astrocytic gap junctional communication is reduced in amyloid- β -treated cultured astrocytes, but not in Alzheimer's disease transgenic mice. *ASN neuro*, **2**(4), AN20100017.
- De, J Caluwé, & Dupont, G. 2013. The progression towards Alzheimer's disease described as a bistable switch arising from the positive loop between amyloids and Ca (2+). *Journal of theoretical biology*, **331**, 12–18.
- De Mello, Walmor C. 1984. Effect of intracellular injection of cAMP on the electrical coupling of mammalian cardiac cells. *Biochemical and biophysical research communications*, **119**(3), 1001–1007.
- Demuro, Angelo, & Parker, Ian. 2013. Cytotoxicity of intracellular $\alpha\beta 42$ amyloid oligomers involves Ca²⁺ release from the endoplasmic reticulum by stimulated production of inositol trisphosphate. *Journal of Neuroscience*, **33**(9), 3824–3833.
- Di Garbo, Angelo, Barbi, Michele, Chillemi, Santi, Alloisio, Susanna, & Nobile, Mario. 2007. Calcium signalling in astrocytes and modulation of neural activity. *Biosystems*, **89**(1-3), 74–83.
- Eckford, Andrew W. 2007. Achievable information rates for molecular communication with distinct molecules. *Pages 313–315 of: Bio-Inspired Models of Network, Information and Computing Systems, 2007. Bionetics 2007. 2nd. IEEE.*
- Enomoto, K, Furuya, K, Yamagishi, S, & Maeno, T. 1992. Mechanically induced electrical and intracellular calcium responses in normal and cancerous mammary cells. *Cell calcium*, **13**(8), 501–511.
- Fujii, Yuki, Maekawa, Shohei, & Morita, Mitsuhiro. 2017. Astrocyte calcium waves propagate proximally by gap junction and distally by extracellular diffusion of ATP released from volume-regulated anion channels. *Scientific Reports*, **7**(1), 13115.
- Gaspers, Lawrence D, & Thomas, Andrew P. 2005. Calcium signaling in liver. *Cell calcium*, **38**(3), 329–342.
- Giaume, Christian. 2010. Astroglial wiring is adding complexity to neuroglial networking. *Frontiers in neuroenergetics*, **2**, 129.

- Gillespie, Daniel T. 1977. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *The journal of physical chemistry*, **81**(25), 2340–2361.
- Goldberg, Mati, De Pittà, Maurizio, Volman, Vladislav, Berry, Hugues, & Ben-Jacob, Eshel. 2010. Nonlinear gap junctions enable long-distance propagation of pulsating calcium waves in astrocyte networks. *PLoS computational biology*, **6**(8), e1000909.
- Gomes, Priya, Srinivas, Sangly P, Vereecke, Johan, & Himpens, Bernard. 2006. Gap junctional intercellular communication in bovine corneal endothelial cells. *Experimental eye research*, **83**(5), 1225–1237.
- Gordon, Grant R. J., Mulligan, Sean J., & MacVicar, Brian A. 2007a. Astrocyte control of the cerebrovasculature. *Glia*, **55**(12), 1214–1221.
- Gordon, Grant RJ, Mulligan, Sean J, & MacVicar, Brian A. 2007b. Astrocyte control of the cerebrovasculature. *Glia*, **55**(12), 1214–1221.
- Halidi, Nadia, Boittin, Francois-Xavier, Bény, Jean-Louis, & Meister, Jean-Jacques. 2011. Propagation of fast and slow intercellular Ca²⁺ waves in primary cultured arterial smooth muscle cells. *Cell calcium*, **50**(5), 459–467.
- Hardy, John, & Allsop, David. 1991. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends in pharmacological sciences*, **12**, 383–388.
- Hardy, John, & Selkoe, Dennis J. 2002. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: progress and problems on the road to therapeutics. *science*, **297**(5580), 353–356.
- Haughey, Norman J, & Mattson, Mark P. 2003. Alzheimer's amyloid β -peptide enhances ATP/gap junction-mediated calcium-wave propagation in astrocytes. *Neuromolecular medicine*, **3**(3), 173–180.
- Haydon, Philip G. 2001. GLIA: listening and talking to the synapse. *Nature Reviews Neuroscience*, **2**(3), 185–193.
- Heneka, Michael T, Carson, Monica J, El Khoury, Joseph, Landreth, Gary E, Brosseron, Frederic, Feinstein, Douglas L, Jacobs, Andreas H, Wyss-Coray, Tony, Vitorica, Javier, Ransohoff, Richard M, *et al.* . 2015. Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, **14**(4), 388–405.

- Hille, Bertil, *et al.* . 2001. *Ion channels of excitable membranes*. Vol. 507. Sinauer Sunderland, MA.
- Hilton Arlington, Virginia. 2008. NSF Workshop on Molecular Communication/Biological Communications Technology.
- Höfer, Thomas, Venance, Laurent, & Giaume, Christian. 2002. Control and plasticity of intercellular calcium waves in astrocytes: a modeling approach. *Journal of Neuroscience*, **22**(12), 4850–4859.
- Houades, Vanessa, Koulakoff, Annette, Ezan, Pascal, Seif, Isabelle, & Giaume, Christian. 2008. Gap junction-mediated astrocytic networks in the mouse barrel cortex. *Journal of Neuroscience*, **28**(20), 5207–5217.
- Huang, Yanhua H, & Bergles, Dwight E. 2004. Glutamate transporters bring competition to the synapse. *Current opinion in neurobiology*, **14**(3), 346–352.
- Iacobas, Dumitru A, Suadicani, Sylvia O, Spray, David C, & Scemes, Eliana. 2006. A stochastic two-dimensional model of intercellular Ca²⁺ wave spread in glia. *Biophysical journal*, **90**(1), 24–41.
- Iadecola, Costantino, & Nedergaard, Maiken. 2007. Glial regulation of the cerebral microvasculature. *Nature neuroscience*, **10**(11), 1369.
- Izhikevich, Eugene M. 2003. Simple model of spiking neurons. *IEEE Transactions on neural networks*, **14**(6), 1569–1572.
- Izhikevich, Eugene M, & Moehlis, Jeff. 2008. Dynamical Systems in Neuroscience: The geometry of excitability and bursting. *SIAM review*, **50**(2), 397.
- Jørgensen, Niklas Rye. 2005. Short-range intercellular calcium signaling in bone. *APMIS. Supplementum*, 5–36.
- Kawaguchi, Yasuo, Wilson, Charles J, Augood, Sarah J, & Emson, Piers C. 1995. Striatal interneurons: chemical, physiological and morphological characterization. *Trends in neurosciences*, **18**(12), 527–535.
- Khachaturian, Zaven S. 1987. Hypothesis on the regulation of cytosol calcium concentration and the aging brain. *Neurobiology of aging*, **8**(4), 345–346.

- Kilinc, D., & Akan, O. B. 2013. An Information Theoretical Analysis of Nanoscale Molecular Gap Junction Communication Channel Between Cardiomyocytes. *IEEE Transactions on Nanotechnology*, **12**(2), 129–136.
- Kilinc, Deniz, & Akan, Ozgur B. 2014. A theoretical modeling and analysis of communication via heat flow at nanoscale. *IEEE Transactions on Communications*, **62**(10), 3600–3609.
- Koizumi, Schuichi, Fujishita, Kayoko, Inoue, Kaori, Shigemoto-Mogami, Yukari, Tsuda, Makoto, & Inoue, Kazuhide. 2004. Ca²⁺ waves in keratinocytes are transmitted to sensory neurons: the involvement of extracellular ATP and P2Y2 receptor activation. *Biochemical Journal*, **380**(2), 329–338.
- Kono, Taisuke, Nishikori, Tetsuya, Kataoka, Hiroko, Uchio, Yuji, Ochi, Mitsuo, & Enomoto, Koh-ichi. 2006. Spontaneous oscillation and mechanically induced calcium waves in chondrocytes. *Cell biochemistry and function*, **24**(2), 103–111.
- Kubota, Yoshiyuki, & Kawaguchi, Yasuo. 1997. Two distinct subgroups of cholecystokinin-immunoreactive cortical interneurons. *Brain research*, **752**(1-2), 175–183.
- Kuran, Mehmet, Tugcu, Tuna, & Özerman Edis, Bilge. 2012. Calcium signaling: Overview and research directions of a molecular communication paradigm. **19**(10), 20–27.
- Kurumatani, Takahiro, Fastbom, Johan, Bonkale, Willy L, Bogdanovic, Nenad, Winblad, Bengt, Ohm, Thomas G, & Cowburn, Richard F. 1998. Loss of inositol 1, 4, 5-trisphosphate receptor sites and decreased PKC levels correlate with staging of Alzheimer's disease neurofibrillary pathology. *Brain research*, **796**(1-2), 209–221.
- Kuscu, Murat, & Akan, Ozgur. 2012. A Physical Channel Model and Analysis for Nanoscale Molecular Communications With Forster Resonance Energy Transfer (FRET). **11**(01), 200–207.
- Kuscu, Murat, Malak, Derya, & Akan, Ozgur. 2012. An information theoretical analysis of broadcast networks and channel routing for FRET-based nanoscale communications. **06**, 6167–6171.
- Lallouette, Jules. 2014. *Modélisation des réponses calciques de réseaux d'astrocytes: Relations entre topologie et dynamiques*. Ph.D. thesis, INSA de Lyon, Doctoral School of Computer Science and Mathematics.

- Lallouette, Jules, Pitta, Maurizio De, Ben-Jacob, Eshel, & Berry, Hugues. 2014a. Sparse short-distance Connection Enhance Calcium Wave Propagation in a 3D model of astrocytes networks. *Frontiers in Computation Neuroscience*, **8**(45), 1–18.
- Lallouette, Jules, Pittà, Maurizio de, Ben-Jacob, Eshel, & Berry, Hugues. 2014b. Sparse short-distance connections enhance calcium wave propagation in a 3D model of astrocyte networks. *Frontiers in Computational Neuroscience*.
- Landfield, Philip W. 1987. 'Increased calcium-current' hypothesis of brain aging. *Neurobiology of aging*, **8**(4), 346–347.
- Landfield, Philip W, & Pitler, Thomas A. 1984. Prolonged Ca²⁺-dependent afterhyperpolarizations in hippocampal neurons of aged rats. *Science*, **226**(4678), 1089–1092.
- Latulippe, Joe, Lotito, Derek, & Murby, Donovan. 2018. A mathematical model for the effects of amyloid beta on intracellular calcium. *PloS one*, **13**(8).
- Lavrentovich, Maxim, & Hemkin, Sheryl. 2008a. A mathematical model of spontaneous calcium (II) oscillations in astrocytes. *Journal of Theoretical Biology*, **251**(4), 553–560.
- Lavrentovich, Maxim, & Hemkin, Sheryl. 2008b. A mathematical model of spontaneous calcium(II) oscillations in astrocytes. *Journal of Theoretical Biology*, **251**, 553–560.
- Lenk, Kerstin, Räisänen, Eero, & Hyttinen, Jari AK. 2016. Understanding the role of astrocytic GABA in simulated neural networks. *Pages 6121–6124 of: Engineering in Medicine and Biology Society (EMBC), 2016 IEEE 38th Annual International Conference of the. IEEE*.
- Llinas, R, & Sugimori, M. 1980. Electrophysiological properties of in vitro Purkinje cell dendrites in mammalian cerebellar slices. *The Journal of physiology*, **305**(1), 197–213.
- M Kumar, Nalin, & B Gilula, Norton. 1996. The Gap Junction Communication Channel. **84**(03), 381–8.
- Malak, Derya, & Akan, Ozgur. 2013. A Communication Theoretical Analysis of Synaptic Multiple-Access Channel in Hippocampal-Cortical Neurons. **61**(06), 2457–2467.

- Manninen, Tiina, Havela, Riikka, & Linne, Marja-Leena. 2017. Reproducibility and comparability of computational models for astrocyte calcium excitability. *Frontiers in neuroinformatics*, **11**.
- Markram, Henry, Toledo-Rodriguez, Maria, Wang, Yun, Gupta, Anirudh, Silberberg, Gilad, & Wu, Caizhi. 2004. Interneurons of the neocortical inhibitory system. *Nature reviews neuroscience*, **5**(10), 793–807.
- Matrosov, Valeri, Gordleeva, Susan, Boldyreva, Natalia, Ben-Jacob, Eshel, Semyanov, Alexey, Kazantsev, Victor, & De Pittà, Maurizio. 2017. Emergence of regular and complex calcium oscillations by inositol 1, 4, 5-trisphosphate signaling in astrocytes. *arXiv preprint arXiv:1706.08138*.
- Mattson, Mark P, Cheng, Bin, Davis, Dave, Bryant, Karin, Lieberburg, Ivan, & Rydel, Russell E. 1992. beta-Amyloid peptides destabilize calcium homeostasis and render human cortical neurons vulnerable to excitotoxicity. *Journal of Neuroscience*, **12**(2), 376–389.
- Mesiti, Fabio, Floor, Pålert Anders, & Balasingham, Ilanko. 2015. Astrocyte to Neuron Communication Channels With Applications. *IEEE Transactions on Molecular, Biological and Multi-Scale Communications*, **1**(2), 164–175.
- Metea, Monica R., & Newman, Eric A. 2006a. Glial Cells Dilate and Constrict Blood Vessels: A Mechanism of Neurovascular Coupling. *Journal of Neuroscience*, **26**(11), 2862–2870.
- Metea, Monica R, & Newman, Eric A. 2006b. Glial cells dilate and constrict blood vessels: a mechanism of neurovascular coupling. *Journal of Neuroscience*, **26**(11), 2862–2870.
- Motoyama, Kentaro, Karl, Irene E, Flye, M Wayne, Osborne, Dale F, & Hotchkiss, Richard S. 1999. Effect of Ca²⁺ agonists in the perfused liver: determination via laser scanning confocal microscopy. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, **276**(2), R575–R585.
- Nakano, Tadashi, & Liu, Jian-Qin. 2010. Design and analysis of molecular relay channels: An information theoretic approach. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, **9**(3), 213–221.
- Nakano, Tadashi, Suda, Tatsuya, Koujin, Takako, Haraguchi, Tokuko, & Hiraoka, Yasushi. 2007. Molecular communication through gap junction channels: System design, experiments

- and modeling. *Pages 139–146 of: Bio-Inspired Models of Network, Information and Computing Systems, 2007. Bionetics 2007. 2nd.* IEEE.
- Nowak, Lionel G, Azouz, Rony, Sanchez-Vives, Maria V, Gray, Charles M, & McCormick, David A. 2003. Electrophysiological classes of cat primary visual cortical neurons in vivo as revealed by quantitative analyses. *Journal of neurophysiology*, **89**(3), 1541–1566.
- Olabarria, Markel, Noristani, Harun N, Verkhratsky, Alexei, & Rodríguez, José J. 2010. Concomitant astroglial atrophy and astrogliosis in a triple transgenic animal model of Alzheimer's disease. *Glia*, **58**(7), 831–838.
- Osipchuk, Yuri, & Cahalan, Michael. 1992. Cell-to-cell spread of calcium signals mediated by ATP receptors in mast cells. *Nature*, **359**(6392), 241.
- Perea, Gertrudis, & Araque, Alfonso. 2005. Glial calcium signaling and neuron–glia communication. *Cell Calcium*, **38**(3), 375 – 382. *Frontiers in calcium signalling*.
- Perea, Gertrudis, Navarrete, Marta, & Araque, Alfonso. 2009. Tripartite synapses: astrocytes process and control synaptic information. *Trends in neurosciences*, **32**(8), 421–431.
- Peti-Peterdi, János. 2006. Calcium wave of tubuloglomerular feedback. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, **291**(2), F473–F480.
- Pierobon, Massimiliano, & Akyildiz, Ian. 2011. Diffusion-Based Noise Analysis for Molecular Communication in Nanonetworks. **59**(07), 2532 – 2547.
- Pierobon, Massimiliano, & Akyildiz, Ian. 2013. Capacity of a Diffusion-Based Molecular Communication System With Channel Memory and Molecular Noise. **59**(02), 942–954.
- Pierobon, Massimiliano, & Akyildiz, Ian. 2014. A Statistical–Physical Model of Interference in Diffusion-Based Molecular Nanonetworks. **62**(06), 2085–2095.
- Pitta, M., Goldberg, M., Volman, V., Berry, H., & Ben-Jacob, E. 2009. Glutamate regulation of calcium and Ip3 oscillating and pulsating dynamics in astrocytes. *Journal of Biological Physics*, **35**, 383–411.
- R Loewenstein, W. 1981. Junctional Intercellular communication: The cell-to-cell membrane channel. **61**(11), 829–913.

- Resende, R, Ferreiro, E, Pereira, C, & De Oliveira, C Resende. 2008. Neurotoxic effect of oligomeric and fibrillar species of amyloid-beta peptide 1-42: involvement of endoplasmic reticulum calcium release in oligomer-induced cell death. *Neuroscience*, **155**(3), 725–737.
- Robb-Gaspers, Lawrence D, & Thomas, Andrew P. 1995. Coordination of Ca²⁺ signaling by intercellular propagation of Ca²⁺ waves in the intact liver. *Journal of Biological Chemistry*, **270**(14), 8102–8107.
- Rodriguez-Vieitez, Elena, Saint-Aubert, Laure, Carter, Stephen F, Almkvist, Ove, Farid, Karim, Schöll, Michael, Chiotis, Konstantinos, Thordardottir, Steinunn, Graff, Caroline, Wall, Anders, *et al.* . 2016. Diverging longitudinal changes in astrocytosis and amyloid PET in autosomal dominant Alzheimer's disease. *Brain*, **139**(3), 922–936.
- Rose, Birgit, & Loewenstein, Werner R. 1976. Permeability of a cell junction and the local cytoplasmic free ionized calcium concentration: a study with aequorin. *The Journal of membrane biology*, **28**(1), 87–119.
- Roux, Lisa, Benchenane, Karim, Rothstein, Jeffrey D, Bonvento, Gilles, & Giaume, Christian. 2011. Plasticity of astroglial networks in olfactory glomeruli. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, October, 201107386.
- Rusakov, Dmitri A. 2001. The role of perisynaptic glial sheaths in glutamate spillover and extracellular Ca²⁺ depletion. *Biophysical Journal*, **81**(4), 1947–1959.
- Scemes, Eliana, & Giaume, Christian. 2006. Astrocyte calcium waves: what they are and what they do. *Glia*, **54**(7), 716–725.
- Scemes, Eliana, Suadicani, Sylvia O, Dahl, Gerhard, & Spray, David C. 2007. Connexin and pannexin mediated cell–cell communication. *Neuron glia biology*, **3**(3), 199–208.
- Schousboe, Arne. 2003. Role of astrocytes in the maintenance and modulation of glutamatergic and GABAergic neurotransmission. *Neurochemical research*, **28**(2), 347–352.
- Seifert, Gerald, & Steinhäuser, Christian. 2001. Ionotropic glutamate receptors in astrocytes. *Pages 287–299 of: Progress in brain research*, vol. 132. Elsevier.
- Seifert, Gerald, Schilling, Karl, & Steinhäuser, Christian. 2006. Astrocyte dysfunction in neurological disorders: a molecular perspective. *Nature Reviews Neuroscience*, **7**(3), 194–206.

- Selkoe, Dennis J. 1991. The molecular pathology of Alzheimer's disease. *Neuron*, **6**(4), 487–498.
- Selkoe, Dennis J. 2001. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiological reviews*, **81**(2), 741–766.
- Selkoe, Dennis J, & Hardy, John. 2016. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO molecular medicine*, **8**(6), 595–608.
- Silverthorn, Dee Unglaub. 2010. *Fisiologia humana: uma abordagem integrada*. Artmed editora.
- Skupin, Alexander, Kettenmann, Helmut, Winkler, Ulrike, Wartenberg, Maria, Sauer, Heinrich, Tovey, Stephen C, Taylor, Colin W, & Falcke, Martin. 2008. How does intracellular Ca²⁺ oscillate: by chance or by the clock? *Biophysical Journal*, **94**(6), 2404–2411.
- Slack, CHRISTINE, & Warner, ANNE E. 1975. Properties of surface and junctional membranes of embryonic cells isolated from blastula stages of *Xenopus laevis*. *The Journal of physiology*, **248**(1), 97–120.
- Softky, William R, & Koch, Christof. 1993. The highly irregular firing of cortical cells is inconsistent with temporal integration of random EPSPs. *Journal of Neuroscience*, **13**(1), 334–350.
- Spray, DC, Harris, AL, & Bennett, MV. 1981. Equilibrium properties of a voltage-dependent junctional conductance. *The Journal of general physiology*, **77**(1), 77–93.
- Suadicani, Sylvia O, Vink, Monique J, & Spray, David C. 2000. Slow intercellular Ca²⁺ signaling in wild-type and Cx43-null neonatal mouse cardiac myocytes. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, **279**(6), H3076–H3088.
- Syková, Eva, & Nicholson, Charles. 2008. Diffusion in brain extracellular space. *Physiological reviews*, **88**(4), 1277–1340.
- Szabó, Zsolt, Héja, László, Szalay, Gergely, Kékesi, Orsolya, Füredi, András, Szebényi, Kornélia, Dobolyi, Árpád, Orbán, Tamás I, Kolacsek, Orsolya, Tompa, Tamás, *et al.* . 2017. Extensive astrocyte synchronization advances neuronal coupling in slow wave activity in vivo. *Scientific Reports*, **7**(1), 6018.

- T. Gillespie, Daniel. 1977. Exact Stochastic Simulation Of Coupled Chemical-Reactions. *81*(12), 2340–2361.
- Theodosis, Dionysia T, Poulain, Dominique A, & Oliet, Stéphane HR. 2008. Activity-dependent structural and functional plasticity of astrocyte-neuron interactions. *Physiological reviews*, **88**(3), 983–1008.
- Toescu, Emil C, Verkhratsky, Alexei, & Landfield, Philip W. 2004. Ca²⁺ regulation and gene expression in normal brain aging. *Trends in neurosciences*, **27**(10), 614–620.
- Toivari, Eeva, Manninen, Tiina, Nahata, Amit K, Jalonen, Tuula O, & Linne, Marja-Leena. 2011. Effects of transmitters and amyloid-beta peptide on calcium signals in rat cortical astrocytes: Fura-2AM measurements and stochastic model simulations. *PLoS One*, **6**(3), e17914.
- Tsien, RW, & Weingart, R. 1976. Inotropic effect of cyclic AMP in calf ventricular muscle studied by a cut end method. *The Journal of physiology*, **260**(1), 117–141.
- Turin, L, & Warner, AE. 1980. Intracellular pH in early *Xenopus* embryos: its effect on current flow between blastomeres. *The Journal of physiology*, **300**(1), 489–504.
- Verkhratsky, Alexej, & Toescu, Emil C. 1998. Calcium and neuronal ageing. *Trends in neurosciences*, **21**(1), 2–7.
- Volgyi, Katalin, Juhász, Gábor, Kovács, Zsolt, & Penke, Botond. 2015. Dysfunction of endoplasmic reticulum (ER) and mitochondria (MT) in Alzheimer's disease: The role of the ER-MT cross-talk. *Current Alzheimer Research*, **12**(7), 655–672.
- Volterra, A, & Bezzi, P. 2002. Release of transmitters from glial cells. *The Tripartite Synapse: Glia in Synaptic Transmission*, 164–184.
- Wallach, Gilad, Lallouette, Jules, Herzog, Nitzan, De Pittà, Maurizio, Jacob, Eshel Ben, Berry, Hugues, & Hanein, Yael. 2014. Glutamate mediated astrocytic filtering of neuronal activity. *PLoS computational biology*, **10**(12), e1003964.
- Wallraff, Anke, Köhling, Rüdiger, Heinemann, Uwe, Theis, Martin, Willecke, Klaus, & Steinhäuser, Christian. 2006. The Impact of Astrocytic Gap Junctional Coupling on Potassium Buffering in the Hippocampus. *Journal of Neuroscience*, **26**(20), 5438–5447.

- Wang, Yun, Toledo-Rodriguez, Maria, Gupta, Anirudh, Wu, Caizhi, Silberberg, Gilad, Luo, Junyi, & Markram, Henry. 2004. Anatomical, physiological and molecular properties of Martinotti cells in the somatosensory cortex of the juvenile rat. *The Journal of physiology*, **561**(1), 65–90.
- Watts, Duncan J, & Strogatz, Steven H. 1998. Collective dynamics of ‘small-world’ networks. *nature*, **393**(6684), 440.
- Wirdatmadja, Stefanus A, Barros, Michael Taynnan, Koucheryavy, Yevgeni, Jornet, Josep Miquel, & Balasubramaniam, Sasitharan. 2017. Wireless Optogenetic Nanonetworks: Device Model and Charging Protocols. *arXiv preprint arXiv:1706.06495*.
- Wu, Yu-Wei, Tang, Xiaofang, Arizono, Misa, Bannai, Hiroko, Shih, Pei-Yu, Dembitskaya, Yulia, Kazantsev, Victor, Tanaka, Mika, Itohara, Shigeyoshi, Mikoshiba, Katsuhiko, *et al.* . 2014. Spatiotemporal calcium dynamics in single astrocytes and its modulation by neuronal activity. *Cell Calcium*, **55**(2), 119–129.
- Yule, DAVID I, Stuenkel, EDWARD, & Williams, JOHN A. 1996. Intercellular calcium waves in rat pancreatic acini: mechanism of transmission. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, **271**(4), C1285–C1294.
- Zeng, Shuai, Li, Bing, Zeng, Shaoqun, & Chen, Shangbin. 2009a. Simulation of spontaneous Ca²⁺ oscillations in astrocytes mediated by voltage-gated calcium channels. *Biophysical journal*, **97**(9), 2429–2437.
- Zeng, Shuai, Li, Bing, Zeng, Shaoqun, & Chen, Shangbin. 2009b. Simulation of Spontaneous Ca²⁺ Oscillations in Astrocytes Mediated by Voltage-Gated Calcium Channels. *Biophysical Journal*, **97**, 2429–2437.
- Zonta, Micaela, Angulo, María Cecilia, Gobbo, Sara, Rosengarten, Bernhard, Hossmann, Konstantin-A, Pozzan, Tullio, & Carmignoto, Giorgio. 2003. Neuron-to-astrocyte signaling is central to the dynamic control of brain microcirculation. *Nature neuroscience*, **6**(1), 43.
-