

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS

FERNANDO PEREIRA DE FARIA

**Modelagem estocástica aplicada ao Efeito
Bystander Radioinduzido em culturas
celulares e processos epidêmicos**

Belo Horizonte - MG - Brasil
2012

FERNANDO PEREIRA DE FARIA

**Modelagem estocástica aplicada ao Efeito
Bystander Radioinduzido em culturas
celulares e processos epidêmicos**

Tese apresentada ao Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ciências (Física).

Orientador: Ronald Dickman

Coorientador: Carlos Henrique Costa
Moreira

Belo Horizonte - MG - Brasil

2012

Dedico esta tese aos meus pais Atayde e Lourdes.

Agradecimentos

Aos meus pais Atayde e Lourdes pelo total apoio em todos os momentos. Quando “as luzes se apagaram”, foram eles que estiveram por perto e, com singeleza, sem julgamentos, me ajudaram a continuar de pé e chegar até o final.

Aos meus irmãos Heloísa, Alexandre, Rosemary e Rosana.

À minha noiva Helen pela sua presença motivadora, carinho e afetividade.

Ao professor Dr. Ronald Dickman pela orientação deste trabalho e pela paciência durante estes anos.

Ao professor Dr. Carlos Henrique Costa Moreira pela coorientação deste trabalho e por me acompanhar desde os tempos de mestrado.

À Marluce e à Ieda, secretárias da pós graduação, que sempre me ajudaram quando precisei.

Às bibliotecárias Shirley e Elizabeth pelas várias vezes que precisei ocupá-las para conseguir artigos.

À Dra. Suely Epsztein Grynberg e ao Dr. Carlos Malamut pela convivência e amizade.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) pelo suporte financeiro.

“Tudo quanto te vier à mão para fazer, faze-o conforme as tuas forças, porque no além para onde tu vais, não há obra, nem projetos, nem conhecimento, nem sabedoria alguma.” Ec. 9:10

Resumo

Neste trabalho são propostos dois modelos estocásticos markovianos úteis na quantificação de danos (por exemplo, morte e mutações) em células não diretamente irradiadas com radiações ionizantes (como raios X e partículas alfa) mas que ocupam o mesmo meio de cultura celular ou tecidos contendo células diretamente irradiadas. Estes modelos são ajustados a resultados experimentais produzindo a meia-vida de pelo menos um dos fatores envolvidos no desencadeamento de tais danos e fornecem a variância de grandezas mensuráveis tais como a sobrevivência celular e a frequência de transformação celular.

Um terceiro modelo com estrutura espacial é estudado no contexto epidêmico. A principal característica que distingue este modelo dos demais extensamente abordados na literatura é a forma de transmissão da infecção que se dá por fatores liberados por células em vez de contato direto. Duas teorias de campo médio são apresentadas para este modelo. A primeira teoria não leva em conta correlações entre os estados celulares e a concentração de fatores e a segunda teoria trata tais correlações de forma aproximada. Simulações de Monte Carlo do espalhamento da infecção na rede quadrada produz expoentes críticos e dimensão fractal consistentes com a classe de universalidade da percolação dinâmica em duas dimensões.

Abstract

In this work we propose two Markovian stochastic models useful in the quantification of damage (e.g., cell death and mutations) in unirradiated cells which occupy the same environment e.g., culture medium or tissues containing directly irradiated cells with ionizing radiations like X rays and alpha particles. The fit of these models to experimental data yields the half-life of at least one factor among the ensemble of possible candidates to trigger these damages. These models furnish the variance of quantities such as cell survival and the cellular transformation frequency.

We also study a markovian epidemic model with spatial structure. The principal new feature of this model is that the infection is transmitted by factors released from cells rather than via direct contact. This model is analyzed with two mean-field theory descriptions, one of which ignores correlations between the cellular state and the factor concentration, and another that treats such correlations in an approximate manner. Monte Carlo simulations of the spread of infection on the square lattice yield values for the critical exponents and the fractal dimension consistent with the dynamic percolation universality class.

CONTEÚDO

Resumo	i
Abstract	ii
1 Introdução	1
2 O Efeito Bystander Radioinduzido	2
2.1 Introdução	2
2.2 Uma revisão do EBR	2
3 Modelagem estocástica aplicada ao EBR	7
3.1 Introdução	7
3.2 Modelo estocástico de dois estados	7
3.2.1 Fundamentos do modelo	7
3.2.2 Formalismo matemático	9
3.3 Modelo estocástico de três estados	10
3.3.1 Fundamentos do modelo	10
3.3.2 Formalismo matemático	11

3.3.3	Fração de sobrevivência e frequência de transformação	15
3.4	Resultados	16
3.4.1	Modelo de dois estados: sobrevivência celular e meia-vida do sinal .	16
3.4.2	Modelo de três estados: sobrevivência \times número de partículas alfa .	18
4	Conceitos básicos de transições de fase fora equilíbrio	22
4.1	Introdução	22
4.2	Transições de fase fora do equilíbrio	22
4.2.1	O processo de contato	23
4.2.2	<i>General Epidemic Process</i> (GEP)	25
4.3	Comportamento de escala	26
5	Processo epidêmico mediado por sinais: campo médio e simulações	28
5.1	Introdução	28
5.2	Descrição do modelo	29
5.3	Análises de campo médio	31
5.3.1	TCMS	32
5.3.2	TCMD	33
5.4	Simulações	38
5.4.1	$w_c \times \mathcal{D}$, $\mu \times \mathcal{D}$ e comparações entre simulações, TCMS e TCMD .	40
5.4.2	Comportamento crítico	41
5.4.3	Dimensão fractal	44

5.4.4	Regime subcrítico	44
5.4.5	Imagens de clusters e espalhamento	46
5.4.6	Velocidade de propagação	49
6	Conclusões e perspectivas	50
A	Valor esperado e variância de $n(t)$ no modelo estocástico de dois estados	52
B	Incerteza nos parâmetros dos modelos em tempo contínuo	55
	Bibliografia	63

Introdução

Os efeitos radioinduzidos em células não irradiadas e localizadas nas proximidades de células irradiadas com partículas alfa, raios X ou gama têm sido tema de vários estudos teóricos e experimentais nas duas últimas décadas [1, 2, 3, 4]. Tais efeitos são conhecidos como Efeito Bystander Radioinduzido (EBR) e incluem, por exemplo, mutações e morte e são dependentes tanto do tipo celular quanto do tipo de radiação sendo observados *in vitro* e *in vivo* [3, 4, 5].

Evidências experimentais sugerem que células irradiadas liberam fatores de natureza proteica que podem se difundir e atingir células não irradiadas desencadeando nelas os mesmos danos observados em células irradiadas. A identificação destes fatores para diferentes tipos celulares e radiações é de grande importância para o entendimento do EBR e é um campo em aberto no estudo desse fenômeno.

Neste trabalho são propostos dois modelos estocásticos de dois e três estados que contribuem para a caracterização destes fatores mediadores do EBR a partir da estimativa da meia-vida por meio de ajustes a dados experimentais. Nos capítulos 2 e 3 são apresentados uma rápida descrição qualitativa do EBR e os modelos estocásticos, respectivamente.

Tendo em vista que os fatores mediadores do EBR têm uma função análoga ao de agentes propagadores de doenças como em uma epidemia, nós propomos um terceiro modelo com estrutura espacial o qual é analisado no contexto de transição de fase fora do equilíbrio através de teorias de campo médio e simulações em redes quadradas. No capítulo 4 são apresentados alguns conceitos básicos de transição de fase fora do equilíbrio. No capítulo 5, nós apresentamos o modelo bem como as análises de seu comportamento crítico e, finalmente, apresentamos as conclusões e perspectivas no capítulo 6.

O Efeito Bystander Radioinduzido

2.1 Introdução

Neste capítulo são introduzidos os conceitos relacionados ao Efeito Bystander¹ Radioinduzido. Na seção 2.2 são apresentadas uma breve revisão do EBR, uma descrição qualitativa das características principais de modelos matemáticos em EBR disponíveis na literatura e as possíveis implicações do EBR em Radioproteção e Radioterapia.

2.2 Uma revisão do EBR

De acordo com a teoria radiobiológica, a ocorrência de danos celulares depende da deposição de energia no DNA a partir da interação deste com a radiação ionizante. Veja a ilustração da ação direta da radiação na célula na figura (2.1). Esta ideia começou a ser questionada no início dos anos 90 quando observações experimentais de danos característicos de exposição à radiação ionizante tais como morte celular, micronúcleos e mutações foram verificados em células não irradiadas diretamente (denominadas células bystander daqui em diante) mas que ocupavam o mesmo espaço (cultura celular ou tecido) contendo células diretamente irradiadas. Tais danos em células bystander são denominados de Efeito Bystander Radioinduzido.

Dentre as observações experimentais *in vitro* que originaram questionamentos sobre a relação dano celular *versus* deposição de energia no DNA destacam-se Deshpande et al. [2] para danos cromossômicos, Mothersill e Seymour [3, 4] para sobrevivência clonogênica

¹Bystander: Termo usado, por exemplo, quando indivíduos sofrem as consequências de eventos mesmo sem participarem diretamente dos mesmos.

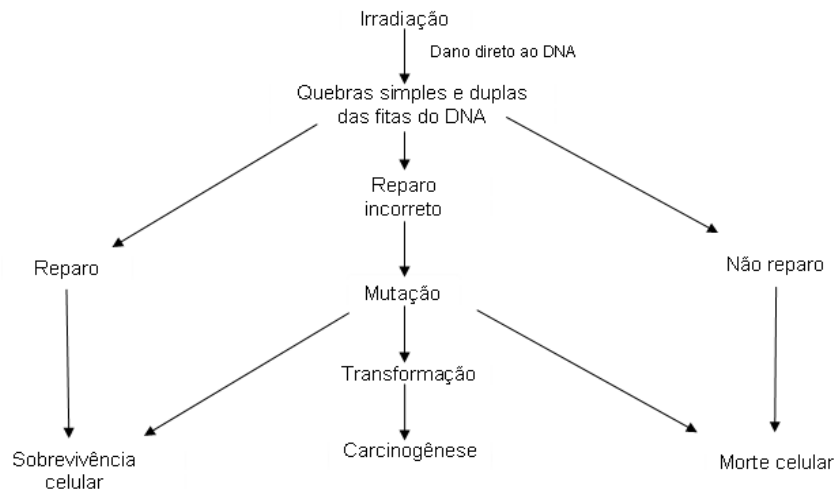


Figura 2.1: Ilustração dos resultados da ação direta da radiação ionizante na célula.

celular²; Nagasawa and Little [6] para mutações; Sawant et al. [7, 8] para transformação celular neoplásica; Han et al. [9] para danos celulares; Shao et al. [10] para micronucleação³. Para observações experimentais *in vivo* destacam-se Koturbash et al. [5] para indução de quebras duplas de fitas de DNA em tecidos cutâneos distantes mais de 0.7cm de tecidos de camundongos irradiados com raios X; Mancuso et al. [11] para apoptose⁴ e quebras de fitas duplas de DNA em células de cerebelo de rato.

A ocorrência do EBR depende de fatores tais como o tipo celular, a densidade celular na cultura ou tecido, tipo de radiação e forma de irradiação. Por exemplo, em irradiações com feixes estreitos de partículas alfa ou raios X, o EBR é facilmente identificado. Já em situações experimentais com irradiação de feixe largo, o número de células bystander é muito pequeno, o que torna o EBR insignificante [12].

Os mecanismos responsáveis pelo desencadeamento do EBR ainda não estão elucidados, mas os experimentos mencionados acima sugerem fortemente que fatores extracelulares liberados por células irradiadas e que se propagam através do meio extracelular sejam

²Sobrevivência clonogênica: Capacidade de gerar novas células.

³Micronucleação: Processo de surgimento de fragmentos cromossômicos no processo de divisão celular e não incluídos no núcleo da célula-filha, permanecendo no citoplasma das células interfásicas.

⁴Apoptose: “Auto-destruição” celular; um tipo de morte celular sem autólise.

mediadores. Além disso, para as situações nas quais as células estão muito próximas, é possível que tais fatores se propaguem via *gap junctions*⁵ [13]. Na hipótese desses fatores (tratados de sinais daqui em diante) serem mediadores do EBR, ao atingirem células bystander, eles agem como “ativadores” de diferentes vias de sinalização que levarão as células aos vários tipos de danos mencionados anteriormente. A abordagem detalhada dessas diferentes vias de sinalização celular está além do escopo deste trabalho mas pode ser encontrada nos seguintes trabalhos [14, 15, 16, 17, 18]. Como exemplo, pode-se citar o papel das citocinas *Transforming Growth Factor Alpha* (TGF- α) e *Tumor Necrosis Factor Alpha* (TNF-*alpha*) liberadas por células irradiadas na ativação da proteína quinase (ERK 1/2) e da enzima cicloxigenase (COX 2), mostradas como essenciais na redução da sobrevivência celular em células bystander do tipo fibroblasto humano normal de pulmão (NHLF) [15]. Em um experimento com células bystander do tipo queratinócito humano (HPV-G) imersas em meio de cultura de células irradiadas de mesmo tipo, Lyng et al. [15] mostrou que o bloqueio de canais de Ca^{+2} reduziu a indução de apoptose nessas células.

A quantificação do EBR é particularmente importante em situações de exposição à radiação ionizante de baixas doses (geralmente menores que 1Gy⁶) e alto *Linear Energy Transfer* (LET). Nessas situações, a ocorrência de dano celular é probabilística e, em geral, de natureza carcinogênica. A estimativa do risco carcinogênico em baixas doses é de grande importância em Radioproteção. Atualmente, tal estimativa é baseada na técnica LNT (*Linear No-Threshold approach*) que consiste na extrapolação de dados experimentais disponíveis para altas doses e altas taxas de dose e que não levam em conta a ocorrência do EBR. Esta aproximação tem se mostrado questionável. Como exemplo, pode-se citar o risco carcinogênico significativamente maior que o previsto pela técnica LNT no caso de exposição a baixas doses por inalação de radônio em trabalhadores de minas [19].

O entendimento da contribuição do EBR nas estimativas de riscos de danos celulares

⁵Pequenos canais que unem os citoplasmas de células adjacentes permitindo a troca de moléculas e íons entre elas.

⁶1 Gy = 1J/1kg.

para estudos dos efeitos conhecidos como *abscopal effects* (por exemplo, inflamação ou mesmo morte de tecidos longe do campo de radiação) encontrados em pacientes durante ou após procedimentos radioterápicos pode gerar impactos nos protocolos de dose em radioterapia que não levam em conta a possibilidade de ocorrência do EBR.

Modelagens quantitativas de diversos aspectos relacionados ao EBR estão reportadas na literatura. Dentre os vários trabalhos, destacam-se aqueles de Nikjoo and Khvostunov [20], Little et al. [21], Ballarini et al. [22], Shuryak et al. [23], Fakir et al. [24], Mariotti et al. [25] e Friedland et al. [26]. Segue abaixo uma rápida descrição dos principais pontos de alguns destes trabalhos.

(i) Em 2003, Nikjoo e Khvostunov [20] desenvolveram o modelo biofísico *ByStander Diffusion Modelling* (BSDM) baseado na difusão de sinais supostamente de natureza proteica e liberados por células irradiadas que reagem com células bystander levando-as à morte celular ou a uma transformação oncogênica. A propagação dos sinais via *gap junctions* é negligenciada. O ajuste do modelo a dados experimentais [4] produz uma estimativa para o peso molecular dos sinais (~ 10 kDa) para um coeficiente de difusão $D=10^8 \text{nm}^2\text{s}^{-1}$.

(ii) Em 2006, Ballarini e seu grupo desenvolveram um código Monte Carlo capaz de reproduzir resultados de EBR em situações experimentais *in vitro* envolvendo irradiação de feixe estreito de células aleatoriamente escolhidas dentre outras plaqueadas em baixa densidade [21]. Posteriormente, este mesmo grupo investigou os mecanismos que governam a liberação, a difusão e a degradação de sinais tais como citocinas. Eles obtiveram significativa concordância entre seus resultados simulacionais e outros resultados experimentais sobre o comportamento temporal da concentração de interleucina IL-6 em meio de cultura de fibroblasto humano [22].

(iii) Em 2007, Shuryak e seu grupo [23] desenvolveram um modelo baseado em resultados experimentais que sugerem a existência de pelo menos um tipo de sinal produzido por células irradiadas e que se espalha rapidamente em um tecido artificial 3D de células epiteliais humanas [27]. O ajuste do modelo a este conjunto de dados mostra que os sinais provavelmente responsáveis por desencadear apoptose e micronucleação possuem um al-

cance da ordem de 950-1000 μm e 650-700 μm .

(iv) Em 2009 Fakir e seu grupo [28] desenvolveram um modelo que aborda o EBR como uma sequência de dois processos: (i) desencadeamento da emissão dos sinais pelas células irradiadas e (ii) resposta das células bystander. O modelo enfatiza a dependência do EBR na dose. Os resultados sugerem uma propagação de sinais por difusão no meio extracelular em vez de *gap junctions*.

No próximo capítulo são apresentados dois modelos estocásticos desenvolvidos neste trabalho. Ambos abordam a cinética do EBR em uma cultura celular. Tais modelos a serem apresentados se distinguem daqueles citados acima por permitirem a estimativa da meia-vida de pelo menos um sinal entre os possíveis candidatos de desencadear morte celular em culturas de queratinócito humano (HaCat) e por fornecerem as variâncias de grandezas determinadas experimentalmente e definidas no próximo capítulo.

Modelagem estocástica aplicada ao EBR

3.1 Introdução

Neste capítulo são introduzidos dois modelos estocásticos de dois e três estados sem estrutura espacial desenvolvidos neste trabalho baseados na cinética do EBR. Nas seções 3.2 e 3.3 são apresentados as hipóteses dos modelos e seus formalismos matemáticos. Na seção 3.4 são discutidas as aplicações dos dois modelos. Estes modelos foram reportados recentemente na publicação [29].

3.2 Modelo estocástico de dois estados

3.2.1 Fundamentos do modelo

Neste modelo, cada célula bystander pode estar em estados saudável (H) ou morto (M). Em tempo $t = 0$, todas as células são supostas saudáveis. O modelo é baseado na hipótese que sinais de natureza proteica são liberados no meio extracelular por células irradiadas. Estes sinais agem em células bystander (saudáveis) podendo provocar uma transição H→M em taxa $R_1(t)$ através de um processo dependente da concentração de sinais. Tal processo consiste na elevação da produção de oxidantes que provocam danos ao DNA proporcionais à quantidade de sinais viáveis no meio extracelular [30, 31, 32, 33]. Moléculas oxidantes tais como as espécies reativas de oxigênio e nitrogênio regulam muitas vias de sinalização celular [10, 30, 31, 32, 33, 34, 35] e têm sido associadas ao EBR [31, 32].

A grande produção de oxidantes induzidos pelos sinais acelera o acúmulo de danos ao DNA e outras alterações celulares, o que leva às diversas manifestações de EBR comentadas no capítulo anterior.

A possibilidade de reparo (um retorno ao estado H ou desexcitação) não é levada em conta neste modelo. Tal ideia é baseada em alguns experimentos, por exemplo, Sedelnikova et al. [36] que reportou resultados em ensaios para apoptose e micronucleação no contexto EBR nos quais tais danos permaneceram inalterados por vários dias. Entretanto, alguns trabalhos experimentais [37, 38, 39, 40, 41] apontam para a possibilidade de rápida desexcitação celular para alguns tipos de células diretamente irradiadas. Também não é levada em conta a possibilidade de proliferação celular dado que as medidas de interesse são realizadas tomando como base uma cultura controle. Os modelos [20, 23] comentados no capítulo anterior são exemplos dentre outros que não levam em conta tal possibilidade.

Vale destacar que o número limitado de estados (H e M no caso deste modelo) é usual em modelagem matemática. Em geral, o número de estados corresponde à quantidade de tipos de EBR medidos experimentalmente [20, 42, 43]. Assume-se assim a hipótese que o destino de uma célula é determinado tão logo ela interaja com um sinal, apesar da manifestação EBR ser observável após certo tempo. Tal hipótese, já usada em outros modelos [20, 23], é baseada na ideia de que cada manifestação EBR é desencadeada por um tipo diferente de sinal.

Este modelo é aplicável em situações de análise de sobrevivência de células bystander expostas ao meio colhido de culturas de células irradiadas. Tal meio é conhecido como meio condicionado irradiado (MCI) e contém os sinais liberados pelas células irradiadas. O principal experimento em tal cenário (esquematizado na figura 3.1) que norteou a formulação deste modelo é o de Mothersill e Seymour [4] no qual culturas de queratinócitos humanos (HaCat) foram embebidos em um MCI durante tempos que variaram de 30 min a 9 dias neste experimento. O tempo de imersão das células no MCI é denominado de tempo de resgate. Observou-se que o nível de morte das células bystander retiradas do meio após 30 min de imersão foi praticamente o mesmo após 9 dias, o que sugere uma produção in-

significante de sinais pelas células bystander, se houver. Tais observações apontam para a existência de um tempo de vida característico dos sinais e que deve depender do tipo celular e das condições experimentais.

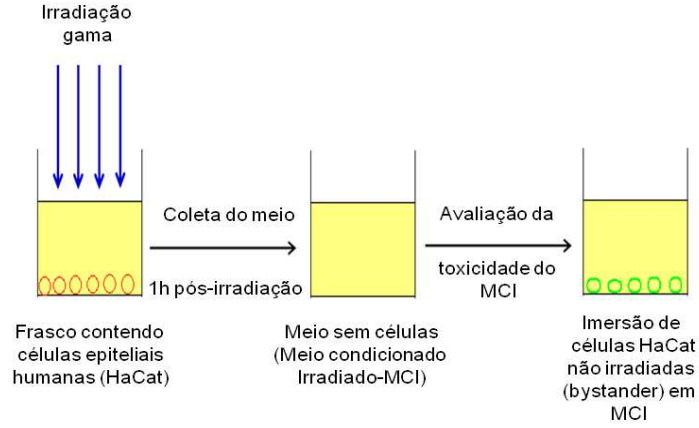


Figura 3.1: Esquema do cenário experimental de Mothersill e Seymour [4] que norteou a formulação do modelo estocástico de dois estados.

3.2.2 Formalismo matemático

Baseado nos fundamentos do modelo, a taxa de transição $H \rightarrow M$ é dada por,

$$R_1(t) = \nu_1 c_0 e^{-\lambda t} \quad (3.1)$$

onde a constante c_0 é a concentração de sinais no MCI em tempo $t = 0$, quando é transferido para o frasco contendo células bystander. O parâmetro ν_1 depende do tipo celular e das condições experimentais e o parâmetro λ é a taxa de decaimento dos sinais.

A equação mestra associada a este processo Markoviano em tempo contínuo é dada por,

$$\frac{dP(n, t)}{dt} = R_1(t)[(n + 1)P(n + 1, t) - nP(n, t)] \quad (3.2)$$

onde $P(n, t)$ é a probabilidade de existir exatamente n células saudáveis em tempo t . Por simplicidade de notação, $\nu_1 c_0 \equiv \mu_{10}$. Dessa forma, o valor esperado de $n(t)$ com condição

inicial de n_0 células saudáveis bem como a variância (mostrados no apêndice A.1) são dados pelas expressões abaixo,

$$\langle n(t) \rangle = n_0 \exp \left[-\frac{\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right] \quad (3.3)$$

Para o caso $P(n, 0) = \delta_{n, n_0}$, a variância do número de células saudáveis é,

$$\text{var}[n(t)] = n_0 \left[\exp \left(\frac{-\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right) - \exp \left(\frac{-2\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right) \right] \quad (3.4)$$

Considerando n_0 uma variável aleatória poissoniana com $\langle n_0 \rangle = \Gamma$, $\text{var}[n(t)] = \langle n(t) \rangle$ e n_0 deve ser substituído por Γ na eq. (3.3).

A fração de sobrevivência, $f_s(t)$, é dada por,

$$f_s(t) = \frac{\langle n(t) \rangle}{n_0} \quad (3.5)$$

Conforme mostrado na seção 3.4, este modelo é ajustado ao conjunto de dados de Mothersill e Seymour [4].

3.3 Modelo estocástico de três estados

3.3.1 Fundamentos do modelo

A fim de quantificar danos não letais, este modelo inclui um estado transformado T para uma célula de forma que as transições possíveis entre estados são: $H \rightarrow T$, $T \rightarrow M$ e $H \rightarrow M$. Neste modelo são considerados dois tipos de sinais rotulados de tipo 1 e tipo 2 e que são responsáveis por desencadear mecanismos de transformações não letais e morte, respectivamente. Estes sinais, liberados por células irradiadas, difundem pelo meio extracelular e, ao encontrar uma célula saudável, leva-as ao desencadeamento de danos letais ou não letais. A contribuição de possíveis *gap junctions* não é modelada explicitamente. Estas mesmas ideias são usadas nos modelos desenvolvidos por Nikjoo e Khvostunov [20]

e Shuryak [23]. Este modelo é aplicável em situações experimentais que quantificam danos não letais como, por exemplo, transformações celulares de natureza oncogênica.

O desenvolvimento deste modelo é norteado pelos experimentos de Sawant et al. [7, 8]. Nestes experimentos, esquematizados na figura 3.2, células foram escolhidas aleatoriamente para serem irradiadas com N partículas α e os danos letais e não letais foram quantificados dias após a irradiação.

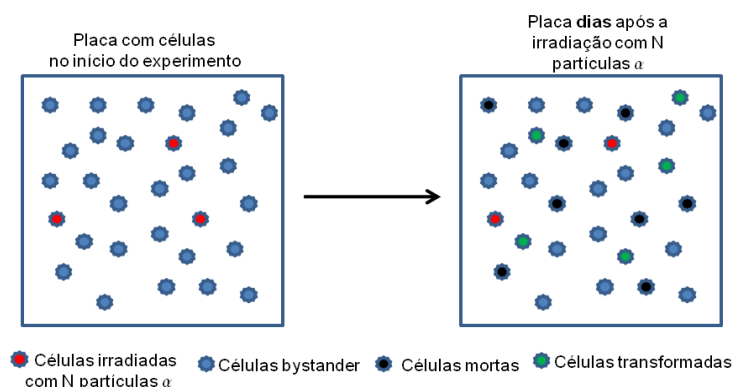


Figura 3.2: Esquema do cenário experimental de Sawant et al. [7, 8] que norteou a formulação do modelo estocástico de três estados.

3.3.2 Formalismo matemático

A concentração de sinais no meio é governada pelas seguintes equações diferenciais,

$$\frac{dc_j(t)}{dt} = p_j \exp(-\alpha t) - \lambda_j c_j(t) \quad (3.6)$$

com $j=1,2$. Como antes, λ_j são as taxas de decaimento dos sinais. Em $t = 0$, as células irradiadas liberam sinais dos tipos 1 e 2 em uma taxa que decai exponencialmente com constante α e com amplitudes p_j que dependem do número N de partículas alfa. Esta dependência é da forma $p_j = p_{0j}(1 - e^{-\epsilon N})$, onde ϵ é a constante de saturação para a emissão de sinais pelas células irradiadas. Esta hipótese de saturação na dose de p_j é suportada por resultados experimentais para diferentes radiações e manifestações de EBR, por exemplo, mutações [44], morte celular [45, 46, 47] e transformação oncogênica [48].

A fim de minimizar o número de parâmetros, é adotado neste modelo que cada sinal tem sua própria amplitude p_{0j} e a saturação ocorre para o mesmo N . É importante destacar que a transição ao regime de saturação pode depender consideravelmente do alvo irradiado na célula (núcleo ou citoplasma), do tipo de radiação e do tipo celular.

A integração da eq. (3.6) com $\lambda_j \neq \alpha$ e $c_j(0) = 0$ produz,

$$c_j(t) = \frac{p_j}{\lambda_j - \alpha} [\exp(-\alpha t) - \exp(-\lambda_j t)] \quad (3.7)$$

Como esperado, $c_j(t)$ cresce inicialmente e decai a zero em tempos longos. O crescimento inicial de $c_j(t)$ é concordante com os resultados experimentais *in vitro* de Mariotti et al. [25] que reportou aumento de citocina interleucina 6 (IL-6) até um tempo máximo de 23h com aparente ausência de decaimento. Entretanto, para uma escala de tempo muito maior (em geral, da ordem de semanas), a suposição de ausência de decaimento para a concentração de sinais não se sustenta dado que (i) se a meia-vida dos sinais é infinita, todas as células na cultura sofreriam danos letais ou não letais em tempos longos já que todas as células na cultura são do mesmo tipo e possuem a mesma susceptibilidade aos sinais e (ii) o meio de cultura não induz nenhum mecanismo de proteção nas células como já mostrado experimentalmente por Mothersill e Seymour [4].

As taxas de transição são dadas por,

$$R_{HT} = \nu_1 c_1(t); \quad R_{HM} = \nu_2 c_2(t); \quad R_{TM} = \nu_3 c_2(t) \quad (3.8)$$

onde os parâmetros ν_1 , ν_2 e ν_3 dependem do tipo celular e das condições experimentais. Importante destacar que resultados experimentais como os de Scherf et al. [49] mostram redução na sobrevivência de células de carcinomas de mama e cólon de útero MCF7 e Colo205, respectivamente, com o aumento da concentração de citocina *Tumor Necrosis Factor* (TNF) no meio extracelular.

Seja $P(n, m, t)$ a probabilidade de existir exatamente n células saudáveis e m células

transformadas em tempo t ; a equação mestra associada ao processo é dada por,

$$\begin{aligned} \frac{dP(n, m, t)}{dt} = & (n + 1)R_{HT}(t)P(n + 1, m - 1, t) \\ & + (n + 1)R_{HM}(t)P(n + 1, m, t) + (n - 1)\gamma_H(t)P(n - 1, m, t) \\ & + (m + 1)R_{TM}(t)P(n, m + 1, t) + (m - 1)\gamma_T(t)P(n, m - 1, t) \\ & - [n(R_{HT} + R_{HM} + \gamma_H) + m(R_{TM} + \gamma_T)]P(n, m, t) \end{aligned} \quad (3.9)$$

onde γ_H e γ_T são as taxas de proliferação de células saudáveis e transformadas, respectivamente.

Os valores esperados são obtidos seguindo os mesmos procedimentos descritos para o modelo de dois estados no apêndice A.1 e são dados por,

$$\langle n \rangle = \Gamma e^{\gamma_H t} \exp \left[-\frac{\nu_1 p_1}{\lambda_1 \alpha} \left(1 + \frac{\alpha e^{-\lambda_1 t} - \lambda_1 e^{-\alpha t}}{\lambda_1 - \alpha} \right) - \frac{\nu_2 p_2}{\lambda_2 \alpha} \left(1 + \frac{\alpha e^{-\lambda_2 t} - \lambda_2 e^{-\alpha t}}{\lambda_2 - \alpha} \right) \right] \quad (3.10)$$

se n_0 é considerado uma variável poissoniana com $\langle n_0 \rangle = \Gamma$.

O estudo da sobrevivência celular em função do número N de partículas alfa é realizado no tempo máximo experimental, t_m . Então, fazendo $t = t_m$ na eq. (3.10) e substituindo p_1 e p_2 pelas suas respectivas expressões $p_1 = p_{01}(1 - e^{-\epsilon N})$ e $p_2 = p_{02}(1 - e^{-\epsilon N})$ e com $\Theta = \Gamma e^{\gamma_H t_m}$. Dessa forma,

$$\begin{aligned}
\langle n(t_m) \rangle &= \Theta \exp \left[-\frac{\nu_1 p_1}{\lambda_1} \overbrace{\left(1 + \frac{\alpha e^{-\lambda_1 t_m} - \lambda_1 e^{-\alpha t_m}}{\lambda_1 - \alpha} \right)}^{\beta_1} \right] \\
&\quad - \Theta \left[\frac{\nu_2 p_2}{\lambda_2} \overbrace{\left(1 + \frac{\alpha e^{-\lambda_2 t_m} - \lambda_2 e^{-\alpha t_m}}{\lambda_2 - \alpha} \right)}^{\beta_2} \right] \\
&= \Theta \exp \left[-\overbrace{\left(\frac{\nu_1 \beta_1 p_{01}}{\lambda_1} + \frac{\nu_2 \beta_2 p_{02}}{\lambda_2} \right)}^{\eta} (1 - e^{-\epsilon N}) \right] \\
&= \Theta \exp [-\eta(1 - e^{-\epsilon N})]. \tag{3.11}
\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
\langle m(t_m) \rangle &= \frac{\nu_1 p_1}{\lambda_1 - \alpha} \exp \left[\overbrace{\gamma_T t - \left(\frac{\nu_3 p_2 \alpha}{\lambda_2 (\lambda_2 - \alpha)} \right) \left(1 + \frac{\alpha e^{-\lambda_2 t} - \lambda_2 e^{-\alpha t}}{\lambda_2 - \alpha} \right)}^{L(t)} \right] \\
&\quad \times \int_0^t dt' \overbrace{\exp[-L(t')] [\exp(-\alpha t') - \exp(-\lambda_1 t')] \langle n(t') \rangle}^{F(t')} \\
&\approx \frac{\nu_1 p_1}{\lambda_1 - \alpha} \exp[L(t)] [F(0) + 4F(t/2) + F(t)]. \tag{3.12}
\end{aligned}$$

onde a integral sem solução analítica na eq. (3.12) foi aproximada usando a regra de Simpson. Uma simples manipulação da última equação produz,

$$\langle m(t_m) \rangle = \xi(1 - e^{-\epsilon N}) \langle n(t_m) \rangle [1 + \omega \exp[-\sigma(1 - e^{-\epsilon N})]]. \tag{3.13}$$

As expressões para ξ , ω e σ são,

$$\xi = \frac{\nu_1 p_{01}}{\lambda_1 - \alpha} [\exp(-\alpha t_m) - \exp(-\lambda_1 t_m)] \tag{3.14}$$

$$\omega = 4 \left[\frac{\exp(-\alpha t_m/2) - \exp(-\lambda_1 t_m/2)}{\exp(-\alpha t_m) - \exp(-\lambda_1 t_m)} \right] \exp [-(\gamma_H - \gamma_T)t_m/2] \quad (3.15)$$

$$\sigma = \frac{\nu_3 p_{02}}{(\lambda_2 - \alpha)\lambda_2 \alpha} [\alpha(e^{-\lambda_2 t_m} - e^{-\lambda_2 t_m/2}) - \lambda_2(e^{-\alpha t_m} - e^{-\alpha t_m/2})] + (\eta_1 - \eta) \quad (3.16)$$

onde η_1 aparece na expressão para $\langle n(t_m/2) \rangle = \Gamma e^{\gamma_H t_m/2} \exp[-\eta_1(1 - e^{-\epsilon N})]$ que é obtida fazendo $t_m = t_m/2$ na equação (3.11).

Na figura (3.3) é apresentada uma análise da equação (3.12) para diferentes valores do parâmetro ν_1 associado à taxa de transição H→T, $R_{HT} = \nu_1 c_1(t)$, para $\Gamma = 100$, $\Delta t = 0.1$ e demais parâmetros como na tabela (3.1).

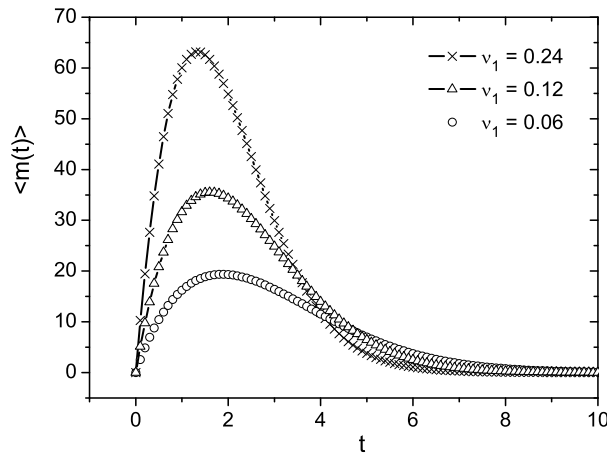


Figura 3.3: Análise da equação (3.12) para diferentes valores do parâmetro ν_1 associado à taxa de transição H→M.

3.3.3 Fração de sobrevivência e frequência de transformação

A fração de sobrevivência (f_s) é definida como,

$$f_s(t_m) = f_b + f_i \quad (3.17)$$

onde f_b e f_i são as frações de células bystander e irradiadas sobreviventes, respectivamente. De acordo com Nikjoo e Khvostunov [20], a probabilidade de sobrevivência de uma célula irradiada com N partículas alfa é q^N com $q = 0.802$ encontrado a partir de análise

estatística da fração de sobrevivência de células C3H10T_{1/2} irradiadas com números exatos de partículas alfa de LET= 90keV.μm⁻¹ [7, 8]. Então,

$$\begin{aligned} f_s(t_m) &= \left[\frac{R_b \langle n(t_m) \rangle + \Theta R_i q^N}{\Theta} \right] \\ &= \underbrace{R_b \exp[-\eta(1 - e^{-\epsilon N})]}_{=f_b} + \underbrace{R_i q^N}_{=f_i} \end{aligned} \quad (3.18)$$

onde R_b e R_i são as frações de células bystander e irradiadas na cultura, respectivamente e $\Theta = \Gamma e^{\gamma_H t_m}$. O valor esperado $\langle m(t_m) \rangle$ não é levado em conta na eq. (3.18) pois representa um fração muito pequena comparada ao total de células saudáveis na cultura.

A frequência de transformação (frT) é definida como o número total de células transformadas (incluindo células bystander e irradiadas) dividido pelo número total de células células sobreviventes [20, 42]. Por simplicidade, considerando $\gamma_H = \gamma_T$,

$$\begin{aligned} frT &= \frac{R_b \langle m(t_m) \rangle + \Theta R_i q^N \nu N}{R_b \langle n(t_m) \rangle + \Theta R_i q^N} \\ &= R_b \xi (1 - e^{-\epsilon N}) \exp[-\eta(1 - e^{-\epsilon N})] \\ &\quad \times \frac{[1 + \omega \exp[-\sigma(1 - e^{-\epsilon N})]] + R_i q^N \nu N}{R_b \exp[-\eta(1 - e^{-\epsilon N})] + R_i q^N} \end{aligned} \quad (3.19)$$

onde νN é a expressão para a frequência de transformação avaliada sobre as células irradiadas para muitos experimentos com radiação de alto LET [50, 51]. A constante ν é a inclinação do gráfico dose *versus* resposta (dano) reportada em [42].

3.4 Resultados

3.4.1 Modelo de dois estados: sobrevivência celular e meia-vida do sinal

Na figura (3.4) é mostrada a fração de sobrevivência clonogênica para células bystander HaCat embebidas em MCI [4]. Neste experimento, uma hora após a irradiação dos frascos contendo células, o meio foi colhido e transferido para frascos de células by-

stander. Após um tempo que variou de 30 minutos a 9 dias, as células bystander foram retiradas do meio e avaliadas para a sobrevivência clonogênica. A curva contínua na figura 1 representa a fração de sobrevivência de acordo com a eq. (3.5) com parâmetros $\mu_{10} = (3.3 \pm 0.2) \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ e $\lambda = (6.6 \pm 0.8) \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$. Estes valores foram obtidos via ajuste pelo método dos mínimos quadrados dos dados experimentais [4]. As incertezas nos parâmetros são avaliadas de acordo com a técnica de elipse de confiança [52]. Para o desvio padrão relativo na figura (3.4) é utilizado um número de células $n_0 = 500$, como no experimento.

Considerando a taxa de decaimento λ na eq. (3.1), o tempo característico de decai-

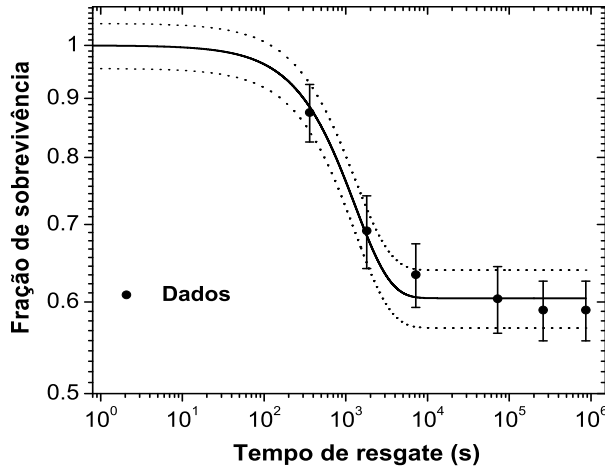


Figura 3.4: Comparação do modelo de dois estados e o experimento [4]. Curva central: fração de sobrevivência de acordo com a eq.(3.5) usando $\mu_{10} = (3.3 \pm 0.2) \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ e $\lambda = (6.6 \pm 0.8) \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$ determinados via ajuste pelo método dos mínimos quadrados. Curvas superior e inferior pontilhadas correspondem a um desvio padrão relativo acima e abaixo da média.

mento é $\tau = 1/\lambda$ e a meia-vida é $T_{1/2} = \tau \ln 2$. Como $\lambda = (6.6 \pm 0.8) \times 10^{-4} \text{s}^{-1}$, então, $\tau = (25.3 \pm 6.1) \text{min}$ e $T_{1/2} = (17.5 \pm 4.3) \text{min}$. Tal valor é compatível com a meia-vida da citocina *Tumor Necrosis Factor alpha* (TNF- α), $T_{1/2} \sim 20 \text{min}$, medido em sangue de pacientes submetidos à radioterapia [4]. É sugestivo que tal citocina é candidata a um dos sinais responsáveis pelo desencadeamento da redução da sobrevivência clonogênica de células HaCat bystander. Outros trabalhos reportam algum papel importante do TNF- α no desencadeamento de repostas celulares, tais como: (i) Aumento na frequência de tro-

cas de cromátides em linfócitos como resposta a estímulos radioinduzidos reportados por Lazutka e Rudaitiene [54] e Narayanan [55]; (ii) desencadeamento de processo de proliferação ou morte celular [56, 57, 58, 59].

Entretando, como não existem dados reportando a degradação/internalização de TNF- α para diferentes meios e tipos celulares, não é possível afirmar que a meia-vida obtida usando o modelo de dois estados corresponde estritamente à essa citocina. Apesar disso, o modelo de dois estados é capaz de prover (via ajuste a um conjunto de dados obtidos como em [4]) a meia-vida do(s) sinal(is) que provavelmente são responsáveis pelo desencadeamento da redução da sobrevivência clonogênica de células no contexto do EBR.

Tem sido mostrado que outras citocinas como as interleucinas (IL) do tipo IL-1, IL-6, IL-8 e *Transforming Growth Factor beta* (TGF- β) podem ter papel importante nas vias de sinalização do EBR como discutido nos trabalhos [14, 15, 16, 17, 18].

3.4.2 Modelo de três estados: sobrevivência \times número de partículas alfa

Este modelo é aplicado aos experimentos de Sawant et al. [7, 8] que avaliaram a sobrevivência celular e a frequência de transformação de células C3H10T $_{1/2}$. Nestes experimentos, 10% das células foram irradiadas com partículas alfa de LET=90keV. μm^{-1} . Após a irradiação, as células foram replaqueadas em baixa densidade (aproximadamente 300 células por placa) e incubadas por sete semanas e, então, avaliadas para a sobrevivência clonogênica celular e para a frequência de transformação oncogênica.

A figuras (3.5) e (3.6) mostram os ajustes deste modelo aos dados comentados acima usando η e ϵ como parâmetros livres nas eqs. (3.18 e 3.19). Em ambas as figuras, $R_i = 0.1$, $R_b = 0.9$ e $\nu = 1.3 \times 10^{-4}$ [42]. Os valores dos parâmetros deste modelo estão resumidos na tabela (3.1).

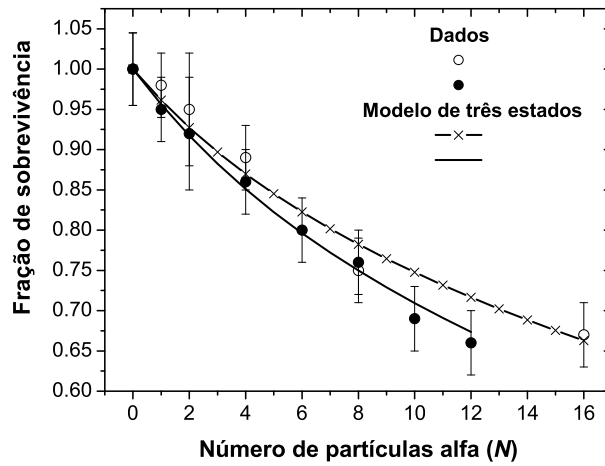


Figura 3.5: Fração de sobrevivência de células C3H10T_{1/2} irradiadas com N partículas alfa de LET=90keV. μm^{-1} em experimentos no qual 10% das células foram irradiadas. Círculos abertos e sólidos são de [7] e [8], respectivamente. Linhas tracejadas e sólidas são os ajustes do modelo de três estados aos dados.

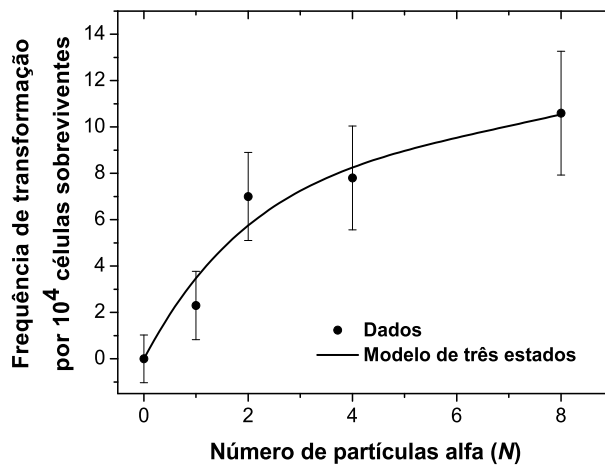


Figura 3.6: Frequência de transformação de células C3H10T_{1/2} irradiadas com N partículas alfa de LET=90keV. μm^{-1} em experimentos no qual 10% das células foram irradiadas. Círculos sólidos são de [8] e a linha sólida é o ajuste do modelo de três estados aos dados.

Parâmetros	Descrição	Valores
ν_1, ν_2, ν_3	Relativos às taxas de transição $S \rightarrow T$, $S \rightarrow D$ e $T \rightarrow D$	0.12, 0.1, 0.09
λ_1, λ_2	Taxas de decaimento dos sinais tipos 1 e 2.	0.1, 0.08
α	Taxa de decaimento para a emissão de sinais	2×10^{-3}
p_{01}, p_{02}	Amplitudes para a emissão de sinais dos tipos 1 e 2.	1.5, 1.0
γ_H, γ_T	Taxas de proliferação de células saudáveis e transformadas.	5×10^{-4} , 1×10^{-4}
ϵ	Constante de saturação para a emissão de sinais.	(a)0.011(2) (b)0.014(3)
η	Constantes dadas em termos dos parâmetros acima.	(a)1.923(5), (b)1.941(8)
ξ, ω, σ		0.007(2), 4.97(8), 26.7(9)

Tabela 3.1: Parâmetros do modelo de três estados. As incertezas são estimadas como descrito no apêndice B. Parâmetros sem incertezas são arbitrários e usados na integração numérica (figura 3.7). (a), (b) obtidos ajustando o modelo aos resultados experimentais de [7] e [8], respectivamente.

Importante observar que, dos parâmetros listados na tabela (3.1), apenas η e ϵ são ajustáveis. Os demais parâmetros são ajustáveis em diferentes combinações como em ξ , ω e σ nas equações (3.14) a (3.16) .

3.4.2.1 Integração numérica - Equação mestra 3.9

O comportamento temporal do número (ou fração) de células bystander saudáveis e transformadas (definido como $\langle n(t) \rangle / n_0$ e $\langle m(t) \rangle / n_0$, respectivamente) bem como a variância de $n(t)$ e $m(t)$ podem ser facilmente encontrados a partir da distribuição de probabilidade $P(n, m, t)$ que pode ser determinada via integração numérica da eq. (3.9) [60].

A figura (3.7) inclui o desvio padrão relativo para $n_0 = 100$ células e um passo de tempo de 0.005. Os demais parâmetros estão resumidos na tabela (3.1). A condição inicial usada para a integração é $P(n, m, 0) = \delta_{n, n_0} \delta_{m, 0}$.

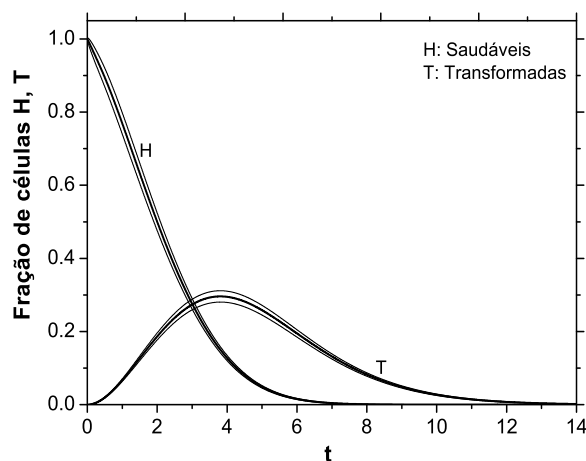


Figura 3.7: Comportamento temporal de células bystander saudáveis e transformadas obtido via integração numérica da eq. (3.9). As curvas centrais são os valores médios e as curvas acima e abaixo são os valores médios somados e subtraídos a um desvio padrão relativo e um passo de tempo de 0.005.

No capítulo 5 são apresentadas extensões dos modelos de dois e três estados com estrutura espacial incluindo as possibilidades de reparo de danos não letais e liberação de sinais por células transformadas. Tal modelo é estudado no contexto de epidemia e transição de fase de não equilíbrio, discutidos no próximo capítulo.

Conceitos básicos de transições de fase fora equilíbrio

4.1 Introdução

Neste capítulo são introduzidos os conceitos básicos relacionados às transições de fase fora do equilíbrio necessários na descrição do comportamento crítico exibido por uma ampla classe de modelos estudados no contexto epidêmico.

Este capítulo é organizado assim: na seção 4.2 é apresentada uma revisão qualitativa do processo de contato (subseção 4.2.1) que é o modelo epidêmico mais simples que exibe uma transição de fase fora do equilíbrio, sendo um bom exemplo para o entendimento dessa classe de transição. Uma breve descrição da classe *General Epidemic Process* (GEP) é apresentada na subseção 4.2.2. Na seção 4.3 é brevemente discutido o regime de escala em fenômenos críticos enfatizando as técnicas usadas neste trabalho.

4.2 Transições de fase fora do equilíbrio

Uma transição de fase é marcada por uma mudança abrupta nas propriedades macroscópicas (também conhecidas como parâmetro de ordem) de um sistema em função de algum parâmetro de controle. Como exemplo, pode-se mencionar a magnetização como parâmetro de ordem em um sistema magnético e a temperatura e o campo externo como parâmetros de controle. Ao longo das últimas décadas, as transições de fase têm sido bastante estudadas para sistemas termodinâmicos de equilíbrio, por exemplo, as transições gás-líquido, transições magnéticas, cristais líquidos, dentre outros [61, 62]. Vários sistemas

fora do equilíbrio termodinâmico também exibem uma transição de fase que é denominada de transição de fase fora do equilíbrio. Como exemplo dessa última classe de transição, pode-se citar o processo de contato, discutido a seguir [63, 64].

4.2.1 O processo de contato

Neste trabalho será discutido uma classe específica de sistemas exibindo uma transição contínua. O modelo mais simples nesta classe é o chamado Processo de Contato (PC) primeiramente descrito por Harris [63] como um modelo de propagação de uma epidemia. No PC, indivíduos estão saudáveis ou infectados. Estes últimos podem se recuperar espontaneamente e permanecerem susceptíveis à nova infecção. Um saudável pode se tornar infectado desde que seja vizinho próximo de um infectado. Um sistema com todos os indivíduos saudáveis representa o chamado estado absorvente significando a extinção da epidemia.

O parâmetro de infecção λ é o parâmetro de controle e determina o espalhamento da epidemia. Para pequenos valores de λ , a epidemia não persiste em tempos longos. Já, para grandes valores de λ , ela se espalha indefinidamente em um sistema infinito. Logo, existe um valor λ_c (ponto crítico) que estabelece o limite entre a extinção da epidemia (estado absorvente) e a persistência da mesma (estado ativo). Verifica-se que λ_c marca uma transição de fase contínua entre um estado absorvente e um estado ativo. O parâmetro de ordem é a densidade estacionária de indivíduos infectados (ρ) e cresce à medida que λ é aumentado. Nas proximidades do ponto crítico, ρ segue uma lei de potência $\rho \sim (\lambda - \lambda_c)^\beta$ onde β é um expoente crítico.

No PC, cada sítio em uma rede hipercúbica está vazio (saudável) ou ocupado (infectado). A taxa de criação de infectados em um sítio vazio é $\lambda n/z$ onde z é a coordenação da rede e n é o número de primeiros vizinhos ocupados. Os infectados se recuperam com taxa unitária e são susceptíveis a re-infecção.

Uma análise de campo médio é útil na determinação das condições nas quais a densidade estacionária é não nula. Segundo o formalismo matemático descrito em [64], seja $\sigma_{\mathbf{x}}$

a variável de estado de um sítio \mathbf{x} , com $\sigma_{\mathbf{x}} = 1(0)$, para \mathbf{x} ocupado (vazio) . A evolução temporal de $\rho(\mathbf{x}, t) \equiv \text{Prob}[\sigma_{\mathbf{x}} = 1]$ é,

$$\frac{d}{dt}\rho(\mathbf{x}, t) = -\rho(\mathbf{x}, t) + \frac{\lambda}{z} \sum_{\mathbf{y}} \text{Prob}[\sigma_{\mathbf{x}}(t) = 0, \sigma_{\mathbf{y}}(t) = 1] \quad (4.1)$$

onde a soma na equação acima é sobre os vizinhos mais próximos de \mathbf{x} . O primeiro termo representa aniquilação (surgimento de um saudável) e o segundo termo representa a criação de um infectado em um sítio vazio \mathbf{x} dada a existência de um infectado em \mathbf{y} . A aproximação mais simples dessa equação consiste em tratar o estado de cada sítio como estatisticamente independente e assumir homogeneidade espacial ($\rho(\mathbf{x}) = \rho$) . Nesse caso, a equação 4.1 torna,

$$\frac{d}{dt}\rho = (\lambda - 1)\rho - \lambda\rho^2 \quad (4.2)$$

A solução estacionária não trivial desta equação é:

$$\bar{\rho} = \frac{\lambda - 1}{\lambda}, \text{ for } \lambda > 1 \quad (4.3)$$

Então,

$$\bar{\rho} \sim (\lambda - \lambda_c) \quad (4.4)$$

tal que $\beta = 1$ e $\lambda_c = 1$.

A solução exata na teoria de campo médio da equação (4.2) para $\lambda \neq 1$ e $\rho(t=0) = \rho_0$ é

$$\rho = \frac{(\lambda - 1)\rho_0}{\lambda\rho_0 + [\lambda(1 - \rho_0) - 1]e^{-(\lambda-1)t}} \quad (4.5)$$

tal que, para $\lambda < 1$, ρ decai exponencialmente e, para $\lambda > 1$, ρ cresce exponencialmente.

Como pode ser observado da solução exata, o tempo de relaxação τ é dado por,

$$\tau \sim |\lambda_c - \lambda|^{-1} \quad (4.6)$$

Exatamente no ponto crítico, a solução de (4.2) é,

$$\rho = \frac{\rho_0}{\rho_0 t + 1} \quad (4.7)$$

onde $\rho_0 = \rho(0)$. Assim, em tempos longos, ρ decai algebricamente, $\rho \sim t^{-1}$. Claro que estas estimativas para o ponto crítico λ_c e expoente crítico β são rudimentares já que as correlações entre sítios são negligenciadas. A estimativa para λ_c pode ser melhorada introduzindo a correlação entre sítios nas aproximações de campo médio. Apesar disso, $\beta = 1$ para qualquer ordem de aproximação. Os expoentes críticos do PC pertencem à classe conhecida como Percolação Direcionada. Valores confiáveis para λ_c , β e demais expoentes tem sido reportados em d dimensões [67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74] para diferentes modelos seguindo a mesma classe de universalidade¹.

4.2.2 *General Epidemic Process (GEP)*

O estudo das transições de fase tem sido explorado há algum tempo no contexto de GEP [75, 76] que, essencialmente, é um modelo com estrutura espacial no qual cada indivíduo pode estar nos estados Susceptível (S), Infectado (I) ou Removido (R). Neste modelo estocástico SIR, inicialmente os indivíduos são susceptíveis e apenas alguns são infectados. Indivíduos S tornam-se infectados em uma dada taxa β se for vizinho de pelo menos um infectado que, por sua vez, pode se recuperar com taxa μ . Após a recuperação, permanecerá imune e, então, é removido do processo. A infecção (S+I \rightarrow 2I) é limitada aos pares de primeiros vizinhos (S-I).

Uma transição de fase é verificada no GEP com a variação de β/μ . Notadamente, para pequenos valores dessa razão, espera-se que o sistema entre em um estado absorvente (sem infectados) em tempos suficientemente longos. A fase na qual a epidemia se espalha (fase supercrítica) é marcada pelo crescimento da região ativa em forma de anel que invade as regiões de susceptíveis deixando para trás uma região inativa composta de susceptíveis e removidos. Nesta fase, o estado final é completamente inativo em um sistema finito. O

¹Classe de universalidade: nome dado aos grupos de modelos que possuem os mesmos expoentes críticos.

comportamento crítico da GEP segue a classe de universalidade de percolação dinâmica [76, 77]. Interessante que, se um indivíduo removido puder se tornar susceptível, ou seja, se a imunidade não for permanente, tem-se o modelo SIRS. É possível verificar um estado estacionário ativo no qual o processo de infecção, recuperação e perda de imunidade ocorre continuamente. No entanto, isso faz com que o comportamento crítico desse modelo siga a classe de universalidade de percolação direcionada [78, 79]. No modelo SIRS, quando a taxa de transição $R \rightarrow S$, α , é muito grande comparada a β e μ , o modelo corresponde ao PC com um parâmetro de infecção dado por $\lambda = \beta/\mu$.

4.3 Comportamento de escala

A ideia de comportamento de escala foi introduzida fenomenologicamente por Widom [80] que conjecturou que a equação de estado é uma função homogênea generalizada das variáveis termodinâmicas na vizinhança do ponto crítico. Nesta vizinhança, o sistema é sujeito a fortes flutuações correlacionadas em grandes tempos e grandes distâncias e é marcado pela divergência do comprimento de correlação no ponto crítico. Usando tal fato, Kadanoff [81] descreveu um cenário para a hipótese de escala afirmando que a divergência do comprimento de correlação é responsável pela dependência singular das grandezas físicas em função da distância do ponto crítico. Tal ideia foi fundamentada com o surgimento do grupo de renormalização desenvolvido por Wilson [82].

Em 1979, Grassberger e de la Torre [83] introduziram uma análise do comportamento crítico dependente do tempo. A ideia é o estudo do espalhamento de uma população começando com uma configuração muito próxima ao estado absorvente, por exemplo, um único sítio ocupado por um infectado numa rede quadrada em $t = 0$. As grandezas de interesse são a probabilidade de sobrevivência $P(t)$ em tempo t , $n(t)$, o número médio de infectados e $R^2(t)$, a distância média quadrática de infectados em relação à origem. No regime onde não existe espalhamento de infectados (regime subcrítico), $\lambda < \lambda_c$, $P(t)$ e $n(t)$ decaem exponencialmente. Neste regime, a probabilidade condicional de encontrar um infectado a uma distância r no tempo t , $\rho(r, t)$, dado um único infectado na origem

em $t = 0$, também decai exponencialmente para distâncias grandes e tempo longos:

$$\rho(r, t) \propto \exp(-r/\xi) \exp(-t/\tau) \quad (4.8)$$

onde ξ e τ são o comprimento e o tempo de vida característicos de um cluster de infectados que cresce a partir de um único indivíduo. Ambos divergem quando $\lambda \rightarrow \lambda_c$. No regime supercrítico, $\lambda > \lambda_c$, existe uma probabilidade não nula que o processo se espalhe em tempos longos com a região ativa se expandindo em uma taxa constante tal que, $n(t) \propto t^d$, onde d é a dimensão do sistema e $R^2(t) \propto t^2$. Exatamente no ponto crítico, $\lambda = \lambda_c$, o processo cessa com probabilidade um e a evolução assintótica dessas grandezas seguem as leis de potência,

$$n(t) \propto t^\theta \quad (4.9)$$

$$P(t) \propto t^{-\delta} \quad (4.10)$$

$$R^2(t) \propto t^{2/z} \quad (4.11)$$

onde θ , δ e z são os expoentes críticos. Portanto, plots log-log de $n(t)$, $P(t)$ e $R^2(t)$ se aproximam de retas no ponto crítico e apresentam curvaturas negativa e positiva nos regimes subcrítico e supercrítico, respectivamente. Os expoentes θ , δ e z são dados pelas inclinações dessas retas. Em geral, espera-se correções de tempo finito escalando como,

$$P(t) \propto t^{-\delta} (1 + at^{-\theta'} + bt^{-\delta'} + \dots) \quad (4.12)$$

As expressões para $n(t)$ e $R^2(t)$ são similares.

Processo epidêmico mediado por sinais: campo médio e simulações

5.1 Introdução

Em vários processos epidêmicos, a infecção se espalha via um agente emitido por organismos ou células [84], por exemplo, em infecções virais e no espalhamento de dano em tecidos após a irradiação. Neste último caso, células irradiadas podem se tornar fontes de sinais que são desencadeadores de danos letais ou não letais em células próximas não irradiadas (células bystander). Estes sinais liberados por células irradiadas (possivelmente citocinas) difundem pelo meio extracelular e atingem as células bystander [20] agindo de forma análoga ao agente infectante em uma epidemia.

Epidemias têm sido amplamente modeladas por meio de equações determinísticas de reação-difusão [85] e sistemas estocásticos de partículas [76, 78]. No caso dos modelos mais simples comentado no capítulo anterior (modelo SIR e SIRS), a infecção é transmitida via contato entre os organismos saudáveis e infectados sem ênfase ao agente transmissor. Considerando que o agente possui sua própria dinâmica envolvendo difusão e decaimento, é interessante incluí-lo explicitamente na descrição quantitativa da epidemia, especialmente, quando a modelagem é dotada de estrutura espacial.

Neste capítulo é apresentado um novo modelo epidêmico no qual elementos (células ou organismos) liberam sinais que difundem e decaem em certas taxas. Elementos saudáveis podem se tornar infectados devido à presença dos sinais e também se tornar novas fontes de sinais. O modelo é formulado em uma rede quadrada e é descrito na próxima seção. Formulações de campo médio com e sem difusão são apresentadas na seção 5.3. Na seção

5.4 são apresentados os resultados simulacionais para o diagrama de fase, comportamento crítico, propriedades de cluster e velocidade de espalhamento da epidemia. Este modelo foi reportado recentemente na publicação [86].

5.2 Descrição do modelo

O modelo é definido em uma rede quadrada com L^2 sítios em cada um dos quais existe um elemento (organismo ou célula) que pode estar em um dos estados: Suscetível (S), Transformado (T), Depletado (D) ou Removido (R). Cada sítio (i, j) abriga uma concentração de sinal $C_{ij} \geq 0$. Indivíduos emitem sinal no momento da transição T→D. A unidade de concentração é tal que cada evento produz uma molécula de sinal. As transições entre os estados são:

- Um indivíduo no estado S no sítio (i, j) , tem as taxas de transição μC_{ij} e νC_{ij} para os estados T e R, respectivamente. Apenas estas taxas dependem da concentração de sinal.
- Um indivíduo no estado T tem taxas de transição w_{TS}, w_{TD}, w_{TR} para os estados S, D, R, respectivamente.
- Um indivíduo no estado D tem taxas de transição w_{DS}, w_{DR} para os estados S e R, respectivamente.

A escolha para a dependência proporcional em C nas transições S→T e S→R foi feita por simplicidade. Ao longo deste capítulo é discutida brevemente a possibilidade de uma dependência em C^2 . A figura (5.1) ilustra os estados e as possíveis transições. Importante notar que o estado R não permite escape. Os sinais liberados na transição T→D difundem pelo meio e decaem. Considerando que o número de moléculas de sinais é muito grande, a concentração C_{ij} pode ser tratada deterministicamente via a equação,

$$\frac{dC_{ij}}{dt} = \mathcal{D}\Delta C_{ij} - \lambda C_{ij} + \sum_{k=1}^{n_{ij}} \delta(t - t_{k;ij}), \quad (5.1)$$

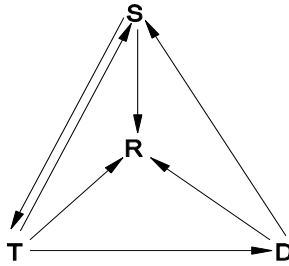


Figura 5.1: Ilustração das transições permitidas entre os estados. As transições $S \rightarrow T$ e $S \rightarrow R$ são proporcionais à concentração de sinais local.

onde Δ é o Laplaciano discreto, \mathcal{D} é a taxa de difusão, λ é a taxa de decaimento, n_{ij} é o número de vezes que um sítio (i, j) faz uma transição $T \rightarrow D$ e $t_{k;ij}$ são os tempos da transição. Note que C_{ij} é uma variável aleatória assim como n_{ij} e $t_{k;ij}$.

Importante observar que, apesar do grande número de parâmetros, grandes valores de μ e $w_{TD}/(w_{TR} + w_{TS})$, pequenos valores de λ e $\mathcal{D} > 0$ favorecem o espalhamento da epidemia. O tamanho de uma epidemia pode ser definido pelo número de elementos em estados diferentes de S. Nesse modelo, é de especial interesse o número de elementos removidos, $N_R(t)$, o número de elementos no estado T, $N_T(t)$ e a concentração média de sinais, $C(t)$. Note que, se as duas últimas grandezas forem nulas, o crescimento da epidemia é impossível. Na fase de espalhamento (regime supercrítico), $N_R(t)$ e $C(t)$ crescem sem limites em um sistema infinito e, eventualmente, saturam em um sistema finito. Importante observar que uma configuração absorvente corresponde àquela sem elementos no estado T e concentração de sinais nula em todo lugar. No entanto, como C decai a taxa finita, tal situação somente é possível em tempo infinito. A definição de sobrevivência da epidemia será discutida no estudo do comportamento crítico do modelo.

A seguir são discutidas as aproximações de campo médio para o modelo.

5.3 Análises de campo médio

Nesta seção são apresentadas duas aproximações de campo médio. Na teoria de campo médio simples (TCMS), a distribuição de probabilidade conjunta para o sistema de N sítios é fatorada em probabilidades simples e trata a concentração de sinais C_{ij} como independente do estado do sítio. Na teoria de campo médio difusivo (TCMD), que pode ser entendida como uma melhora da TCMS, consiste na introdução de uma variável C_J para cada tipo de sítio que denota a concentração de sinais média em um sítio dado que ele está no estado $J = S, T, D, R$.

Ambos os casos são baseados no seguinte conjunto de equações descrito a seguir: sejam as probabilidades de um sítio (i, j) estar no estado S, T, D ou R dadas por S_{ij} , T_{ij} , D_{ij} e R_{ij} , respectivamente e com concentração média de sinais por C_{ij} . Então,

$$\frac{dC_{ij}}{dt} = \mathcal{D} \sum_{\langle kl, ij \rangle} (C_{lk} - C_{ij}) + w_{TD}T_{ij} - \lambda C_{ij} \quad (5.2)$$

$$\frac{dS_{ij}}{dt} = -(\mu + \nu)C_{ij}S_{ij} + w_{TS}T_{ij} + w_{DS}D_{ij} \quad (5.3)$$

$$\frac{dT_{ij}}{dt} = \mu C_{ij}S_{ij} - (w_{TS} + w_{TD} + w_{TR})T_{ij} \quad (5.4)$$

$$\frac{dD_{ij}}{dt} = w_{TD}T_{ij} - (w_{DS} + w_{DR})D_{ij} \quad (5.5)$$

$$\frac{dR_{ij}}{dt} = \mu C_{ij}S_{ij} + w_{TR}T_{ij} + w_{DR}D_{ij} \quad (5.6)$$

onde a soma na primeira equação se estende sobre os vizinhos (k, l) mais próximos de um sítio (i, j) .

Dado o amplo conjunto de parâmetros, é conveniente a escolha de algum deles como um parâmetro de controle. De alguma forma arbitrária, podemos tomar $w \equiv w_{TD}$ (a taxa na qual elementos transformados emitem sinal e se tornam depletados) e denotar seu valor crítico por w_c .

5.3.1 TCMS

Consiste em uma análise espacialmente uniforme que corresponde ao limite de rápida difusão ($\mathcal{D} \rightarrow \infty$) a partir da remoção dos índices (ij) em todas as variáveis no conjunto de equações acima. Tal análise dá uma boa ideia do limite entre as fases de espalhamento e não espalhamento. Neste caso, a concentração satisfaz a equação,

$$\frac{dC}{dt} = wT - \lambda C \quad (5.7)$$

Tendo como particular interesse a fase inicial da evolução após um transiente inicial, faz-se $S = 1$ e procura-se uma solução na qual as probabilidades T e D e a concentração de sinais crescem exponencialmente: $T(t) = T_1 e^{\gamma t}$ e da mesma forma para D e C . Inserindo estas expressões no conjunto de equações acima, obtém-se,

$$(\gamma + \lambda)(\gamma + w_T) = \mu w \quad (5.8)$$

onde $w_T = w + w_{TS} + w_{TR}$. Fazendo $\gamma = 0$, temos o ponto crítico,

$$w_c = \frac{\lambda(w_{TR} + w_{TS})}{\mu - \lambda} \quad (5.9)$$

Observe que um espalhamento não é possível se $\mu < \lambda$ e que w_c é independente dos parâmetros ν , w_{DS} e w_{DR} .

A figura 5.2 mostra a evolução da fração $T(t)$ obtida via integração numérica do conjunto de equações de campo médio considerando uma probabilidade de fonte inicial muito pequena, $D(0) = 10^{-13}$ com $S(0) = 1 - D(0) \simeq 1$, $C(0) = D(0)$ e $T(0) = R(0) = 0$. Note que na fase de não espalhamento (subcrítica), $T(t)$ decai monotonicamente enquanto que na fase de espalhamento (supercrítica) ela cresce até tempos intermediários. O mesmo comportamento se verifica para a fração de depletados $D(t)$. A fração de removidos $R(t)$ cresce a taxa constante até saturar; na fase subcrítica essa fração satura em valores muito

pequenos como mostrado em destaque na figura 5.2. É importante notar que mesmo na fase supercrítica, o crescimento da fração $T(t)$ é seguido por um decaimento exponencial marcando a extinção da epidemia. Isto ocorre devido à queda do número de elementos susceptíveis.

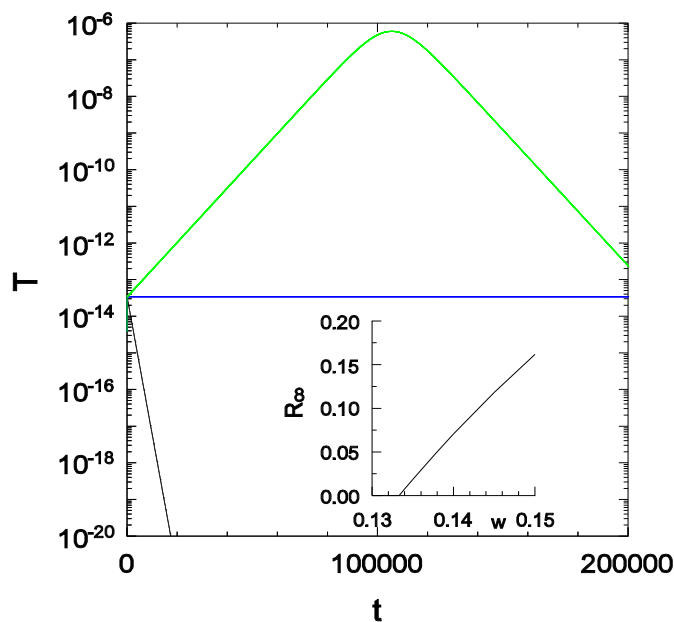


Figura 5.2: Fração de transformados $T(t)$ na TCMS. Parâmetros: $\lambda = 0.05$, $\mu = 0.2$, $\nu = 0.1$, $w_{TR} = w_{DR} = w_{TS} = w_{DS} = 0.2$. De baixo para cima: $w = 0.13$, $0.13333\dots = w_c$ e 0.134 . Destaque: Fração limite de elementos removidos versus w .

5.3.2 TCMD

Conforme observado, a TCMS é insensível à difusão. No entanto, moléculas de sinais somente são criadas em uma transição $T \rightarrow D$. Sítios em quaisquer outros estados somente adquirem uma concentração de sinais não nula via difusão. Dada tais considerações, nesta subseção é mostrada uma teoria de campo médio difusivo em sua aproximação mais simples como descrito a seguir. Nesta aproximação é introduzida uma variável de concentração uniforme C_J para cada tipo de sítio e que representa a concentração média em um dado sítio no estado J . Para derivar um conjunto de equações para as probabilidades de sítios e as concentrações associadas, a quantidade de sinais

em um dado sítio é tratada como uma variável discreta n . Então, seja $P(J, n, t)$ a probabilidade conjunta que um sítio esteja no estado J e tenha exatamente n moléculas de sinal. Dessa forma, a probabilidade de um estado J é $P(J, t) = \sum_n P(J, n, t)$ e $C_J(t) = \sum_n nP(J, n, t) / \sum_n P(J, n, t) = \sum_n nP(J, n, t) / P(J, t)$, tal que,

$$\frac{dC_J}{dt} = \frac{\sum_n n[dP(J, n, t)/dt]}{P(J, t)} - \frac{[dP(J, t)/dt]C_J(t)}{P(J, t)} \quad (5.10)$$

Usemos o estado S como exemplo. As contribuições para $dP(S, n, t)/dt$ são devido a (1) decaimento do sinal; (2) difusão entre o sítio e seus vizinhos e (3) transições entre o estado S e outros estados. A difusão é tratada nesta aproximação considerando que todos os quatro vizinhos de um dado sítio tem a mesma concentração média $\overline{C}(t) = \sum_J P(J, t)C_J(t)$. Assim,

$$\begin{aligned} \frac{dP(S, n, t)}{dt} &= \lambda[(n+1)P(S, n+1, t) - nP(S, n, t)] \\ &+ 4\overline{D}\overline{C}[P(S, n-1, t) - P(S, n, t)] + 4\mathcal{D}[(n+1)P(S, n+1, t) - nP(S, n, t)] \\ &+ w_{TS}P(T, n, t) + w_{DS}P(D, n, t) - n(\mu + \nu)P(S, n, t). \end{aligned} \quad (5.11)$$

Somando sobre n , temos,

$$\begin{aligned} \frac{\sum_n n[dP(S, n, t)/dt]}{P(S, t)} &= -\lambda C_S + 4\mathcal{D}[\overline{C} - C_S] - (\mu + \nu)\langle n^2 \rangle_S \\ &+ w_{TS}C_T \frac{P(T)}{P(S)} + w_{DS}C_D \frac{P(D)}{P(S)}, \end{aligned} \quad (5.12)$$

onde $\langle n^2 \rangle_S \equiv \sum_n n^2 P(S, n, t) / P(S, t)$. O segundo termo na equação (5.10) envolve,

$$\frac{\sum_n [dP(S, n, t)/dt]}{P(S, t)} = -(\mu + \nu)C_S + w_{TS} \frac{P(T)}{P(S)} + w_{DS}C_D \frac{P(D)}{P(S)}. \quad (5.13)$$

Multiplicando por C_S e subtraindo o resultado da equação (5.12), obtém-se

$$\frac{dC_S}{dt} = -\lambda C_S + 4\mathcal{D}[\overline{C} - C_S] + w_{TS}[C_T - C_S] \frac{P(T)}{P(S)} + w_{DS}[C_D - C_S] \frac{P(D)}{P(S)}, \quad (5.14)$$

onde $\text{var}(n) = \langle n^2 \rangle_S - C_S^2$ é tomada nula, como usual nas aproximações de campo médio.

Procedendo da mesma forma para os demais estados, temos as equações,

$$\begin{aligned} \frac{dP(T, n, t)}{dt} &= \lambda[(n+1)P(T, n+1, t) - nP(T, n, t)] \\ &+ 4\mathcal{D}\bar{C}[P(T, n-1, t) - P(T, n, t)] + 4\mathcal{D}[(n+1)P(T, n+1, t) - nP(T, n, t)] \\ &+ \mu nP(S, n, t) - (w_{TS} + w_{TR} + w_{TD})P(T, n, t). \end{aligned} \quad (5.15)$$

$$\begin{aligned} \frac{dP(D, n, t)}{dt} &= \lambda[(n+1)P(D, n+1, t) - nP(D, n, t)] \\ &+ 4\mathcal{D}\bar{C}[P(D, n-1, t) - P(D, n, t)] + 4\mathcal{D}[(n+1)P(D, n+1, t) - nP(D, n, t)] \\ &+ w_{TD}P(T, n-1, t) - (w_{DS} + w_{DR})P(D, n, t). \end{aligned} \quad (5.16)$$

$$\begin{aligned} \frac{dP(R, n, t)}{dt} &= \lambda[(n+1)P(R, n+1, t) - nP(R, n, t)] \\ &+ 4\mathcal{D}\bar{C}[P(R, n-1, t) - P(R, n, t)] + 4\mathcal{D}[(n+1)P(R, n+1, t) - nP(R, n, t)] \\ &+ \nu nP(S, n, t) + w_{TR}P(T, n, t) + w_{DR}P(D, n, t). \end{aligned} \quad (5.17)$$

$$\frac{dC_T}{dt} = -\lambda C_T + 4\mathcal{D}[\bar{C} - C_T] + \mu C_S [C_S - C_T] \frac{P(S)}{P(T)}, \quad (5.18)$$

$$\frac{dC_D}{dt} = -\lambda C_D + 4\mathcal{D}[\bar{C} - C_D] + w[1 + C_T - C_D] \frac{P(T)}{P(D)}, \quad (5.19)$$

e

$$\begin{aligned} \frac{dC_R}{dt} &= -\lambda C_R + 4\mathcal{D}[\bar{C} - C_R] + \nu C_S [C_S - C_R] \frac{P(S)}{P(R)} \\ &+ w_{TR} [C_T - C_R] \frac{P(T)}{P(R)} + w_{DR} [C_D - C_R] \frac{P(D)}{P(R)}. \end{aligned} \quad (5.20)$$

O ponto crítico w_c encontrado via integração numérica desse conjunto de equações decresce monotonicamente com a taxa de difusão \mathcal{D} (conforme mostrado na seção 5.4)

e se aproxima do valor previsto pela TCMS quando $\mathcal{D} \rightarrow \infty$. A figura 5.3 mostra a evolução das probabilidades de estado e concentrações em um sistema nas proximidades do ponto crítico. As previsões de ambas aproximações de campo médio são comparadas com resultados simulacionais ao longo do texto.

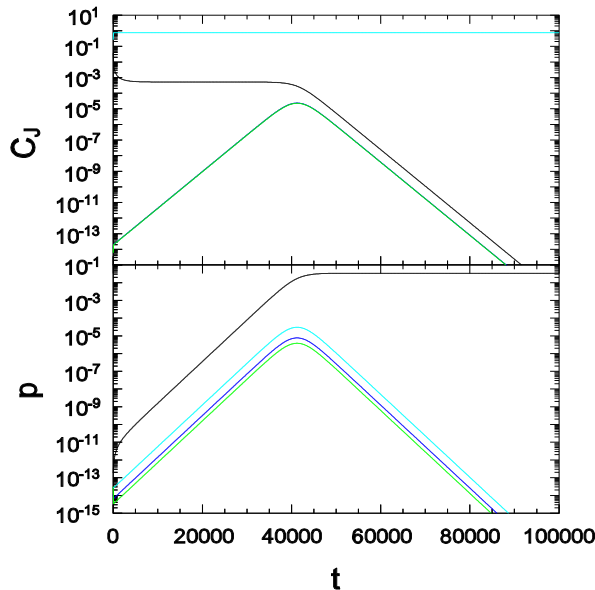


Figura 5.3: Teoria de campo médio difusiva: Evolução temporal. Painel inferior (de baixo para cima): probabilidades de estado $P(D, t)$, $P(T, t)$, concentração total de sinal $C(t)$ e $P(R, t)$. Painel superior (de baixo para cima): Concentrações condicionais C_S e C_T (indistinguíveis), C_R e C_D . Parâmetros $\lambda = 0.05$, $\mu = 0.2$, $\nu = 0.1$, $w_{TR} = w_{DR} = w_{TS} = w_{DS} = 0.2$, $\mathcal{D} = 0.02$, and $w = 0.2$ pouco maior que $w_c = 0.19587$.

A seguir é apresentada uma análise de uma variante do modelo na qual as taxas de transição $S \rightarrow T$ e $S \rightarrow R$ são μC^2 e νC^2 , respectivamente, representando uma situação na qual elementos saudáveis são insensíveis a baixas concentrações de sinais. No contexto epidêmico, isto é equivalente à situação na qual baixas concentrações dos agentes da doença são eliminadas em um sistema imune, enquanto altas concentrações domina-o. Neste caso, espera-se uma transição de fase descontínua como descrito pelo segundo modelo de Schlögl [87]. Isto é verificado para certos conjuntos de parâmetros especialmente para grandes valores de μ como mostrado na figura (5.4). É importante destacar que w_c depende da concentração inicial de sinal C_0 conforme mostrado na figura (5.5).

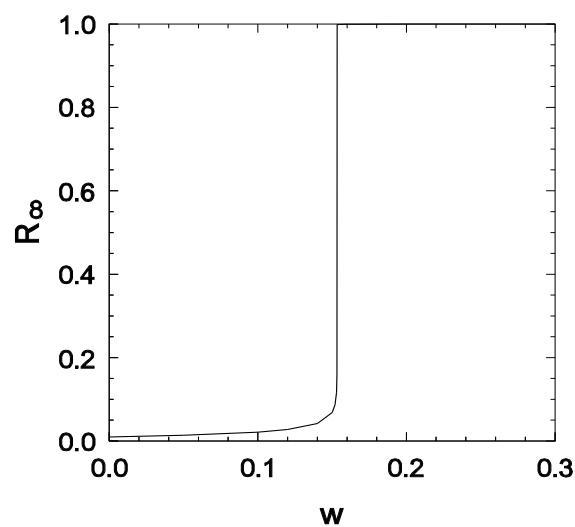


Figura 5.4: Fração final de removidos: R_∞ versus w para $\mu = 10$, $C(0) = 0.01$, quando as taxas de transição $S \rightarrow T$ e $S \rightarrow R$ são $\propto C^2$ com outros parâmetros descritos na figura (5.2). R_∞ salta de um valor em torno de 0.16 para 0.998 quando $w = 0.15335$.

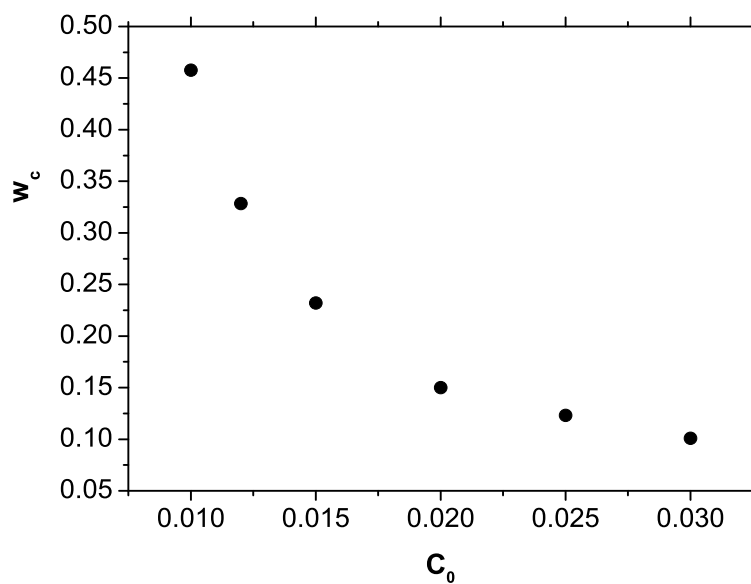


Figura 5.5: w_c versus C_0 para $\mu = 10$ quando as taxas de transição $S \rightarrow T$ e $S \rightarrow R$ são $\propto C^2$ com outros parâmetros descritos na figura (5.2).

5.4 Simulações

As simulações do modelo descrito neste capítulo são para redes quadradas com L^2 sítios. Os estudos são iniciados com todos os sítios no estado S (e com concentração de sinal nula) exceto o sítio na origem no estado D com uma concentração unitária de sinal. O tamanho da rede é tal que todos os sítios nas bordas permaneçam no estado S e com concentração desprezível de sinais durante todo o tempo simulacional. Cada passo no algoritmo simulacional corresponde a um intervalo de tempo Δt no qual o estado celular (daqui em diante trataremos os sítios da rede como células) evolui como se segue:

- Se uma célula em (i, j) estiver no estado S, ela permanece nele com probabilidade $p_s = \exp[-(\mu + \nu)C_{ij}\Delta t]$ e faz uma transição para o estado T com probabilidade $(1 - p_s)\mu/(\mu + \nu)$ e para o estado R com probabilidade $(1 - p_s)\nu/(\mu + \nu)$.
- Se uma célula estiver no estado T, ela permanece nele com probabilidade $p_t = \exp[-w_T\Delta t]$. A probabilidade de uma transição para o estado J ($=S, D,$ or R) é $(1 - p_t)w_{TJ}/w_T$.
- Se a célula estiver no estado D, ela permanece nele com probabilidade $p_d = \exp[-w_D\Delta t]$. A probabilidade de uma transição para o estado J ($=S$ or R) é $(1 - p_d)w_{DJ}/w_D$.
- Células no estado R permanecem nesse estado indefinidamente.

A atualização da concentração de sinal é realizada de acordo com a equação (5.1) que é $C_{ij} \rightarrow C'_{ij} = \exp(-\lambda\Delta t)C_{ij} + \mathcal{D}\Delta t \sum_{kl}[C_{kl} - C_{ij}]$ com uma contribuição $C_{ij} \rightarrow C_{ij} + 1$ no passo de tempo no qual uma célula sofre uma transição $T \rightarrow D$. Uma boa escolha de Δt é fundamental para a evolução de C . Na maioria dos estudos apresentados a seguir, $\Delta t = 0.4$. Extensas verificações preliminares mostraram que os resultados para um $\Delta t = 0.2$ são os mesmos. Entretanto, para estudos com grandes valores de \mathcal{D} , é necessário uma redução no passo de tempo para 0.2 ou até mesmo 0.1.

A técnica empregada na procura pelo ponto crítico w_c é realizada através do comportamento de leis de potência do nível de atividade $n(t)$, da probabilidade de sobrevivência $P(t)$, e a distância média quadrática, $R^2(t)$, de células removidas em relação à origem. Isto justifica-se pela transição entre as fases subcrítica e supercrítica ser sugestivamente contínua. O nível de atividade $n(t)$ é definido como o número de células no estado T, N_T , já que o crescimento da região ativa exige um número não nulo de células no estado T ou uma concentração não nula de sinal. Verificações preliminares apontaram que o comportamento da concentração total de sinal e N_T são similares.

A definição de *sobrevivência* não é evidente neste modelo. Na descrição apresentada a seguir, ela é baseada no aumento continuado do número de células no estado R e nos tempos de espera t_w entre dois eventos sucessivos nos quais $N_R \rightarrow N_R + 1$. O estudo de t_w em um grande número de realizações até um tempo máximo, t_M , mostra que numa parte dessas realizações, N_R aumenta até t_M e, noutra parte, N_R satura muito antes de t_M e com configuração final desprovidas de células no estado T e com concentração de sinal extremamente pequena de forma que um crescimento posterior de N_R é essencialmente impossível. Na classe de realizações na qual a atividade se mantém, a distribuição de probabilidade dos tempos de espera, $P(t_w)$, cai a zero acima de certo valor. Baseado nestes fatos, definimos um tempo máximo de espera, t_{WM} , de alguma forma maior do que o valor associado com o limiar de corte de $P(t_w)$. Então, se em uma determinada realização, $t_w > t_{WM}$, o sistema é considerado inativo e a realização é interrompida. O tempo de desativação é tomado como o tempo da última transição para o estado R. Dessa forma, a probabilidade de sobrevivência $P(t)$ é definida como a fração das realizações que se mantiveram ativas no tempo t . Para os estudos simulacionais a serem mostrados ao longo deste capítulo, $t_{WM} = 180$.

As grandezas $P(t)$, $n(t)$ e $R^2(t)$ são esperadas seguir as leis de potência [76, 83],

$$n(t) \sim t^\theta, \quad (5.21)$$

$$P(t) \sim t^{-\delta}, \quad (5.22)$$

$$R^2(t) \sim t^{z_{sp}}, \quad (5.23)$$

no ponto crítico, onde θ , δ e z_{sp} são os expoentes críticos associados com o espalhamento. O expoente $z_{sp} = 2/z$ como definido no capítulo 4.

É esperado que o cluster de células R gerados a partir de uma única célula R na origem em $t = 0$ seja um fractal e seu raio de giração siga $R_g \sim n^{1/D_f}$ onde D_f é a dimensão fractal [65].

A seguir são apresentados os resultados simulacionais deste modelo.

5.4.1 $w_c \times \mathcal{D}$, $\mu \times \mathcal{D}$ e comparações entre simulações, TCMS e TCMD

Estes estudos foram realizados usando dois conjuntos de parâmetros. O primeiro conjunto é composto por $\lambda = 0.05$, $\mu = 0.5$, $\nu = 0.1$ e $w_{TR} = w_{DR} = w_{TS} = w_{DS} = 0.2$, tamanhos de redes de até $L = 600$ e até 10^4 passos de tempo. Neste caso, a previsão TCMS é $w_c = 2/45 = 0.0444\dots$ e é consistente com o resultado de simulações com concentração de sinal espacialmente uniforme, $w_c = 0.045(1)$. A previsão TCMD para $\mathcal{D} = 0.02$ é $w_c \simeq 0.06$ enquanto as simulações indicam $w_c = 0.2972(1)$, como mostrado na próxima seção. Importante destacar que as teorias de campo médio fornecem uma ordem de grandeza correta para $\mathcal{D} > 0.1$ mas subestimam w_c especialmente para pequenos valores de \mathcal{D} .

O segundo conjunto de parâmetros é composto por $\nu = 0.51$, $\mu = 0.79$, $\lambda = 0.1$, $\mathcal{D} = 2.94$, and $w_{DR} = w_{DS} = w_{TR} = w_{TS} = 0.0079$, tamanhos de redes de até $L = 900$ e até 10^4 passos de tempo. Neste caso, as simulações produzem $w_c = 3.15(5) \times 10^{-3}$ e, para TCMU e TCMD, $w_c = 2.29 \times 10^{-3}$ e $w_c = 2.31 \times 10^{-3}$, respectivamente. A boa concordância entre simulações e as teorias de campo médio é devido à grande taxa de

difusão deste conjunto de parâmetros.

Variando as taxas de difusão \mathcal{D} e o parâmetro μ (relacionado à taxa de transição $S \rightarrow T$) obtém-se os diagramas na figura (5.6).

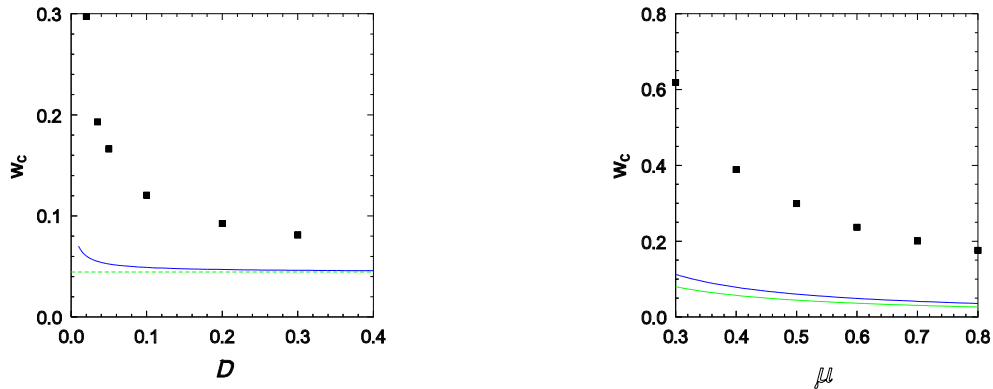


Figura 5.6: À esquerda: Ponto crítico w_c versus taxa de difusão \mathcal{D} . À direita: Ponto crítico w_c versus μ para $\mathcal{D} = 0.02$. Os parâmetros são $\lambda = 0.05$, $\mu = 0.5$, $\nu = 0.1$ e $w_{TR} = w_{DR} = w_{TS} = w_{DS} = 0.2$. Pontos: simulação; curva sólida: TCMD; linha tracejada: TCMS. As barras de erros são menores que os símbolos.

5.4.2 Comportamento crítico

Na avaliação do comportamento crítico, estudos preliminares indicaram um $w_c \simeq 0.297$ usando o conjunto de parâmetros da figura (5.6) e $\mathcal{D} = 0.02$. Para cada valor de w foram realizadas 72000 realizações com $L = 360$ e $t_M = 5000$. O extenso número de realizações é necessário para a obtenção de um resultado consistente de w_c e os expoentes críticos. Um número menor de realizações da ordem de 10^3 e 10^4 geram resultados que são dominados por flutuações impossibilitando a análise crítica. Isto é creditado à natureza de propagação da epidemia que engloba várias possibilidades de transição entre estados e, particularmente, à difusão. Para taxas de difusão muito baixas como as usadas na análise crítica apresentada aqui, os estágios da propagação dependem de raros eventos. Mas, para altos valores de \mathcal{D} , é esperado que sejam necessárias simulações em tempos longos e grandes sistemas para que seja possível observar a mudança do comportamento do tipo campo médio para o regime assintótico de escala. A figura (5.7) mostra gráficos logarítmicos das grandezas $n(t)$, $P(t)$ e $R^2(t)$ para $w = 0.297, 0.2972$ e 0.2975 .

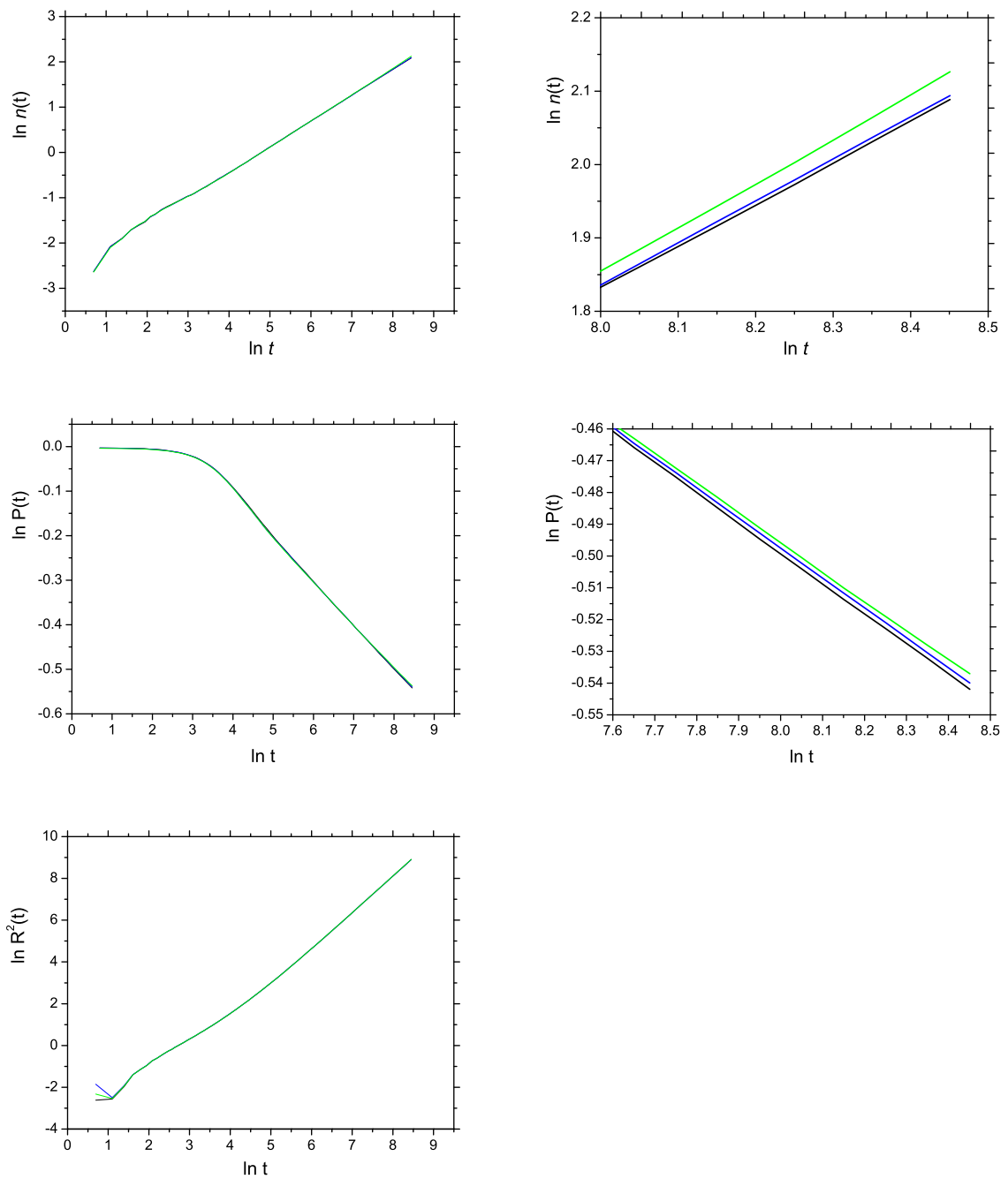


Figura 5.7: Gráficos de $\ln n(t)$, $\ln P(t)$ e $\ln R^2(t)$ versus $\ln t$. As cores preto, azul e verde são para $w = 0.297, 0.2972$ e 0.2975 , respectivamente.

Os expoentes críticos θ , δ e z_{sp} são estimados via análise de gráficos de inclinação local dos mesmos. Como exemplo, $\theta(t)$ é definido como a inclinação de um ajuste linear dos dados de $n(t)$ (em escala logarítmica) no intervalo $[t/a, at]$. Um alto valor de a significa baixa sensibilidade a flutuações enquanto que, baixos valores de a significa uma alta resolução. Nos estudos apresentados neste trabalho, $a = 2, 3$. A estimativa dos expoentes críticos é feita plotando os gráficos de inclinação local $\theta(t)$, $\delta(t)$ e $z_{sp}(t)$ versus $1/t$ e extrapolando para $1/t = 0$. Como uma curvatura para cima corresponde à fase supercrítica e para baixo à fase subcrítica, a escolha deve ser aquele w associado à menor curvatura. A figura (5.8) mostra os gráficos de inclinação local.

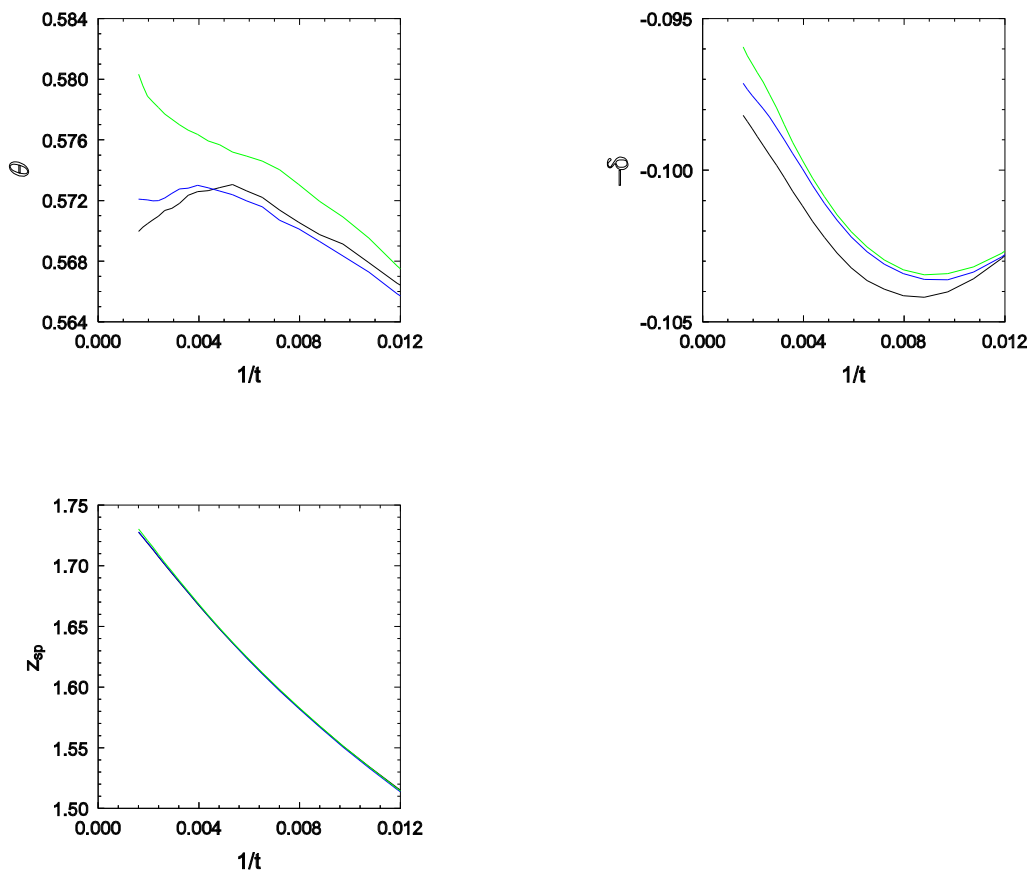


Figura 5.8: Inclinação local $\theta(t)$, $\delta(t)$ e $z_{sp}(t)$ para (de baixo para cima) $w = 0.297, 0.2972$ e 0.2975 . Parâmetros: $\mathcal{D} = 0.02$, $\lambda = 0.05$, $\mu = 0.5$, $\nu = 0.1$ e $w_{TR} = w_{DR} = w_{TS} = w_{DS} = 0.2$.

Baseado nos dados para $\theta(t)$, $w_c = 0.2972(1)$ e $\theta = 0.573(5)$, $\delta = 0.096(1)$ e $z_{sp} = 1.768(2)$. Estes valores são comparáveis aos da literatura $\theta = 0.586$, $\delta = 0.092$ e $z_{sp} =$

1.771 para a percolação dinâmica em duas dimensões [88, 89]. A incerteza associada aos expoentes críticos é devido à incerteza na determinação de w_c . Importante observar que os expoentes obedecem à relação de escala de percolação dinâmica $\theta = z_{sp} - 2\delta - 1$ considerando as suas respectivas incertezas.

5.4.3 Dimensão fractal

A determinação da dimensão fractal, D_f , do cluster de células R no ponto crítico foi realizada usando o raio de giração R_g desse cluster em função do seu tamanho, n , para 500 realizações em $t_M = 5000$. De acordo com [65], $R_g \propto n^{1/D_f}$, para $n \gg 1$. O ajuste linear dos dados na figura (5.9) produz $R_g \sim n^{0.525(6)}$ correspondendo a uma $D_f = 1.91(2)$ consistente com o valor $91/48 \simeq 1.896$ previsto pela teoria de percolação dinâmica em duas dimensões [65].

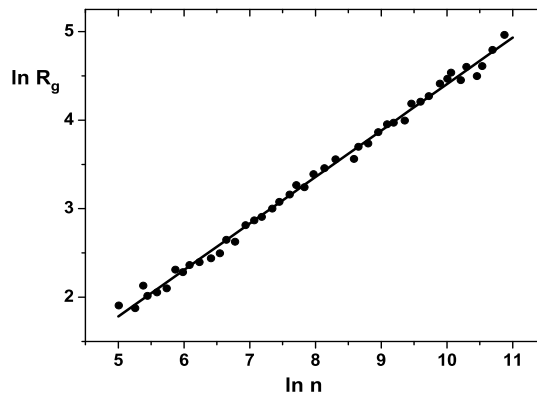


Figura 5.9: Raio de giração R_g versus o tamanho n do cluster de células R no ponto crítico para parâmetros como na figura (5.8) com $w = 0.2972$.

5.4.4 Regime subcrítico

É esperado que no regime subcrítico, o tempo médio de vida t_p , o tamanho médio final do cluster n e seu raio de giração médio R_g sigam o seguinte comportamento de

escala nas vizinhanças do ponto crítico [88],

$$t_p \propto \Delta^{-\nu_{\parallel}}, \quad n \propto \Delta^{-\zeta}, \quad R_g \propto \Delta^{-\nu_{\perp}} \quad (5.24)$$

onde $\Delta = w_c - w$ e $\zeta = \gamma\nu_{\parallel}/\nu_{\perp}$, com γ sendo o expoente crítico de percolação que governa a divergência do tamanho médio do cluster. Neste trabalho, os expoentes ν_{\parallel} , ζ e ν_{\perp} são estimados usando redes de $L = 1000$ e 1000 realizações para cada valor de w e para o conjunto de parâmetros definidos na figura (5.8). Os resultados simulacionais apresentados na figura (5.10) produzem $\nu_{\parallel} = 1.52(2)$, $\nu_{\perp} = 1.29(3)$ e $\zeta = 2.69(3)$ e que são consistentes com os valores para a percolação dinâmica em duas dimensões $\nu_{\parallel} = 1.506$, $\nu_{\perp} = 4/3$ e $\zeta = 2.698$ [88].

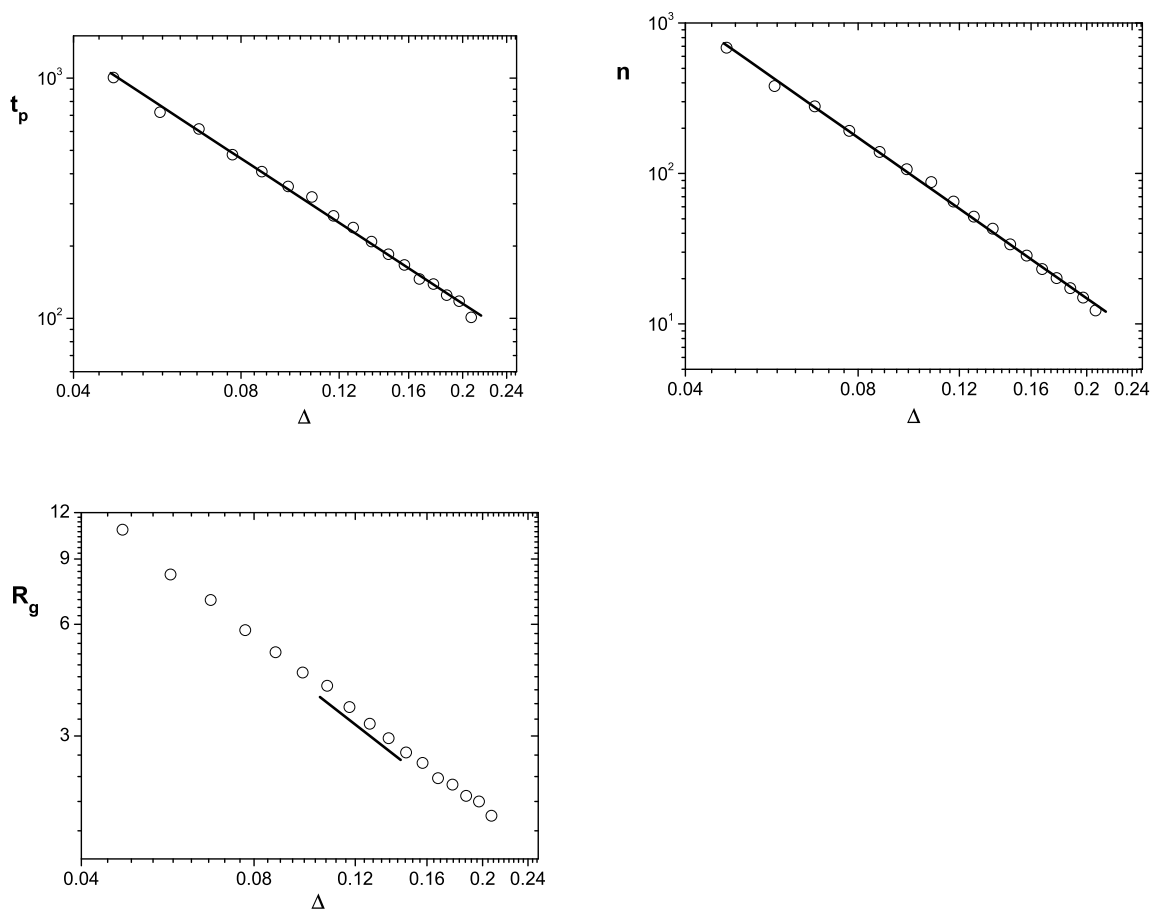


Figura 5.10: Tempo médio de vida t_p , o tamanho médio final do cluster n e o raio de giração médio R_g do cluster final R_g versus $\Delta = w_c - w$ no regime subcrítico para os parâmetros como na figura (5.8). As inclinações das linhas de regressão são 1.52 (t_p), 2.68 (n) e 1.29 (R_g).

5.4.5 Imagens de clusters e espalhamento

As figuras (5.11) e (5.12) mostram exemplos de crescimento de clusters no ponto crítico para duas diferentes taxas de difusão \mathcal{D} . Note que a imagem que corresponde à menor \mathcal{D} é mais densamente conectada, enquanto a outra evidencia “colônias” crescendo em algumas distâncias da concentração principal e possui bordas mais difusas. Para ambos valores de \mathcal{D} , a distribuição de células T e D é altamente não uniforme. Já no regime supercrítico, o crescimento do cluster é mais simétrico mas ainda irregular, como mostrado na figura (5.13) para $w \simeq 1.08w_c$ e $1.33w_c$.

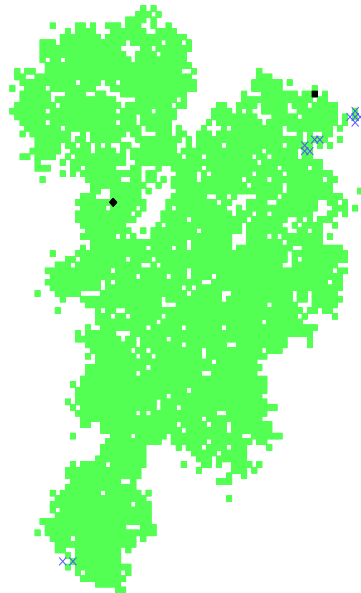


Figura 5.11: Crescimento de clusters no ponto crítico, $w = 0.2972$, para os parâmetros como na figura (5.6) com $\mathcal{D} = 0.02$. Pontos verdes: Células R; Pontos pretos: Células T; Losango preto: Posição da semente; \times : Posições de altas concentrações de sinais, $C > 0.1$.

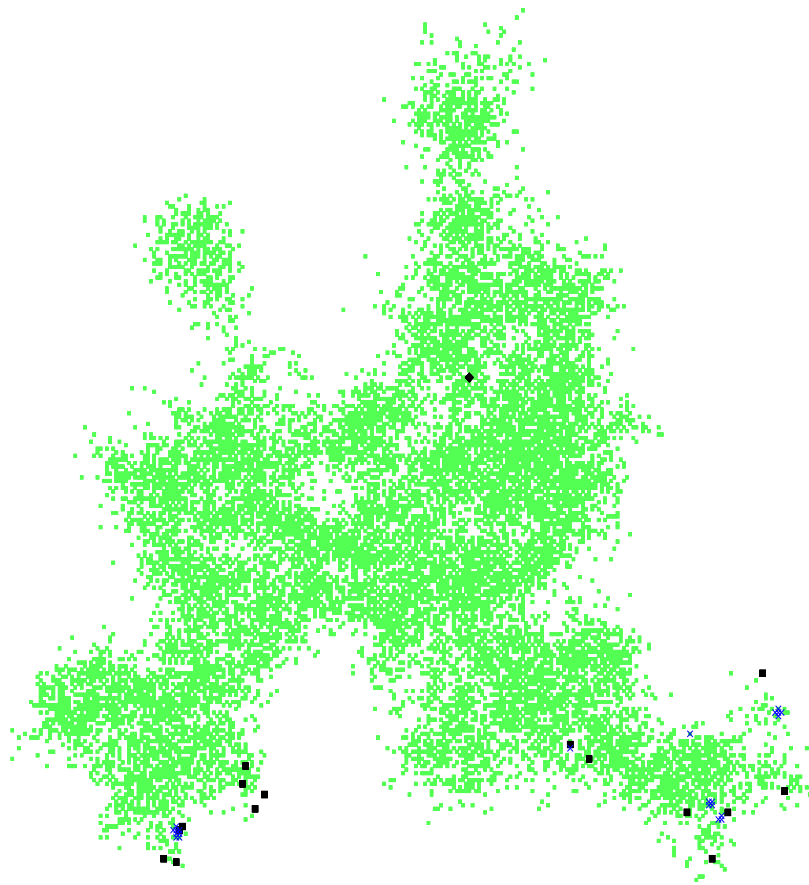


Figura 5.12: Crescimento de clusters com $w = 0.2972$ para os parâmetros como na figura (5.6) e com $\mathcal{D} = 0.3$. Pontos verdes: Células R; Pontos pretos: Células T; Losango preto: Posição da semente; \times : Posições de altas concentrações de sinais, $C > 0.1$.

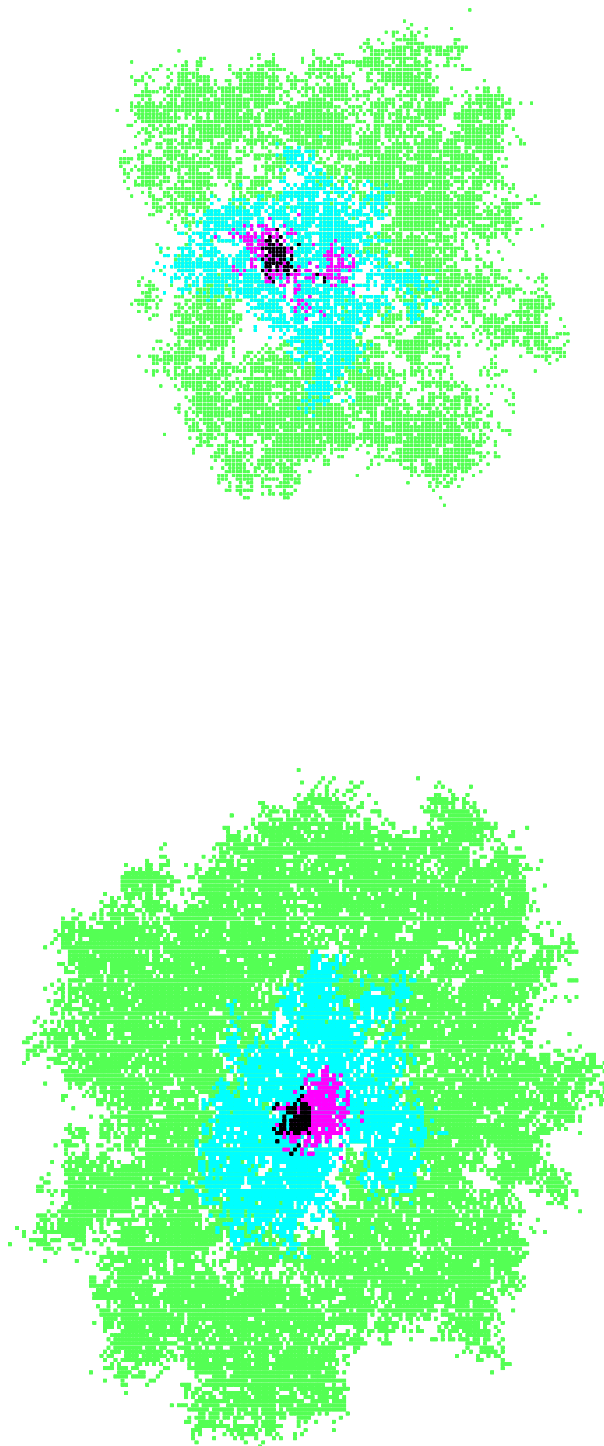


Figura 5.13: Crescimento de clusters no regime supercrítico. O contraste de cores mostra o conjunto de células R em tempos 100, 200, 500 e 1000. Os parâmetros são como na figura (5.6), com $\mathcal{D} = 0.1$, $w = 0.13$ (acima) e $w = 0.16$ (abaixo).

5.4.6 Velocidade de propagação

Nesta seção é analisada a velocidade de propagação no regime supercrítico. Perto do ponto crítico, é esperado que a velocidade escale da forma $v_s \sim \epsilon^{\nu_{\parallel} - \nu_{\perp}}$, onde ϵ é a distância da criticalidade [76]. Para percolação dinâmica em duas dimensões, $v_s \sim \epsilon^{0.173}$. Em simulações, v_s é determinada pela relação $\langle N_R(t) \rangle \simeq \pi(v_s t)^2$ já que, na média, a região de células R tende a um círculo de raio $v_s t$ em tempos longos. Os resultados na figura (5.14) são para redes com $L = 850 - 1000$ até $t_M = 8000$ e são consistentes com uma lei de potência perto do ponto crítico. O ajuste dos dados usando $w_c = 0.1206$ produz $\nu_{\parallel} - \nu_{\perp} = 0.178(15)$. Considerando a incerteza em w_c (± 0.0001), $\nu_{\parallel} - \nu_{\perp} = 0.18(4)$ que é consistente com o valor esperado para percolação dinâmica em duas dimensões. Para $w > w_c$, a distribuição de células R é, essencialmente, uniforme com $\langle N_R(t) \rangle$ crescendo linearmente no tempo. Considerando as dimensões de \mathcal{D} e v_s , $[\text{comprimento}]^2 \cdot [t]^{-1}$ e $[\text{comprimento}] \cdot [t]^{-1}$, respectivamente, espera-se que, nesse regime, $v_s \sim \sqrt{\mathcal{D}}$. O gráfico em destaque dentro da figura (5.14) confirma tal relação de escala.

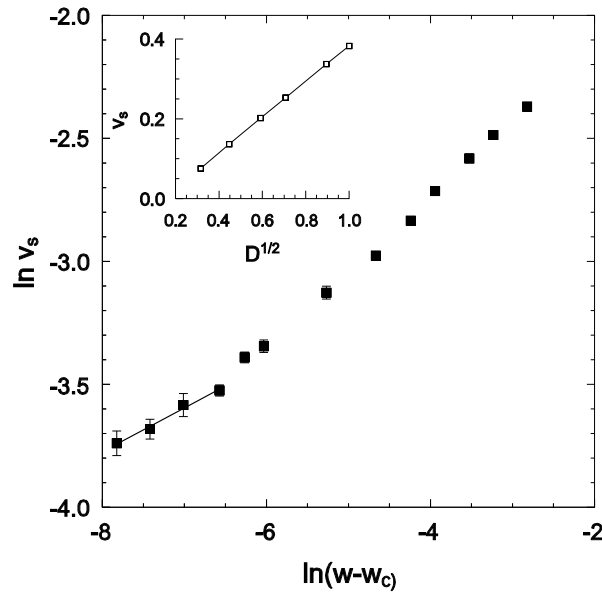


Figura 5.14: Velocidade de espalhamento $v_s = \langle N_R \rangle^{1/2} / (\sqrt{\pi t})$ versus w para $\mathcal{D} = 0.1$. A inclinação da linha de regressão é 0.178. Gráfico em destaque: velocidade de espalhamento versus $\mathcal{D}^{1/2}$ para $w = 0.15$. Demais parâmetros são como na figura (Fig. 5.8). As linhas servem apenas como guia.

Conclusões e perspectivas

Neste trabalho nós estudamos dois modelos estocásticos markovianos com taxas de transição dependentes do tempo aplicados no estudo do EBR. A aplicação destes modelos a resultados experimentais [4] permite a estimativa da meia-vida de pelo menos um dos sinais desencadeadores do EBR, o que é um marco na contribuição para a caracterização desses sinais. O valor encontrado para a meia-vida, (17.5 ± 4.3) min, é comparável à meia-vida da citocina TNF- α (~ 20 minutos) no sangue de pacientes expostos à radioterapia [53]. Os modelos também reproduzem a fração de sobrevivência celular e a frequência de transformação em função do tempo e da dose, bem como a variância dessas grandezas.

Motivados pelo fato que os sinais desencadeadores de EBR desempenham um papel semelhante ao de agentes espalhadores de doença em uma epidemia, nós também estudamos um modelo epidêmico no qual a doença ou dano é transmitida por sinais que difundem e decaem e são emitidos por indivíduos infectados. O modelo é formulado em uma rede quadrada na qual cada sítio representa uma célula que pode estar em quatro estados: susceptível, transformada, depletada ou removida. A mais simples análise do modelo via aproximação de campo médio (TCMS), correspondente ao limite de rápida difusão, $\mathcal{D} \rightarrow \infty$, produz a ordem correta de magnitude do valor crítico w_c . Uma segunda análise de campo médio levando em conta a difusão (TCMD) permite uma análise qualitativa de w_c versus \mathcal{D} e a verificação da divergência de w_c quando $\mathcal{D} \rightarrow 0$.

O modelo epidêmico proposto exibe uma transição de fase contínua entre os regimes de espalhamento e não espalhamento. Simulações do espalhamento da atividade produzem expoentes críticos θ , δ e z_{sp} consistentes com aqueles da classe de universalidade de percolação dinâmica em duas dimensões. Simulações no ponto crítico também confirmam que a dimensão fractal D_f , os expoentes críticos associados ao regime subcrítico e o escalamento

da velocidade no regime supercrítico também são consistentes com esta mesma classe de universalidade.

Dentre as várias linhas nas quais este trabalho pode ser estendido, pode-se destacar o estudo da possibilidade de uma transição descontínua para uma taxa de transformação com dependência não linear na concentração de sinal, como previsto pelas teorias de campo médio apresentadas bem como aplicações a processos específicos tais como o efeito bystander radioinduzido para valores de taxas de transição plausíveis.

Valor esperado e variância de $n(t)$ no modelo estocástico de dois estados

A seguir são obtidas as expressões para $\langle n(t) \rangle$ e $\text{var}[n(t)]$. Considere a equação mestra para o modelo,

$$\frac{dP(n, t)}{dt} = R_1(t)[(n+1)P(n+1, t) - nP(n, t)] \quad (\text{A.1})$$

Caso I: $P(n, 0) = \delta_{n, n_0}$.

Caso II: distribuição inicial é Poissoniana com média Γ ,

$$P(n, t) = \frac{\Gamma^n e^{-\Gamma}}{n!} \quad (\text{A.2})$$

Considere a função geratriz $F(z, t) = \sum_{i=0}^{\infty} z^i P(i, t)$. A condição de normalização implica em $F(1, t) = \sum_{i=0}^{\infty} P(i, t) = 1$ em ambos os casos e, $F(z, 0) = \sum_{i=0}^{\infty} z^i$ para o caso I e $F(z, 0) = \exp[-\Gamma(1-z)]$ para o caso II. Multiplicando a equação mestra por z^n e somando sobre n , obtém-se a seguinte equação diferencial parcial para a função geratriz,

$$\frac{\partial F(z, t)}{\partial t} = R_1(t)(1-z) \frac{\partial F(z, t)}{\partial z} \quad (\text{A.3})$$

A equação (A.3) é resolvida pelo método das características [90]. Ao longo de uma curva característica no plano $z-t$, $dF = 0$. Então,

$$dz = -R_1(t)(1-z)dt \quad (\text{A.4})$$

Integrando a equação (A.4) usando $R_1(t) = \nu_1 c_0 \exp(-\lambda t)$ (como definido na seção 3.2.1), encontra-se,

$$(1 - z) \exp \left[\frac{\mu_{10}}{\lambda} e^{-\lambda t} \right] = C \quad (\text{A.5})$$

onde C é uma constante de integração relacionada ao valor de $F(z, t)$ ao longo da curva característica. Então, $F(z, t)$ é da forma,

$$F(z, t) = f \left[(1 - z) \exp \left(\frac{\mu_{10}}{\lambda} e^{-\lambda t} \right) \right] = C \quad (\text{A.6})$$

para alguma função diferenciável f .

Para o caso I, $F(z, 0) = f \left[(1 - z) \exp \left(\frac{\mu_{10}}{\lambda} \right) \right] = z^{n_0}$. Fazendo $x = (1 - z) \exp \left(\frac{\mu_{10}}{\lambda} \right)$, tem-se $f(x) = \left[1 - x \exp \left(\frac{-\mu_{10}}{\lambda} \right) \right]^{n_0}$. Portanto,

$$F(z, t) = \left[z \exp \left(\frac{-\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right) + 1 - \exp \left(\frac{-\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right) \right]^{n_0} \quad (\text{A.7})$$

Como é evidente da definição de $F(z, t)$,

$$\langle n(t) \rangle = \frac{\partial F(1, t)}{\partial z} = n_0 \exp \left[-\frac{\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right] \quad (\text{A.8})$$

A variância é obtida usando,

$$\begin{aligned} \frac{\partial^2 F(1, t)}{\partial z^2} &= \sum_{i=0}^{\infty} n(n-1)P(n, t) \\ &= \langle n^2(t) \rangle - \langle n(t) \rangle \end{aligned} \quad (\text{A.9})$$

Então,

$$\begin{aligned} \text{var}[n(t)] &= \frac{\partial^2 F(1, t)}{\partial z^2} + \frac{\partial F(1, t)}{\partial z} - \left[\frac{\partial F(1, t)}{\partial z} \right]^2 \\ &= n_0 \left[\exp \left(\frac{-\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right) - \exp \left(\frac{-2\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right) \right] \end{aligned} \quad (\text{A.10})$$

Seguindo procedimento similar para o caso I, a função geratriz para o caso II é,

$$F(z, t) = \exp \left[-\Gamma(1 - z) \frac{-\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right] \quad (\text{A.11})$$

Portanto,

$$\langle n(t) \rangle = \frac{\partial F(1, t)}{\partial z} = \Gamma \exp \left[-\frac{\mu_{10}}{\lambda} (1 - e^{-\lambda t}) \right] \quad (\text{A.12})$$

e, como é conhecido para uma distribuição poissoniana, a variância é,

$$\text{var}[n(t)] = \langle n(t) \rangle \quad (\text{A.13})$$

Incerteza nos parâmetros dos modelos em tempo contínuo

O estudo da incerteza nos parâmetros do modelo estocástico de dois estados consistiu na construção de conjuntos de dados simulados partindo da hipótese que os erros experimentais seguem uma distribuição gaussiana. Esta hipótese é plausível pois, nas mesmas condições experimentais, os valores medidos para uma dada grandeza em repetidas medidas independentes produzirão resultados bem distribuídos em torno do valor verdadeiro [52].

Os conjuntos de dados simulados foram obtidos a partir de η_i números aleatórios com distribuição de probabilidade gaussiana com média nula e variância igual a 1. Tais números foram utilizados para construir N conjuntos de dados simulados da maneira descrita a seguir.

Seja o conjunto de dados experimentais no qual cada ponto é representado pela variável $S_i = X_i + \Delta_i$, onde Δ_i é o desvio padrão associado a cada ponto. Para simular os conjuntos de dados experimentais supomos uma variável aleatória ξ_i com distribuição gaussiana de média nula e desvio padrão Δ_i tal que, cada ponto do conjunto de dados simulados S_i^s será $S_i^s = X_i + \xi_i$. A implementação de ξ_i se dá a partir do número aleatório η_i onde $\xi_i = \Delta_i \eta_i$ com variância Δ_i^2 .

Para encontrar os valores dos parâmetros μ_{10} e λ que melhor ajustam os dados experimentais foi empregada a técnica dos mínimos quadrados onde os valores dos parâmetros

escolhidos são aqueles que produzem menor ϵ , definido como:

$$\epsilon = \sum_{i=0}^n (S_i - Y_i)^2 / S_i \quad (\text{B.1})$$

onde n é o número de pontos no conjunto de pontos experimentais e Y_i é o valor calculado pela equação (3.3) do modelo em questão para encontro dos valores ótimos de μ_{10} e λ . O mesmo procedimento é também aplicável aos conjuntos de pontos simulados que produzirão valores (μ_s^i, λ_s^i) distribuídos em torno de (μ_{10}, λ) . Nesta notação, $i = 1, \dots, N$, onde N é o número de conjuntos simulados. A figura abaixo mostra tal situação no ajuste aos dados experimentais de Mothersill [4].

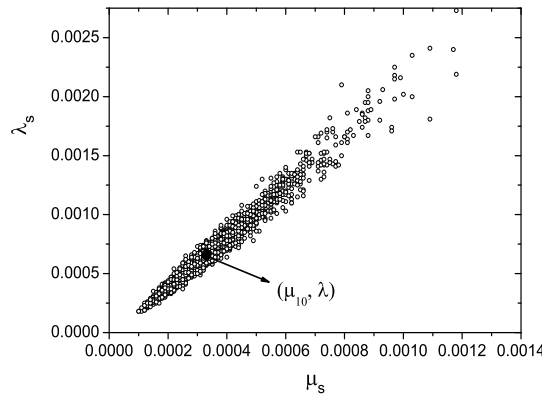


Figura B.1: Distribuição dos (μ_s^i, λ_s^i) em torno de (μ_{10}, λ) .

A incerteza nos parâmetros μ_{10} e λ pode ser determinada, por exemplo, a partir de uma elipse de confiança centrada em μ_{10} e λ . A técnica se resume em calcular a matriz covariância de $\Delta\mu_i = \mu_s^i - \mu_{10}$ e $\Delta\lambda_i = \lambda_s^i - \lambda$ para os N conjuntos simulados. O comprimento dos semi-eixos b (maior) e a (menor) da elipse são dados por [91]:

$$\begin{aligned}
b &= \sqrt{\Delta\chi^2} \sqrt{\frac{1}{2}(\sigma_{xx} + \sigma_{yy}) + W} \\
a &= \sqrt{\Delta\chi^2} \sqrt{\frac{1}{2}(\sigma_{xx} + \sigma_{yy}) - W} \\
W &= \sqrt{(\sigma_{xx} - \sigma_{yy})^2 + 4\sigma_{xy}^2} \\
\theta &= \frac{1}{2} \arctan \frac{2\sigma_{xy}}{|\sigma_{xx} - \sigma_{yy}|}
\end{aligned} \tag{B.2}$$

Nas equações acima, $\Delta\chi^2$ está relacionado com o nível de confiança [52] e σ_{xx} , σ_{yy} e σ_{xy} são as variâncias e covariância dos $\Delta\mu_i$ e $\Delta\lambda_i$ e θ é o ângulo formado entre o eixo maior da elipse e o eixo das abscissas como na figura (B.2).

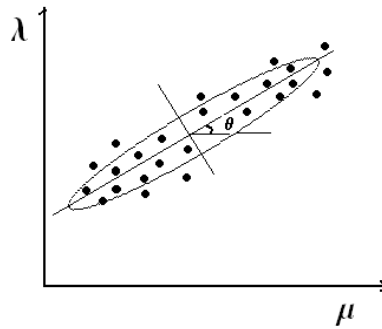


Figura B.2: Representação da elipse no plano centrada no plano μ - λ .

Para o estudo da incerteza no modelo de dois estados foram construídos 2000 conjuntos simulados com seis pontos que produziram parâmetros μ_s^i e λ_s^i encontrados de acordo com a técnica descrita acima. Dessa forma, os elementos da matriz de covariância encontrados foram: $\sigma_{xx} = 2,91 \times 10^{-9}$, $\sigma_{yy} = 1,72 \times 10^{-8}$ e $\sigma_{xy} = \sigma_{yx} = 6,92 \times 10^{-9}$.

Para um nível de confiança de 68,3% e dois graus de liberdade (número de parâmetros em análise), $\Delta\chi^2 = 2,30$ de acordo com [52]. Portanto, usando as equações (B.2),

$$a = 1,6 \times 10^{-5}, b = 2,1 \times 10^{-4}.$$

Dessa forma, as incertezas nos parâmetros μ_{10} e λ são dadas por $\delta\mu_{10} = a \sin \theta$ e $\delta\lambda = b \cos \theta$, respectivamente são: $\delta\mu_{10} = 2 \times 10^{-5}$ e $\delta\lambda = 8 \times 10^{-5}$. Logo, os parâmetros

μ_{10} e λ são escritos com suas respectivas incertezas como $\mu_{10} = \mu_{10} \pm \delta\mu_{10}$ e $\lambda = \lambda \pm \delta\lambda$. Ou seja, $\mu_{10} = (3, 3 \pm 0, 2) \times 10^{-4}$ e $\lambda = (6, 6 \pm 0, 8) \times 10^{-4}$.

Os erros nos parâmetros do modelo estocástico de três estados foram estimados realizando um ajuste do conjunto S_i de dados experimentais [7, 8] e obtendo os valores ótimos $\eta_0, \epsilon_0, \omega_0$ e σ_0 e um ajuste para $S_i = X_i + \Delta_i$, obtendo os valores ótimos $\eta_1, \epsilon_1, \omega_1$ e σ_1 para os parâmetros. As incertezas consideradas são $\delta\eta = |\eta_1 - \eta_0|$, $\delta\omega = |\omega_1 - \omega_0|$ e $\delta\sigma = |\sigma_1 - \sigma_0|$.

BIBLIOGRAFIA

- [1] K. M. Prise, M. Folkard and B. D. Michael, *Radiat. Prot. Dosimetry* **104**, 347 (2003).
- [2] A. Deshpande, E.H. Goodwin, S.M. Bailey, B.L. Marrone, B.E. Lehnert, *Radiat. Res.* **145**, 260 (1996).
- [3] C. Mothersill and C. Seymour, *Int. J. Radiat. Biol.* **71**, 421 (1997).
- [4] C. Mothersill and C. Seymour, *Radiat. Res.* **149**, 256 (1998).
- [5] I. Koturbash, R. Rugo, C. Hendricks, J. Loree, B. Thibault, K. Kutanzi, I. Pogribny, J. Yanch, B. Engelward, O. Kovalchuk, *Oncogene* **25**, 4267 (2006).
- [6] H. Nagasawa and J.B. Little, *Radiat. Res.* **152**, 552 (1999).
- [7] S. G. Sawant, G. Randers-Pehrson, C. R. Geard, D. J. Brenner and E. J. Hall, *Radiat. Res.* **155**, 397 (2001).
- [8] S.G. Sawant, G. Randers-Pehrson, N.F. Metting and E.J. Hall, *Radiat. Res.* **156**, 177-180 (2001).
- [9] W. Han, L. Wu, S. Chen, L. Bao, L.Zhang, E. Jiang, Y. Zhao, A. Xu, T.K. Hei, Z. Yu, *Oncogene* **26**, 2330 (2007).
- [10] C. Shao, M. Folkard, K.M. Prise, *Oncogene* **27**, 434 (2008).
- [11] M. Mancuso, E. Pasquali, S. Leonardi, M. Tanori, S. Rebessi, V. Di Majo, S. Pazzaglia, M. P. Toni, M. Pimpinella, V. Covelli, A. Saran, *Proc. Natl. Acad. Sci USA* **105**, 12445 (2008).
- [12] R.C. Miller, G. Randers-Pehrson, C.R. Geard and E.J. Hall, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**, 19 (1999).
- [13] E.I. Azzam, *Cancer Res.* **63**, 7128 (2003).

-
- [14] C. Shao, V. Stewart, M. Folkard, B. D. Michael and K. M. Prise, *Cancer Res.* **63**, 8437 (2003).
- [15] H. Zhou, V. N. Ivanov, J. Gillespie, C. R. Geard, S. A. Amundson, D. J. Brenner, Z. Yu, H. B. Lieberman and T. K. Hei, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 14641 (2005).
- [16] F. M. Lyng, P. Maguire, B. McClean, C. Seymour and C. Mothersill, *Radiat. Res.* **165**, 400 (2006).
- [17] T. K. Hei, *Mol. Carcinog.* **45**, 455 (2006).
- [18] K.M. Prise and J.M. O’Sullivan, *Nat. Rev. Cancer* **9**, 351 (2009).
- [19] D. J. Brenner and R. K. Sachs, *Health Phys.* 85, **103** (2003).
- [20] H. Nikjoo and I. Khvostunov, *Int. J. Radiat. Biol.* **79**, 43 (2003).
- [21] F. Ballarini, D. Alloni, A. Facoetti, A. Mairani, R. Nano, A. Ottolenghi, *Radiat. Prot. Dosimetry* **122**, 244 (2006).
- [22] F. Ballarini, A. Facoetti, L. Mariotti, R. Nano, A. Ottolenghi, *Adv. Space Res.* **44**, 917 (2009).
- [23] I. Shuryak, R. K. Sachs, D.J. Brenner, *Radiat. Res.* **168**, 741 (2007).
- [24] H. Fakir, W. Hofmann, W. Y. Tan, K. Rainer, R. K. Sachs, *Radiat. Res.* **171**, 320 (2009).
- [25] L. Mariotti, A. Facoetti, D. Alloni, A. Bertolotti, E. Ranza, A. Ottolenghi, *Radiat. Res.* **174**, 280 (2010).
- [26] W. Friedland, P. Kunderát, P. Jacob, *Radiat. Protect. Dosimetry* **143**, 325 (2011)
- [27] O. V. Belyakov, S. A. Mitchell, D. Parikh, G. Randers-Pehrson, S. A. Marino, S. A. Amundson, C. R. Geard and D. J. Brenner, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 14203 (2005).
- [28] H. Fakir, W. Hofmann, W. Y. Tan, R. K. Sachs, *Radiat. Res.* **171**, 320 (2009).
- [29] F. P. Faria, R. Dickman, C. H. C. Moreira, *Int. J. Radiat. Biol.* **88**(8), 592 (2012).
- [30] P. S. Brookes, A. L. Levonen, S. Shiva, P. Sarti, V. M. Darley-Usmar, *Free Radical Biology and Medicine* **33**, 755 (2002).
- [31] R. E. Rugo, M. B. Secretan, R. H. Schiestl, *Radiat. Res.* **158**, 210 (2002).
- [32] C. L. Limoli, E. Giedzinski, W. F. Morgan, S. G. Swarts, G. D. Jones, W. Hyun, *Cancer Research* **63**, 3107 (2003).

- [33] G. Hughes, M. P. Murphy, E. C. Ledgerwood, *Biochem. J.* **389**, 83 (2005).
- [34] E. I. Azzam, S. M. De Toledo, D. R. Spitz, J. B. Little, *Cancer Res.* **62**, 5436 (2002).
- [35] R. Iyer, B. E. Lehnert, R. Svensson, *Cancer Research* **60**, 1290 (2000).
- [36] O. A. Sedelnikova, A. Nakamura, O. Kovalchuk, I. Koturbash, S. A. Mitchell, S. A. Marino, D. J. Brenner, W. M. Bonner, *Cancer Research* **67**, 4295 (2007).
- [37] M. Belli, R. Cherubini, M. D. Vecchia, V. Dini, G. Moschini, C. Signoretti, G. Simone, M. A. Tabocchini, P. Tiveron, *Int. J. Radiat. Biol.* **76**, 1095 (2000).
- [38] F. Antonelli, M. Belli, G. Cuttone, V. Dini, G. Esposito, G. Simone, E. Sorrentino, M. A. Tabocchini, *Radiat. Res.* **164**, 514 (2005).
- [39] F. A. Cucinotta, J. M. Pluth, J. A. Anderson, J. V. Harper, P. O'Neill, *Radiat. Res.* **169**, 214 (2008).
- [40] A. Kinner, W. Wu, C. Staudt, G. Iliakis, *Nucleic Acids Res.* **36**: 5678 (2008).
- [41] M. Löbrich, A. Shibata, A. Beucher, A. Fisher, M. Ensminger, A. A. Goodarzi, O. Barton, P. A. Jeggo, *Cell Cycle* **9**, 662 (2010).
- [42] D. J. Brenner, J. B. Little and R. K. Sachs, *Radiat. Res.* **155**, 402 (2001).
- [43] H. Schöllnberger, R. Mitchel, J. Redpath, D. Crawford-Brown, W. Hofmann, *Radiat. Res.* **168**, 614 (2007).
- [44] L. J. Wu, G. Randers-Pehrson, A. Xu, C. A. Waldren, C. R. Geard, Z. Yu, T. K. Hei, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **96**: 4959 (1999)
- [45] G. Schettino, M. Folkard, K. M. Prise, B. Vojnovic, K. D. Held, B. D. Michael, *Radiat. Res.* **160**, 505 (2003).
- [46] G. Schettino, M. Folkard, B. D. Michael, K. M. Prise, *Radiat. Res.* **163**, 332 (2005).
- [47] H. Yang, N. Asaad, K. D. Held, *Oncogene* **24**, 2096 (2005).
- [48] S. A. Mitchell, G. Randers-Pehrson, D. J. Brenner, E. J. Hall, *Radiat. Res.* **161**, 397 (2004).
- [49] U. Scherf, I. Benhar, K. O. Webber, I. Pastan, U. Brinkmann, *Clinical. Cancer Research* **2**: 1523 (1996).
- [50] R. C. Miller, C. R. Geard, D. J. Brenner, K. Komatsu, S. A. Marino, E. J. Hall, *Radiat. Res.* **117**, 114 (1989).

-
- [51] R. C. Miller, S. A. Marino, D. J. Brenner, S. G. Martin, M. Richards, G. Randers-Pehrson, E. J. Hall, *Radiat. Res.* **142**, 54 (1995).
- [52] W. P. Press, S. A. Teukolsky, W. T. Vetterling, B. P. Flannery, *The art of scientific computing*, 2nd ed. New York: Cambridge University Press (1992).
- [53] P. B. Chapman, T. J. Lester, E. S. Casper, *J. Clin. Onc.* **5**, 1942 (1987).
- [54] J. R. Lazutka and S. Rudaitiene, *Mut. Res.* **268**, 217 (1992).
- [55] P.K. Narayanan , K.E.A. LaRue E.H. Goodwin and B.E. Lehnert, *Radiat. Res.* **152**, 57 (1999).
- [56] M. D. Tracey and A. Cerami, *Annu. Rev. Med.* **45**, 491 (1994).
- [57] A. Ashkenazi and V. M. Dixit, *Science* **281**, 1305 (1998).
- [58] D. Wallach, E. E Varfolomeev, N. L. Malinin, Y. V. Goltsev, A. V. Kovalenko, M. P. Boldin, *Annu. Rev. Immunol.* **17**, 331 (1999).
- [59] R. M. Locksley, N. Killeen, M. J. Lenardo, *Cell* **104**, 487 (2001).
- [60] R. Dickman, *Phys. Rev. E* **65**, 047701 (2002).
- [61] M. Plischke and B. Bergersen, *Equilibrium Statistical Physics* (Prentice Hall, Englewood Cliffs, New Jersey,1989).
- [62] J.J. Binney, N.J. Dowrick, A.J. Fisher, and M.E.J.Newman, *The Theory of Critical Phenomena* (Oxford University Press, Oxford, 1992).
- [63] T. T. Harris, *Ann. Prob.* **2**, 969 (1974).
- [64] J. Marro and R. Dickman, *Nonequilibrium Phase Transitions in Lattice Models* (Cambridge University Press, Cambridge, 1999).
- [65] D. Stauffer and A. Aharony, *Introduction To Percolation Theory* (Taylor and Francis, London,1992).
- [66] T. Tomé and M. J. de Oliveira, *Dinâmica Estocástica e Irreversibilidade* (edusp, 2001).
- [67] I. Jensen and R. Dickman, *J. Stat. Phys.* **71**, 89 (1993b).
- [68] I. Jensen and A. J. Guttmann, *Nucl. Phys. B* **S47**, 835 (1996).
- [69] R. Dickman and J.K. da Silva, *Phys. Rev. E* **58**, 4266 (1998).
- [70] J. Adler and J. A. M. S. Duarte, *Phys. Rev. B* **35**, 7046 (1987).
- [71] J. Adler, J. Berger and J. A. M. S. Duarte, *Phys. Rev. B* **37**, 7529 (1988).

-
- [72] P. Grassberger, J. Phys. A **22**, 3673 (1989).
- [73] P. Grassberger and Y.-C. Zhang, Physica A **224**, 169 (1996).
- [74] C. A. Voigt and R. M. Ziff, Phys. Rev. E **56**, R6241 (1997).
- [75] D. Mollison, J. R. Stat. Soc. Ser. B. Methodol. **39**, 283 (1977).
- [76] P. Grassberger, Math. Biosc. **63**, 157 (1983).
- [77] T. Tomé and R. M. Ziff, Phys. Rev. E **82**, 051921 (2010).
- [78] D. R. de Souza and T. Tomé, Physica A **389**, 1142 (2010).
- [79] M. Henkel, H. Hinrichsen, and S. Lübeck, *Non-Equilibrium Phase Transitions: Absorbing Phase Transitions*, vol. 1, (Springer, New York, 2009).
- [80] B. Widom, J. Chem. Phys. **43**, 3898 (1965).
- [81] L. P. Kadanoff, Physics (N. Y.) **2**, 263 (1966).
- [82] K. G. Wilson, Phys. Rev. B **4**, 3174 (1971).
- [83] P. Grassberger and A. de la Torre, Ann. Phys. (N. Y.) **122**, 373 (1979).
- [84] D. Mollison, J. R. Stat. Soc. Ser. B. Methodol. **39**, 283 (1977).
- [85] J. D. Murray, *Mathematical Biology*, vols. 1 and 2, (Springer, New York, 2003).
- [86] F. P. Faria and R. Dickman, J. Stat. Mech. P06006 (2012).
- [87] F. Schlögl, Z. Phys. **253**, 147 (1972).
- [88] A. Bunde and S. Havlin, in *Fractals and Disordered Systems*, A. Bunde and S. Havlin, Eds. (Springer-Verlag, Heidelberg, 1991).
- [89] M. A. Muñoz, R. Dickman, A. Vespignani and S. Zapperi, Phys. Rev. E **59**, 6175 (1999).
- [90] R. Courant and D. Hilbert, *Methods of Mathematical Physics*, Vol II, (Wiley-Interscience, 1962).
- [91] R. Oliveira and Q. Dalmolin, Bol. Ciênc. Geod. **9**, 25 (2003).