

Misaki Yamada Sittoni

**Modelagem estocástica dos efeitos
biológicos de radiação ionizante de
baixa intensidade**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Oncologia
Orientador: Prof. Dr. Alexandre Ferreira
Ramos

São Paulo
2019

Misaki Yamada Sittoni

Modelagem estocástica dos efeitos biológicos de radiação ionizante de baixa intensidade

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências

Versão corrigida contendo as alterações propostas pela comissão julgadora em 01/11/2019. A versão original encontra-se na biblioteca da FM-USP e na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD), de acordo com a Resolução CoPGr 6018 de 13/10/2011.

Programa de Oncologia
Orientador: Prof. Dr. Alexandre Ferreira Ramos

São Paulo
2019

DEDICATÒRIA

Aos meus pais, Miyuki e Kazuo.

À Dra. Nair Kinue e à minha filha, Emilie.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Alexandre Ferreira Ramos pela oportunidade concedida, por todo o ensinamento científico e também pelo companheirismo e paciência, auxiliando no meu progresso acadêmico.

Aos Prof^s. Magnus Régios Dias da Silva e Rui Maciel Monteiro Barros pela orientação na iniciação científica em biologia molecular e bioquímica, na época de graduação na UNIFESP.

Ao Prof. Fernando Martins Antoneli Jr. pelo ensinamento de matemática e orientação de TCC na UNIFESP.

Às Prof^{as}. Raquel Santos Marques de Carvalho, Kellen Cruci Daros, Patrícia Targon Campana e Maria Inés Cury, aos Prof^s. Francisco de Assis Ribas Bosco e Marcelo Baptista de Freitas pelo ensinamento de física.

Às Prof^{as}. Patrícia Bersanetti e Viviane Abreu pelo ensinamento de química e bioquímica.

Às Prof^{as}. Luiza Lina Villa, Laura Schiero, Lara Termini e ao Prof. Roger Chammas pelo ensinamento em oncologia.

À Prof^a. Rosana pelo curso de farmacologia.

Ao Prof. Ivan Torres Pisa pelo curso de imagenologia.

Ao Prof. Rogério pelo curso de direitos em medicina.

Ao Prof. Wagner Rogério pelo curso de história de desenvolvimento científico e de tecnologia.

Ao Prof. Marcos Amaku pelo ensinamento de modelagem matemática.

Ao Prof. André Fujita pelas aulas de bioinformática.

Ao Prof. Jair Minoro Abe pelo curso de lógica paraconsistente aplicada em medicina.

Aos Prof^s. Fernando Fagundes Ferreira e José Ricardo Mendonça pelas aulas de sistemas complexos e simulação.

À Prof^a. Mary Skelton Macedo pelo curso em didática universitária.

Agradeço todo o incentivo, a inspiração e ensinamentos de vocês, que contribuíram de maneira significativa para a minha realização do curso de mestrado e a elaboração deste trabalho.

SUMÁRIO

Resumo	
Abstract	
1. Introdução	7
2. Objetivos	9
3. Revisão de literatura	10
3.1. Revisão de conceitos	10
3.1.1. Radiação e energia	10
3.1.2. Classificações de radiação	12
3.1.2.1. Radiação não ionizante	12
3.1.2.2. Radiação ionizante	13
3.1.2.2.1. Radiação ionizante corpuscular	14
3.1.2.2.2. Radiação ionizante de ondas eletromagnéticas	16
3.1.2.2.3. Radiação ionizante de fontes naturais	17
3.1.2.2.4. Radiação ionizante produzida artificialmente	19
3.1.3. Grandezas e unidades	19
3.1.3.1. Dose absorvida (Gy)	20
3.1.3.2. Dose equivalente (Sv)	21
3.1.3.3. Penetrância	21
3.1.3.4. LET – Transferência linear de energia	22
3.1.4. Efeitos biológicos da radiação ionizante	24
3.1.4.1. Efeitos determinísticos	25
3.1.4.2. Efeitos estocásticos	26
3.1.5. Modelagem matemática	27
3.1.5.1. Modelagem determinística	28
3.1.5.1.1. Classificações de EDO	29
3.1.5.1.2. Métodos de solução de EDO	31
3.1.5.2. Modelagem estocástica e EDEs	33
3.2. Revisão de modelos matemáticos	36
3.2.1. Modelo balístico	36
3.2.2. Modelo LNT	39
3.2.3. Modelo LQ	41
3.2.4. Modelo ATM	44
4. Métodos	47
4.1. Modelos determinísticos da dinâmica celular	47
4.1.1. Estados das células	50
4.1.2. Taxas de transição	50
4.1.3. Modelo Global, Modelo Memória e Modelo Comunicação	50
4.2. Modelos estocásticos	52
4.2.1. Modelo Memória estocástico	52
4.2.2. Modelo Comunicação estocástico	53
5. Resultados	54
5.1. Modelo Memória	54
5.2. Modelo Comunicação	55
6. Discussão	57
7. Conclusão	59
Referências bibliográficas	61

RESUMO

Sittoni MY. *Modelagem estocástica dos efeitos biológicos de radiação ionizante de baixa intensidade* [dissertação]. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Efeitos biológicos de radiação ionizante têm sido estudados intensamente desde o início do século XX. Mesmo assim, os recentes aprimoramentos de tecnologias e técnicas experimentais em biologia molecular motivaram a descoberta de fenômenos biológicos peculiares à interação de organismo com a radiação de baixa intensidade. Todavia, este é um dos tópicos mais desafiadores da radiobiologia e sua compreensão continua sendo desafiadora, podendo ser beneficiada pela utilização de métodos teóricos e computacionais que se beneficiaram do aumento da capacidade computacional e ampliação das possibilidades de realizar modelagem matemática e simulação de diversos fenômenos biológicos. Tal combinação de avanços é promissora para melhorar nosso entendimento dos os efeitos causados por radiação de baixa intensidade via determinação de seus mecanismos moleculares. Esses efeitos aparecem após um período de latência que pode durar até décadas, e a natureza probabilística que os caracteriza dificulta a obtenção de dados epidemiológicos em quantidades suficientes para ter significância estatística e os modelos matemáticos constituem uma ferramenta complementar promissora. Nesta dissertação apresentamos dois modelos matemáticos determinísticos e suas versões estocásticas para compreender o papel das flutuações aleatórias no processo de sobrevivência celular quando expostas à radiação ionizante de baixa intensidade. Nesses modelos, é considerada uma população celular transitando entre quatro estados. Em um dos modelos o reparo de DNA danificado por radiação depende apenas da própria célula., e no outro modelo, o reparo é realizado apenas por outras células, próximas ou distantes da célula danificada. A versão estocástica foi proposta utilizando a abordagem de Langevin e as soluções de ambos os modelos (determinístico e estocástico) foi realizada numericamente. A simulação da versão estocástica do modelo com reparo intracelular resultou numa dinâmica de sobrevivência de células saudáveis diferente do modelo determinístico; a densidade das células saudáveis foi mantida por um período significativamente maior na versão estocástica.

Descritores: Radiação ionizante, Ruído, Reparo de DNA, Modelagem, Simulação, Sobrevivência celular, Fenômenos físicos, Conceitos matemáticos, Biologia computacional, Algoritmos

ABSTRACT

Sittoni MY. *Stochastic modeling of biological effects by low intensity ionizing radiation* [thesis]. Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2019.

Biological effects of ionizing radiation have been studied intensely since the start of the 20th century, however, technological advancement and improvement in experimental techniques in molecular biology motivated the discovery of some peculiar biological phenomena only observable in interaction of organisms with low intensity ionizing radiation. This is one of the most difficult topics in radiobiology to be dealt with and its comprehension is challenging, so taking advantage of improved computational capacity and application of mathematical modeling and computer simulation of diverse biological phenomena is beneficial to the area. Such combination of advancement is promising, for better understanding of effects caused by low intensity ionizing radiation via determination of their molecular mechanisms. These effects appear after a period of latency which can extend for decades, and the probabilistic nature of these events hinders the accumulation of sufficient epidemiological data for statistical significance. In these conditions, mathematical modeling can be a helpful complementary tool. In this master thesis two mathematical models and their stochastic versions are presented, in order to understand the role of random fluctuations in the survival process of healthy cells when these are exposed to low intensity ionizing radiation. In these models, a cell population transits among four states, and in one of the models the repair of DNA damaged by ionizing radiation is processed only internally by the damaged cell itself, and in the other model the repair is done by other cells which can be located near the damaged cell or even distantly. The stochastic versions were proposed using the Langevin approach and the solutions of the models, deterministic and stochastic, were realized numerically. The simulation of stochastic version of intracellular repair model resulted in a survival dynamics different from the deterministic model; density of the healthy cells was kept for a period significantly longer in the stochastic model.

Descriptors: Ionizing radiation, Noise, DNA repair, Modeling, Simulation, Cell survival, Physical phenomena, Mathematical concepts, Computational biology, Algorithms

1 Introdução

Efeitos biológicos de radiação ionizante de baixa intensidade (dose baixa ou taxa de dose baixa), sobretudo no risco adicional de câncer, têm sido alvo de investigação na área de radiobiologia. Os primeiros modelos matemáticos visando prever tais efeitos em seres humanos surgiram já no início do século 20. A partir daí, vários outros modelos foram sugeridos. Essa área permanece bastante ativa, tal que, adentrá-la requer uma extensa revisão de literatura para estabelecer com clareza os problemas em aberto. Por isso, uma revisão de principais modelos foi elaborada visando conhecer os modelos matemáticos já existentes, suas limitações, e propostas de solução para os problemas em aberto existentes. principais e novos. Ademais, elaborar um texto de revisão focado na biologia teórica visando pesquisadores das ciências biológicas e exatas facilitará a adesão de novos cientistas à linha de pesquisa por fundar o conjunto básico de conceitos necessários a um diálogo frutífero entre as áreas.

Nessa dissertação, discutimos com maior profundidade um modelo para a resposta de radiação ionizante fundado no uso de equações diferenciais ordinárias (Wodarz, 2014). As células assumem quatro estados distintos, nominalmente; estado saudável, estado atingido por radiação e em reparo intra- ou intercelular, estado reparado com sucesso e protegido temporariamente de radiação ionizante e estado alterado permanentemente devido à falha no reparo celular. Após interação com uma dada dose de radiação, as células transitam entre esses estados, com a hipótese de não ocorrer a renovação da população celular. Por conta da inevitabilidade das flutuações aleatórias, ou ruído, introduzimos um ruído ao nosso modelo de forma a investigar como este sistema se comporta sob influência de efeitos de aleatoriedade.

Modelos matemáticos são destinados à descrição de um fenômeno natural e estes são a base para a biologia teórica. A simulação computacional, chamada também de ensaio *in silico*, pode ser considerada como uma modalidade nova de teste de modelos que serve como uma complementação para ensaios tradicionais, *in vitro*, *in vivo* e estudos epidemiológicos. Assim, a comunidade de biologia celular tem a sua disposição uma ferramentaria adicional, dedicada a quantificar e testar modelos biológicos qualitativos. Essa abordagem possibilita inferir a dinâmica que governa os processos intracelulares e intercelulares de forma a ampliar o entendimento proporcionado pelas técnicas experimentais tradicionais. Além disso, como as novas técnicas experimentais disponíveis geram quantidades massivas de dados, a utilização da computação torna-se importante a análise e tratamento desses dados, sendo os modelos uma ferramenta complementar importante ao entendimento dos dados.

2 Objetivos

O objetivo deste trabalho é o de elaborar um texto de revisão de modelos matemáticos, dirigido aos profissionais e estudantes de diferentes áreas e que tenham interesse em investigar os efeitos biológicos da radiação ionizante de baixa intensidade. Essa área abrange a biologia, física e química, e a matemática que participa com o objetivo de simular computacionalmente os modelos e comparar as abordagens determinística e estocástica. Um modelo determinístico foi escolhido da literatura recente, a partir do qual construiu-se uma versão estocástica para comparar os resultados obtidos por um mesmo conjunto de parâmetros.

3 Revisão de literatura

Para que esse documento seja compreendido por pesquisadores de áreas diferentes, um conjunto mínimo de conceitos de física, química, biologia e matemática será apresentado primeiramente, com foco nos assuntos necessários para o entendimento dos resultados, métodos empregados neste projeto, e dos outros modelos que apresentaremos.

3.1 Revisão de conceitos

Na elaboração desta parte do capítulo, procuramos empregar palavras e expressões focando em uma leitura mais fluída possível para os leitores que podem ser tanto das áreas biológicas quanto das exatas. Iniciamos o texto pelo tema central do projeto, radiação ionizante e as interações com a matéria viva.

3.1.1 Radiação e Energia

A radiação é o transporte de energia de um ponto a outro, realizado por ondas mecânicas tais como ondas sonoras e eletromagnéticas ou partículas subatômicas. Dentre estas, as ondas eletromagnéticas e partículas subatômicas compõem a radiação ionizante (Colvin; Larsen, 2013).

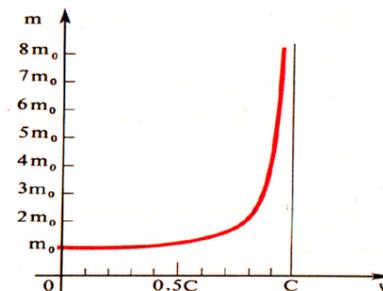
A energia total de um corpo é calculada pela equação;

$$E = mc^2 \quad , \quad (3.1)$$

onde m é a massa inercial do corpo e c é a velocidade de luz no vácuo, que viaja com a velocidade de 299.792.458 m/s, ou aproximadamente 3×10^8 m/s. A equação, apresentada por Einstein em 1905 na revista alemã *Annalen der Physike* no artigo intitulado “*Ist die Trägheit eines Körpers von seinem Energieinhalt abhängig?* (A inércia de um corpo dependerá de seu conteúdo energético?)”, estabelece a relação da equivalência massa - energia; sendo a massa uma medida de inércia de um corpo (que pode ser representada na idéia de “quanto mais pesado um corpo, mais força tem que ser aplicada para deslocá-lo”), e o conteúdo energético a energia que o corpo possui, a energia e a massa aumenta ou diminui de modo simultâneo e proporcional. Como o fator de proporcionalidade é o quadrado de um número muito grande, que é a velocidade de luz, um pequeno ganho (uma pequena perda) em massa corresponde a um ganho grande (uma grande perda) de energia do corpo. A massa inercial de um corpo movendo-se à velocidade v sendo massa de repouso m_0 em relação a um referencial inercial é dada por;

$$m = \frac{m_0}{\sqrt{1 - v^2/c^2}} \quad , \quad (3.2)$$

A figura 3.1 mostra como a massa inercial se modifica em função do valor da razão v/c .



(Fig. 3.1) A curva representa a dependência da massa do corpo em relação à sua velocidade.

Fonte: Prass AR.

A relação da equação 3.2 indica a quantidade de energia necessária para acelerar uma partícula de massa inercial m . Note que à medida que a velocidade de uma partícula

aumenta, a energia necessária para acelerá-la cresce, tendendo a infinito no limite em que $v \rightarrow c$.

3.1.2 Classificações de Radiação

A radiação é categorizada como ionizante ou não ionizante. A diferença entre as duas é o nível de energia; se a radiação não possui o nível da energia suficiente para arrancar um elétron de um átomo (ou uma molécula) com o(a) qual interage, isto é, ionizá-lo(la), é definida como não ionizante. Por outro lado, se uma radiação possuir energia suficiente para realizar a ionização, é radiação ionizante. Vejamos, a seguir, as diferenças entre as radiações ionizante e não ionizante.

3.1.2.1 Radiação não ionizante

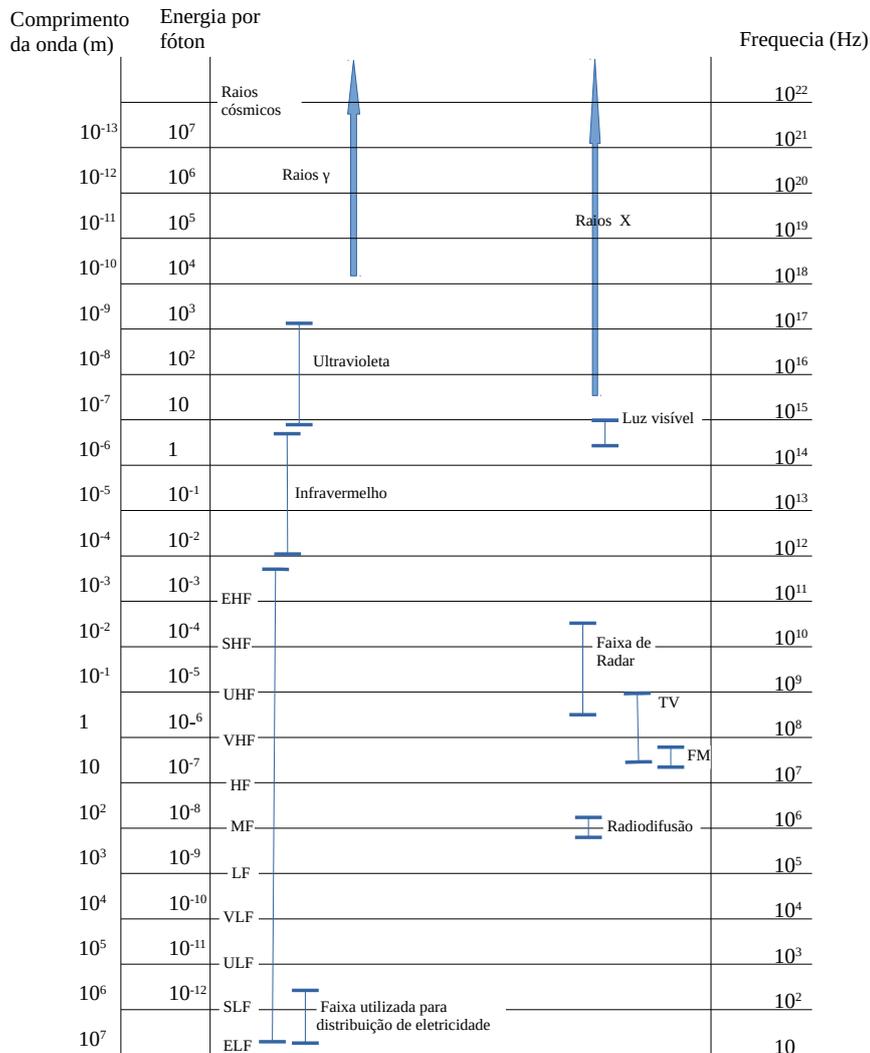
Radiação não ionizante é caracterizada por causar excitação, vibração ou rotação nos átomos ou moléculas ao se interagir com estes, sem produzir a ionização dos mesmos. São todas ondas eletromagnéticas com frequências abaixo daquelas que correspondem à radiação ultravioleta (UV). O espectro eletromagnético mostra as regiões de radiações não ionizantes e ionizantes (Fig. 3.2). Exemplos de radiação não ionizante, além da radiação UV, são a luz visível e infravermelho (IV) e ondas da radiofrequência representadas pelas micro-ondas, ondas de radiofrequência tais como as ondas de TV e de telefonia celular, e campos elétricos e magnéticos de frequência extremamente baixa, ou os campos ELF (*Extremely Low Frequency*), associados às linhas de transmissão que possuem frequências menor que 300Hz (Freitas et al., 2013). Humanos são expostos aos esses campos constantemente, originados da natureza (campo geométrico, atividade solar intensa, relâmpagos, etc.) ou artificial (fábricas, linhas de transmissão, aparelhos

elétricos, etc.). Ressonância magnética e alguns tratamentos médicos também usam os campos ELF, também. Apesar da existência de hipóteses de possível efeito oncológico, notadamente da leucemia infantil, não há evidência suficiente para relacionar tais efeitos de longo prazo aos campos ELF (Touitou; Selmaoui, 2012). Por outro lado, radiações UV tem efeitos biológicos marcantes, podendo causar alterações potencialmente mutagênicas em DNA (Halliwell; Gutteridge, 1999), as quais podem aumentar o risco para o câncer de pele (Freitas et al., 2013).

3.1.2.2 Radiação ionizante

São as ondas eletromagnéticas com frequências maiores que as da radiação UV e as radiações chamadas corpusculares. Exemplos da radiação ionizante são as radiações alfa (α), gama (γ), elétron (β^-), pósitron (β^+), nêutron (n), e raios X. Esta difere da radiação não ionizante por sua capacidade de arrancar elétrons e produzir íons no meio material por onde viaja. A ionização de um átomo (na molécula) ocorre pela segregação de um elétron da eletrosfera quando um elétron ou um fóton que com uma quantidade de energia superior à energia de ionização do átomo (da molécula) é disparado nele (nela).

A energia de ionização é uma energia limiar característica do átomo (da molécula) que pode ser expressa em elétron-volt (eV). Porém, o uso dessa unidade não é perfeitamente apropriado, pois a unidade volt convencionalmente representa a tensão, ou a diferença de potencial elétrico - ddp (Gerthsen et.al., 1998), e o elétron-volt mede a quantidade de energia cinética que um elétron ganha sob ddp de um volt no vácuo. Existe outra unidade mais adequada, a potencial de ionização (kJ por mol), sendo que 1eV equivale a 96.48455kJ/mol.



(Fig. 3.2) Espectro eletromagnético mostrado com o comprimento de onda, a energia por fóton e a frequência em escala logarítmica. A partir das frequências da luz visível para baixo, temos as radiações não ionizantes e para cima, as radiações ionizantes. As Palavras abreviadas são as seguintes; EHF (*extremely high frequency*), SHF (*super high frequency*), UHF(*ultra high frequency*), VHF(*very high frequency*), HF (*high frequency*), MF (*medium frequency*), LF (*low frequency*), VLF(*very low frequency*), ULF(*ultra low frequency*), SLF(*super low frequency*) e ELF (*extremely low frequency*).

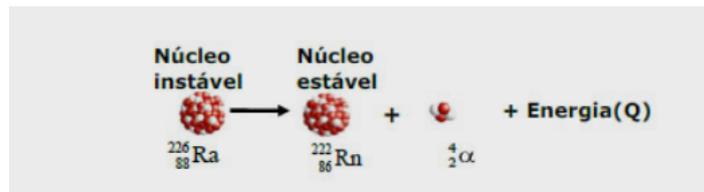
Fonte: Eisberg e Resnick, 1974. Adaptada pela autora.

3.1.2.2.1 Radiação ionizante corpuscular

Exemplos de radiação ionizante corpuscular são as radiações α , nêutron, β^- , β^+ . Essas são partículas subatômicas contidas no núcleo atômico que, ao serem ejetados, viajam juntos em fluxo. Note, portanto, que as radiações beta, positiva ou negativa, são oriundas do núcleo e da eletrosfera. O elétron ou (o pósitron) ejetado nesse processo origina-se do decaimento do próton (nêutron) em um núcleo. Esse decaimento também resulta na emissão simultânea de anti-neutrino e um nêutron (próton). Esse decaimento é chamado de decaimento β .

As radiações α e a emissão de nêutron são associadas ao tamanho, isto é, o número atômico, dos átomos. Elementos químicos de números atômicos muito grandes estão em contínua desintegração, porque a força que une os prótons e nêutrons, a força nuclear forte, é insuficiente para manter a coesão do núcleo se o número de prótons e nêutrons não estiver balanceado. Conseqüentemente, as partículas são ejetadas do átomo, até que este balanço seja alcançado.

Citamos aqui como exemplo o decaimento alfa, pela sua importância das fontes tais como urânio e rádio. As partículas alfa consistem-se de dois prótons e dois nêutrons, provenientes do núcleo de um átomo, ambos possuindo massas significativas. A massa do elemento de onde uma partícula alfa saiu diminui por quatro unidades e, com a perda de 2 prótons, o elemento original transforma-se em um outro elemento, motivo pelo qual a desintegração nuclear é chamada decaimento radioativo. Nesse processo, a carga também é diminuída, por duas unidades, pela perda de dois prótons. Vejamos aqui um exemplo da desintegração alfa (Fig. 3.3).



(Fig. 3.3) Decaimento alfa do elemento Rádium que pode ser representado como $^{226}\text{Ra}_{88} \rightarrow ^{222}\text{Rn}_{86} + ^4\alpha_2 + Q$, onde Ra denota o Rádium, Rn o Radônio e a letra Q a energia de decaimento. Na figura, prótons e nêutrons são representados por cores diferentes, a fim de podermos observar que a partícula alfa é composta de dois prótons e dois nêutrons.

Fonte: Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação.

Energia (Q) é liberada no processo de desintegração (Fig. 3.3), a qual é equivalente à diferença da energia do elemento original (Q_i) e a energia do novo elemento (Q_f), isto é, $Q_i - Q_f = m_i c^2 - m_f c^2$, onde m_i e m_f representam as massas do elemento original e do elemento após transmutação, respectivamente. Daí, a fórmula a seguir leva a obtenção do valor de Q liberada numa transmutação;

$$Q = (m_i - m_f) c^2, \quad (3.3)$$

Ocorre que a soma da massa do núcleo do novo elemento (o elemento após a transmutação do original) e da partícula emitida é sempre menor que a massa do núcleo do elemento original, porque uma parte da massa do elemento original se converteu em energia cinética da partícula emitida. A equação 3.1 estabelece que a massa e a energia são mutuamente conversíveis pela equivalência massa - energia.

A energia cinética de uma partícula ao sair do núcleo (E_c) é calculável pela seguinte expressão.

$$E_c = \frac{m v^2}{2}, \quad (3.4)$$

onde m é a massa da partícula e v é a velocidade com que a partícula é ejetada da fonte. Visto que a velocidade com que a radiação ionizante corpuscular (velocidade inicial) é ejetada é característica de tipo de partícula, o valor de v varia. Por exemplo, as partículas α e β possuem velocidades iniciais muito diferentes. No vácuo, a primeira viaja com 5 a 10 % da velocidade de luz, sendo que a última alcança entre 40 a 95 % da velocidade de luz (Chesman; Macedo, 2004).

3.1.2.2 Radiação ionizante de ondas eletromagnéticas

Radiações ionizantes de ondas eletromagnéticas são um conjunto de fótons, viajando à velocidade da luz no meio de propagação. Fótons não possuem massa nem carga, e são constituintes da luz. No vácuo, essa velocidade é c . Radiações X e γ são ondas eletromagnéticas, sendo que a primeira é produzida no tubo de Raio X, e os raios γ , através do processo de colisão nuclear nos aparelhos grandes e projetados para essa finalidade, tais como o ciclotron e o síncrotron. Os raios γ são emitidos acompanhando a emissão das partículas α ou β^- também.

O que diferencia um tipo de onda eletromagnética de outro é a frequência, f . No vácuo, onde o comprimento de onda λ é constante, de acordo com o tipo de radiação, satisfaz a seguinte equação;

$$f = c / \lambda \quad . \quad (3.5)$$

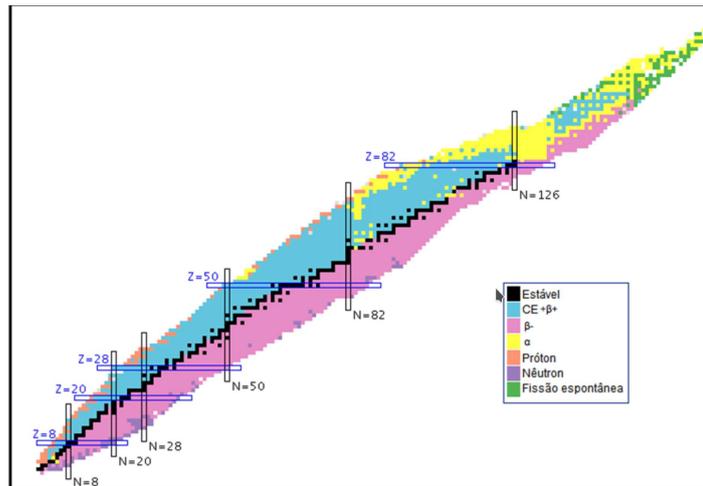
A frequência de uma onda eletromagnética é independente do seu meio de propagação. Todavia, a velocidade da luz depende do meio. Assim, o comprimento de onda é modificado de acordo com o meio de propagação;

$$\lambda = \frac{v}{f} \quad , \quad (3.6)$$

onde v é a velocidade da luz no meio material (Okuno; Yoshimura, 2010).

3.1.2.2.3 Radiação ionizante de fontes naturais

Radiações ionizantes também são classificadas de acordo com a fonte, entre as radiações naturais e artificiais. As primeiras radiações ionizantes naturais foram descobertas, em 1896 por Henri Bequerel. Sabe-se que, hoje, as fontes da radiação ionizante natural são os isótopos com os elementos de número atômico $Z = 83$ (Bismuto) ou maior. Isso porque os elementos grandes são instáveis, por que as forças interatômicas não conseguem segurar o núcleo permanentemente. Por essa instabilidade eles vão se desintegrando continuamente de maneira ordenada, seguindo regras bem estabelecidas. Na desintegração, partículas α ou β^- são emitidas, acompanhando a emissão de raios γ (Glasser et.al., 1952). Mostramos abaixo o diagrama de Segré, uma representação gráfica dos núclídeos e radionuclídeos de acordo com o tipo de desintegração pela qual cada um desses átomos passam; os quadrados minúsculos representam elementos químicos (Fig. 3.4). É possível observar que a partir do $Z = 83$ os pequenos quadrados pretos, representando os núclídeos estáveis, cujo conjunto forma a chamada *linha de estabilidade* não aparecem mais.



(Fig 3.4) O diagrama de Segré, o qual mostra o modo de decaimento de cada radionúclídeo. Cada modo de decaimento é associado a uma cor. O eixo vertical é o número atômico, Z, em ordem crescente de baixo para cima, e o eixo horizontal, o número de nêutrons, N em ordem crescente de esquerda para direita.

Fonte: National Data Center (EUA).

3.1.2.2.4 Radiação ionizante produzida artificialmente

Alguns tipos de radiações ionizantes podem ser produzidos artificialmente, portanto chamam-se de radiações artificiais, entre os quais raios X e γ têm grande importância nos cenários clínicos. Os raios X são produzidos dentro de um tubo provido internamente de um alvo de metais pesados como tungstênio. Os elétrons são emitidas dentro do tubo sofre desaceleração abrupta ao atingirem o alvo, e as ondas eletromagnéticas, com o comprimento de onda entre 1pm e 10nm são produzidas. Já os raios γ , aplicáveis na medicina nuclear e radioterapia, possuem comprimentos de onda abaixo de 10 pm, sobrepondo parcialmente à faixa espectral dos raios X (Fig. 3.2).

3.1.3 Grandezas e unidades

As grandezas físicas descrevem e caracterizam um fenômeno de forma quantitativa, o que possibilita a comparação de resultados e compilação de dados de diferentes estudos. Para expressar as grandezas físicas, normalmente são adotadas as unidades do Sistema Internacional. Essas grandezas, sempre que possível, devem quantificar os processos físicos associados aos efeitos biológicos que podem ser causados pela radiação. Isso vale para radiação não ionizante também, para a medição da qual emprega-se grandezas dosimétricas, tais como irradiância (E) em watts por metro quadrado (W/m^2), por exemplo, para a exposição de pele e dos olhos à radiação UV. No caso de radiação ionizante, por sua vez, essas grandezas são muito bem definidas, podendo representar a quantidade de energia *depositada* no tecido também (Freitas et.al., 2013).

Para a medição das radiações ionizantes, existem várias grandezas utilizadas de acordo com o fenômeno investigado. A dose absorvida, medida em Gray (Gy) e a dose equivalente, medida em Sievert (Sv), serão explicadas neste capítulo, omitindo as muitas outras medidas que existem, para focar no tema deste projeto. Em seguida, as medidas conceitualmente relevantes à interação biológica, poder de penetração e a transferência linear de energia (LET) serão expostas de maneira sucinta.

3.1.3.1 Dose absorvida (Gy)

A dose absorvida se expressa pela unidade de medida chamada gray (Gy), que mede a quantidade de energia depositada por unidade de massa do objeto exposto à radiação ionizante. Esta é a parcela de energia de radiação que é perdida para o objeto irradiado. Um Gy é equivalente a 1 joule de radiação por um quilograma da massa, isto é,

J/kg. Nota-se que essa unidade é aplicável para qualquer matéria, não especificamente a organismo vivo. Essa medida não especifica o tipo de radiação, nem avalia o efeito da radiação sobre o material que a absorve. Para tal, uma unidade específica, e efetiva, foi desenvolvida para o contexto de absorção de radiação por seres vivos.

3.1.3.2 Dose equivalente (Sv)

Para organismo vivo, a outra unidade de medida para a dose, o sievert (Sv), tem maior importância, porque reflete o impacto da exposição à radiação ionizante sofrido por tecidos vivos. Nota-se que essa unidade é usada tanto para medir a dose equivalente quanto para medir a dose eficaz (ou efetiva, que mede o impacto de radiação ionizante de acordo com os tipos diferentes de tecido humano.). A dose equivalente avalia o efeito biológico de radiação ionizante de acordo com os tipos diferentes de radiações, α , β^- , γ , por exemplo. A cada tipo de radiação ionizante é atribuído um peso (W_r), o qual é multiplicado à dose absorvida em gray, para a conversão em sievert. As radiações γ , β e raios X têm $W_r = 1$, portanto, 1 Gy equivale a 1 Sv. Para a radiação α , por sua vez, usa-se $W_r = 20$.

3.1.3.3 Penetrância

Cada tipo de radiação tem penetrância, ou poder de penetração, diferente; a partícula α , por exemplo, tem limitado poder de penetração em relação às radiações β , X e γ . A pele humana ou roupa é capaz de impedir a sua entrada no organismo, apresentando menor risco de exposição externa ao indivíduo. O risco de exposição com esse tipo de radiação é por exposição interna, que é a ingestão ou inalação de fonte radioativa pelo indivíduo. A partícula β^- (ou β^+), um elétron (ou pósitron), extremamente pequeno, leve e veloz, consegue penetrar a pele humana e percorre uma curta distância nos tecidos, mas

uma folha de alumínio é capaz de absorvê-la. Os raios X e γ , por sua vez, podem cruzar a grande distância no ar. Para absorver os raios X e γ , materiais pesados são empregados, tais como chumbo, sendo os raios γ mais difícil de absorver. É essa propriedade de possuir a alta penetrância que possibilita, no entanto, o uso clínico desses tipos de radiação ionizante, como no caso de diagnóstico por imagem.

3.1.3.4 LET – Transferência Linear de Energia

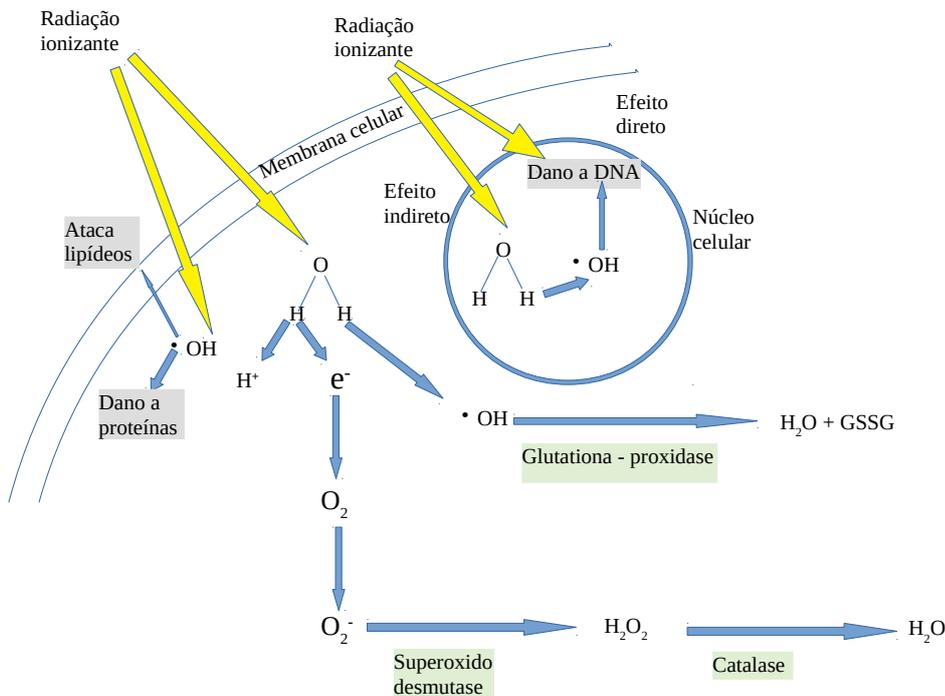
A LET é uma abreviação para o termo inglês *Linear Energy Transfer*, e mede a distribuição de ionização e excitação causado no trecho da passagem da radiação ionizante. A LET prediz o tipo predominante de interação, interação do tipo direto ou indireto, da radiação ionizante em questão com o organismo vivo. O tipo de interação é a causa da diferença no efeito biológico para a mesma quantidade de dose absorvida.

Radiação ionizante pode ser dividida entre a que tem LET alta e LET baixa. Quando o organismo vivo é atingido por feixes de radiação de alta LET, o local afetado praticamente não se recupera, por que os efeitos são mais graves. Essa característica, pode ser útil em aplicações clínicas, por exemplo, como ocorre no tratamento de câncer, como *protonterapia*, uma das modalidades mais avançada de radioterapia,. Nessa categoria, radiações α , nêutron, próton, partículas pesadas são incluídas. Já a radiação ionizante de baixa LET inclui raios X, γ e β .

O mecanismo de efeito no DNA é diferente de acordo com a LET. A grande parte dos danos causados ao DNA por radiações de alta LET é pelo efeito direto da radiação ionizante, mas para as radiações de baixa LET o efeito indireto prevalece. Efeito direto

ocorre pela deposição direto da energia da radiação ionizante, via ionização ou excitação dos componentes individuais na molécula de DNA. O efeito indireto refere-se às ataques à molécula de DNA pelos radicais livres, inclusive as espécies reativas de oxigênios (ROS) produzidas por excitação de moléculas de água do organismo. Radicais livres são moléculas que possuem elétrons não pareados e ROS são as moléculas que contêm oxigênio e elétrons não pareados, das quais as mais importantes são ânion superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxila ($\bullet OH$), peróxido de hidrogênio (H_2O_2), e oxigênio singleto (1O_2), ou oxigênio molecular eletronicamente excitada (O_2). Essas espécies ligam-se às biomoléculas e modificam-nas, motivo pelo qual são ditas nocivas à saúde. No entanto, isso depende da sua concentração no organismo, ou seja, a taxa de produção dessas espécies em relação à taxa de eliminação das mesmas. Quando a taxa de produção supera a de eliminação, o chamado estresse oxidativo é acarretado no organismo. Os seres que convivem com oxigênio como no caso de humanos produzem os radicais livres constantemente e, estando no equilíbrio de produção-eliminação, os radicais livres possuem a função de manter e regular a homeostasia do organismo (Lushchak, 2014).

No nível celular, existem mecanismos celulares de mitigação e controle dos danos causados pelos radicais livres: íon hidroxido é reduzido pela enzima glutathione peroxidase; íon superóxido é reduzido a peróxido de hidrogênio (água oxigenada) pelo superóxido desmutase. O peróxido de hidrogênio resultante desse processo, por sua vez, reage com catalase e produz água (H_2O), o último produto, atóxico. Quando células são expostas à radiação ionizante, a produção dos radicais livres ocorre com uma taxa maior. Sendo assim, ocorrem danos significativos às estruturas celulares quando a taxa de produção supera a taxa de eliminação das espécies reativas (Smith et al. 2017). As reações que podem ocorrer na produção de radicais livres são ilustradas na Figura 3.5.



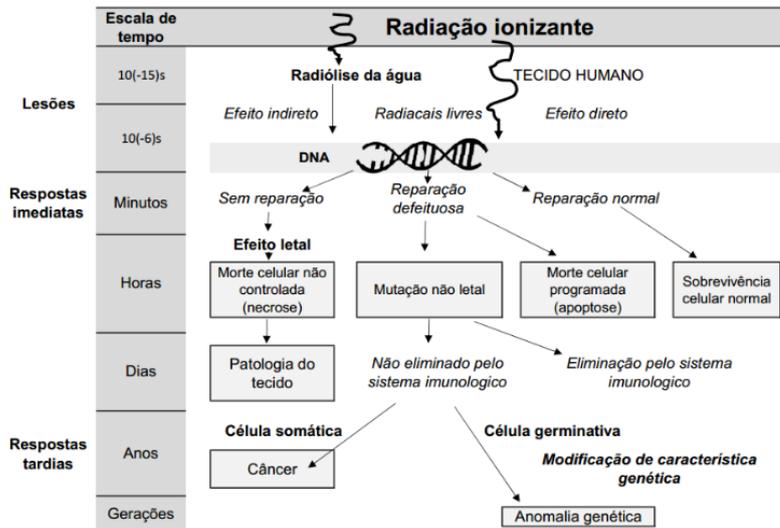
(Fig. 3.5) Produção de ROS em resposta à radiação ionizante. As enzimas catalizadoras dos produtos intermediários, os quais são ROS, são destacadas em verde-água e os danos que podem ser causados por ROS, em cinza. Radiação ionizante induz danos nas estruturas celulares por duas vias primárias: efeito direto a DNA e produção de radicais livres geradas pelas interações entre radiação ionizante e moléculas pequenas contendo oxigênio (inclusive água). Essas interações formam hidróxido e produzem elétrons livres. Os elétrons livres podem interagir com oxigênio intracelular para formar superóxido. Ademais, radicais livres produzidas podem reagir com DNA e degradam as membranas lipídicas pela peroxidação lipídica, o processo através do qual os radicais livres capturam elétrons dos lipídeos (Smith et al., 2017). GSSG representa glutaciona oxidada. Glutaciona é uma proteína presente em células e na forma reduzida (GSH) funciona como cofator da enzima glutaciona-peroxidase na metabolização da H₂O₂, e de outros peróxidos de hidrogênio, desta forma atuando como *scavenger* de ROS. A razão GSH/GSSG é frequentemente usada como marcador de estresse oxidativo (Zitka et al., 2012).

Fonte: Smith et al., 2017, traduzida e adaptada pela autora.

3.1.4 Efeitos biológicos da radiação ionizante

Efeitos biológicos da radiação ionizante podem ser agrupados em efeitos determinísticos e efeitos estocásticos, também chamados de efeitos teciduais (ou agudos) e efeitos tardios, respectivamente (Fig. 3.6). Os efeitos determinísticos são aqueles que ocorrem com exposição do organismo vivo às doses médias para altas, isto é, as doses

acima de 100mGy (100mSv, no caso de radiações X e γ). As doses abaixo desse nível são consideradas doses baixas, e para essa região de doses, os efeitos são probabilísticos, quando ocorrem (Okuno; Yoshimura, 2010).



(Fig. 3.6) Estimativas da escala de tempo para aparecimento dos efeitos de radiação ionizante em ser humano.

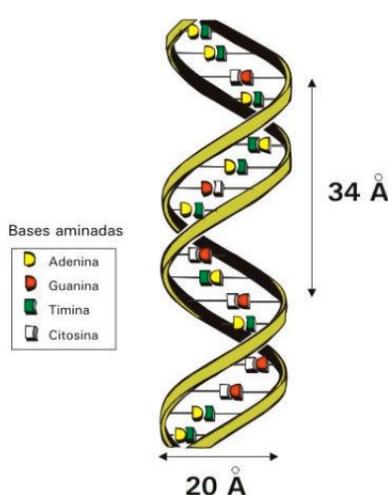
Fonte: Radioproteção e dosimetria: Fundamentos (Tauhata et al., 2013). Adaptada por Ferreira de Oliveira GA.

3.1.4.1 Efeitos determinísticos

Efeitos determinísticos em geral ocorrem imediatamente após a exposição à radiação ionizante, ou com um período de latência muito curto. Há evidências experimentais para doses acima de 100mSv e dos respectivos limiares para cada tipo de efeito. No caso de efeitos determinísticos, quanto mais alta a dose total recebida por organismo, mais grave serão seus efeitos. Os principais quadros clínicos são incluem eritema, escamação de pele, mucosite, queda de cabelo, catarata, esterilidade, etc (Okuno; Yoshimura, 2010; Cho; Glastein, 1998).

3.1.4.2 Efeitos estocásticos

Efeitos estocásticos, ou probabilísticos, são majoritariamente moleculares, isto é, os efeitos da radiação ionizante atinge o DNA nuclear, direta ou indiretamente, sendo que os efeitos são indetectáveis a olho nu na fase inicial, sendo necessário aplicar técnicas de biologia molecular, por exemplo, para sua detecção. Entre os danos que um DNA pode sofrer, o mais prejudicial ao organismo é a quebra de duas hélices, denominada DSB (*Double - Strand - Breaks*, ou quebra de duas hélices), mesmo que esse tipo de lesão seja menos frequente do que SSB (*Single – Strand - Breaks*, ou quebra de uma hélice), ou mudanças de base (Bodgi; Foray, 2016). A figura 3.8 mostra a estrutura, simplificada para fins didáticos, de DNA. A molécula de DNA consiste de duas hélices, que são “colunas” de açúcar-fosfato, antiparalelas formadas por sequência de grupos de açúcar desoxirribose e de fosfato. As duas hélices são ligadas por pares de grupos de bases nitrogenadas (adenina, guanina, timina e citosina) que são ligadas por pontes de hidrogênio. A DSB refere-se a quebra das duas hélices observadas simultaneamente, dentro de uma distância muito pequena, de 10 pares de bases que corresponde aproximadamente 3,4nm.



(Fig 3.7) A estrutura da dupla hélice de DNA.

Fonte: De Arias, 2014.

Existem danos de DNA incorrigíveis e permanentes, como no caso da mutação gênica. Os danos corrigíveis são sujeitos às várias vias de reparo intracelular e intercelular de acordo com o tipo de lesão (Cho; Glastein, 1998).

3.1.5 Modelagem matemática

Embora a teoria das probabilidades tenha sua construção iniciada a partir do século 16, somente a partir do início do século 20 é que esta maquinaria passou a ser utilizada no trabalho seminal de Albert Einstein ao estabelecer modelo para o movimento Browniano baseado na movimentação de micropartículas. Até o século 19, ciências teóricas lidavam exclusivamente com a abordagem determinística, isto é, com o estudo de soluções de equações diferenciais e modelagem de fenômenos naturais por soluções determinísticas. Isso se deve à ideia comum da época de que o futuro podia ser previsto corretamente, bastando ter todos os dados para sua condição inicial (Gardiner, 2009). Um processo determinístico estabelece que o estado inicial e final sempre têm uma correspondência fixa. Num modelo determinístico, o resultado é completamente determinável a partir dos dados e das funções que temos, por não incorporar fatores aleatórios, ou flutuações aleatórias (ruído).

Sabemos hoje, no entanto, que a natureza é muito mais complexa do que isso e a ideia de estocasticidade foi introduzida para que seja possível lidar com mecanismos não considerados, ao investigarmos um certo fenômeno.

3.1.5.1 Modelagem determinística

A Equação Diferencial Ordinária (EDO) descreve um sistema determinístico, sendo uma abordagem muito empregada na modelagem matemática. Uma EDO estabelece uma relação entre uma função a uma variável, y , e suas derivadas, y' , y'' , ..., $y^{(n)}$ tal que:

$$F(t, y, y', y'', \dots, y^{(n)}) = 0,$$

onde n é a ordem da EDO.

Um modelo matemático determinístico pode ser constituído de uma EDO, ou ainda, composto de um conjunto ou sistema das equações que devem ser resolvidas simultaneamente, chamado de EDOs acopladas. Em geral, esses modelos têm uma variável(is) dependente do tempo, e a dinâmica dessa(s) variável(is) é governada pelo EDO (ou sistema de EDOs acoplados).

A EDO mais simples é *linear e de primeira ordem* (ver a seção 3.1.5.1.1., “Classificações de EDO”), que tem a seguinte forma geral;

$$y' + p(t)y = q(t) \quad , \quad (3.7)$$

onde y' indica a derivada da função com respeito a variável independente t , com p e q as funções deriváveis no intervalo da função, (a,b) , $p: (a,b) \rightarrow \mathbb{R}$ e $q: (a,b) \rightarrow \mathbb{R}$.

A solução geral da EDO da equação 3.7 é a seguinte expressão;

$$y = \frac{1}{\mu(t)} \left(\int \mu(t)q(t)dt + c \right) \quad , \quad (3.8)$$

onde $\mu(t) = \exp\left\{\int p(t) dt\right\}$, chamado fator integrante, uma função originalmente desconhecida, e c é uma constante.

O fator integrante é frequentemente aplicado na resolução de EDOs. Esse método de solução será mostrado na seção seguinte. É um dos métodos analíticos para resolver EDOs, para obter soluções exatas. No entanto, para muitos dos problemas de equações diferenciais uma solução analítica não é possível e, muitas vezes, não é necessária. Nesses casos, métodos numéricos são empregados para a obtenção de soluções aproximadas, sendo que o processo de cálculo é realizado por computadores.

3.1.5.1.1 Classificações de EDO

Existem vários métodos de solução para EDOs, entre as abordagens analíticas e numéricas, e a escolha do método adequado deve ser feita comparando o peso computacional e o grau de exatidão requerida para o resultado; muitas perguntas não pedem soluções analíticas. De modo geral, quanto mais exatas ficam as soluções, maior o peso computacional, visto que computadores têm limites de capacidade em termos de memória e da velocidade de computação. Por esse motivo, deve-se considerar quais os métodos mais adequados para cada simulação, em relação a custo-benefício de qualidade do resultado contra o peso computacional.

O primeiro passo para escolher um método adequado e ideal para uma dada equação diferencial é classificá-la, porque isso depende do tipo de equação. Podemos classificar a EDO com vários critérios, por exemplo, segundo a *ordem* da EDO, isto é, a ordem da derivada de maior ordem da função incógnita da equação, por exemplo,

$$y' = 4x \quad , \quad (3.9)$$

é de primeira ordem (ordem 1).

A equação

$$y'' + x^3(y')^2 = 0 \quad , \quad (3.10)$$

é de segunda ordem (ordem 2).

A forma geral de uma EDO de n ordem é;

$$F(t, y, y', y'', \dots, y^{(n)}) = 0 \quad , \quad (3.11)$$

em que F é uma função de t, y , e suas derivadas $y, y', y'', \dots, y^{(n)}$.

Uma EDO é classificada de acordo com a *linearidade*, também. Uma EDO é dita linear com respeito às variáveis $y, y', \dots, y^{(n-1)}, y^{(n)}$ da função F , se pode ser escrita da seguinte forma;

$$a_0(t)y^{(n)} + a_1(t)y^{(n-1)} + \dots + a_n(t)y = g(t), \quad (3.12)$$

onde a_0, a_1, \dots, a_n e g são funções somente de t . As EDOs que não atendem essa condição são chamadas de EDOs *não lineares*.

As EDOs são classificadas também de acordo com a *homogeneidade*. Uma função homogênea caracteriza-se pela propriedade de manter a proporcionalidade da função original quando sofre transformação em suas variáveis. Uma EDO da primeira ordem é dita homogênea se o lado direito da equação é uma função homogênea, isto é, 0. As

EDOs de primeira ordem que não satisfazem essa condição são EDOs *não homogêneas*. Essa propriedade é importante porque essas EDOs, homogêneas de qualquer grau, podem ser resolvidas com uma substituição de variável conveniente para reescrevê-las em uma EDO de variáveis separáveis, as quais podem ser resolvidas com o método de separação de variáveis, um método simples. (Figueiredo; Neves, 1997). Um dos métodos para solução de uma EDO linear de primeira ordem não-homogênea é o método de fator integrante.

3.1.5.1.2 Métodos de solução de EDO

Como um exemplo dos métodos de solução analítica, mostraremos aqui o método de fator integrante. Esse método pode ser usado para resolver uma EDO do tipo apresentada (Eq. 3.7) quando $p(t) \neq 0$ e $q(t) \neq 0$. Nesse método, é usado a regra do produto:

$$\frac{d(fg)}{dt} = f'g + fg' \quad . \quad (3.13)$$

Multiplicando ambos os lados da equação 3.7 por uma função ainda indeterminada e chamada fator integrante, μ , obtemos;

$$\mu(t)y' + \mu(t)p(t)y = \mu(t)q(t) \quad (3.14)$$

Escrevemos o termo do lado direito como sendo a derivada de um produto. Consideremos $f = \mu$ e $g = y$. Pela regra do produto, temos a seguinte expressão.

$$\frac{d(fg)}{dt} = \frac{d(\mu g)}{dt} = \mu' y + \mu y' \quad (3.15)$$

Identificando $\mu' y$ e $\mu y'$ com o termo do lado esquerdo da equação 3.14, obtemos ;

$$\mu'(t)y + \mu(t)y' = \mu(t)y' + \mu(t)p(t)y \quad \leftrightarrow \quad \mu'(t) = \mu(t)p(t) \quad (3.16)$$

Admitindo que $u(t)$ é positiva para todo t , da equação 3.16., tem-se ;

$$\frac{u'(t)}{u(t)} = p(t) \rightarrow \ln(u(t)) = \int p(t) dt + k, \quad (3.17)$$

onde k é uma constante, e podemos considerar $k = 0$, então ,o fator integrante é

$$u(t) = \exp\left\{\int p(t) dt\right\}. \quad (3.18)$$

Voltando à EDO, temos;

$$\frac{d(\mu(t)y)}{dt} = \mu(t)q(t) \rightarrow \mu(t)y = \int \mu(t)q(t) dt + c. \quad (3.19)$$

Portanto, a solução do EDO (Eq. 3.7) é a equação 3.8. Toda solução que satisfaz as formas da solução (Eq. 3.8) e do fator integrante (Eq. 3.18) é chamada de solução *geral*, que é uma família de curvas, com diferentes valores para a constante c . Cada valor para c definirá uma solução *particular*, sendo que a solução geral inclui um valor arbitrário para a constante c . Escolhendo uma curva que passa por um ponto (x_0, y_0) , teremos a *condição inicial* $y(t_0) = y_0$. Uma EDO com uma condição inicial é referida como o problema de valor inicial, chamado de PVI (Figueiredo; Neves, 1997).

Agora, como um exemplo dos métodos de solução numérica, apresentaremos o método de Runge-Kutta de 4ª ordem (RK4), um método iterativo, e que foi utilizado nas simulações realizadas neste projeto. Os métodos de RK podem ser aplicados para a resolução de EDOs acopladas com valores iniciais. As EDOs acopladas têm a seguinte forma;

$$\begin{aligned} y'_1 &= f_1(x, y_1, y_2, \dots, y_n), & y_1(x_0) &= y_{1,0}, \\ y'_2 &= f_2(x, y_1, y_2, \dots, y_n), & y_2(x_0) &= y_{2,0}, \\ &\vdots & &\vdots \\ y'_n &= f_n(x, y_1, y_2, \dots, y_n), & y_n(x_0) &= y_{n,0}, \end{aligned} \quad (3.20)$$

podendo ser escrito de forma compacta; $y' = f(x, y)$, $y(x_0) = y_0$, em que $x \in \mathbb{R}$ e, também;

$$y(x) = \begin{bmatrix} y_1(x) \\ y_2(x) \\ \vdots \\ y_n(x) \end{bmatrix}, \quad f(x, y) = \begin{bmatrix} f_1(x, y) \\ f_2(x, y) \\ \vdots \\ f_n(x, y) \end{bmatrix} \quad \text{e} \quad y_0 = \begin{bmatrix} y_{1,0} \\ y_{2,0} \\ \vdots \\ y_{n,0} \end{bmatrix} \quad \text{s\~{a}o vetores em } \mathbb{R}^n .$$

O m\~{e}todo de RK4 para sistema de EDO \u00e9 descrito por

$$y_{k+1} = y_k + \frac{h}{6}(k_1 + 2k_2 + 2k_3 + k_4), \quad (3.21)$$

onde h representa o passo, fixo para cada itera\u00e7\u00e3o, e

$$k_1 = f(x_k, y_k), \quad k_2 = f\left(x_k + \frac{h}{2}, y_k + k_1 \frac{h}{2}\right), \quad k_3 = f\left(x_k + \frac{h}{2}, y_k + k_2 \frac{h}{2}\right) \quad \text{e} \quad k_4 = f(x_k + h, y_k + k_3 h)$$

O m\~{e}todo RK4 \u00e9 frequentemente escolhido para obter solu\u00e7\u00f5es num\u00e9ricas das EDOs acopladas, pela facilidade de algoritmos e a qualidade dos resultados.

3.1.5.2 Modelagem estoc\u00e1stica e EDEs

As c\u00e9lulas podem ser vistas como constitu\u00eddas por processos variados que originam dos mecanismos moleculares que movimentam de modo probabil\u00edstico. Experimentos vem mostrando que as c\u00e9lulas s\u00e3o sujeitas ao ru\u00eddo (flutua\u00e7\u00e3o aleat\u00f3ria) interno e externo e, mais do que isso, o ru\u00eddo \u00e9 uma parte fundamental e inerente ao sistema biol\u00f3gico (Ozbudak et. al. 2002; Elozitz et. al. 2002; Rosenfeld et. al. 2005; Sabino et al. 2018). O ru\u00eddo pode causar a heterogeneidade, at\u00e9 entre c\u00e9lulas geneticamente id\u00eênticas, trazendo e mantendo no organismo vivo flexibilidade, adaptabilidade e sensibilidade aos processos biol\u00f3gicos.

Se observamos a concentração de algum componente de uma célula, indicada por X , por algum tempo, mesmo depois de subtrair o ruído oriundo de métodos experimentais ou de observação, ainda observaremos alterações aleatórias na concentração. Por outro lado, a concentração varia de uma célula para outra, e se observamos um número grande de células ou observamos uma célula por um intervalo de tempo extenso, obtemos a concentração média, $\langle X \rangle$, ao longo do tempo t (ou diversos instantes de tempo t_i .) A flutuação aleatória de X é o deslocamento em torno desse valor médio, podendo ser quantificada pelo desvio padrão $\sigma = \sqrt{\langle (X - \langle X \rangle)^2 \rangle}$.

Além da concentração de moléculas, variações na taxa de reações bioquímicas de células, compõe o ruído no sistema celular. Dado que o processamento de informações no interior de uma célula ocorre via reações químicas entre moléculas específicas, as flutuações das moléculas de transdução de sinais e das reações químicas não podem ser ignoradas como possíveis origens de ruído no sistema celular. Vejamos, por exemplo, o ruído no mecanismo de transdução de sinalização celular; pequenas alterações aleatórias nos sinais podem ser amplificadas, porque as reações químicas no processo de sinalização celular também podem gerar ruído (Shibata et. al., 2005).

Adicionalmente, a modelagem estocástica é justificável, também do ponto de vista dos erros inerentes ao sistema e da observação; o problema dos erros é inseparável em todos os tipos de investigação científica. Para o sistema dinâmico, que envolve os fenômenos que evoluem com tempo, a competência de um modelo matemático de prever a condição futura, baseando-se na condição atual, depende da exatidão dos dados que representam a condição atual e, o próprio modelo que representa o fenômeno. No

entanto, erros acontecem tanto nos dados de observação quanto na própria modelagem, adicionando incerteza em tudo e qualquer análise que utiliza modelos e dados. Com isso, a exatidão ideal não é garantida no resultado de investigações e a adoção da abordagem estocástica ajuda a computar as influências desses erros. Modelos estocásticos vem sendo aplicados de maneira progressiva hoje, em diversas áreas, como física, química, biologia, ciências econômicas e meteorologia, etc .

Uma das técnicas úteis à abordagem de aleatoriedade é baseada no uso das chamadas equações diferenciais estocásticas (EDEs). Tais metodologias incluem, por exemplo, análise regressiva e o modelo oculto de Markov, etc., dentro das quais, a abordagem de Langevin é utilizada para os dados de fenômenos onde consideradamente coexiste fatores determinísticos e estocásticos em relação à mudança de estado; frequentemente, mudanças na grande escala (variável lenta) são relacionadas ao processo determinístico e a flutuação pequena (variável rápida), ao processo estocástico.

As EDEs são usadas para modelagem estocástica, e uma das abordagens mais comuns é a equação de Langevin (ver a subseção 4.1.1 e 4.1.2 do Cap. 4., Métodos), a qual obtemos por adicionar uma perturbação aleatória a uma EDO; $dx = f(x)dt + \sigma dW$, com $dW = \sqrt{dt}$, indicando que o ruído sobre o sistema é Gaussiano, ou seja, dW é uma variável aleatória com a média igual a zero, isto é; $(dW \sim N(0, \sqrt{dt}))$. Nesse caso a distribuição do ruído é do tipo Gaussiana. Observe que a equação apresenta duas componentes, uma determinística, $f(x)dt$, e outra estocástica, σdW .

3.2 Revisão de modelos matemáticos

Nesta seção, serão apresentados os principais modelos matemáticos e um modelo recente encontrado na literatura que escolhemos para apresentar pela sua relevância em relação a um dos modelos mais conhecidos e usados na radioterapia hoje, o modelo *Linear Quadratic* (LQ).

3.2.1 Modelo balístico

As primeiras tentativas de modelagem matemática de interação de radiação ionizante com organismo vivo partiram das hipóteses propostas em 1924 por Crowther. Segundo Bodgi et.al. (2016b), este modelo assume que;

1. A radiação é uma sequência aleatória de projéteis.
2. Existe uma parte sensível numa célula, que é o alvo a ser bombardeado pelos projéteis.
3. Um único impacto no alvo é o suficiente para levar a célula à morte.

O modelo foi testado experimentalmente por Marie Curie, em 1929, e apresentado por Lea (1946) no livro "*Actions of radiation action on living cells*", e serviu de base para outros vários modelos modificados deste. Nesses modelos, é considerado que ondas eletromagnéticas têm comportamento de partículas baseando-se na Teoria de dualidade onda-partícula, sugerida pelo experimento de fenda dupla realizado por Young por volta de 1801 e explicada por Max Born décadas depois em termos de probabilidade (Born, 1989). Segundo a Teoria, as entidades quânticas podem ser localizadas, ou possuem uma propriedade de partícula e, ao mesmo tempo, possuem extensão que é uma

propriedade de ondas. Assim, qualquer elemento quântico (um átomo, uma molécula, uma partícula subatômica como elétron, luz, etc.) pode ser vista como onda e ao mesmo tempo como partícula, dependendo de método de observação, sendo considerado que o próprio ato de observar e medir o sistema quântico interfere e altera o seu comportamento.

Segundo o modelo balístico, considera-se que a probabilidade de k projéteis atingirem o alvo é dada pela distribuição de Poisson:

$$P(k) = \frac{m^k}{k!} e^{-m} \quad (3.22)$$

para atingir o alvo k vezes ($k = 0, 1, 2, \dots$), sendo m a taxa média de ocorrência de colisões, que depende da fonte, do tipo e da dose de radiação.

A probabilidade de o alvo não ser atingido, portanto, é

$$P(0) = e^{-m} \quad (3.23)$$

Considera-se que m é proporcional à dose de radiação. Isto justifica a sobrevivência celular ser diretamente relacionada à probabilidade de o alvo celular não ser atingida pelos projéteis;

$$S(D) = e^{-\frac{D}{D_0}} \quad (3.24)$$

onde D_0 é a dose letal média para a qual o número médio de eventos letais por célula é igual a 1. À dose D_0 , a fração de sobrevivência celular é $1/e$, aproximadamente 37%,

Posteriormente, uma versão modificada, o modelo *n-target single-hit*, foi sugerido . Esse modelo defende que uma célula possui n alvos idênticos. Foi assumido, também, que a inativação de um deles acarreta um dano apenas subletal, sendo necessário o acúmulo de n alvos atingidos para resultar na morte celular (Bodgi et.al. 2016b).

Como a probabilidade de um alvo ser atingido pelo menos uma vez é o complementar da probabilidade de sobrevivência;

$$S^c(D) = 1 - e^{-\frac{D}{D_0}} \quad (3.25)$$

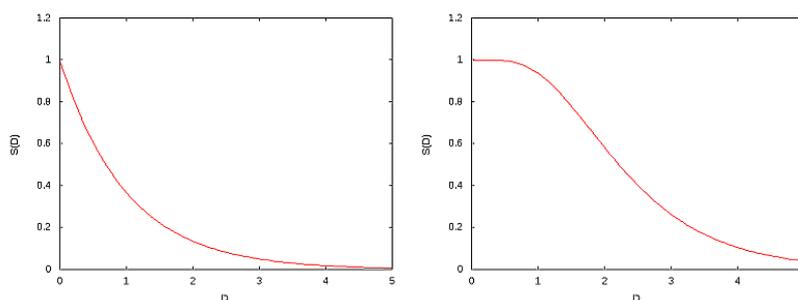
Sendo assim, a probabilidade de os n alvos serem atingidos *pelo menos uma vez* é $(S^c)^n$, isto é;

$$P(n) = (1 - e^{-\frac{D}{D_0}})^n \quad (3.26)$$

Segue-se que a fração de sobrevivência é dada pela probabilidade complementar da probabilidade de os n alvos serem atingidos pelo menos uma vez, $1 - P(n)$, isto é;

$$P(D) = 1 - (1 - e^{-\frac{D}{D_0}})^n \quad (3.27)$$

cuja curva possui um parâmetro n que define a largura do patamar (Fig. 3.8).



(Fig. 3.8) À esquerda, a curva de sobrevivência do modelo *single-target single-hit* e à direita, do modelo *n-target single-hit* . O eixo horizontal indica a dose total e o eixo vertical, a fração de sobrevivência celular. Os valores de parâmetros escolhidos são $D_0 = 1$ nos dois casos e $n = 6$ para o modelo *n-target single-hit*.

Fonte: Reproduzidas computacionalmente pela autora.

Sabe-se hoje, no entanto, que as curvas obtidas a partir de experimentos *in vitro* com células de mamífero não obedecem aos dois modelos citados, sendo que a hipótese se verifica somente para micro-organismos cujo tamanho celular é pequeno. Segundo Noda et.al. (2012) apud Bodgi et.al. (2016b), as células de mamíferos possuem tamanhos maiores, apresentando a taxa de dano a DNA induzida por radiação ionizante que segue a distribuição de Gauss. Versões diferentes com parâmetros adicionais também têm sido sugeridos sucessivamente, mas as equações de sobrevivência ficavam demasiadamente complexas a ponto de perder praticidade (Bodgi et.al. 2016b).

3.2.2 Modelo LNT (*Linear No Threshold*)

A hipótese de ausência de limiar de dose para aparecimento de efeitos detrimenais para organismo vivo e a linearidade de resposta celular à radiação ionizante foi proposta primeiramente por Muller em 1927 pelo descobrimento de mutações em espermatozoides maduros de *Drosophyla sp.* irradiados. Posteriormente, o modelo LNT foi elaborado a partir dos dados epidemiológicos de sobreviventes da bomba atômica de Hiroshima e Nagasaki. Para a região de doses acima de 100mGy, ou 100mSv para radiações X ou γ , a relação dose-efeito é estatisticamente confirmada, apresentando comportamento linear (Okuno; Yoshimura, 2010). No entanto, para as doses da região abaixo de 100mGy, a região de dose considerada de doses baixas, a relação dose-efeito não pode ser confirmada pela escassez de dados epidemiológicos. A solução temporária foi adotar uma hipótese que consiste na extrapolação da função linear que se ajusta aos dados obtidos para doses de radiação superiores a 100mGy. Tomemos por E o efeito biológico. Temos, então;

$$E = \alpha D. \tag{3.28}$$

O efeito biológico normalmente refere-se à morte celular ou o risco adicional para câncer, e α é um parâmetro de proporcionalidade entre o efeito e a dose total de radiação, (D). Segundo a equação, o efeito negativo será nulo apenas quando não houver exposição à radiação ionizante, rejeitando a ideia de existência de limiar para os efeitos biológicos da radiação de baixa dose. Este modelo foi usado pelo ICRP (*International Commission on Radiological Protection*) para estabelecer limites de dose de radiação para a população geral e para trabalhadores da indústria nuclear, profissionais de saúde, etc. Embora amplamente utilizada, a hipótese LNT vem perdendo a validade na comunidade científica. Vários estudos mais recentes mostraram que o organismo possui mecanismos de reparo e proteção à radiação às doses baixas (Joubert et. al., 2008; Davis et.al., 2013; Bodgi; Foray, 2016).

O modelo LNT reflete apenas o processo físico de interação de radiação com o organismo. É como se tratasse organismo vivo como uma matéria inorgânica. Se o objeto de irradiação fosse realmente uma matéria inorgânica, como no caso de uso industrial de radiação ionizante, a proporcionalidade de efeito à intensidade de um estímulo deveria valer. O modelo falha em ignorar o sistema de defesa e outras complexidades inerentes aos organismos vivos, os quais podem ser ativados ao receber estímulo que pode ameaçar a manutenção de equilíbrio ou a própria sobrevivência. A presença de mecanismo de defesa sugere que os efeitos deletérios podem ser amenizados, portanto não garante a proporcionalidade de estímulo e efeito. Por outro lado, o modelo LNT é válido em casos de irradiação por doses suficientemente altas, no nível a partir do qual o sistema de defesa do organismo irradiado torna-se inútil.

Este modelo apresenta, também, a falta de consideração quanto à taxa de dose com que ocorre a irradiação. No experimento de Muller, que serviu para estabelecer a hipótese da relação de proporcionalidade de número de mutações, também desconsiderou a taxa de dose total, e o modelo LNT, como se pode observar na equação apresentada (Eq. 3.28), D é a *dose total*. Mesmo depois que a importância da *taxa de dose* foi apontada por Russell e Kelly (1958), apud Bodgi et.al. (2016b), o modelo continua sendo amplamente usado na área de radioproteção.

3.2.3 Modelo LQ (*Linear Quadratic*)

O modelo LQ é uma equação composta por um termo linear e um quadrático, dependente da dose D . Introduzido por Kellerer e Rossi (1974), o modelo é conhecido para possuir dois parâmetros, α e β , cujos significados biológicos não são claros. Os parâmetros precisam ser ajustados de acordo com os dados empíricos, o motivo pelo qual o modelo LQ é chamado de um modelo empírico e não mecanístico.

Este modelo, no entanto, é considerado como o que reflete mais fielmente os dados experimentais entre os modelos conhecidos hoje, se os parâmetros forem ajustados adequadamente. O modelo é empregado no planejamento de radioterapia para a predição de efeitos agudos, calculando a razão α/β para predizer a natureza das reações teciduais que seriam induzidas.

O Modelo LQ é representada pela seguinte equação.

$$E = \alpha D + \beta D^2, \tag{3.29}$$

onde D é a dose total e E é o efeito *detrimental* que pode representar a morte celular ou risco adicional para câncer, dependendo do objetivo de uso do modelo.

O termo linear prevalece para doses baixas, enquanto o termo quadrático, para doses mais altas (Okuno; Yoshimura, 2010). Isso ocorre porque $E(D) \approx \alpha D$, quando $D \rightarrow 0$. As curvas de sobrevivência são mostradas abaixo, para demonstração;

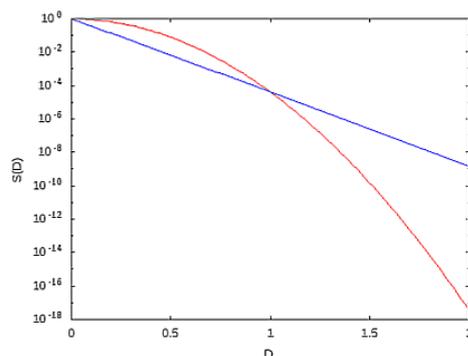


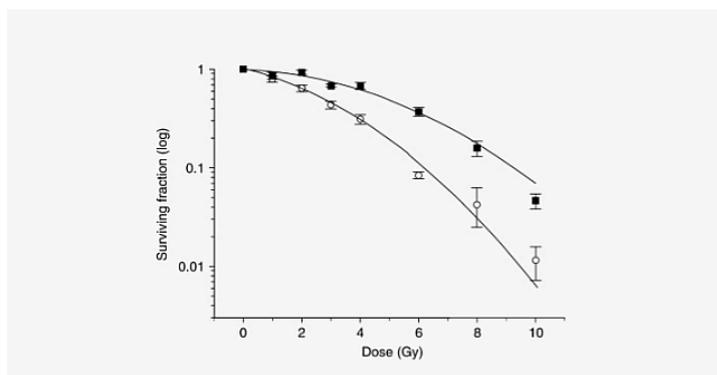
Fig. 3.8 Duas curvas de sobrevivência do Modelo LQ em escala semi-log. O eixo horizontal indica dose de radiação em unidade arbitrária. O eixo vertical indica a fração de sobrevivência de uma população, de células, por exemplo. Foram usados os seguintes valores para os parâmetros α e β : $\alpha = 0, 1$ e $\beta = 10, 0$, resultando na linha visualmente curvilínea; $\alpha = 10, 0$ e $\beta = 0,1$, resultando na linha visualmente retilínea, para mostrar que o termo linear, αD , prevalece para doses baixas, enquanto o termo quadrático, βD^2 , prevalece para doses mais altas.

Fonte: Reproduzidas computacionalmente pela autora.

O modelo é usado na seguinte forma, para obter a curva de sobrevivência celular;

$$S(D) = e^{-E(D)} = e^{-\alpha D - \beta D^2} \quad (3.30)$$

A figura 3.9 é um exemplo, extraído da literatura, das curvas dos dados obtidos de um estudo com células de linhas celulares de tumor de bexiga, MGH-U1 e S40b, reproduzindo curvas de sobrevivência celular em relação à dose de radiação na escala semi-log (Sanger, et. al. 2004). Observe que as curvas são típicas do modelo LQ, mostrando a adequação deste modelo para o *fitting* de dados experimentais.



(Fig. 3.9) Curvas do modelo LQ: curvas de sobrevivência clonogênica para MGH-U1 (quadrados) e S40b (círculos) após irradiação. No eixo horizontal é indicada a dose de radiação em Gy e a fração de células capazes de formar clones é indicada no eixo vertical em escala logarítmica. As médias de dados de três experimentos independentes foram ajustadas ao modelo LQ (linhas contínuas). Para os métodos desses experimentos, consulte Sanger et. al. (2004).

Fonte: Sanger et.al. (2014)

O modelo vem sendo criticado, no entanto, pela sua natureza empírica, o qual não fornece explicação mecanística ou biológica. Uma hipótese sobre os parâmetros foi apresentada por Kellerer e Rossi (1974); a componente linear reflete um dano letal causado por um acerto no alvo através de uma trajetória, e a componente quadrática, um acerto no alvo através de duas trajetórias. Mas a hipótese é criticada por desprover de uma base teórica e evidências empíricas.

Em 1973, Chadwick e Leenhouts defenderam que o termo linear reflete DSBs irreparáveis enquanto que o termo quadrático, duas SSBs subletais que compõem uma DSB. Essa hipótese também recebeu críticas, por exemplo, no trabalho de Goodhead et.al. (1989), que alega que a probabilidade dos trajetos de duas partículas se sobreporem é praticamente nula para doses biologicamente relevantes.

3.2.4 Modelo ATM (Ataxia-Telangiectacia Mutada)

Recentemente, foi apresentada uma nova hipótese por Bodgi et.al. em 2013 (Bodgi 2016a; Bodgi; Foray, 2016) sobre o significado biológico dos parâmetros α e β do modelo LQ. Essa proposta tem sua base biológica em uma das vias de reparo de DNA bem documentada; reparo de DSB via quinase ATM. A vantagem dessa hipótese é a possibilidade de fornecer uma explicação à base biológica dos parâmetros α e β .

Existe uma doença rara chamada ataxia telangiectacia (A-T), que é causada pela mutação do gene que codifica a quinase ATM. Portanto, é uma doença genética. Os sintomas começam a aparecer na primeira infância e afeta os sistemas nervoso e imunológico. Sinais e sintomas incluem alteração de marcha e postura, fala de difícil entendimento e baba, movimentação anormal dos olhos, dificuldade para engolir, telangiectasia (dilatação de pequenos vasos superficiais), deficiência imunológica, predisposição a desenvolver câncer; crescimento lento. O que é relevante para o estudo apresentado é que os pacientes dessa doença manifestam hiper-radiossensibilidade celular (Cho; Glastein, 1998; Bodgi; Foray, 2016).

Essa proteína é conhecida pela sua participação no processo de reparo do DNA lesado como um mediador, e tem conformação de um dímero quando não está ativada. É acreditado, por muito tempo, que a ATM se concentram no núcleo celular. Essa hipótese sobre a localização de ATM não se baseia tanto nos experimentos e observações, mas pela lógica; a proximidade a DNA. O novo estudo, no entanto, mostrou experimentalmente que a ATM é principalmente citoplasmática. A imunofluorescência contra o anticorpo pATM mostrou a maior concentração da ATM na citoplasma das células não irradiadas. Quando essas células (fibroblastos 1BR3 radorresistentes) foram exposta à radiação ionizante de

2Gy por 10 minutos, a concentração da ATM se deslocou para o núcleo celular. É conhecido que a oxidação induzida pela radiação ionizante no ambiente citoplasmático muda a conformação da ATM, dissociando-as em monômeros, a forma ativa (Bakkenist et. al., 2003; Bodgi et.al., 2016a; Bodgi; Foray, 2016). Os monômeros foram produzidos de maneira proporcional à dose, os quais têm três destinos possíveis difundir-se ao núcleo, permanecer na citoplasma e associar-se a outra proteína chamada proteína X que também se ativa por irradiação, ou associar-se a outro monômero da ATM e voltar a formar um dímero. Somente os monômeros da ATM conseguem difundir-se ao núcleo, portanto, a ATM permaneceriam no citoplasma nos dois casos posteriores. Alguns monômeros, já no núcleo, reconhecem as DSBs via fosforização de histona H2AX, e formam γ H2AX, para sinalizar os locais a serem reparados. Algumas DSBs permanecem irreparados, dentre as quais algumas levam a célula à apoptose e nesse caso as DSBs são chamadas de DSBs letais. Outras DSBs não reparadas são *toleradas* pela célula e, nesse caso, são chamadas de DSBs não-letais.

Esse conjunto de hipóteses possibilita uma interpretação mecânica e matemática do modelo LQ, esclarecendo o significado dos parâmetros α e β (Bodgi et.al., 2016a; Bodgi; Foray, 2016). Para a análise matemática do fenômeno, a relação entre a componente αD do modelo LQ e o número de DSBs não reparadas até 24 horas depois de exposição à radiação ionizante foi analisada. O limite de 24 horas foi adotado baseado na literatura que mostra o limite de tempo de 24 horas para DSBs serem reparadas [Illakis 1988]. Foram usadas células tumorais e de fibroblastos não tumorais. As doses de radiação ionizante, de raios γ , foram de intervalo de 1 a 4 Gy, doses não altas, para desconsiderar momentaneamente a componente βD^2 .

Os resultados de experimentos são detalhados na literatura, os quais apoiaram as relações obtidas;

$$\alpha = \frac{N_{\alpha}(D)}{\Theta_{\alpha}D} , e \quad (3.31)$$

$$\beta = \frac{N_{\beta}(D)}{\Theta_{\beta}D^2} , \quad (3.32)$$

onde N_{α} e N_{β} denotam números de DSB dos tipos α (reconhecidas mas não reparadas em $t_{\text{rep}} = 24\text{h}$) e β (não reconhecidas, não reparadas em $t_{\text{rec}} = 4\text{h}$), respectivamente, e θ_{α} e θ_{β} denotam a tolerância que a célula portadora de DSB não reparada tem com a lesão - as células sobrevivem mesmo com essas DSBs devido à condensação de cromatina ou localização específica da lesão dentro do núcleo. As variáveis θ_{α} e θ_{β} são funções de dose e representam o inverso da fração de DSB letais dos tipos α ou β , respectivamente. Das fórmulas acima, a razão α/β , aplicada amplamente na predição de tipo de reação tecidual pós-radioterápica, será dotada do significado biológico seguinte;

$$\frac{\alpha}{\beta} = \frac{(N_{\alpha})(\Theta_{\beta})}{(N_{\beta})(\Theta_{\alpha})} D , \quad (3.33)$$

ou seja,

$$\frac{\alpha}{\beta} = \left(\frac{\text{Número de DSBs letais reconhecidas mas não reparadas}}{\text{Número de DSBs letais não reconhecidas}} \right) D . \quad (3.34)$$

4 Métodos

Dois modelos determinísticos de sobrevivência de células saudáveis sob condição de exposição à radiação ionizante de baixa intensidade foram selecionados da literatura recente (Wodarz et.al., 2014), para a realização da simulação computacional. Apresentamos primeiro esses modelos, seguidos pela exposição do método de construção da versão estocástica e dos métodos utilizados na simulação computacional.

4.1 Modelos determinísticos da dinâmica celular

Escolhemos um estudo publicado em 2014 por Wodarz et.al., no qual modelos determinísticos que descrevem a dinâmica das populações de células sob condição de exposição à radiação ionizante de baixa intensidade são apresentados. Esses modelos são partes de um modelo maior, que chamaremos neste projeto de o Modelo Global, pois este é uma integração dos dois modelos citados. Um dos dois modelos menores envolve apenas o mecanismo intracelular do mecanismo de reparo de DNA danificado pela radiação. O outro leva em consideração apenas o mecanismo intercelular do mesmo fenômeno. A partir da população inicial de 100 células saudáveis, isto é, sem alteração como mutação e que não foram atingidas pela radiação ionizante, as células transitam entre os 4 estados X,Y,W e Z, com taxas de transição definidas (Fig. 4.1). A seguir, um diagrama chamado modelo compartimental que construímos para visualizar o modo de transição.

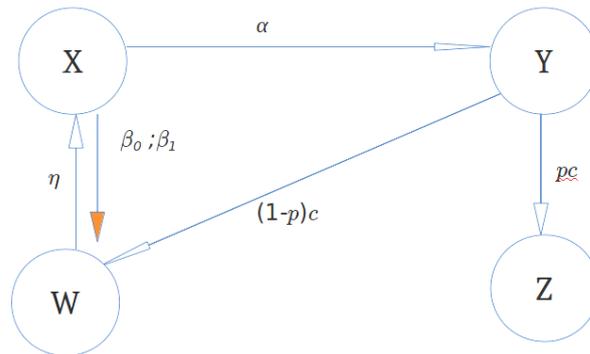


Fig. 4.1 Este diagrama apresenta o fluxo de estados pelos quais as células podem transitar. As setas indicam o sentido de transição ou transformação do estado anterior para os estados possíveis seguintes, com as respectivas taxas anotadas ao lado.

Fonte: Idealizado e produzido pela autora.

4.1.1 Estados das células

Os 4 estados são definidos como seguinte.

X: *saudável*, não foi atingido e suscetível a efeitos de radiação ionizante;

Y: *atingido* por radiação e *em reparo*, isto é, atualmente passando por processo de reparo de dano de DNA causado pela radiação;

W: *protegido* temporariamente dos efeitos de radiação depois de ser reparado com sucesso; e

Z: *permanentemente alterado* pela falha de reparo. Este estado inclui morte celular, independentemente do tipo de alteração (apoptose, necrose, morte clonológica, etc).

A dinâmica das populações são representadas na forma de EDOs acopladas (Eq. 4.1 a Eq. 4.12). Para uma sucinta explicação sobre EDOs acopladas, veja o capítulo de revisão de conceitos e de modelos.

O modelo que envolve apenas o processo intracelular de reparo de DNA é referido como o Modelo Memória (“*memory model*”), e o modelo que envolve apenas o processo intercelular de reparo de DNA, como o Modelo Comunicação (“*communication model*”) em (Wodarz et.al., 2014).

Na literatura, o Modelo Global, o Modelo Memória e o Modelo Comunicação correspondem às equações 1, 2 e 3, respectivamente (Wodarz et.al., 2014). Nesta dissertação numeramos essas equações de 4.1 a 4.4 (Modelo Global), 4.5 a 4.8 (Modelo Memória), e 4.9 a 4.12 (Modelo Comunicação). O uso do termo *memória* aqui é associado à hipótese apresentada na literatura de que a célula atingida por radiação ionizante de baixa intensidade possui uma espécie de memória celular, que se refere ao mecanismo de proteção contra efeitos nocivos da exposição subsequente, e que esse mecanismo ocorre dentro de uma célula, sem afetar as outras células. O uso do termo *comunicação*, por sua vez, deve-se à comunicação entre células de diferentes estados, ou seja, de uma célula adaptada à radiação ionizante após ter seu DNA reparado fornece adaptação de outra célula suscetível aos efeitos da radiação através de sinalização celular. As maiores informações sobre a justificativa do uso desses termos encontram-se em (Wodarz et.al., 2014).

Esses modelos foram elaborados considerando apenas os tecidos com células que não se dividem mais e, portanto, sem a substituição de células permanentemente alteradas por radiação ionizante. Com isso, a curva de sobrevivência de células da população X necessariamente chega à extinção, como mostrada na Figura 1 na literatura (Wodarz et.al., 2014).

4.1.2 Taxas de transição

As passagens de células de um estado para outro seguem as taxas, as quais foram estimadas a partir dos dados obtidos dos ensaios *in vitro*, e estão resumidas na tabela 4.1.. Os valores são idênticas com os valores usados na produção das curvas de sobrevivência celular da Figura 1 na literatura (Wodarz et.al., 2014).

Símbolo	Valor	Taxa representada
α	0,1	Taxa com que uma célula é atingida por radiação ionizante
β_0	1	Taxa com que uma célula no processo de reparo confere proteção a uma célula saudável, usada somente no modelo comunicação
β_1	0	Taxa com que uma célula já reparada e está protegida (célula adaptada) confere proteção a uma célula saudável (suscetível), usada somente no modelo comunicação
c	1	Taxa com que as células saem de reparo, ou, a taxa de reparo
η	0,01	Taxa com que a proteção expira
p	0,05	Probabilidade de fracasso de reparo
$(1-p)$	0,95	Probabilidade de sucesso de reparo

Tabela 4.1 As taxas de transição das células de um estado para outro, com os valores usados em todas as simulações. São iguais às taxas usadas para as curvas de sobrevivência da Figura 1 na literatura (Wodarz et.al., 2014).

4.1.3 Modelo Global, Model Memória e Modelo Comunicação

Apresentamos, a seguir, as EDOs acopladas do Modelo Global, Memória e Comunicação. As variáveis x , y , w e z representam a densidade das populações dos estados diferentes, X , Y , W e Z , respectivamente.

Modelo Global

$$\frac{dx}{dt} = -\alpha x - \beta_0 xy - \beta_1 xw + \eta w \quad (4.1)$$

$$\frac{dy}{dt} = \alpha x - cy \quad (4.2)$$

$$\frac{dw}{dt} = (1-p) + \beta_0 xy + \beta_1 - xw - \eta w \quad (4.3)$$

$$\frac{dz}{dt} = pcy \quad (4.4)$$

Modelo Memória

$$\frac{dx}{dt} = -\alpha x + \eta w \quad (4.5)$$

$$\frac{dy}{dt} = \alpha x - cy \quad (4.6)$$

$$\frac{dw}{dt} = (1-p)cy - \eta w \quad (4.7)$$

$$\frac{dz}{dt} = pcy \quad (4.8)$$

Modelo Comunicação

$$\frac{dx}{dt} = -\alpha x - \beta_0 xy - \beta_1 xw + \eta w + (1-p)cy \quad (4.9)$$

$$\frac{dy}{dt} = \alpha x - cy \quad (4.10)$$

$$\frac{dw}{dt} = \beta_0 xy + \beta_1 xw - \eta w \quad (4.11)$$

$$\frac{dz}{dt} = pcy \quad (4.12)$$

O Modelo Memória apenas envolve EDOs lineares, mas o Modelo Comunicação contem EDOs não *lineares* pela existência de termos xy e xw (Eq. 4.9; Eq.4.11). Todas as EDOs desses modelos são de primeira ordem e *homogêneas*. Essas classificações, ordem, linearidade e homogeneidade, das EDOs são importantes, pois orientam a escolha de métodos possíveis e adequados que devem ser empregados para solucioná-las. As classificações de EDOs são resumidas na seção 3.1.5.1.1. do Capítulo 3 desta dissertação.

4.2 Modelos estocásticos

A abordagem de Langevin foi usada para a construção da versão estocástica dos modelos determinísticos. Para a explicação sobre a abordagem de Langevin, consulte a subseção 3.1.5.2., Modelagem estocástica e EDEs. No total, realizamos 5 simulações estocásticas. Temos, do Modelo Memória, a Simulação 1 e a Simulação 2, cada um com nível de ruído diferente. Do Modelo Comunicação, temos a Simulação 1, a Simulação 2 e a Simulação 3, cada um com nível de ruído diferente.

4.2.1 Modelo Memória estocástico

$$dx = (-\alpha x + \eta w) dt + \sigma_i dW \quad (4.13)$$

$$dy = (\alpha x - cy) dt + \sigma_i dW \quad (4.14)$$

$$dw = [(1-p)cy] dt + \sigma_i dW \quad (4.15)$$

$$dz = (p cy) dt + \sigma_i dW \quad (4.16)$$

Para a simulação das versões estocásticas do Modelo Memória foram escolhidos os seguintes valores para o ruído (σ). A mesma condição inicial do modelo determinístico de $x_0 = 100$ e $y_0 = w_0 = z_0 = 0$ foi usada.

Simulação estocástica 1 do Modelo Memória: $s_1 = s_3 = 0,1$; $s_2 = s_4 = 0$

Simulação estocástica 2 do Modelo Memória: $s_1 = s_2 = s_3 = s_4 = 0,5$

4.2.2 Modelo Comunicação estocástico

$$dx = [-\alpha x - \beta_0 xy + \beta_1 xw + \eta w + (1-p)cy]dt + \sigma_i dW \quad (4.17)$$

$$dy = (\alpha x - cy)dt + \sigma_i dW \quad (4.18)$$

$$dz = (p cy)dt + \sigma_i dW \quad (4.19)$$

$$dw = (\beta_0 xy + \beta_1 xw - \eta w)dt + \sigma_i dW \quad (4.20)$$

Para a simulação das versões estocásticas do Modelo Comunicação a mesma condição inicial do modelo determinístico de $x_0 = 100$ e $y_0 = w_0 = z_0 = 0$ foi usada.

Foram escolhidos os seguintes valores para o ruído (σ):

Para a Simulação estocástica 1 do Modelo Comunicação: $s_1 = s_2 = s_3 = s_4 = 0,01$.

Para a Simulação estocástica 2 do Modelo Comunicação: $s_1 = s_2 = s_3 = s_4 = 0,1$.

Para a Simulação estocástica 3 do Modelo Comunicação: $s_1 = s_2 = s_3 = s_4 = 0,5$.

5 Resultados

Apresentamos neste capítulo os resultados das simulações. As taxas de transição, os valores de ruído e a condição inicial de populações de células encontram-se no Capítulo 4, Métodos. Os valores utilizados para as taxas tiveram como base aqueles já apresentados na literatura (Wodarz et.al., 2014).

5.1 Modelo Memória

Na figura 5.1, o resultado das simulações preliminares do modelo original determinístico é apresentado. As curvas foram obtidas utilizando as equações 4.5 a 4.8 (Cap. 4). Os parâmetros têm valores apresentados na tabela 4.1 (Cap. 4). Consideramos as seguintes condições para populações X, Y, W e Z : $X_0 = 100$ e $Y_0 = W_0 = Z_0 = 0$.

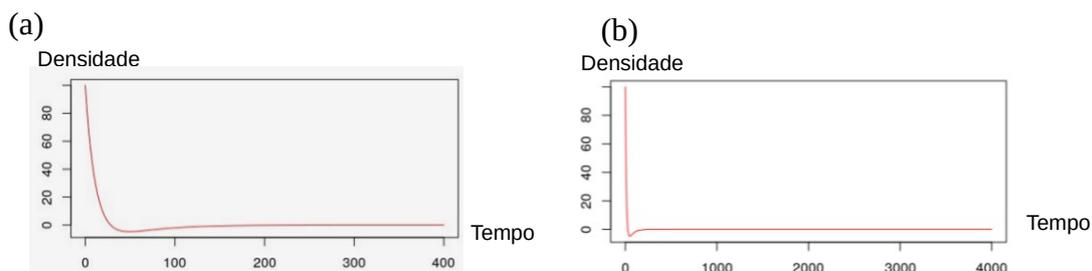


Fig.5.1 Duas simulações determinísticas preliminares do Modelo Memória, com o tempo de simulação e os intervalos diferentes. Verificamos a reprodutividade do modelo até os tempos considerados. Os programas foram escritos utilizando o pacote DeSolve, oferecida pelo Projeto R, do programa R. (a) Número de passos = 400 ; dt = 0.001. (b) Número de passos = 4000; dt = 0,01.

A seguir, o resultado da simulação determinística com o tempo de simulação maior, sobreposto às curvas da Simulação estocástica 1 e 2 do mesmo modelo, com os valores de ruído diferentes ; para a Simulação 1 do Modelo Memória: $s_1 = s_3 = 0,1$; $s_2 = s_4 = 0$ e para a Simulação 2 do Modelo Memória: $s_1 = s_2 = s_3 = s_4 = 0,5$.

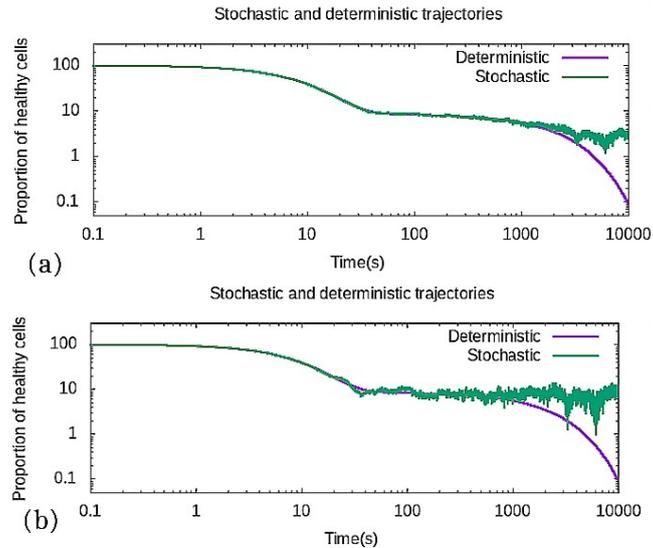


Fig. 5.2 (a) Resultado da Simulação estocástica 1 do Modelo Memória (a curva com o aspecto de serra) comparado com o resultado do Modelo Memória determinístico original (as curvas lisas), e (b) O resultado da Simulação estocástica 2 do Modelo Memória (a curva com o aspecto de serra) comparado com o resultado do Modelo Memória determinístico original. O ruído inserido foi maior na segunda simulação.

5.2 Modelo Comunicação

Na figura 5.3, apresentamos o resultado da simulação preliminar do Modelo Comunicação original determinístico. As curvas apresentadas foram obtidas utilizando as equações 4.9 a 4.12, do Cap.4. Os valores dos parâmetros são apresentados na Tabela 4.1 (Cap. 4). Consideramos as seguintes condições : $X_0 = 100$ e $Y_0 = W_0 = Z_0 = 0$.

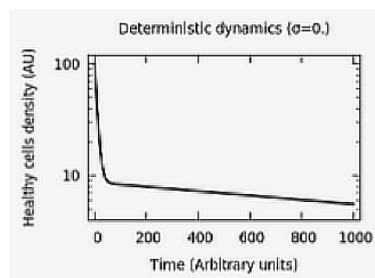


Fig. 5.3 Simulação determinística do Modelo Comunicação para verificar a reprodutividade do modelo. Tempo de simulação = 1000.

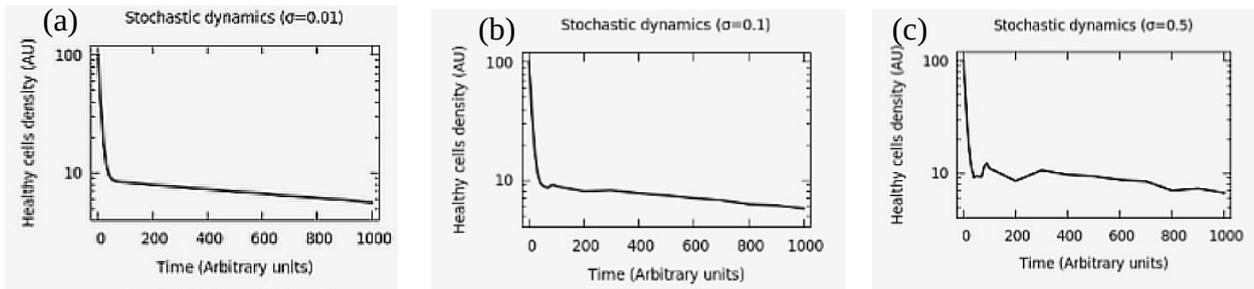


Figura 5.4 (a) Resultado da simulação estocástica 1 do Modelo Comunicação, (b) Resultado da simulação estocástica 2 do Modelo Comunicação e (c) Resultado da simulação estocástica 3 do Modelo Comunicação. O nível de ruído foi aumentando da Simulação 1, 2 e 3, nesta ordem.

6. Discussão

A curva de sobrevivência da simulação preliminar do Modelo Memória determinístico mostrou que o comportamento das curvas apresentadas em Wodarz (2016) como a Figura 1(a), a qual foi parcialmente reprodutível (Fig. 5,1 - a), o tempo final da simulação aplicado, isto é, $t = 400$ e $t = 4000$. O gráfico na literatura (Wodarz et.al., 2014) apresenta o equilíbrio estável no qual a população saudável chega a anular, a qual não conseguimos reproduzir. A parte que reproduzimos, no entanto, preservou as seguintes características da curva na literatura (Wodarz et.al., 2014); a fase inicial de queda acentuada e momentânea da densidade da população X , a partir do valor inicial $X_0 = 100$, seguida pela rápida e pequena recuperação da densidade assim com na Figura 4 .i na literatura. O motivo de não conseguirmos a reprodução da região do equilíbrio estável foi o tempo de simulação menor que adotamos, em comparação ao que foi usado na literatura, $t = 40000$. Outro resultado posteriormente obtido e apresentado com gráfico (Fig. 5.2 (a) e (b)), sobreposto aos resultados da simulação da versão estocástica do mesmo modelo , no entanto, mostrou perto de $X=0$ no final da simulação.

Os resultados da simulação estocástica do Modelo Memória apresentaram a fase inicial de decaimento rápido da densidade de X seguida pela fase lenta também, mas essa fase lenta foi estendida, o que pode ser considerada como surgimento de uma fase do estado quasi-estacionário contrastando ao fato de que essa fase não tinha aparecido na simulação do modelo determinístico.

A curva de sobrevivência celular do Modelo Comunicação determinístico não reproduziu na simulação preliminar (Fig. 5.3), a região final na qual a população de células saudáveis se anula, mas fora essa região, o comportamento da curva é qualitativamente mantido em relação ao gráfico apresentado como “*Figure 1-(b)*” na literatura (Wodarz et.al., 2016). Essa situação foi melhorada com uma simulação realizada posteriormente, com $t = 9000000000$, chegando a $x \approx 1,370$. Devido ao tamanho grande dos dados obtidos, não foi possível obter os gráficos produzidos computacionalmente.

7. Conclusão

Embora as simulações da versão estocástica do Modelo Memória resultassem em curvas qualitativamente diferente, o mesmo não foi observado para o Modelo Comunicação. A versão estocástica do Modelo Comunicação apresentou o efeito da introdução do ruído apenas na forma de aparecimento da rugosidade, sem alterar o comportamento básico da curva do modelo original determinístico, mantendo duas fases de decaimento da densidade populacional; a primeira fase imediata e rápida e a segunda lenta. Essa rugosidade ficou gradativamente mais evidente ao passo que aumentamos os valores do ruído, inicialmente de $\sigma = 0,01$, depois para $\sigma = 0,1$ e, por último, para $\sigma = 0,5$.

Ressaltamos que as curvas de sobrevivência não representam as dinâmicas da sobrevivência da população X propriamente dita; o que essas curvas representam é a contribuição do processo intercelular sem o processo intercelular (Modelo Memória), e a contribuição do processo intercelular sem o processo intracelular (Modelo Comunicação).

Esses resultados precisam ser validados realizando as mesmas simulações repetidas vezes e com métodos diferentes. No entanto, os resultados obtidos são indicativos de que os processos intracelulares podem ser influenciados pelo ruído. O processo intracelular de reparo de DNA danificado pela radiação ionizante parece beneficiar-se da existência do ruído, no sentido de manter por um tempo a densidade das células saudáveis dentro da população celular, como pode ser observado na extensão do estado quasi-equilíbrio representado na forma de cela (Fig.5.2). Considerando que as curvas obtidas por Wodarz et.al.(2016) são baseados nos dados de ensaios *in vitro*, é

possível que alguma(s) taxa(s) de transição do Modelo Memória precise(m) ser reconsideradas.

A partir da obtenção dos resultados qualitativamente diferentes entre o modelo determinístico e a versão estocástica, que foram gerados na simulação, podemos concluir que a escolha da abordagem determinística ou estocástica deve ser feita criticamente, no sentido priorizar a abordagem estocástica quando for possível e desejada.

Referências

Bakkenist CJ, Kastan MB. DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation. *Nature*. 2003; 421(6922): 499-506.

Bodgi L, Granzotto A, Devic C, Vogin G, Lense A, Bottollier-Depois JF., *et al.* A single formula to describe radiation-induced protein relocalization: towards a mathematical definition of individual radiosensitivity. *J Theor Biol*. 2013; 333: 135-145.

Bodgi L, Canet A, Granzotto A, Britel M, Puisieux A, Bourguignon M, *et al.* L'énigme de interprétation biologique du modèle linéair-quadratique enfin résolue? Une syntèse pour les non-mathématiciens. *Cancer Radiother*. 2016:314-321.

Bodgi L, Canet A, Pujo-Menjouet L, Lesne A, Victor JM, Foray N. Mathematical models of radiation action on living cells: From the target theory to the modern approaches. A historical and critical review. *J Theor Biol*. 2016; 394:93-101.

Bodgi L, Foray N. The nucleo-shuttling of the ATM protein as a basis for a novel theory of radiation response: Resolution of the linear-quadratic model. *Int J Radiat Biol*. 2016;92(3):117-131.

Born M. *Atomic Physics*. 8a ed. New York: Dover Publications, Inc.; 1989.

Chesman C, Macedo E. *Física Moderna: experimental e aplicada*. São Paulo: Editora Livraria da Física; 2004.

Cho LC, Glastein E. Radiation injury. In: Fauci AS, Harrison TR, *et al.* *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 14th ed. New York: McGraw-Hill; 1998. 2559-2564.

Crowther LA. Some considerations relative to the action of X-rays on tissue cells. *Proc.R.Soc. Lond*. 1924: B96; 207-211.

Davis AJ, Chen DJ. DNA double strand break repair via non-homologous end-joining. *Transl Cancer Res*. 2013 Jun; 2(3): 130–143. doi: 10.3978/j.issn.2218-676X.2013.04.02

De Arias G. *Em 1953 foi descoberta a estrutura do DNA: etapas de um grande avanço científico* [Portaria na internet]. Passo Fundo: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BR); 2014. [Acesso em 03 jun 2019]. Disponível em: http://www.cnpt.embrapa.br/biblio/do/p_do44.pdf

Einstein A. Ist die Trägheit eines Körpers von seinem Energieinhalt Abhänging? 1905. *Annalen der Physik* 18, 639–641.

Elowitz MB, Levine AJ, Siggia ED, Swain PS. Stochastic gene expression in a single cell. 2002. *Science* 297, 1183-1186.

Figueiredo DG, Neves AF. *Equações Diferenciais Aplicadas*. Rio de Janeiro: Instituto de Matemática Pura e Aplicada - CNPq; 1997.

Freitas MB, Medeiros RB, Segreto HR. Radiações Não Ionizantes: Características Físicas e Aspectos Biológicos, In: Hoff PMG. *Tratado de Oncologia*. São Paulo: Atheneu; 2013. v.1. 131-139.

Fundo Nacional de Desenvolvimento da Educação (BR), Ministério da Ciência e Tecnologia (BR) e Ministério da Educação (BR). *Física Vivencial* [Portaria na internet]. [Acesso em 05 abr 2019]. Disponível em: http://www.fisicavivencial.pro.br/sites/default/files/sf/721SF/08_avaliacao_01.htm

Gardiner C. *Stochastic Methods*. 4th ed. Berlin: Springer; 2009.

Gerthsen C, Kneser, Vogel H. *Física*. 2a ed: Lisboa; Fundação Calouste Gulbenkian 1998.

Glasser O, Quimby EH, Taylor LS, Weatherwax JL, Morgan RH. *Physical foundations of radiology*. New York: P.B. Hoeber; 1952.

Goodhead D. The initial physical damage produced by ionizing radiations. *Int J Radiat Biol*. 1989; 56(5): 623-634.

Halliwell B, Gutteridge JMC, *Free radicals in biology and medicine*. 3d ed. Oxford: Oxford science publications; 1999.

Illakis G. Radiation-induced potentially lethal damage: DNA lesions susceptible to fixation. *Int J Radiat Biol Relat Stud Phys Chem Med*. 1988; 55: 541-584.

Joubert A, Gamo K, Bencokova Z, Gastaldo J, Rénier W, Chavaudra N et al. DNA double-strand break repair defects in syndromes associated with acute radiation response: at least two different assays to predict intrinsic radiosensitivity? *Int J Radiat Biol*. 2008; 84:1-19

Kellerer AM, Rossi HH. The theory of dual radiation action. *Cur Top Radiat Res*. 1974;8:85-158.

Lea DE. *Actions of radiations on living cells*. Cambridge University Press: London; 1946.

Lushchak VI. Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its classification. *Chem Biol Interact*. 2014;224:164-175.

National Data Center in Brookhaven National Laboratory : A passion for discovery (EUA) [Portaria na internet]. US Department of Energy (EUA). [Acesso em 13 jun 2019]. Disponível em: <https://www.bnl.gov/world/>

Noda A, Hirai Y, Hamasaki K, Mitani H, Hakamura N, Kodama Y. Unrepairable DNA double-strand breaks that are generated by ionising radiation determine the fate of normal human cells. *J Cell Sci*. 2012; 125: 5280-5287.

Okuno E, Yoshimura E. *Física das Radiações*. São Paulo: Oficina dos Textos; 2010.

Ozbudak, EM. Thattai M. Kurtser I. Grossman AD. Van Oudenaarden A. Regulation of noise in the expression of a single gene. 2002. *Nat. Genet*. 31, 69-73.

Prass AR. *Física Net :o site da física* [Portaria na internet]. [Acesso em 13 nov. 2018].

Disponível em:

https://www.fisica.net/relatividade/dependencia_da_massa_em_relacao_a_velocidade.php

Rosenfeld N, Young JW, Alon U, Swain PS, Elowitz MB. Gene regulation at the single-cell level. *Science*. 2005. 307, 1962-1965.

Russell WL, Russell LB, Kelly EM. Radiation dose rate and mutation frequency. *Science*. 1958; 128(3338): 1546-1550.

Sabino AU, Vasconcelos MF, Sittoni MY, Lautenschlager WW, Queiroga AS, Morais MC, et al. Lessons and perspectives for applications of stochastic models in biological and cancer research. *Clinics*. 2018; 73: 1-8.

Sangar K, Cowan R, Margison GP, Hendry JH, Clarke NW. An evaluation of gemcitabines differential radiosensitising effect in related bladder cancer cell lines. *British Journal of Cancer*. 2004; 90: 542–554.

Shibata T, Fujimoto K. Noisy signal amplification in ultrasensitive signal transduction. *PNAS*. 2005; 102 (2): 331-336.

Smith TA, Kirkpatrick DR, Smith S, Smith TK, Pearson T, Kailasam A et. al. Radioprotective agents to prevent cellular damage due to ionizing radiation. *J Transl Med*. 2017;15(1):232.

Tauhata L, Salati LPA, Di Prinzio R, Di Prinzio MAAR. *Radioproteção e dosimetria: Fundamentos*. 9ª revisão. Rio de Janeiro: Instituto de radioproteção e dosimetria, Comissão Nacional de Energia Nuclear; 2013. 115.

Tochner ZA, Glastein E. In: Braunwald EAS, Fauci AS, Houser SL, Longo DL, Kasper DL, Jameson JL. *Harrison Medicina Interna*. 17a ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana do Brasil; 2008. 1358-1364.

Touitou Y, Selmaoui B. The effects of extremely low-frequency magnetic fields on melatonin and cortisol, two marker rhythms of the circadian system. *Dialogues Clin Neurosci*. 2012 Dec; 14(4): 381–399

Wodarz D, Sorace R, Komorova LN. Dynamics of Cellular Responses to Radiation. *PloS Comput Biol*. 2014; 10: 1-10.