

## Explorando o Potencial da Molécula $IP_3$ para a Comunicação em Nanorredes

Ligia F. Borges<sup>1</sup>, Michael T. Barros<sup>2</sup>, Michele Nogueira<sup>1</sup>

<sup>1</sup>NR2 – Universidade Federal do Paraná (UFPR)

<sup>2</sup>TSSG – Waterford Institute of Technology (WIT)

{ligia,michele}@ufpr.br, mbarros@tssg.org

**Abstract.** *Advances in bioengineering and nanotechnology have allowed the emergence of nanometer-sized devices, e.g., synthetic nanomachines, nanoantennas and nanoinjectors, able of detecting and actuating their environment. However, despite necessary, it is a big challenge to master the communication among them. The conventional electromagnetic communication is not a direct choice for nanonetworks in some specific medium and due to their scale. Hence, researchers have explored molecular communication. Particularly, this paper investigates the potential of the Inositol Triphosphate ( $IP_3$ ) molecule for data communication between nanodevices. We evaluate the space-time concentration of the  $IP_3$  molecule and how intracellular signaling influences over it in neuron cells (astrocytes). Compared to the calcium molecule performance, results from gain and channel communication are promising and assist in a further understanding of how to manage extracellular data transmission.*

**Resumo.** *Os avanços em bioengenharia e nanotecnologia proporcionaram o surgimento de dispositivos de dimensões nanométricas, ex. a nanomáquina sintética, as nanoantenas e os nanoinjetores, capazes de detectar e agir sobre seu ambiente. Entretanto, apesar de necessário, é um grande desafio prover a comunicação sintética entre eles. A comunicação eletromagnética convencional não é necessariamente uma opção para as nanorredes em alguns meios de atuação e diante da sua escala. Assim, pesquisadores vêm explorando a comunicação molecular. Particularmente, este artigo investiga o potencial da molécula Inositol Trifosfato ( $IP_3$ ) para a comunicação de dados entre nanodispositivos. Comparado com o desempenho da molécula de cálcio, os resultados para métricas como ganho e a capacidade de comunicação do canal são promissores e colaboram para um detalhado entendimento de como gerenciar a transmissão de dados em um ambiente extracelular.*

### 1. Introdução

Os avanços em nanotecnologia estão permitindo diferentes áreas de pesquisa explorar o processamento e a manipulação de materiais em escala nano. Nesta escala, os dispositivos variam de 0,1 a 10 micrômetros de tamanho, construídos à escala nanométrica. Recentemente, a comunidade científica observou o advento da nanomáquina sintética [Van Noorden and Castelvechi 2016], dos protótipos de nanoantenas [Dorh et al. 2017], e dos nanoinjetores [Shekaramiz et al. 2016], utilizados para modificar geneticamente as células. Da mesma forma, os pesquisadores vêm propondo o desenvolvimento de nanodispositivos (nanobaterias, nanomáquinas, nanosensores) para

diversas aplicações, tais como a entrega automatizada de fármacos dentro do corpo, a detecção de células tumorais na medicina, o controle de qualidade na indústria e o monitoramento ambiental da água, solo e ar.

Apesar de todos esses avanços, as propriedades natas da nanoescala limitam o potencial dos nanodispositivos quando atuam isoladamente. Individualmente, esses dispositivos executam somente funções muito simples, além de possuírem restrições no processamento, armazenamento de dados e energia [Peplow 2015]. Uma forma de contornar essas limitações é viabilizar a comunicação intencional e controlada de dados entre as nanomáquinas formando uma nanorede, o que permite o trabalho coordenado e a realização de tarefas mais complexas. Uma evolução natural para prover esta comunicação de dados seria através de ondas eletromagnéticas, tal como ocorre nas redes de sensores, Internet das Coisas e outras. Entretanto, essa radiação no corpo humano ainda é uma questão em aberto. Assim, os pesquisadores vêm investigando formas mais eficientes e seguras para a comunicação de dados entre os nanodispositivos, tais como a comunicação molecular ou a comunicação por ondas acústicas. Isto implica na revisão e na redefinição do conceito de redes de comunicação a fim de acomodar a nova tecnologia [Barros et al. 2018a] e explorá-la de forma vantajosa.

Abordagens promissoras para a engenharia da comunicação de dados nas nanorredes são inspiradas nos sistemas biológicos [Nakano et al. 2013, Barros et al. 2018a]. Um exemplo é a troca de informação entre células que baseia-se na transformação, propagação e recepção de moléculas por meio de processos bioquímicos e físicos. Observa-se que, nas células, componentes naturais desempenham papéis fundamentais para a comunicação de dados, tais como transmissores, receptores, mecanismos de codificação, capacidade de memória, entre outros. Neste sentido, diferentes áreas como a física, biotecnologia, nanotecnologia e a tecnologia da informação vêm reunindo esforços para analisar, modelar e, posteriormente, controlar o comportamento das comunicações moleculares. Entender as similaridades entre a interação das células biológicas e um sistema de comunicação de dados traz oportunidades para o desenvolvimento da comunicação sintética entre as nanomáquinas [Walsh et al. 2008]. Este entendimento serve de modelo no projeto de uma comunicação de dados eficiente em uma nanorede dentro do corpo humano.

Este trabalho apresenta uma contribuição relevante para o projeto de comunicação em nanorredes biológicas através de estímulos por moléculas de Inositol Trifosfato ( $IP_3$ ). Nossa revisão de literatura mostra que em geral, enfoca-se na comunicação molecular baseada em sinalização de cálcio ( $Ca^{2+}$ ). Esta tem chamado atenção de muitos pesquisadores, pois as moléculas de  $Ca^{2+}$  controlam ou modulam diversos processos no corpo, como a neuroplasticidade, a contração muscular, a secreção de hormônios, o crescimento, a proliferação, a diferenciação e a morte celular [Politi et al. 2006]. Sobretudo, estes processos dependem basicamente do aumento da concentração de  $Ca^{2+}$  que pode ser causado pela entrada da molécula do meio extracelular através dos canais da membrana plasmática ou da sua liberação a partir das reservas intracelulares. Entretanto, em muitos tipos de células, o mecanismo predominante de liberação de  $Ca^{2+}$  é a estimulação via  $IP_3$ . Neste modelo de transdução de sinal, após o estímulo de  $IP_3$ , a informação é codificada através da liberação em diferentes frequências e amplitudes das ondas de cálcio. Esta informação por sua vez é decodificada no receptor e as reações são desencadeadas pelo próprio sinal molecular [Prank et al. 2000]. Uma diversidade de patologias tem sido relacionada com a

morte celular indevida e a sinalização anormal de  $IP_3/Ca^{2+}$ , incluindo a insuficiência cardíaca e doenças cerebrais (ex., isquemia, doença de Alzheimer) [Berridge 2012]. Como o  $IP_3$  também controla indiretamente o influxo de íons de  $Ca^{2+}$  no retículo endoplasmático e seu armazenamento, entender o seu comportamento para a comunicação molecular abre novos caminhos não apenas para a comunicação de dados dentro do corpo, mas também para a saúde. Além disso, a caracterização da sinalização de  $IP_3/Ca^{2+}$  em uma célula pode guiar a concepção de nanomáquinas capazes de controlar e estimular o processo de sinalização para comunicação intracelular, assim como fornecer a base para o projeto de uma nanorede com comportamento de comunicação incorporado no tecido celular.

Embora existam consideráveis pesquisas sobre a sinalização de  $Ca^{2+}$  para comunicação molecular em nanorredes biológicas, a molécula de  $IP_3$  ainda é pouco explorada. Visando ao desenvolvimento de uma compreensão sobre a transmissão de dados em ambiente molecular, é necessário analisar o uso desta molécula do ponto de vista da transmissão de dados. As métricas ganho e a capacidade de comunicação do canal são calculadas para uma análise da dinâmica da concentração espaço-temporal de  $IP_3$  e como ela é influenciada pelo processo de sinalização intracelular. A investigação do comportamento da comunicação foi aplicada no contexto de um tecido celular do astrócito, uma célula abundante no sistema nervoso central. O modelo possui reações celulares desencadeadas por um algoritmo estocástico acoplado com processo de difusão intercelular e integra o modelo das junções comunicantes de Kilinc e Akan [Kilinc and Akan 2013] para simular o comportamento que permite a comunicação entre pares de células. Os resultados obtidos foram comparados com o desempenho da molécula de cálcio, por ser a mais utilizada.

Este artigo procede da seguinte forma. A Seção 2 discute os trabalhos relacionados. A Seção 3 apresenta os fundamentos sobre a sinalização de  $IP_3$ . A Seção 4 detalha a metodologia de avaliação, o modelo de comunicação molecular e discute os resultados obtidos. A Seção 5 apresenta as conclusões e direções futuras.

## 2. Trabalhos Relacionados

As comunicações dentro de tecidos do corpo humano têm sido estudadas desde a proposta inicial do paradigma de comunicações moleculares para nanorredes biológicas. [Nakano et al. 2005] imaginaram que os processos de sinalização das células do corpo humano poderiam ser usados para codificar informações baseado na concentração dessas moléculas. Eles propuseram o uso da molécula de cálcio, pois a comunidade científica da Biologia identificou essa molécula como a mais abundante no corpo humano [Decrock et al. 2013]. Desta forma, os pesquisadores se concentraram em estudar como usar o cálcio para a implementação das comunicações moleculares nos tecidos do corpo humano. Esse tipo de comunicação natural permite a propagação de moléculas dentro dos tecidos, as quais podem ser geradas por meio de estimulação química, eletro ou mecânica, bem como ser detectada por meio de mecanismos de sensoriamento em níveis extremamente baixos de concentração de moléculas.

Em geral, as pesquisas sobre a comunicação molecular baseada em cálcio se concentram na camada física, tomando como referência a arquitetura em camadas TCP/IP. Os primeiros trabalhos demonstraram que os esquemas de codificação de bits por concentração de moléculas funcionam de maneira eficaz [Nakano et al. 2007]. Assim, iniciou-se um longo período, ainda em vigor, em que pesquisas focam na modelagem do canal de

comunicação [Barros et al. 2018a]. Em [Barros et al. 2015], os autores demonstraram a complexidade e a diversidade de canais de comunicação baseada na sinalização de cálcio. Foram estudados a capacidade, o ganho, o atraso e a interferência intracelular em três tipos distintos de tecidos: os astrócitos, os musculares lisos e os epiteliais. No mesmo trabalho, os autores também focaram em uma modelagem considerando a simulação das junções comunicantes e do ruído. Em [Barros et al. 2018b], os autores introduziram diferentes topologias de rede e como elas podem alterar a propagação do cálcio dentro dos tecidos. Os autores caracterizaram as conexões dos astrócitos na região do somatossensoria córtex do cérebro. Eles concluíram que o tipo de rede com melhores desempenhos são o da topologia Erdős Reyní, com melhores resultados nas métricas ganho e atraso. Recentemente, [He et al. 2018] demonstraram como o esquema de modulação em frequência pode ser estocasticamente direcionado baseando-se na manipulação e no controle das junções comunicantes dos astrócitos.

O cálcio é uma molécula muito importante para o corpo humano, pois ele controla a morte e a separação das células. O cálcio está diretamente relacionado com uma variedade de doenças, pois elas afetam o desempenho dos processos de comunicação natural das células. Em [Barros et al. 2018b], os autores modelaram como a doença de Alzheimer afeta as comunicações dos astrócitos em termos de propagação, ganho e atraso. O cálcio já foi utilizado em algoritmos de comunicação adaptativa para nanorredes [Barros et al. 2014]. Estes podem ser estendidos para detectar a presença de doenças, como o Alzheimer e outras. Apesar desses esforços, a comunidade científica ainda não apresenta uma alternativa para o uso da molécula de cálcio para comunicações eficientes. Desta forma, se faz necessária uma investigação criteriosa sobre quais moléculas podem de fato ser usadas, para que elas se tornem opções futuras para transmissão de sinais controlados dentro de tecidos e que alavanquem as aplicações existentes. Desta forma, este trabalho contribui nesta direção com o estudo da molécula  $IP_3$ .

### **3. As Nanorredes e a Comunicação Molecular**

Esta seção apresenta uma visão geral das nanorredes e da comunicação molecular. A seguir, descreve-se o sistema de comunicação molecular com suas entidades (nanomáquina transmissora, canal de comunicação e nanomáquina receptora) fazendo um paralelo com um sistema de comunicação de dados convencional. Na sequência, detalham-se o comportamento das células astrócitos, sua importância, e o modelo de representação para a atuação da molécula  $IP_3$ .

#### **3.1. Visão geral das nanorredes e da comunicação tratada**

Este trabalho foca na comunicação entre dois ou mais nanodispositivos através da comunicação molecular dentro dos tecidos. A comunicação molecular em células está fundada em caminhos de sinalização, i.e., cadeias de reações químicas que processam sinais de informação moduladas por características químicas, ex. concentração de moléculas, tipo e estado de energia, para propagá-los de uma fonte (ou nanomáquina transmissora) para um destino (ou nanomáquina receptora). Como um sistema de comunicação de dados convencional, um sistema de comunicação molecular organiza-se em três blocos principais: nanomáquina transmissora, canal molecular e nanomáquina receptora, conforme a Figura 1. A nanomáquina transmissora codifica e envia a informação para uma nanomáquina receptora, que realizará a decodificação da informação. O canal molecular é o meio pelo qual a informação se propaga.

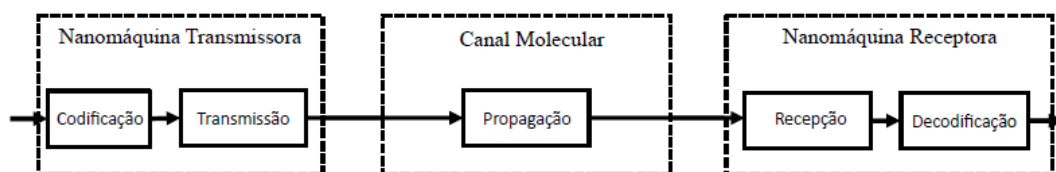


Figura 1. Visão geral de um sistema de comunicação molecular

A nanomáquina transmissora é uma célula sintética dependente das propriedades do canal molecular para definir como as informações são codificadas. Neste trabalho, a informação é codificada em termos da concentração de uma determinada molécula. As nanomáquinas transmissoras usam da modulação OOK (*on-off-shift keying*) para transmitir moléculas em períodos de bit 1 (com uma determinada concentração) e não transmitir moléculas em períodos de bit 0 (concentração também é zero).

A informação codificada é propagada em um canal de comunicação após a transmissão. O canal molecular pode ser passivo ou ativo. No processo passivo, as moléculas se propagam por difusão ou fenômenos afins, nos quais elas seguem o movimento aleatório *random-walk* entre as nanomáquinas transmissora e receptora (ex., difusão facilitada, microfluidos, canais iônicos, canais mecânico-sensitivos). Quando um terceiro agente (propagador) é o responsável pelo transporte das moléculas de informação entre a nanomáquina transmissora e a receptora, encontra-se um processo ativo (ex., bactéria e nanomotores). Por usar tecidos do corpo humano como o canal de comunicação, este trabalho segue a propagação passiva, onde codifica-se a informação pela concentração da molécula de cálcio na nanomáquina transmissora, as quais são propagadas no tecido pela sequência de eventos de reação-difusão, formando o caminho da sinalização do cálcio. Esse mecanismo dita a propagação espaço-tempo no tecido até a nanomáquina receptora e deve ser precisamente modelado em prol da quantificação do desempenho do canal.

A nanomáquina receptora é uma célula sintética que recebe as moléculas com informação e posteriormente a decodifica. Dentro da célula, existe um conjunto de receptores responsáveis pela adesão distribuída de moléculas e pela quantificação da concentração de moléculas recebidas. Assume-se esse processo por mérito de simplicidade no artigo. A decodificação se baseia na concentração, onde um limiar de concentração é definido e qualquer valor acima dele é considerado como bit 1 (ou bit 0, em caso contrário).

Neste trabalho, o caminho de sinalização por cálcio é um mecanismo biofísico permitindo a codificação, a propagação e a decodificação de informações digitais. A sinalização por Cálcio é um mecanismo natural que regula funções fisiológicas em diversos tecidos do corpo humano, incluindo proliferação, divisão, e morte das células. Pode-se usar desse mecanismo com estímulos na célula para gerar sinais de cálcio bem como binários sensores para ler esses sinais. Estes servem de evidências e bases teóricas para a criação desse tipo de comunicação. A técnica de modulação e codificação por OOK é implementada neste mecanismo. A propagação do  $Ca^{2+}$  tem dois estágios de sinalização: intracelular e intercelular. Dentro da célula (intracelular), existe uma quantidade de reações químicas para regular a concentração de cálcio. A comunicação de célula pra célula (intercelular) é feita quando as junções comunicantes se abrem e as moléculas de cálcio se propagam do citosol de uma célula para a outra. Os detalhes da modelagem desses mecanismos são apresentados nas seções seguintes.

### 3.2. Os Astrócitos e o IP<sub>3</sub>

Os astrócitos são células gliais (i.e., compõem o tecido nervoso junto com os neurônios) e constituem aproximadamente metade das células do cérebro humano. Uma grande quantidade de evidências experimentais corrobora que os astrócitos participam da modulação e sincronização da atividade neuronal sináptica e das funções do sistema nervoso central que eram consideradas exclusivas de neurônios. Estudos demonstram que os astrócitos propagam sinais intercelulares de  $Ca^{2+}$  por distâncias relativamente longas em resposta à estimulação por IP<sub>3</sub> [Khakh and Sofroniew 2015], por isto este trabalho se propõe a investigar o uso do IP<sub>3</sub> para comunicação sintética molecular no contexto dessas células. A propagação, neste caso, compreende duas etapas: a sinalização intracelular e a sinalização intercelular. A primeira resulta da estimulação interna via IP<sub>3</sub> que leva à geração e/ou amplificação da concentrações de  $Ca^{2+}$  no citosol (líquido que preenche o interior do citoplasma da célula). A segunda envolve a propagação de  $Ca^{2+}$  citosólico em todo o tecido celular. A difusão de íons  $Ca^{2+}$  e moléculas de IP<sub>3</sub> é mediada por aberturas que conectam duas células pela área citosólica, também chamadas de junções comunicantes.

Uma junção comunicante é formada por duas partículas cilíndricas (conexons), uma em cada par de célula. Cada conexon é composto de seis proteínas conexas. As junções comunicantes possuem propriedades biofísicas, como o controle de comporta e condutância, que permitem ou impedem o movimento de moléculas, como o IP<sub>3</sub>, e íons, como  $Ca^{2+}$ , diretamente do citosol de uma célula para outra [Decrock et al. 2013]. Dessa forma, uma corrente gerada em qualquer célula poder fluir ao longo da junção comunicante e estimular outra célula a realizar uma determinada ação.

Com base em observações experimentais, [Lavrentovich and Hemkin 2008] propuseram um modelo para descrever as oscilações do  $Ca^{2+}$  em astrócitos. O modelo é composto pela representação de áreas de armazenamento (“pool”) que incluem a concentração de  $Ca^{2+}$  no citosol ( $C_a$ ) (Eq. 1); a concentração de  $Ca^{2+}$  no retículo endoplasmático (estruturas membranosas compostas de sacos achatados e localizados no citosol da célula) ( $E_a$ ) (Eq. 2); e a concentração de IP<sub>3</sub> ( $I_a$ ) (Eq. 3). As equações a seguir definem matematicamente essas concentrações:

$$\frac{dC_a}{dt} = \sigma_0 - k_0 C_a + \sigma_1 - \sigma_2 + k_f (E_a - C_a) \quad (1)$$

$$\frac{dE_a}{dt} = \sigma_2 - \sigma_1 - k_f (E_a - C_a) \quad (2)$$

$$\frac{dI_a}{dt} = \sigma_3 - k_d I_a \quad (3)$$

Onde,  $\sigma_0$  é o fluxo de cálcio do espaço extracelular para o citosol;  $k_0 C_a$  é a taxa de efluxo de cálcio do citosol para o espaço extracelular;  $k_f (E_a - C_a)$  é o fluxo de cálcio do retículo endoplasmático para o citosol; e  $k_d I_a$  é a degradação do IP<sub>3</sub>.

O termo  $\sigma_1$  (Eq. 4) modela o fluxo de cálcio do retículo endoplasmático para o citosol via estimulação de IP<sub>3</sub>. Este mecanismo afeta diretamente a concentração de cálcio no citosol. Ele é definido como:

$$\sigma_1 = 4 \times \sum M_3 \left( \frac{k_{c_1}^n C_a^n}{(C_a^n + k_{c_1}^n)(C_a^n + k_{c_2}^n)} \right) \times \left( \frac{I_a^m}{k_{I_a}^m + I_a^m} \right) (E_a - C_a) \quad (4)$$

Onde,  $\sum M_3$  é o valor máximo de fluxo de cálcio no citosol;  $k_{c_1}^n$  e  $k_{c_2}^n$  são as variáveis de ativação e inibição para do  $IP_3$ ;  $I_a$  é a concentração de  $IP_3$  na célula;  $m$  e  $n$  são os coeficientes de Hill [Goldbeter et al. 1990]. Este coeficiente é amplamente utilizado na biologia molecular para descrever o grau de cooperatividade que um processo biológico tem sobre outro. Um coeficiente Hill de valor 1 indica ligação independente (ausência de cooperatividade) enquanto maior que 1 indica cooperatividade positiva.

O efluxo de cálcio do retículo sarco-endoplasmático para o retículo endoplasmático é modelado como  $\sigma_2$ , como apresenta a Eq. 5:

$$\sigma_2 = \sum M_2 \frac{C_a^2}{k_2^2 + C_a^2} \quad (5)$$

Onde,  $\sum M_2$  é o fluxo máximo de cálcio nesse processo. Finalmente,  $\sigma_3$  descreve a produção de  $IP_3$  pela proteína fosfolipases C (PLC):

$$\sigma_3 = \sum p \frac{C_a^2}{k_p^2 + C_a^2} \quad (6)$$

Onde  $\sum p$  é o fluxo máximo de  $Ca^{2+}$  nesse processo e  $p$  é o coeficiente de Hill. Os valores dos parâmetros utilizados para a modelagem da comunicação são apresentados na Tabela 1.

## 4. Avaliação de Desempenho

Esta seção descreve a metodologia empregada para avaliar por simulação o potencial da molécula  $IP_3$  na comunicação em nanorredes biológicas. Descrevem-se o cenário empregado nas simulações, os parâmetros e os limiares definidos. Para um completo entendimento do cenário de avaliação seguido é importante entender a modelagem das células astrócitos em três dimensões, suas junções comunicantes, e o processo de geração de  $IP_3$ .

### 4.1. Cenário e Parâmetros

O modelo analítico da célula astrócito segue três dimensões (3D) com sinalização intracelular e intercelular. Como mostrado na Figura 2 para representar o tecido celular, considera-se uma área (A) composta de células. A distribuição das células na área segue uma organização em grade de três dimensões. Cada célula  $c_{i,j,k}$  é diferenciada neste modelo pelos seus índices  $i$ ,  $j$  e  $k$ , onde  $i$  varia de 1 a  $I$ ;  $j$  de 1 a  $J$ ; e  $k$  de 1 a  $K$ , sendo  $I$ ,  $J$  e  $K$  a sua posição na grade 3D (matriz). As células podem se conectar a no máximo seis outras células vizinhas. As conexões entre as células seguem o estudo das topologias encontradas em astrócitos [Lallouette et al. 2014].

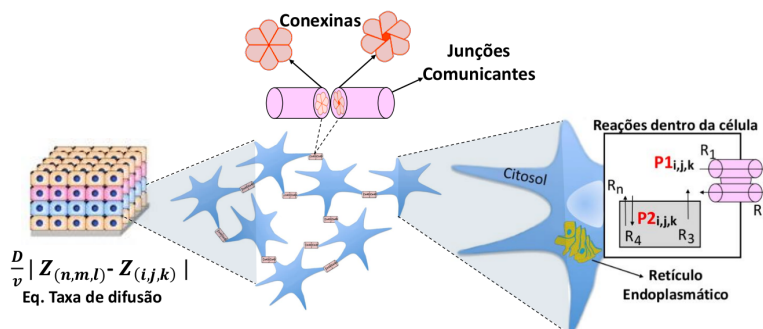


Figura 2. Representação de um tecido celular de multicamadas, onde cada camada contém uma matriz de células. Ambas as reações (P1 e P2) dentro das células e o processo de difusão para as células vizinhas são mostrados.

Considerado que cada célula contém um conjunto de reações internas (modeladas na Subseção 3.2) de *pools* P1 e P2, sendo P1 o transporte do citosol para espaço extracelular e P2 a difusão do retículo endoplasmático para o citosol (Figura 2). O modelo estocástico de concentração (descrito posteriormente) calcula os valores de cada concentração de moléculas (*pool*) ao longo do tempo e executa as reações. O *pool* será negativamente ou positivamente afetado por uma constante  $\alpha$  quando uma reação é executada. A difusão molecular (Eq. 7) segue o modelo de [Nakano and Liu 2010] que captura a dinâmica espaço-temporal da sinalização intercelular, utilizando a diferença entre a concentração de moléculas entre as células, como:

$$Z\Delta(i, j, k, n, m, l) = \frac{D}{v} (|Z_n, m, l - Z_i, j, k|) \times p(\cdot) \quad (7)$$

Em que  $Z\Delta(i, j, k, n, m, l)$  é a diferença de concentração de moléculas entre as células, sendo  $(i, j, k)$  a posição da célula origem e  $(n, m, l)$  a posição final para esta comunicação. Este valor é definido por  $\frac{D}{v} (|Z_n, m, l - Z_i, j, k|)$  em que  $D$  é o coeficiente de difusão;  $v$  é o volume da célula;  $(|Z_n, m, l - Z_i, j, k|)$  é a diferença de concentração de moléculas entre as células origem e fim, e  $p(\cdot)$  representa o valor da probabilidade da junção de comunicação estar aberta ou fechada (selecionada pelo modelo estocástico).

Como mencionado, as células astrócitos se comunicam através de junções comunicantes (canais que conectam diretamente o citoplasma das células). Estas junções são controladas pelas proteínas conexinas. Um modelo estocástico do comportamento dessas junções comunicantes foi introduzido em [Baigent et al. 1997] e é seguido neste trabalho. O modelo considera junções de abertura sensíveis à tensão que assumem dois estados de condutância para cada conexina: aberto com alta condutância e fechado com baixa condutância. Com base nisto, consideram-se quatro combinações de estados de cada conexina: (1) Estado *HH* – ambas as junções estão em um estado de alta condutância (probabilidade denotada como *pHH*); (2) Estado *LH* – uma junção está em um estado de alta condutância e a outra em estado de baixa condutividade (probabilidade *PHL*); (3) Estado *LH* – uma junção está em um estado de baixa condutância e a outra está em um estado de alta condutância (probabilidade *PLH*); (4) Estado *LL* – ambas estão em um estado de baixa condutividade (probabilidade *PLL*). Contudo, como a validação experimental desse modelo indicou baixa probabilidade de ocorrência do estado *LL* [Bukauskas et al. 2001],



este estado não é considerado neste trabalho. Assim, as probabilidades dos estados para as junções comunicantes seguem  $PHH + PHL + PLH = 1$ . Além disso,  $PHH$ ,  $PHL$  e  $PLH$  estão inter-relacionadas da seguinte forma:

$$\frac{d_{PHL}}{dt} = \beta_1(\vartheta_j) \times PHH - \gamma_1(\vartheta_j) \times PLH \quad (8)$$

$$\frac{d_{PLH}}{dt} = \beta_2(\vartheta_j) \times PHH - \gamma_2(\vartheta_j) \times PHL \quad (9)$$

Onde, o controle da permeabilidade das junções comunicantes é mediado pela diferença de potência da membrana de duas células adjacentes ( $\vartheta_j$ ), a taxa de abertura da junção é classificada como  $\gamma$  e a taxa de fechamento como  $\beta$ . Os termos  $\gamma_1(\vartheta_j)$ ,  $\gamma_2(\vartheta_j)$ ,  $\beta_1(\vartheta_j)$   $\beta_2(\vartheta_j)$  são definidos como:

$$\gamma_1(\vartheta_j) = \lambda \epsilon^{-A\gamma(\vartheta_j - \vartheta_0)} \quad (10)$$

$$\gamma_2(\vartheta_j) = \lambda \epsilon^{A\gamma(\vartheta_j - \vartheta_0)} \quad (11)$$

$$\beta_1(\vartheta_j) = \lambda \epsilon^{A\beta(\vartheta_j - \vartheta_0)} \quad (12)$$

$$\beta_2(\vartheta_j) = \lambda \epsilon^{-A\beta(\vartheta_j - \vartheta_0)} \quad (13)$$

Sendo  $\vartheta_0$  a tensão juncional na qual as taxas de abertura e fechamento das junções comunicantes têm o mesmo valor.  $\lambda \epsilon$ ,  $A\gamma$  e  $A\beta$  são constantes que indicam a sensibilidade de uma junção comunicante à voltagem juncional. Para esta análise, foram utilizados valores experimentais da literatura [Valiunas et al. 2000, Baigent et al. 1997].

Por fim, para determinar a concentração de moléculas de cada *pool* ao longo do tempo, as simulações seguem um modelo estocástico baseado no algoritmo de Gillespie [Gillespie 1977]. Este algoritmo é executado para selecionar aleatoriamente uma célula e uma reação interna em cada período de tempo. A execução de cada uma das reações requer um processo de agendamento dividido em duas fases: (i) selecionar uma reação e (ii) selecionar o valor de acréscimo de tempo. Para cada reação, é alocada uma constante de reação ( $a_r$ ). Considerando que  $\tau_0$  é a soma de todos os  $a_r$ , a próxima reação escolhida  $r_u$  será:

$$r_u = MAX \left\{ \frac{a_{r_j}}{\tau_0} = \frac{a_{r_j}}{\sum_{j=1}^{|R|} a_{r_j}} \right\} \quad (14)$$

A escolha de  $r_u$  segue o processo de seleção da roleta, selecionando os eventos probabilisticamente. Contudo, o processo deve satisfazer a seguinte restrição:

$$\sum_{j=1}^{u-1} \frac{\tau_{r_j}}{\tau_0} < \rho_2 \leq \sum_{j=1}^u \frac{\tau_{r_j}}{\tau_0} \quad (15)$$

Em que  $\rho_2$  é uma variável uniforme aleatória com valores no intervalo (0,1). Em cada intervalo de tempo ( $t$ ), um lapso de tempo ( $\delta_t$ ) é derivado com base em  $\tau_0$  representado como:

$$\tau_0 \cdot \delta_t = 1n \frac{1}{\rho_1} \quad (16)$$

Sendo  $\rho_1$  uma variável aleatória uniforme com valores no intervalo (0,1). Este processo termina quando  $\sum_{i=0}^{|\mathcal{T}|} \delta_i < t_0$ , onde  $\mathcal{T}$  é conjunto de  $t$  e  $t_0$  é o tempo máximo de simulação. O resultado de executar uma reação é a mudança dos valores dos *pools*, i.e., de acordo com a equação diferencial, uma constante mudará o valor do conjunto de acordo com o resultado positivo ou negativo da reação executada. A definição dos valores dos parâmetros utilizados para as equações apresentadas nesta seção estão listados na Tabela 1 [Gillespie 1977, Valiunas et al. 2000, Baigent et al. 1997].

Parâmetros	Símbolos	Valores
Concentração de $Ca^{2+}$ no citosol	$C_a$	$0.1\mu M$
Concentração de $Ca^{2+}$ no retículo	$E_a$	$1.5\mu M$
Concentração de $IP_3$	$I_a$	$1.44\mu M$
Fluxo de $Ca^{2+}$ do espaço extracelular para o citosol	$\sigma_o$	$0.05\mu M$
Taxa de efluxo de $Ca^{2+}$ do citosol para espaço extracelular	$k_o$	$0.5s^{-1}$
Vazamento do retículo para o citosol	$k_f$	$0.5s^{-1}$
Degradação do $IP_3$	$k_d$	$0.08s^{-1}$
Fluxo máximo de $Ca^{2+}$ no processo	$\Sigma M_2$	$15\mu M/s$
Fluxo máximo de $Ca^{2+}$ no processo e $p$ coeficiente de Hill	$\Sigma_p$	$0.05\mu M/s$
Fluxo para calculo da produção de $IP_3$	$k_p$	$0.3\mu M$
Hill coeficiente	$n$	2.02
Variável de ativação de $IP_3$	$k_{C1}$	$0.15\mu M$
Variável de inibição de $IP_3$	$k_{C2}$	$0.15\mu M$
Valor máximo do fluxo de $Ca^{2+}$ no citosol	$\Sigma M_3$	$40.0s^{-1}$
Hill coeficiente	$m$	2.02
Coefficiente de difusão $Ca^{2+}$	$D$	$350\mu m^2/s$
Coefficiente de difusão $IP_3$	$D_{IP3}$	$280\mu m \cdot sec^{-2}$
Sensibilidade de uma junção à voltagem juncional	$\lambda$	0.37
Taxa de abertura do gap	$\vartheta_j mV$	90
Tensão juncional	$\vartheta_0 mV$	60
Sensibilidade da junção à voltagem juncional (aberto)	$A\gamma(mV^{-1})$	0.008
Sensibilidade da junção à voltagem juncional (fechado)	$A\beta(mV^{-1})$	0.67

Tabela 1. Parâmetros de Simulação

## 4.2. Resultados

Na maioria das comunicações, os sinais em frequências próximas ou ressonantes interferem na recepção da mensagem causando erros. Estes chamados ruídos são usualmente expressados em decibéis (dB) por meio de uma relação entre a amplitude do sinal principal e o que passa pelo receptor [Gurgel et al. 2014]. Esta unidade de medida pode ser utilizada para expressar em forma logarítmica a tensão, potência, ganho, perda ou frequência de diferentes elementos dentro de um sistema comunicação. Na comunicação molecular, o sinal pode não chegar ao receptor devido à probabilidade de direção de difusão. Para analisar este comportamento, o ganho do canal é calculado utilizando a seguinte fórmula [Rüdiger 2014]:

$$\Gamma(f) = 10 \log \left( \frac{\Gamma_T(f)}{\Gamma_{T_0}(f)} \right), \quad (17)$$

Sendo  $\Gamma_T(f)$  e  $\Gamma_{T_0}(f)$  a média e o valor inicial do pico de concentração.

A Figura 3 mostra o resultado de simulação numérica em Python para o ganho de canal versus a distância (em número de células) em um tecido celular liso de  $3 \times (3 \times 1) \times (20 \times 1)$  (micrômetros) de uma célula astrócito. A frequência de oscilação é de 1 KHz com a concentração Tx de  $2000nM$  e RX de  $600000nM$  para  $IP_3$  e concentração

do Tx de 2000nM e do Rx 100000nM para  $Ca^{2+}$ . Os resultados mostram que conforme a distância entre o transmissor e o receptor aumenta a capacidade do canal é reduzida afetando o desempenho da comunicação. A molécula  $IP_3$  apresentou mais estabilidade, apesar de um menor ganho do canal comparado com o cálcio. Isto é explicado pelo seu mecanismo de difusão (Eq. 7). O coeficiente de difusão do  $Ca^{2+}$  é mais alto ( $350\mu m^2/s$ ), permitindo maior alcance. A difusão menor do  $IP_3$  ( $280\mu m^2/s$ ) afeta negativamente a propagação do sinal quando o receptor está a uma distância superior a seis células.

A capacidade do canal é o limite superior da taxa na qual a informação pode ser transmitida de forma confiável através de um canal de comunicação. Para a investigação da capacidade de informação, definiu-se o seguinte processo de transição de estado: Para o transmissor, a estimulação e a liberação de  $IP_3$  ( $x = x_1$ ) e silêncio ( $x = x_0$ ); Para o receptor, a transição entre ativo ( $y = y_1$ ) e inativo ( $y = y_0$ ), conforme a quantidade de moléculas recebidas. Com base em uma sequência de bits B, o transmissor muda seu estado e o receptor infere a sequência de bits. A transmissão de um bit único é discretizada em intervalos de tempo (duração do período de transmissão). Considerando os altos valores no período de transmissão, o que permite um tempo de sincronização muito mais alto comparado aos sistemas de comunicação convencionais. Assume-se que o receptor e o transmissor estão totalmente sincronizados e cientes de cada transmissão de bit [Kilinc and Akan 2013, Nakano and Liu 2010]. A entropia de Shannon é usada em sistemas biológicos para representar o conteúdo de informação (em bits) em vários processos [Abshire and Andreou 2001].

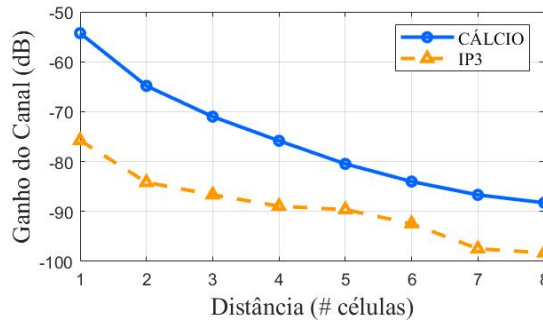


Figura 3. Ganho do canal em função da distância

Figura 3. Ganho do canal em função da distância

$$H(X) = - \sum_{x \in X} P(x) \log_2 P(x) \quad (18)$$

Onde H é a distribuição de probabilidades e X é a quantidade informação associada a uma variável aleatória. Além disso, a entropia condicional é definida com base na distribuição conjunta e na distribuição condicional de x e y:

$$H(X|Y) = \sum_{x \in X} \sum_{y \in Y} p(x, y) \log_2 p(x|y) \quad (19)$$

Onde,  $Y = \{y_0, y_1\}$ . Todas as probabilidades restantes são definidas da seguinte forma:

$$p(x) = p(x = x_0) + p(x = x_1) \quad (20)$$

$$p(y) = (p(y = y_0) + p(y = y_1)) * p(y|x) \quad (21)$$

$$p(y = y_0 | x = x_0) = 1 - p(y = y_1 | x = x_0) \quad (22)$$

$$p(y = y_0 | x = x_1) = 1 - p(y = y_1 | x = x_1) \quad (23)$$

A informação mútua de  $I(X; Y)$  é usada para determinar a dependência entre duas variáveis conforme a equação:

$$I(X; Y) = H(X) - H(X | Y) = \sum_{y \in Y} \sum_{x \in X} p(x) p(y | x) \log_2 \frac{p(y | x)}{p(y)} \quad (24)$$

Utilizou-se a informação mútua  $I(X; Y)$  para analisar a quantidade de informação que é transmitida do transmissor para o receptor. As probabilidades  $p(x)$  e  $p(y)$  representam a probabilidade de cada estado no transmissor ou no receptor, respectivamente. Como o período de transmissão é relativamente grande, os efeitos da memória na transmissão de bits são reduzidos, então assume-se que o canal é sem memória. A capacidade é:

$$C(X; Y) = \max_{p(x)} I(X; Y) \quad (25)$$

A Figura 4(a) apresenta o resultado da capacidade fim-a-fim em função da distância (em número de células). A frequência de oscilação é de 1 KHz com a concentração Tx de  $2000nM$  e RX de  $600000nM$  para  $IP_3$  e concentração do Tx é de  $2000nM$  e do Rx  $100000nM$  para  $Ca^{2+}$ . Nesta análise, a ativação do receptor é mediada por duas variáveis: concentração de moléculas por radiação externa e a concentração interna de moléculas. É possível observar que conforme as moléculas se distanciam do transmissor o valor de concentração diminui. Na simulação o  $Ca^{2+}$  é o mais afetado negativamente pela distância entre células perdendo 63,41% do seu valor inicial enquanto o  $IP_3$  apresentou perda de 33,27% no decorrer da simulação.

Estima-se que este resultado seja devido ao processo de difusão (Eq. 7) e os processos internos de regeneração de  $Ca^{2+}$  devido ao  $IP_3$  (Eq. 3 e Eq. 4). Este eficiente processo de difusão mantém baixa a concentração interna de  $Ca^{2+}$ , enquanto o alto coeficiente de difusão ( $350\mu m^2/s$ ) causa uma propagação mais rápida. O  $IP_3$  (Figura 4(b)) apresenta resultados estáveis entretanto, a capacidade é consideravelmente menor. De forma geral, os resultados da simulação apresentam características positivas para cada molécula, assim pode-se considerar a variedade de moléculas para criar um sistema de comunicação objetivando-se a criação de um sistema confiável e de melhor desempenho.

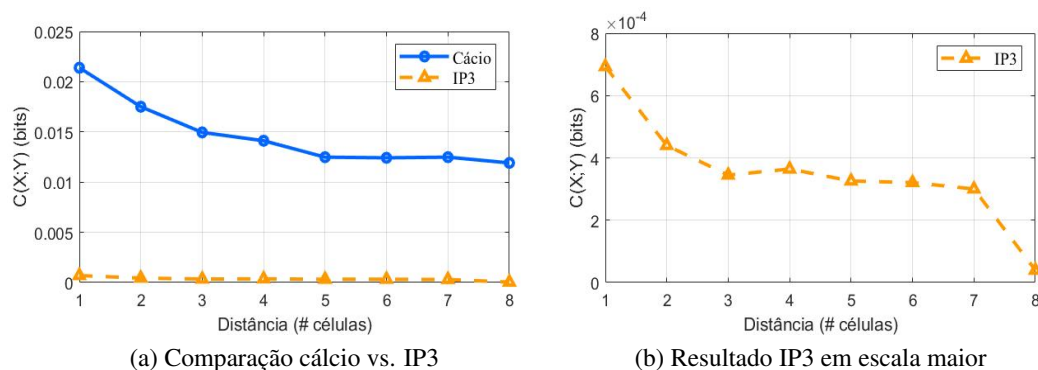


Figura 4. Capacidade fim-a-fim em função da distância

## 5. Conclusão

Pesquisas mostram que a comunicação natural de curto alcance por sinalização de cálcio é ideal para a comunicação molecular. Esta comunicação é necessária para o projeto e avanço das nanorredes. Embora esta sinalização seja amplamente examinada, até o momento não há pesquisas que investiguem a utilização da molécula  $IP_3$  para a codificação e transmissão de informação em nanorredes biológicas. Desta forma, este trabalho contribuiu nesta direção com o estudo da molécula  $IP_3$  e seu comportamento na comunicação ponto a ponto. A análise foi realizada por modelagem analítica e simulação numérica

baseado no comportamento da sinalização intracelular e intercelular, bem como o comportamento das junções comunicantes de um tecido 3D de células astrócitos. Usando o modelo, investigaram-se o ganho do canal e a capacidade de informação na comunicação. Os resultados sugerem que a molécula  $IP_3$  pode ser uma opção para a codificação e transmissão de informação podendo beneficiar pesquisadores de comunicação molecular ao projetar nanorredes biológicas utilizando nanomáquinas artificiais. Em trabalhos futuros, pretende-se explorar o comportamento da molécula  $IP_3$  em diferentes tecidos.

## Agradecimentos

Os autores agradecem o apoio da UFPR e auxílio financeiro do CNPq e da CAPES, processo # 99999.000404/2016-00.

## Referências

- Abshire, P. and Andreou, A. G. (2001). Capacity and energy cost of information in biological and silicon photoreceptors. *Proceedings of the IEEE*, 89(7):1052–1064.
- Baigent, S., Stark, J., and Warner, A. (1997). Modelling the effect of gap junction nonlinearities in systems of coupled cells. *Journal of theoretical biology*, 186(2):223–239.
- Barros, M., Borges, L., Regis, C., Nogueira, M., and Loureiro, A. (2018a). Internet-das-bionanocoisas: Conectando-se às nanomáquinas. In Guidoni, D., editor, *Livro dos Minicursos do SBRC 2018*, pages 1–50. SBC.
- Barros, M. T., Balasubramaniam, S., and Jennings, B. (2015). Comparative end-to-end analysis of  $Ca^{2+}$ -signaling-based molecular communication in biological tissues. *IEEE Trans. on Communications*, 63(12):5128–5142.
- Barros, M. T., Balasubramaniam, S., Jennings, B., and Koucheryavy, Y. (2014). Adaptive transmission protocol for molecular communications in cellular tissues. In *Communications (ICC), 2014 IEEE International Conference on*, pages 3981–3986. IEEE.
- Barros, M. T., Silva, W., and Regis, C. D. M. (2018b). The multi-scale impact of the alzheimer’s disease in the topology diversity of astrocytes molecular communications nanonetworks. *IEEE Access*, pages 78904–78917.
- Berridge, M. J. (2012). Calcium signalling remodelling and disease. *Biochemical Society Transactions*, 40(2):297–309.
- Bukauskas, F. F., Bukauskiene, A., Bennett, M. V., and Verselis, V. K. (2001). Gating properties of gap junction channels assembled from connexin43 and connexin43 fused with green fluorescent protein. *Biophysical journal*, 81(1):137–152.
- Decrock, E., De Bock, M., Wang, N., Gadicherla, A. K., Bol, M., Delvaeye, T., Vandenabeele, P., Vinken, M., Bultynck, G., Krysko, D. V., et al. (2013).  $IP_3$ , a small molecule with a powerful message. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1833(7):1772–1786.
- Dorh, N., Sarua, A., Ajmal, T., Okache, J., Rega, C., Müller, G., and Cryan, M. (2017). Nanoantenna arrays combining enhancement and beam control for fluorescence-based sensing applications. *Applied optics*, 56(29):8252–8256.
- Gillespie, D. T. (1977). Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *The journal of physical chemistry*, 81(25):2340–2361.
- Goldbeter, A., Dupont, G., and Berridge, M. J. (1990). Minimal model for signal-induced  $Ca^{2+}$  oscillations and for their frequency encoding through protein phosphorylation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 87(4):1461–1465.

- Gurgel, P., Branco, K., Teixeira, M. M., et al. (2014). Redes de computadores: da teoria à prática com netkit.
- He, P., Nakano, T., Mao, Y., Lio, P., Liu, Q., and Yang, K. (2018). Stochastic channel switching of frequency-encoded signals in molecular communication networks. *IEEE Communications Letters*, 22(2):332–335.
- Khakh, B. S. and Sofroniew, M. V. (2015). Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. *Nature Neuroscience*, 18(7):942–952.
- Kilinc, D. and Akan, O. B. (2013). An information theoretical analysis of nanoscale molecular gap junction communication channel between cardiomyocytes. *IEEE Transactions on Nanotechnology*, 12(2):129–136.
- Lallouette, J., De Pittà, M., Ben-Jacob, E., and Berry, H. (2014). Sparse short-distance connections enhance calcium wave propagation in a 3d model of astrocyte networks. *Frontiers in computational neuroscience*, 8:1–45.
- Lavrentovich, M. and Hemkin, S. (2008). A mathematical model of spontaneous calcium (ii) oscillations in astrocytes. *J. of Theoretical Biology*, 251(4):553–560.
- Nakano, T., Hosoda, K., Nakamura, Y., and Ishii, K. (2013). A biologically-inspired intrabody nanonetwork: design considerations. In *Proceedings of the 8th International Conference on Body Area Networks*, pages 484–487.
- Nakano, T. and Liu, J.-Q. (2010). Design and analysis of molecular relay channels: An information theoretic approach. *IEEE Transactions on NanoBioscience*, 9(3):213–221.
- Nakano, T., Suda, T., Koujin, T., Haraguchi, T., and Hiraoka, Y. (2007). Molecular communication through gap junction channels: System design, experiments and modeling. In *Bionetics*, pages 139–146. IEEE.
- Nakano, T., Suda, T., Moore, M., Egashira, R., Enomoto, A., and Arima, K. (2005). Molecular communication for nanomachines using intercellular calcium signaling. In *IEEE NANO*, pages 478–481. IEEE.
- Peplow, M. (2015). The tiniest lego: a tale of nanoscale motors, rotors, switches and pumps. *Nature News*, 525(7567):18.
- Politi, A., Gaspers, L. D., Thomas, A. P., and Höfer, T. (2006). Models of ip3 and ca2+ oscillations: frequency encoding and identification of underlying feedbacks. *Biophysical journal*, 90(9):3120–3133.
- Prank, K., Gabbiani, F., and Brabant, G. (2000). Coding efficiency and information rates in transmembrane signaling. *Biosystems*, 55(1-3):15–22.
- Rüdiger, S. (2014). Stochastic models of intracellular calcium signals. *Physics Reports*, 534(2):39–87.
- Shekaramiz, E., Varadarajalu, G., Day, P. J., and Wickramasinghe, H. K. (2016). Integrated electrowetting nanoinjector for single cell transfection. *Scientific reports*, 6:1–7.
- Valiunas, V., Weingart, R., and Brink, P. R. (2000). Formation of heterotypic gap junction channels by connexins 40 and 43. *Circulation research*, 86(2):e42–e49.
- Van Noorden, R. and Castelvechi, D. (2016). World’s tiniest machines win chemistry nobel. *Nature News*, 538(7624):152.
- Walsh, F., Balasubramaniam, S., Botvich, D., Suda, T., Nakano, T., Bush, S. F., and Foghlú, M. Ó. (2008). Hybrid dna and enzyme based computing for address encoding, link switching and error correction in molecular communication. In *International Conference on Nano-Networks*, pages 28–38. Springer.