

Modelo de Comunicação Molecular Multiportadora com Ruído Intracelular e Intercelular

Ligia F. Borges¹, Michael T. Barros², Michele Nogueira¹

¹Núcleo de Redes sem Fio e Redes Avançadas (NR2)
Universidade Federal do Paraná (UFPR)

²Faculty of Medicine and Health Technology
Tampere University

{lfborges,michele}@inf.ufpr.br, michael.barros@tuni.fi

Resumo. *Abordagens promissoras para a engenharia da comunicação de dados para nanorredes são inspiradas nos sistemas biológicos, porém as comunicações moleculares possuem baixo desempenho devido à propagação estocástica dos dados e ao excesso de ruído no ambiente. A presença de ruído gera comunicações propensas a erros e comprometem o desempenho da rede. Desta forma, torna-se necessário caracterizar com precisão e modelar as fontes de ruídos da comunicação molecular. Este artigo é o primeiro que investiga o ruído intracelular e intercelular em um modelo de comunicação molecular com multiportadora para nanorredes. O modelo é aplicado para avaliar uma nanorede na presença de ruídos através de métricas clássicas como a capacidade do canal e perda (path loss). A análise permitiu identificar o comportamento do ruído intracelular e como o ruído intercelular afeta o desempenho da comunicação, contribuindo com direções para a construção das nanorredes.*

1. Introdução

Várias das aplicações de nanotecnologia estão no campo da biomedicina. As nanomáquinas podem ser implantadas no corpo humano para monitorar glicose e colesterol, para detectar a presença de agentes infectantes, ou para identificar tipos de câncer [Borges et al. 2018, Akyildiz et al. 2015]. A comunicação entre esses dispositivos forma as nanorredes, contribuindo com aplicações diversas como a entrega de medicamentos inteligentes, realizando a sua liberação dentro do corpo de forma mais precisa e gradual [Borges et al. 2018]. Abordagens promissoras para a engenharia da comunicação de dados nas nanorredes são inspiradas nos sistemas biológicos [Barros et al. 2018]. Um exemplo é a troca de informação entre células que baseia-se na propagação de moléculas por meio de processos bioquímicos e físicos seguindo o paradigma da comunicação molecular (CM). A sinalização celular tem sido uma referência para a codificação de informação, seguindo técnicas como *On-Off Keying* (OOK), com base na concentração de moléculas [Nakano et al. 2007]. Contudo, a comunicação molecular tem demonstrado baixo desempenho devido à propagação dos dados ocorrer de forma estocástica, bem como o excesso de ruído no ambiente [Barros and Dey 2017].

Os trabalhos da literatura para nanorredes baseadas em comunicação molecular seguem uma abordagem de portadora única de informação, geralmente baseada na molécula de cálcio (Ca^{2+}). Isto traz avanços neste novo campo de pesquisa, mas a comunicação nessas redes ainda requer avanços significativos no seu desempenho. Assim,

como ocorreu com na evolução das redes sem fio convencionais, uma alternativa é seguir uma abordagem de multiportadora para melhorar o desempenho na comunicação das nanorredes. Neste trabalho, advogamos por esta hipótese. Porém, caracterizar os ruídos intracelular e intercelular decorrentes da utilização de moléculas como multiportadoras dos dados é uma etapa de extrema relevância, mas ainda em aberto. Em um sistema de comunicação baseado em reação bioquímica, os ruídos externo e interno são inevitáveis [Yu et al. 2009]. A presença de ruído gera comunicações propensas a erros e comprometem desempenho da rede, tornando necessárias a sua caracterização com precisão e a modelagem das fontes de ruído.

Este artigo apresenta um modelo de comunicação molecular multiportadora com ruído intracelular e intercelular. O ruído interno (intracelular) é modelado de acordo com as constantes flutuações das concentrações de moléculas de IP_3 e Ca^{2+} que ocorrem dentro das células devido aos eventos estocásticos das reações químicas. O ruído externo é decorrente da permeabilidade dos canais intercelulares, ele é gerado devido às flutuações na concentração de moléculas vindas das células vizinhas. A investigação do comportamento da comunicação foi aplicada no contexto de um tecido astrócito 3D, uma das células mais abundantes do sistema nervoso central. O modelo considera a diversidade de moléculas, onde cada tipo de molécula desempenha o papel de um canal. As reações celulares são 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.

O modelo foi utilizado para a análise da concentração espaço-temporal das moléculas de inositol trifosfato (IP_3) e Ca^{2+} , e como a sinalização intracelular (dentro da célula) e intercelular (entre células) determina a propagação do sinal nos tecidos dos astrócitos, considerando os princípios da transmissão multiportadora e o ruído intracelular e intercelular. Além da avaliação do modelo na presença de ruídos, foram analisadas a capacidade do canal e a perda (*path loss*). A análise permitiu identificar o comportamento do ruído intracelular e como o ruído intercelular afeta negativamente o desempenho da comunicação. Os resultados reafirmam que a cooperação entre os dois canais, ou seja, neste caso as moléculas de IP_3 e Ca^{2+} , pode beneficiar a codificação e a transmissão de dados em comparação com o seu uso individual (portadora única) em nanorredes moleculares.

Este artigo procede da seguinte forma. A Seção 2 discute o trabalhos relacionados. A Seção 3 apresenta a modelagem da comunicação. A Seção 4 detalha a metodologia de avaliação e discute os resultados obtidos. A Seção 5 apresenta as conclusões.

2. Trabalhos Relacionados

Diferentes pesquisas focam na modelagem do canal de comunicação [Nakano and Liu 2010, Heren et al. 2013, Barros et al. 2015, Barros et al. 2018, Borges et al. 2019]. Em [Nakano and Liu 2010], os autores aplicaram abordagens da teoria da informação para propor um modelo de capacidade de canal em que a molécula de Ca^{2+} é utilizada como portadora de informação. Os resultados mostram que a capacidade do canal apresenta valores inferiores a 0,3 bits mesmo para curtas faixas de transmissão. O modelo inclui a maior parte da dinâmica intercelular de Ca^{2+} . Posteriormente, o modelo foi estendido em [Heren et al. 2013] e acrescentada a dinâmica intercelular de Ca^{2+} via estimulação pela molécula IP_3 . Os autores investigaram a

capacidade do canal e mostraram a necessidade de estudos mais aprofundados sobre a variação da frequência de concentração e o desenvolvimento de modelos de ruído na comunicação molecular. Em [Barros et al. 2015], os autores modelaram o ruído em três tipos distintos de tecidos (astrócitos, epitelial e muscular). Entretanto, eles se concentraram em investigar o ruído gerado pela deformação do tecido na comunicação molecular baseada em Ca^{2+} . Em [Borges et al. 2019], os autores modelaram o canal de comunicação de IP_3 e compararam com os resultados de capacidade e ganho do canal obtido pelo canal de Ca^{2+} .

Em [Yu et al. 2009] os autores investigaram o ruído interno causado pela oscilação de Ca^{2+} citosólico. Este trabalho foi estendido em [He et al. 2018], onde os autores analisaram o impacto do ruído da molécula de Ca^{2+} na funcionalidade dos comutadores de canal nas nanorredes de comunicação molecular. Em [Nakano and Liu 2010], os autores mostraram que as simulações baseadas na equação diferencial ordinária (ODE) com o algoritmo estocástico de Gillespie [Gillespie 1977] produzem uma variabilidade precisa das reações químicas e servem para estudar os efeitos do ruído causado pelo comportamento estocástico. As pesquisas da literatura para comunicação molecular focaram na investigação do ruído para nanorredes seguindo a abordagem de única portadora de informação por Ca^{2+} , que traz avanços no campo de pesquisa, mas são ausentes estudos que caracterizem os ruídos utilizando diferentes tipos de moléculas como multiportadoras. Desta forma, este trabalho visa preencher uma lacuna através da caracterização dos ruídos internos e externos na comunicação molecular por multiportadoras.

3. Modelos da Comunicação Molecular Multiportadora com Ruídos

Esta seção descreve o sistema de comunicação molecular com suas entidades, fazendo um paralelo com um sistema de comunicação de dados convencional. Este sistema é o mesmo seguido por outros autores e por nós mesmos em outros trabalhos, como [Barros et al. 2015, Barros 2016, Borges et al. 2019]. Na sequência, detalha-se o modelo de comunicação multiportadora com ruídos para a sinalização de IP_3 e Ca^{2+} em células astrócitos. São descritos os seguintes modelos: (i) processo de difusão que captura a dinâmica espaço-temporal da sinalização intercelular; (ii) junções comunicantes que influenciam a direção de difusão intercelular; (iii) modelo 3D do tecido celular; (iv) modelo do ruído intracelular; (v) processo estocástico para o agendamento das reações intracelulares e intercelulares.

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). Para explorar a diversidade molecular dentro dos tecidos celulares e fornecer análises matemáticas mais ricas, foram comparados os resultados de dois cenários diferentes: (i) independência entre os canais IP_3 e Ca^{2+} ; (ii) não independência entre estes dois canais, seguindo a sinalização natural das moléculas.

A Figura 1 ilustra o sistema de comunicação molecular tratado, destacando os canais paralelos Ca^{2+} e IP_3 , adaptados dos princípios dos sistemas de transmissão multipor-

tadora. 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 molecular OOK 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). Para canais independentes é considerada a sinalização celular natural de IP_3/Ca^{2+} . O *canal* compreende a propagação de IP_3 e Ca^{2+} . O modelo do canal considera os estágios de sinalização intracelular e intercelular. Dentro da célula (intracelular), existem várias reações químicas para regular a concentração de Ca^{2+} . A comunicação entre células (intercelular) ocorre quando as junções comunicantes nas células se abrem e as moléculas de IP_3 e Ca^{2+} se propagam através do citosol (*i.e.*, o líquido que preenche o citoplasma celular) de uma célula para outra. 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 na nanomáquina transmissora. 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. A decodificação é baseada no valor de concentração com um detector de limiar predefinido.

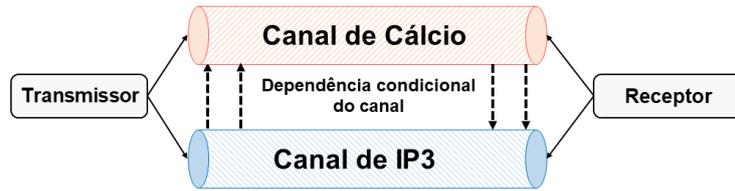


Figura 1. Sinalização molecular multiportadora de IP_3 e Ca^{2+}

3.2. Modelo da Sinalização Celular de Cálcio e IP_3

Com base em observações experimentais, [Lavrentovich and Hemkin 2008] propuseram um modelo para descrever as oscilações de Ca^{2+} em células astrócitos. O modelo é composto pela representação de áreas de armazenamento (*pool*) que incluem a concentração de Ca^{2+} no citosol (C_{cy}) (Eq 1); a concentração de Ca^{2+} no retículo endoplasmático (estruturas membranosas compostas de sacos achatados e localizados no citosol da célula) (C_{er}) (Eq. 2); e a concentração de IP_3 (IP) (Eq. 3). As equações a seguir definem matematicamente essas concentrações:

$$\frac{dC_{cy}}{dt} = X_0 - k_0 C_{cy} + X_1 - X_2 + l_f + W_1 \quad (1)$$

$$\frac{dC_{er}}{dt} = X_2 - X_1 - l_f, \quad (2)$$

$$\frac{dIP}{dt} = X_3 - IP_{K_{deg} + W_2}, \quad (3)$$

onde, X_0 é o fluxo de cálcio do espaço extracelular para o citosol; $k_0 C_{cy}$ é a taxa de efluxo de cálcio do citosol para o espaço extracelular; l_f (*i.e.*, $C_{cy} - C_{er}$) é o fluxo de cálcio do retículo endoplasmático para o citosol; $IP_{K_{deg}}$ é a degradação do IP_3 por segundo; e W_1 e W_2 representam os ruídos intracelulares (citoplasma) para o Ca^{2+} e o IP_3 conforme detalhado na Subseção 3.6. O termo X_1 (Eq. 4) modela o fluxo de cálcio do retículo

endoplasmático para o citosol via estimulação de IP_3 . Este mecanismo afeta diretamente a concentração de cálcio no citosol. Ele é definido como:

$$X_1 = 4M_3 \left(\frac{k_A^n C_{cy}^m}{(C_{cy}^n + k_A^n)(C_{cy}^n + k_I^n)} \right) \cdot \left(\frac{IP^m}{k_{IP}^m + IP^m} \right) \cdot l_f. \quad (4)$$

O valor máximo de fluxo de cálcio no citosol é denotado por M_3 ; k_A and k_I são as variáveis de ativação e inibição para do IP_3 ; IP 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. Os valores do coeficiente de Hill empregados neste estudo foram validados através de medições experimentais [Lavrentovich and Hemkin 2008].

O efluxo de cálcio do retículo sarco-endoplasmático para o retículo endoplasmático é modelado como X_2 , como apresenta a Eq. 5:

$$X_2 = M_2 \frac{C_{er}^2}{k_2^2 + C_{er}^2}, \quad (5)$$

onde o termo M_2 representa o fluxo máximo de cálcio nesse processo, k é a constante de saturação da concentração citosólica de Ca^{2+} , C_{er} é a concentração de Ca^{2+} no retículo endoplasmático e X_3 descreve a produção de IP_3 pela proteína fosfolipases C (PLC):

$$X_3 = M_p \frac{C_{er}^2}{C_{er}^2 + k_p^2}. \quad (6)$$

onde M_p é o fluxo máximo de Ca^{2+} nesse processo, k é a constante de saturação da concentração citosólica de Ca^{2+} , e p é um coeficiente de Hill. Os valores dos parâmetros utilizados para a modelagem da comunicação são apresentados na Tabela 1.

3.3. Modelagem da Junção Comunicante

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_3 , 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. 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 conexon: aberto com alta condutância e fechado com baixa condutância. Com base nisto, consideram-se quatro combinações de estados de cada conexon (Figura 2): (i) Estado g_1 – ambas os canais estão em um estado de alta condutância (probabilidade $P(g_1)$); (ii) Estado g_2 – a primeira conexon está em um estado de alta condutância e a segunda (*i.e.*, localizada na célula adjacente) em estado de baixa condutividade (probabilidade é $P(g_2)$);

(iii) Estado g_3 – a primeira conexão está em um estado de baixa condutância e a outra está em um estado de alta condutância (probabilidade $P(g_3)$); (iv) Estado g_4 – ambos canais estão em um estado de baixa condutividade.

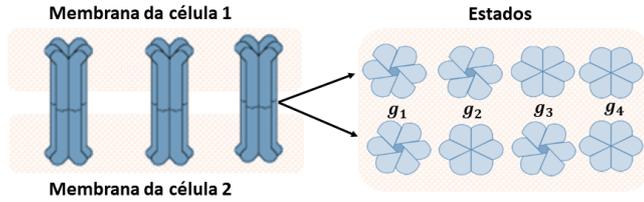


Figura 2. Junções comunicantes e possíveis estados

Contudo, como a validação experimental desse modelo indicou baixa probabilidade de ocorrência do estado g_4 [Bukauskas et al. 2001], este estado não é considerado neste trabalho. Assim, as probabilidades dos estados para as junções comunicantes seguem $P(g_1) + P(g_2) + P(g_3) = 1$. Além disso, g_1 , g_2 e g_3 estão inter-relacionadas da seguinte forma:

$$\frac{dg_2}{dt} = \beta_1(\vartheta_j) \times g_1 - \xi_1(\vartheta_j) \times g_3, \quad (7)$$

$$\frac{dg_3}{dt} = \beta_2(\vartheta_j) \times g_1 - \xi_2(\vartheta_j) \times g_2, \quad (8)$$

O controle da permeabilidade das junções comunicantes é mediado pela diferença de potência da membrana de duas células adjacentes (ϑ_j), a taxa de abertura da junção é classificada como ξ e a taxa de fechamento como β . Os termos $\xi_1(\vartheta_j)$, $\xi_2(\vartheta_j)$, $\beta_1(\vartheta_j)$, $\beta_2(\vartheta_j)$ são definidos como: $\xi_1(\vartheta_j) = \lambda e^{-A\xi(\vartheta_j - \vartheta_0)}$; $\xi_2(\vartheta_j) = \lambda e^{A\xi(\vartheta_j - \vartheta_0)}$; $\beta_1(\vartheta_j) = \lambda e^{A\beta(\vartheta_j - \vartheta_0)}$; $\beta_2(\vartheta_j) = \lambda e^{-A\beta(\vartheta_j - \vartheta_0)}$. Sendo ϑ_0 a tensão juncional na qual as taxas de abertura e fechamento das junções comunicantes têm o mesmo valor (i.e., $\xi = \beta$). λ , $A\xi$ e $A\beta$ são constantes e indicam a sensibilidade de uma junção comunicante à voltagem.

3.4. Modelo da Difusão Molecular

A difusão molecular segue um modelo que captura a dinâmica espaço-temporal da concentração de moléculas durante o processo de sinalização intercelular com base nos princípios da difusão mesoscópica [Nakano and Liu 2010].

$$Z\Delta(i, j, k, n, m, l) = \frac{D_\theta}{v} (|Z_{n,m,l} - Z_{i,j,k}|) \cdot \{P(g_1), P(g_2), P(g_3)\}, \quad (9)$$

Em que $Z\Delta(i, j, k, n, m, l)$ é a diferença de concentração de moléculas entre um par de células vizinhas, sendo i, j, k a posição da célula transmissora e n, m, l a posição da célula receptora. Este valor é definido por $\frac{D_\theta}{v} (|Z_{n,m,l} - Z_{i,j,k}|)$ em que D é o coeficiente de difusão para o Ca^{2+} ou IP_3 ; v é o volume da célula astrócito; $(|Z_{n,m,l} - Z_{i,j,k}|)$ é a diferença de concentração de moléculas entre a célula transmissora e a célula receptora. Como o processo de difusão de Ca^{2+} ou IP_3 ocorre através das junções comunicantes, as probabilidades $\{P(g_1), P(g_2), P(g_3)\}$ assumem as taxas de abertura e fechamento de cada conexon, selecionadas pelo modelo estocástico com base nos estados g_1 , g_2 e g_3 conforme especificado na Subseção 3.3.

3.5. Modelo 3D do Tecido Astrócito

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

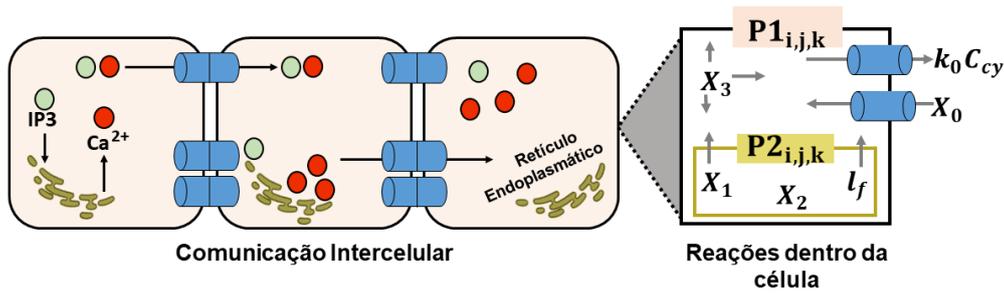


Figura 3. Representação de um tecido celular e das reações (P1 e P2)

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_3 [Khakh 2015], por isto este trabalho se propõe a investigar o uso dessas moléculas para comunicação molecular sintética no contexto dessas células. A propagação, neste caso, compreende duas etapas: a sinalização intracelular (dentro da célula) e a sinalização intercelular. A primeira resulta da estimulação interna via IP_3 que leva à geração e/ou amplificação das concentrações de Ca^{2+} no citosol (líquido que preenche o interior do citoplasma da célula). A segunda envolve a propagação de moléculas de uma célula para suas células vizinhas. A difusão de íons Ca^{2+} e moléculas de IP_3 é mediada por aberturas que conectam duas células pela área citosólica (junções comunicantes).

O modelo analítico da célula astrócito segue três dimensões (3D) com sinalização intracelular e intercelular. 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]. Considerado que cada célula contém um conjunto de reações internas (modeladas na Subseção 3.2) de *pools* P1 e P2, sendo P1 o fluxo do IP_3 ou Ca^{2+} do citosol para espaço extracelular e P2 a difusão de Ca^{2+} do retículo endoplasmático para o citosol (Figura 3). 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 α (Eq. 12) quando uma reação é executada.

3.6. Modelo do Ruído Intracelular

Esse artigo considera dois tipos de ruídos: intracelular (interno) e o intercelular (externo). Com relação ao ruído interno, ele é causado devido às constantes e aleatórias flutuações das concentrações de moléculas de IP_3 e Ca^{2+} . O ruído interno é modelado pelos termos W_1 e W_2 (Eq. 10 e Eq. 11) e toma como referência os eventos de reações químicas (Eqs. 1, 3 e 9) que ocorrem nas células astrócitos [Yu et al. 2009]. É amplamente aceito que a intensidade do ruído interno é proporcional à raiz quadrada do número de moléculas e inversamente proporcional ao volume da célula [He et al. 2017]. O ruído externo é decorrente da permeabilidade dos canais intercelulares (junções comunicantes), ele é gerado devido às flutuações na concentração de moléculas resultante das camadas adjacentes (células vizinhas), este ruído é detalhado na Subseção 4.1. Os termos W_1 e W_2 modelam o ruído conforme as Eqs. 1 e 9. Na sequência, $w_{0,i,j,k}$ e $w_{5,i,j,k}$ são variáveis gaussianas independentes com médias nulas (zero) e variância unitária; v é o volume da

célula; $C_{i,j,k} - C_{m,n,l}$ representa a diferença de concentração de moléculas de IP_3 ou Ca^{2+} ; e $\{P(g_1) P(g_2), P(g_3)\}$ representa a probabilidade de estados das junções comunicantes. O termo W_2 modela o ruído incluindo a degradação do IP_3 , conforme Eq. 3.

$$W_1 = \frac{1}{\sqrt{v}}(w_{0,i,j,k}\sqrt{X_0} - w_{1,i,j,k}\sqrt{k_0 C_{cy}} + w_{2,i,j,k}\sqrt{X_1} - w_{3,i,j,k}\sqrt{X_2} + w_{4,i,j,k}\sqrt{l_f} + \sum_{m,n,l,i,j,k} w_{5,i,j,k}\sqrt{C_{i,j,k} - C_{m,n,l}} - \{P(g_1) P(g_2), P(g_3)\}) \quad (10)$$

$$W_2 = \frac{1}{\sqrt{V}}(w_{3,i,j,k}\sqrt{X_3} - w_{4,i,j,k}\sqrt{IP_{K_{deg}}}) \quad (11)$$

3.7. Modelo Estocástico para Escolha das Reações

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]. As simulações baseadas neste algoritmo produzem uma variabilidade precisa das reações químicas e servem para estudar os efeitos do ruído causados pelo comportamento estocástico inerente [Nakano and Liu 2010]. O modelo matemático estocástico executa o algoritmo de Gillespie para selecionar aleatoriamente uma célula a cada período de tempo. Em seguida, ele escolhe uma reação interna aleatória para a célula e programa um intervalo de tempo (t) para essa reação. A execução de cada uma das reações (R) 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 τ_0 é a soma de todos as a_r de R , a próxima reação (r_u) escolhida é dada pela Eq. 12.

$$r_u = MAX \left\{ \frac{a_{rj}}{\tau_0} = \frac{a_{rj}}{\sum_{j=1}^{|R|} a_{rj}} \right\}. \quad (12)$$

A escolha da reação é baseada no processo de seleção da roleta que seleciona os eventos probabilisticamente. Este processo é parcial com base nos valores de probabilidade das reações. Contudo, o processo de seleção (u) deve satisfazer a Eq. 13.

$$\sum_{j=1}^{u-1} \frac{\tau_{rj}}{\tau_0} < \rho_1 \leq \sum_{j=1}^u \frac{\tau_{rj}}{\tau_0}, \quad (13)$$

em que ρ_1 é uma variável uniforme aleatória com valores binários (0,1). Em cada intervalo de tempo (t), um lapso de tempo (δ_t) é derivado com base no inicial τ_0 conforme representado na Eq. 14.

$$\tau_0 \cdot \delta_t = 1n \frac{1}{\rho_2}, \quad (14)$$

O termo ρ_2 representa uma variável binária uniforme. A condição final é $\sum_{t=0}^{|T|} \delta_t < t_0$, onde T é conjunto de t e t_0 é o tempo de simulação predefinido. 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 conforme o resultado positivo ou negativo da reação executada. Em relação às reações intercelulares, quando estão agendadas para acontecer a_r é substituído por $Z\Delta$, como observado na Eq. 9.

4. Avaliação de Desempenho

Esta seção descreve a metodologia empregada para analisar por simulação numérica o ruído intracelular e intercelular no modelo de comunicação molecular multiportadora. A definição dos parâmetros (Tabela 1) utilizados para as equações apresentadas na Seção 3 e as simulações seguem os valores de resultados de experimentações da literatura [Lavrentovich and Hemkin 2008, Venance et al. 1997, Goldbeter et al. 1990, Baigent et al. 1997, Höfer et al. 2002].

Parâmetros	Símbolos	Valores
Concentração de Ca^{2+} no citosol	C_{cy}	$0.1\mu M$
Concentração de IP_3	C_{er}	$1.5\mu M$
Fluxo de Ca^{2+} do espaço extracelular para o citosol	IP	$1.44\mu M$
Vazamento do retículo para o citosol	X_0	$0.05\mu M$
Taxa de efluxo de Ca^{2+} do citosol para espaço extracelular	k_o	$0.5s^{-1}$
Vazamento do retículo para o citosol	l_f	$0.5s^{-1}$
Degradação do IP_3	k_{deg}	$0.08s^{-1}$
Fluxo máximo de Ca^{2+} no processo	M_2	$15\mu M/s$
Fluxo máximo de Ca^{2+} no processo e p coeficiente de Hill	M_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_I	$0.15\mu M$
Variável de inibição de IP_3	k_A	$0.15\mu M$
Valor máximo do fluxo de Ca^{2+} no citosol	M_3	$40.0s^{-1}$
Hill coeficiente	m	2.02
Coefficiente de difusão Ca^{2+}	$D_{Ca^{2+}}$	$350\mu m^2/s$
Coefficiente de difusão IP_3	D_{IP_3}	$280\mu m sec^{-2}$
Sensibilidade de uma junção à voltagem juncional	λ	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

4.1. Path loss com Ruído Intercelular

A perda de caminho ou *Path loss* é a redução da densidade de energia (atenuação) de uma onda portadora que se propaga através do espaço. Esta métrica inclui os valores do ganho de canal e permite a inclusão de outros efeitos para análise como por exemplo, a interferência e o desvanecimento de vários caminhos. Dessa forma, o *Path loss* (Eq. 15) foi aplicado para analisar o comportamento dos canais moleculares utilizando multiportadoras de informação (independente ou não independente) considerando o ruído do canal.

$$\Gamma(f) = 20\log_{10} \left(\frac{\Gamma_T(f)}{\Gamma_{T_0}(f)} \right). \quad (15)$$

Os termos $\Gamma_T(f)$ e $\Gamma_{T_0}(f)$ representam respectivamente, a média e o valor inicial do pico de concentração, (f) reflete a frequência em hertz (Hz). A Equação 15 calcula a perda de caminho para uma molécula individual (i.e., para o inositol trifosfato $\Gamma^{IP_3}(f)$ ou para o cálcio $\Gamma^{Ca^{2+}}(f)$). Portanto, ao usar multiportadoras a perda total de caminho é obtida por $\Gamma_{total} = \Gamma^{Ca^{2+}} + \Gamma^{IP_3} + W_3$. Considerando que o canal depende das duas moléculas e o W_3 é o ruído do sistema, a soma dos logs (Γ_{Total}) segue:

$$\Gamma_{Total} = \left(20 \log_{10} \left(\frac{\Gamma_T^{Ca^{2+}}(f)}{\Gamma_{T_0}^{Ca^{2+}}(f)} \right) \right) + \left(20 \log_{10} \left(\frac{\Gamma_T^{IP_3}(f)}{\Gamma_{T_0}^{IP_3}(f)} \right) \right) + W_3. \quad (16)$$

Os termos $\Gamma_T^{Ca^{2+}}(f)$ e $\Gamma_T^{IP_3}(f)$ representam a concentração média de pico de Ca^{2+} e IP_3 , respectivamente; $\Gamma_{T_0}^{Ca^{2+}}(f)$ e $\Gamma_{T_0}^{IP_3}(f)$ são o pico inicial de moléculas para Ca^{2+} e IP_3 , respectivamente. W_3 é o fator de ruído intercelular do sistema que satisfaz a Equação 17.

$$W_3 = \begin{cases} 0 & , \text{ quando } IP_3 \perp\!\!\!\perp Ca^{2+}, \\ N(\mu = 0, X_1^2)|_{dB} & , \text{ quando } IP_3 \not\perp\!\!\!\perp Ca^{2+}, \end{cases} \quad (17)$$

onde $\perp\!\!\!\perp$ representa a independência e $\not\perp\!\!\!\perp$ não independência entre dois tipos de moléculas $N(\mu, X_1^2)$ é uma distribuição normal, com média μ e variância X_1^2 . Assim, é verificado se o receptor após uma distância de oito células mede a mesma concentração que a soma dos dois valores de saída correspondentes a uma única molécula, transmitida independentemente sem o ruído da molécula não enviada.

4.2. Capacidade do Canal

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 probabilidades de transição de estado para o receptor e o transmissor. Para o transmissor é considerado: (i) a estimulação e a liberação ($x = x_1$) ou (ii) silêncio ($x = x_0$). Isso reproduz o processo de modulação usado em OOK, em que $x = x_1$ quando o bit transmitido representa o bit 1 e $x = x_0$ quando o bit é igual 0. Para o receptor são considerados outros dois estados: (i) ativo i.e., quando o número de moléculas recebidas muda um estado da célula ($y = y_1$), ou (ii) inativo ($y = y_0$), conforme a quantidade de moléculas recebidas. A transmissão de um bit único é discretizada em intervalos de tempo (duração do período de transmissão - T_b). 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, essa suposição é comum na literatura [Kilinc and Akan 2013, Nakano and Liu 2010, Barros et al. 2014, Pierobon and Akyildiz 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].

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

onde H é a distribuição de probabilidades e (X) é a quantidade informação associada a uma variável aleatória. Além disso, a entropia condicional (X, Y) é definida com base na distribuição conjunta $p(x, y)$ e na distribuição condicional $p(x|y)$ 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. $I(X; Y)$ é baseado na entropia $H(\cdot)$, e a capacidade segue a Eq. 25. Para calcular a independência entre as multiportadoras, a probabilidade de transmissão de um bit é a mesma para IP_3 e Ca^{2+} .

$$C(X; Y) = \max_{p(x)} I(X; Y) = \sum_{y \in Y} \sum_{x \in X} p(x)p(y | x) \log_2 \frac{p(y | x)}{p(y)}. \quad (25)$$

Resultados

A Figura 4 apresenta o resultado de simulação numérica em Python para a oscilação da concentração de moléculas de Ca^{2+} e IP_3 no Transmissor (Tx) e Receptor (Rx) e o ruído intracelular no RX versus tempo em um tecido celular de $3 \times (3 \times l) \times (20 \times l) \mu m$ (micrômetros) de uma célula astrócito em que l representa o comprimento de cada célula. Para as duas moléculas, a concentração inicial do Tx é 2×10^3 nM e 500 nM para o RX, a distância é de 8 células. A frequência de oscilação natural dos níveis de concentração em astrócitos é de 0.1Hz. A amplitude de oscilações é $2.5 \mu m$ para o IP_3 e $0.6 \mu m$ para o Ca^{2+} medido pelo nível máximo de moléculas. Com base apenas nos níveis de concentração, observa-se comportamentos diferentes. Uma observação significativa está em como o IP_3 afeta a sinalização intracelular de Ca^{2+} . A estimulação de IP_3 promove um aumento na concentração de Ca^{2+} . As moléculas de IP_3 estimulam a produção de Ca^{2+} por mais alguns segundos, mesmo quando a última molécula de IP_3 já atingiu o Rx. A Figura 4c apresenta o ruído intracelular no Rx. Conforme pode ser observado, o ruído intracelular da molécula de Ca^{2+} atinge uma concentração de 0.20 (nM) enquanto o ruído do IP_3 atinge uma concentração máxima de 0.5 (nM). Também foi possível identificar diferentes padrões entre os ruídos de cada molécula, enquanto o IP_3 tende a estabilizar após 15 segundos e reduzir o valor de concentração, o cálcio apresenta mais variações e um ruído crescente. Isso é explicado pela constante estimulação de Ca^{2+} pela molécula IP_3 , como o processo de produção do IP_3 é externo, o ruído aumenta muito rápido, mas a degradação também é maior.

A Figura 5 apresenta os resultados para a avaliação do *Path loss* (Figura 5a) e capacidade do canal (Figura 5b) com e sem ruído intercelular. Para o cálcio a concentração no Tx é de 2×10^3 nM e de 1×10^5 nM para o Rx. Para o IP_3 , a concentração no Tx é de 2×10^3 nM e a concentração inicial no transmissor é de 6×10^5 nM. Conforme pode ser observado na Figura 5a a pura propagação de Ca^{2+} apresenta uma perda de caminho maior do que o IP_3 sozinho ou quando é empregado em conjunto com esta molécula. A medida

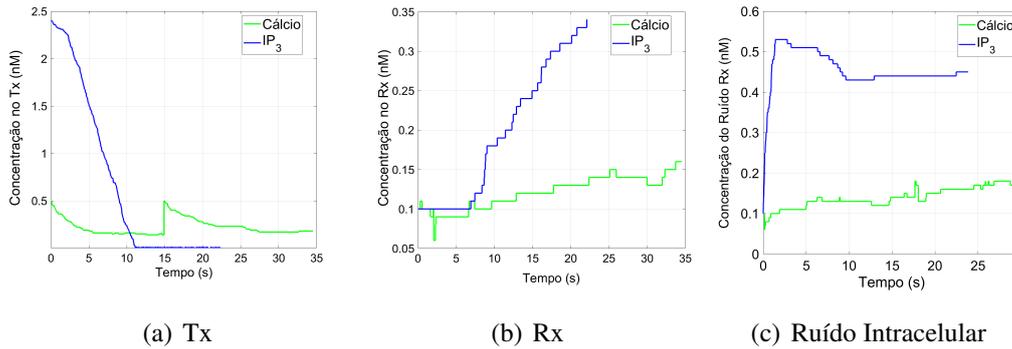


Figura 4. Concentração espaço-temporal de moléculas

que a distância entre o transmissor e o receptor aumenta, o *Path loss* também aumenta para todas as combinações afetando o desempenho. Comparando a perda de caminho em que cada molécula (Ca^{2+} ou IP_3) atua como portadora única de informação em distâncias de 1 a 8 células, a variação de perda durante o trajeto do Ca^{2+} é de aproximadamente 63.415%, enquanto a variação do IP_3 é de 33.274%. Os resultados mostram uma perda de caminho mais suave para o IP_3 quando a distância avaliada compreende entre 2 e 6 células, também é observado uma estabilidade ligeiramente superior ao Ca^{2+} ao longo de todo o caminho. O desempenho para o uso simultâneo das moléculas $IP_3 \perp\!\!\!\perp Ca^{2+}$ e $IP_3 \not\perp\!\!\!\perp Ca^{2+}$ está muito próximo dos resultados do uso isolado de IP_3 . Quando ocorre a paralelização dessas moléculas, obtém-se uma menor perda na transmissão, no entanto, uma perturbação indesejável na concentração do sinal molecular recebido pode ocorrer. Essa perturbação atua como um ruído, representado por W_3 quando $IP_3 \not\perp\!\!\!\perp Ca^{2+}$. Contudo, os resultados mostraram que o ruído intercelular impacta pouco o *path loss* do canal.

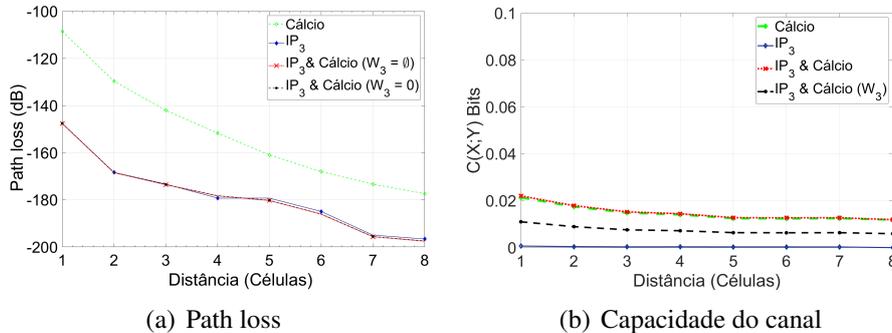


Figura 5. Path loss e Capacidade fim-a-fim em função da distância

A Figura 5b apresenta os resultados para a capacidade fim-a-fim em função da distância (em número de células). Os resultados da transmissão utilizando multiportadora com e sem ruído foi comparado com os resultados obtidos na análise dos canais individuais de Ca^{2+} e IP_3 . A ativação do Rx depende de duas variáveis: a concentração de moléculas recebidas pelo estímulo externo e a concentração interna de moléculas. Quando as moléculas se distanciam do seu transmissor, sua concentração também diminui. A molécula de Ca^{2+} é a mais afetada pela distância e apresenta maior capacidade, já a molécula de IP_3 apresenta valores baixos de capacidade, contudo é estável para distâncias maiores. O uso de ambas as moléculas de forma independente melhora ligeiramente o desempenho da capacidade. Contudo ao considerar o ruído intercelular das moléculas $IP_3 \not\perp\!\!\!\perp Ca^{2+}$ (i.e., uma molécula pode afetar o comportamento da outra) verificou-se a degradação da

capacidade de comunicação, esse resultado indica a necessidade do desenvolvimento de técnicas de filtragem de ruído.

5. Conclusão

A comunicação molecular de curto alcance com base na sinalização de IP_3/Ca^{2+} nos tecidos celulares é uma abordagem promissora para o desenvolvimento das nanorredes. Este é o primeiro trabalho que investiga a caracterização e análise do ruído intracelular e intercelular em um modelo de comunicação molecular multiportadora. O modelo permitiu estudar o uso de moléculas IP_3 e Ca^{2+} como multiportadoras e os ruídos em um modelo analítico 3D da célula astrócito. O ruído intercelular foi analisado sobre as métricas capacidade do canal e *path loss*. Os resultados mostraram que os ruídos afetam negativamente a capacidade do canal, embora tenha pouco impacto sobre a métrica *path loss*. Os resultados numéricos mostraram que os ruídos intracelulares tornam estocásticos os comportamentos dos canais. A análise permite uma melhor compreensão desse comportamento e pode auxiliar no desenvolvimento de filtros de ruído. Os resultados também reforçam nossos resultados prévios que a cooperação entre esses dois canais, ou seja, IP_3 e Ca^{2+} , melhora a codificação e a transmissão de dados em comparação com o uso individual (única portadora). Em trabalhos futuros, pretende-se explorar e modelar novas fontes de ruídos da comunicação molecular, assim como desenvolver formas de maximizar o fluxo de informações utilizando filtros de ruídos.

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.
- Akyildiz, I. F., Pierobon, M., Balasubramaniam, S., and Koucheryavy, Y. (2015). The internet of bio-nano things. *IEEE Commun. Magazine*, 53(3):32–40.
- 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. (2016). *Ca²⁺-signalling-based Molecular Communication Systems Towards Nanomedicine Development*. PhD thesis, Waterford Institute of Technology.
- Barros, M., Borges, L., Régis, C., Nogueira, M., and Loureiro, A. (2018). Internet-das-bionano-coisas: 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 Transactions on Communications*, 63(12):5128–5142.
- Barros, M. T., Balasubramaniam, S., Jennings, B., and Koucheryavy, Y. (2014). Transmission protocols for calcium-signaling-based molecular communications in deformable cellular tissue. *IEEE Transactions on Nanotechnology*, 13(4):779–788.
- Barros, M. T. and Dey, S. (2017). Set point regulation of astrocyte intracellular Ca^{2+} signalling. In *IEEE International Conference on Nanotechnology*, pages 315–320.
- Borges, L. F., Barros, M. T., and Nogueira, M. (2019). Explorando o potencial da molécula IP_3 para a comunicação em nanorredes. In *Anais do Simpósio Brasileiro de Redes de Computadores e Sistemas Distribuídos*, pages 29–42. SBC.
- Borges, L. F., Barros, M. T., Régis, C. D. M., Nogueira, M., and Loureiro, A. (2018). In Guidoni, D. L., editor, *Livro dos Minicursos do Simpósio Brasileiro de Redes de Computadores e Sistemas Distribuídos*, chapter 2, pages 1–50. SBC.

- 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., Vandenberghe, P., Vinken, M., Bultynck, G., Krysko, D. V., et al. (2013). Ip3, a small molecule with a powerful message. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1833(7):1772–1786.
- Gillespie, D. T. (1977). Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *J. 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.
- He, P., Nakano, T., Mao, Y., Lio, P., Liu, Q., and Yang, K. (2017). Stochastic channel switching of frequency-encoded signals in molecular communication networks. *IEEE Communications Letters*, 22(2):332–335.
- 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.
- Heren, A. C., Kuran, M. S., Yilmaz, H. B., and Tugcu, T. (2013). Channel capacity of calcium signalling based on inter-cellular calcium waves in astrocytes. In *The 3rd IEEE International Workshop on Molecular and Nano Scale Communication*.
- Höfer, T., Venance, L., and Giaume, C. (2002). Control and plasticity of intercellular calcium waves in astrocytes: a modeling approach. *Journal of Neuroscience*, 22(12):4850–4859.
- Khakh, Baljit S and Sofroniew, M. V. (2015). Diversity of astrocyte functions and phenotypes in neural circuits. *Nature Neurosci.*, 18(7):942.
- 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 Comp. Neurosci.*, 8:45.
- 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. and Liu, J.-Q. (2010). Design and analysis of molecular relay channels: An information theoretic approach. *IEEE Trans. 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.
- Pierobon, M. and Akyildiz, I. F. (2010). A physical end-to-end model for molecular communication in nanonetworks. *IEEE J. on Selected Areas in Comm.*, 28:602–611.
- Venance, L., Stella, N., Glowinski, J., and Giaume, C. (1997). Mechanism involved in initiation and propagation of receptor-induced intercellular calcium signaling in cultured rat astrocytes. *J. of Neuroscience*, 17(6):1981–1992.
- Yu, G., Yi, M., Jia, Y., and Tang, J. (2009). A constructive role of internal noise on coherence resonance induced by external noise in a calcium oscillation system. *Chaos, Solitons & Fractals*, 41(1):273–283.