

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
PROGRAMA DE GRADUAÇÃO EM FÍSICA

**Movimentos coletivos no reservatório e largura de canal
determinam modos de propagação celular. ***

Paulo Casagrande Godolphim

Monografia elaborada sob orientação do Professor Leonardo Gregory Brunnet e apresentada ao Instituto de Física da UFRGS em preenchimento do requisito final para obtenção do título de Bacharel em Astrofísica.

Porto Alegre
Julho de 2017

* Trabalho financiado pela CAPES-Cnpq, Propesq e pela minha mãe.

Agradecimentos

Agradeço a minha mãe, meu pai, minha família, meus orientadores, meus colegas e amigos, meus terapeutas e a minha querida e amada namorada.

"As estrelas estão tão longe que no momento que a luz delas chega até nós, muitas delas já podem estar mortas. ...

... No universo existem quatro forças fundamentais que governam tudo: o eletromagnetismo, a gravidade, a força forte e a força fraca."

Meu pai, Ben Hur Godolphim. Em memória.

"There's no need for being brave if you can copy and paste"

"...

...

... You think that's air you're breathing now?"

Morpheus

"If you judge a fish by its ability to climb a tree, it will live its whole life believing that it is stupid."

Paráfrase de suposta citação de Albert Einstein.

"Nunca deixe ninguém lhe dizer o que você pode ou não fazer. Nem mesmo eu."

Meu irmão, Felipe.

"Quem mais faz, mais faz."

Minha Mãe.

Resumo

Cicatrização eficiente de feridas é uma vantagem evolutiva adquirida durante milhões de anos de mutações e seleção natural. Este mecanismo é importante não só pelo seu claro papel biológico, mas também para o estudo de crescimento de tecido, migração coletiva de células e seus processos de interação célula-célula, dinâmica e transporte de informação em sistemas altamente fora de equilíbrio, crescimento de tumores. Nossa motivação vem com um experimento *in vitro* de cicatrização - por Vedula *et al* 2012 - onde foi mostrado que diferentes tipos de confinamento geométrico induzem os movimentos emergentes celulares em distintos padrões de migração. Nós usamos um modelo de matéria ativa para simular uma versão *in silico* do experimento de Vedula com o objetivo de identificar os mecanismos físicos responsáveis pelos padrões observados e o efeito dos contornos. Mostramos, juntamente com outros resultados, que o formato do reservatório a partir do qual as células migram também define padrões emergentes como os encontrados experimentalmente. Esse detalhe não foi mencionado nos resultados experimentais, mas resultou ser fundamental nas simulações. Assim, concluímos que, estando correta a hipótese de modelamento de matéria ativa usada, a forma e o tamanho do reservatório são aspectos fundamentais a serem analisados em experimentos futuros.

Abstract

Efficient wound healing is an evolutive advantage acquired over millions of years of mutations and natural selection. This mechanism is important not only for its obvious biological role, but also for the study of tissue growth, collective cell migration and the cell-to-cell feedback process, dynamics and transport of information in systems far from equilibrium and in tumor growth. Our motivation came from a wound healing *in vitro* experiment - by Vedula *et al* 2012 - where it was shown that different types of geometric confinement induce cells emergent movement into distinct migration patterns. We used an active matter model to simulate an *in silico* version of Vedula's experiment aiming to understand further collective movement response to this kind of geometrical boundaries. We show, along with other results, that the shape of the reservoir – where cells are migrating from – also defines emerging patterns as those found experimentally *in vitro*, previously associated only to different track widths. This detail was not mentioned in the experimental result, but resulted to be fundamental in the simulations. Hence, within the limits of the active matter approach followed here, we conclude that the shape and size of the reservoir are fundamental aspects to be analyzed in future experiments.

Sumário

Capa	i
Agradecimentos	ii
Citações	iii
Resumo	iv
Abstract	v
Sumário	1
1. Introdução	3
2. Revisão Bibliográfica	6
2.1 Migração celular coletiva e cicatrização	6
2.2 Matéria ativa	9
2.3 Experimento de Vedula	16
3. Metodologia	21
3.1 Modelo de Matéria Ativa	21
3.2 Simulações	27
3.2.1 Parte 1 - Vórtices, Lagartas e a Parede	27
3.2.2 Parte 2 - Diagrama das posições dos centros de massa pelo tempo e Velocidade de Migração	29
4. Resultados	34
4.1 Rotações por confinamento e parede perturbativa	34
4.2 Vórtices em reservatório isolado e lagarta em trilho isolado	35

4.3	Movimento de lagarta em todos os trilhos	36
4.4	Oscilações no reservatório determinam movimento tipo lagarta nos trilhos .	37
4.5	Frequência de oscilação no reservatório é maior para agregados mais sólidos	41
4.6	Velocidade de migração é crescente com a largura dos trilhos	43
5.	Conclusões	47
6.	Considerações Finais e Perspectivas	48
7.	Referências Bibliográficas	51

Capítulo 1

Introdução

A motivação do nosso trabalho surge com o experimento de Vedula *et al* de 2012 onde, num experimento inovador de cicatrização, foi mostrado que diferentes confinamentos geométricos induzem o movimento coletivo das células em distintos padrões emergentes. Foi mostrado também que esses padrões macroscópicos são regulados pelas interações microscópicas entre as células. Ao nosso ver, tal resultado encontrado salienta a universalidade da importância do ambiente e das condições de contorno na modulação dos padrões apresentados por sistemas físicos. Tal questão poderia ser abordada de diferentes maneiras; escolhemos aqui utilizar a abordagem física da *matéria ativa*, valendo-nos de modelos numéricos mínimos pertencentes à *classe de Vicsek*. Esses são conhecidos pela simplicidade e fácil implementação, com bons resultados fenomenológicos aplicados à dinâmica coletiva de seres vivos e não vivos.

O problema estudado aqui é a dinâmica bidimensional de partículas auto-propelentes que interagem somente por interações locais com seus vizinhos, confinadas em alta densidade dentro de um reservatório finito (uma caixa quadrada ou retangular), cuja parede impede o escape das partículas por reflexão (atenuada ou não) da velocidade das mesmas. Esse reservatório é conectado a um único trilho e em $t = 0$ (no início do movimento) as partículas que estão confinadas, e assim sujeitas a consideráveis flutuações de pressão devido a combinação de alta densidade somada aos movimentos não lineares típicos em sistemas auto-propelentes, são confrontadas com uma superfície, ou melhor um corredor, livre de obstáculos a não ser pelas paredes que definem o trilho e, para tempos futuros, pelas próprias partículas que já adentram no mesmo. Analisamos os movimentos subsequentes de invasão no trilho de modo a ter um entendimento geral desse sistema. Além de optarmos pelo uso de modelos mínimos, também optamos por análises simples e, sempre que possível, relacionamos os comportamentos do nosso sistema com sistemas e grandezas físicas

bem conhecidas. Uma vez que temos uma motivação biológica bem definida, tomamos o cuidado de, nas simplificações adotadas, não perder as quantidades físicas de interesse e de não distanciar as análises teóricas das grandezas que podem ser medidas experimentalmente. Devido a essa motivação biológica nos concentramos em analisar os movimentos subsequentes à invasão, buscando correlacionar a forma e o tamanho do reservatório e a largura dos trilhos com os comportamentos emergentes do sistema de partículas. Como resultado, obtivemos considerável entendimento físico do sistema proposto, bem como resultados qualitativos e quantitativos que relacionam os movimentos no interior dos trilhos com os movimentos no reservatório e com grandezas físicas, tanto do modelo numérico quanto do sistema biológico.

Na física esse trabalho contribui para o entendimento da dinâmica do movimento coletivo auto-propelente de sistemas longe de equilíbrio. Estando situado na área de materiais condensados moles (ativos), construções físicas-matemáticas como emergência, transições de fase, clusterização, a importância do transporte microscópico de informação no meio para a regulação de padrões macroscópicos, quebras espontâneas de simetria, bem como considerações específicas em respeito às propriedades características da dinâmica de materiais ativos, são abordados nesse trabalho. Tendo um caráter interdisciplinar, este trabalho contribui também para os campos da biologia e da implementação de modelos físico-matemáticos numéricos aplicados a sistemas ativos confinados.

Na biologia este trabalho é inserido na área de migração celular coletiva visando cicatrização. Além do claro papel biológico, por exemplo no fechamento de feridas prevenindo infecções, o estudo de cicatrização também contribui para o entendimento de crescimento de tumores, migração e formação de tecidos, morfogênese e inclusive sobre o passado evolutivo dos seres vivos. Os clássicos ensaios de cicatrização (do inglês, *wound healing*) são amplamente usados na biologia para estudar tal fenômeno. Nas últimas décadas, com o avanço da computação e de modelos físico-matemáticos aplicados à biologia, modelos numéricos e simulações tem sido utilizados com a mesma finalidade, tendo a vantagem de serem menos custosos e mais acessíveis.

O texto é estruturado como segue: no capítulo 2 a revisão bibliográfica é feita, constituída de três seções que foram os pilares desse trabalho, sendo o tamanho de cada uma relativo a importância para o estudo aqui apresentado. No capítulo 3 é discutida a metodologia com duas seções: uma focando no modelo utilizado e a outra nas simulações e nos processos de medida adotados. No capítulo 4 apresentamos os nossos resultados, onde os

três primeiros são de natureza qualitativa e os três últimos de natureza quantitativa. No capítulo 5 temos um resumo sucinto das conclusões concretas obtidas com este trabalho. No capítulo 6 são discutidas as perspectivas juntamente com considerações finais a respeito da física do sistema estudado e de críticas e defesas ao modelo escolhido. Ao longo de todo o trabalho encontram-se [links](#) em azul para vídeos de experimentos (que podem ver vistos na versão *on line*) e simulações que, em algum casos, são utilizados para facilitar o entendimento e, em outros, são necessários para a visualização dos resultados.

Caso haja dúvidas, contribuições ou correções sobre este trabalho, por favor entre em contato via e-mail para paulocg33@gmail.com com o assunto **tcc - modos de oscilação trilho-reservatório**.

Capítulo 2

Revisão Bibliográfica

2.1 Migração celular coletiva e cicatrização

Nesta secção explicamos os conhecimentos biológicos mínimos, mas suficientes para o bom entendimento físico deste trabalho. É dada uma explicação geral sobre a estrutura individual de uma célula, sobre o rastejamento celular (do inglês *cell crawling*), sobre como células interagem fisicamente umas com as outras para formar um tecido e sobre teorias e técnicas experimentais abordando o problema.

Células são estruturas complexas auto-propelentes que conseguem se mover sozinhas ou em grupo sem precisar necessariamente de estímulo externo, embora campos químicos muitas vezes ajudem a direcionar seus movimentos. Células não são pontos; se comparadas, são muito mais semelhantes com um ser humano do que com um átomo, principalmente quando se trata do movimento coletivo. Pensar numa célula como uma estrutura pontual, que sob ação de forças resulta em uma aceleração proporcional a sua massa, não é uma abordagem frutífera. Células andam na direção de sua polarização, persistentemente andam na direção que a informação captada do ambiente ou de seu própria interior as guia. Essa direção é definida pela reestruturação das engrenagens internas da célula (cito-esqueleto) que, uma vez polarizada, permite o seu deslocamento. Ao tentar-se modificar a trajetória de uma célula, por exemplo, aplicando uma força transversal ao seu deslocamento (como se faria com uma bola de bilhar), com certeza a célula se moldará a esse obstáculo e continuará sua trajetória como se nenhum empecilho tivesse ocorrido.

A membrana de uma célula é dotada de diferentes proteínas especializadas capazes de interpretar sinais eletroquímicos do ambiente externo e de aderir a células vizinhas ou a matriz extra celular (o *chão* em que as células precisam se aderir para andar), como mostra a figura 2.1-B. As adesões célula-célula são muito semelhantes a um velcro (fig.

2.1-A). O que define a forma e dá sustentação a uma célula é o arranjo interno do seu citoesqueleto. Na figura 2.1-C,D podemos ver em destaque a complexa rede de proteínas que compõe o citoesqueleto. Uma característica fundamental do citoesqueleto é ser capaz de se rearranjar dependendo da necessidade ou da função desempenhada pela célula. Uma mesma célula pode assumir uma forma esférica, em preparação para mitose por exemplo, e em outro instante assumir uma forma amorfa. O deslocamento (rastejamento) de uma célula depende tanto da contratilidade/rearranjo do citoesqueleto quanto da capacidade da célula de se aderir e (desgrudar-se) do substrato. A figura 2.1-E descreve um modelo aceito atualmente sobre rastejamento celular e a legenda explica-o. Modificar fortemente, através de um tratamento químico por exemplo, alguma dessas habilidades, em geral, implica a extinção ou a modificação do padrão de movimento. A referência [1] é um link para um vídeo que explica o rastejamento celular.

Para esse trabalho é suficiente pensar em um modelo simples onde uma *toy* célula é feita de um aramado flexível e capaz de se reestruturar (o citoesqueleto), coberto com um balão resistente e quase murcho (a membrana plasmática) com dois tipos de tiras de velcro coladas cobrindo toda a superfície do balão. Um deles que se adere as outras células (as caderinas) e outro que se adere ao substrato (outras proteínas de adesão extracelular).

A cicatrização de feridas é um processo resultante do movimento coletivo das células, que por sua vez depende das características individuais descritas nos parágrafos acima. Quando nos cortamos, a pele fica aberta e nessa região do epitélio diversos sinais químicos são liberados alertando as células periféricas sobre o corte. Essa porção de epitélio então migra coletivamente até o local da ferida prevenindo infecções e, com o tempo, promovendo a renovação do tecido a partir de mitose. Poderia se definir a lei "epitélios não permitem defeitos (espaços em branco)", com a ressalva "desde que tenha algum substrato aderente nesse defeito". O padrão epitelial ocupando toda a superfície é o que se chama de confluência. Neste estado as células ficam numa conformação hexagonal com uma média de 6 vizinhos. Tendo densidade suficiente, esse padrão confluyente é preservado nas células epiteliais mesmo nos processos de migração. Por esse o motivo usa-se a expressão *migração de uma folha de células* (do inglês *cell sheet*) ou migração de tecido, pois realmente é um tecido confluyente migrando para fechar a ferida.

Experimentos de cicatrização tanto *in vitro* como *in vivo* (e mais recentemente *in silico*) são amplamente utilizados para estudar esses fenômenos epiteliais. A figura 2.2-B mostra diferentes ensaios, em geral são gerados retirando-se algumas fileiras de células

de uma *monocamada* (i.e. confluenta), e depois analisando-se os movimentos celulares subsequentes. Existem diversas maneiras para analisar esses movimentos, sendo a grande maioria delas focada nas especificidades biológicas dos agentes. Neste trabalho, no entanto, escolhemos entender este problema fisicamente focando nas características coletivas do seu *material ativo*.

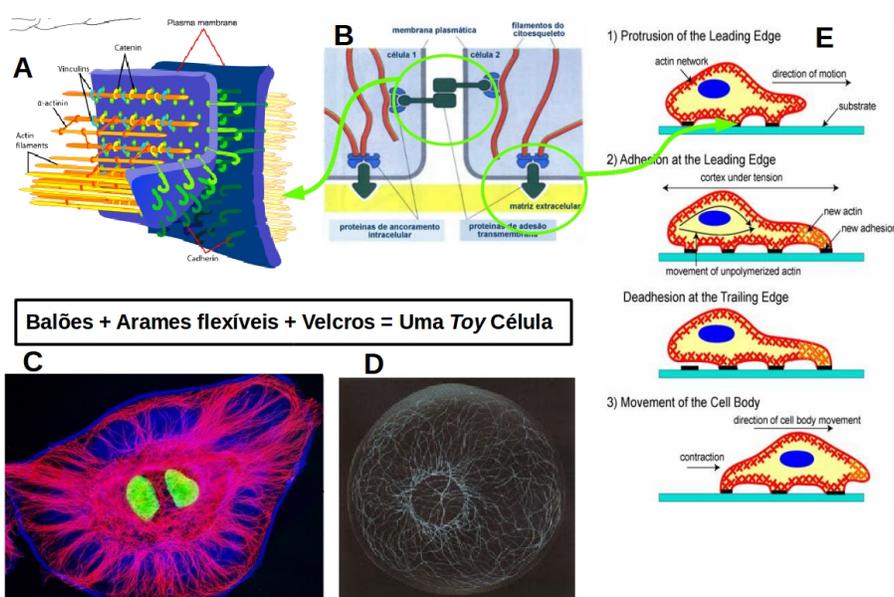


Fig. 2.1: (A) Caderinas na membrana plasmática no padrão em velcro aderindo duas células. (B) Em verde, salientado os focos de adesão célula-célula e célula-substrato. (C,D) Proteínas do citoesqueleto destacadas (rosa e cinza). (E) Modelo de quatro etapas do rastejamento celular: protrusão da frente celular, adesão ao substrato, desligamento da traseira e contração do citoesqueleto promovendo movimento. Crédito das imagens: (A,B) [2]; (C) [3]; (D) [4]; (E) [5].

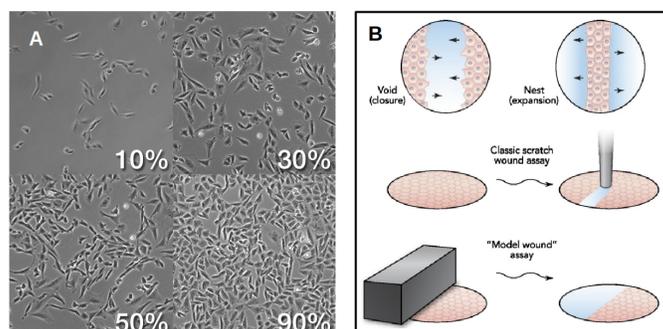


Fig. 2.2: (A) Diferentes confluências em amostras de queratócitos. (B) Diferentes ensaios de cicatrização (do inglês *wound healing*). No meio, ensaio clássico, descrito no corpo do texto, em baixo, similar ao que motivou esse trabalho. Crédito das imagens: (A) [6] e (B) [7].

2.2 Matéria ativa

Nesta seção trataremos de um tema fundamental do trabalho: **Matéria Ativa** (MA). MA é um ramo da matéria condensada mole onde as partículas materiais tem a característica individual de serem auto-propelentes. Revoadas de pássaros, cardumes de peixe, enxames, pedestres, tráfego, bactérias, células, partículas auto-propelentes artificiais, biopolímeros auto-organizantes como microtúbulos e actina (presentes no interior de células) são todos exemplos de sistemas de MA. Devido à riqueza de cenários fenomenológicos acerca do movimento coletivo desses sistemas, esse ramo tem sido de grande interesse de físicos nos últimos anos.

Boa parte do ferramental estatístico e matemático - bem como conceitos físicos importantes - da matéria condensada estão presente no campo de MA. Emergência, quebra espontânea de simetrias, polarização, transições de fases, expoentes críticos, percolação, clusterização, transporte de informação, defeitos, *bulk-surface effects*, funções de correlação, são conceitos centrais para quem trabalha na área. Apesar dessas relações, há quem diga que a MA seja uma área completamente nova devido a uma característica intrínseca das partículas desses sistemas: elas movem-se sozinhas. O fato das partículas se moverem variando suas velocidades sem a ação de uma força resultante externa não nula implica que esses são sistemas fora do equilíbrio. Um comportamento emergente particularmente interessante é o surgimento **espontâneo** do movimento coletivo sem líder, sem campo externo ou sem confinamentos geométricos para guiar o movimento. Sob parâmetros adequados, um grupo de partículas começa a deslocar-se como um todo quebrando a simetria orientacional do sistema. Uma vez ocorrida essa transição, diz-se que o conjunto se encontra *polarizado*.

O **modelo de Vicsek** (MV) é uma abordagem para tratar matéria ativa que fez muito sucesso com os físicos nas duas últimas décadas devido à rica fenomenologia que ele apresenta. Esse modelo foi introduzido em 1995 por Vicsek e colaboradores [8]. O sucesso do MV vem do fato dele ser um *modelo mínimo* - onde a complexidade matemática é minimizada sem perder os padrões emergentes característicos da matéria ativa. Valendo-se apenas de partículas puntiformes auto-propelentes sujeitas a interações simples e locais é possível observar uma transição de fase de movimento browniano para movimento coletivo ordenado. Esse representaria desde o movimento do estouro de boiadas até a migração de bactérias, ajudando a revelar a existência de uma classe de universalidade no movimento coletivo presente nas mais diversas escalas.

Apesar de Vicsek ser considerado o *pai* dessa área, a história do MV surge antes, com o cientista da computação gráfica *Craig Reynolds* em seu trabalho sobre *Boids*¹. É um modelo que se baseia na interação visual (e de exclusão de volume) de revoadas de pássaros, cardumes de peixe e rebanho de mamíferos terrestres. O importante é entender que os complexos padrões coletivos de revoadas e cardumes são uma consequência do fato que cada animal consegue, individualmente, redirecionar a sua trajetória (segundo alguma lei) de acordo com a mudança de trajetória dos seus primeiros vizinhos, não havendo a necessidade de um líder. Por exemplo, imagine você e seus amigos caminhando e conversando no shopping. A fim de manter o grupo coeso (para poder continuar conversando por exemplo), você acaba dobrando à direita simplesmente por que você viu seu amigo ao lado fazer o mesmo. Ou ainda, quando continuamos andando em linha reta, simplesmente porque nossos amigos estão fazendo isso, resultando em situações onde ninguém sabia para onde estava indo (movimento sem liderança), mas todos continuam andando (migração persistente). Outro caso é quando estamos tão focados no que estamos contando que não percebemos a curva à esquerda feita pelo grupo e continuamos em linha reta, separando-nos do mesmo. Esse é um exemplo claro da importância do transporte de informação, pois no momento que a informação *dobre a esquerda* não chega a uma parte do agregado, ocorre fragmentação [9]. Tendo dito isso e sabendo que as interações só ocorrem dentro de uma vizinhança pré-definida, consultar a figura 2.3 é suficiente para entender o resto do modelo de Reynolds.

O MV é baseado em três regras simples²:

- Partículas sempre se movem e fazem isso com um passo de velocidade de módulo constante (auto-propelência);
- Uma partícula tende a alinhar o sentido da sua velocidade com o das suas vizinhas (ordem);
- Toda a partícula tem um ruído intrínseco que tende a desalinhar o sentido, ou que dificulta o alinhamento, da sua velocidade com o das suas vizinhas (desordem).

¹ O nome Boid é uma versão encurtada de *bird-oid object*, que a tradução seria *objetos tipo pássaro*, fazendo referência ao comportamento animal que Reynolds desejava reproduzir com seu modelo.

² No trabalho original de 1995 Vicsek alega que seu modelo tem só uma lei, mas acredito que a separação em três leis deixa mais claro o entendimento da dinâmica do sistema.

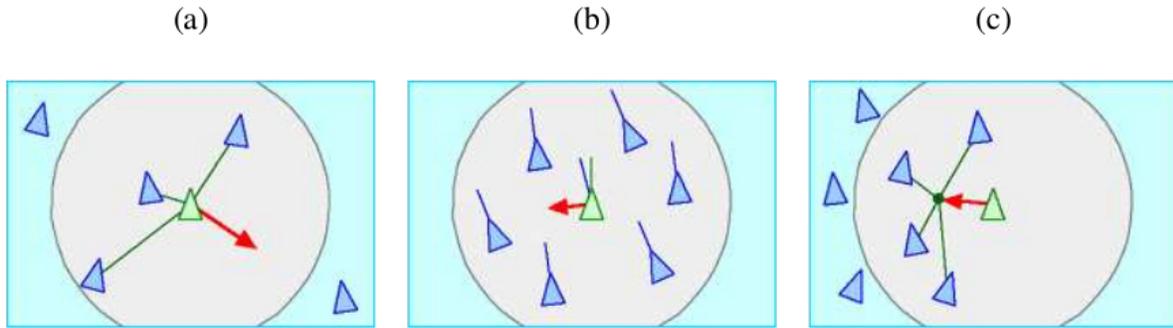


Fig. 2.3: Imagem retirada de [10], ilustrando as três regras de movimento propostas por Reynolds. A região circular cinza é definida como a **vizinhança**. (a) Separação: redirecionamento para evitar regiões muito povoadas. (b) Alinhamento: alinhamento da direção em relação média das direções de suas vizinhas. (c) Coesão: redirecionamento em direção ao centro de massa da vizinhança.

A primeira equação do MV original em duas dimensões [8] é dada por

$$\mathbf{r}_i^{t+1} = \mathbf{r}_i^t + v_0 \mathbf{u}_i^t dt \quad \text{com} \quad |\mathbf{u}_i^t| = 1 \quad \forall t \quad (2.1)$$

onde v_0 é o módulo constante da velocidade e $\mathbf{u}_i^t = (\cos(\theta_i^t), \sin(\theta_i^t))$ é o vetor unitário que dá o sentido da velocidade. Essa equação define a característica *auto-propelente* do sistema. O índice i refere-se a cada partícula, $i = 1, 2, \dots, N$ e t representa o tempo. A segunda equação define a direção da velocidade da partícula (vetor \mathbf{u}_i^t):

$$\theta_i^{t+1} = \text{Arg} \left[\sum_j n_{ij}^t \mathbf{u}_j^t \right] + \eta \xi_i^t \quad (2.2)$$

onde o primeiro termo da direita da equação é responsável pelo alinhamento e o somatório em j é sobre todas as partículas. Já n_{ij}^t é a matriz de adjacência dada pela equação

$$n_{ij}^t = \begin{cases} 1 & \text{se } |\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t| < d_l \\ 0 & \text{se } |\mathbf{r}_j^t - \mathbf{r}_i^t| > d_l \end{cases} \quad (2.3)$$

sendo d_l a distância limite de interação. Basicamente diz que a *vizinhança* de uma partícula é um círculo de raio d_l e que essa partícula tentará alinhar o sentido da sua velocidade com todas as partículas dentro dessa vizinhança - incluindo ela mesma. A equação 2.3 é muitas vezes chamada de *métrica*, diferenciando assim dos MV topológicos, onde temos fixo o números de vizinhos ao invés da vizinhança. O interessante desse formalismo *métrico* é possibilidade de tratar o modelo usando *redes*, no entanto, até agora, não se obteve muito

sucesso, pois os links dessa rede (as vizinhanças) são alteradas a cada tempo introduzindo uma imprevisibilidade difícil de ser tratada. No entanto, no limite $d_l \rightarrow \infty$ temos uma rede bem comportada (no sentido que todas as partículas são vizinhas umas das outras) com uma vizinhança global bem definida, mas assim acabamos perdendo boa parte das peculiaridades emergentes [11].

O segundo termo da direita da equação 2.2 é responsável pelo desalinhamento (desordem). O parâmetro η é o módulo do ruído branco³ escalar uniforme ξ que contribui para o sentido da partícula com um valor entre $[-\pi, \pi]$. Quanto maior for o valor de η , mais imprevisível será o sentido da velocidade da partícula sendo que no limite onde $\eta \rightarrow \infty$ (ou $d_l \rightarrow 0$) tem-se um caminhante aleatório persistente bidimensional.

Costuma-se trabalhar com $\eta \in [0, 1]$ e com $d_l = dt = 1 \gg v_0 dt$. Isso, junto com o fato de ser simples a implementação das equações, faz com que o MV seja muito econômico computacionalmente. Sendo A a área do sistema e $\rho = \frac{N}{A}$ a densidade, é fácil de se convencer que quanto maior o valor de ρ , maior será o número de vizinhas e maior será contribuição do termo de alinhamento no movimento, implicando maior ordem no sistema. Apesar de hoje em dia já existirem adaptações do modelo em 3 dimensões ([12],[13],[14]) e com diferentes tipos de contornos não periódicos e confinamentos⁴ ([15],[16],[17]), muitos deles - incluindo o modelo original - ainda tratam da evolução de partículas em uma caixa bidimensional quadrada com contornos periódicos. Nesses casos o contorno periódico é escolhido, pois se está interessado no *bulk* do sistema e a periodicidade ajuda a minimizar os *efeitos de tamanho finito* encontrados no mesmo.

O MV têm três parâmetros de controle v_0, ρ, η , sendo que a relação entre os dois últimos (para v_0 fixo) define o diagrama de fases do modelo (fig. 2.4-B), caracterizado por uma transição descontínua entre ordem/desordem [18]. A relação densidade/ordenamento, bem como a boa aplicabilidade do MV a movimentos celulares podem ser vistos em vídeo nos links: [simulação- \$\rho - \eta\$, queratócitos](#) (crédito aos vídeos: [15]). Na simulação não foi usado o MV original, mas a relação ordem/densidade é equivalente. No experimento, são queratócitos migrando.

O parâmetro de ordem (global) utilizado para identificar a transição de fase é dado

³ Um ruído é dito branco quando têm média zero $\langle \xi_i^t \rangle = 0$ e é delta-autocorrelacionado. $\langle \xi_i^t \xi_j^k \rangle \sim \delta_{k_j} \delta_{i_j}$

⁴ Pode-se confinar partículas usando um campo com interação de longo alcance, por exemplo quimiotaxia e gravitação

pela equação (ver figura 2.4-A):

$$\varphi(t) = \frac{1}{N} \left| \sum_{i=1}^N \mathbf{u}_i^t \right| \quad (2.4)$$

onde N é o número de partículas e \mathbf{u} é o vetor unitário que dá o sentido das mesmas. Esse é um parâmetro de ordem polar análogo a magnetização nas transições ferromagnéticas do modelo de Ising bidimensional e do modelo XY⁵. De fato, no regime onde $v_0 \rightarrow 0$ e a densidade é suficientemente grande as equações do MV ficam muito similares as do modelo XY [11]. Análogo ao modelo de Ising, o MV apresenta uma quebra espontânea de simetria desordenada para uma ordem polar que - definida pelo termo de alinhamento na eq. 2.2 - é um invariante do grupo $O(2)$. Partindo de um sistema simetricamente desordenado, se o módulo do ruído for diminuído abaixo do limiar da transição, qualquer um dos 360° de polos de alinhamento terá a mesma densidade de probabilidade de $\frac{1}{2\pi}$ de ocorrer. Assim diz-se que o MV apresenta uma quebra espontânea de simetria contínua, passando de uma fase desordenada (apolar) para uma fase movente (ordem polar).

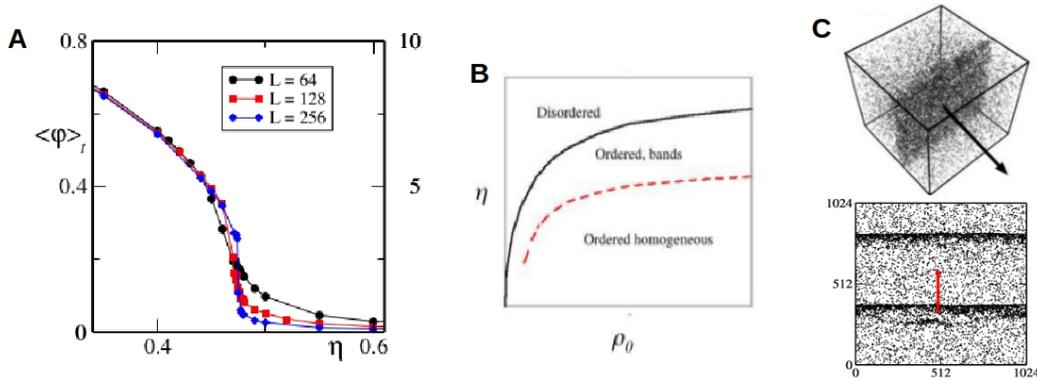


Fig. 2.4: Fonte: [11]. (A) Para ρ fixo vemos o gráfico do parâmetro de ordem $\langle \varphi \rangle$ pelo módulo do ruído η para diferentes tamanhos de sistemas. Com η decrescente e tamanhos maiores de sistema, nota-se o típico salto de uma transição descontínua. (B) Diagrama de fases característico de todos os sistemas (modelos ou não) pertencentes a *classe de Vicsek*. Linha preta separa as regiões de desordem, para altos valores de η e baixos valores de ρ , da região de ordem, η pequeno e ρ alto. Vemos também uma região intermediária, acima da linha vermelha, onde encontra-se a coexistência (estável) das fases desordenadas e ordenadas. (C) Simulação em 3 e 2 dimensões (d) na regiões de coexistência. Vemos, em 2d, bandas densas ordenadas migrando em um mar de desordem rarefeita. Em 3d as bandas são planos migrantes. Essa região de coexistência de estados reflete a natureza da transição de primeira ordem da classe de Vicsek.

⁵ O XY é similar ao modelo de Ising, mas ao invés de só 2 polos ele tem 360° de polos de alinhamento.

Talvez devido a essas semelhanças entre os modelos, mas com certeza devido às primeiras simulações feitas terem apresentado, aparentemente, alcance infinito no alinhamento entre as partícula após a quebra de simetria, acreditava-se que o diagrama de fase do MV apresentasse uma transição contínua de segunda ordem. Foi só depois de uma longa - e calorosa - disputa que Hugue Chaté e seus colaboradores [19] mostram que, para um sistema suficientemente grande, o MV apresenta uma transição descontínua - de primeira ordem - ao redor da região de transição ordem/desordem. Em tal regime tem-se a coexistência de bandas (ou planos em 3 dimensões) migrantes [14], estendidas na direção perpendicular à migração, com densidades superiores a ρ_c e de regiões rarefeitas de partículas simetricamente desordenadas (fig. 2.4-C). Vale salientar que tais resultados não foram obtidos antes devido aos fortes efeitos de tamanho finito do sistema usado.

Com o sucesso do MV, varias adaptações surgiram nas últimas duas décadas, tornando popular o uso da expressão modelos *tipo Vicsek*. Uma das adaptações mais interessantes (para este trabalho) é o modelo tipo Vicsek de 2003 de Grégoire e colaboradores [20] onde usa-se um ruído vetorial, ao invés do angular dado pela equação 2.2, e adiciona-se uma segunda interação com a vizinhança do tipo *harmônica mais caroço duro* que dá um volume de exclusão às partículas e promove a coesão do agregado mesmo para um limite de densidade zero. No entanto, modificações da mesma natureza das feitas por Grégoire não alteram o destino assintótico do sistema, e assim, apesar do grande número de adaptações, todos aqueles que apresentarem as mesmas características básicas do MV, também apresentarão o mesmo diagrama de fases (fig. 2.4-A) e destino assintótico. Todos esses modelos pertencem a mesma classe de universalidade chamada de *classe de Vicsek*. As propriedades básicas que se mudadas alteram o destino assintótico, segundo Ginelli [11], são:

- O tipo de quebra de simetria espontânea: mudando quebra espontânea de simetria de polar para *nematics* (invariante a uma rotação π), por exemplo, implica um destino diferente para o sistema.
- Partículas serem auto-propelentes e de interação local: com $l \rightarrow \infty$ temos uma interação de longo alcance com uma vizinhança global bem definida que acaba com a característica longe do equilíbrio do sistema.
- E as leis de conservação: a única lei de conservação é a conservação do número de partículas. No entanto o MV apresenta uma lei de *não conservação* que se alterada

pode mudar o destino assintótico. O MV **não** apresenta conservação de *momentum*, uma vez que as partículas sempre realizam um deslocamento de mesmo módulo independente das forças que atuem sobre as mesmas (ver figura 2.5). Refere-se a esses modelos como *matéria ativa seca*, pois as partículas se movem na ausência de um meio material. Em contraste, os modelos de *matéria ativa molhada* levam em conta as considerações hidrodinâmicas de um meio material. Nesses casos as partículas trocam *momentum* com o fluido ao redor e assim podem conservar o mesmo, caindo então fora da *classe de Vicsek*.

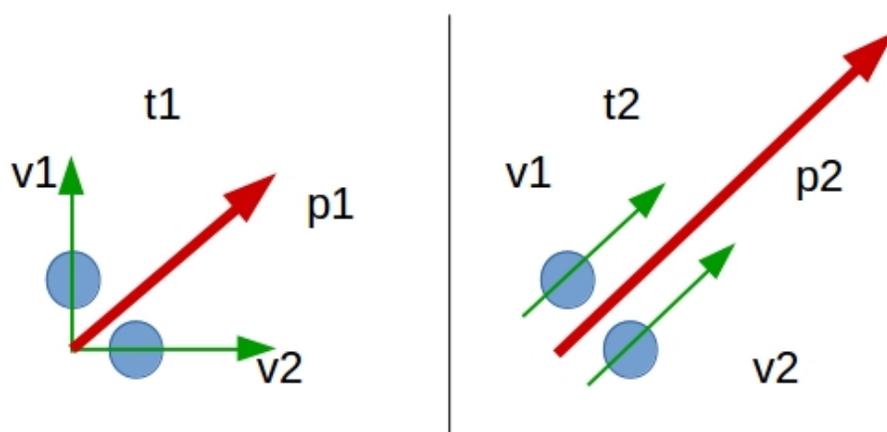


Fig. 2.5: Ilustração demonstrando a *não conservação de momentum* no MV. Em verde vemos o vetor velocidade de cada partícula e em vermelho o momento total do sistema. Em t1 há a interação (choque) entre as duas partículas e em t2 vemos o alinhamento após o choque dado pela equação 1.2. Claramente se vê que o momento não é conservado, pois apesar de p1 e p2 terem o mesmo sentido, o módulo de p2 é o dobro de p1 - uma vez que o módulo das velocidades sempre permanece o mesmo.

Vale salientar que mesmo o MV tendo casos limites que se assemelham a sistemas em equilíbrio, alguns deles demonstrados ao longo desta secção, como o caminhante aleatório e o modelo XY, esse casos são apenas singulares não sendo possível construir o diagrama de fases correto do sistema através dele. E ainda o MV está muito longe do limite termodinâmico uma vez que mesmo os maiores sistemas ativos (e simulações) não passam da ordem de alguns milhões de partículas (muito longe de 10^{23}).

2.3 Experimento de Vedula

Esta secção trata do artigo de 2012 de Vedula *et al*, que motivou este trabalho, onde foi introduzido um experimento *in vitro* de cicatrização [21]. Partindo da premissa que já é reconhecido o papel de confinamentos geométricos na migração celular (mas ainda não elucidado), Vedula e colaboradores mostraram que diferentes tipos de geometrias induzem (no mesmo grupo de células) distintos modos emergentes de migração celular. Também mostraram, alterando características básicas das células (através de dopagens químicas), a importância das interações célula-célula na regulação e manutenção desses padrões emergentes de movimento. Em outras palavras, numa interpretação mais física, mostraram que:

- As condições de contorno são tão importantes nesse sistema classicamente tratado como *biológico*, quanto são para tantos outros sistemas tratados classicamente como *físicos*.
- As leis de transporte de informação (interações célula-célula), assim como em tantos outros sistemas condensados clássicos, são determinantes na forma dos padrões macroscópicos do sistema.

No experimento, células epiteliais MDCK - *Mandyn-Darbin canine kidney* - foram cultivadas (crescidas) dentro de um reservatório retangular até a confluência, formando uma *monocamada de células*. Trilhos de *fibronectina* com larguras de $20\mu\text{m}$, $100\mu\text{m}$, $400\mu\text{m}$ (muito menores que o tamanho do reservatório) foram conectados ao reservatório e um obstáculo físico feito de polydimethylsiloxane (PDMS) foi utilizado para impedir que as células invadissem os mesmos, conforme mostra a figura 2.6-A. O tamanho médio dessas células é da ordem de $10\mu\text{m}$, variando de acordo com a densidade, assim no **trilho fino** ($20\mu\text{m}$) conseguem passar no máximo 2 células ao mesmo tempo, no **trilho médio** ($100\mu\text{m}$) passam na ordem de 10 e no **trilho largo** ($400\mu\text{m}$) na ordem de 40 células.

Células precisam de um substrato para se locomover. Como visto na secção 1.1, o processo de *rastejamento* (*crawling*, no inglês) de células epiteliais baseia-se na contratilidade direcionada (polarizada) do seu citoesqueleto que puxa seu corpo através dos focos de adesão na sua *frente de migração* (tradução do inglês *front*) e da liberação da adesão na sua traseira. Sendo assim, invadir um região sem um substrato (para uma célula) seria como para um humano tentar subir uma parede de escalada sem nenhuma agarra. Fibronectina é uma dessas substância a que as células conseguem aderir-se. Uma vez retirado o obstáculo

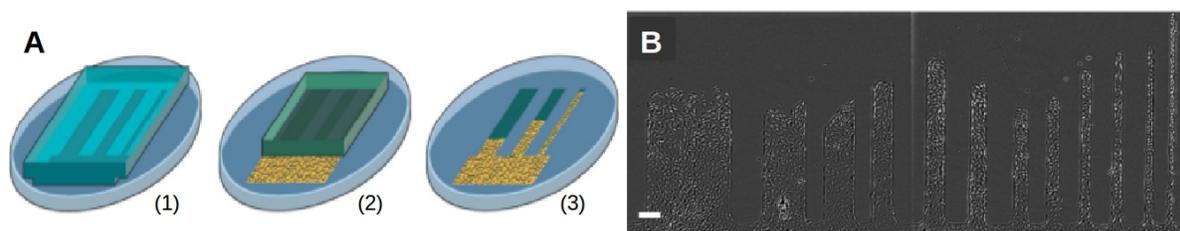


Fig. 2.6: Crédito das imagens: [21]. (A) Ilustração do experimento: (1) trilhos de fibronectina com 3 larguras diferentes conectados ao reservatório; (2) reservatório confluyente e bloco de PMDS impedindo o avanço celular; (3) migração das células após a remoção do bloco, representando o resultado experimental da diferença na velocidade de invasão entre trilhos finos e largos. (B) Foto real do experimento onde a barra de escala tem $100\mu\text{m}$: nota-se a maior velocidade de invasão nos trilhos finos em relação aos mais largos.

físico, a monocamada celular irá invadir as regiões que tem fibronectina - os trilhos - e irá ignorar as regiões onde não há (ver figura 2.6-B). Assim, foi construído um *confinamento geométrico químico*, pois não existe nenhum obstáculo físico impedindo o escape celular dos trilhos, existindo apenas a ausência das conexões químicas que promovem a adesão. Nesse trabalho, chamamos essa situação de *confinamento por uma não parede*, sendo esse um dos desafios, pois ainda não se sabe qual a melhor rotina numérica para implementar uma *não parede* em um algoritmo. Tal desafio é uma consequência de ainda não se saber muito bem como células reagem a uma não-parede e bem como ainda não se saber muito bem como implementar isto usando MV. Assim, além do nosso objetivo principal de mostrar uma correlação entre os movimentos no reservatório com os movimentos nos trilhos, temos também o objetivo de tentar contribuir para essas duas frentes ao mesmo tempo, ou seja, entendimento do modelo físico-matemático e do sistema biológico.

Os **resultados**, encontrados por Vedula e colaboradores, mais relevantes para o nosso trabalho são:

- **Velocidade** de invasão (do *fronte* celular) é **máxima** no **trilho fino**, $\sim 39\mu\text{m}/h$, decrescendo até o valor **mínimo** de $\sim 22.4\mu\text{m}/h$ no **trilho largo** (Ver figura 2.7-A).
- No **trilho largo** encontra-se a formação de **vórtices** da ordem de 10 células e pouquíssima flutuação de densidade, enquanto que no **trilho fino** tem-se uma alta flutuação de densidade e um movimento de migração **tipo lagarta**⁶ (neste trabalho utilizaremos também o nome *flutuação de densidade direcionada* por acharmos

⁶ Tradução da expressão usada no artigo, que faz referência ao movimento característico desse inseto.

que define melhor o movimento). No trilho médio encontra-se uma mistura desses dois padrões. **Vórtices** só foram encontrados para larguras de **trilhos maiores que $100\mu\text{m}$** , ou seja, aparentemente vórtices não aparecem em trilhos menores que o comprimento de correlação deles (ver figura 2.8).

- **Mudando as leis de interação célula-célula** extinguiu-se a diferença de comportamentos emergentes nos trilhos, i.e. **mesmo comportamento em todos os trilhos** (sem lagarta e sem vórtices). **Diminuindo** as caderinas, i.e. os **focos de adesão** célula-célula, as células migraram de forma não coordenada (quase aleatória) resultando em velocidade de migração muito baixas na ordem de $13\mu\text{m}/\text{h}$. Na nossa interpretação física, desligar os focos de adesão fizeram as células entrarem em um **estado tipo gás**. Quando se desligou a capacidade de contratilidade do citoesqueleto, i.e. **extinguíram-se as forças de fricção** [21], mas mantendo os focos de adesão, as células apresentaram um **campo de velocidade** bastante **homogêneo e rápido** na ordem de $33\mu\text{m}/\text{h}$ (ver figura 2.7-B e 2.9).

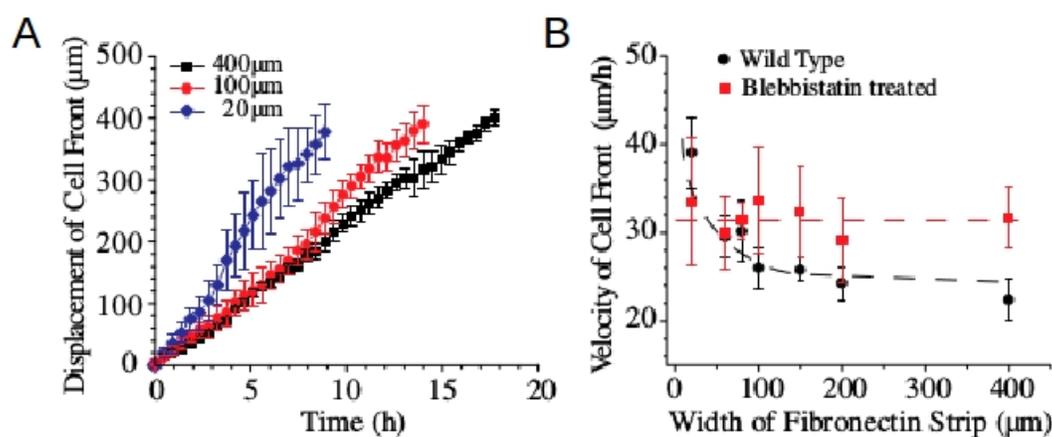


Fig. 2.7: Crédito das imagens: [21]. (A) Diferença nas velocidade de migração do *front* celular para três trilhos de larguras distintas: trilhos mais finos apresentam maiores velocidades. (B) Comparação entre a velocidade de células não tratadas com as que tiveram inibida a contratilidade (usando *blebbistatin*). Vemos que no segundo caso as velocidades pouco variam em relação a largura dos trilhos.

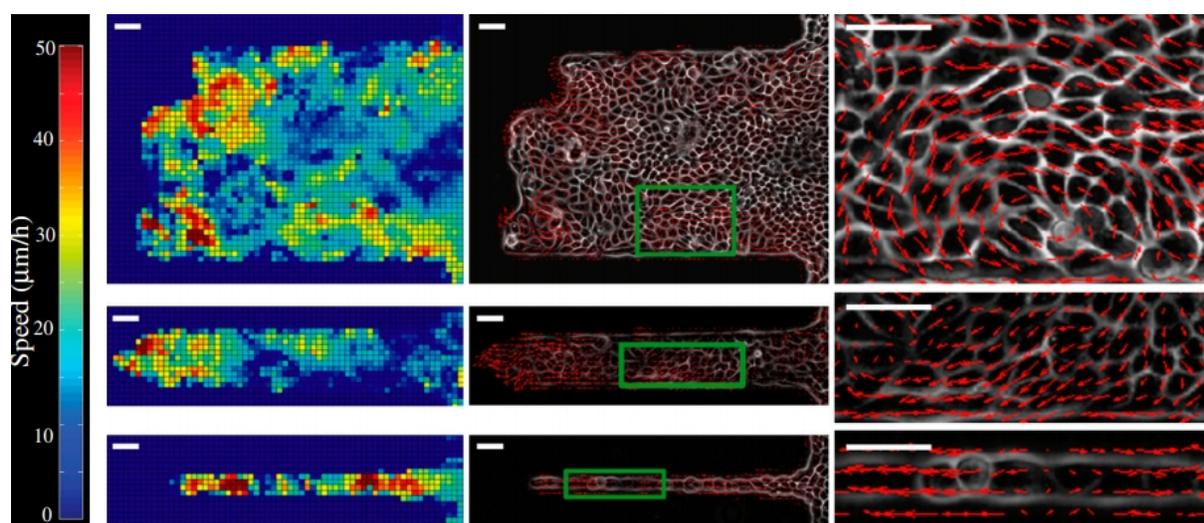


Fig. 2.8: Crédito da imagem: [21]. Imageamento do campo de velocidade celular nos três trilhos de larguras distintas (20 , 100 e $400\mu\text{m}$, de cima para baixo ($10\mu\text{m}$ \approx 1 diâmetro de célula)). À esquerda, o mapa de calor com velocidades altas em vermelho e baixas em azul. No centro, o campo vetorial das velocidades. A direita, *zoom* das áreas centrais destacadas em verde: movimento de lagarta no trilho fino, vórtices no trilho largo e um movimento intermediário no trilho médio.

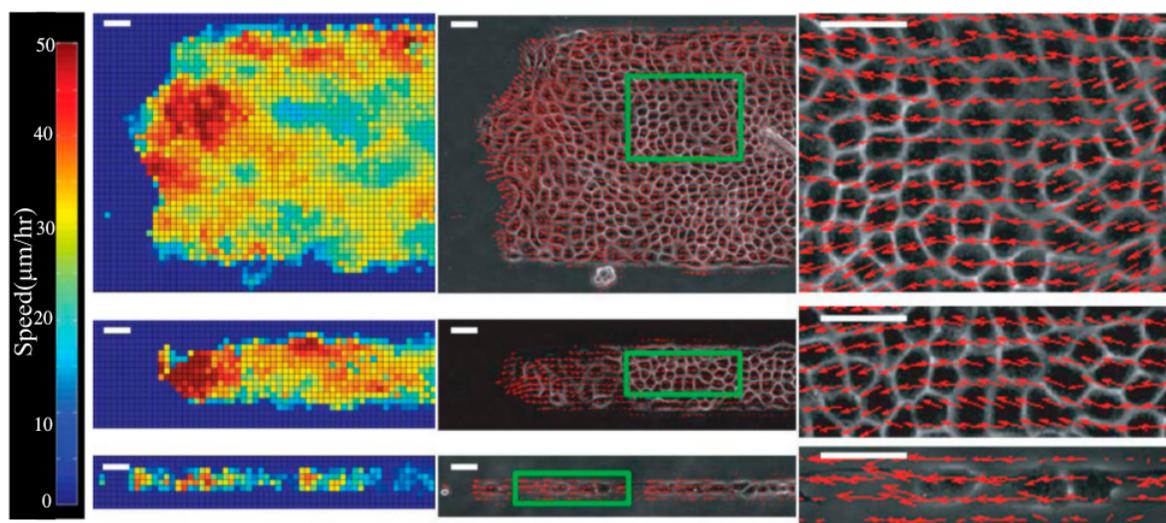


Fig. 2.9: Crédito da imagem: [21]. Mesmo mapeamento de velocidades feito na figura 2.8, mas aqui para as células tratadas com *blebbistatin*. A comparação dessa imagem com a figura 2.8 salienta a importância das leis de transporte de informação para a manutenção dos padrões emergentes coletivos. Interessante de comentar nessa imagem é sobre o comprimento de correlação dos vórtices. Sabemos que para trilhos menores que o comprimento de correlação não há vórtices. Sendo assim, será que essa dopagem que acaba com a fricção no meio, que aparentemente extinguiu os vórtices, não só aumentou muito o comprimento de correlação? Para testar essa hipótese bastaria realizar tal experimento com tamanhos ainda maiores de trilhos.

Capítulo 3

Metodologia

Nesse capítulo discutiremos a metodologia adotada no trabalho. Na primeira secção é visto detalhadamente o modelo de matéria ativa utilizado, onde cada termo das equações é explicado matematicamente e em seguida atribuem-se seus significados físicos. Na segunda, abordamos as simulações, explicando como foram feitas e as medidas adotadas.

3.1 Modelo de Matéria Ativa

Utilizamos aqui um modelo bidimensional de *matéria ativa seca*¹, *métrico* (eq. 2.3), pertencente a *classe de Vicsek*², com um ruído vetorial, com volume de exclusão e com uma interação de alinhamento tipo força radial harmônica (mola) de interação local. Esse modelo é chamado aqui de modelo de Belmonte (MB). Ele foi aplicado em nível celular para testar hipóteses de segregação [22],[12] e na clusterização da ameba *Dictyostelium discoideum* [13]. O MB é uma adaptação do modelo de Grégoire (MG) de 2003, comentado na secção 2.3. Belmonte *et al* simplificaram a força radial do MG e utilizaram a equação 2.3 para ter uma vizinhança de tamanho fixo.

A *novidade* do nosso trabalho é em respeito as condições de contorno utilizadas: introduzimos uma parede rígida com reflexão atenuada, tendo sido essa a nossa escolha para tratar do problema físico do confinamento por uma *não parede*, discutido na secção anterior.

O MG solucionou dois problemas do MV original. O primeiro é devido à manutenção de coesão do agregado (e do seu movimento balístico) ser dependente da periodicidade

¹ Sem considerações hidrodinâmicas.

² I.e. quebra de simetria espontânea para um alinhamento polar, partículas auto-propelentes com interação local, não conservação de *momentum* e transição de fase descontínua entre ordem/desordem.

das condições de contorno. Em um contorno *aberto*, i.e. densidade tendendo a zero, as partículas irão assintoticamente se isolar uma das outras resultando num comportamento difusivo *tipo gás* no sistema. O outro problema é a ausência de volume de exclusão, que é fundamental para sistemas como células ou pedestres. Grégoire e colaboradores resolveram esses problemas ao mesmo tempo introduzindo um segundo termo que combina uma força tipo mola e um caroço duro, permitindo a coesão até no limite de densidade zero, ainda assim conservando a transição ordem/desordem do MV. A figura 3.1 mostra como as interações de alinhamento agem no sistema.

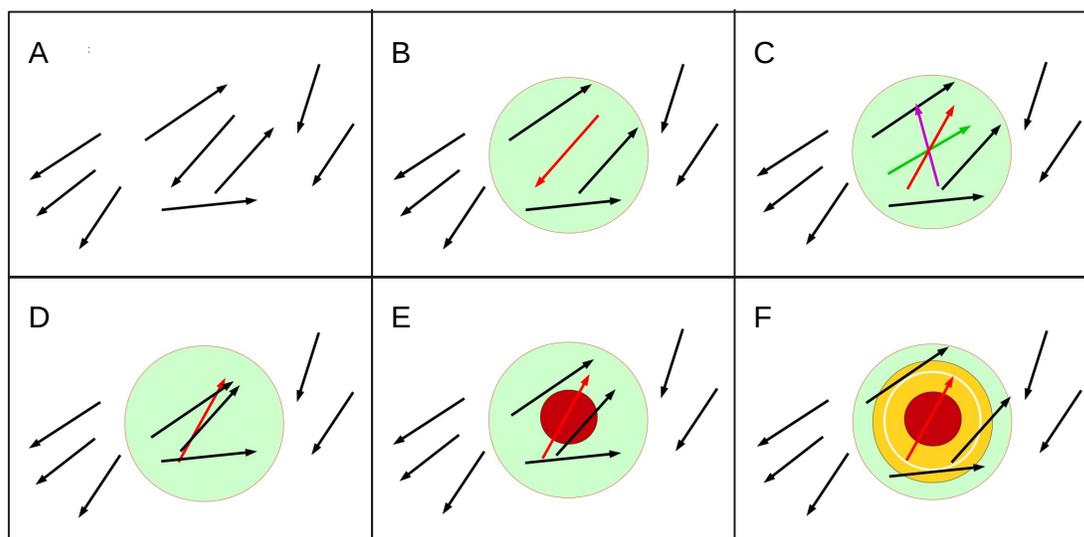


Fig. 3.1: Explicação visual do modelo de Belmonte (que é uma simplificação do modelo de Grégoire). A,B,C e D tratam da interação só de alinhamento de velocidades (MV original); enquanto E e F mostram o efeito da tensão de superfície em conjunto com o alinhamento (MG). Lendo de (A) \Rightarrow (C): Dada uma distribuição de partículas com posições e velocidades aleatórias; cada partícula (seta vermelha) terá uma vizinhança de tamanho fixo (área verde); essa partícula tenderá a alinhar (ordenar) a sua velocidade com a das suas vizinhas (seta verde), mas cada partícula tem também um ruído intrínseco que tenderá a desalinhar (desordenar) a sua velocidade (seta roxa), o sentido final (seta vermelha) é uma soma linear dessas duas contribuições. Lendo de (D) \Rightarrow (F): o alinhamento de velocidades somente não impede que haja sobreposição das partículas, o que não é muito adequado para certos sistemas (como células, ou carros); adicionou-se então um volume de exclusão (área vermelha) que previne a sobreposição; juntamente com uma interação derivada de um potencial harmônico tipo mola (área amarela) que tende a deixar as partículas a uma distância de equilíbrio uma das outras (círculo branco) promovendo a coesão do agregado (tensão de superfície).

O MG, pode-se dizer, está para o MV assim como o modelo do gás Van der Waals

está para o gás ideal. Com o termo de força, a intensidade do alinhamento de velocidades e o ruído, além das transições ordem/desordem, i.e. movente/não-movente, obtêm-se as transições entre as fases sólido, líquido e gasoso, podendo cada uma delas ser movente ou não-movente. Na figura 3.2-A vemos 4 estados diferentes do sistema e na figura 3.2-B temos o diagrama de fases completo do MG.

Nesse modelo utiliza-se ruído ($\eta = 1$) fixo e o diagrama de fases é construído para uma densidade fixa. Nessas condições, variando-se o parâmetro de alinhamento (α) obtêm-se as transições entre movente/não-movente, equivalentes às obtidas no MV quando se variava o ruído (η) (fig. 2.4-A). As transições sólido/líquido/gasoso obtêm-se variando o parâmetro de força (β). Resumindo, quanto maior o valor do parâmetro de alinhamento (α), mais movente será o sistema e quanto maior o valor do parâmetro de força (β), mais sólido será o sistema. No limite $\beta \rightarrow 0$ o sistema retorna ao caráter gasoso do MV original.

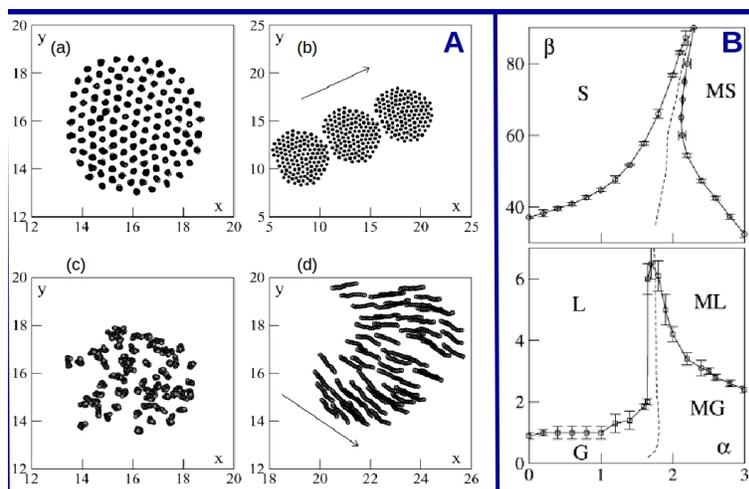


Fig. 3.2: (A) Quatro diferentes tipos de estruturas que pode-se obter para o mesmo grupo de 128 partículas dentro de uma caixa quadrada com contorno periódico. (a) 20 intervalos de tempo de sólido não-movente para $\alpha = 1.0$ e $\beta = 100.0$. (b) Sólido movente para $\alpha = 3.0$ e $\beta = 100.0$. (c) 20 intervalos de tempo de líquido não movente para $\alpha = 1.0$ e $\beta = 2.0$. (d) Líquido movente para $\alpha = 3.0$ e $\beta = 3.0$. (B) Diagrama de fases completo do modelo de Grégoire, para ρ e η fixos. A linha tracejada separa as regiões moventes (ordenadas) das não moventes (desordenadas), assim como no MV. A diferença está relacionada com os diferentes estados do material ativo nesse modelo: variando adequadamente os parâmetros α e β pode-se ter um gás, um líquido ou um sólido, sendo este movente ou não. Para α baixo e β crescente temos as regiões não moventes gasosas, líquidas e sólidas. Para α alto e β crescente temos as regiões moventes gasosas, líquidas e sólidas. Crédito das imagens e mais informações em [20].

A interpretação do parâmetro de força β (juntamente com a lei de força associada a

ele) como coesão pode ser facilmente compreendida nesta simulação que fizemos³: [Coesão](#).

As equações utilizadas estão abaixo. Elas definem a evolução temporal bidimensional de uma partícula i que interage somente com as j partículas pertencentes a sua vizinhança. O tamanho da vizinhança é definido pela equação 2.3. Para todos os casos temos fixo $dt = \eta = 1$. A equação

$$\mathbf{r}_i^{t+1} = \mathbf{r}_i^t + v_0 \mathbf{u}_i^t dt \quad (3.1)$$

é análoga à equação 2.1 e define a característica auto-propelente das partículas, onde $v_0 = 0.02$ é o módulo constante da velocidade e $|\mathbf{u}_i^t| = |(\cos(\theta_i^t), \sin(\theta_i^t))| = 1$. A equação

$$\theta_i^{t+1} = \arg \left[\alpha \sum_{j \in \mathcal{V}} \mathbf{v}_j^t + \beta \sum_{j \in \mathcal{V}, j \neq i} \mathbf{f}_{ij}^t + \eta \vec{\xi}_i^t \right] \quad (3.2)$$

define as leis de alinhamento, onde a direção angular da velocidade θ em $t + 1$ é igual à parte angular da soma vetorial de três contribuições distintas: o alinhamento com a vizinhança, que tem intensidade α dado pela soma das velocidades das j partículas dentro da vizinhança \mathcal{V} da partícula i (incluindo ela mesma); o somatório das interações radiais \mathbf{f} da partícula i com suas j vizinhas (não incluindo ela mesma), que tem intensidade β ; o ruído branco vetorial $\vec{\xi}$ de módulo η que varia uniformemente entre $[0, 2\pi]$. A lei de força \mathbf{f} é dada pela equação:

$$\mathbf{f}_{ij} = \hat{e}_{ij} \begin{cases} 0 & \text{se } r_{ij} > d_l \\ 1 - \frac{r_{ij}}{d_e} & \text{se } d_c < r_{ij} \leq d_l \\ 1000 & \text{se } r_{ij} \leq d_c \end{cases} \quad (3.3)$$

onde \hat{e}_{ij} é o vetor unitário que dá a direção da interação radial entre as partículas i e j , d_c é a distância de *core* (ou diâmetro), d_e é a distância de equilíbrio e d_l é a distância limite de interação. Na figura 3.3-A pode-se ver um gráfico dessa lei de força.

Algumas simulações foram rodadas com uma lei de força descrita pela figura 3.3-B, onde só existe interação repulsiva entre as partículas ($f(r) = (1 - r)/d_e$, $d_c < r \leq d_l$). Outras com a mesma lei de forças da equação 3.3, mas com a distância de interação limitada por um parâmetro $d_a < d_l$, assim tendo uma distância $d_l - d_a > 0$ onde só há interação de alinhamento das velocidades. Essa lei será referida neste trabalho como $d_l - d_a$ e quando

³ Utilizando as eq. 3.1, 3.2, 3.3, e 3.4 com $r_f = 1.0$ e a lei de força da figura 3.3-B. Os valores dos parâmetros estão no vídeo. Programa em *Fortran 90* [®], imagens em *Gnuplot* [®] e vídeo no *FFmpeg* [®].

$d_l = d_a$ ela se torna idêntica a equação 3.3. No entanto como vimos na secção 2.2, tais modificações não alteram as características fundamentais do modelo. O diagrama de fases conservaria a mesma estrutura, mudariam somente as posições das transições de fases no diagrama.

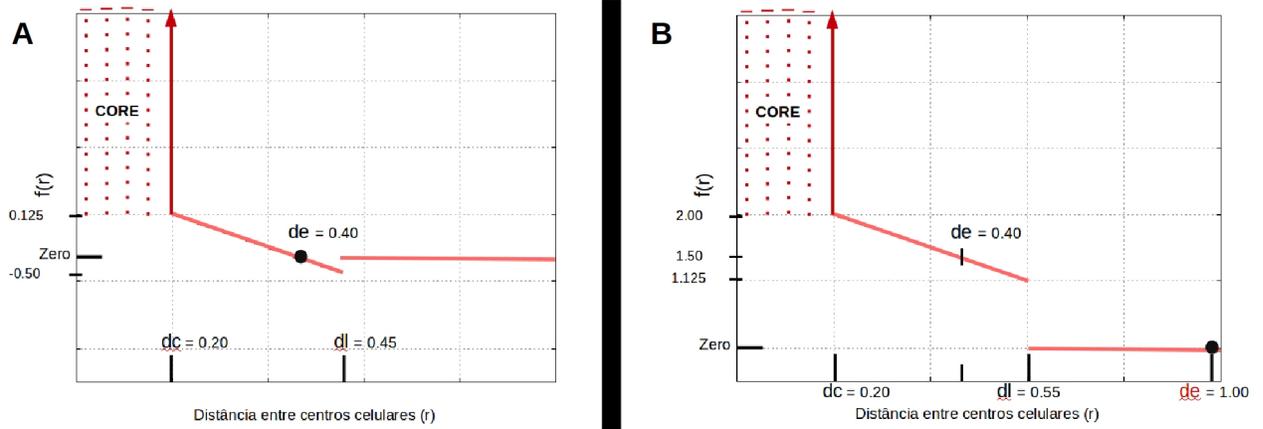


Fig. 3.3: (A) Gráfico da força dada pela equação 3.3: volume de exclusão com $f(r)$ indo a infinito para $r < d_c$, o caráter harmônico entre d_c e d_l com $f(d_e) = 0$ e a localidade da interação onde $f(r) = 0$ para $r > d_l$. (B) Outra lei de força utilizada que é só repulsiva dentro do raio de interação ($r < d_l$). O ponto de equilíbrio (d_e vermelho) cai fora da região de interação enquanto que o *esperado* ponto de equilíbrio (d_e preto) tem valor repulsivo $f(d_e) = 1.50$.

A última equação do modelo é a equação da parede rígida com reflexão atenuada:

$$v_{k_i}^t = \begin{cases} -r_f |v_{k_i}^t| & \text{se } k_i \geq L_k \\ r_f |v_{k_i}^t| & \text{se } k_i \leq -L_k \end{cases} \quad (k = x, y) \quad (3.4)$$

onde v_{k_i} é a velocidade da partícula i em x ou y , r_f é o coeficiente de reflexão que vai de $[0, 1]$, k é a posição em x ou y da partícula i e L_k se refere tanto às quatro paredes do reservatório, como às duas paredes dos trilhos. No caso onde $r_f = 0.20$, esta equação diz que a partícula que cruzar uma parede terá a sua velocidade paralela à normal da mesma refletida com uma atenuação de 80% do seu módulo. No caso onde $r_f = 1.0$ temos uma parede rígida que reflete as partículas incidentes, em colisões perfeitamente elásticas, com o mesmo módulo e direção de velocidade, mas com o sentido oposto. O efeito da parede para $r_f \neq 1.0$ é descrito na equação abaixo:

$$\mathbf{v} = \sqrt{1 - \epsilon^2} v_0 \hat{x} + \epsilon v_0 \hat{y} \xrightarrow{\text{Parede}} \mathbf{v}' = \begin{cases} -r_f \sqrt{1 - \epsilon^2} v_0 \hat{x} + \Theta v_0 \hat{y} & , \quad \epsilon < 10^{-5} \\ -r_f \sqrt{1 - \epsilon^2} v_0 \hat{x} + v_0 \hat{y} & , \quad \epsilon \geq 10^5 \end{cases} \quad (3.5)$$

Tab. 3.1: Tabela com os parâmetros usados.

vv	d_c	d_e	d_l	α	η	r_f
0.02	0.20	0.40	0.45	15.0	1.00	0.20

onde Θ é um número aleatório que assume valores de 1 e -1 com a mesma probabilidade. Ela foi escrita desse modo para poder conservar o módulo da velocidade das partículas. Para $r_f = 0.2$ e nas duas piores situações (ϵ tendendo a 0 ou tendendo a 10^{-5}) a diferença entre $|\mathbf{v}|$ e $|\mathbf{v}'|$ é de apenas 2%. Para $r_f = 1.0$ a equação 3.4 sozinha implica $|\mathbf{v}| = |\mathbf{v}'|$.

Os valores mais utilizados para alguns parâmetros estão na tabela 3.1. Olhando a tabela, nota-se que $(d_e - d_c) = 4(d_l - d_e)$, ou seja, a região de repulsão é 4 vezes maior que a de atração (ver fig. 3.3-A). Escolhemos trabalhar desse modo, porque as nossas animações pareciam visualmente mais com o movimento real celular quando se tem a região de repulsão maior que a de atração. Não investigamos as implicações disso mais a fundo.

O parâmetro ρ é a densidade *inicial* dentro do reservatório tendo valores aproximadamente fixos, pois queremos um reservatório *confluyente* de células. A densidade de confluência ρ_{conf} é definida pela *equação de confluência* que é bem simples:

$$\rho_{conf} = \frac{n_{conf}}{A_{resv}} = \frac{A_{resv}}{A_{resv}A_{cel}} = \frac{1}{A_{cel}} = \frac{1}{\pi(d_e/2)^2} \xrightarrow{d_e \doteq 0.40} \approx 7.96 \quad (3.6)$$

onde n_{conf} é o numero de células que um reservatório de um dado tamanho precisa ter para estar confluyente, A_{resv} é a área do reservatório, A_{cel} é a área média de uma célula que definimos como sendo a área de um círculo de raio $\pi(d_e/2)^2$. Ou seja, pode-se pensar nas nossas células como estruturas circulares com diâmetro igual a distância de equilíbrio d_e .

A densidade ρ do sistema é definida em relação a ρ_{conf} como um múltiplo:

$$\rho = f\rho_{conf} \approx f7.96 \quad (3.7)$$

assim, nas nossas simulações, o número de partículas é determinado pela área do reservatório A_{resv} e pelo *fator de confluência* f^4 .

⁴ Esse é o motivo de termos, por exemplo, 5499 partículas numa simulação ao invés de 5500.

3.2 Simulações

No que diz respeito às simulações, nossa metodologia é dividida em *duas partes*. A primeira, de natureza *qualitativa*, com o objetivo de reproduzir visualmente em nossas simulações os padrões de vórtices no trilho largo e movimento de lagarta (flutuação de densidade direcionada) no trilho fino encontrados experimentalmente *in vitro* por Vedula *et al.* E a segunda *quantitativa*, com os objetivos de correlacionar as oscilações no reservatório com as flutuações de densidade direcionadas no interior do trilho e de comparar a velocidade de migração em função da largura dos trilhos com o resultado experimental (fig. 2.7-A). Como efeito colateral, da parte 1 ganhamos entendimento de como a parede (eq. 3.4) contribui para o movimento coletivo; da parte 2 conseguimos relacionar a frequência de oscilação dentro do reservatório, bem como a velocidade de migração nos trilhos, com a intensidade da tensão de superfície, dada pelo parâmetro β (a constante de força, associado a quão sólido é o agregado).

3.2.1 Parte 1 - Vórtices, Lagartas e a Parede

Os vídeos experimentais que nortearam essa parte do trabalho podem ser vistos nos links: [vorticesTrilhoLargo](#), [lagartaTrilhoFino](#). Cada segundo dos vídeos tem 7 fotos e cada foto foi tirada com intervalo de 20 minutos [21].

Os procedimentos descritos aqui foram utilizados na obtenção dos resultados 4.1, 4.2 e 4.3 (ver capítulo 4). As simulações foram feitas em *Fortran 90*[®], as imagens geradas em *Gnuplot*[®] e os vídeos gerados no *FFmpeg*[®]. As análises foram principalmente visuais feitas nas animações. Em todos esses casos utilizamos $\rho = \rho_{conf}$ ($f = 1.0$, confluência de 100%). Para o 4.1 utilizamos a lei de força $d_l - d_a$ e para 4.2 e 4.3 usamos a lei de forças descrita na figura 3.3-B. Nas figuras 3.4-A,B (referente ao resultado 4.1) o número médio de vizinhos é da ordem de 24 (25 contando com a própria partícula que define a vizinhança), enquanto que nas figuras 3.4-C,D e 3.4-E (resultados 4.2 e 4.3, respectivamente) o número médio de vizinhos é da ordem de 6 (7 incluindo a própria partícula). Essa diferença é consequência dos diferentes valores no alcance das interações, determinados pelos parâmetros d_l, d_a, d_e e d_c . Como foi dito na secção 2.1, 6 é o número médio de vizinhos esperado para células confluentes.

Utilizando a equação 3.4, com $r_f = 1.0$ construímos caixas fechadas quadradas, que serviram de reservatórios (fig. 3.4-A,C), e retangulares, com o comprimento y muito maior

que a largura x , que servirão como trilhos (fig. 3.4-B,D). No caso dos trilhos isolados, o efeito de pressão do reservatório (que direciona as células para cima) foi simulado compactando as partículas em uma área 4 vezes menor que a superfície interna do trilho. Em $t = 0$ as partículas são posicionadas parcialmente ou totalmente fora do trilho. Devido à equação 3.4, as partículas irão tentar voltar para dentro do trilho.

Para realizar a versão *in silico* do experimento de Vedula, que é mostrada e discutida na seção 4.3, utilizamos a equação 3.4 com $r_f = 0.2$ e construímos um reservatório retangular com uma *única* abertura conectada a um trilho de comprimento infinito e largura constante (fig. 3.4-E). Foram variados tanto o tamanho do reservatório, que implica variar o número de células uma vez que ρ é fixo, quanto a largura do trilho. No trilho mais fino passam na ordem de 2 ou 3 células, enquanto que no mais largo passam na ordem de 40 células simultaneamente.

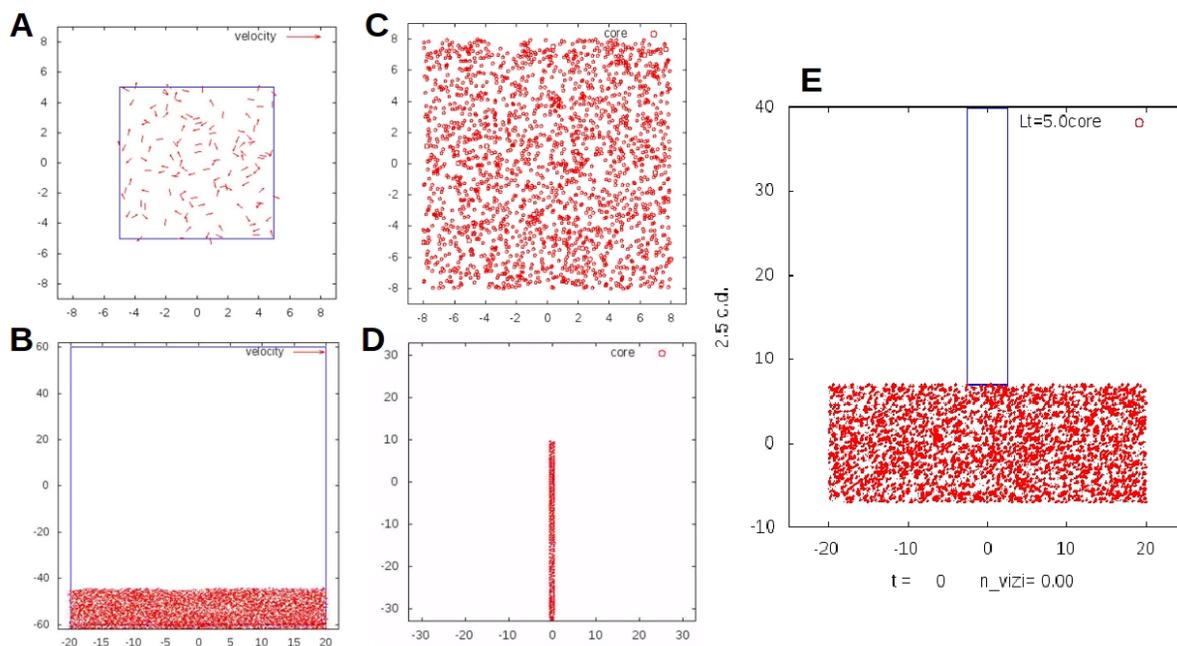


Fig. 3.4: (A) Reservatório quadrado em azul com densidade de confluência, mas com número médio de vizinhos igual a 24. (B) Tentativa de trilho largo (em azul) com os parâmetros de (A). (C) Reservatório quadrado confluyente com número médio de vizinhos igual a 7. (D) Trilho fino (3 células de largura) sem reservatório, mesmos parâmetros que (C). (E) Reservatório com trilho (em azul): nessa imagem é um trilho médio (15 células de largura).

3.2.2 Parte 2 - Diagrama das posições dos centros de massa pelo tempo e Velocidade de Migração

A metodologia descrita nessa secção foi utilizada na obtenção dos resultados 4.4, 4.5, 4.6 (ver capítulo 4). Para todas as simulações, os valores dos parâmetros usados são os mesmos da tabela 3.1, a lei de força usada é mostrada na figura 3.3-A, $\rho = 1.20 * \rho_{conf}$ ($f = 1.20$, confluência de 120%). Utilizou-se a equação 3.4 com $r_f = 0.2$ para construir reservatórios (quadrados e retangulares) com uma abertura *única* conectada a um trilho de comprimento infinito e largura constante ao longo do comprimento. O tamanho e forma do reservatório, a largura dos trilhos e o parâmetro β foram variados de acordo com a característica física a ser medida.

Para o resultado 4.4 usamos dois formatos de reservatórios retangulares com o tamanho, a largura dos trilhos e $\beta = 12$ fixos. Para o resultado 4.5 e 4.6 utilizamos reservatórios quadrados de tamanho fixo. No primeiro caso, a largura do trilho foi mantida fixa e β foi variado de 2.50 até 14.00. No segundo, a largura do trilho foi variada de 1.00 (2 ou 3 células) até 8.00 (20 células) para β fixo igual a 1.00 e 12.00. O algoritmo foi escrito em *Fortran 90*[®], as imagens e gráficos em *Gnuplot*[®] e *Xmgrace*[®], os vídeos no *FFmpeg*[®] e os desenhos no *LibreOffice Impress*[®]. Quando necessário: os dados foram ajustados manualmente ou com a rotina de mínimos quadráticos do *Gnuplot*[®]; as linearizações e a transformada de Fourier discreta (DFT) foram feitas usando *Xmgrace*[®].

Todas as medidas feitas aqui tiveram como base o mesmo confronto das curvas de posição média em X e/ou Y pelo tempo para diferentes regiões espaciais do experimento, i.e. da simulação. Como em nosso sistema todas as partículas têm a mesma massa, a média da posição das partículas em X e Y é igual ao centro de massa do sistema em X e Y . Chamamos tal confronto de curvas de *diagrama das posições dos centros de massa pelo tempo*, ou ainda, de *diagrama de timbres*. O segundo nome escolhemos devido a boa analogia com cavidades ressonantes, devido a construção matemática semelhante e para simplificar a comunicação. Assim, ao invés de *posição do centro de massa em X ou Y pelo tempo no reservatório ou no trilho*, diz-se somente *timbre em X ou Y do reservatório ou do trilho*. Apesar do *diagrama de timbres* parecer complicado (ver fig. 3.6), sua construção é simples. Ao contrário dos vórtices que foram quantificados utilizando rotacionais no trabalho de Vedula, os movimentos de *lagarta* foram só determinados qualitativamente, havendo assim a necessidade de desenvolver um método para quantificá-lo. A figura 3.5 explica um método desenvolvido aqui, que surgiu como uma tentativa simples e econômica

para mostrar a correlação entre as oscilações trilho-reservatório e que permitisse quantificá-las.

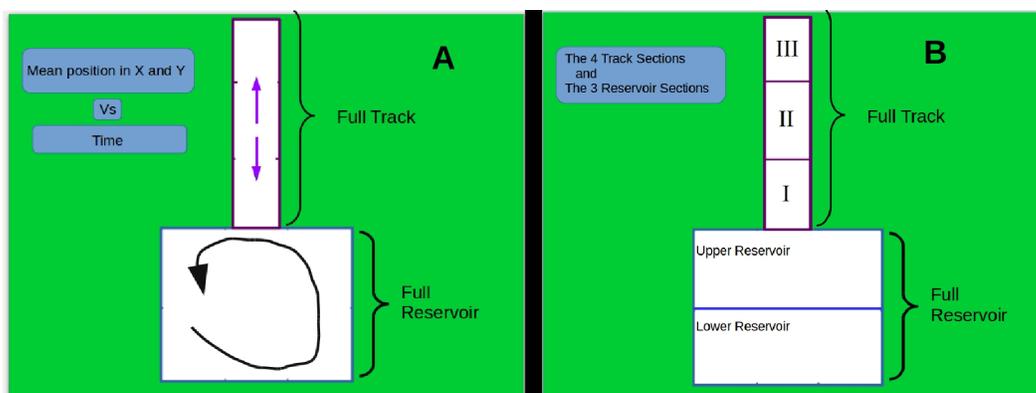


Fig. 3.5: (A) Desenho explicando o método adotado para correlacionar as oscilações dentro do reservatório com as oscilações dentro do trilho representadas, respectivamente, pela seta curva preta e pelos vetores pra cima e pra baixo roxos. Medimos a posição X e Y média sobre todas as partículas (o centro de massa) dentro do reservatório e plotamos contra o tempo. Fizemos o mesmo para as partículas no trilho e comparamos essas duas curvas (sinais). Semelhança global e/ou assinaturas características compartilhadas indicariam a correlação entre os sinais. (B) Além de dividir o experimento (*in silico*) em duas seções (reservatório e trilho), fizemos também subseções. O reservatório foi dividido em uma parte superior e outra inferior (*upper* e *lower reservoir*) e o trilho foi dividido em 3 partes (I,II,III). Apesar dessas subdivisões terem nos dado melhor entendimento do sistema, correlações entre essas subseções não foram exploradas neste trabalho.

As oscilações dentro do reservatório e as oscilações direcionadas (migrantes) dentro do trilho ficam claras quando se plota o gráfico da posição pelo tempo de partículas individuais. Apesar de não mostrarmos os gráficos aqui, essas curvas podem ser entendidas como a soma de um caminhante aleatório clássico, com um termo oscilatório e, no caso do trilho, um movimento balístico relacionado a migração. O que fizemos foi calcular a média dessas curvas para cada região e depois compará-las. O exemplo abaixo dá uma explicação mais detalhada do processo de medida e de suas consequências. Vale salientar que as equações matemáticas descritas abaixo **não** foram formalmente deduzidas, sendo um *ansatz* provindo de análises gráficas.

Supõe-se um reservatório quadrado com a menor dimensão do trilho paralela ao eixo x . Qualitativamente, a forma ao *longo do tempo* da curva que define a posição x e y de uma partícula j pertencente a uma região rg do experimento, que pode ser tanto o trilho

(Tr) quanto o reservatório (Rv), é dada pelo par à esquerda de equações abaixo:

$$y_{rg}^j(t) \propto W(t) + \delta_{rg,Tr} p(t) + a_j \text{sen}(\omega_j t) \xrightarrow{\langle y \rangle_{j \in rg}} Y_{rg} \propto \delta_{rg,Tr} P(t) + \sum_{j \in rg} a_j \text{sen}(\omega_j t) \quad (3.8)$$

$$x_{rg}^j(t) \propto W(t) + \delta_{rg,Rv} b_j \text{sen}(\omega_j t) \xrightarrow{\langle x \rangle_{j \in rg}} X_{rg} \propto \delta_{rg,Rv} \sum_{j \in rg} b_j \text{sen}(\omega_j t) \quad (3.9)$$

onde δ é a *delta de Kronecker*, $W(t)$ é o *processo de Wiener*, $p(t)$ pode ser um polinômio crescente ou uma função $(1-\exp(-t))$. O lado direito é o resultado do cálculo assintótico da média da posição sobre todas as partículas dentro de uma região do sistema. X e Y é o valor médio sobre todas partículas em cada região, e nota-se que o ruído browniano $W(t)$ individual de cada partícula desaparece após a média, deixando as curvas mais suaves. São essas curvas, que são definidas para cada região, que chamamos de *timbre*, onde os somatórios descrevem o sinal oscilatório característico de cada região, enquanto que $P(t)$ é o contínuo que descreve a translação do centro de massa do agregado. Podemos ver que só Y_{Tr} (curva vermelha na fig. 3.6) têm contribuição de $P(t)$, pois esse termo descreve o deslocamento da migração (invasão) das células no trilho. Já Y_{Rv} e X_{Rv} (curva azul e amarela na fig. 3.6, respectivamente) são o timbre das partículas confinadas ao reservatório, então não migram a longas distâncias, enquanto X_{Tr} ⁵ está confinado à estreita região que é a largura do trilho. A hipótese é que a semelhança global ou de assinaturas características entre os sinais Y_{Rv} e $Y_{Tr} - P(t)$ mostram a correlação entre as oscilações trilho-reservatório.

Vê-se que a construção do *timbre* no nosso sistema é análoga a construção sonora clássica, onde a soma das oscilações individuais dos constituintes determinam o espectro sonoro macroscópico (timbre) característico de cada aparelho sonoro (garganta, trompete, piano). Além da formulação matemática, é similar também fisicamente com cavidades ressonantes, onde os modos de oscilação permitidos dependem das dimensões das mesmas.

Uma das relações com os parâmetros do sistema que pode-se fazer olhando a figura 3.6 é relacionado ao período T de oscilação no reservatório. Por exemplo, calculando a diferença temporal entre os pontos A e C da curva em Y obtemos o valor de 2162.79 unidades de tempo. Assumindo esse como o valor do período da onda, podemos determinar o raio médio R de circulação dentro do reservatório a partir da equação $R = vv \frac{T}{2\pi}$, onde $vv = 0.02$ é a velocidade de migração, constante no nosso sistema, assim obtendo $R = 6.88$ unidades de medida. Podemos realizar o mesmo procedimento para a curva em X ,

⁵ Não representada na figura, pois é uma oscilação de pequena amplitude de média zero. Seus constituintes individuais são basicamente brownianos.

obtendo resultados semelhantes, pois em um reservatório quadrado, as oscilações em X e Y tem aproximadamente o mesmo período sendo diferentes apenas por uma fase. Quando essa fase tem valor $\frac{\pi}{2}$, como no caso da figura 3.6, podemos definir então um movimento circularmente polarizado do agregado com a posição do seu centro de massa percorrendo um círculo de raio 6.88 dentro do reservatório.

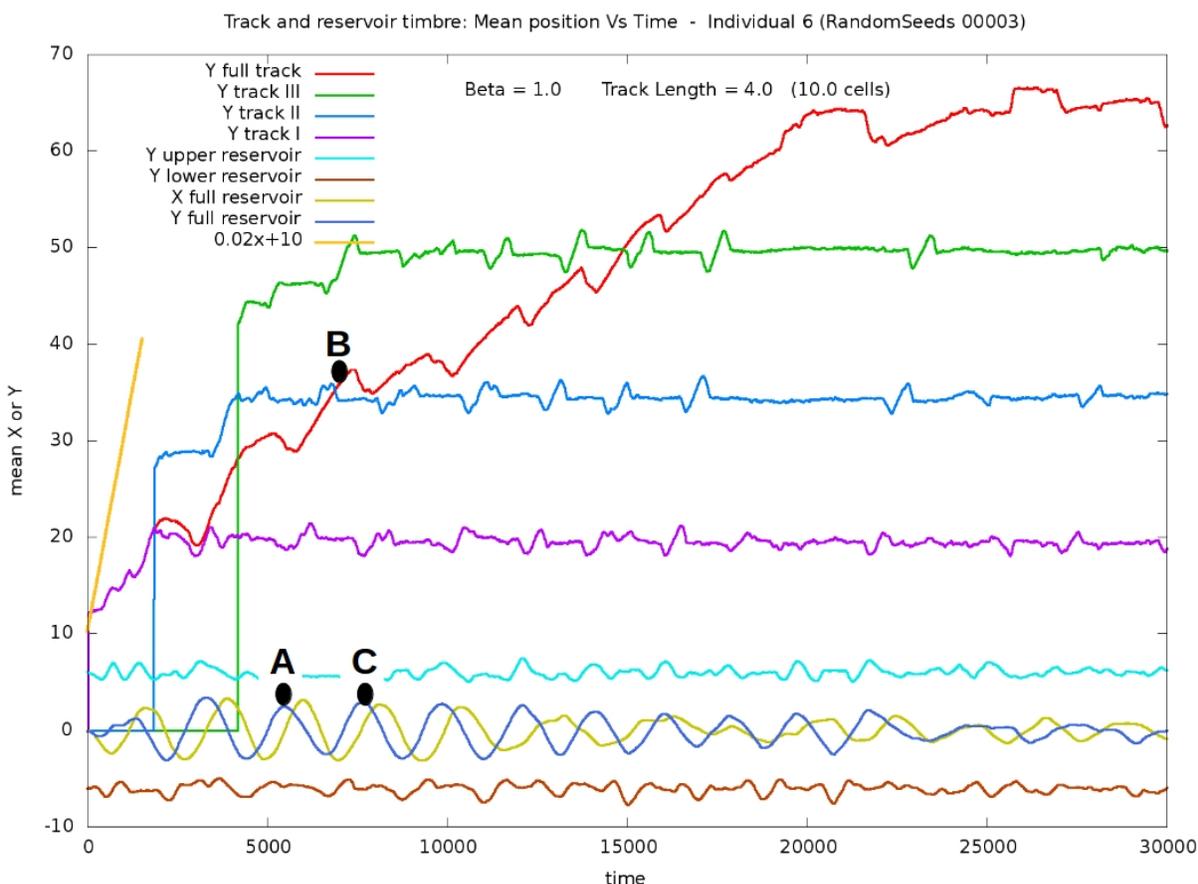


Fig. 3.6: Centro de massa (posição média) em X e Y pelo tempo para o reservatório e trilho, i.e. *diagrama de timbres*. Foi utilizado um reservatório quadrado 24×24 , com $\beta = 1.0$ e largura de trilho 4.0 (10 células). Restante dos parâmetros, tabela 3.1. As três curvas principais desse diagrama são: a vermelha, média sobre posição Y de todas as partículas dentro do trilho e a azul e a amarela oscilantes em volta de zero, que são a média sobre todas as partículas dentro do reservatório em Y e X , respectivamente. As outras cinco curvas são a média em Y das subdivisões do reservatório, as duas mais abaixo, e do trilho, as três mais acima. A soma das curvas das subdivisões de uma região são iguais a curva da região inteira. No caso dessa figura, pode-se ver que a extinção das oscilações no reservatório é acompanhada pela extinção das oscilações e do avanço das partículas no interior do trilho. Em geral, esses diagramas mostram que, mesmo para diferentes conjuntos de parâmetros, mudanças no padrão de oscilação no reservatório são acompanhados de mudanças similares nos trilhos. Uma maneira de tentar mostrar que essas mudanças estão correlacionadas é através da velocidade de propagação do sinal de um ponto ao outro no meio, que no nosso caso é igual a velocidade, constante, de migração (dada pela inclinação da reta amarela com origem em $(0,10)$). Caso a flutuação do reservatório em **A** tenha ocasionado, a flutuação no trilho em **B**, esses dois pontos então devem estar ligados por uma reta de inclinação 0.02. Apesar de interessante, essa análise não foi aprofundada neste trabalho.

Capítulo 4

Resultados

4.1 Rotações por confinamento e parede perturbativa

Um comportamento conhecido de materiais ativos confinados é a presença de rotação e a formação de vórtices [13, 15, 16] (ver figura 4.1-C), não sendo diferente para o caso das nossas partículas confinadas pela equação 3.4. Na figura 4.1-A podemos ver como o confinamento direciona o movimento do agregado. O movimento de rotação é resultante do fato que as partículas **têm** que se mover. Como elas não conseguem se mover além da parede (ou do confinamento), elas andam então tangentes à mesma. Assim a parede contribui para o ordenamento do sistema direcionando o agregado no movimento de rotação. No nosso caso, porém, também encontramos que a parede parece contribuir para a desordem do sistema. Na figura 4.1-B podemos ver que para um certo grupo de parâmetros há a alternância entre estados moventes ordenados e não moventes desordenados.

No diagrama de Grégoire (figura 3.2-B), células migrantes são compatíveis com regiões da interface líquido para sólido movente, onde conseguem trocar de posição umas com as outras sem perder a característica confluenta de 6 vizinhos. Apesar de termos usado densidade de confluência nessas simulações, as escolhas dos parâmetros implicam uma média de 24 vizinhos, com o agregado estável em uma densidade 4 vezes maior do que se esperaria para células. Pode-se ver neste vídeo [tentativaTrilhoLargo](#) que para tempos futuros o movimento assemelha-se mais com revoadas de pássaros do que com células.

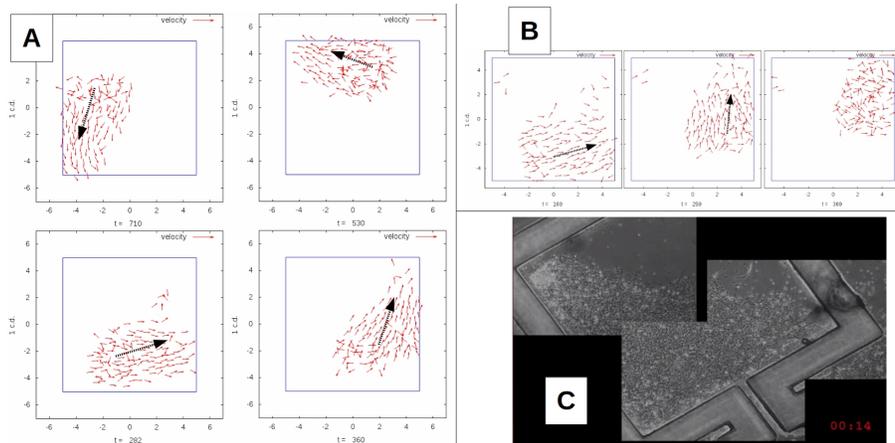


Fig. 4.1: (A) 4 *snapshots* de tempos subsequentes da mesma simulação, onde vemos o movimento coletivo de rotação das células. Os vetores pequenos em vermelho representam a posição e a velocidade de cada célula. Vetores pretos indicam a direção de movimento do agregado. Usamos a lei de força $d_l - d_a$ com: $vv = 0.05$, $\alpha = 5.5$, $\beta = 3.0$, $\eta = 1.0$, $d_l, d_a, d_e, d_c = 1.5, 1.3, 1.0, 0.4$. Vídeo da simulação: [rotaçãoConfinada](#). (B) Mesmos parâmetros, mas com $\alpha=4.5$. Vemos que nesses 3 snapshots (com intervalos de 100 dt's) os dois primeiros apresentam um movimento coletivo migrante, enquanto que o terceiro é desordenado. Pode-se ver no vídeo [ordem-desordem](#) que o agregado volta a ter um transição para movimento ordenado, mas ao se chocar com a parede, novamente entra no regime desordenado. Em (A) e (B) vemos um sólido movente, onde as escolhas de parâmetros implicam média de 24 vizinhos. (C) Foto do experimento feito por Szábo [15] que inspirou esta parte do trabalho: no vídeo [rotaçãoQueratócitos](#) vemos a rotação de queratócitos confinados e no vídeo [simQuerati](#), vemos a simulação desse material ativo feita por Szábo *et al.*

4.2 Vórtices em reservatório isolado e lagarta em trilho isolado

Obtivemos vórtices em reservatórios isolados e o movimento de lagarta em trilhos isolados, como pode ser visto nos vídeos: [vórticesReservoir](#), [lagartaTrack](#). Nos vídeos foram usados a lei de força da figura 3.3-B, com parâmetros $vv = 0.02$, $\alpha = 40.0$, $\eta = 1.0$, $d_l, d_e, d_c = 0.6, 0.4, 0.2$, $r_f = 1.0$, $\beta = 1.0$ para o reservatório e $\beta = 1.5$ para o trilho. Se fosse feito o digrama de timbre do reservatório encontrar-se-ia o mesmo padrão dos primeiros 15 mil passos de tempo da figura 3.6, onde o timbre em X e Y teriam a aproximadamente a mesma frequência de oscilação, sendo diferentes por uma fase de valor $\frac{\pi}{2}$. No entanto, neste vídeo [vórticesReservoirTemposFuturos](#), que mostra o mesmo reservatório isolado 20 mil passos de tempo a frente, vemos que entre $t = 21000$ até $t = 22700$ o movimento de

oscilação fica paralelo a diagonal da caixa. Nessa situação, a diferença de fase entre os timbres X e Y seria próxima de zero e no diagrama as curvas apareceriam sobrepostas. Em $t = 23000$ o movimento de rotação é retomado (agora girando no sentido contrário), depois de uma grande flutuação de densidade em $t = 22700$.

4.3 Movimento de lagarta em todos os trilhos

Com os mesmos parâmetros da seção anterior, mas com $\alpha = 20.0$, $\beta = 1.0$ e $r_f = 0.2$, construímos reservatórios retangulares conectados a trilhos únicos de largura fixa (fig. 3.4-E). Ao contrário do encontrado experimentalmente por Vedula, encontramos flutuações de densidade direcionadas tanto nos trilhos finos, quanto nos largos, como pode ser visto na figura 4.2-A e nos vídeos: [trilhoFino+Reservatório](#), [trilhoLargo+Reservatório](#). Os vídeos mostram uma ampliação da região onde o trilho é conectada com o reservatório. No trilho fino cabem de 2 a 3 células e no largo, 40. A presença desse mesmo comportamento em todos do trilhos levantou a hipótese de que o reservatório (estrutura comum a todos eles) estaria sendo responsável pela flutuação de densidade direcionada encontrada nas simulações, que dependeriam então do formato do mesmo. Na figura 4.2-B pode-se ver um desenho ilustrando como o formato do reservatório pode modificar o fluxo de partículas a invadir o trilho.

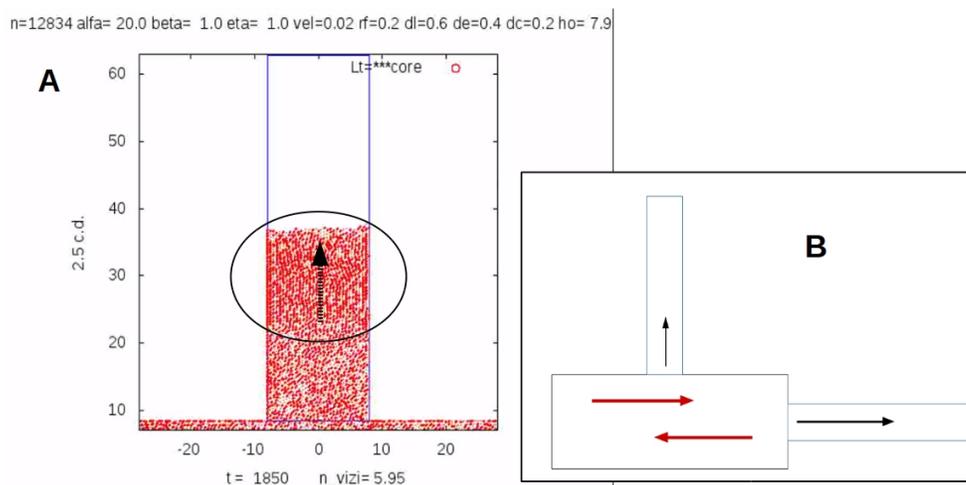


Fig. 4.2: (A) Trilho largo, *snapshot* do vídeo mostrado nessa seção. A flutuação de densidade direcionada (movimento de lagarta) é destacada pela elipse preta, onde a seta indica o sentido do movimento. (B) Ilustração descrevendo como o formato do reservatório pode aumentar ou diminuir a migração nos trilhos.

No vídeo [ReservatórioZoon](#) pode-se ver as flutuações de densidade no reservatório, que estariam ocasionando o movimento de lagarta no trilho.

4.4 Oscilações no reservatório determinam movimento tipo lagarta nos trilhos

Utilizamos os parâmetros da tabela 3.1, $\beta = 12.0$, confluência de 120% e a lei de forças da equação 3.3.

Inspirados pela figura 4.2-B, construímos dois reservatórios retangulares de mesmo tamanho (ver fig. 4.3) para comprovar a conexão entre as oscilações trilho-reservatório e juntamente mostrar que essas são dependentes da forma do mesmo.

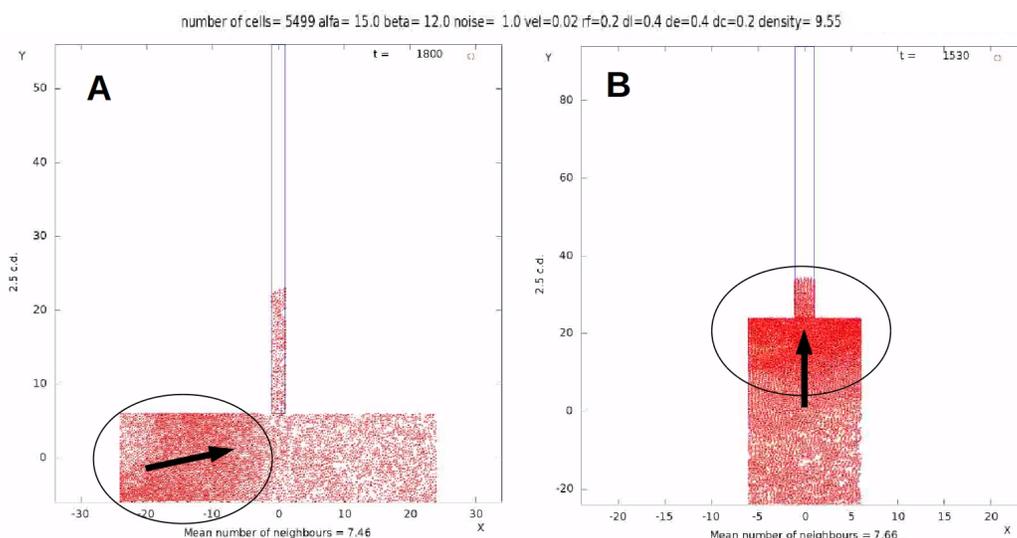


Fig. 4.3: Dois *snapshots* dos dois tipos de simulações utilizados para investigar como o formato retangular pode aumentar ou diminuir o movimento de lagarta no trilho. Destacado em preto a flutuação de densidade direcionada: (A) reservatório com dimensão X maior perpendicular ao trilho. (B) Reservatório com dimensão Y maior paralela ao trilho. Vídeos das simulações: [X>Y](#), [Y>X](#)

O diagrama de timbres das simulações nas figuras 4.3-A e B podem serem vistos, respectivamente, nas figuras 4.4 e 4.5. Comparando esses dois diagramas, pode-se ver claramente que a invasão no trilho (mostrada pela curva vermelha) é muito mais acentuada no caso onde o trilho é paralelo ao eixo maior do reservatório (fig. 4.5) do que no caso onde o trilho é perpendicular a esse eixo (fig. 4.4). Outra característica que se nota nessa comparação é a frequência de oscilação ser depende das dimensões do reservatório

(similar ao que ocorre em cavidades ressonantes). Temos a presença de baixas frequências e altas amplitudes de oscilação associadas a dimensão maior do reservatório e temos o comportamento contrário associado a dimensão menor.

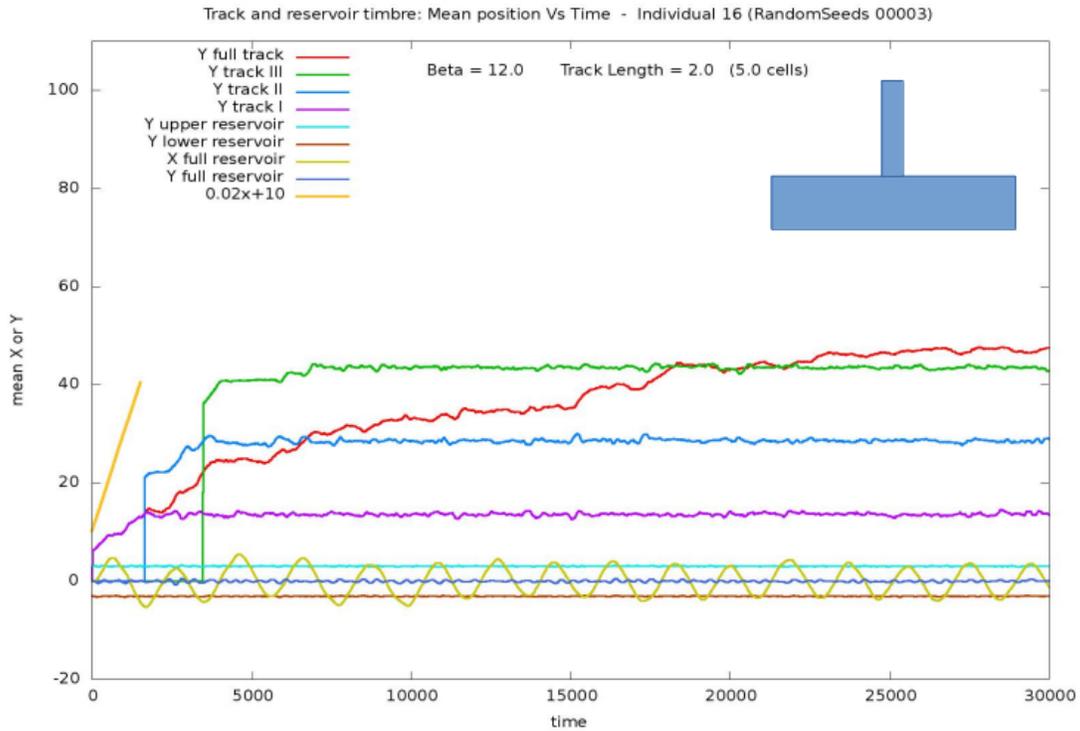


Fig. 4.4: Gráfico do centro de massa pelo tempo (*timbre*) das diferentes componentes (regiões) do sistema simulado na figura 4.3-A. Detalhe em azul no canto direito superior faz referência à forma do sistema analisado nesse gráfico. Salienta-se as oscilações de alta amplitude e baixa frequência em X no reservatório (amarela), em contraste com as oscilações em Y de baixa amplitude e alta frequência no reservatório (azul) e no trilho (vermelha).

Fizemos a transformada de Fourier discreta (DFT) dos timbres da figura 4.5 em Y no reservatório (curva azul de alta amplitude em torno do zero) e no trilho (curva vermelha). O resultado pode ser visto na figura 4.6 e a subtração do contínuo do sinal no trilho (para linearizá-lo) pode ser visto na figura 4.7. É necessário fazer a linearização, pois o algoritmo que implementa a DFT interpreta o sinal do contínuo (curva verde escuro na figura 4.7) como um sinal de frequência tendendo a zero e de alta intensidade. O bom acordo entre as curvas indica, juntamente com os outros fatores discutidos até agora, a correlação entre os dois movimentos.

A frequência real f de oscilação predominante no reservatório pode ser calculada por $f = F f_{res}$, onde $F = 16$ é a frequência mais intensa no espectro de Fourier e $f_{res} = \frac{1}{29900}$ é a

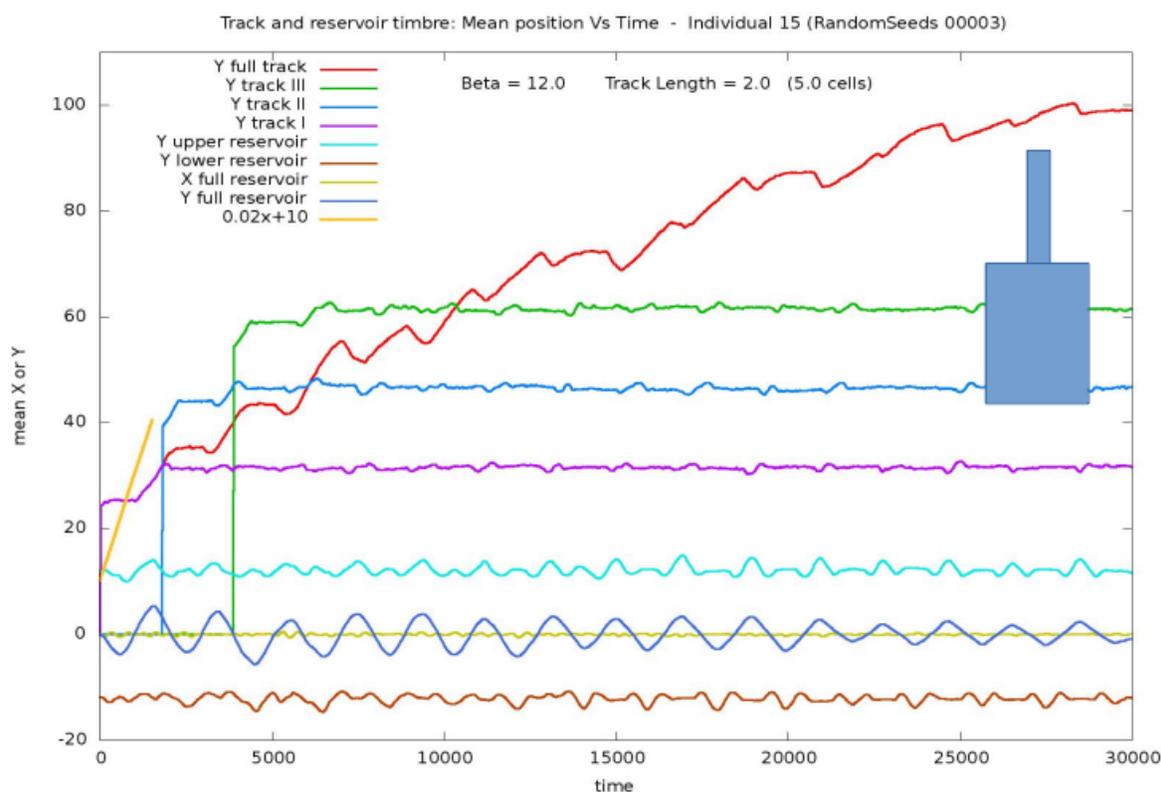


Fig. 4.5: Gráfico do centro de massa pelo tempo (*timbre*) das diferentes componentes do sistema simulado na figura 4.3-B. Detalhe em azul no canto direito superior faz referência à forma do sistema analisado nesse gráfico. Salienta-se as oscilações de alta amplitude e baixa frequência em Y no reservatório (azul) e no trilho (vermelha), em contraste com as oscilações em X de baixa amplitude e alta frequência no reservatório (amarela).

resolução da transformada (inverso do tempo total de medida). Assim, obtemos $f \approx \frac{1}{1869}$; o denominador (período) é equivalente a distância T entre dois máximos da curva azul na figura 4.5, por exemplo, $T = 1848$ para o quarto e quinto máximos. Nessa figura também notam-se picos pronunciados de frequências baixas (em torno de 5) e altas (em torno de 31). Não sabemos a origem desses picos e nem as investigaremos, contudo especulamos que: os picos de baixa frequência podem ser provindos da contribuição do contínuo da curva que não teria sido devidamente retirado com a linearização escolhida; pode estar associado com características próprias do movimento interno ao trilho, que poderia ser testado repetindo o experimento para diferentes larguras de trilho; ou ainda relacionadas com modos de oscilações de maior período dentro do reservatório.

Já para o pico de alta frequência: sendo um pico de alta frequência é pouco provável

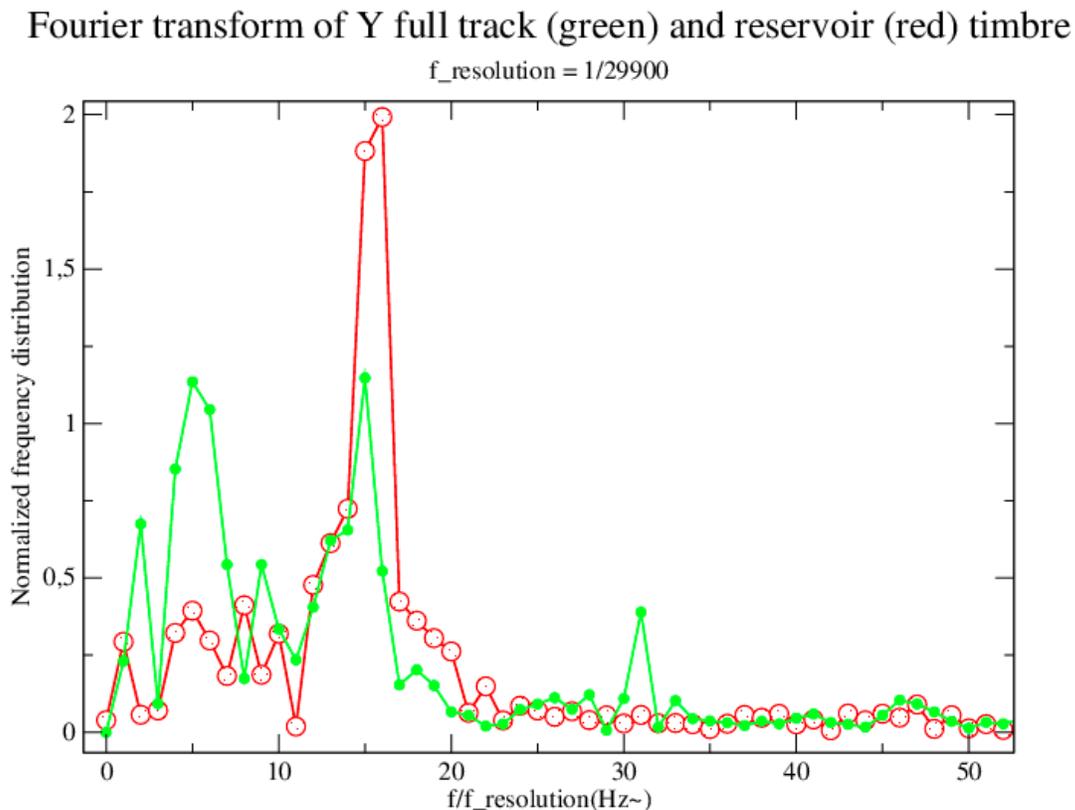


Fig. 4.6: Transformada discreta de Fourier dos timbres em Y do reservatório e do trilho da figura 4.5. Em vermelho a distribuição de frequências no reservatório e em verde a do trilho. A boa concordância entre as curvas indica a correlação entre as oscilações trilho-reservatório.

que haja contribuição do contínuo; ele poderia estar diretamente associado às oscilações em X dentro do reservatório, porém a transformada de Fourier desse sinal tem um discreto pico em torno 73 com amplitude 5 vezes menor que o pico em 31; restando a hipótese de ser uma característica própria do movimento no trilho.

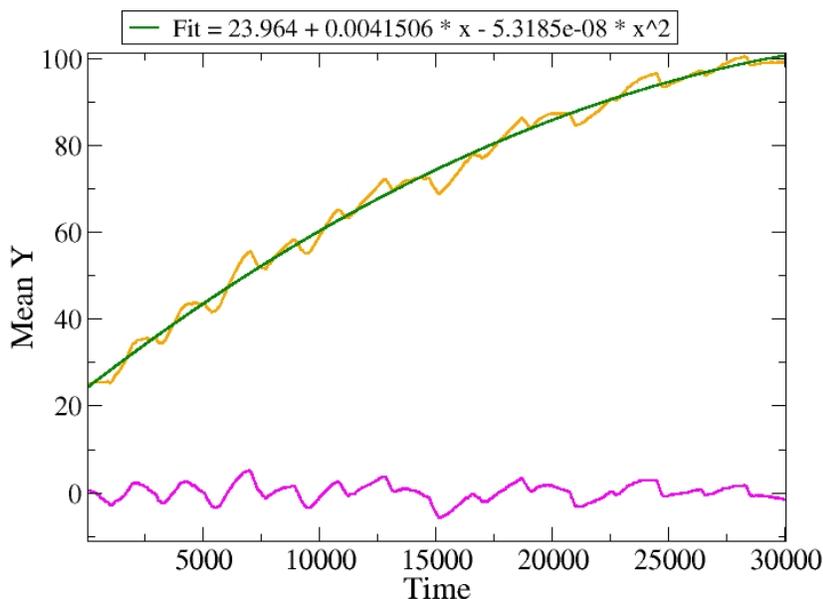


Fig. 4.7: (A) Em laranja o timbre em Y do trilho, em verde escuro o contínuo do sinal fitado quadraticamente (legenda) e em magenta o sinal linearizado depois da subtração do contínuo. Escolhemos fitar o contínuo quadraticamente, pois visualmente para esse caso tal escolha faz uma boa linearização da curva.

4.5 Frequência de oscilação no reservatório é maior para agregados mais sólidos

Utilizamos os parâmetros da tabela 3.1, confluência de 120% e a lei de forças da equação 3.3. Para todos os valores de β , a simulação foi feita com um reservatório quadrado de lado 12, com duração de 30 mil passos de tempo, trilho de tamanho 2 (5 células). Os valores de β usados são: 2.5, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 12.0, 14.0

Para cada um dos valores de β acima, determinamos a frequência dominante de oscilação no reservatório aplicando a transformada de Fourier discreta na direção Y do reservatório. O resultado do confronto desses valores está plotado na figura 4.8. A escolha de usar a direção X ao invés de Y resultaria no mesmo comportamento, uma vez que em um reservatório quadrado as oscilações em X e Y são iguais a não ser por uma fase.

Para fugir dos efeitos de esvaziamento e queda de densidade no reservatório (devido a seu tamanho finito) fizemos a transformada de Fourier discreta só nos primeiros 15000

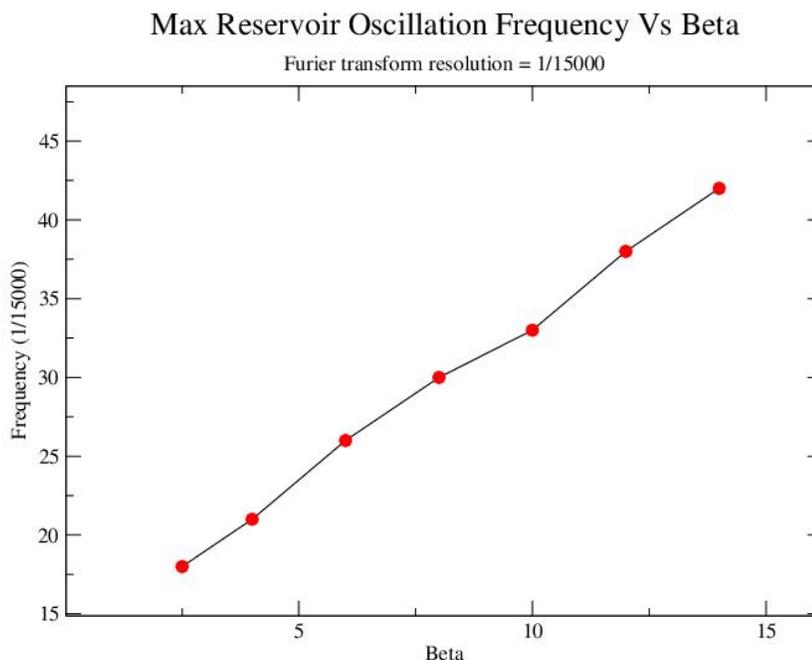


Fig. 4.8: A frequência mais predominante de oscilação dentro do reservatório (obtidas fazendo a transformada de Fourier) cresce linearmente com a intensidade da tensão de superfície (beta), ou seja, para agregados mais sólidos.

passos de tempo garantindo assim que todas as transformadas tenham a mesma resolução. À medida que as partículas invadem o trilho, vai decrescendo a densidade no reservatório, uma vez que a densidade esteja abaixo da densidade crítica, há a transição para a fase desordenada e o fim do movimento coletivo, cessando também as oscilações.

O valor de β crescente significa ir para um regime mais sólido, sendo mais sólido há a tendência da clusterização de um número maior de partículas em um mesmo agregado. De mesmo modo como a informação sonora se propaga mais rápido em meios mais sólidos, a informação *desvie da parede* também se propaga mais eficientemente para valores de β maiores. Um agregado que tenha um raio (diâmetro) grande tenderá a interagir antes com a parede do que um agregado de pequeno raio, tendendo a desviar da parede antes do agregado menor e assim circulando o reservatório mais rapidamente (maior frequência), uma vez que o ato de desviar da parede é que direciona a rotação (como visto nas seções anteriores). Mesmo em uma situação onde tivéssemos agregados de mesmo tamanho, no agregado mais mole a informação *alinhe-se paralelo a parede* não se propagará de maneira

eficiente resultando na provável fragmentação do grupo que tenderá a diminuir o ordenamento coletivo do agregado, diminuindo seu potencial migratório, resultando numa menor velocidade média de circulação, i.e. menor frequência. Uma analogia simples é com uma bola de tênis e uma de basquete circulando a caixa com mesma velocidade. A bola de basquete por ser maior encontrará a parede mais cedo que a de tênis, redirecionando sua trajetória na circulação mais rapidamente.

4.6 Velocidade de migração é crescente com a largura dos trilhos

Utilizamos os parâmetros da tabela 3.1, confluência de 120%, a lei de forças da equação 3.3, reservatório quadrado de lado 24. Variamos a largura do trilho, para dois valores de $\beta = 1.0$ e $\beta = 12.0$, medindo a velocidade média de propagação no interior do trilho. As larguras de trilho utilizadas foram: 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 8.0; equivalente a 2.5, 3.75, 5, 10 e 20 células, respectivamente.

Utilizamos como valor de velocidade média de invasão a inclinação da reta fitada na direção Y para cada trilho. Na figura 4.9-A-B podemos ver a comparação da inclinação da reta de ajuste (em rosa) para o mesmo valor de β mas para duas larguras e trilho distintas, onde a maior inclinação é relacionada com o trilho mais largo.

No caso dos trilhos mais largos, onde os efeitos de reservatório finitos são maiores (ver fig. 4.9-D), as curvas foram fitadas só para os primeiros passos de tempo com o critério de ainda ter oscilações no reservatório.

Os resultados obtidos estão na figura 4.10, tendo apresentado comportamento oposto ao encontrado experimentalmente na figura 2.7-A (note que no trabalho de Vedula e colaboradores foi medida a velocidade de deslocamento do fronte celular).

A maior velocidade de invasão com β maior deve ser consequência do resultado mostrado na seção anterior, onde temos uma maior frequência de oscilação para β crescente. Isto aumentaria a probabilidade que um agregado coeso adentre o trilho e migre mais rápido. A grosso modo, maior frequência implicaria mais agregados adentrando o trilho, implicando maior fluxo e, conseqüentemente, maior velocidade de migração. Além disso, como para β maiores temos um agregado mais unido e coeso, isso implicaria que esses agregados, que já entram com maior frequência pelo trilho, teriam individualmente maior potencial de migração, conseguindo manter seu ordenamento (polarização) por mais tempo

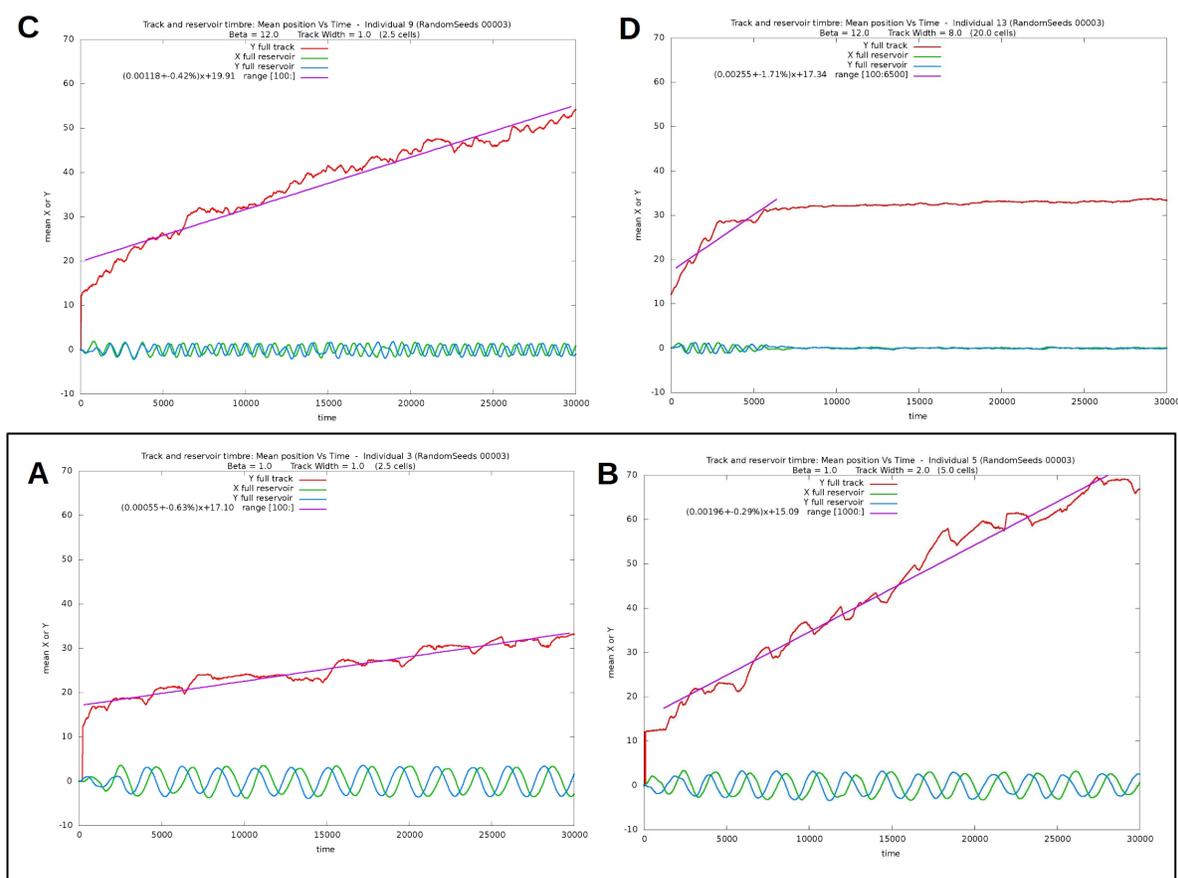


Fig. 4.9: Determinação das velocidades de invasão, i.e. inclinação das retas rosas. Aumentando a largura do trilho aumenta a inclinação, de A->B. Aumentando o β aumenta a inclinação, de A->C, e nota-se o aumento da frequência no reservatório como mostrado na seção 4.5. Em (D), para tempos maiores que 5000, temos a rápida extinção dos movimentos de oscilação no reservatório (curvas azul e verde em torno de zero) que se reflete na extinção das oscilações no trilho (curva vermelha). Esse fenômeno é consequência do esvaziamento do reservatório, que para um trilho largo ocorre rapidamente. Nos MV a manutenção da densidade é fundamental para a existência de movimento coletivo. Quando a densidade da reservatório atinge valores a baixo da densidade crítica, temos o fim dos movimentos coletivos e - no nosso caso - o fim das oscilações.

que agregados menos coesos, presentes para menores valores de β .

Uma hipótese sobre a maior velocidade em trilhos mais largos é inspirada no resultado da seção 4.1, onde a rotina da nossa parede dada pela equação 3.4, estaria contribuindo para a desordem do sistema. Estaria então ocorrendo um efeito *bulk-surface*. No trilho fino, em média, a cada 3 células dentro do trilho, 2 estão em contato com a parede. Sendo verdadeiro o efeito da parede em desordenar o movimento das partículas (que implica diminuir o

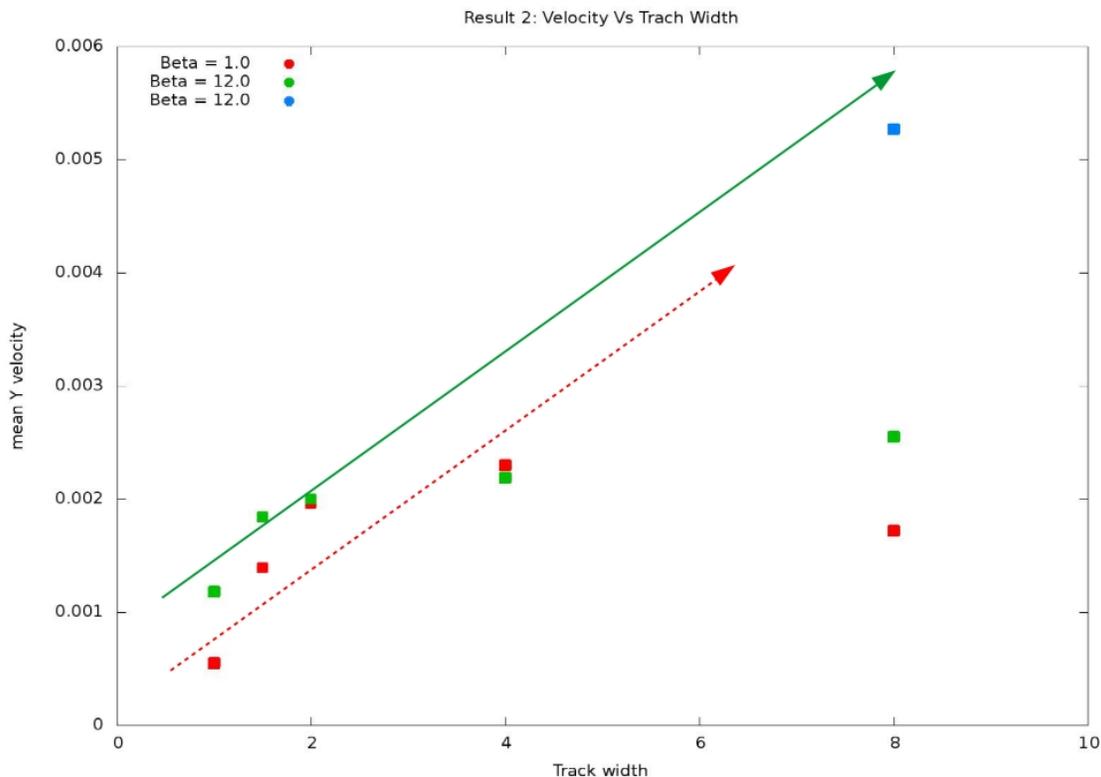


Fig. 4.10: Velocidade Y média dentro do trilho (a velocidade de invasão) aumenta com aumento da largura dos trilhos. Este resultado é oposto àquele encontrado experimentalmente por Vedula *et al* (fig. 2.7-A). Também encontramos maiores velocidades para β maior. As setas verde e vermelha indicam, para β igual 12.0 e 1.0 respectivamente, o comportamento esperado da velocidade em um regime onde os efeitos de reservatório finito sejam devidamente eliminados. As curvas apresentam um decaimento nas velocidades para trilhos mais largos, sendo isso devido ao efeito de tamanho finito do reservatório. A forma desse decaimento lembra a descarga de um capacitor. Apesar do ponto verde ter caído acima do ponto vermelho para o trilho mais largo (8.0), espera-se para maiores valores de beta (já que a velocidade de migração é mais alta) um decaimento mais rápido da velocidade devido ao esvaziamento também mais rápido do reservatório. Assim, para um reservatório finito, apesar da velocidade inicial ser maior no trilho mais largo, é nos trilhos mais finos (não sendo necessariamente no *mais* fino) que consegue-se o maior deslocamento (em outras palavras, não se põem um Usain Bolt para correr uma maratona). Isso deve se dar pelo fato dos trilhos mais finos, por terem menor área, conservarem por mais tempo a densidade acima da densidade crítica que implica movimento migratório.

potencial migratório), no caso do trilho fino, este efeito seria bastante significativo, uma vez que 66% das partículas estariam sendo afetadas. Por outro lado, no trilho mais largo

simulado nessa seção, só 10% das suas células estariam em contato com as paredes.

Ainda sobre a maior velocidade estar relacionada com os trilhos mais largos: com uma abertura maior, aumenta a probabilidade que um agregado maior (e assim com maior potencial de migração) adentre o trilho e realize um movimento migratório persistente por mais tempo. Mas no regime de reservatório finito que estamos trabalhando, essa situação tenderá ao rápido esvaziamento do reservatório. Essa queda contínua de densidade do reservatório resultará na velocidade de migração do trilho tendendo a zero em poucos passos de tempo (se comparado com um trilho mais fino). Como consequência disso, teremos uma menor distância de migração. Para eliminar esses efeitos e testar a hipótese mencionado no início do parágrafo, precisaríamos construir um *reservatório infinito*. Tal situação é discutida no capítulo 6.

Capítulo 5

Conclusões

Abaixo o resumo de nossas conclusões:

- Reproduzimos qualitativamente o problema proposto;
- A equação da parede rígida (eq. 3.4) direciona o agregado para o movimento circular, no entanto parece também contribuir para desordem do movimento coletivo;
- Para certo grupo de parâmetros obtiveram-se fases ordenadas migrantes intercaladas por fases desordenadas dentro de um reservatório isolado;
- Vórtices foram obtidos em reservatórios e trilhos grandes o suficiente, sempre junto com flutuações de densidade;
- Os movimentos de lagarta no nosso modelo são obtidos devido a flutuações de densidade dentro do reservatório, estando presente em todos os trilhos;
- A velocidade média dentro dos trilhos aumenta, com o aumento da largura dos trilhos e com o aumento da intensidade da coesão entre as partículas;
- A frequência de oscilação no reservatório aumenta com a intensidade da coesão e com a diminuição do tamanho do reservatório;
- O formato do reservatório é determinante no movimento coletivo no interior dos trilhos;

Concluimos assim que para sistemas ativos - biológicos ou não - havendo flutuações de densidade ou ondas de pressão dentro do reservatório, a forma e tamanho do mesmo são características indispensáveis a serem analisadas em futuros experimentos desse tipo.

Capítulo 6

Considerações Finais e Perspectivas

O estudo detalhado que fizemos aqui nos propiciou um bom entendimento geral do problema apresentado, conseguindo mapear partes de um sistema complexo e fora do equilíbrio sobre estruturas simples.

Em respeito às perspectivas do trabalho, além das muitas hipóteses e especulações introduzidas ao longo do texto, a otimização do programa utilizando o método das caixas de dinâmica molecular e a replicação das simulações para termos valores estatísticos significativos são duas das perspectivas que estarão presente em qualquer futuro possível desse trabalho. Além delas poderíamos estudar mais profundamente o efeito da parede como desordenadora do movimento coletivo. O restante das perspectivas, sendo que parte delas depende da construção de um *reservatório infinito*, bem como as interpretações e considerações finais em respeito ao sistema físico estudado aqui e críticas e defesas ao modelo utilizado, são dadas como seguem abaixo.

Um reservatório infinito pode tanto ser simulado usando-se um de tamanho finito, mas com um densidade constante de células (duplicação constante por espaço em branco, por exemplo), ou pode *simplesmente* ser muito grande. O segundo caso é interessante, pois como já vimos, reservatórios maiores têm frequências de oscilação menores, assim no limite de um reservatório infinito teríamos uma frequência de oscilação tendendo a zero. No entanto, como foi dito na seção 2.2, os modelos da *classe de Vicsek* tem transições de fase descontínua com bandas migrantes, ou seja, flutuações de densidade direcionadas. Assim mesmo que até agora reservatórios maiores impliquem frequências menores, é provável que no limite onde $A_{resv} \rightarrow \infty$ a frequência de oscilação atinja um valor assintótico diferente de zero.

Ainda sobre o regime de reservatório infinito, mas agora sobre a dinâmica nos trilhos: nesse regime teríamos sempre uma velocidade de migração maior para larguras maiores

até chegar na velocidade máxima de migração do sistema, dado pelo módulo da velocidade individual de cada partícula ($vv = 0.02$, no nosso caso). No entanto, para larguras (suficientemente grandes) acima dessa *largura de velocidade máxima*, talvez encontrássemos um decréscimo geral na velocidade devido a coexistência de agregados que teriam que ser: grandes, estáveis o suficientes em suas migrações persistentes e com distintos sentidos de polarização (de migração). O contínuo choque entre esses agregados poderia então diminuir consideravelmente a velocidade de migração no trilho. Esta poderia, por exemplo, ser uma explicação física-coletiva para o comportamento real das células encontrado por Vedula. Para as simulações, isso indicaria que estudando o nosso modelo no regime de reservatório infinito, encontraríamos o padrão desejado de *velocidades de migração menores para trilhos maiores* desde que conseguíssemos construir trilhos (e reservatórios para alimentá-los) suficientemente grandes, conseguindo, assim, obter o mesmo padrão de velocidades, pelo menos macroscopicamente, do comportamento real das células de Vedula. No entanto, microscopicamente (as estruturas) teriam escalas distintas.

Um padrão macroscópico que o nosso modelo não consegue reproduzir é o de vórtices sem flutuação de densidade. Nesse ponto o nosso modelo e o sistema biológico estudado são distintos. No sistema biológico, células epiteliais confluentes normalmente tem campos de velocidade nula. Sendo diferente só no evento de uma migração, como no caso da cicatrização de feridas, mas mesmo assim os campos de velocidade não nulas ficam limitadas as regiões próximas a frente de migração. No experimento de Vedula a dinâmica do reservatório não é considerada, pois não há dinâmica no reservatório a não ser nas regiões próximas a entrada dos trilhos. A interpretação das nossas ondas de densidade como ondas de pressão poderiam ser uma saída pra continuarmos o estudo com este modelo. Outra abordagem seria eliminar o reservatório e só estudar a dinâmica dentro do trilho.

Nessa linha, seria interessante relacionar o parâmetro de alinhamento de velocidade α e a constante de força β com características básicas das células discutidas nas seções 2.1 e 2.3. Como foi discutido na seção 2.3, o tratamento químico que inibiu as adesões entre as células através das caderinas resultou num comportamento randômico no deslocamento celular *tipo gás*. Tal estado tipo gás pode ser obtido para baixos valores de β , como mostra o diagrama de fases de Grégoire na seção 3.1, combinados com um bem modulado valor de α entre as regiões movente e não movente. Ainda sobre seção 2.3: no tratamento onde foi inibida a contratilidade do citoesqueleto, os padrões de vórtices desapareceram e as células migraram com velocidades bastante homogêneas. A explicação dada foi que esse

tratamento diminui as forças de fricção no meio, as quais seriam responsáveis pelo direcionamento mútuo das células em trajetórias curvas. Para baixos valores de α , é possível obter resultados semelhantes, podendo assim associar esse parâmetro com as forças de fricção e viscosidade no meio. A expectativa seria de mostrar que, apesar das interações mecânicas microscópicas desse modelo não serem adequadas para células (já que células, diferentes de pássaros ou humanos, não conseguem redirecionar a sua velocidade simplesmente por *ver* suas vizinhas fazendo o mesmo), esse modelo pode ser usado em nível fenomenológico na migração celular.

Outro problema está relacionado com o excesso de flutuações de densidade que, apesar de termos notado que essas flutuações de densidade podem ser reduzidas diminuindo a região de atração na lei de força da equação 3.3 (juntamente com uma boa escolha de parâmetros), parecem ser inerentes a este modelo. Comportamento contrário ao das células epiteliais, onde o movimento de lagarta (flutuação de densidade) parece ser mais um caso singular (dos trilhos finos) do que um comportamento geral.

Uma abordagem mais promissora para o futuro seria deixar esse modelo para estudos físicos-matemáticos auto-contidos, que são bastante interessantes por si só, e para o problema biológico de migração utilizar o modelo proposto por Szábo *et al* em 2006 (comentado algumas vezes ao longo do texto). Tendo sido esse modelo desenvolvido para o movimento celular (diferente do utilizado nesse trabalho que se baseou no movimento de pássaros e mamíferos), é possível ter campos de velocidade nulos e comportamentos confluentes equivalentes aos de um epitélio.

Referências Bibliográficas

- [1] “Cell Crawling 2 - Link: https://www.youtube.com/watch?v=t3u2_pAEB94,” .
- [2] “<http://www.ebah.com.br/content/ABAAABIJsAD/juncoes>,” ().
- [3] “<http://knoow.net/cienterravida/biologia/citoesqueleto/>,” ().
- [4] “http://plasmamemvrani.blogspot.com.br/2010/05/citoesqueleto_31.html,” ().
- [5] “<http://www.ijbs.com/v03p0303.htm>,” ().
- [6] “<http://biology.stackexchange.com/questions/29857/what-does-confluency-mean>,” ().
- [7] S. R. K. Vedula, A. Ravasio, C. T. Lim, and B. Ladoux, *Physiology* **28**, 370 (2013).
- [8] T. Vicsek, A. Czirók, E. Ben-Jacob, I. Cohen, and O. Shochet, *Physical review letters* **75**, 1226 (1995).
- [9] A. Attanasi, A. Cavagna, L. Del Castello, I. Giardina, T. S. Grigera, A. Jelić, S. Mellillo, L. Parisi, O. Pohl, E. Shen, and others, arXiv preprint arXiv:1303.7097 (2013).
- [10] Reynolds Craig, “Boids Background and Update - <http://www.red3d.com/cwr/boids/>,” .
- [11] F. Ginelli, *The European Physical Journal Special Topics* **225**, 2099 (2016).
- [12] J. M. Belmonte, G. L. Thomas, L. G. Brunnet, R. M. C. De Almeida, and H. Chaté, *Physical Review Letters* **100**, 248702 (2008).
- [13] D. S. Calovi, *Simulação do ciclo de vida social da ameba Dictyostelium discoideum*, Ph.D. thesis, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (2011).

- [14] H. Chaté, F. Ginelli, G. Grégoire, and F. Raynaud, *Physical Review E* **77**, 46113 (2008).
- [15] B. Szabo, G. J. Szöllösi, B. Gönci, Z. Jurányi, D. Selmeczi, and T. Vicsek, *Physical Review E* **74**, 61908 (2006).
- [16] A. J. Kabla, *Journal of The Royal Society Interface* , rsif20120448 (2012).
- [17] N. Sepúlveda, L. Petitjean, O. Cochet, E. Grasland-Mongrain, P. Silberzan, and V. Hakim, *PLoS computational biology* **9**, e1002944 (2013).
- [18] G. Gregoire and H. Chate, (2004), 10.1103/PhysRevLett.92.025702.
- [19] G. Grégoire and H. Chaté, *Physical review letters* **92**, 25702 (2004).
- [20] G. Grégoire, H. Chaté, and Y. Tu, *Physica D: Nonlinear Phenomena* **181**, 157 (2003).
- [21] S. R. K. Vedula, M. C. Leong, T. L. Lai, P. Hersen, A. J. Kabla, C. T. Lim, and B. Ladoux, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **109**, 12974 (2012).
- [22] J. M. Belmonte, *Modelo de animóides aplicado à segregação celular*, Ph.D. thesis, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL (2007).