

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA DA COMPUTAÇÃO

Modelagem e Simulação de Processos Biológicos usando Redes
de Petri Predicado Transição Diferenciais

Michele Nasu Tomiyama

Setembro

2007

Michele Nasu Tomiyama

Modelagem e Simulação de Processos Biológicos usando Redes de Petri Predicado Transição Diferenciais

Submetido em atendimento parcial dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciência da Computação junto à Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais.

©Todos os direitos reservados

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
FACULDADE DE COMPUTAÇÃO

Os abaixo assinados, por meio deste, certificam que leram e recomendam para a Faculdade de Computação a aceitação da dissertação intitulada **“Modelagem e Simulação de Processos Biológicos usando Redes de Petri Predicado Transição Diferenciais”** por **Michele Nasu Tomiyama** como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de **Mestre em Ciência da Computação**.

Uberlândia, 11 de Setembro de 2007

Orientador:

Prof. Dr. Stéphane Julia
Universidade Federal de Uberlândia UFU/MG

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ricardo Lüders
Universidade Tecnológica Federal do Paraná UTFPR/PR

Prof. Dr. Célia Aparecida Zorzo Barcelos
Universidade Federal de Uberlândia UFU/MG

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA

Data: Setembro de 2007

Autor: **Michele Nasu Tomiyama**

Título: **Modelagem e Simulação de Processos Biológicos
usando Redes de Petri Predicado Transição Diferenciais**

Faculdade: **Faculdade de Computação**

Grau: **Mestre** Convocação: **Setembro** Ano: **2007**

A Universidade Federal de Uberlândia possui permissão para distribuir e ter cópias desse documento para propósitos exclusivamente acadêmicos, desde que a autoria seja devidamente divulgada.

Autor

O AUTOR RESERVA OS DIREITOS DE PUBLICAÇÃO E ESSE DOCUMENTO NÃO PODE SER IMPRESSO OU REPRODUZIDO DE OUTRA FORMA, SEJA NA TOTALIDADE OU EM PARTES SEM A PERMISSÃO ESCRITA DO AUTOR.

Aos meus pais por tornarem este sonho em realidade.

Agradecimentos

A minha mãe Tomoko e ao meu pai Jorge por estarem sempre ao meu lado me apoiando e me incentivando em tudo o que faço.

Aos meus irmãos Juliana e Éderson e ao meu namorado Lucas.

Ao meu orientador Stéphane Julia pela atenção, dedicação e responsabilidade com que me conduziu durante todo o meu mestrado.

Aos meus professores da Universidade Federal de Uberlândia que contribuíram para o meu aprendizado.

Às minhas sempre amigas Aline, Guiuliane e Isabella.

À todos que direta ou indiretamente sempre cooperaram e deram seu apoio.

À Deus por tudo!

Resumo

O objetivo deste trabalho é o de propor uma abordagem baseada em modelos híbridos para o estudo de processos biológicos. Inicialmente, um estudo sobre modelagem matemática de sistemas foi realizado a fim de buscar as ferramentas mais apropriadas para a modelagem de processos biológicos. Diversos modelos de processos biológicos foram encontrados na literatura, utilizando as mais variadas ferramentas de modelagem (equações diferenciais, autômatos híbridos e redes de Petri). O modelo híbrido utilizado nesta proposta são as redes de Petri predicação transição diferenciais. As redes de Petri predicação transição diferenciais combinam comportamentos contínuos e discretos em um único modelo. A parte contínua do modelo é representada por um conjunto de equações diferenciais e a parte discreta é representada por uma rede de Petri predicação transição. Baseados nesta abordagem, foram feitos três estudos de casos para mostrar validade da abordagem. Estes três estudos de casos foram modelados utilizando as redes de Petri predicação transição diferenciais e, posteriormente, foram simulados com a utilização da linguagem de programação MatLab. Os resultados obtidos com as simulações forneceram bases para análises quantitativas dos modelos construídos, validando as redes de Petri predicação transição diferenciais na modelagem de processos biológicos.

Abstract

The objective of this work is to propose an approach based in hybrid systems for study of biological process. Initially a study about mathematical modelling of systems was carried out looking for appropriate tools for modelling biological process. Various models of biological process was found in literature using different approaches (differential equations, hybrid automat, and Petri nets). The hybrid model used in this work is the differential predicate transition Petri nets. The differential predicate transition Petri nets combine continuous and discrete aspects are represented by a set of differential equations and the hybrid aspects are represented by a predicate transition Petri net. Based in this approach, three study cases was choose to to show the validate this approach. This three study cases was modelled using the differential predicate transition Petri nets and these models was simulated by using MatLab. The results obtained with the simulations provides information for a quantitative analysis of the models, validating the differential predicate transition Petri nets for modelling biological process.

Conteúdo

1	Introdução	1
2	Modelagem Matemática de Sistemas	4
2.1	Classificação dos Sistemas	4
2.2	Equações Diferenciais	5
2.3	Autômatos de Estados Finitos	7
2.3.1	Autômatos Híbridos	8
2.4	Redes de Petri	10
2.4.1	Definições	10
2.4.2	Propriedades das Redes de Petri	14
2.4.3	Redes de Petri de Alto Nível	15
3	Modelagem de Processos Biológicos	20
3.1	Processos Biológicos	20
3.2	Modelos baseados em Equações Diferenciais	24
3.3	Modelos baseados em Autômatos Híbridos	30
3.4	Modelos baseados em Redes de Petri	33
3.4.1	Modelos baseados em Redes de Petri Ordinárias	33
3.4.2	Modelos baseados em Redes de Petri Coloridas	34
3.4.3	Modelos baseados em Redes de Petri Estocásticas	36
3.4.4	Modelos baseados em Redes de Petri Híbridas Funcionais	38
4	Modelagem de Processos Biológicos usando Redes de Petri Predicado	
	Transição Diferenciais	42
4.1	Escolha do Formalismo	42
4.2	Definição das Redes de Petri Predicado Transição Diferencial	44

4.3	Modelagem e simulação da Diabetes	47
4.3.1	Resultados da Simulação - Exemplo da Diabetes	50
4.4	Modelagem e Simulação da Malária - Infestação Simples	54
4.4.1	Resultados da Simulação - Exemplo da Malaria	60
4.5	Modelagem e Simulação da Malária - Infestação Dupla	61
4.5.1	Resultados da Simulação - Dupla infestação da Malária	67
5	Conclusão	71

Lista de Figuras

2.1	Autômato Finito - Reconhecedor número ímpar de b's	8
2.2	Autômato Híbrido - Aquecedor	10
2.3	Rede de Petri	11
2.4	Exemplo de disparo de transição	13
2.5	Grafo das marcações acessíveis	14
2.6	Rede de Petri Colorida	16
2.7	Rede de Petri Contínua com velocidade constante	17
2.8	Evolução da marcação	17
2.9	Rede de Petri com velocidade constante	18
2.10	Rede de Petri Híbrida	19
3.1	Ritmo Circadiano da <i>Drosophila Melanogaster</i>	21
3.2	Processo Metabólico - Glicólise	23
3.3	Crescimento de População	24
3.4	Conjunto de equações do Ritmo Circadiano	27
3.5	Modelo mínimo de [44]	28
3.6	Modelo do estágio infeccioso da malária (<i>P. falciparum</i>)	29
3.7	Modelo do estágio infeccioso da malária (<i>P. falciparum</i> e <i>P. malariae</i>)	30
3.8	Agent <i>V. fischeri</i> modelada com autômato híbrido	31
3.9	<i>E. coli</i>	32
3.10	Sistema Celular	32
3.11	Rede de Petri Ordinária	34
3.12	Rede de Petri Colorida - Glicólise	34
3.13	Rede de Petri Colorida - Transcrição de tRNA	35
3.14	Rede de Petri Estocástica - Síntese de Proteína	36
3.15	Rede de Petri Estocástica - ColE1	37

3.16 Rede de Petri Estocástica - Malária	38
3.17 Rede de Petri Híbrida Funcional - Ritmo Circadiano	39
3.18 Rede de Petri Híbrida Funcional - Apoptosis	40
3.19 Rede de Petri Híbrida Funcional - Ciclo da Uréia	41
4.1 Exemplo de disparo de uma Rede Predicado-Transição	45
4.2 Exemplo de disparo de uma Rede de Petri Predicado Transição Diferencial	47
4.3 Vetores de variáveis, Funções de habilitação, Sistema de equações e Funções de junção - Diabetes	51
4.4 Rede de Petri Predicado Transição Diferencial - Diabetes	52
4.5 Concentrações de Glicose e Insulina - Duas injeções diárias	52
4.6 Concentrações de Glicose e Insulina - Uma injeção	53
4.7 Concentrações de Glicose e Insulina - Duas injeções diárias e Exercícios físicos	53
4.8 Concentrações de Glicose e Insulina - Uma injeção e Exercícios físicos	54
4.9 Mapa da área de risco - Malária	55
4.10 Rede de Petri Predicado Transição Diferencial - Infestação da Malária	57
4.11 Vetores das variáveis, funções de junção, sistema de equações diferenciais e funções de junção - Infestação da Malária	58
4.12 Resultados da Simulação - Sem tratamento após infecção.	60
4.13 Resultados da Simulação - Com tratamento após infecção.	61
4.14 Resultados da Simulação - Com tratamento prévio.	62
4.15 Rede de Petri Predicado Transição Diferencial - Dupla infestação da Malária	63
4.16 Vetores das variáveis, funções de habilitação, sistema de equações e funções de junção - Dupla infestação da Malária	64
4.17 Resultados da Simulação - Dupla infestação (P. falciparum e P. malariae no fígado)	68
4.18 Resultados da Simulação - Dupla infestação (P. malariae e P. falciparum no fígado)	68
4.19 Resultados da Simulação - Dupla infestação (P. falciparum no sangue e P. malariae no fígado)	69
4.20 Resultados da Simulação - Dupla infestação (P. malariae no sangue e P. falciparum no fígado)	70

Capítulo 1

Introdução

Do início até meados do século passado, os geneticistas e químicos se questionaram sobre a natureza química do material genético. Das pesquisas desenvolvidas, surgiu a conclusão de que o DNA era a molécula que armazenava a informação genética; sua estrutura química foi então desvendada. Logo surgiram métodos de seqüenciamento de DNA que permitiram a investigação de suas seqüências monoméricas constituintes. Desde então, mais de 18 bilhões de seqüências foram produzidas e estão disponíveis em bancos de dados públicos.

Na segunda metade da década de 90, com o surgimento dos seqüenciadores automáticos de DNA houve uma explosão na quantidade de seqüências a serem armazenadas, exigindo recursos computacionais cada vez mais eficientes. Além do armazenamento, ocorria, paralelamente, a necessidade de análise desses dados, o que tornava indispensável a utilização de plataformas computacionais eficientes para a interpretação dos resultados obtidos.

Assim nasceu a bioinformática. Essa nova ciência envolve a união de diversas áreas de conhecimento como, por exemplo, a engenharia de software, a matemática, a estatística, a ciência da computação e a biologia molecular.

A Biologia Sistêmica é o estudo de um organismo visto como uma rede integrada e interativa de genes, proteínas e reações químicas que dão origem à vida. Ao invés de analisarem componentes ou aspectos individuais do organismo, como metabolismo de açúcar ou o núcleo celular, os biólogos desta área focam em todos os componentes e na interação entre si. Estas interações são responsáveis pela forma e funções de um organismo. O sistema imunológico, por exemplo, não é o resultado de um único gene ou mecanismo. Na verdade, as interações de numerosos genes, proteínas, mecanismos e o

ambiente externo do organismo produzem respostas imunológicas para combater doenças e infecções. A Biologia Sistêmica busca entender estas interações complexas, pois elas são as chaves para entender a vida.

Um ramo da biologia sistêmica é a modelagem de processos biológicos. Entende-se por processos biológicos qualquer tipo de processo estudado na biologia, ecologia ou genética. Os processos metabólicos, tais como as dinâmicas das interações da glicose-insulina e os problemas ecológicos como epidemiologia, são bons exemplos de processos biológicos.

Nas abordagens tradicionais, utilizam-se equações diferenciais para modelar processos biológicos. Pacotes de software tais como Gepasi [7] e E-Cell [1] foram desenvolvidos para suportarem a modelagem de processos biológicos. Contudo, as equações diferenciais são modelos puramente contínuos e são incapazes de lidar com eventos discretos. Os eventos discretos estão presentes em sistemas biológicos reais. A passagem de um estado saudável para o estado doente é um exemplo de evento discreto presente em processos biológicos.

Uma das técnicas que lida com os aspectos híbridos dos sistemas biológicos (aspectos contínuos e discretos) é baseada em autômatos híbridos [26]. Os autômatos híbridos incluem ambas variáveis (discretas e contínuas) em um único modelo. Em particular, as variáveis contínuas são representadas por um conjunto de equações diferenciais e são monitoradas por estados discretos representados por um autômato finito. Contudo, autômatos híbridos apresentam certas limitações, tais como, apresentar de forma explícita comportamentos paralelos e a modularidade. Essas características podem ser facilmente encontradas nas redes de Petri.

O formalismo das redes de Petri é baseado em uma representação visual, facilitando a compreensão dos processos. A rigorosa definição do modelo e a existência de boas propriedades permitem análises tanto qualitativas quanto quantitativas através de simulações do comportamento de processos biológicos. Várias extensões de redes de Petri foram utilizadas na representação de processos biológicos, tais como as redes de Petri coloridas ([25], [43]), as rede de Petri estocásticas ([43]) e as redes de Petri híbridas funcionais [36].

O presente trabalho têm como objetivo propor uma nova abordagem para a modelagem de processos biológicos baseada em redes de Petri predicado transição diferenciais [14]. As redes de Petri predicado transição diferenciais integram as vantagens das diversas abordagens existentes para a modelagem de processos biológicos, como as equações diferenciais para a parte contínua e as redes de Petri para a parte discreta.

O capítulo 2 apresentará as definições das diferentes ferramentas matemáticas utilizadas para a modelagem de processos biológicos, tais como equações diferenciais, autômatos híbridos e redes de Petri.

O capítulo 3 será dedicado ao estado da arte sobre a modelagem de processos biológicos, sendo apresentados vários modelos, construídos por diversas ferramentas, encontrados na literatura. As ferramentas também serão analisadas quanto à sua adequabilidade na modelagem de processos biológicos.

O capítulo 4 apresenta a definição da abordagem híbrida utilizada neste trabalho. Após a definição das redes de Petri predicado transição diferenciais, três exemplos serão modelados. Os resultados das simulações e as análises dos modelos construídos são apresentados em seguida.

O capítulo 5 apresentará a conclusão do trabalho, além de mostrar os resultados obtidos durante a pesquisa e apresentar sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2

Modelagem Matemática de Sistemas

Neste capítulo serão apresentados os principais técnicas de modelagem de sistemas. Os conceitos apresentados neste capítulo terão relevância no decorrer do trabalho, inclusive para um melhor entendimento em relação ao formalismo escolhido. Primeiramente, uma breve descrição dos diversos tipos de sistemas será dada. Após, uma definição das equações diferenciais será apresentada. Em seguida, as definições de autômatos finitos e dos autômatos híbridos serão dados. Por último, os fundamentos das redes de Petri assim como algumas redes de Petri de alto nível serão apresentadas.

2.1 Classificação dos Sistemas

Os sistemas podem ser classificados de acordo com as suas variáveis de estado e a variável que representa o tempo. A combinação das variáveis de estado e o tempo permite definir quatro tipos de sistemas: sistemas contínuos, sistemas discretizados, sistemas discretos e sistemas a eventos discretos [12].

Sistemas contínuos são aqueles sistemas em que as variáveis de estado evoluem de forma contínua no tempo assim como a variável que representa o tempo [14]. Sistemas contínuos podem ser facilmente modelados com a utilização de equações diferenciais, pois mostra a evolução das variáveis contínuas com o passar do tempo.

Os sistemas discretizados podem ser definidos como sendo sistemas contínuos observados em instantes discretos. As variáveis de estado evoluem de maneira contínua, sem mudança brusca de comportamento, mas é somente a instantes discretos do tempo que há interesse em conhecer o seu valor [12].

Sistemas discretos são sistemas para os quais assume valores num conjunto discreto. Entretanto, estes instantes não podem necessariamente ser previstos. As evoluções das variáveis de estado se dará, por exemplo, por uma função booleana parametrizada em função do tempo [14].

E por último, sistemas a eventos discretos são sistemas modelados de tal maneira que as variáveis de estado apresentam valores num conjunto discreto e a mudança de estado é dirigida a eventos [12]. Os sistemas a eventos discretos podem ser modelados com a utilização das redes de Petri.

2.2 Equações Diferenciais

Uma equação diferencial é uma equação que envolve uma função diferenciável e uma ou mais de suas derivadas. Por exemplo,

$$\frac{dy}{dt} = k(10 - y) \quad (2.1)$$

é uma equação diferencial. Existem dois tipos de equações diferenciais:

- **Equações diferenciais ordinárias (EDO):** A função f que aparece na equação é uma função de uma variável x . A forma geral da equação é $F(x, f, f', f'', \dots) = 0$ onde f' é a sua primeira derivada, f'' é a sua segunda derivada.
- **Equações diferenciais parciais:** A função f é uma função de várias variáveis, $f(x, z, t, \dots)$ e a equação é uma relação entre f , as variáveis independentes $x, z, t, \dots$ e as derivadas parciais de f .

A solução geral de uma equação diferencial é uma função que não contém derivadas nem diferenciais e que satisfaz a equação dada (ou seja, a função que, substituída na equação dada, a transforma em uma identidade). Uma das técnicas de resolução de equações diferenciais é a de separação de variáveis. Essencialmente, a técnica da separação de variáveis é o que o próprio nome indica. Para uma equação diferencial que envolve x e y , separamos os x de um lado e os y do outro lado da igualdade. Após separar as

variáveis, integra-se ambos os lados para obter a solução geral. Eis um exemplo:

$$\frac{dy}{dx} = \frac{x}{y^2 + 1} \quad (2.2)$$

$$(y^2 + 1)dy = xdx \quad (2.3)$$

$$\int (y^2 + 1)dy = \int xdx \quad (2.4)$$

$$\frac{y^3}{3} + y = \frac{x^2}{2} + C \quad (2.5)$$

Já uma solução particular de uma equação diferencial é qualquer solução obtida pela atribuição de valores específicos às constantes da solução geral. Por exemplo, dada a condição $y = 1$ e $x = 0$ e substituindo-os na solução geral da equação diferencial 2.2 obtemos:

$$\frac{1^3}{3} = \frac{0^2}{2} + C \Rightarrow C = \frac{4}{3} \Rightarrow \frac{y^3}{3} + y = \frac{x^2}{2} + \frac{4}{3} \quad (2.6)$$

Também é possível montar um conjunto de equações diferenciais de modo que trabalhem em conjunto, formando um sistema de equações diferenciais. Um sistema de n equações diferenciais de primeira ordem é um conjunto de n equações diferenciais onde aparece apenas a primeira derivada, com uma variável independente t e n variáveis dependentes $x_1, x_2, \dots, x_n$, que podem ser escritas da seguinte forma:

$$\frac{dx_1}{dt} = F_1(x_1, \dots, x_n, x'_1, \dots, x'_n, t) \quad (2.7)$$

$$\frac{dx_2}{dt} = F_2(x_1, \dots, x_n, x'_1, \dots, x'_n, t) \quad (2.8)$$

$$\dots \quad (2.9)$$

$$\frac{dx_n}{dt} = F_n(x_1, \dots, x_n, x'_1, \dots, x'_n, t) \quad (2.10)$$

onde $F_1, F_2, \dots, F_n$ são quaisquer funções de $(2n + 1)$ variáveis reais, que definem o sistema. A seguir, um exemplo de um sistema de equações diferenciais que foi utilizada para a modelagem da infestação da malária que representa a evolução da população de parasitas na corrente sanguínea:

$$dM/dt = aMR - cMI - gM + M \quad (2.11)$$

$$dI/dt = sM - qI + I \quad (2.12)$$

$$dR/dt = fR - hR - nRM + R \quad (2.13)$$

As equações diferenciais têm inúmeras aplicações. Os matemáticos estudam os tipos e as propriedades das equações diferenciais, como por exemplo o Teorema da Existência e Unicidade, teorema que busca a verificação da existência da solução da equação e se essa solução é a única. Já os físicos utilizam as equações diferenciais na construção de modelos matemáticos para simular fenômenos físicos tais como na dinâmica de fluidos e os movimentos de corpos celestiais. Os engenheiros as utilizam nos projetos de construções de pontes, aviões, automóveis, bem como na realização de simulações para testar se os objetos construídos (pontes, carros, aviões) estarão dentro das normas de segurança. Até na biologia foram encontradas aplicações para as equações diferenciais, tais como construções de modelos matemáticos para a simulação de neurônios, dinâmicas de populações, crescimento de tumores cancerígenos, e vários outros. As equações diferenciais também são utilizadas na modelagem de sistemas contínuos como, por exemplo, o enchimento ou esvaziamento de um tanque.

A linguagem de programação MatLab [6] pode ser usada como um método de resolução numérico para as equações diferenciais.

2.3 Autômatos de Estados Finitos

Um autômato é um modelo que trabalha com estados, sendo que cada estado representa a situação atual de um processo. Nenhum estado de um autômato considera situações anteriores, por isso, são modelos sem memórias. Os autômatos podem ser caracterizados segundo o número de estados e os tipos de transições que possuem. O tipo mais comum é o Autômato de Estado Finito que possui um número finito de estados. Formalmente, um Autômato Finito pode ser definido como [48]:

Definição 2.1: Um Autômato Finito é representado por uma quintupla $\langle Q, \Sigma, \delta, S_0, F \rangle$ onde:

- Q é um conjunto finito de estados.
- Σ é um conjunto finito de símbolos (alfabeto da linguagem que o autômato aceita).
- δ é a função de transição, isto é, $\delta : Q \times \Sigma \rightarrow Q$.
- S_0 é o estado inicial, isto é, o estado no qual o autômato está quando ainda não foi processada nenhuma entrada.

- F é o conjunto de estados de Q , chamados de estados finais. Uma entrada somente é aceita se esta termina em um estado pertencente a este conjunto.

A figura 2.1 apresenta um exemplo simples de um autômato finito. Este autômato reconhece entradas que contenham número ímpar de b 's como, por exemplo, a entrada "baababaaabbbaba" e rejeita palavras que contenham número par de b 's. O conjunto finito de estados é dado por $Q = \{q_0, q_1\}$, o conjunto de símbolos é $\Sigma = \{a, b\}$, o estado inicial é $S_0 = \{q_0\}$, o conjunto de estados finais é dado por $F = \{q_1\}$ e a função de transição $\delta : \{q_0, q_1\} \times \{a, b\} \rightarrow \{q_0, q_1\}$ é dada pela tabela abaixo:

δ	a	b
q_0	q_0	q_1
q_1	q_1	q_0

A representação do estado inicial é dada por uma seta sem rótulo como pode ser visto na figura 2.1 ao lado do estado q_0 . O estado final é representado por uma dupla circunferência, como o caso do estado q_1 .

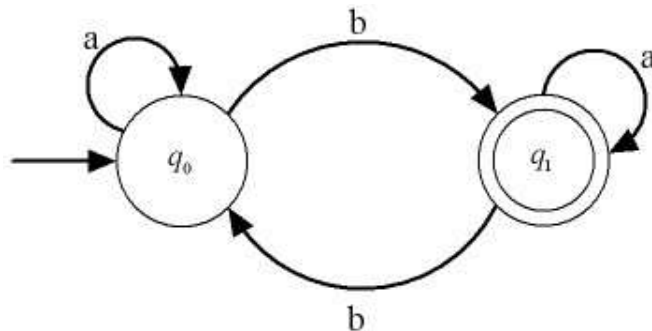


Figura 2.1: Autômato Finito - Reconhecedor número ímpar de b 's

2.3.1 Autômatos Híbridos

Um autômato híbrido é um modelo usado para sistemas cujos comportamentos possuem natureza discreta e contínua, isto é, sistemas híbridos. Um autômato híbrido consiste de um autômato finito e de variáveis que evoluem continuamente no tempo. Os estados discretos do sistema são modelados por vértices no grafo do autômato finito; cada vértice é então chamado de **modo de controle**. A dinâmica discreta do sistema é modelada pelos arcos do grafo e são chamados de **transições de controle**. O estado contínuo é

modelado por pontos em $\mathbb{R}$ e a dinâmica contínua do sistema é modelada por **condições de fluxo** como, por exemplo, equações diferenciais. O comportamento do sistema depende do modo de controle do autômato: cada modo de controle determina uma condição de fluxo e cada transição de controle, determinado por uma **condição de salto**, pode causar mudanças no estado do sistema. O comportamento do autômato depende do estado do sistema: cada modo de controle continuamente avalia uma **condição invariante** do sistema e se esta condição é violada, causa uma transição de controle. A definição de Autômatos Híbridos [27]:

Definição 2.2: Um Autômato Híbrido H pode ser definido com sendo composto pelos seguintes elementos:

- (V, E) é um multigrafo finito onde V é o conjunto finito de vértices (modo de controle) e E é o conjunto finito de arestas (transições de controle).
- X é um conjunto finito de variáveis contínuas ($X \in \mathbb{R}$).
- F são funções que definem as evoluções das variáveis contínuas, através de um sistema de equações diferenciais.
- $Inv(v)$ são as condições invariantes que devem ser satisfeitas para permanecer em seu estado discreto (condições de fluxo).
- $G(e)$ são as condições de guarda que devem ser satisfeitas para que ocorra uma transição.
- $J(e, z)$ são funções de atualização, especificando o valor das variáveis imediatamente após uma transição de controle ($z \in \mathbb{R}$).
- $Init(v, z)$ o estado inicial do autômato, onde $v \in V$ representa o estado discreto e $z \in \mathbb{R}$ representa o valor das variáveis contínuas.

Um exemplo de autômato híbrido é dado na figura 2.2. Este autômato representa um aquecedor que controla a temperatura. $((V_1, V_2), (E_1, E_2))$ é o multigrafo da figura 2.2 onde V_1 é o vértice que representa o estado *Desligado*, estado em que o aquecedor se encontra desligado, V_2 é o vértice que representa o estado *Ligado*, estado em que o aquecedor se encontra ligado, E_1 é a transição *Ligar*, que liga o aquecedor, e E_2 é a transição *Desligar*, que desliga o aquecedor. O conjunto de variáveis contínuas X é representada

pela variável T que representa a temperatura. A evolução da variável contínua é dada pela equação diferencial dT/dt dos estados *Desligado* e *Ligado* apresentadas na figura 2.2. A condição invariante para permanecer no estado *Desligado* é $Inv(V_1) = T \geq 18$ e a condição invariante para o estado *Ligado* é $Inv(V_2) = T < 22$. As condições de guarda são $G(E_1) = T < 19$, para passar de *Desligado* para *Ligado*, e $G(E_2) = T \geq 21$, passar do estado *Ligado* para *Desligado*. O estado inicial é dada por $Init(V_1, 20)$ (representado por uma seta rotulada $T := 20$ na figura 2.2).

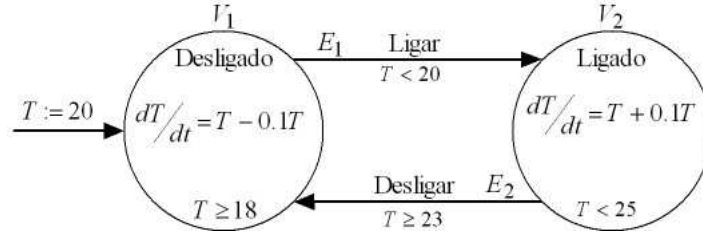


Figura 2.2: Autômato Híbrido - Aquecedor

Por serem uma extensão dos autômatos finitos, os autômatos híbridos não possuem a capacidade de representação gráfica, de forma explícita, de comportamentos paralelos.

2.4 Redes de Petri

Uma Rede de Petri é uma ferramenta gráfica e matemática que pode ser usada para a modelagem de diversos tipos de sistemas. O fato de ser gráfica permite uma visualização clara de informações relevantes do sistema. Esta teoria nasceu da tese de C. A. Petri intitulada *Comunicação com Autômatos* apresentada em 1962 à Universidade de Darmsdadt, e foi estendida por A. W. Holt e pesquisadores do MIT (*Massachusetts Institute of Technology*) [12]. As redes de Petri podem ser consideradas como sendo uma representação formal que permite modelagem, análise e controle de sistemas a eventos discretos que comportam atividades paralelas, concorrentes e assíncronas.

2.4.1 Definições

As redes de Petri são um tipo de grafo composto por dois tipos de nós chamados lugares e transições. Um lugar pode ser representado por um círculo e uma transição por uma barra. Arcos conectam os lugares às transições ou transições aos lugares, podendo

ser rotulados por pesos (inteiros positivos) quando diferente de 1. As fichas são utilizadas para simular o comportamento dinâmico dos sistemas. A definição de uma rede de Petri é dada por ([12]):

Definição 2.3: Uma rede de Petri pode ser definida como uma quádrupla $R = \langle P, T, Pre, Post \rangle$ onde:

- P é um conjunto finito de lugares de dimensão n ;
- T é um conjunto finito de transições de dimensão m ;
- $Pre : P \times T \rightarrow \mathbb{N}$ é a aplicação de entrada (lugares precedentes ou incidência anterior), sendo $\mathbb{N}$ o conjunto dos números naturais;
- $Post : P \times T \rightarrow \mathbb{N}$ é a aplicação de saída (lugares seguintes ou incidência posterior).

A quádrupla $R = \langle P, T, Pre, Post \rangle$ com $P = \{p_1, p_2, p_3\}$, $T = \{t_1, t_2, t_3, t_4\}$ e os valores das aplicações de entrada e saída dados por: $Pre(p_2, t_3) = 3$, $Pre(p_1, t_2) = Pre(p_2, t_1) = Pre(p_3, t_4) = 1$, $Post(p_2, t_4) = 3$ e $Post(p_1, t_1) = Post(p_2, t_2) = Post(p_3, t_3) = 1$ representa a rede de Petri representada pela figura 2.3.

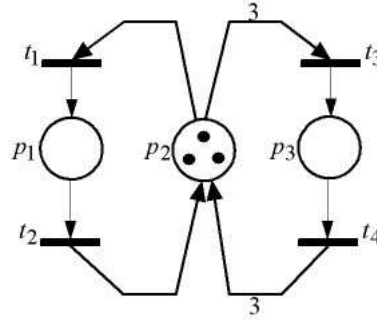


Figura 2.3: Rede de Petri

A partir dos elementos $a_{ij} = Pre(p_i, t_j)$ que indica o peso do arco ligando o lugar de entrada p_i à transição t_j , define-se uma matriz de incidência Pre de dimensão $n \times m$. Da mesma forma, a matriz de incidência $Post$ é definida a partir dos elementos $b_{ij} = Post(p_i, t_j)$. A notação matricial da rede de Petri da figura 2.3 é dada por:

$$Pre = \begin{bmatrix} 0 & 1 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 3 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 \end{bmatrix} \quad Post = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 3 \\ 0 & 0 & 1 & 0 \end{bmatrix}$$

A partir de Pre e $Post$ define-se a matriz de incidência C como:

$$C = Post - Pre \quad (2.14)$$

que fornece o balanço das fichas na rede quando há disparo de transições. Pelo exemplo, tem-se que:

$$C = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 \\ -1 & 1 & -3 & 3 \\ 0 & 0 & 1 & -1 \end{bmatrix}$$

Uma rede de Petri marcada N é dada pela dupla $M :< R, M >$ onde:

- R é uma rede de Petri;
- M é a marcação inicial dada pela aplicação $M : P \rightarrow \mathbb{N}$.

M representa a distribuição das fichas nos lugares e pode ser representada por um vetor de inteiros positivos ou nulos, cuja dimensão é o número de lugares da rede.

A dupla $N =< R, M >$ com R sendo a rede de Petri da figura 2.3 e a marcação $M^T = [0 \ 3 \ 0]$ (M^T é o transposto do vetor) é um exemplo de rede de Petri marcada.

Uma transição t está sensibilizada ou habilitada se e somente se:

$$\forall p \in P, M(p) \geq Pre(p, t) \quad (2.15)$$

isto é, se o número de fichas em cada um dos lugares de entrada for maior (ou igual) ao peso do arco que liga este lugar à transição. Outra maneira de escrever a equação acima seria na forma $M \geq Pre(., t)$, onde o vetor coluna $Pre(., t)$ é a coluna da matriz Pre referente à transição t , e M o vetor marcação inicial. Na rede de Petri da figura 2.3 somente as transições t_1 e t_3 estão sensibilizadas, pois o lugar de entrada p_2 possui o número de fichas suficiente para sensibilizá-las. Para a transição t_1 somente uma ficha é necessário para sensibilizá-la, enquanto que a transição t_3 necessita de três fichas.

Se t é sensibilizada por uma marcação M , uma nova marcação M' é obtida através do disparo de t tal que:

$$\forall p \in P, M'(p) = M(p) - Pre(p, t) + Post(p, t) \quad (2.16)$$

A nova marcação M' será dada pela equação:

$$M' = M - Pre(., t) + Post(., t) = M + C(., t) \quad (2.17)$$

Na rede de Petri da figura 2.3, após o disparo de t_1 a partir da marcação inicial M , obtém-se, pelo uso da equação 2.17 a seguinte marcação M' :

$$M' = \begin{bmatrix} 0 \\ 3 \\ 0 \end{bmatrix} + \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 1 \\ 2 \\ 0 \end{bmatrix}$$

Em outras palavras, o disparo de uma transição consiste em retirar as fichas dos lugares de entrada e depositar fichas nos lugares de saída. A figura 2.4 mostra o exemplo de disparo da transição t_1 .

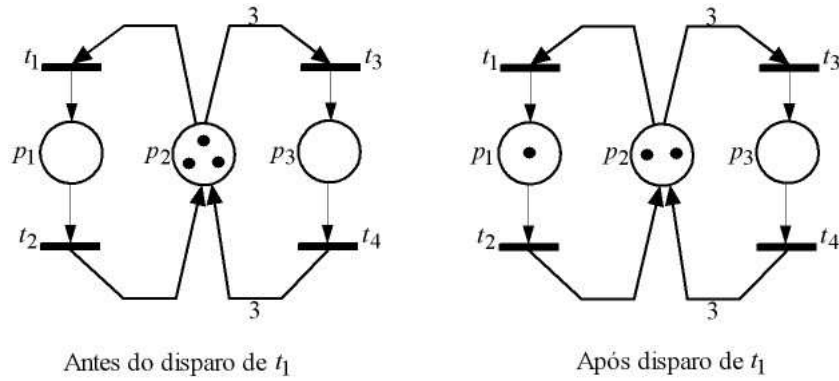


Figura 2.4: Exemplo de disparo de transição

A partir de uma marcação inicial, é possível obter um conjunto de marcações que podem ser atingidas através de sequências de disparos. Este conjunto é denominado de conjunto de marcações acessíveis. Dada uma rede de Petri marcada, o conjunto de marcações acessíveis $A(R, M)$ é dada por:

$$A(R, M) = \{M_i | \exists s \ M \xrightarrow{s} M_i\} \quad (2.18)$$

Se este conjunto for finito, é possível representá-lo sob a forma de um grafo, cujos nós são as marcações acessíveis. Um arco orientado liga dois nós M_i e M_j se existe

uma transição t sensibilizada que permite passar de uma marcação M_i a uma outra M_j : $M_i \xrightarrow{t} M_j$. Este arco é então rotulado pela transição t .

De fato, o grafo de marcações acessíveis é uma máquina de estados *equivalente* à rede de Petri. Porém, uma vez desaparecido a noção de processo, não existe diferença entre transições paralelas e transições em conflito para uma dada marcação. A figura 2.5 apresenta o grafo das marcações acessíveis da rede de Petri da figura 2.3

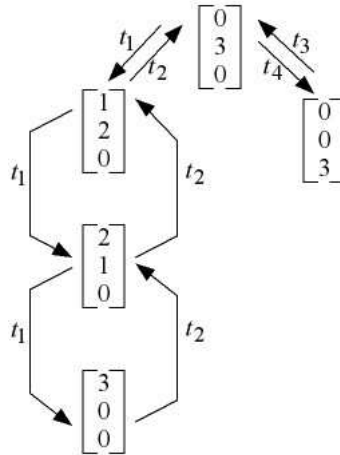


Figura 2.5: Grafo das marcações acessíveis

2.4.2 Propriedades das Redes de Petri

Verificar as boas propriedades de um modelo é um fator crucial para que este funcione de maneira satisfatória atendendo os requisitos do sistema. Por exemplo, o sistema pode entrar em *deadlock* ou apresentar uma operação que nunca será realizada. A seguir serão apresentadas algumas propriedades das redes de Petri.

Uma rede de Petri marcada é k -limitada se e somente se todos os seus lugares são k -limitados. Um lugar p de uma rede de Petri marcada N é k -limitada se e somente se :

$$\forall M' \in A(R, M), M'(p) \leq k \quad (2.19)$$

No caso em que $k = 1$, diz-se que o lugar é binário. A rede de Petri da figura 2.3 é 3-limitada, ou limitada com $k = 3$. Já o lugar p_3 é binário e os lugares p_1 e p_2 são 3-limitados. Uma rede de Petri que contém um lugar onde há um acúmulo infinito de fichas é não limitada. A não-limitabilidade somente é necessária caso queira avaliar o desem-

penho de um sistema independentemente dos limites de seus elementos de armazenamento intermediários (sistemas de filas sem capacidade).

Uma rede de Petri marcada $N = \langle R, M \rangle$ é viva se e somente se todas as suas transições são vivas:

$$\forall t \in T, \forall M' \in A(R, M), \exists s \mid M' \xrightarrow{s} t. \quad (2.20)$$

Para ser viva, uma transição t deve poder ser sensibilizada a partir de qualquer marcação M' do grafo de marcações acessíveis, através de uma sequência de disparo s . Por exemplo, a rede de Petri da figura 2.3 é viva para a marcação inicial $M = [0 \ 3 \ 0]^T$. Porém, caso a marcação inicial fosse $M = [0 \ 1 \ 0]^T$ a rede de Petri seria não-viva, pois as transições t_3 e t_4 nunca seriam sensibilizadas. Uma rede de Petri viva garante que nenhuma situação de bloqueio ("deadlock") acontecerá.

Uma rede marcada $N = \langle R, M \rangle$ é reiniciável se e somente se:

$$\forall M' \in A(R, M), \exists s \mid M' \xrightarrow{s} M. \quad (2.21)$$

A partir de qualquer marcação acessível M' de $GA(R, M)$, é possível encontrar uma sequência de disparo s que leve a rede de volta à marcação inicial. A rede de Petri marcada da figura 2.3 é reiniciável, pois sempre existe uma sequência de disparo que permite voltar à marcação inicial. Como a maioria dos sistemas possuem funcionamentos repetitivos, as redes de Petri utilizadas para representá-las têm que ser, geralmente, reiniciáveis.

Existem também *propriedades estruturais* [12] que são dependentes da estrutura da rede e não da marcação inicial. Estas propriedades são definidas através de componentes conservativos de lugares e dos componentes repetitivos estacionários. Baseando-se nesses elementos estruturais, é possível definir os invariantes de lugar e de transição que fornecem algumas informações sobre a dinâmica da rede. Uma apresentação detalhada das propriedades e dos algoritmos de verificação das propriedades das redes de Petri encontra-se em Murata [40].

2.4.3 Redes de Petri de Alto Nível

As redes de Petri têm sido utilizadas nas mais diversas aplicações e com diferentes níveis de complexidade. Dependendo da complexidade do sistema a ser modelado, pode ser necessária a utilização de outros modelos de redes de Petri que oferecem mais recursos

do que o simples modelo autônomo (lugares/transições). A seguir alguns tipos de redes de Petri de alto nível são apresentadas.

Redes de Petri Coloridas [17], [12] foram definidas com o intuito de reduzir o tamanho dos modelos construídos. Assim, foi introduzido o conceito de cores das fichas (números inteiros ou conjunto de etiquetas). A cada lugar associa-se o conjunto de cores que podem pertencer a este lugar. E a cada transição associa-se um conjunto que cores que corresponde às diferentes maneiras de disparar uma transição. A seguir um exemplo de disparo de uma rede de Petri colorida (figura 2.6).

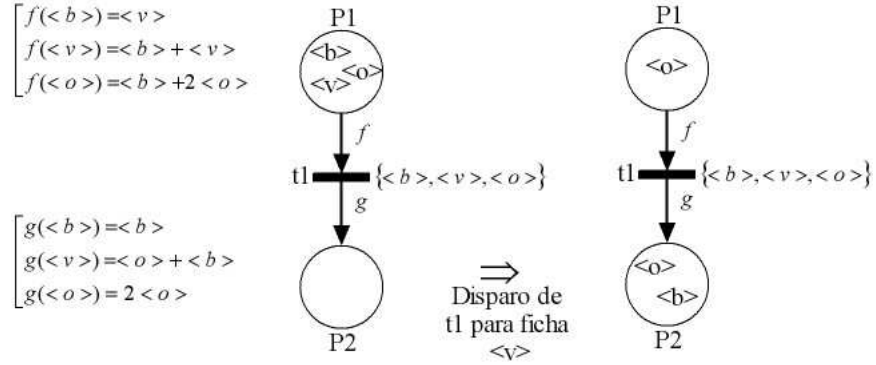


Figura 2.6: Rede de Petri Colorida

Os lugares contém as fichas coloridas e várias fichas da mesma cor pode ser encontrado no mesmo lugar. No caso da figura 2.6, o lugar $P1$ contém as fichas $$, $<v>$ e $<o>$ antes do disparo de $t1$. Um conjunto de cores de disparo são associados às transições. Cada cor indica uma possibilidade diferente de disparo. A transição $t1$ da figura 2.6 pode disparar para as cores $$, $<v>$ e $<o>$. Aos arcos são associados pesos que são as funções Pre e $Post$ que estabelecem a correspondência entre cada cor da transição (cores que podem disparar as transições) e são representadas pelas funções f e g . Assim, o disparo da transição $t1$ para ficha $<v>$ retira a ficha $<v>$ e $$ de $P1$ (pela função f) e deposita as fichas $<o>$ e $$ no lugar $P2$ (pela função g). As redes de Petri coloridas podem ser aplicadas nos sistemas de manufatura onde os elementos físicos dos sistemas, tais como as peças, as máquinas, as ferramentas, etc., são diretamente descritos através das fichas.

Nas **Redes de Petri Estocásticas** [17], um tempo aleatório é associado ao disparo de uma transição. Esse modelo é usado para sistemas cujos eventos não podem ser bem definidos com durações constantes como, por exemplo, o tempo entre as falhas de

uma máquina. Para este modelo, a duração de sensibilização estocástica é uma variável estocástica com uma distribuição de probabilidade exponencial negativa e pode ser dado por $\frac{1}{\lambda}$ onde λ é a taxa de transição. A marcação $M(t)$ de uma rede de Petri estocástica é dada por um processo Markoviano e para toda rede de Petri estocástica é associada uma cadeia Markoviana.

A característica principal das **Redes de Petri Contínuas** [17], [10] é que a marcação é dada por um número real (positivo) e não mais um inteiro. O disparo de uma transição é realizado como sendo um fluxo contínuo (seguindo o modelo de funcionamento de uma ampulheta ou do fluxo de água liberado por uma torneira). A marcação contínua é progressivamente transferida respeitando uma velocidade de disparo (fluxo de marcas contínuo transferido de um lugar para outro). Um exemplo é apresentado na figura 2.7.

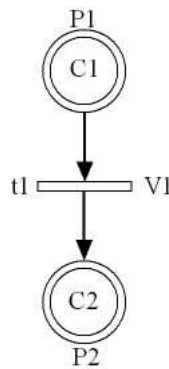


Figura 2.7: Rede de Petri Contínua com velocidade constante

Na figura 2.7 a inscrição $V1$ representa a velocidade de disparo de $t1$ em quantidade de marcas por unidade de tempo. Considerando inicialmente que a marcação $m2$ de $P2$ é nula e a marcação $m1$ do lugar $P1$ é igual a $C1$, a evolução das marcas de $P1$ e $P2$ pode ser representado pela figura 2.8.

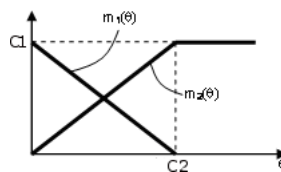


Figura 2.8: Evolução da marcação

Há dois tipos de redes de Peri contínuas: com velocidade constante e com velocidade variável. Nas redes de Petri com velocidade constante [17] existe uma velocidade máxima

de disparo para cada transição. Enquanto o lugar de entrada de uma transição contém uma marcação contínua positiva, o disparo da transição segue a velocidade máxima de disparo associada à transição. Se o lugar de entrada de uma transição é vazio mas existe uma transição de entrada neste mesmo lugar, então a velocidade de disparo da transição de saída do lugar é igual ao valor mínimo das velocidades de disparo associadas às transições de entrada e saída do lugar.

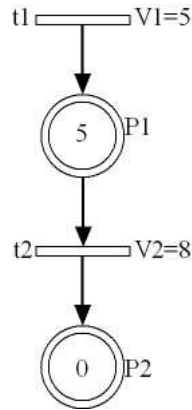


Figura 2.9: Rede de Petri com velocidade constante

A figura 2.9 é um exemplo de rede de Petri com velocidade constante. Como a velocidade de $t2$ é maior que a velocidade de $t1$ e estando o lugar $P2$ vazio, então a velocidade de disparo de $t2$ torna-se igual à velocidade de $t1$.

Já as redes de Petri com velocidade variável [17] a velocidade de disparo de uma transição pode ser dada por uma função da marcação dos lugares de entrada da transição. A velocidade de disparo torna-se então uma função contínua no tempo.

As redes de Petri contínuas são adequadas para sistemas onde há um fluxo contínuo de produtos.

As **Redes de Petri Híbridas** [17], [10] são modelos que apresentam tanto uma parte discreta quanto uma parte contínua. Uma rede de Petri híbrida pode conter lugares discretos e lugares contínuos. A marcação de um lugar contínuo é representada por um número real cujas unidades são chamadas de marcas e marcação discreta é representada pelas fichas. A figura 2.10 apresenta um exemplo de rede de Petri híbrida.

A figura 2.10 pode representar um tanque que tem uma capacidade de enchimento V_{max} que representa o volume máximo que o tanque pode conter. Após receber o volume V_{max} , a operação de enchimento deve ser interrompida, mesmo que o estoque intermediário

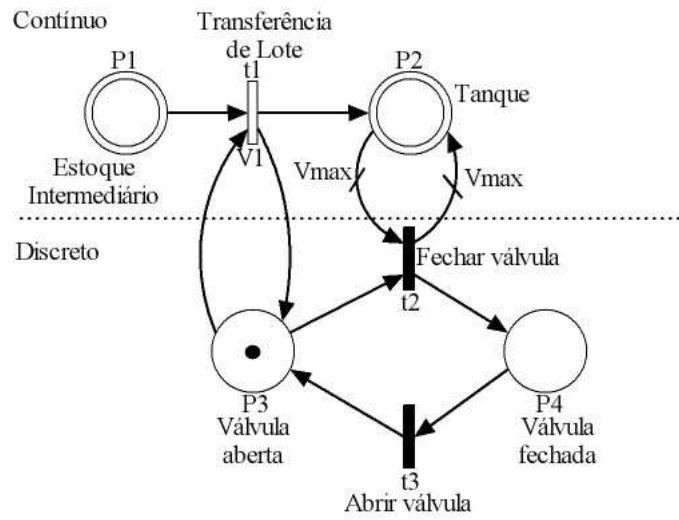


Figura 2.10: Rede de Petri Híbrida

não esteja vazio. Quando a marcação $P2$ se torna igual a V_{max} , a transição $t2$ é disparada e a marca em $P3$ é consumida. Em consequência disto, a transição $t1$ não está mais habilitada e a transferência do produto é interrompida.

As rede de Petri híbridas são utilizadas na modelagem de sistemas híbridos onde há, simultaneamente, componentes discretos e contínuos.

Capítulo 3

Modelagem de Processos Biológicos

Neste capítulo serão apresentados as diferentes formas de modelagem de processos biológicos. Primeiramente, serão apresentados alguns exemplos de processos biológicos onde a modelagem pode ser aplicada. Em seguida, apresentaremos algumas técnicas de modelagem já utilizadas como equações diferenciais, autômatos híbridos e redes de Petri.

3.1 Processos Biológicos

Através da utilização de métodos de pesquisa *in-silico**, houve uma redução de tempo e custo associado com a descoberta do conhecimento biológico. Com isso, a bioinformática vêm emergindo como uma nova área de conhecimento que une a biologia e a informática.

Vários processos biológicos podem ser modelados, dentre eles a regulação gênica, os processos metabólicos, a transdução de sinal, as doenças epidemiológicas e os modelos ecológicos. As informações bioquímicas das células são codificadas em moléculas de Ácido Desoxirribonucléico (DNA). O DNA pode ser transcrito em Ácido Ribonucléico mensageiro (mRNA), e o mRNA é traduzido em proteínas pelos ribossomos [41]. A regulação gênica pode ser definida então como um controle da atividade gênica; supressão de produtos gênicos em células específicas ou em tecidos, ou seja, mecanismos que controlam a produção de proteínas. Genes diferentes são ativados ou desativados em tipos celulares diferentes (o conceito de expressão gênica). Dentro de um mesmo tipo celular, as células devem adaptar suas funções de acordo com as necessidades do ambiente e do estágio de

*Métodos que consistem em coletar dados através de uma variedade de tecnologias anotando e explorando os resultados dos conjuntos de dados digitais.

desenvolvimento. Isto também ocorre graças aos mecanismos de regulação gênica. Assim sendo, a célula deve encontrar um meio de ativar e desativar cada gene ou grupo de genes e reconhecer situações nas quais deve ativar ou desativar cada gene ou grupo de genes. Os mecanismos de regulação gênica são extremamente variados e ainda não totalmente conhecidos (projeto genoma humano). O Ritmo Circadiano nas *Drosophila* [23], [53] é um bom exemplo de regulação gênica pois regula o ciclo de 24 horas da mosca. É apresentado pela figura 3.1, sendo melhor detalhado na seção seguinte.

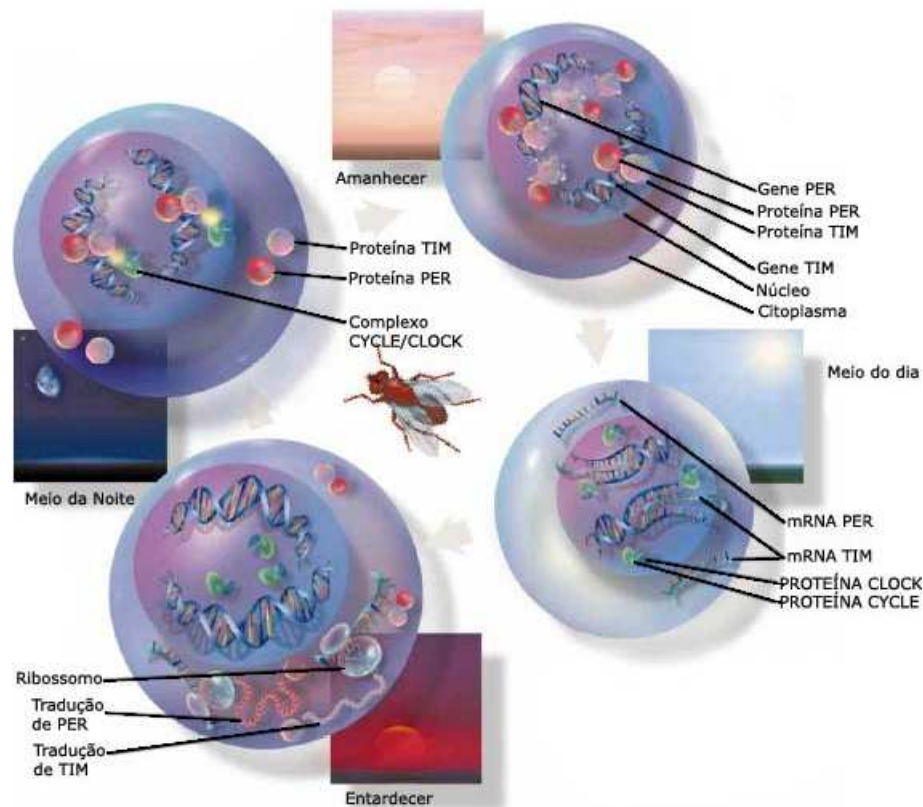


Figura 3.1: Ritmo Circadiano da *Drosophila Melanogaster*

Organismos multicelulares podem ser considerados sociedades celulares extremamente complexas, na qual cada indivíduo (célula) possui funções específicas e segue certas dinâmicas, objetivando o bem do organismo e não simplesmente o de cada célula. Para que estas funções possam ser desempenhadas adequadamente, células recebem e emitem uma grande variedade de informações, desde o contato com as células vizinhas até sinalizadores químicos sintetizados por outras células. A transdução de sinal é o processo pelo qual a célula responde a sinais externos através de receptores que podem estar na superfície ou no citoplasma. O sinal é transmitido para o interior através de menssageiros

que induzem o desejo da célula em responder ao sinal externo [41]. Um exemplo de transdução de sinais é a *apoptoses* (a morte programada da célula)[37]. Um outro bom exemplo de transdução de sinal é o sistema imunológico. Assim que um corpo estranho, por exemplo vírus, bactérias, entra em nosso organismo, moléculas presentes na corrente sanguínea levam o aviso de perigo às células do sistema imunológico. Após o recebimento do aviso, células de defesa são produzidas para combater os corpos estranhos [20].

Todos os outros processos que não sejam de regulação gênica ou transdução de sinal são considerados processos metabólicos. Metabolismo é o conjunto das reações químicas que ocorrem num organismo vivo a fim de promover a satisfação de necessidades estruturais e energéticas. Os processos metabólicos ocorrem tanto no domínio celular, como no organismo em geral. Eles governam os ciclos da matéria e de energia de uma célula - a maneira que a energia e a matéria são obtidos, transformados e consumidos por organismos vivos. Essencial como o processo bioquímico de aproveitamento da energia, o metabolismo equilibra as funções fisiológicas. Seus distúrbios ocasionam doenças de incidência freqüente, como o diabetes, a obesidade e a arteriosclerose [41]. A fotossíntese é um exemplo de processo metabólico no qual a energia solar é convertida em energia química (ATP) durante a formação da glicose. A glicólise é um outro exemplo de processo metabólico no qual a glicose é transformada em lactose, passando por várias reações bioquímicas, na presença de ebergia (ATP) [8], podendo ser vista na figura 3.2.

Há ainda outros aspectos da biologia celular além dos apresentados anteriormente, como a proliferação de células, migração de células, aderência celular, dentre outros [41].

A ecologia, estudo das inter-relações entre organismos e o seu meio físico, também apresenta várias situações que podem ser modeladas. Se a biologia é responsável pelos estudos dos genes, células, tecidos, órgãos e sistemas, a ecologia dá um enfoque maior nas espécies, populações, comunidades, ecossistemas e biosfera. Modelos de crescimento de populações ajudam a entender como os indivíduos de uma espécie se relacionam entre si, podendo verificar a maneira através da qual populações crescem em relação ao tempo e em relação ao ambiente em que vivem. Estimativas feitas em relação ao tamanho da população humana para os próximos anos é um exemplo de estudo de crescimento de população [32]. A figura 3.3 apresenta um gráfico sobre a estimativa de crescimento populacional mundial.

A observação da interação entre as espécies nos seus respectivos ambientes naturais

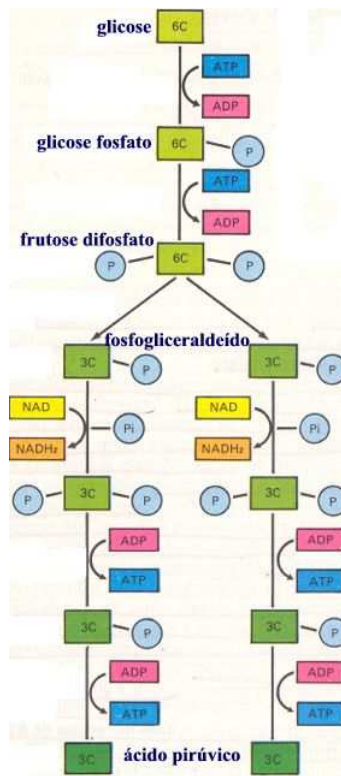


Figura 3.2: Processo Metabólico - Glicólise

permitiu um acúmulo de conhecimento útil à elaboração de Modelos Epidemiológicos [32], tanto no sentido de conhecer a dinâmica de vida e reprodução de espécies que ameaçam a saúde do homem, quanto no sentido de conhecer o impacto no comportamento ou sobrevivência de espécies às alterações ambientais. Doenças epidemiológicas como a Malária, gonorréia, já foram modeladas utilizando equações diferenciais.

Modelos Predador-Presa simulam a coexistência de duas espécies, os predadores e as presas, no qual predadores têm efeitos inibidores no crescimento da população de presas, e as presas têm efeitos aceleradores no crescimento da população de predadores. A Malária também é um bom exemplo de modelo predador-presa, onde predadores são os parasitas (merozoites) e as presas são as células vermelhas do sangue.

Já modelos com Competição são modelos onde duas espécies estão em competição pelos mesmos recursos (alimento e ambiente), cada espécie têm efeitos inibidores no crescimento da outra, como por exemplo os lobos, raposas que competem pelo mesmo alimento, o coelho [32].

Vários outros modelos na biologia, bioquímica e na ecologia, podem ser vistos em [29], [18] e [32].

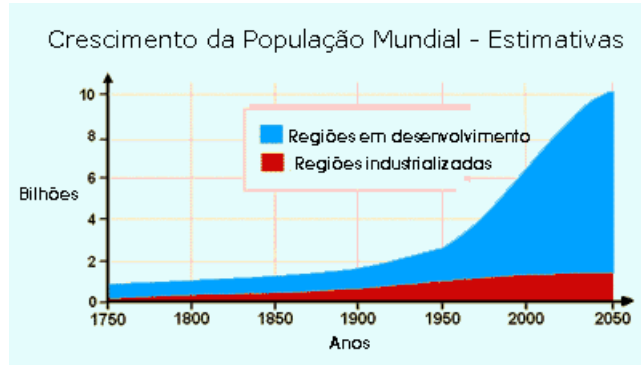


Figura 3.3: Crescimento de População

3.2 Modelos baseados em Equações Diferenciais

Uma das representações mais tradicionais de processos biológicos é baseada no uso de equações diferenciais. Algumas ferramentas, inclusive, são baseadas nesta abordagem, sendo apropriados para representar e simular a cinética de reações químicas assim como as dinâmicas dos processos metabólicos. Alguns pacotes de software como Gepasi [7] e E-CELL [1] foram desenvolvidas especialmente para suportar esse tipo de modelagem através de representações analíticas.

Um dos mais simples experimentos que possa exemplificar o uso de equações diferenciais na biologia seria o crescimento de microorganismos unicelulares, como bactérias, seguido de mudanças em sua população com o passar do tempo [18]. Inicialmente, uma gota de suspensão bacteriana é introduzida em um frasco contendo nutrientes (um caldo que supri todas as necessidades bacterianas). Após este processo de inoculação, a cultura é mantida em condições adequadas para o seu desenvolvimento e crescimento. As bactérias entram então em um ambiente onde possam se reproduzir através de sucessivas divisões celulares, tendo um enorme crescimento em número.

Seja $N(t)$ a densidade bacteriana observada no tempo t . Supondo que uma única divisão bacteriana leva a um total de K novas células bacterianas. Logo, a taxa de reprodução bacteriana é definida como sendo a constante K ($K > 0$). Supondo agora que as densidades são observadas em dois intervalos de tempo muito curto t and $t + \Delta t$; então uma nova relação é encontrada:

$$N(t + \Delta t) \cong N(t) + KN(t)\Delta t \Leftrightarrow \frac{N(t + \Delta t) - N(t)}{\Delta t} = KN(t) \quad (3.1)$$

onde $N(t + \Delta t)$ é a densidade total no tempo $(t + \Delta t)$, $N(t)$ é a densidade no tempo t e $KN(t)\Delta t$ é o aumento na densidade, devido a reprodução, durante o intervalo de tempo Δt .

Quando $\Delta t \rightarrow 0$, a equação 3.1 se transforma na seguinte equação diferencial ordinária:

$$\frac{dN}{dt} = KN(t) \quad (3.2)$$

Levando-se em conta que durante o intervalo de tempo Δt algumas bactérias venha a morrer, a equação 3.2 pode evoluir para a seguinte equação:

$$\frac{dN}{dt} = KN(t) - DN(t) \quad (3.3)$$

onde D é a taxa de mortalidade bacterial. Este exemplo simples mostra como as equações diferenciais são construídas e como elas podem evoluir de acordo com a evolução dos processos a serem modelados. Existem diversos exemplos de processos biológicos que já foram modelados utilizando sistemas de equações diferenciais.

O ritmo circadiano da *Drosophila Melanogaster* foi imensamente estudado [53] [50] [23] [52] [47] [30] [31], sendo um bom exemplo de modelagem de processos de regulação gênica que utiliza equações diferenciais. A *Drosophila*, é uma mosca que se alimenta de polpa de frutas, e foi o primeiro ser vivo que teve o seu código genético sequenciado. O ritmo circadiano é um termo muito comum quando se fala de homeostasia (manutenção de condições estáticas ou constantes no meio interno) e auto-regulação corporal. O termo ritmo circadiano provém do Latim *circa diem*, que significa por volta de um dia. Como o próprio nome sugere, este ritmo desempenha as suas funções em ciclos de 24 horas. O ritmo circadiano regula todos os ritmos do corpo como a digestão e o processo de eliminação, o crescimento e renovar de células, ou a regulação da temperatura. Nas *Drosophilas*, o ritmo circadiano é controlado por cinco genes: *period(per)*, *timeless (tim)*, *Drosophila Clock (dClk)*, *cycle (cyc)* e *double-time (dbt)*. Quando a mosca é exposta a luz, complexos formados por duas proteínas presentes no núcleo das células do cérebro da mosca, *PER* e *TIM*, começam a se degradar. Perto do meio-dia, todas as proteínas *PER* e *TIM* são degradadas e duas outras proteínas chamadas *CYCLE* e *CLOCK* se juntam para formar complexos que se ligam aos genes *per* e *tim* para ativá-los. Quando são ativados,

produzem RNA mensageiros que se movem para o citoplasma das células. Uma vez no citoplasma, os RNA mensageiros se juntam com os ribossomos das células. Uma das funções dos ribossomos é a de ler os RNA mensageiros e produzir cadeias de aminoácidos (tradução). Essas cadeias se transformam em proteínas *PER* e *TIM* que se juntam para formarem complexos *PER/TIM* ao entardecer. Durante a noite, os complexos *PER/TIM* se movem para o núcleo das células, onde bloqueiam as atividades das proteínas *CYCLE* e *CLOCK*. Quando o sol começa a nascer, os complexos *PER/TIM* se degradam e um novo ciclo começa. A figura 3.1 ilustra o funcionamento do ritmo circadiano da *Drosophila*.

O primeiro modelo estudado para oscilações circadianas em *Drosophila* apresentado em [23] era baseada somente na proteína *PER* e seus estados fosforilados. Este modelo foi estendido, incorporando a proteína *TIM*, formando o complexo *PER/TIM* em [30]. Finalmente, um modelo mais complexo baseado num conjunto de dez equações diferenciais, que interagem entre si, foi apresentado em [47], [30] e [31]. Em particular, tais equações apresentam parâmetros de ativação e repressão das proteínas assim como taxas proporcionais de tradução (a taxa de tradução é proporcional à concentração de mRNA). A figura 3.4 apresenta o modelo utilizando o sistema de dez equações diferenciais apresentadas em [47].

Um processo biológico muito estudado, um processo metabólico, é o da glicose, onde a falta ou o excesso de glicose na corrente sanguínea pode ocasionar a diabetes. A diabetes é uma doença que causa a disfunção dos mecanismos de controle de taxa de açúcar (glicose) no sangue. A glicose é uma fonte de energia do corpo humano, sendo capaz de fornecer energia necessária às células, e é obtida a partir da digestão de carboidratos (açúcares, amidos, etc.). Em pessoas normais, o aumento da glicemia (taxa de glicose no sangue) estimula imediatamente um dos tipos de células do pâncreas que liberam um hormônio chamado insulina. A insulina provoca, então, a rápida absorção da glicose pelas células musculares, hepáticas e adiposas. As células musculares e hepáticas, por sua vez, transformam a glicose em glicogênio, que fica armazenado até um certo limite no fígado e nos músculos. As células adiposas também absorvem glicose, porém a transforma em gorduras.

Muitos modelos matemáticos foram desenvolvidos para um maior entendimento dos mecanismos do sistema regulatório de glicose-insulina. Em [21] e [44], um modelo chamado de modelo mínimo foi proposto. Este modelo verifica o bom funcionamento do sistema regulatório da glicose-insulina. Tal modelo foi criado baseado em experimentos medindo

per-tim feedback loop

$$\begin{aligned}
\frac{dPer_m}{dt} &= C_1 + S_1 \frac{(CC_n/A_1)^u + B_1}{1 + (PT_n/R_1)^r + (CC_n/A_1)^u + B_1} - D_1 \frac{Per_m}{L_1 + Per_m} - D_0 Per_m, \\
\frac{dPer_c}{dt} &= S_2 Per_m - V_1 Per_c Tim_c + V_2 PT_c - D_2 Dbt_c \frac{Per_c}{L_2 + Per_c} - D_0 Per_c, \\
\frac{dTim_m}{dt} &= C_2 + S_3 \frac{(CC_n/A_2)^u + B_2}{1 + (PT_n/R_2)^r + (CC_n/A_2)^u + B_2} - D_3 \frac{Tim_m}{L_3 + Tim_m} - D_0 Tim_m, \\
\frac{dTim_c}{dt} &= S_4 Tim_m - V_1 Per_c Tim_c + V_2 PT_c - D_4 \frac{Tim_c}{L_4 + Tim_c} - D_0 Tim_c, \\
\frac{dPT_c}{dt} &= V_1 Per_c Tim_c - V_2 PT_c - T_1 \frac{PT_c}{K_1 + PT_c} + T_2 \frac{PT_n}{K_2 + PT_n} - D_5 \frac{PT_c}{L_5 + PT_c} - D_0 PT_c, \\
\frac{dPT_n}{dt} &= T_1 \frac{PT_c}{K_1 + PT_c} - T_2 \frac{PT_n}{K_2 + PT_n} - D_6 \frac{PT_n}{L_6 + PT_n} - D_0 PT_n.
\end{aligned}$$

dClk feedback loop

$$\begin{aligned}
\frac{dClk_m}{dt} &= C_3 + S_5 \frac{(PT_n/A_3)^u + B_3}{1 + (CC_n/R_3)^r + (PT_n/A_3)^u + B_3} - D_7 \frac{Clk_m}{L_7 + Clk_m} - D_0 Clk_m, \\
\frac{dClk_c}{dt} &= S_6 Clk_m - V_3 Clk_c CC_c + V_4 CC_c - D_8 \frac{Clk_c}{L_8 + Clk_c} - D_0 Clk_c, \\
\frac{dCC_c}{dt} &= V_3 Clk_c CC_c - V_4 CC_c - T_3 \frac{CC_c}{K_3 + CC_c} + T_4 \frac{CC_n}{K_4 + CC_n} - D_9 \frac{CC_c}{L_9 + CC_c} - D_0 CC_c, \\
\frac{dCC_n}{dt} &= T_3 \frac{CC_c}{K_3 + CC_c} - T_4 \frac{CC_n}{K_4 + CC_n} - D_{10} \frac{CC_n}{L_{10} + CC_n} - D_0 CC_n.
\end{aligned}$$

Figura 3.4: Conjunto de equações do Ritmo Circadiano

a concentração de glicose e insulina no plasma de pacientes. Essas concentrações foram medidas durante um intervalo de tempo de três horas, começando pela injeção de glicose. A figura 3.5 apresenta a modelagem e os resultados obtidos (medidos e simulados). Nessas equações, t é a variável que representa o tempo (em minutos) e t_0 corresponde à data da injeção de glicose. $G(t)$ é a concentração de glicose no sangue, $I(t)$ é a concentração de insulina no sangue e $X(t)$ é a insulina intersticial, atividade da insulina nos tecidos intersticiais.

Modelar a interação glicose-insulina requer um entendimento de processos fisiológicos e metabólicos que determinam o comportamento do sistema regulatório da glicose-insulina. O modelo proposto por [19] representa o transporte de glicose e insulina através das veias para os vasos capilares. Ele apresenta dois modelos matemáticos distintos: um para a

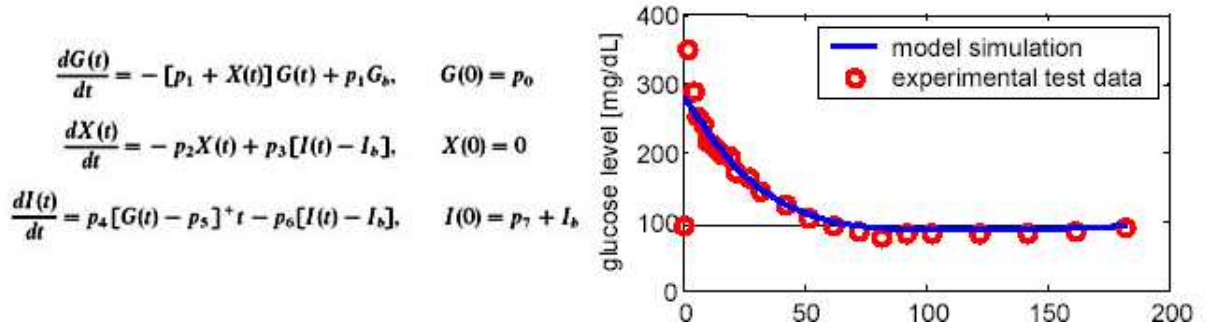


Figura 3.5: Modelo mínimo de [44]

glicose e outra para a insulina. O da glicose contém tecidos incluindo coração, cérebro, fígado, rins e músculos onde a glicose é usado como fonte de energia. A glicose entra no sangue através de excreções dos rins e do trato gastrointestinal. Já o da insulina inclui tecidos subcutâneos como fonte de insulina e considera a não produção de insulina pelo pâncreas. A remoção e a degradação da insulina ocorre no fígado, rins e tecidos periféricos. A partir deste modelo foi criado o simulador Glucosim [2]. O simulador apresenta uma interface gráfica que provê um ambiente amigável para realizar experimentos virtuais com várias características como dieta e exercícios físicos.

Equações diferenciais também são muito utilizadas em modelos ecológicos, como por exemplo a malária. A malária é uma doença endêmica causada por parasitas (*Plasmodium falciparum*, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium vivax*), que estão presente em várias partes de mundo. No mundo todo, 300 milhões de pessoas são infectadas e de 1 a 1,5 milhões morrem por conta da doença anualmente. A malária não têm cura e é transmitida de pessoa para pessoa através do mosquito hematófago *Anopheles*, que por sua vez precisa estar infectado para poder transmitir os parasitas. Os sintomas da malária (febre alta, anemia) só aparecem após alguns dias da picada do mosquito. Uma vez no sangue, os parasitas vão para o fígado, se reproduzem e migram para o sangue do hospedeiro, invadindo as células vermelhas do sangue e se multiplicando. Após a multiplicação, as células vermelhas são estouradas, motivo pelo qual ocorre a febre e a anemia. Os parasitas podem ficar se multiplicando ou ir para a forma sexuada (forma não infecciosa da doença). Maiores detalhes da infestação da malária será apresentada no capítulo seguinte.

McKenzie e Borsset, [38], modelaram o estágio infeccioso da malária pelo *P. falciparum* utilizando três equações diferenciais: $M(t)$ sendo a concentração de formas assexuadas

(merozoítos) no sangue, $G(t)$ sendo a concentração de formas sexuadas (gametócitos) e $I(t)$ sendo a resposta imunológica do hospedeiro. Em [39] o modelo da malária foi remodelada, acrescentando o efeito imunológico adquirido. O modelo e os resultados obtidos pela simulação do modelo são apresentados na figura 4.13.

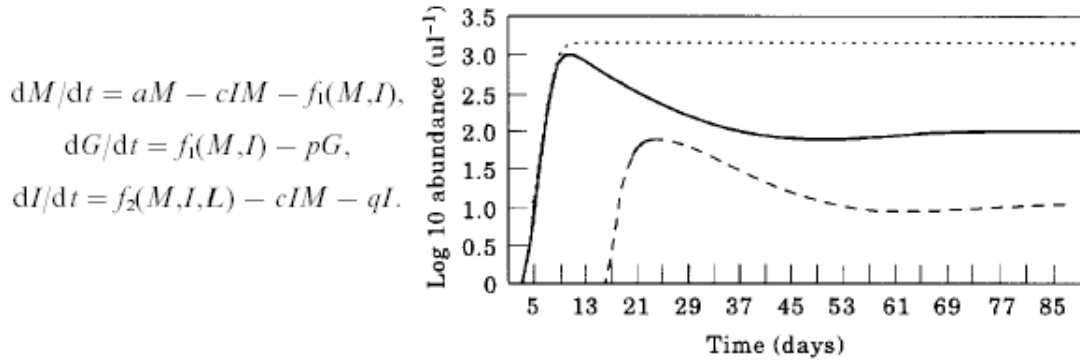


Figura 3.6: Modelo do estágio infeccioso da malária (*P. falciparum*)

Em [34] a malária foi modelada pela dupla infecção de parasitas, pelo *P. falciparum* e pelo *P. Malariae*. O resultado mais importante a partir desse modelo foi que a existência de *Plasmodium Malariae* pode reduzir a parasitemia de *P. falciparum* subsequente em até 50%. A figura 4.19 apresenta a modelagem dessa dupla infecção. As variáveis dinâmicas M e F representam as densidades de formas assexuadas de *P. malariae* e *P. falciparum*, respectivamente. I representa a resposta imunológica; J e K são as respostas imunológicas específicas de M e F , respectivamente.

Como foi dito anteriormente, alguns pacotes de software foram desenvolvidos para auxiliar e ajudar os projetista durante a montagem do modelo. O Gepasi [7] é um software para a modelagem de sistemas bioquímicos. Gepasi simplifica a tarefa da construção do modelo, auxiliando o usuário na tradução da linguagem da química (reações) para matemática (matrizes e equações diferenciais) de modo transparente. Já o E-Cell [1] é um projeto de pesquisa internacional objetivando a modelagem e reconstrução de fenômenos biológicos *in silico* (coletar dados através de uma variedade de tecnologias, anotando e explorando os resultados do conjunto de dados digitais) o desenvolvimento de suportes teóricos necessários assim como de tecnologias e plataformas que permitam a simulação precisa do funcionamento de uma célula. Ele apresenta uma interface gráfica, permitindo a observação e a interação com o modelo.

O uso dos equações diferenciais na modelagem de processos biológicos apresentam

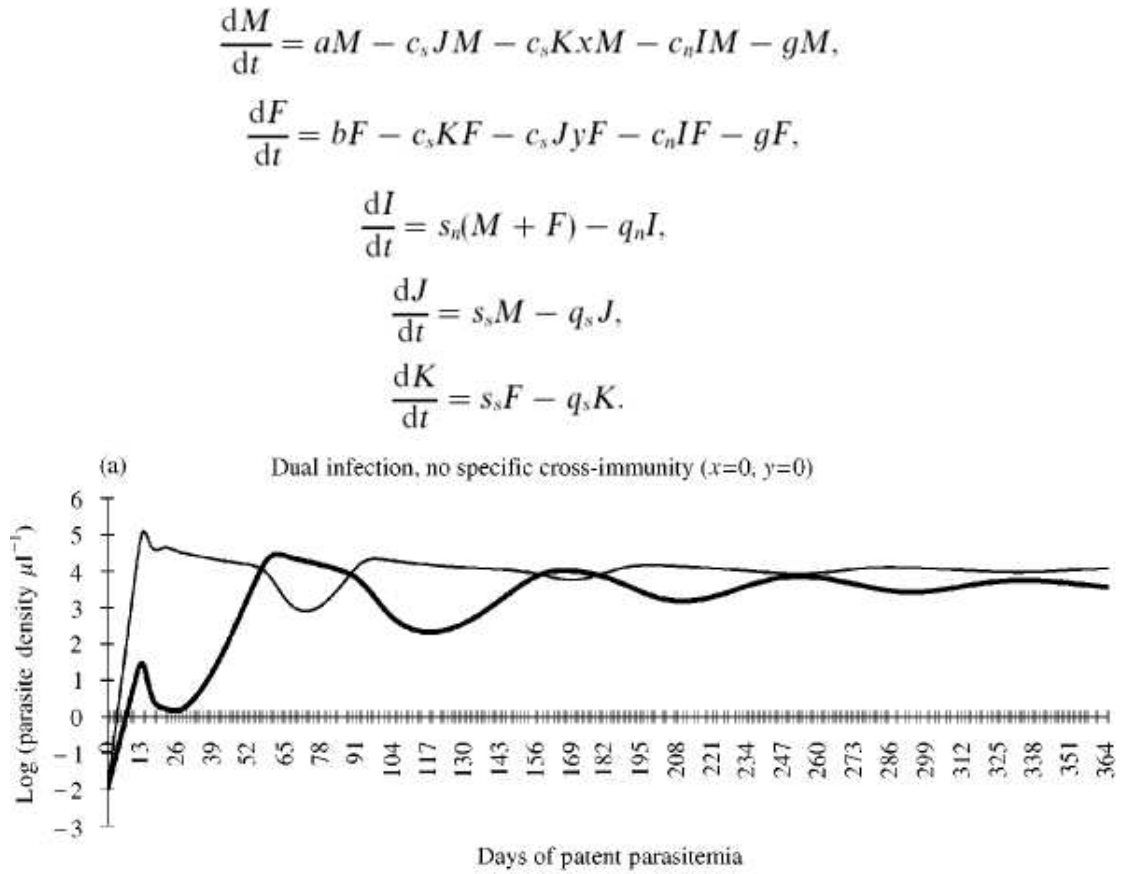


Figura 3.7: Modelo do estágio infeccioso da malária (*P. falciparum* e *P. malariae*)

limitações, pois não considera o caráter discreto dos processos biológicos. São exemplos de eventos discretos em sistemas biológicos: a picada dos mosquitos que transmitem a malária, as injeções de insulina, o início de tratamentos contra doenças. Tais eventos discretos não podem ser tratados utilizando equações diferenciais.

3.3 Modelos baseados em Atômatos Híbridos

Autômatos Híbridos têm emergido como um dos formalismos predominantes para a modelagem e a análise de sistemas bioquímicos [11]. Os diferentes estados discretos capturam naturalmente os diferentes comportamentos celulares, enquanto que as equações em cada estado correspondem à variação em função do tempo de suas concentrações. O uso de autômatos híbridos para modelagem e simulação de sistemas biomoleculares foi proposto em [9]. Neste trabalho, componentes discretos do autômato híbrido são usados para especificar dois comportamentos distintos (modelos) do sistema biológico

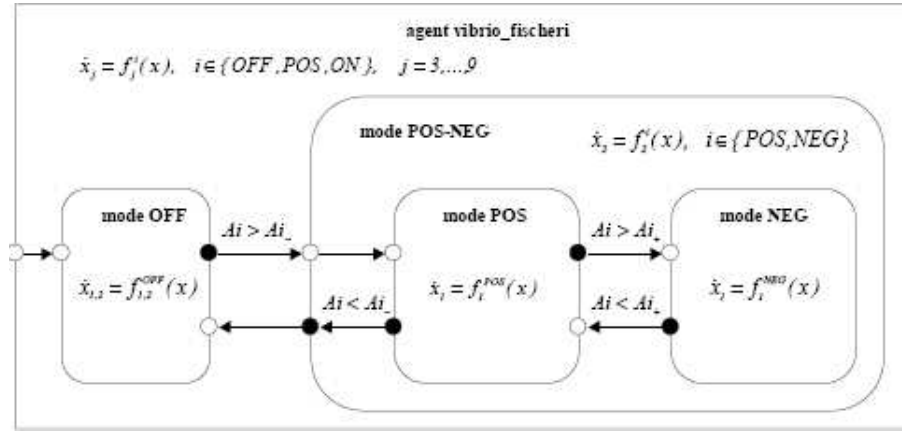


Figura 3.8: Agent *V. fischeri* modelada com autômato híbrido

considerado. Em particular foi modelada a *Vibrio fischeri* usando autômato híbrido e a linguagem CHARON. *Vibrio fischeri* é uma bactéria marinha que pode ser encontrada como um organismo livre ou como simbiote de alguns peixes marinhos ou lulas. Como um organismo livre, a *V. fischeri* é encontrada em baixas densidades (menos do que 500 células por ml de água marinha) e não é luminescente. Já como simbiote, a bactéria vive em altas densidades e são, normalmente, luminescente. O modelo obtido é apresentado na figura 3.8

Casagrande [13] desenvolveu uma nova classe de autômatos híbridos: *Independent Dynamics Hybrid Automata* (IDA). Utilizando este novo autômato, a bactéria *Escherichia coli* foi modelada. A *E. coli* utiliza um flagelo para se movimentar. Dependendo da concentração de atrativos e repelentes, a *E. coli* responde ao estímulo de duas formas: *RUNS* que move o flagelo no sentido anti-horário indo em linha reta, e *TUMBLES* que move o flagelo em sentido horário mudando aleatoriamente sua cabeça para mudar de direção, reorientando a célula. As concentrações atrativas, por exemplo alimento, aumentam e as concentrações repelentes, por exemplo agentes químicos, diminuem as probabilidades de rotações anti-horário, e essas concentrações são percebidas através de receptores. A Figura 3.9 apresenta o modelo do movimento da *E. coli*.

Em [16] apresentou um modelo abstrato e matemático, inspirado na teoria-(M, R) e baseada em autômato híbrido de um sistema celular em fase normal de operação no qual a célula pode requerer reparos, replicações ou mutações do seu DNA (figura 3.10). Mecanismos de reparo servem para consertar danos causados no material genético celular. O mecanismo de replicação está baseado no pareamento das bases da dupla hélice do

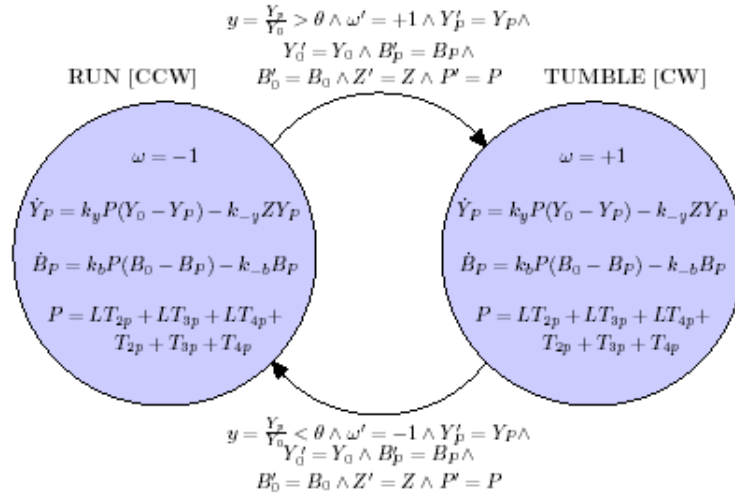


Figura 3.9: *E. coli*

DNA. A estrutura do DNA contém a informação necessária para perpetuar sua sequência de bases. Mutações são modificação súbitas e hereditárias no genoma não explicável pela recombinação da variabilidade genética pré-existente.

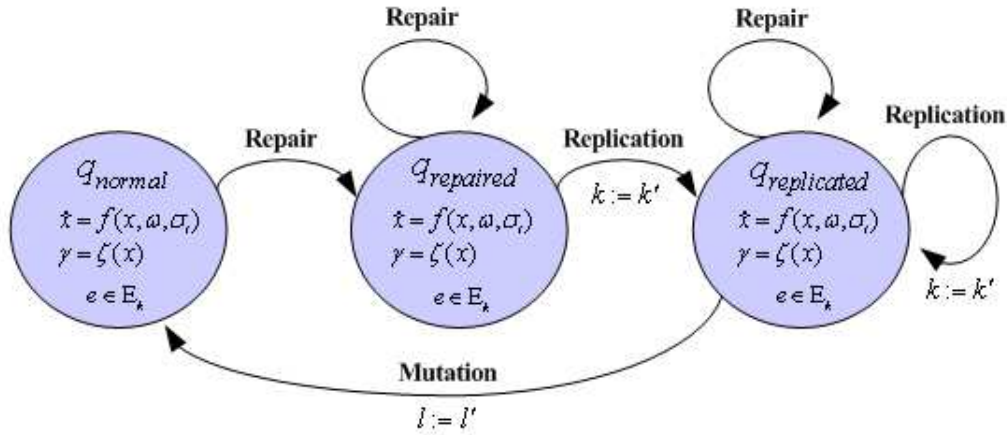


Figura 3.10: Sistema Celular

A modelagem utilizando autômatos híbridos apresenta algumas limitações. Uma delas está no fato de que os autômatos híbridos não representam o comportamento paralelo de forma explícita no modelo. As atividades em paralelo são agrupadas em um único estado do modelo, dificultando a compreensão do modelo no caso de grandes sistemas.

3.4 Modelos baseados em Redes de Petri

Simulação de sistemas a eventos discretos é outra interessante abordagem para a modelagem biológica. Categorizando esta abordagem, as Redes de Petri servem, geralmente, para modelar, analisar e simular processos biológicos. O uso de Redes de Petri na biologia foi sugerida por Reddy *et al.* [49], que analisaram qualitativamente reações metabólicas. Desde então, vários tipos de processos biológicos têm sido modelados e simulados utilizando Redes de Petri, principalmente sistemas de biologia molecular, mas também modelagem epidêmica e ecológica.

3.4.1 Modelos baseados em Redes de Petri Ordinárias

Redes de Petri Ordinárias foram originalmente sugeridas para a modelagem de reações biológicas por Reddy *et al.* [49]. Nos lugares são associadas espécies moleculares e nas transições reações químicas. Reddy *et al.* mostraram que uma abordagem baseada em redes de Petri constitui uma ferramenta apropriada para análises qualitativas preliminares de *biopathways*. Os *biopathways* podem ser traduzidos como sendo uma sequência de passos que os processos biológicos devem seguir. Por exemplo, a glicólise é a sequência de degradações enzimáticas da glicose para a formação do ácido pirúvico. Propriedades comportamentais e estruturais das redes de Petri (vivacidade, limitabilidade e invariáveis) são analisadas para identificar algumas características de modelos biológicos. Tais modelos mostram limites para certas espécies de moléculas, propriedades de conservação, reações regenerativas e situações que podem levar a situações de bloqueios (*deadlock*) de sistemas moleculares. A figura 3.11 apresenta um exemplo de *biopathway*: a modelagem do metabolismo da glicólise utilizando as redes de Petri ordinárias. O metabolismo da glicose é a transformação da glicose em lactose, passando por várias reações enzimáticas, na presença de energia (ATP).

Com a abstração das propriedades das redes de Petri permitiu tirar conclusões qualitativas a cerca do comportamento e estrutura dos *biopathways*, tais como informações sobre as atividade enzimáticas, potencialidade de acúmulo de metabólitos em certas condições e possibilidade de existência de algum metabólito que possa inibir o progresso do *biopathway*. Contudo, as redes de Petri ordinárias só fornecem uma visão gráfica dos *biopathways*, não fornecem informações quantitativas do modelo, como por exemplo a concentração de

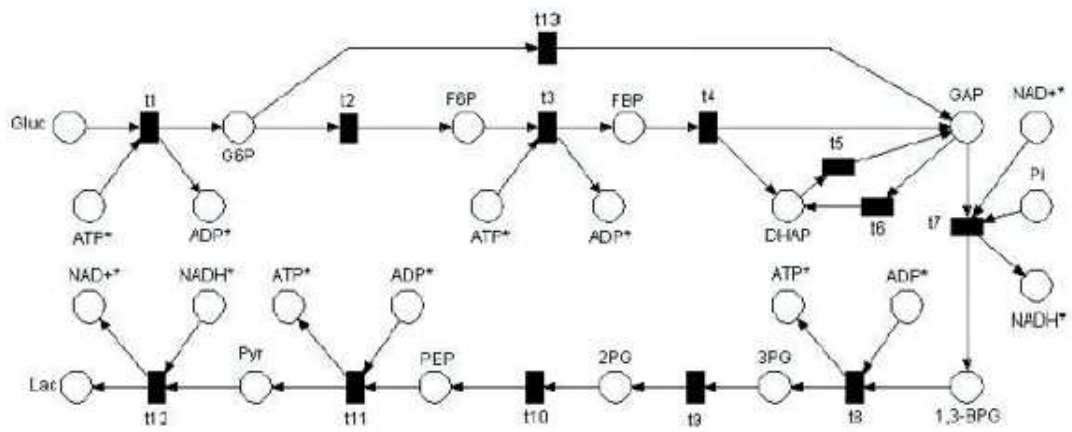


Figura 3.11: Rede de Petri Ordinária

algum metabólito (resultados de atividades metabólicas).

3.4.2 Modelos baseados em Redes de Petri Coloridas

Quando se modela grandes sistemas com Redes de Petri, a diferenciação entre categorias de fichas pode reduzir o tamanho destes modelos. Esta melhoria foi adicionada às redes, resultando em uma rede de alto nível, as redes de Petri coloridas [28]. As redes de Petri coloridas são compostas por diferentes fichas identificadas por cores.

A figura 3.12, apresentada em [25], mostra um exemplo de rede de Petri colorida no qual foi modelada o metabolismo da glicose (transformação da glicose em lactose através de reações metabólicas). As cores usadas no modelo foram C , D e H' . A variável X significa qualquer cor.

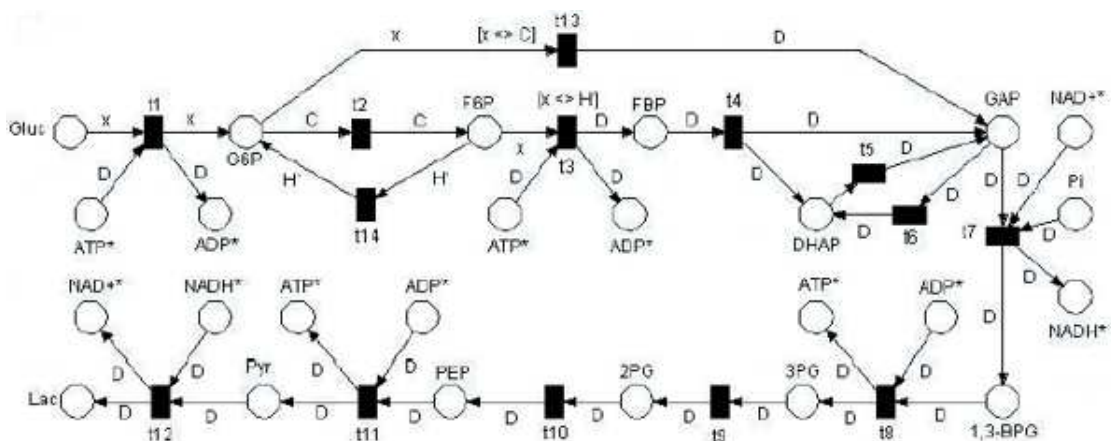


Figura 3.12: Rede de Petri Colorida - Glicólise

A figura 3.13, apresentada em [43], descreve a transcrição de tRNA (produção de proteínas) e incorporação de proteínas (consumo das proteínas). Lugares são apresentados como ovais e transições como quadrados. Os arcos são marcados com $1'a$ e $1'm$, representando um conjunto de fichas coloridas para tRNA e mRNA, respectivamente.

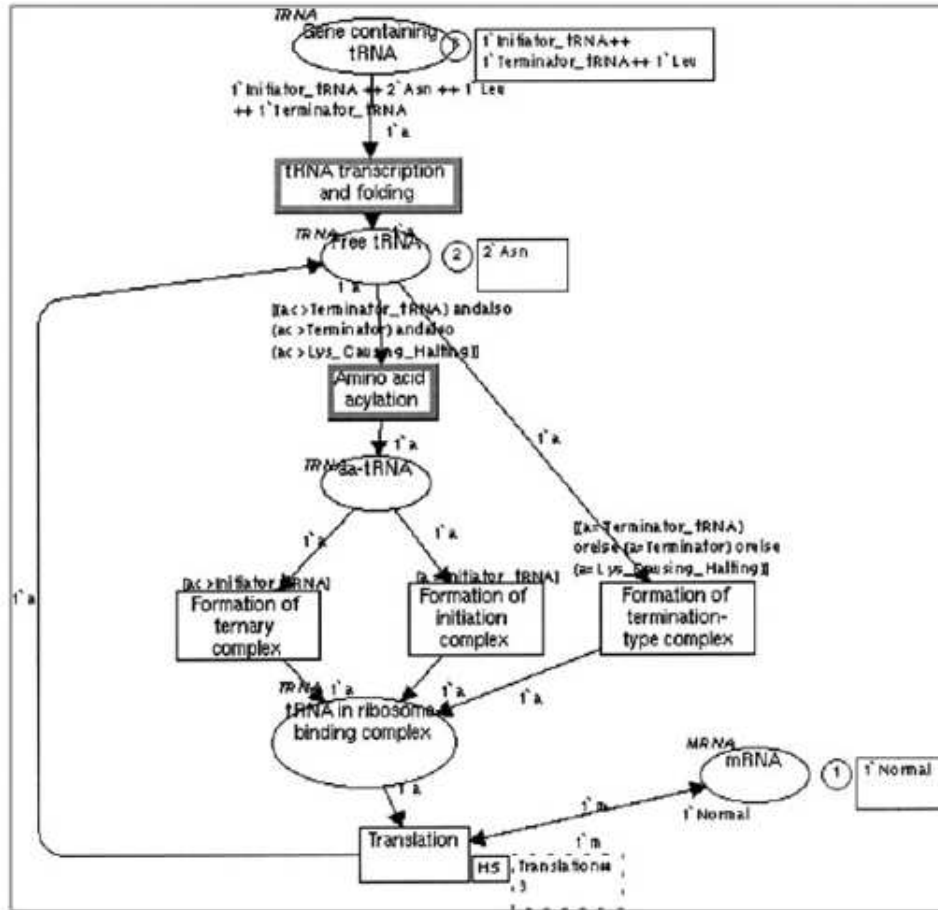


Figura 3.13: Rede de Petri Colorida - Transcrição de tRNA

Estes modelos foram montados e simulados através do software Design/CPN [4], que constitui um conjunto de ferramentas de edição e simulação para Redes de Petri Coloridas.

Os objetivos desta abordagem são compatíveis com os do trabalho de Reddy (analisar qualitativamente os modelos). Porém o poder de modelagem e a capacidade de comunicação do modelo foi aumentado graças à adição das fichas coloridas. O modelo inicial do *biopathway* da glicólise utilizando a rede de Petri ordinária foi modificado acrescentado reações reversas ao modelo. As redes de Petri coloridas também não fornecem informações quantitativas do modelo.

3.4.3 Modelos baseados em Redes de Petri Estocásticas

Em modelos baseados em redes de Petri estocásticas de sistemas compostos por interações moleculares, cada lugar corresponde a uma espécie molecular particular. As fichas representam moléculas e as transições representam as reações químicas envolvendo reagentes (lugares de entrada) e produtos (lugares de saída). A qualquer momento, a marcação do sistema indica o número de moléculas de cada espécie envolvida. Os valores associados aos arcos são os equivalentes de coeficientes estequiométricos. Uma particularidade das redes de Petri estocásticas é que o disparo de uma transição não é instantânea; existe um atraso no disparo baseado em uma distribuição probalística. Em modelos biológicos, este atraso é interpretado com uma taxa de reação, e é dado pela função da transição correspondente [25].

A figura 3.14 apresenta um modelo simples de síntese de proteínas utilizando redes de Petri estocásticas modelado em [24]. Este modelo contém três lugares, $p_1 = \text{Gene inativo}$, $p_2 = \text{Gene ativo}$ e $p_3 = \text{Proteína}$, e quatro transições que são ativação (λ), inativação (μ), síntese (ν) e degradação (δ). A ficha representa uma cópia simples do gene. O gene pode estar inativo ou ativo. Quando ativado, o gene pode produzir proteínas pela transição ν , e essas proteínas podem ser degradadas a qualquer tempo pela transição δ .

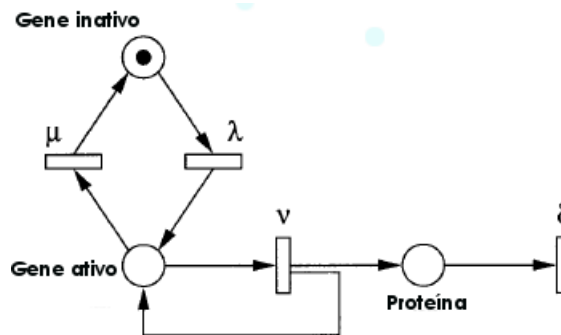


Figura 3.14: Rede de Petri Estocástica - Síntese de Proteína

Mecanismos biomoleculares sobre o controle de número de cópias de plasmídios que foram modelados em [24] também utilizaram redes de Petri estocásticas. Os plasmídeos são moléculas circulares duplas de DNA que estão separadas do DNA cromossômico encontrados nas bactérias. A perda espontânea de plasmídios é experimentalmente importante, pois bactérias sem plasmídios frequentemente replicam-se mais rapidamente, podendo agravar infecções causadas por bactérias. O sistema de replicação da bactéria

Escheriacoli contém 18 reações moleculares entre 10 diferentes espécies de moléculas, incluindo 7 complexos diferentes de plasmídios e proteínas RNA I, RNA II e Rom. O DNA do plasmídio pode ser encontrado livre (D) ou formando complexos com as proteínas RNA I, RNA II ou Rom ($D_{II}^s, D_{II}^l, D_p, D_c^*, D_c, D_m$). A replicação ocorre quando o DNA do plasmídio preparado D_p (*primed DNA*) é convertido em DNA livre D (*free DNA*). A figura 3.15 apresenta o modelo da *E.coli* com redes de Petri estocásticas. Durante cada geração, o volume de bactérias cresce exponencialmente.

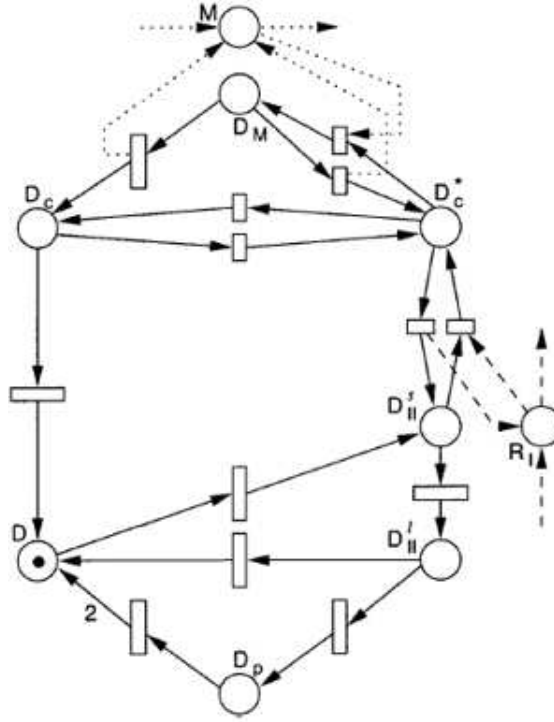


Figura 3.15: Rede de Petri Estocástica - ColE1

A rede da figura 3.15 foi modelada utilizando o software UltraSAN [3], que não é exclusivo para modelagem de sistemas biológicos. É uma ferramenta de simulação mas também apresenta uma opção de resolução de modelos numéricos.

Mor Peleg [43] modelou os parasitas da malária invadindo um hospedeiro humano utilizando o software Mobius, apresentado na figura 3.16. O Mobius utiliza composição para modelar várias redes dentro de um modelo composto. Esta rede foi composta por três sub-redes, sendo *Rep1* as células vermelhas do sangue (*Red-Blood-Cell*) e *Rep2* composta pelas redes sistema imunológico do hospedeiro (*Immune-System*) e sangue do hospedeiro (*Blood-Stream*). Estas três sub-redes têm um lugar compartilhado (*Place1*). Com este

modelo, é possível representar vários parasitas (cada parasita é representado por uma ficha) que são liberados pelas células do hospedeiro no final do estágio de desenvolvimento assexuado.

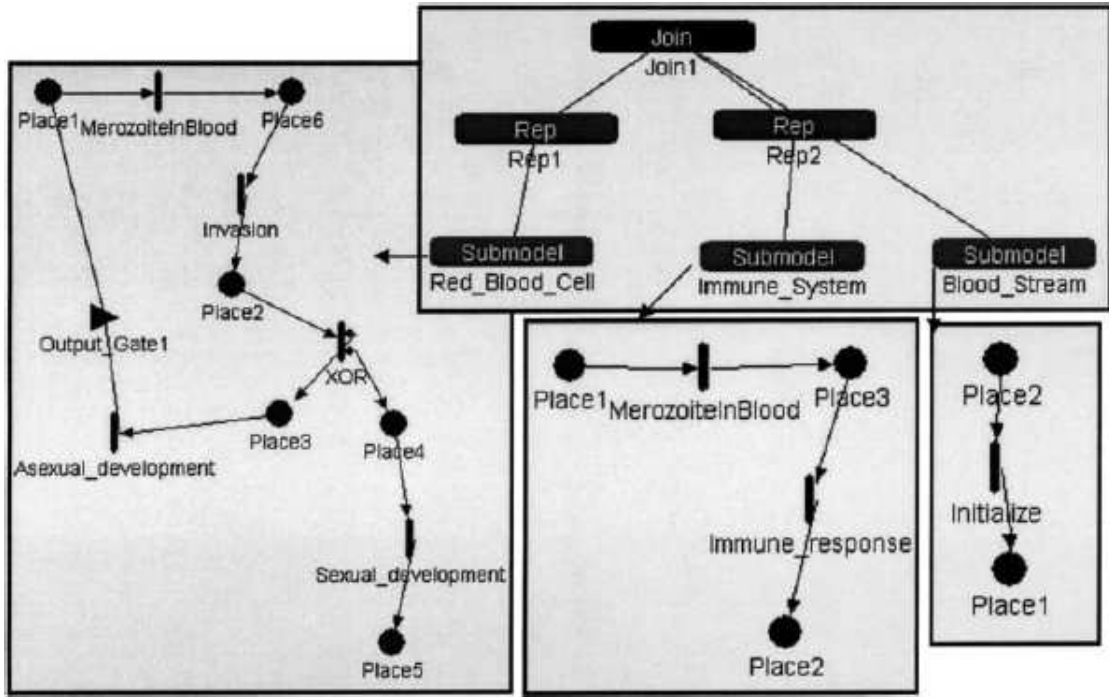


Figura 3.16: Rede de Petri Estocástica - Malária

As redes de Petri estocásticas são mais apropriadas em modelos com um pequeno número de moléculas, onde a individualidade é levada em conta, fornecendo informações quantitativas sobre o modelo. Isto porque nas redes de Petri estocásticas a duração de sensibilização estocástica de uma transição é uma variável estocástica com uma distribuição de probabilidade exponencial, não sabendo o instante exato do disparo de uma transição. Esta característica é muito conveniente em processos biológicos pois nem sempre se sabe quando acontecerá algum evento, como por exemplo, não se sabe o instante em que um parasita assexuado da malária se encaminha para transformar-se em um parasita sexuado.

3.4.4 Modelos baseados em Redes de Petri Híbridas Funcionais

As Redes de Petri Híbridas [17] oferecem a possibilidade de representar variáveis tanto de natureza contínua como de natureza discreta, e foram introduzidas como uma extensão do modelo de Rede de Petri Discreta, sendo capaz de lidar com números reais de maneira contínua. Recentemente, estendendo a noção das redes de Petri híbridas, Matsuno *et al.*

[35] introduziram as Redes de Petri Híbridas Funcionais a fim de oferecer um método de modelagem de processos biológicos mais intuitivo e natural do que as Rede de Petri já existentes. Porém, o que esse tipo de rede de Petri realmente faz é uma tentativa de representar graficamente um conjunto de equações diferenciais.

Matsuno, [37], modelou o ritmo circadiano das *Drosophilas* utilizando as Redes de Petri Híbridas Funcionais. O modelo foi baseado no modelo de equações diferenciais de Ueda *et al.* [47]. A morte programada da célula, *apoptosis* também foi modelada por Matsuno e participa de vários processos biológicos como eliminação de células cancerígenas. O mal funcionamento deste processo pode implicar em várias doenças como doenças neurodegenerativas. As figuras 3.17 e 3.18 apresentam os modelos do Ritmo Circadiano e *apoptosis*, respectivamente.

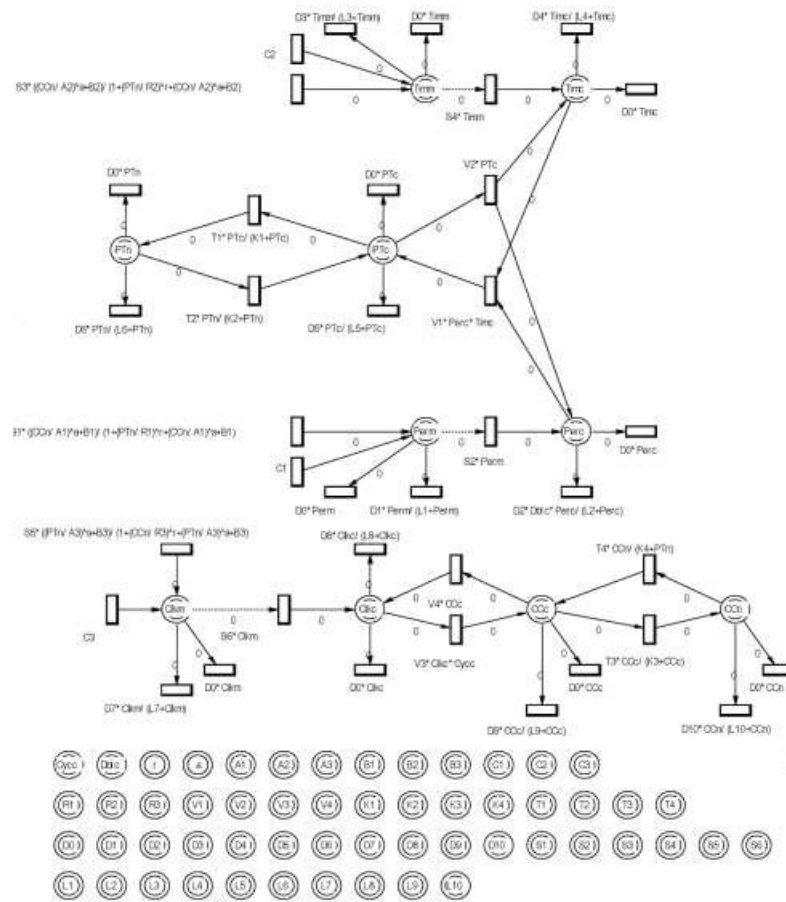


Figura 3.17: Rede de Petri Híbrida Funcional - Ritmo Circadiano

Nas células humanas, o excesso de nitrogênio é removido ou pela excreção de NH_4^+ (em poucos casos) ou pela excreção da uréia. A uréia é produzida largamente pelo fígado no ciclo da uréia. A deficiência de enzimas no ciclo da uréia leva a um excesso de NH_4^+ ,

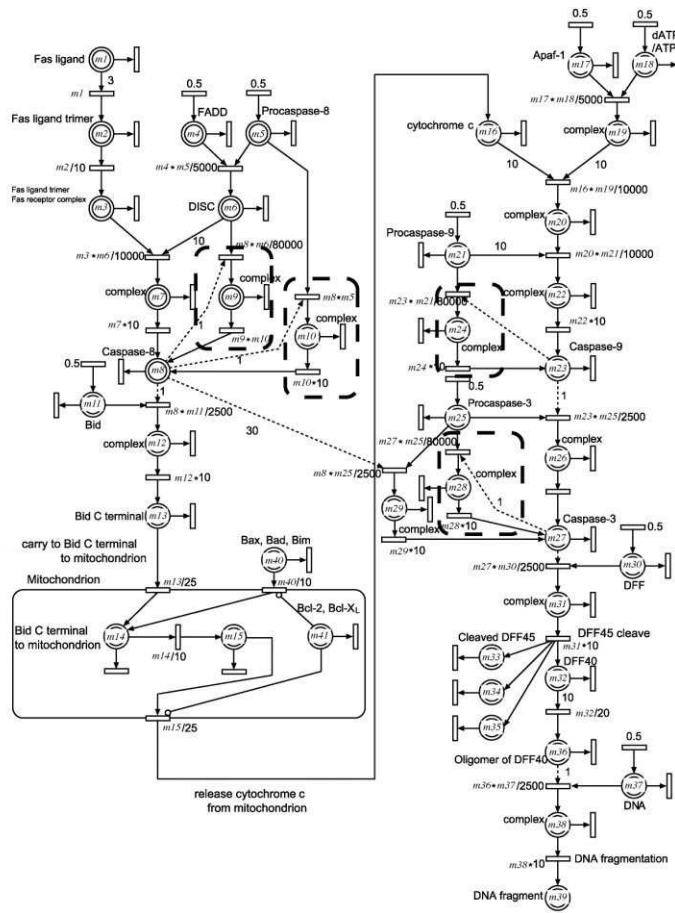


Figura 3.18: Rede de Petri Híbrida Funcional - Apoptosis

levando a desordens neurológicas. Chen e Hofstaedt, [15], modelou este ciclo utilizando a RPHF mostrado pela figura 3.19.

Todos os modelos baseados em Redes de Petri Híbridas Funcionais foram modelados a partir da ferramenta de biomodelagem e simulação Genomic Object Net (GON) [5].

Uma das vantagens das redes de Petri híbridas funcionais é que fornecem dados para uma análise quantitativa do modelo, como concentrações de metabólitos, quantidades de indivíduos, etc. Porém, apresentam limitações. Uma delas é que cada lugar contínuo só pode receber uma marca, tornando a rede excessivamente grande em processos onde há um número de variáveis contínuas muito grande. Por ser uma representação gráfica das equações diferenciais, elas não têm a complexidade e o poder das equações diferenciais em fornecer soluções.

Capítulo 4

Modelagem de Processos Biológicos usando Redes de Petri Predicado Transição Diferenciais

4.1 Escolha do Formalismo

O modelo de um sistema pode ser caracterizado pela natureza de suas variáveis de estado e da variável independente que representa o tempo. Nos sistemas de variáveis contínuas, as variáveis contínuas têm seus valores definidos dentro do conjunto dos números reais, e evoluem de forma contínua no tempo (formalismo contínuo). Uma forma de representação destes sistemas é através de um conjunto de equações diferenciais. No caso de sistemas a eventos discretos, variáveis discretas assumem valores num conjunto enumerável de valores (inteiros ou booleanos) e são modificadas de forma descontínua de acordo com a ocorrência de eventos como, por exemplo, fim de operação (formalismo discreto). Tais sistemas podem ser representados por grafos de estado/transição, como as redes de Petri.

Os sistemas híbridos combinam esses dois tipos de formalismos (contínuo e discreto) em um único modelo (formalismo misto). Uma das principais motivações foi o interesse de incluir, nos modelos tradicionais baseados em variáveis contínuas, as discontinuidades inerentes aos processos onde o comportamento do sistema é modificado de forma abrupta. Os autômatos híbridos e as redes de Petri são formas de representação de sistemas híbridos.

Os processos biológicos podem ser classificados como sendo sistemas híbridos (de for-

malismo misto). Por exemplo, segundo o que foi apresentado no capítulo 3, formação dos complexos *PER/TIM*, no ritmo circadiano das *Drosophilas*, ocorre de maneira contínua durante a noite. Na chegada da manhã, com os primeiros sinais de luz solar, os complexos *PER/TIM* começam a se degradarem. A formação dos complexos *PER/TIM* pode ser considerado como sendo uma variável contínua e a chegada da luz com sendo um evento discreto.

Um dos formalismos que utiliza a abordagem híbrida para a modelagem de sistemas é o autômato híbrido. Os autômatos híbridos são uma extensão dos autômatos finitos. Eles combinam grafos de transições discretas com modelos dinâmicos contínuos (equações diferenciais). Por ser uma extensão dos autômatos finitos, os autômatos híbridos não representam os comportamentos paralelos de forma explícita, não fornecendo uma representação gráfica dos processos biológicos. Para cada estado do grafo existe um único conjunto de equações diferenciais, o que graficamente não representa corretamente o modelo, uma vez que uma das metas das ferramentas de modelagem é tornar a modelagem a mais intuitiva possível. Outra desvantagem dos autômatos híbridos está no fato que durante uma mudança de estado existe um indeterminismo em relação aos valores das variáveis contínuas.

As redes de Petri foram propostas como sendo uma solução para modelagem de sistemas a eventos discretos. Várias extensões de redes de Petri foram propostas para modelar sistemas híbridos. Uma das vantagens do uso de redes de Petri na modelagem de processos biológicos é que fornecem uma visão gráfica do modelo como um todo, podendo ser representados os comportamentos paralelos. Uma outra vantagem é a modularização, que pode ser entendida como sendo a propriedade de adicionar novas seções na rede. Essa adição de novas seções pode ocorrer quando informações adicionais se tornam úteis para completar um modelo já existente ou quando dois modelos complementares devem ser combinados sem ter modificações consideráveis na estrutura, resultando no modelo final.

A escolha das redes de Petri predicado transição diferencial se deu pelo fato de que estas redes possuem a capacidade de combinar os dois formalismos, discreto e contínuo. Com as rede de Petri predicado transição diferencial as variáveis contínuas evoluem continuamente no tempo, eliminando as velocidades de disparo das transições (o que ocorria nas redes de Petri híbridas funcionais). Possibilita a simulação de várias fichas ao mesmo tempo, cada uma representando um cenário diferente do modelo.

4.2 Definição das Redes de Petri Predicado Transição Diferencial

A bases da definição das redes de Petri Predicado Transição Diferencial provém das redes de Petri Predicado-Transição. No caso das rede de Petri Predicado-Transição, existe a noção de variável que não existe nas redes de Petri ordinárias. A cada transição são associadas condições de disparo. A seguir, a definição das redes de Perti predicado transição [22] é apresentado

Definição 4.1: Uma rede de Petri Predicado-Transição marcada é uma tripla $N_{pr-tr} = \langle R, A, M_0 \rangle$, onde:

- R é uma rede de Petri ordinária $\langle P, T, Pre, Post \rangle$ (a definição das redes de Petri ordinárias são apresentadas nos fundamento teóricos).
- $A = \langle X, A_{tc}, A_{ta}, A_c \rangle$ é uma quádrupla, onde:
 - X é o conjunto de variáveis formais,
 - $A_{tc}: T \rightarrow L_c(X)$ é uma aplicação que associa uma condição para cada transição formando um predicado que utiliza as variáveis de X,
 - $A_{ta}: T \rightarrow L_a(X)$ é uma aplicação que associa uma ação para cada transição que afeta o valor das variáveis de X,
 - A_c é uma aplicação que associa a cada arco um vetor de variáveis de X.
- M_0 é a marcação inicial da rede.

Nas rede de Petri Predicado-Transição as fichas são individualizadas. Logo, uma transição t_i pode ser disparada quando a condição associada com t_i é satisfeita. Para as variáveis associadas às fichas são atribuídos vetores associados com os arcos de entrada de t_i . Da mesma forma, a ação associada com a transição t_i define as variáveis que serão associadas aos vetores dos arcos de saída. Se nenhuma ação é definida, os valores das variáveis não são alterados.

A figura 4.1 apresenta um exemplo simples de disparo em uma rede Predicado-Transição. Como é visto na figura, o conjunto X é formado pelas variáveis $X = \{v, r, d, q\}$. Os vetores associados aos arcos são $A_c(p_1, t_1) = \langle v \rangle$, $A_c(p_2, t_1) = \langle r, q \rangle$ e $A_c(p_3, t_1) =$

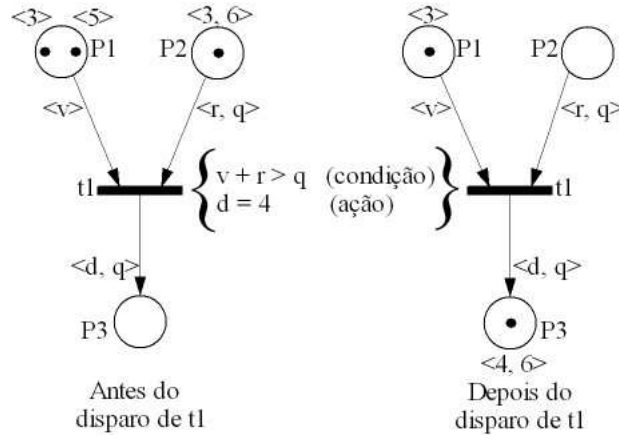


Figura 4.1: Exemplo de disparo de uma Rede Predicado-Transição

$\langle d, q \rangle$. De acordo com a condição de disparo, somente a ficha $\langle 5 \rangle$ juntamente com a ficha $\langle 3, 6 \rangle$ pode sensibilizar e disparar t_1 . A ficha $\langle 3 \rangle$ não satisfaz a condição de disparo de t_1 .

A partir da definição das redes de Petri predicado-transição, as redes de Petri Predicado Transição Diferencial podem ser definidas como sendo uma rede Predicado-Transição combinada com um sistema de equações diferenciais. As redes Predicado Transição Diferencial foram introduzidas por Champagnat em [14], e são baseadas no seguinte princípio: as diferentes configurações do sistema são representadas pela rede de Petri; para cada configuração associa-se um conjunto de equações diferenciais que descrevem a evolução das variáveis contínuas. Assim, as equações diferenciais são associadas aos diversos lugares da rede de Petri. Com a chegada de uma ficha em um lugar, ativa-se o sistema de equações diferenciais associada àquele lugar, determinando a evolução de variáveis contínuas associadas à ficha enquanto esta permanece no lugar. Com as transições são associadas funções de habilitação e funções de junção. As funções de habilitação servem para habilitar o disparo da transição, de acordo com os valores das variáveis contínuas que se encontram nos lugares de entrada da transição. As funções de junção modificam discretamente o valor das variáveis contínuas que se encontram nos lugares de saída da transição, logo após o disparo da transição.

Definição 4.2: Uma rede Predicado Transição Diferencial marcada é um tripla $N = \langle R, A, M_0 \rangle$, onde:

- R é uma rede de Petri definida pela quádrupla $\langle P, T, Pre, Post \rangle$,
- A é a quártupla $A = \langle X, A_p, A_c, A_a, A_f \rangle$.
 - X é o conjunto de variáveis formais cujos valores pertencem ao conjunto dos números reais,
 - A_p associa a cada lugar um vetor X_{pi} de variáveis pertencentes a X,
 - A_c associa a cada transição t_i uma função de habilitação e_i ,
 - A_a associa a cada transição t_i uma função de junção j_i ,
 - A_f associa a cada lugar p_i um sistema de equações diferenciais, cujas variáveis são X_{pi} , suas derivadas no tempo e o tempo θ .
- M_0 é a marcação inicial da rede de Petri.

O conjunto de funções associadas aos lugares são representadas por um sistema de equações diferenciais, para cada lugar p_i existe um sistema de equações F_i cujas variáveis são X_{pi} , suas derivadas no tempo X'_{pi} e o tempo (θ). A diferença entre as redes predicação-transição e as redes predicação transição diferencial está no fato de que nas primeiras os atributos das fichas só são modificadas quando a transição dispara, enquanto que nas segundas os atributos das fichas evoluem continuamente com o passar do tempo.

As funções de habilitação associadas aos lugares e_i permitem detectar eventos de estado, quando uma variável atende a um valor pré-determinado, ou a um evento de tempo, quando θ atende a um valor pré-determinado. Elas são ativadas tão logo a transição correspondente é sensibilizada.

As funções de junção aos lugares j_i redefine, na data θ^- (data imediatamente após o disparo de t_i), os atributos da ficha em caso de descontinuação.

A figura 4.2 apresenta um exemplo simples de disparo em uma rede de Petri predicação transição diferencial. Nesta figura, pode ser visto a evolução das variáveis contínuas em um determinado intervalo de tempo. Uma vez que a transição é sensibilizada, ela dispara imediatamente. Inicialmente, no tempo $\theta = 0$, o lugar $P1$ contém as fichas $\langle 3 \rangle$ e $\langle 5 \rangle$ e o lugar $P2$ contém a ficha $\langle 3,6 \rangle$. Com o passar do tempo, as variáveis associadas às fichas evoluirão de acordo com o conjunto de equações diferenciais pertencentes à cada lugar. No instante $\theta = 9$ as fichas $\langle 14 \rangle$ e $\langle -6,6 \rangle$ dos lugares $P1$ e $P2$, respectivamente, satisfazem a função de habilitação da transição $t1$ e esta pode disparar.

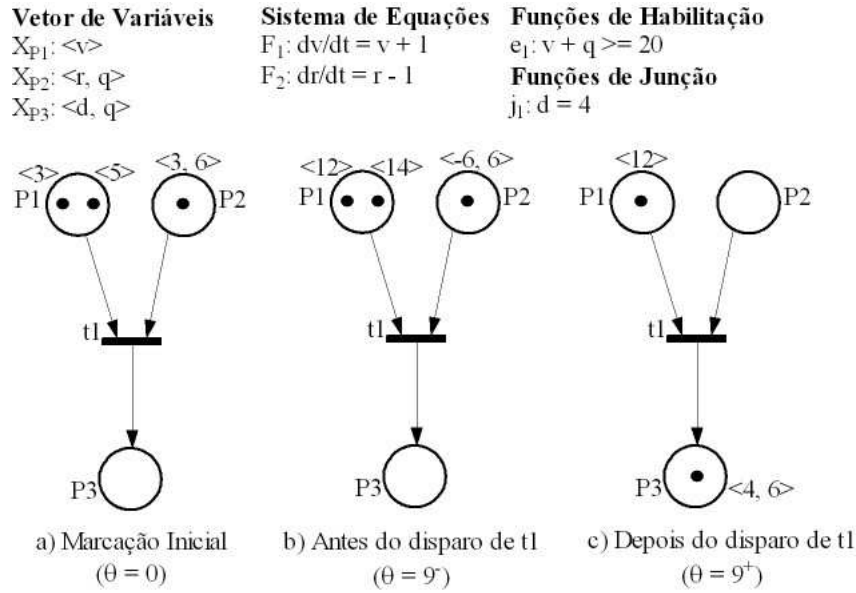


Figura 4.2: Exemplo de disparo de uma Rede de Petri Predicado Transição Diferencial

A função de junção irá atualizar os valores das variáveis associados à ficha e o lugar $P3$ receberá a ficha $\langle 4, 6 \rangle$.

4.3 Modelagem e simulação da Diabetes

A glicose (açúcar) pode ser visto como uma fonte de energia para o corpo humano. Ela é obtida a partir da ingestão de carboidratos (açúcar, amido, etc.). A taxa normal de concentração de glicose do sangue no corpo humano gira em torno de 70-110 mg/dl [33]. Se em uma pessoa, a concentração de glicose no sangue não respeita essa taxa, esta pessoa é considerada como tendo problemas como hiperglicemia (excesso de glicose no sangue) ou hipoglicemia (falta de glicose no sangue). Em pessoas normais, um aumento na concentração de glicose no sangue estimula imediatamente um tipo de célula pancreática chamada célula- β que secreta um hormônio chamado insulina. A insulina provoca uma rápida absorção da glicose pelos músculos, células hepáticas e adiposas. As células musculares e hepáticas transformam a glicose em glicogênio, que é armazenado no fígado e nos músculos. As células adiposas também absorvem a glicose, mas a transforma em gordura [46].

A Diabetes *mellitus* é uma doença relacionada com o sistema regulatório glicose-insulina que é referenciada com o problema de hiperglicemia. Esta doença causa a dis-

função nos mecanismos de controle de concentração de glicose no sangue e é dividida em dois grupos: diabetes do tipo 1 e diabetes do tipo 2. Diabetes do tipo 1 corresponde ao problema de excesso de glicose no sangue causado pela deficiência de insulina. A deficiência de insulina significa que não há produção suficiente de insulina pelo pâncreas ou pelo mal funcionamento das células que produzem a insulina [46]. Diabetes do tipo 2 corresponde ao problema de excesso de glicose no sangue causado pela resistência à insulina. A resistência à insulina ocorre quando a insulina é produzida normalmente pelo pâncreas, porém as células do corpo humano são resistentes ao efeito da insulina, resultando no aumento da concentração de glicose no sangue [46].

Muitos modelos matemáticos foram desenvolvidos para um melhor entendimento dos mecanismos do sistema regulatório glicose-insulina [33], [46], [44]. Estes modelos mostram a evolução, em um determinado intervalo de tempo, das concentrações de glicose e insulina. Contudo, são focados somente no aspecto contínuo do processo e não representam eventos discretos como aqueles associados com as atividades diárias de um diabético. Na realidade, o ciclo de vida de uma pessoa não pode ser representado como uma simples evolução contínua de variáveis contínuas e sim considerar os vários eventos que guiam suas vidas. Assim sendo, um novo modelo é proposto para a diabete do tipo 1 utilizando rede de Petri predicado transição diferencial. Neste trabalho, será apresentada a evolução da concentração da glicose e da insulina durante um dia, da manhã até a noite, passando pelas diferentes atividades diárias que envolvem injeções de insulina, exercícios físicos, café da manhã, almoço, lanche, jantar, etc. Foi assumido que o pâncreas do diabético não produz insulina, então, durante o estado pós-absorvente (consumo de alimentos), a glicose é liberada no sangue e não ocorre liberação de insulina pelo pâncreas. A dinâmica da glicose no sangue em um diabético é devido, neste caso, à falta de insulina no sangue, representada pela seguinte equação diferencial:

$$dG_1/dt = G_1 - bG_1 \quad (4.1)$$

onde G_1 corresponde à concentração de glicose no sangue (medido em mg/dl) e b à taxa correspondente ao consumo de glicose pelo corpo.

Assumindo que o diabético tomou uma injeção de insulina, a dinâmica da insulina no sangue pode ser representada pela equação diferencial:

$$dI_2/dt = I_2 - aI_2 - hG_2 \quad (4.2)$$

onde I_2 corresponde à concentração de insulina no sangue (medida em mU/dl), G_2 é a concentração de glicose no sangue, a corresponde à taxa de perda de insulina e h à taxa de consumo correspondente à insulina absorvida pela glicose. Após a injeção de insulina, a dinâmica da glicose no sangue vem a ser então:

$$dG_2/dt = G_2 - bG_2 - cI_2 \quad (4.3)$$

onde c corresponde à taxa de consumo de insulina durante o consumo da glicose.

Durante o dia, o diabético realiza as suas refeições que podem ser o café da manhã, o almoço, o lanche da tarde e o jantar. Com isso, a concentração de glicose no sangue aumenta devido à conversão do alimento em energia (glicose) pelo corpo. A evolução da glicose após a ingestão de alguma refeição leve como café da manhã ou lanche da tarde, quando não há insulina no sangue, será dada pela equação:

$$dG_3/dt = G_3 - bG_3 + fG_3 \quad (4.4)$$

e após a ingestão de uma refeição normal, almoço ou jantar, será dada pela seguinte equação:

$$dG_4/dt = G_4 - bG_4 + gG_4 \quad (4.5)$$

onde f é a taxa correspondente à liberação de glicose no sangue pela ingestão de uma refeição leve (café da manhã ou lanche da tarde) e g é a taxa correspondente à liberação de glicose no sangue em relação à ingestão de uma refeição normal (almoço ou jantar). Já para o caso de ingestão de refeições leves quando ainda há insulina no sangue, a evolução das concentrações de glicose e insulina no sangue pode ser representadas pelas seguintes equações:

$$dG_5/dt = G_5 - bG_5 - cI_5 + fG_5 \quad (4.6)$$

$$dI_5/dt = I_5 - aI_5 - hG_5 \quad (4.7)$$

e no caso de refeições normais pelas seguintes equações:

$$dG_6/dt = G_6 - bG_6 - cI_6 + gG_6 \quad (4.8)$$

$$dI_6/dt = I_6 - aI_6 - hG_6 \quad (4.9)$$

Exercícios físicos também ajudam a controlar e manter a concentração de glicose em níveis normais (70-110 ml/dl). Para que o exercício físico não se torne arriscado, a concentração de glicose deve ser maior que 200 mg/dl (níveis abaixo ao recomendado podem

causar uma queda brusca nos níveis de glicose, levando a tonturas e desmaios). É então necessário que o paciente diabético tenha feito uma refeição leve a cerca de uma hora antes do início da atividade física. No caso em que não há insulina no sangue do diabético, a evolução da glicose durante a atividade física é dada pela seguinte equação:

$$dG_7/dt = G_7 - bG_7 - eG_7 \quad (4.10)$$

onde e é a taxa correspondente à queda da concentração de glicose conforme o término do exercício físico. Já no caso em que há insulina no sangue do diabético, as concentrações de glicose e de insulina no sangue são dadas pelas respectivas equações:

$$dG_8/dt = G_8 - bG_8 - cI_8 - eG_8 \quad (4.11)$$

$$dI_8/dt = I_8 - aI_8 - hG_8 \quad (4.12)$$

O modelo híbrido combina o conjunto de equações diferenciais associadas aos diferentes estados discretos. E os possíveis cenários que podem ocorrer durante o dia de um diabético, é dado pela rede de Petri Predicado Transição Diferencial apresentada pela figura ???. Foi assumido que a conversão total dos alimentos consumidos em glicose ocorre até uma hora após a ingestão das refeições. As injeções de insulina são aplicadas sempre uma hora após o almoço e uma hora após o jantar. A variável contínua θ , medida em minutos, que aparece no modelo representa a evolução no tempo e as variáveis θ_i representam os instantes de disparo das transições. As transições t_2 , t_9 , t_{12} , t_{14} , t_{16} e t_{17} são disparadas 60 minutos após os instantes θ_5 , θ_3 , θ_7 , θ_8 e θ_6 , respectivamente. A figura 4.3 apresenta os vetores de variáveis, as funções de habilitação, o sistema de equações diferenciais e as funções de junção da rede de Petri da figura 4.4 para ilustrar o exemplo do sistema regulatório da glicose-insulina.

4.3.1 Resultados da Simulação - Exemplo da Diabetes

Nesta seção, diferentes cenários correspondendo a resultados de diferentes simulações são estudadas. Todas as simulações ocorreram nas mesmas condições iniciais (marcação inicial da rede de Petri Predicado Transição Diferencial da figura 4.4). Os níveis iniciais de concentração da glicose e da insulina são sempre os mesmos e os horários das refeições e das aplicações das injeções são iguais para todos os exemplos. Todas as simulações

- Vetor de Variáveis:

$$\begin{aligned} X_{P1} &: \langle G_1 \rangle & X_{P5} &: \langle G_5, I_5, \theta_5 \rangle \\ X_{P2} &: \langle G_2, I_2 \rangle & X_{P6} &: \langle G_6, I_6, \theta_6 \rangle \\ X_{P3} &: \langle G_3, \theta_3 \rangle & X_{P7} &: \langle G_7, I_7, \theta_7 \rangle \\ X_{P4} &: \langle G_4, \theta_4 \rangle & X_{P9} &: \langle G_8, I_8, \theta_8 \rangle \end{aligned}$$

- Funções de Habilitação:

$$\begin{aligned} e_1, e_8 &: \text{horário Café/Lanche } (\theta = 21 \text{ or } \theta = 481) & e_9, e_{11} &: \theta = \theta_3 + 60 \\ e_3, e_{10} &: \text{horário Almoço/Jantar } (\theta = 241 \text{ or } \theta = 721) & e_{12} &: \theta = \theta_7 + 60 \\ e_4, e_6 &: \text{horário Aplicação de Insulina } (\theta = 301 \text{ or } \theta = 781) & e_{14} &: \theta = \theta_8 + 60 \\ e_5, e_7, e_{15} &: I \leq 0 & e_{16} &: \theta = \theta_4 + 60 \\ e_2, e_{13} &: \theta = \theta_5 + 60 & e_{17} &: \theta = \theta_6 + 60 \end{aligned}$$

- Sistema de Equações Diferenciais:

$$\begin{aligned} F_1: \frac{dG_1}{dt} &= G_1 - bG_1 & F_6: \frac{dG_6}{dt} &= G_6 - bG_6 - cI_6 + G_6 \\ F_2: \frac{dG_2}{dt} &= G_2 - bG_2 - cI_2 & \frac{dI_6}{dt} &= I_6 - aI_6 - hI_6 \\ & \frac{dI_2}{dt} &= I_2 - aI_2 - hG_2 & F_7: \frac{dG_7}{dt} &= G_7 - bG_7 - eG_7 \\ F_3: \frac{dG_3}{dt} &= G_3 - bG_3 + fG_3 & F_8: \frac{dG_8}{dt} &= G_8 - bG_8 - cI_8 - eG_8 \\ F_4: \frac{dG_4}{dt} &= G_4 - bG_4 + gG_4 & \frac{dI_8}{dt} &= I_8 - aI_8 - hG_8 \\ F_5: \frac{dG_5}{dt} &= G_5 - bG_5 - cI_5 + fG_5 \\ & \frac{dI_5}{dt} &= I_5 - aI_5 - hG_5 \end{aligned}$$

- Funções de Junção:

$$\begin{aligned} j_1: G_5 &= G_2 & j_{11}: G_7 &= G_3 \\ I_5 &= I_2 & \theta_7 &= \theta \\ \theta_5 &= \theta & j_{12}: G_1 &= G_7 \\ j_2: G_2 &= G_5 & j_{13}: G_8 &= G_5 \\ I_2 &= I_5 & I_8 &= I_5 \\ j_3: G_6 &= G_2 & \theta_8 &= \theta \\ I_6 &= I_2 & j_{14}: G_2 &= G_8 \\ \theta_6 &= \theta & I_2 &= I_8 \\ j_4: G_2 &= G_6 & j_{15}: G_7 &= G_8 \\ I_2 &= I_6 + 263,7 & \theta_7 &= \theta \\ j_5: G_4 &= G_6 & j_{16}: G_1 &= G_4 \\ \theta_4 &= \theta & j_{17}: G_2 &= G_6 \\ j_6: G_2 &= G_4 & I_2 &= I_6 \\ I_2 &= 263,7 \\ j_7: G_2 &= G_6 \\ j_8: G_3 &= G_1 \\ \theta_3 &= \theta \\ j_9: G_1 &= G_3 \\ j_{10}: G_4 &= G_1 \\ \theta_4 &= \theta \end{aligned}$$

Figura 4.3: Vetores de variáveis, Funções de habilitação, Sistema de equações e Funções de junção - Diabetes

foram realizadas a partir do modelo implementado usando a linguagem de programação MatLab.

As figuras 4.5(a) e 4.5(b) mostram a evolução das concentrações de glicose e insulina quando o diabético recebe duas aplicações diárias de injeção de insulina e consome quatro refeições (café da manhã, almoço, lanche da tarde e jantar). A sequência de disparo para este cenário é: t1, t2, t3, t4, t1, t2, t3, t4.

As figuras 4.6(a) e 4.6(b) apresentam a evolução das concentrações de glicose e insulina porém assumindo que o diabético esqueça a segunda aplicação de insulina. A sequência de disparo para este cenário é t1, t2, t3, t4, t1, t2, t7, t10, t16. É possível notar que a concentração de glicose aumenta significativamente comparando com o gráfico da figura 4.5(a).

A evolução das concentrações de glicose e insulina apresentadas na figura 4.7 representa o caso em que o paciente diabético realiza algum tipo de atividade física durante o decorrer do dia. A atividade física é iniciada uma hora depois de uma refeição leve; neste caso após

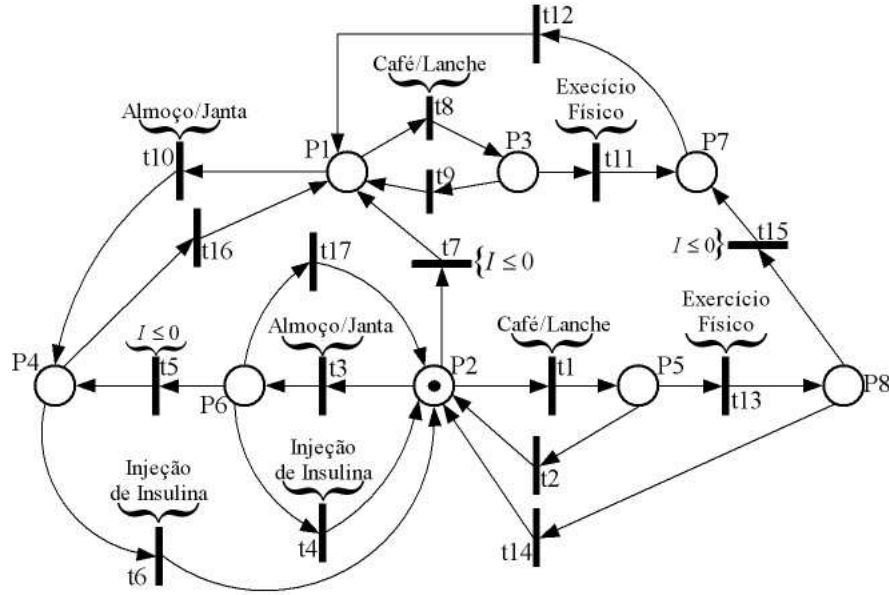
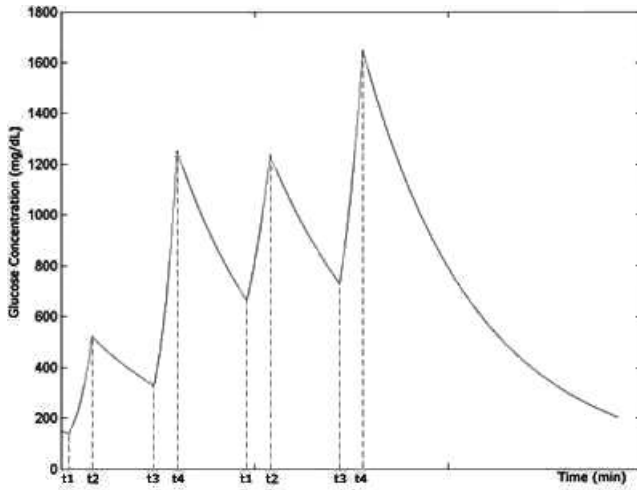
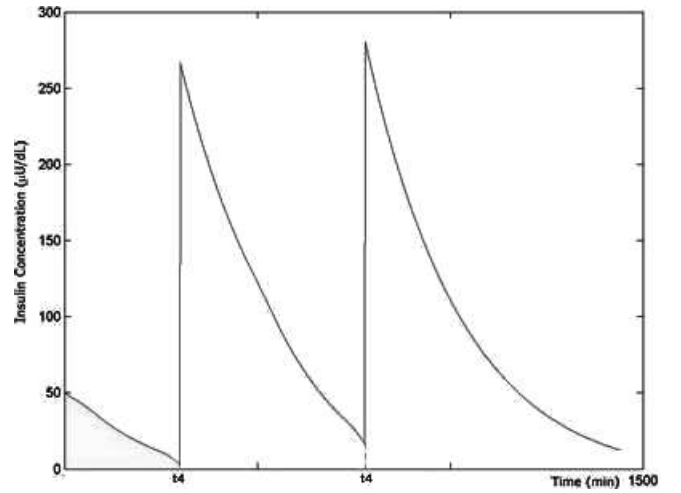


Figura 4.4: Rede de Petri Predicada Transição Diferencial - Diabetes



(a) Concentração de Glicose no sangue

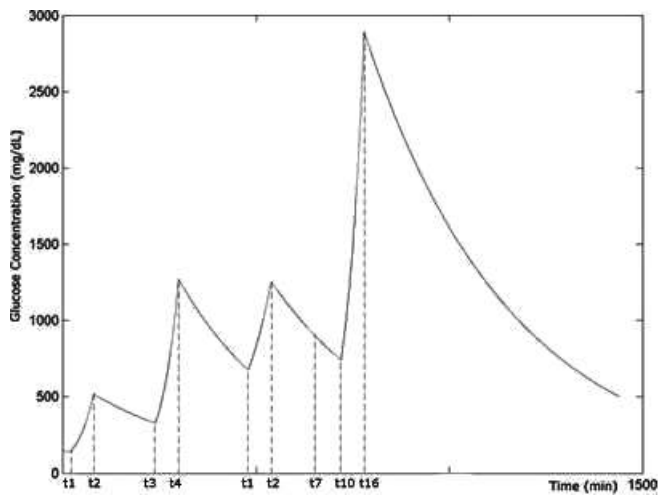


(b) Concentração de Insulina no sangue

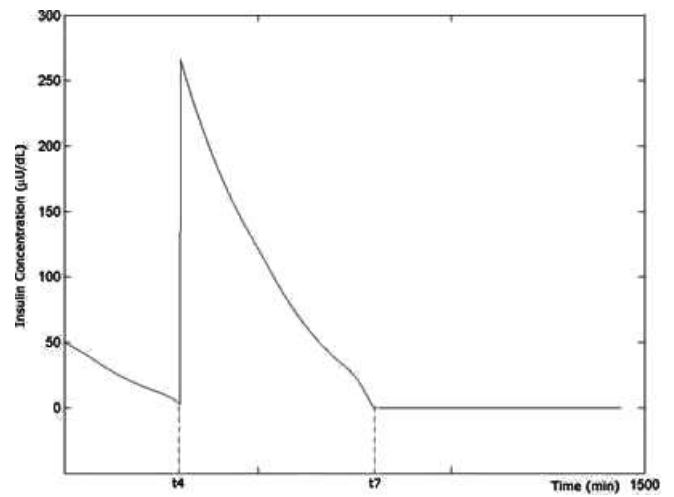
Figura 4.5: Concentrações de Glicose e Insulina - Duas injeções diárias

o lanche da tarde, e com a concentração de glicose maior que 200 mg/dl. A sequência de disparo para este caso é: t1, t2, t3, t4, t1, t13, t14, t3, t4. Devido a realização da atividade física, são queimadas calorias e conseqüentemente parte da glicose presente no sangue é absorvida pelos músculos. Neste caso, é normal que há uma baixa na concentração de glicose no sangue, quando se compara com o mesmo intervalo de tempo na figura 4.5(a).

Finalmente, o último cenário para este exemplo é apresentado na figura 4.12, corre-

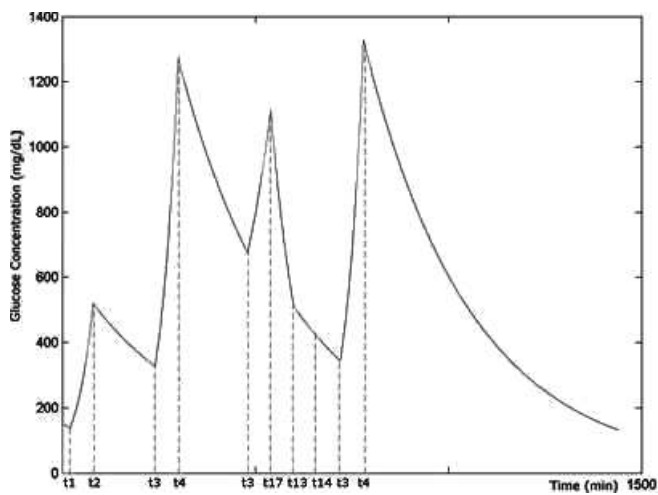


(a) Concentração de Glicose no sangue

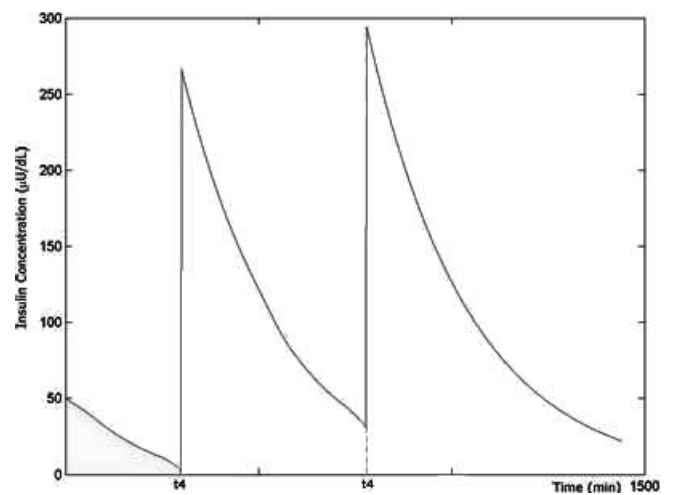


(b) Concentração de Insulina no sangue

Figura 4.6: Concentrações de Glicose e Insulina - Uma injeção



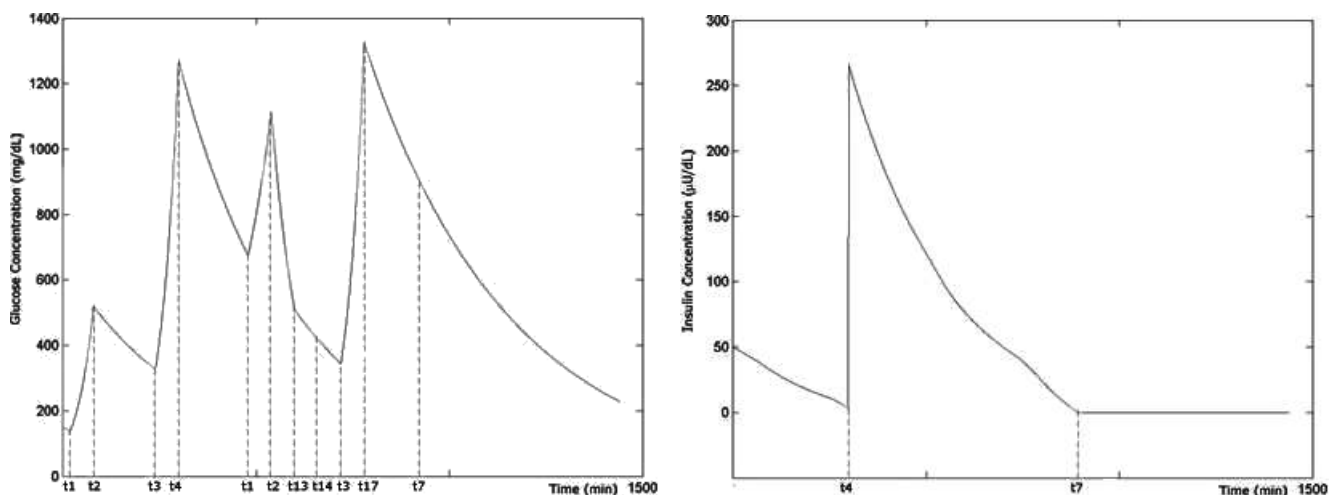
(a) Concentração de Glicose no sangue



(b) Concentração de Insulina no sangue

Figura 4.7: Concentrações de Glicose e Insulina - Duas injeções diárias e Exercícios físicos

sponde ao caso do diabético realizar atividades físicas. Porém, a segunda aplicação de insulina é esquecida. A sequência de disparo é: t_1 , t_2 , t_3 , t_4 , t_1 , t_2 , t_{13} , t_{14} , t_3 , t_{17} , t_7 . Note-se, que mesmo esquecendo a segunda aplicação de insulina, a concentração de glicose é menor que a apresentada pela figura 4.6(a) devido à realização de exercício físico.



(a) Concentração de Glicose no sangue

(b) Concentração de Insulina no sangue

Figura 4.8: Concentrações de Glicose e Insulina - Uma injeção e Exercícios físicos

4.4 Modelagem e Simulação da Malária - Infestação Simples

A Malária é uma doença endêmica causada por parasitas encontradas em algumas partes de mundo. Atualmente, de acordo com o Portal de Serviços e Informações do Governo Brasileiro o *e-gov* (www.e.gov.br), a malária é considerada um problema de saúde pública em mais de 100 países, onde cerca de 2,4 bilhões de pessoas (40% da população mundial) convivem com o risco de contágio. Estima-se que aproximadamente 100 a 300 milhões de casos ocorram anualmente. Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicam que a malária é a doença infectocontagiosa tropical que mais causa problemas sociais e econômicos no mundo, somente superada em número de mortes pela Aids. Por ano, sobretudo na África, entre 500 e 300 milhões de pessoas são infectadas, das quais cerca de um milhão morrem em consequência da doença.

A transmissão da Malária ocorre de pessoa a pessoa através da fêmea do mosquito do gênero *Anopheles* infectado que se alimenta de sangue. A febre alta, com ou sem calafrios (tremores), é o sintoma mais marcante da doença. O paciente sente cansaço, fraqueza geral, enjôo, dor de cabeça e, em alguns casos, falta de apetite. Nas áreas de risco de contágio (mostrados na figura 4.9) ao menor sinal de febre alta, o paciente é imediatamente encaminhado ao hospital para a realização do teste de malária, onde é

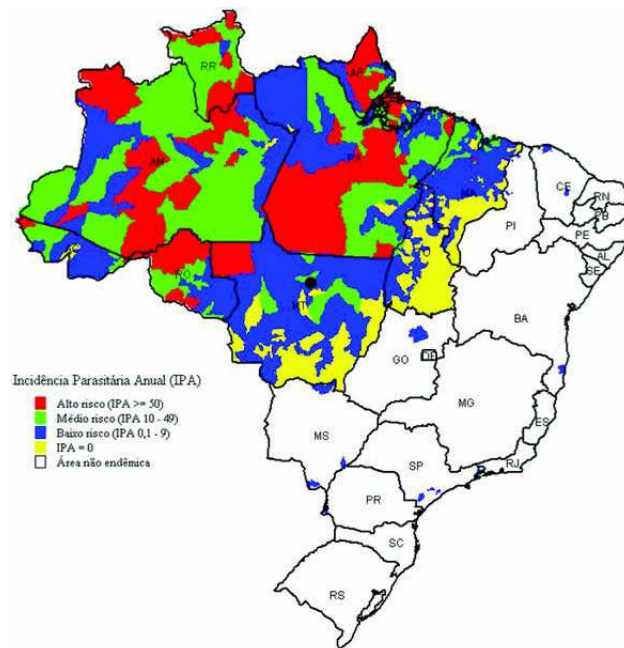


Figura 4.9: Mapa da área de risco - Malária

colhido uma gota de sangue do paciente. Em caso afirmativo de contágio, o tratamento com "anti-maláricos" é iniciado. Não existe vacina para a doença, mas o tratamento a base de comprimidos é bastante eficaz.

A malária é causada pela infestação de protozoários, do gênero *Plasmodium*, nas células vermelhas do sangue. Os parasitas (protozoários) são inoculados dentro do hospedeiro (corpo humano) através da picada do mosquito infectado. No Brasil, existem três espécies principais de *Plasmodium* causadores da malária: *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* e *Plasmodium falciparum*, sendo este último correspondendo à forma mais grave, atingindo cerca de 20% das pessoas acometidas pela doença.

A infestação pelo *Plasmodium* em vertebrados começa com uma pequena inoculação de esporozoítos (forma inicial do protozoário). Esses esporozoítos migram para o fígado, transformam-se e multiplicam-se produzindo milhares de merozoítos (forma assexuada). Cada um desses merozoítos invade uma célula vermelha do sangue, completando outra fase de multiplicação. Depois da invasão, as células vermelhas estouram liberando de 8 a 32 merozoítos que vão invadir outras células vermelhas. Este ciclo sanguíneo pode se repetir várias vezes, até que cada merozoíte se desenvolva para um estágio de transmissão sexuado não-replicante chamado gametócito. Se os gametócitos forem "sugados" por um mosquito *Anopheles*, os gametas dos gametócitos masculino e feminino podem se unirem

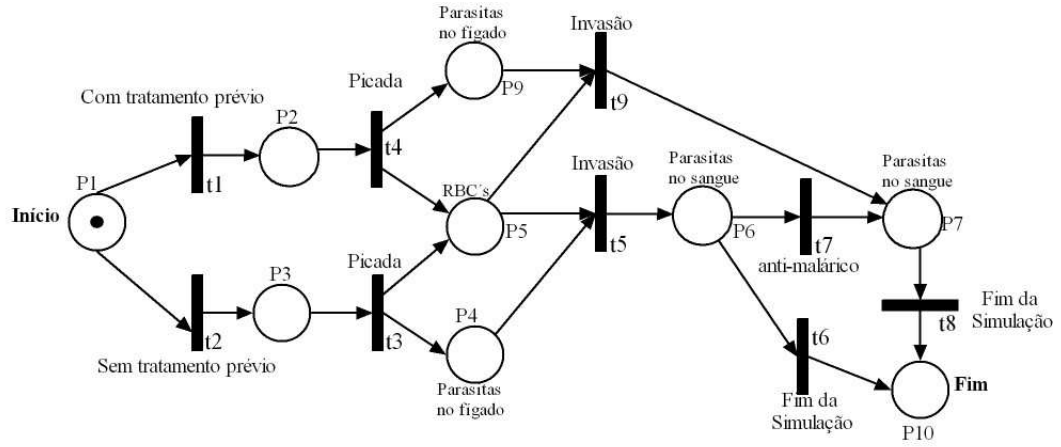
formando zigotos que serão os novos esporozoites [38].

Modelos de transmissão da malária e suas aplicações para o controle da malária datam do início do século passado, onde Ross (1911) construiu o primeiro modelo de transmissão da malária. Equações diferenciais tiveram grande contribuição na modelagem da malária. Em [42], modelos de equações diferenciais determinísticas para a malária envolvendo hospedeiro humano e populações de mosquitos foram analisadas. Um sistema de equações diferenciais entre parasitas e interações com o sistema imunológico do indivíduo representando um modelo a evento discreto de transmissão de *Plasmodium falciparum* foi proposto em [39]. Em [34], foi proposto um modelo matemático para dupla infecção dos parasitas *Plasmodium falciparum* e *Plasmodium malariae*. Contudo, o primeiro modelo de infestação da malária utilizando Redes de Petri foi proposto em [43], onde redes de Petri foram combinadas com processos do tipo *workflow*. Neste trabalho, cada ficha representa um parasita. Numa simulação, a contagem de parasitas pode chegar a 100.000 parasitas/ml de sangue; logo seriam necessárias milhões de fichas para ilustrar a infestação da malária a partir deste modelo.

A seguir, é apresentado o modelo de transmissão da malária proposto nesta dissertação, utilizando-se redes de Petri predicado transição diferencial. A figura 4.10 apresenta o modelo de rede de Petri que serve tanto para indivíduos que não fizeram tratamento prévio (no caso de moradores de regiões de alto risco) como para indivíduos que fizeram tratamento prévio (indivíduos que viajam para regiões de risco e que permanecem por um determinado tempo). O modelo apresenta características de paralelismo, logo após a picada do mosquito, quando a produção e renovação de células vermelhas ocorre sem a interação direta dos parasitas que se encontram no fígado). As variáveis P_i , R_i e I_i representam, respectivamente, a quantidade de parasitas, quantidade de células vermelhas sanguíneas e o sistema imunológico; P_0 , R_0 e I_0 são os seus valores iniciais. A figura 4.11 apresenta os vetores de variáveis, as funções de habilitação, o sistema de equações diferenciais e as funções de junção da rede de Petri da figura 4.10.

Após a picada do mosquito *Anopheles*, os esporozoites migram para o fígado, onde ocorre a primeira multiplicação dos parasitas. Ao mesmo tempo, a contagem de células vermelhas é iniciada. A equação associada ao lugar $P4$, que representa a multiplicação dos esporozoites, é apresentada a seguir:

$$dP_1/dt = bP_1 - cxP_1 + P_1 \quad (4.13)$$



- Vetores de variáveis:

$$\begin{aligned} X_{P4} &: \langle P_1 \rangle & X_{P7} &: \langle P_3, R_3, I_2 \rangle \\ X_{P5} &: \langle R_1 \rangle & X_{P9} &: \langle P_4 \rangle \\ X_{P6} &: \langle P_2, R_2, I_1 \rangle \end{aligned}$$

- Funções de Habilitação:

$$\begin{aligned} e_3, e_4 &: \text{Picada} \\ e_5, e_9 &: 7 \leq \theta \leq 12 \\ e_7 &: \text{Início do tratamento} \\ e_6, e_8 &: \theta < 100 \end{aligned}$$

- Funções de Junção:

$$\begin{aligned} j_3 &: P_1 = P_0 & j_6 &: \theta = 100 \\ R_1 &= R_0 & j_7 &: P_3 = P_2 \\ j_4 &: P_2 = P_0 & I_2 &= I_1 \\ R_1 &= R_0 & R_3 &= R_2 \\ j_5 &: P_2 = P_1 & j_8 &: \theta = 100 \\ I_1 &= I_0 & j_9 &: P_3 = P_4 \\ R_2 &= R_1 & R_3 &= R_1 \end{aligned}$$

- Sistema de Equações Diferenciais:

$$\begin{aligned} F_4 &: \frac{dP_1}{dt} = bP_1 - cxP_1 + P_1 \\ F_5 &: \frac{dR_1}{dt} = fR_1 - hR_1 + R_1 \\ F_6 &: \frac{dP_2}{dt} = aP_2R_2 - cnP_2 - gP_2 + P_2 \\ & \quad \frac{dI_1}{dt} = snP_2 - qnI_1 = I_1 \\ & \quad \frac{dR_2}{dt} = fR_2 - hR_2 - nR_2P_2 + R_2 \\ F_7 &: \frac{dP_3}{dt} = aP_3R_3 - cnP_3 - gP_3 + P_3 \\ & \quad \frac{dI_2}{dt} = snP_3 - qnI_2 + I_2 \\ & \quad \frac{dR_3}{dt} = fR_3 - hR_3 - nR_3P_3 + R_3 \\ F_9 &: \frac{dP_4}{dt} = bP_4 - cxP_4 - csP_4 + P_4 \end{aligned}$$

Figura 4.10: Rede de Petri Predicado Transição Diferencial - Infestação da Malária

- Vetores de variáveis:		- Sistema de Equações Diferenciais:	
$X_{P4} : < P_1 >$	$X_{P7} : < P_3, R_3, I_2 >$	$P_4 : \frac{dP_1}{dt} = bP_1 - cxP_1 + P_1$	
$X_{P5} : < R_1 >$	$X_{P9} : < P_4 >$	$P_5 : \frac{dR_1}{dt} = fR_1 - hR_1 + R_1$	
$X_{P6} : < P_2, R_2, I_1 >$		$P_6 : \frac{dP_2}{dt} = aP_2R_2 - cnP_2 - gP_2 + P_2$	
- Funções de Habilitação:		$\frac{dI_1}{dt} = snP_2 - qnI_1 = I_1$	
$t_3, t_4 : \text{Picada}$		$\frac{dR_2}{dt} = fR_2 - hR_2 - nR_2P_2 + R_2$	
$t_5, t_9 : 7 \leq \theta \leq 12$		$P_7 : \frac{dP_3}{dt} = aP_3R_3 - cnP_3 - cnP_3 - gP_3 + P_3$	
$t_7 : \text{Início do tratamento}$		$\frac{dI_2}{dt} = snP_3 - qnI_2 + I_2$	
$t_6, t_8 : \theta < 100$		$\frac{dR_3}{dt} = fR_3 - hR_3 - nR_3P_3 + R_3$	
- Funções de Junção:		$P_9 : \frac{dP_4}{dt} = bP_4 - cxP_4 - csP_4 + P_4$	
$t_3 : P_1 = P_0$	$t_6 : \theta = 100$		
$R_1 = R_0$	$t_7 : P_3 = P_2$		
$t_4 : P_2 = E_0$	$I_2 = I_1$		
$R_1 = R_0$	$R_3 = R_2$		
$t_5 : P_2 = P_1$	$t_8 : \theta = 100$		
$I_1 = I_0$	$t_9 : P_3 = P_4$		
$R_2 = R_1$	$R_3 = R_1$		

Figura 4.11: Vetores das variáveis, funções de junção, sistema de equações diferenciais e funções de junção - Infestação da Malária

onde b é a taxa de replicação dos esporozoites e cx é a taxa não-específica de remoção dos parasitas dentro do fígado. Como não existem muitos estudos sobre a multiplicação dos esporozoites dentro do fígado, a taxa de replicação utilizada foi encontrada a partir de alguns trabalhos referenciando que o período de maturação dos parasitas dentro do fígado corresponde a um período de 7 a 12 dias após a picada do mosquito [51]; dependendo da quantidade de esporozoites inoculados, a quantidade de merozoites pode ultrapassar 10.000 parasitas/ml de sangue no primeiro dia da infestação [45]. Outro ponto importante da modelagem da infestação da malária é que não se sabe se o sistema imunológico age nos esporozoites bem como a eficácia dessa ação caso ela ocorra. Logo, o parâmetro cx foi determinado como sendo uma taxa de remoção de parasitas que pode ser tanto pela ação do sistema imunológico como pela morte natural dos parasitas dentro do fígado.

No caso em que o indivíduo iniciou um tratamento prévio antes da infestação da malária, as equações para os esporozoites, sistema imunológico e a equação associada ao lugar $P9$ para o tratamento são:

$$dP_4/dt = bP_4 - cxP_4 - csP_4 + P_4 \quad (4.14)$$

A equação a seguir associada ao lugar $P5$ representa a contagem normal (quando não

tem nenhum parasita na corrente sanguínea) de células vermelhas:

$$dR_1/dt = fR_1 - hR_1 + R_1 \quad (4.15)$$

onde f corresponde à taxa de produção de células vermelhas e h é a taxa de remoção de células vermelhas [18].

Depois de se multiplicarem no fígado, os esporozoítos são transformados em merozoítos e deixam o fígado para completar a nova etapa do ciclo na corrente sanguínea. É nesta etapa que os merozoítos invadem as células vermelhas liberando mais merozoítos na corrente sanguínea. As equações a seguir, associadas ao lugar $P6$, correspondem à multiplicação dos merozoítos no sangue, o sistema imunológico e a nova contagem de células vermelhas respectivamente:

$$dP_2/dt = aP_2R_2 - cnP_2I_1 - gP_2 + P_2 \quad (4.16)$$

$$dI_1/dt = snP_2 - qnI_1 + I_1 \quad (4.17)$$

$$dR_2/dt = fR_2 - hR_2 - nR_2P_2 + R_2 \quad (4.18)$$

onde a é a taxa de replicação merozoítos, cn é taxa de remoção dos parasitas na corrente sanguínea, g é a taxa de conversão de merozoítos para gametócitos, sn é a taxa de proliferação imunológica não-específica, qn é a taxa de baixa imunológica não-específica e n é taxa de remoção de células vermelhas por eclosão. Neste caso, sabe-se que o sistema imunológico combate a produção de merozoítos presentes na corrente sanguínea. E é por isso que a variável I_1 aparece na equação 4.20.

Durante a eclosão de células vermelhas, o indivíduo infectado apresenta alguns sintomas como febre alta e dor de cabeça. Após a confirmação de contágio pela malária, pode ser iniciado o tratamento a base de “anti-maláricos” (a malária não tem cura) como cloroquina, quinina, fansidar, tetraciclina entre outras. As novas equações, associadas ao lugar $P7$, para os merozoítos, o sistema imunológico e a contagem de células vermelhas serão:

$$dP_3/dt = aP_3R_3 - cnP_3I_2 - csP_3 - gP_3 + P_3 \quad (4.19)$$

$$dI_2/dt = snP_3 - qnI_2 + I_2 \quad (4.20)$$

$$dR_3/dt = fR_3 - hR_3 - nR_3P_3 + R_3 \quad (4.21)$$

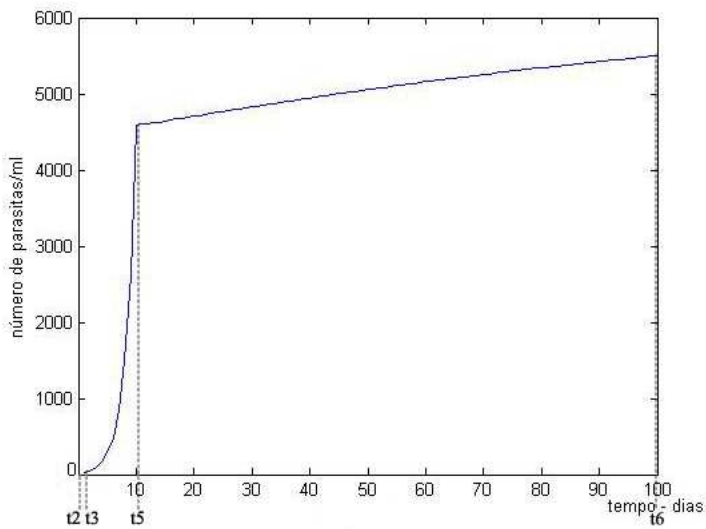
onde cs é a taxa de remoção de parasitas na presença de medicamentos na corrente sanguínea.

A próxima seção apresentará os resultados da simulação de diversos cenários baseados na rede de Petri predicado transição diferencial da figura 4.10.

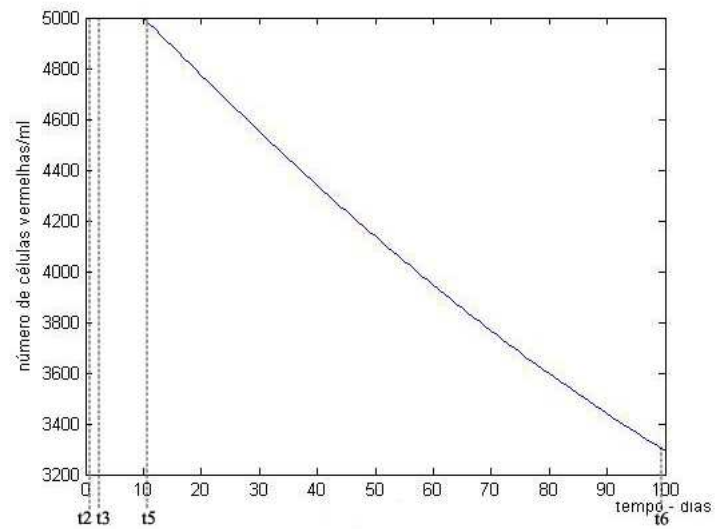
4.4.1 Resultados da Simulação - Exemplo da Malaria

A seguir será apresentado o resultado da simulação para o exemplo da malária. Vários cenários foram simulados; todos considerando as mesmas condições iniciais como as quantidades iniciais de parasitas no fígado e células vermelhas. A variável θ representa o tempo e é medido em dias.

A figura 4.12(a) apresenta o gráfico para a parasitemia no caso em que o indivíduo não procura tratamento médico. A parasitemia cresce exponencialmente, como é possível notar no gráfico, podendo levar a morte do indivíduo, já que há uma queda no número de células vermelhas do sangue deixando o sistema imunológico fraco (gráfico da figura 4.12(b)). A sequência de disparo é: t2, t3, t5, t6.



(a) Evolução dos Parasitas

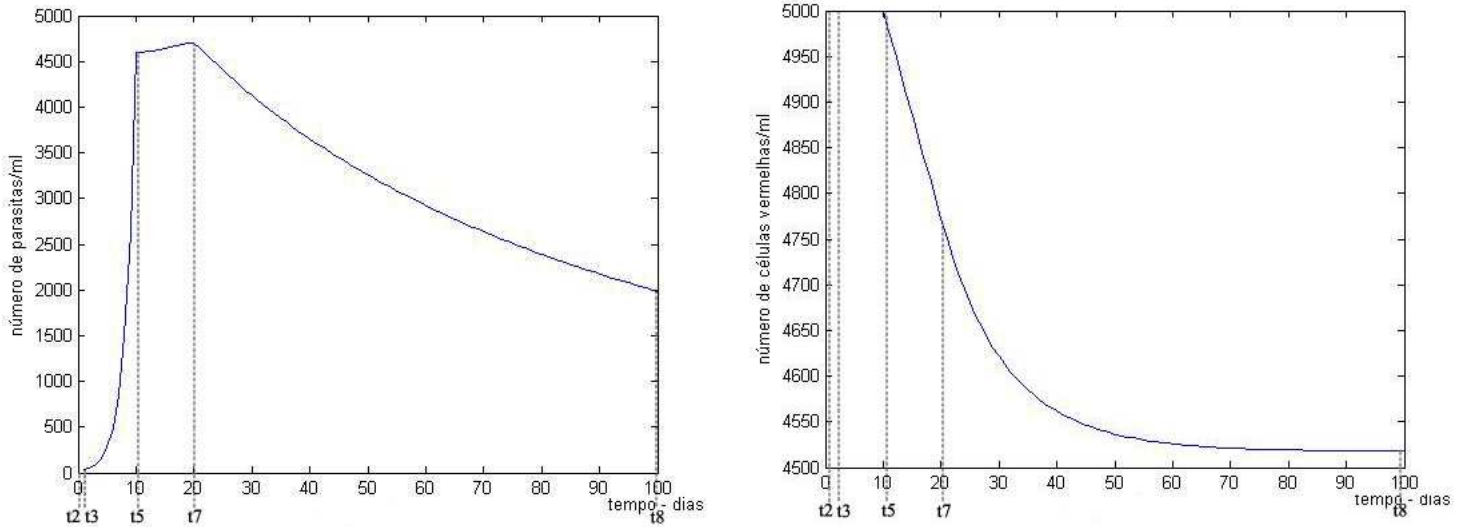


(b) Evolução das Células Vermelhas

Figura 4.12: Resultados da Simulação - Sem tratamento após infecção.

Considerando agora que o indivíduo fez o teste da malária, no qual foi diagnosticado a parasitemia, e iniciou o tratamento com “anti-maláricos”. O gráfico da figura 4.13(a) que corresponde ao cenário t2, t3, t5 t7 t8 mostra uma redução do número de parasitas no sangue após o tratamento (transição t7). O gráfico da figura 4.13(b) apresenta a evolução das células vermelhas para este cenário. Como o tratamento houve uma redução

no número de parasitas na corrente sanguínea e consequentemente houve um aumento no número de células vermelhas na corrente sanguínea.



(a) Evolução dos Parasitas

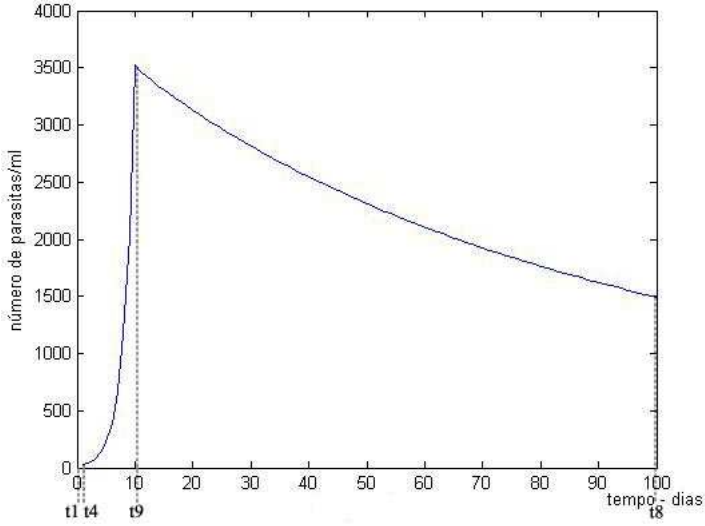
(b) Evolução das Células Vermelhas

Figura 4.13: Resultados da Simulação - Com tratamento após infecção.

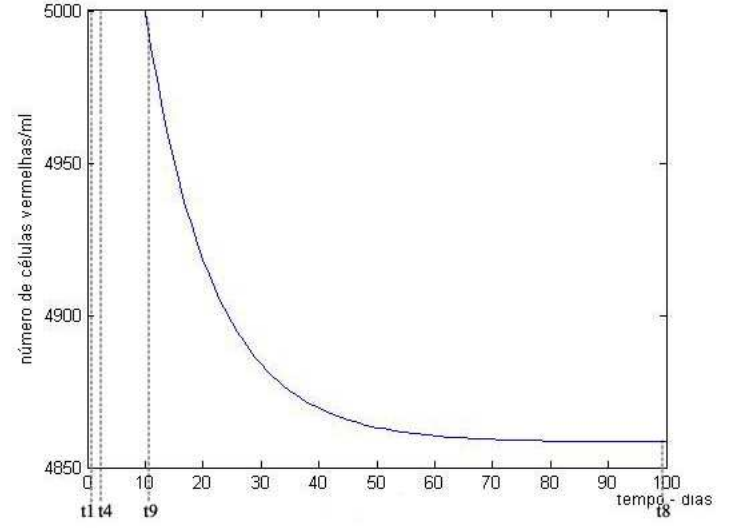
Viajantes e turistas que se dirigem para as áreas de grande risco de contágio pela malária têm que tomar algumas precauções antes, durante e depois da visita a estas áreas. A evolução dos parasitas na corrente sanguínea é dada na figura 4.14(a). A figura apresenta os resultados da simulação, onde a sequência de disparo foi: t1, t4, t9, t8. Com o tratamento prévio, o número de parasitas máximo é menor que nos casos anteriores, já que houve uma maior redução da parasitemia em função do tratamento prévio. A figura 4.14(b) apresenta a evolução das células vermelhas. Todos os cenários aqui apresentados foram simulados utilizando a linguagem de programação MatLab.

4.5 Modelagem e Simulação da Malária - Infestação Dupla

A dupla infestação ocorre quando o indivíduo é contaminado por dois tipos de parasitas causadores da Malária. A seguir, é apresentada a rede de Petri Predicado Transição Diferencial para a dupla infestação da malária (figura 4.15), bem como os vetores das variáveis, as funções de habilitação, o sistema de equações e as funções de junção (figura



(a) Evolução dos Parasitas



(b) Evolução das Células Vermelhas

Figura 4.14: Resultados da Simulação - Com tratamento prévio.

4.16). Para este exemplo, não foi considerado o tratamento com “anti-maláricos” com o intuito de simplificar o modelo.

Para este exemplo de infestação dupla da malária, *P. falciparum* e *P. malariae* são os dois tipos de parasitas causadores da doença. As equações 4.22, associada ao lugar P_2 , e a equação 4.23, associada ao lugar P_{13} , apresentam as evoluções dos parasitas para a primeira malária, e são dadas por:

$$dF_{1_1}/dt = b_1 F_{1_1} - cx_1 F_{1_1} + F_{1_1} \quad (4.22)$$

$$dM_{1_1}/dt = b_2 M_{1_1} - cx_2 M_{1_1} + M_{1_1} \quad (4.23)$$

onde b_1 e b_2 são as taxas de replicação dos esporozoítos e cx_1 e cx_2 são as taxas de remoção dos esporozoítos para *P. falciparum* e *P. malariae* respectivamente. dF_{1_1} representa a evolução dos *P. falciparum* como sendo a primeira infestação, e dM_{1_1} a evolução dos *P. malariae* como sendo a primeira infestação. As equações a seguir representam a evolução da contagem de células vermelhas sanguínea:

$$dR_1/dt = f R_1 - h R_1 + R_1 \quad (4.24)$$

$$dR_7/dt = f R_7 - h R_7 + R_7 \quad (4.25)$$

onde f é a taxa de produção de células vermelhas e h é a taxa de remoção de células vermelhas [18]. A equação 4.24, associada ao lugar P_3 , para *P. falciparum* como sendo

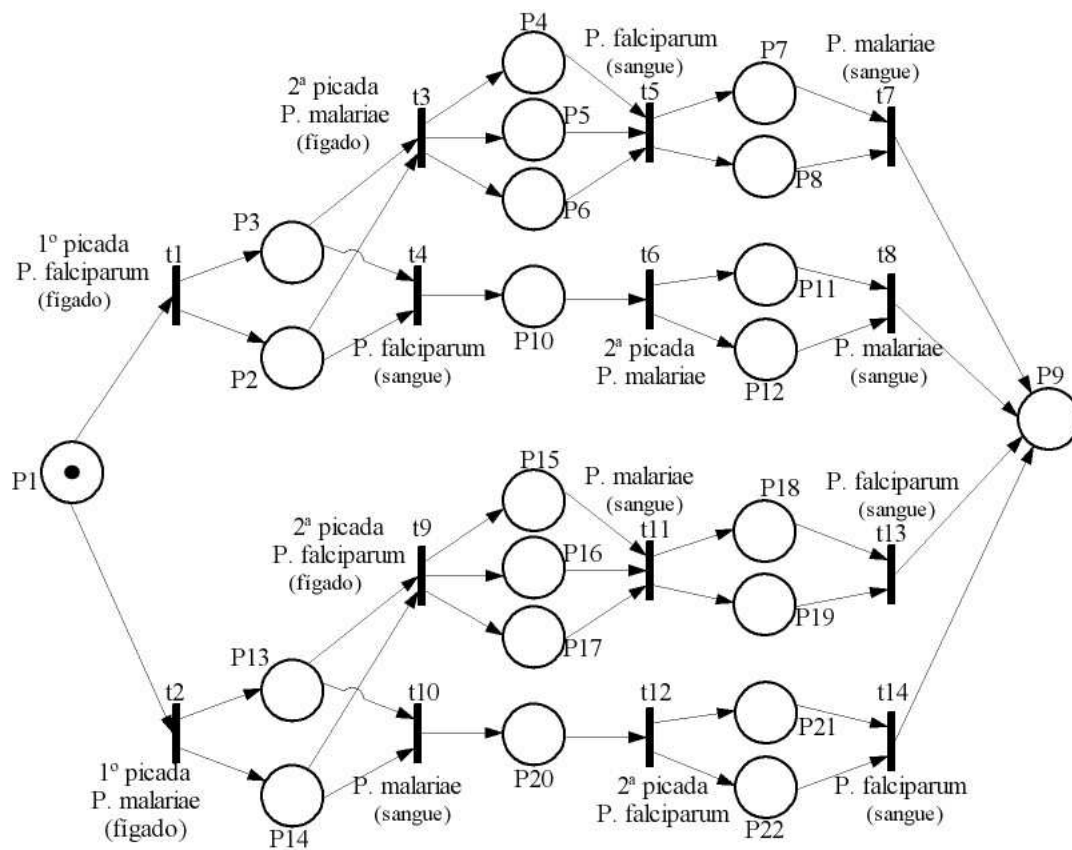


Figura 4.15: Rede de Petri Predicado Transição Diferencial - Dupla infestação da Malária

- Vetores de variáveis:

$$\begin{aligned}
 X_{P2} &: \langle F1_1, \theta_1 \rangle & X_{P9} &: \langle F, M, R_4, I_2 \rangle & X_{P16} &: \langle M1_2, \theta_1 \rangle \\
 X_{P3} &: \langle R_1 \rangle & X_{P10} &: \langle F1_4, R_5, I_3 \rangle & X_{P17} &: \langle R_8 \rangle \\
 X_{P4} &: \langle M2_1, \theta_2 \rangle & X_{P11} &: \langle M2_3, \theta_2 \rangle & X_{P18} &: \langle F2_2, \theta_2 \rangle \\
 X_{P5} &: \langle F1_2, \theta_1 \rangle & X_{P12} &: \langle F1_5, R_6, I_4 \rangle & X_{P19} &: \langle M1_3, R_9, I_5 \rangle \\
 X_{P6} &: \langle R_2 \rangle & X_{P13} &: \langle M1_1, \theta_1 \rangle & X_{P20} &: \langle M1_4, R_{10}, I_6 \rangle \\
 X_{P7} &: \langle M2_2, \theta_2 \rangle & X_{P14} &: \langle R_7 \rangle & X_{P21} &: \langle F2_3, \theta_2 \rangle \\
 X_{P8} &: \langle F1_3, R_3, I_1 \rangle & X_{P15} &: \langle F2_1, \theta_2 \rangle & X_{P22} &: \langle M1_6, R_{11}, I_7 \rangle
 \end{aligned}$$

- Funções de Habilitação:

$$\begin{aligned}
 e_1, e_2 &: 1^a \text{ Picada} \\
 e_3, e_9 &: 2^a \text{ Picada} \\
 e_6, e_{12} &: 2^a \text{ Picada} \\
 e_4, e_5, e_{10}, e_{11} &: 7 < \theta_1 < 12 \\
 e_7, e_8, e_{13}, e_{14} &: 7 < \theta_2 < 12
 \end{aligned}$$

- Funções de Junção:

$$\begin{aligned}
 j_1 &: F1_1 = F_0 & j_4 &: F1_4 = F1_1 & j_7 &: F = F1_3 & j_{10} &: F2_2 = F2_1 & j_{13} &: F = F2_2 \\
 R_1 &= R_0 & R_5 &= R_1 & M &= M2_2 & R_{10} &= R_7 & M &= M1_3 \\
 \theta_1 &= \theta & I_3 &= I_0 & R_4 &= R_3 & I_6 &= I_0 & R_4 &= R_9 \\
 j_2 &: M1_1 = M_0 & j_5 &: M2_2 = M2_1 & I_2 &= I_1 & j_{11} &: F2_2 = F2_1 & I_2 &= I_5 \\
 R_7 &= R_0 & \theta_2 &= \theta_2 & j_8 &: F = F1_5 & \theta_2 &= \theta_2 & j_{14} &: F = F2_3 \\
 \theta_1 &= \theta & F1_3 &= F1_2 & M &= M2_3 & M1_3 &= M1_2 & M &= M1_6 \\
 j_3 &: M1_1 = M_0 & R_3 &= R_2 & R_4 &= R_6 & R_9 &= R_8 & R_4 &= R_{11} \\
 \theta_2 &= \theta & I_1 &= I_0 & I_2 &= I_4 & I_5 &= I_0 & I_2 &= I_7 \\
 F1_2 &= F1_1 & j_6 &: M2_3 = M_0 & j_9 &: F2_1 = F_0 & j_{12} &: F2_3 = F_0 \\
 \theta_1 &= \theta_1 & \theta_2 &= \theta & \theta_2 &= \theta & \theta_2 &= \theta \\
 R_1 &= R_2 & F1_5 &= F1_4 & M1_2 &= M1_1 & M1_6 &= M1_4 \\
 & & R_6 &= R_5 & \theta_1 &= \theta_1 & R_{11} &= R_{10} \\
 & & I_4 &= I_3 & R_8 &= R_7 & I_7 &= I_6
 \end{aligned}$$

- Sistema de Equações

$$\begin{aligned}
 F_2 &: \frac{dF1_1}{dt} = b_1 F1_1 - c x_1 F1_1 + F1_1 & F_{12} &: \frac{dF1_5}{dt} = a_1 F1_5 R_6 - c n_1 F1_5 I_4 - g_1 F1_5 + F1_5 \\
 F_3 &: \frac{dR_1}{dt} = f R_1 - h R_1 + R_1 & & \frac{dR_6}{dt} = f R_6 - h R_6 - n_1 R_6 F1_5 + R_6 \\
 F_4 &: \frac{dM2_1}{dt} = b_2 M2_1 - c x_2 M2_1 + M2_1 & & \frac{dI_4}{dt} = s n F1_5 - q n I_4 + I_4 \\
 F_5 &: \frac{dF1_2}{dt} = b_1 F1_2 - c x_1 F1_2 + F1_2 & F_{13} &: \frac{dM1_1}{dt} = b_2 M1_1 - c x_2 M1_1 + M1_1 \\
 F_6 &: \frac{dR_2}{dt} = f R_2 - h R_2 + R_2 & F_{14} &: \frac{dR_7}{dt} = f R_7 - h R_7 + R_7 \\
 F_7 &: \frac{dM2_2}{dt} = b_2 M2_2 - c x_2 M2_2 + M2_2 & F_{15} &: \frac{dF2_1}{dt} = b_1 F2_1 - c x_1 F2_1 + F2_1 \\
 F_8 &: \frac{dF1_3}{dt} = a_1 F1_3 - c n_1 F1_3 I_1 - g_1 F1_3 + F1_3 & F_{16} &: \frac{dM1_2}{dt} = b_2 M1_2 - c x_2 M1_2 + M1_2 \\
 & \frac{dR_3}{dt} = f R_3 - h R_3 - n_1 R_3 F1_3 + R_3 & F_{17} &: \frac{dR_8}{dt} = f R_8 - h R_8 + R_8 \\
 & \frac{dI_1}{dt} = s n F1_3 - q n I_1 + I_1 & F_{18} &: \frac{dF2_2}{dt} = b_1 F2_2 - c x_1 F2_2 + F2_2 \\
 F_9 &: \frac{dF}{dt} = a_1 F R_4 - c n_1 F I_2 - g_1 F + F & F_{19} &: \frac{dM1_3}{dt} = a_2 M1_3 R_9 - c n_2 M1_3 I_5 - g_2 M1_3 + M1_3 \\
 & \frac{dM}{dt} = a_2 M R_4 - c n_2 M I_2 - g_2 M + M & & \frac{dR_9}{dt} = f R_9 - h R_9 - n_2 R_9 M1_3 + R_9 \\
 & \frac{dR_4}{dt} = f R_4 - h R_4 - n_3 R_4 F M + R_4 & & \frac{dI_5}{dt} = s n_2 M1_3 - q n I_5 + I_5 \\
 & \frac{dI_2}{dt} = s n (F + M) - q n I_2 + I_2 & F_{20} &: \frac{dM1_4}{dt} = a_2 M1_4 R_{10} - c n_2 M1_4 I_6 - g_2 M1_4 + M1_4 \\
 F_{10} &: \frac{dF1_4}{dt} = a_1 F1_4 R_5 - c n_1 F1_4 I_3 - g_1 F1_4 + F1_4 & & \frac{dR_{10}}{dt} = f R_{10} - h R_{10} - n_2 R_{10} M1_4 + R_{10} \\
 & \frac{dR_5}{dt} = f R_5 - h R_5 - n_1 F1_4 R_5 + R_5 & & \frac{dI_6}{dt} = s n_2 M1_4 - q n I_6 + I_6 \\
 & \frac{dI_3}{dt} = s n F1_4 - q n I_3 + I_3 & F_{21} &: \frac{dF2_3}{dt} = b_1 F2_3 - c x_1 F2_3 + F2_3 \\
 F_{11} &: \frac{dM2_3}{dt} = b_2 M2_3 - c x_2 M2_3 + M2_3 & F_{22} &: \frac{dM1_5}{dt} = a_2 M1_5 R_{11} - c n_2 M1_5 I_7 - g_2 M1_5 + M1_5 \\
 & & & \frac{dR_{11}}{dt} = f R_{11} - h R_{11} - n_2 R_{11} M1_5 + R_{11} \\
 & & & \frac{dI_7}{dt} = s n_2 M1_5 - q n I_7 + I_7
 \end{aligned}$$

Figura 4.16: Vetores das variáveis, funções de habilitação, sistema de equações e funções de junção - Dupla infestação da Malária

a primeira infestação e a equação 4.25, associada ao lugar $P15$, para $P. malariae$ como sendo a primeira infestação

Passado um intervalo de tempo, pode ocorrer a chegada da segunda infestação. Logo as equações para as evoluções da segunda malária seriam:

$$dM2_1/dt = b_2M2_1 - cx_2M2_1 + M2_1 \quad (4.26)$$

$$dF2_1/dt = b_1F2_1 - cx_1F2_1 + F2_1 \quad (4.27)$$

onde $M2_1$ e $F2_1$ representam a evolução dos parasitas, $P. malariae$ e $P. falciparum$ respectivamente, para a segunda malária. A equação 4.26 está associada ao lugar $P4$ e a equação 4.27 associada ao lugar $P15$.

Com o término do período de multiplicação dos parasitas no fígado da primeira malária, estes se encaminharão para a corrente sanguínea já como merozoites. A segunda infestação ainda não terminou o seu período de multiplicação, devido a sua chegada tardia e sua evolução continua a mesma. As novas equações para a evolução dos merozoites, $P. falciparum$ sendo a primeira infestação, associadas ao lugar $P8$ são:

$$dF1_3/dt = a_1F1_3R_3 - cn_1F1_3I_1 - g_1F1_3 + F1_3 \quad (4.28)$$

$$dI_1/dt = snF1_3 - qnI_1 + I_1 \quad (4.29)$$

$$dR_3/dt = fR_3 - hR_3 - n_1R_3F_3 + R_3 \quad (4.30)$$

e para $P. malariae$, associadas ao lugar $P19$, como sendo a primeira infestação:

$$dM1_3/dt = a_2M1_3R_3 - cn_2M1_3I_5 - g_2M1_3 + M1_3 \quad (4.31)$$

$$dI_5/dt = snM1_3 - qnI_5 + I_5 \quad (4.32)$$

$$dR_9/dt = fR_9 - hR_9 - n_2R_3M1_3 + R_9 \quad (4.33)$$

onde a_1 e a_2 são as taxas de replicação dos merozoites por eclosão, cn_1 e cn_2 são as taxas de remoção dos merozoites, g_1 e g_2 são as taxa de conversão de gametócitos e n_1 e n_2 são as taxas de remoção de células vermelhas por eclosão para $P. falciparum$ e $P. malariae$ respectivamente.

Terminado o período de multiplicação (dentro do fígado) dos esporozoites da segunda malária, os dois tipos de parasitas se encontram na corrente sanguínea. As evoluções da dupla infestação associadas ao lugar $P9$ serão:

$$dF/dt = a_1FR_4 - cn_1FI_2 - g_1F + F \quad (4.34)$$

$$dM/dt = a_2MR_4 - cn_2MI_2 - g_2M + M \quad (4.35)$$

$$dI_2/dt = snFM - qnI_2 + I_2 \quad (4.36)$$

$$dR_4/dt = fR_4 - hR_4 - n_3R_4FM + R_4 \quad (4.37)$$

onde F e M representam as evoluções para *P. falciparum* e *P. malariae* respectivamente.

Outro caso que pode ocorrer é quando os merozoites da primeira malária já se encontram na corrente sanguínea no momento da chegada da segunda malária. Após o término do período de replicação no fígado, a primeira malária se encaminha para a corrente sanguínea. Para a primeira infestação por *P. falciparum* as equações associadas ao lugar $P10$ são:

$$dF1_4/dt = a_1F1_4R_5 - cn_1F1_4I_3 - g_1F1_4 + F1_4 \quad (4.38)$$

$$dI_3/dt = snF1_4 - qnI_3 + I_3 \quad (4.39)$$

$$dR_5/dt = fR_5 - hR_5 - n_3R_5F1_4 + R_5 \quad (4.40)$$

já para *P. malariae* como primeira infestação as equações associadas ao lugar $P20$ são:

$$dM1_4/dt = a_2M1_4R_{10} - cn_2M1_4I_6 - g_2M1_4 + M1_4 \quad (4.41)$$

$$dI_6/dt = snM1_4 - qnI_6 + I_6 \quad (4.42)$$

$$dR_{10}/dt = fR_{10} - hR_{10} - n_3R_{10}M1_4 + R_{10} \quad (4.43)$$

A segunda infestação inicia com a segunda picada do mosquito e a primeira malária já se encontra no sangue. As evoluções dos esporozoites da segunda malária são dadas pelas equações associadas aos lugares $P11$ e $P21$ respectivamente:

$$dM2_3/dt = b_2M2_3 - cx_2M2_3 + M2_3 \quad (4.44)$$

$$dF2_3/dt = b_1F2_3 - cx_1F2_3 + F2_3 \quad (4.45)$$

Com o término do período de maturação da segunda infestação, os novos merozoites dirigir-se-ão para a corrente sanguínea, que evoluirão para as seguintes equações: 4.34, 4.35, 4.36 e 4.37. A figura 4.16 apresenta todas as equações detalhadas para este exemplo. Para este modelo não foi considerado nenhum tipo de tratamento, pois neste caso seriam necessários dois tipos de tratamentos distintos. E com a inclusão dos tratamentos, o modelo tornaria demasiadamente grande para o estudo.

A próxima seção traz os resultados da simulação para a dupla infestação da malária a partir da Rede de Petri Predicado Transição Diferencial da figura 4.15.

4.5.1 Resultados da Simulação - Dupla infestação da Malária

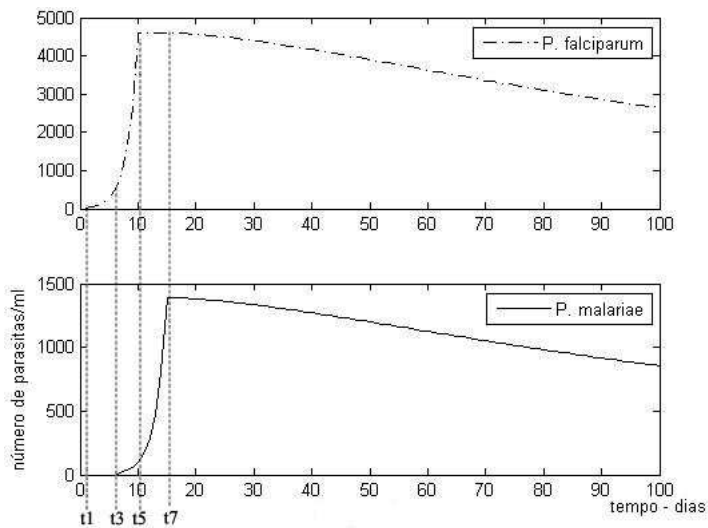
Os resultados das simulações para a infestação dupla da malária serão apresentados nesta seção. Bem como os exemplos anteriores, vários cenários serão simulados, analisados e comparados. Todas as simulações ocorreram nas mesmas condições iniciais para todos os cenários, representadas pelas variáveis F_0 , M_0 , R_0 e I_0 . A variável contínua θ representa a evolução do tempo medida em dias, e as variáveis θ_i representam o instante do disparo de t_i .

Para um primeiro cenário, foi tomado como base que a segunda infestação da malária chegaria enquanto a primeira infestação ainda se encontra na fase de multiplicação de esporozoítos (parasitas no fígado). Assim, em um determinado intervalo de tempo as duas infestações estariam se desenvolvendo no fígado.

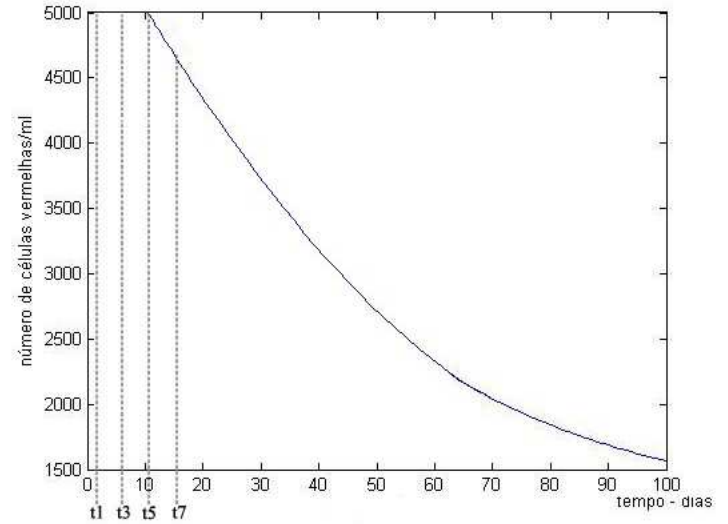
A figura 4.17(a) apresenta as evoluções dos parasitas *P. falciparum* (como a primeira infestação) e *P. malariae* (como a segunda infestação). De acordo com este gráfico, após os parasitas do tipo *P. malariae* se encaminharem para a corrente sanguínea, houve uma redução dos parasitas da primeira infestação devido à concorrência destes parasitas na invasão de células vermelhas. Para o gráfico da figura 4.17(a) a sequência de disparo foi: t_1 , t_3 , t_5 , t_7 . A figura 4.17(b) apresenta o gráfico da evolução das células vermelhas. De acordo com o gráfico 4.17(b), houve uma redução significativa do número de células vermelhas em comparação com o gráfico da figura 4.12(b) devido ao aumento do número de parasitas na corrente sanguínea.

A figura 4.18(a) apresenta as evoluções dos parasitas *P. malariae* (como a primeira infestação) e *P. falciparum* (como a segunda infestação). A sequência de disparo foi: t_2 , t_9 , t_{11} , t_{13} . A figura 4.18(b) apresenta a evolução das células vermelhas sanguíneas. Comparando a evolução dos parasitas *P. falciparum* dos gráficos 4.17(a) e 4.18(a), houve uma redução do número de parasitas quando esta é a segunda infestação (aproximadamente 4.700 parasitas no gráfico 4.17(a) e 2.400 parasitas no gráfico 4.18(a)).

Para um segundo cenário, a segunda infestação se iniciaria enquanto que a primeira infestação já se encontra na corrente sanguínea, na fase de multiplicação de merozoítos. A figura 4.19(a) apresenta as evoluções dos parasitas, sendo que a primeira infestação é por *P. falciparum* e a segunda infestação é por *P. malariae*. Como a segunda infestação evolui sem interferências dentro do fígado, o pico de *P. malariae* pode ultrapassar o dobro do pico apresentado na figura 4.17(a). A sequência de disparo para o gráfico da figura

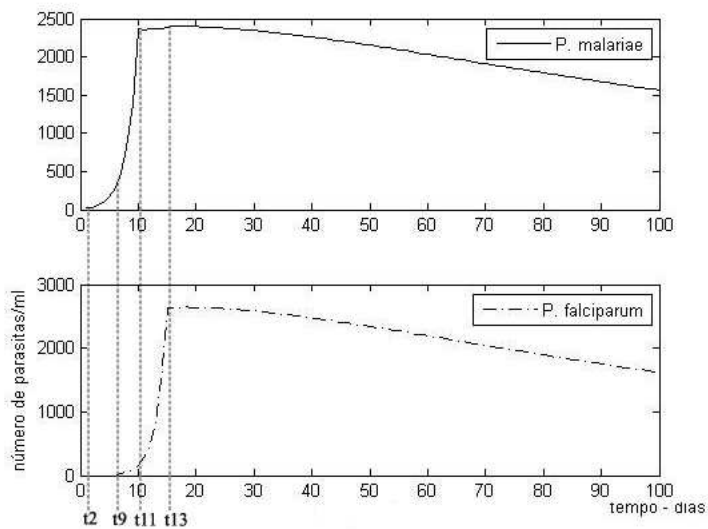


(a) Evolução dos parasitas

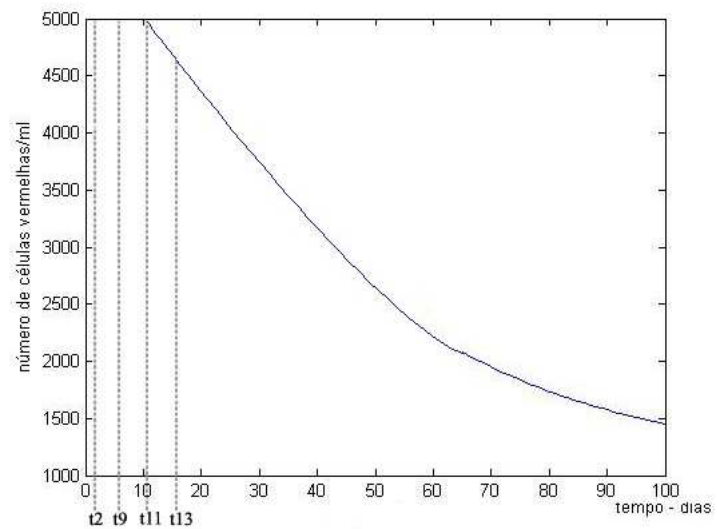


(b) Evolução das Células Vermelhas

Figura 4.17: Resultados da Simulação - Dupla infestação (*P. falciparum* e *P. malariae* no fígado)



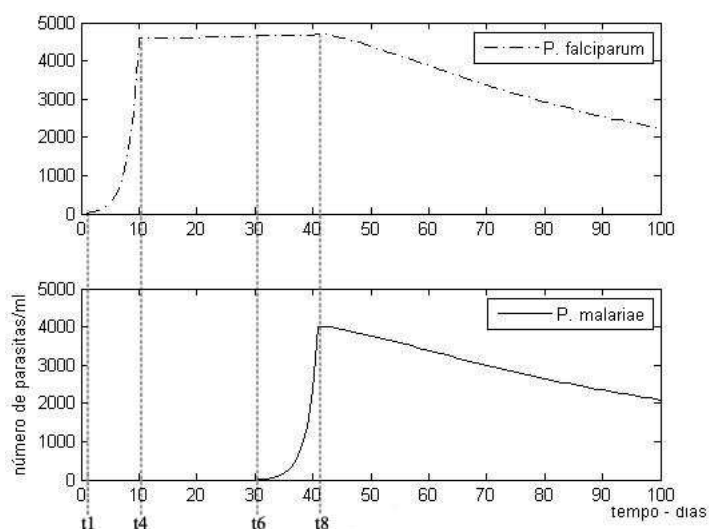
(a) Evolução dos Parasitas



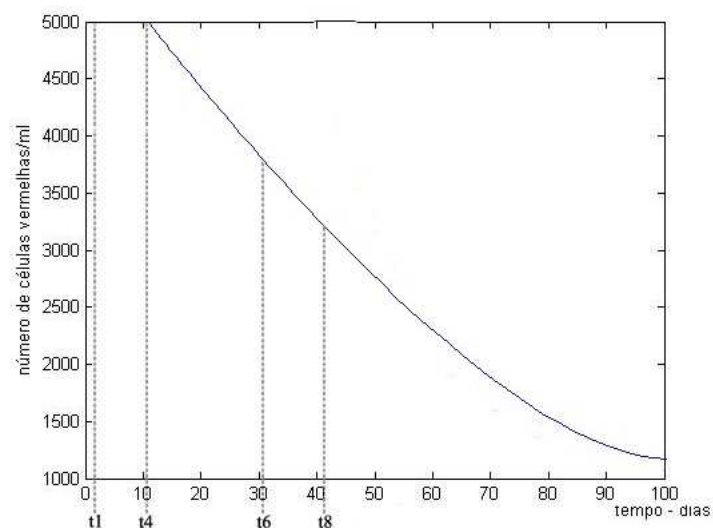
(b) Evolução das Células Vermelhas

Figura 4.18: Resultados da Simulação - Dupla infestação (*P. malariae* e *P. falciparum* no fígado)

4.19(a) foi: t_1, t_4, t_6, t_8 . E a evolução das células vermelhas é apresentada na figura 4.19(b).



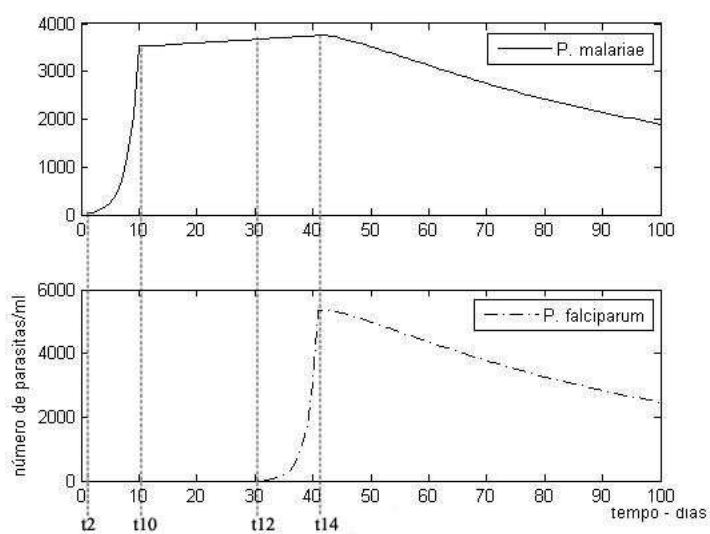
(a) Evolução dos parasitas



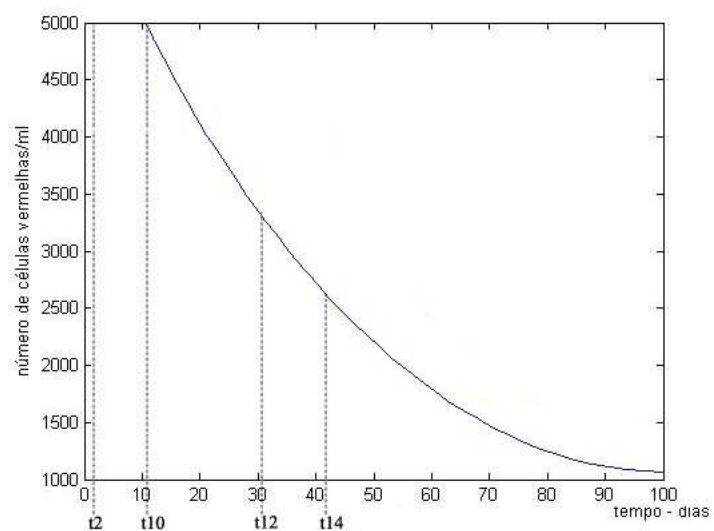
(b) Evolução das Células Vermelhas

Figura 4.19: Resultados da Simulação - Dupla infestação (*P. falciparum* no sangue e *P. malariae* no fígado)

A figura 4.20(a) apresenta as evoluções dos parasitas sendo que a primeira infestação por parasitas do tipo *P. malariae* e a segunda infestação por parasitas do tipo *P. falciparum*. A sequência de disparo para este gráfico foi: t2, t10, t12, t14. A evolução das células vermelhas é apresentada na figura 4.20(b).



(a) *P. falciparum* e *P. malariae*



(b) *P. malariae* e *P. falciparum*

Figura 4.20: Resultados da Simulação - Dupla infestação (*P. malariae* no sangue e *P. falciparum* no fígado)

Capítulo 5

Conclusão

Neste trabalho, foi apresentada uma nova abordagem para a modelagem de processos biológicos combinando um formalismo contínuo (equações diferenciais) e um formalismo discreto (redes de Petri).

Inicialmente, um estudo sobre modelagem matemática de processos biológicos foi realizada. Foram encontrados diversos modelos de processos biológicos utilizando-se das mais variadas ferramentas de modelagem de sistemas (equações diferenciais, autômatos híbridos e redes de Petri). Depois foram selecionados os três exemplos tratados neste trabalho: *Diabetes Mellitus*, infestação simples da malária (com um único tipo de parasita) e a infestação dupla da malária (com dois tipos de parasitas).

Para a modelagem dos três exemplos foram utilizadas as redes de Petri predados transições diferenciais. Os processos biológicos foram quebrados em duas partes. A primeira associada ao aspecto contínuo do modelo, baseado em um conjunto de equações diferenciais. A segunda associada ao aspecto discreto do modelo, representado por uma rede de Petri. As equações diferenciais fornecem as evoluções contínuas das variáveis e as redes de Petri monitoram o acionamento de cada conjunto de equações diferenciais através de eventos discretos.

Os modelos construídos foram simulados utilizando a linguagem de programação MatLab. O MatLab apresenta a capacidade de resolução de equações diferenciais e fornecem os resultados através de gráficos. Com os gráficos fornecidos pelo MatLab foi possível realizar análises quantitativas dos modelos construídos.

Através dos estudos realizados, conclui-se que para uma ferramenta de modelagem ser aplicável na modelagem de processos biológicos, ela não deve tentar incorporar em modelos

discretos elementos que representam variáveis contínuas ou tentar incorporar em modelos contínuos elementos que representam elementos discretos. Ao invés disso, deve-se definir uma interface entre os dois modelos de modo a permitir maior flexibilidade de modelagem tanto da parte contínua quanto da parte discreta. A rede de Petri predicado transição diferencial utilizada neste trabalho é um exemplo de modelo onde procurou-se conservar as características iniciais dos dois modelos: as redes de Petri e as equações diferenciais. As redes de Petri predicado transição diferenciais possuem características úteis na modelagem de processos biológicos, tais como: a capacidade de representar de modo explícito os comportamentos paralelos, fornecendo uma visão gráfica dos processos biológicos como um todo; a capacidade de simular várias fichas, cada uma representando um cenário diferente; as evoluções das variáveis contínuas serem representadas por equações diferenciais e não por velocidades de disparo das transições (como nas redes de Petri híbridas funcionais) e capacidade de modularização.

Este trabalho teve como resultados, além da escrita desta dissertação, a escrita do artigo “Modelling Biological Process using Differential Predicate Transition Petri Nets” que será publicado no congresso IEEE SMC’2007 - *2007 IEEE International Conference on Systems, Man and Cybernetics* que se realizará em Outubro de 2007 em Montréal no Canadá.

Como proposta para trabalhos futuros, será interessante a construção de um simulador de redes de Petri predicado transição diferenciais. Este simulador deverá conter uma interface gráfica para a construção dos modelos. O simulador também deverá comunicar-se com algum programa de resolução numérica (o MatLab, por exemplo) para o tratamento das equações diferenciais e fornecer os gráficos destas equações. Outro ponto importante seria difundir esta abordagem para os pesquisadores da área da bioinformática para a realização de estudos de processos biológicos mais complexos, explorando ainda mais as características do modelo. Por exemplo, a modularidade, o paralelismo, a mutli-sensibilização de transições (mais de uma ficha por lugar) ou construir um conjunto de equações diferenciais mais complexas.

Bibliografia

- [1] ecell.sourceforge.net/.
- [2] <http://216.47.139.196/glucosim/index.html>.
- [3] <http://www.crhc.uiuc.edu/ultrasan/>.
- [4] <http://www.daimi.au.dk/designcpn/>.
- [5] <http://www.genomicobject.net/member3/index.html>.
- [6] <http://www.mathworks.com>.
- [7] www.gepasi.org/.
- [8] BRUCE ALBERTS, ALEXANDER JOHNSON, PETER WALTER, and ET AL., *Biologia molecular da célula*, 2004.
- [9] Rajeev Alur, Calin Belta, Franjo Ivanccicc, Vijay Kumar, Max Mintz, George J. Pappas, Harvey Rubin, and Jonathan Schug, *Hybrid modeling and simulation of biomolecular networks*, In Hybrid Systems: Computation and control (2001), 19–32.
- [10] David Andreu, *Commande et supervision des procédés discontinus: Une approche hybride*, Ph.D. thesis, Université Paul Sabatier de Toulouse, 1996.
- [11] M. Antoniotti, B. Mishra, C. Piazza, A. Policriti, and M. Simeoni, *Modeling cellular behavior with hybrid automata: Bisimulation and collapsing.*, In CMSB'03 Proceedings of the First International Workshop on Computational Methods in Systems Biology (2003), 57–74.
- [12] Janette Cardoso and Robert Valette, *Redes de petri*, Editora da UFSC, 1997.

- [13] Alberto Casagrande, Venkatesh Mysore, Carla Piazza, and Bud Mishra, *Independent dynamics hybrid automata in system biology*, (2005).
- [14] Ronan Champagnat, *Supervision des systemes discontinus: Definitions d'un modele hybride et pilotage en temps-reel*, Ph.D. thesis, Université Paul Sabatier de Toulouse, 1998.
- [15] Ming Chen and Ralf Hofstaedt, *Quantitative petri net model of gene regulated metabolic networks in the cell*, *In Silico Biology (2003)*.
- [16] Kwang-Hyun Cho, Karl Henrik Johansson, and Olaf Wolkenhauer, A system-theoretic modeling framework for cellular processes, *5th International Conference on Systems Biology (2004)*.
- [17] René David and Hassane Alla, Petri nets and grafacet - tools for modelling discrete event systems, *prentice Hall, 1992*.
- [18] Leah Edelstein-Keshet, Mathematical models in biology, *MaGraw-Hill, Inc, 1987*.
- [19] Fetanet C. Erzen, Gulnur Birol, and Ali Çinar, Glucosim: A simulator for education on the dynamics of diabetes melintus, (2001).
- [20] W. H. Freeman, Molecular cell biology, 2007.
- [21] Andrea De Gaetano and Ovide Arino, Mathematical modelling of the intravenous glucose tolerance test, *J. Math. Biol.* **40** (2000), 136–168.
- [22] H. Genrich, ‘predicate/transition nets, *Lecture notes in Computer Sciense* **254** (1987), 207–247.
- [23] Albert Goldbeter, Computational approaches to cellular rhythms, *NATURE* **420** (2002), 238–245.
- [24] P. J. E. Goss and J. Peccoud, Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic petri nets, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (1998).
- [25] Simon Hardy and Pierre N. Robillard, Modeling and simulation of molecular biology systems using petri nets: Modeling goals of various approaches, *Journal os Bioinformatics and Computational Biology* **2** (2004), no. 4, 619–637.

- [26] T. A. Henzinger, The theory of hybrid automata., *In Proceedings of the 11th IEEE Symposium on Logic in Computer Science (1996)*, 278–293.
- [27] Thomas A. Henzinger, The theory of hybrid automata, *Proceedings of the 11th Annual IEEE Symposium on Logic in Computer Science (1996)*.
- [28] K. Jensen and G. Rozemberg, High-level petri nets: theory and application, *Berlin: Springer-Verlag, 1991*.
- [29] D. S. Jones and B. D. Sleeman, Differential equations and mathematical biology, *George Allen Unwin, Inc, 1983*.
- [30] Jean-Christophe Leloup and Albert Goldbeter, A model for circadian rhythms in drosophila incorporating the formation of a complex between the per and tim proteins, *JOURNAL OF BIOLOGICAL RHYTHMS* **13** (1998), no. 1, 70–87.
- [31] Jean-Christophe Leloup, Didier Gonze, , and Albert Goldbeter, Limit cycle models for circadian rhythms based on transcriptional regulation in drosophila and neurospora, *JOURNAL OF BIOLOGICAL RHYTHMS* **14** (1999), no. 6, 433–448.
- [32] Simon A. Levin, Thomas G. Hallam, and Louis J. Gross, Applied mathematical ecology, vol. 18, *Springer-Verlag, 1989*.
- [33] Athena Makroglou, Jiaxu Li, and Yang Kuang, Mathematical models and software tools for the glucose-insulin regulatory system and diabetes: an overview, *Applied Numerical Mathematics* **56** (2006), 559–573.
- [34] Daniel P. Mason, F. Ellis McKenzie, and William H. Bossert, The blood-stage dynamics of mixed *Plasmodium malariae*-*Plasmodium falciparum* infections, *J. theor. Biol.* (1999), no. 198, 549–566.
- [35] H. Matsuno, A. Doi, M. Nagasaki, and S. Miyano, Hybrid petri net representation of gene regulatory network, *Pac. Symp. Biocomput.* **5** (2000), 338–349.
- [36] HIROSHI MATSUNO, ATSUSHI DOI, MASAO NAGASAKI, and SATORU MIYANO, Hybrid petri net representation of gene regulatory network.

- [37] Hiroshi Matsuno¹, Yukiko Tanaka, Hitoshi Aoshima, Atsushi Doi, Mika Matsui, and Satoru Miyano, Biopathways representation and simulation on hybrid functional petri net, In *Silico Biology* (2003).
- [38] F. ELLIS MCKENZIE and WILLIAM H. BOSSERT, The dynamics of plasmodium falciparum blood stage infection, *J. theor. Biol.* **188** (1997), 127–140.
- [39] F. Ellis McKenzie and William H. Bossert, An integrated model of plasmodium falciparum dynamics, *Journal of Theoretical Biology* **232** (2005), 411–426.
- [40] T. Murata, Petri nets: properties, analysis and applications, *Proceedings of the IEEE* **77(4)** (1989), 541–580.
- [41] Venkatesh Pranesh Mysore, Algorithmic algebraic model checking: Hybrid automata and systems biology, *Ph.D. thesis, New York University*, 2006.
- [42] G. A. NGWA and W. S. SHU, A mathematical model for endemic malaria with variable human and mosquito populations, *Mathematical and Computer Modelling* **32** (2000), 747–763.
- [43] Mor Peleg, Daniel Rubin, and Russ B. Altman, Usin petri nets tools to study properties and dynamics of biological systems, *Journal of the American Medical Informatics Association* (2005).
- [44] NATAL VAN RIEL, Minimal models for glucose and insulin kinetics - a matlab implementation -, *Tech. report, Eindhoven University of Technology*, 2004.
- [45] J. M. V. Salcedo, L. M. A. Camargo, M. F. V. Braga, P. S. Maria, and V. O. Macêdo, Avaliação da eficácia do artesunato associado À tetraciclina na terapêutica da malária falciparum, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* (1997).
- [46] BRIAN TOPP, KEITH PROMISLOW, GERDA DEVRIES, ROBERT M. MIURAA, and DIANE T. FINEGOOD, A model of β -cell mass, insulin, and glucose kinetics: Pathways to diabetes, *J. theor. Biol* **206** (2000), 605–619.
- [47] Hiroki R. Ueda, Masatoshi Hagwara, and Hiroaki Kitano, Robust oscillations within the interlocked feedback model of *Drosophila* circadian rhythm, *J. theor. Biol.* (2001), no. 210, 401–406.

- [48] Jeffrey D. ULLMAN, Jonh E. HOPCROFT, and Rajeev. MONTWANI, Introdução à teoria dos autômatos, linguagens e computação, 2002.
- [49] Reddy VN, Mavrovouniotis ML, and Liebman MN, Petri net representation in metabolic pathways, *Proc First* (1993).
- [50] J. Wolf, S. Becker-Weimann, and R. Heinrich, Analysing the robustness of cellular rhythms, *Syst. Biol.* **2** (2005), no. 1, 35–41.
- [51] Hyun M Yang, Malaria transmission model for different levels of acquired immunity and temperature-dependent parameters (vector), *Rev. Saúde Pública* (2000).
- [52] Michael W. Young, Life's 24-hour clock: molecular control of circadian rhythms in animal cells, *TIBS* **25** (2000), 601–606.
- [53] Michael W. Young, The tick-tock of the biological clock, *Scientific American* (2000), 64–71.