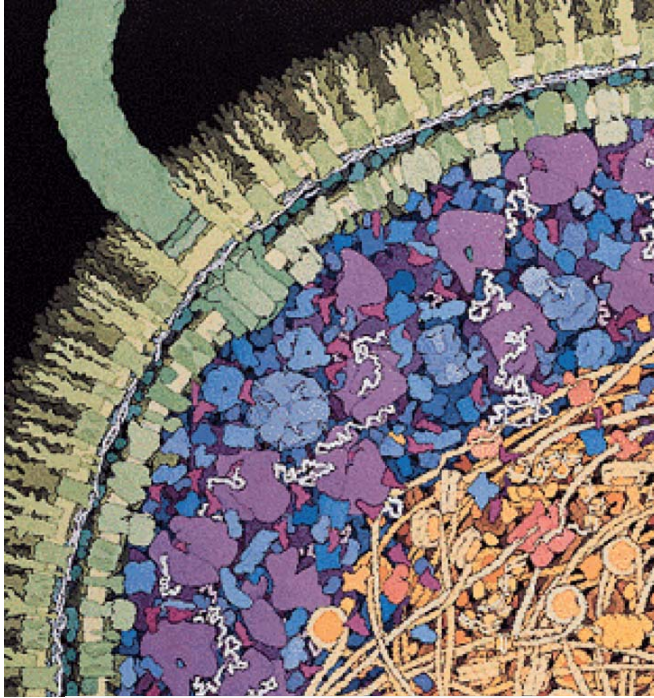


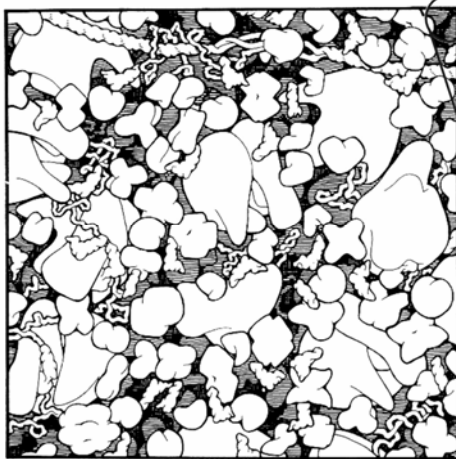
Percolação: Implicações biológicas

Organização celular



Cartoon da organização celular de uma bactéria.

D. S. Goodsell, "Inside a living cell", Trends Biochem. Sci. 16203-206 (1991).



Fracção celular	(mg de proteína/ml de fracção)
Matriz mitocondrial	1000
Fígado de rato	313
Levedura	280
Coração de porco	260
Músculo de rato	260
<i>E. coli</i>	235
Citosol	220
Eritrócito humano	158

Implicações da grande concentração de macromoléculas e pequenos metabolitos nas células:

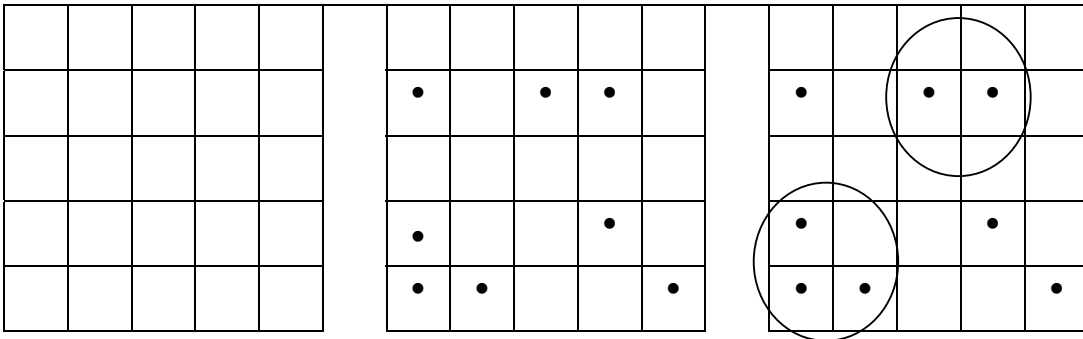
- A difusão dos metabolitos ao longo de uma célula será dificultada?
- Ou, dado que o espaço disponível para difusão está diminuído, a difusão é aumentada?

Percolação

Grelha quadrada

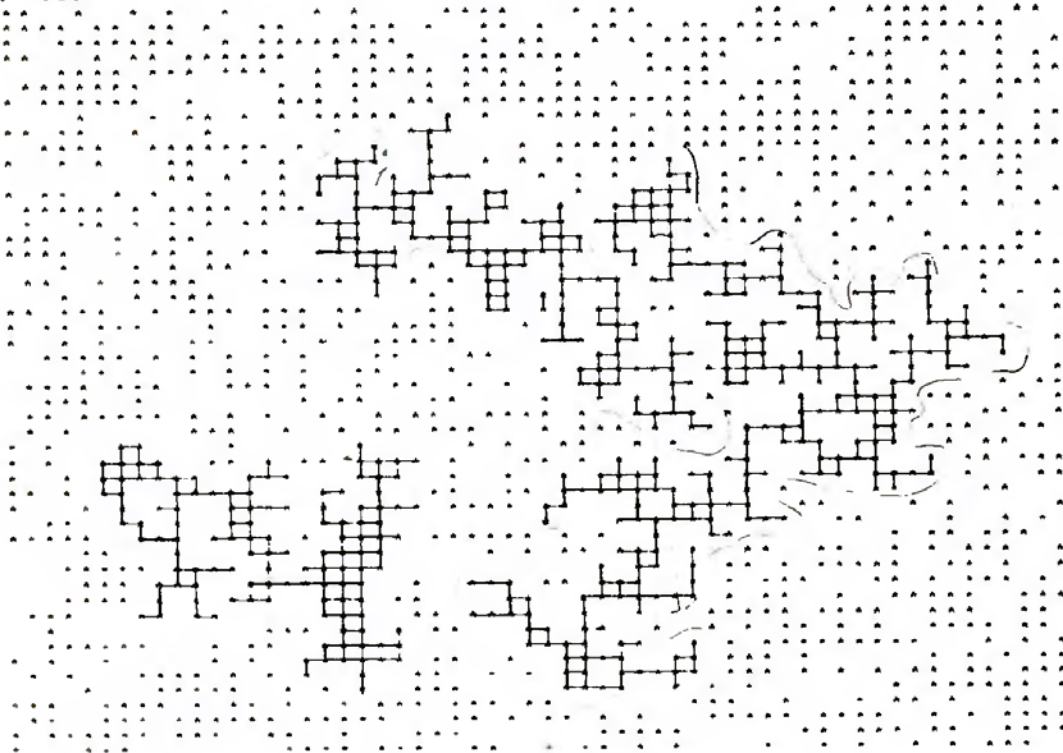
$p = 8/25 = 0,32$

Agregados assinalados
círculos

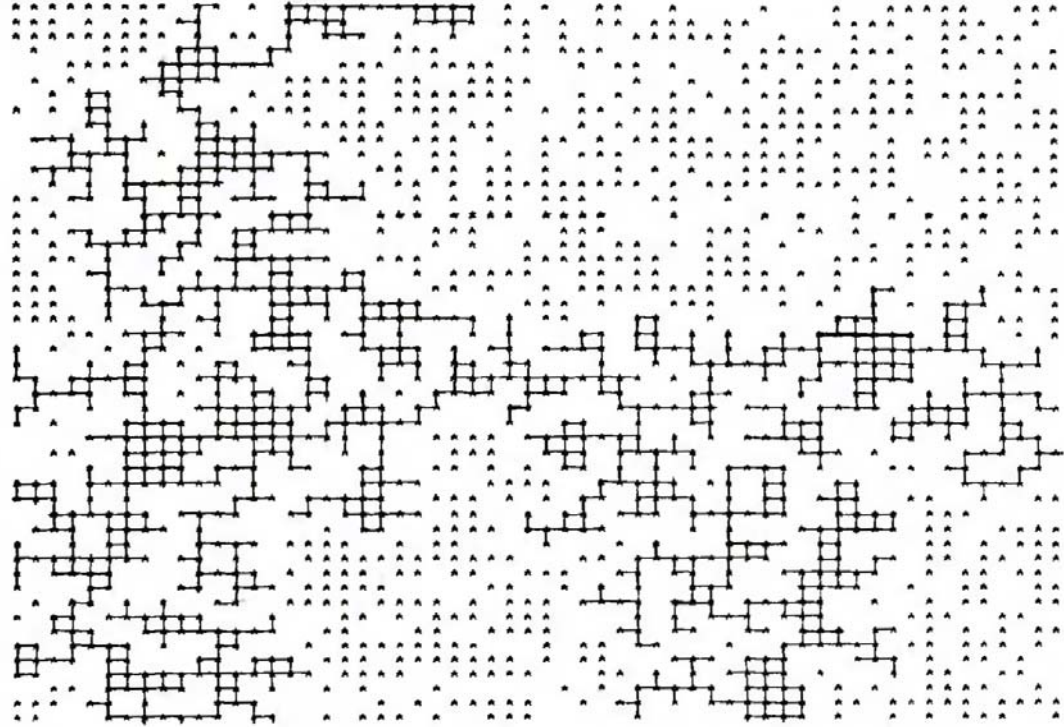


A teoria da percolação descreve o número e as propriedades dos agregados

$P = 0,50$

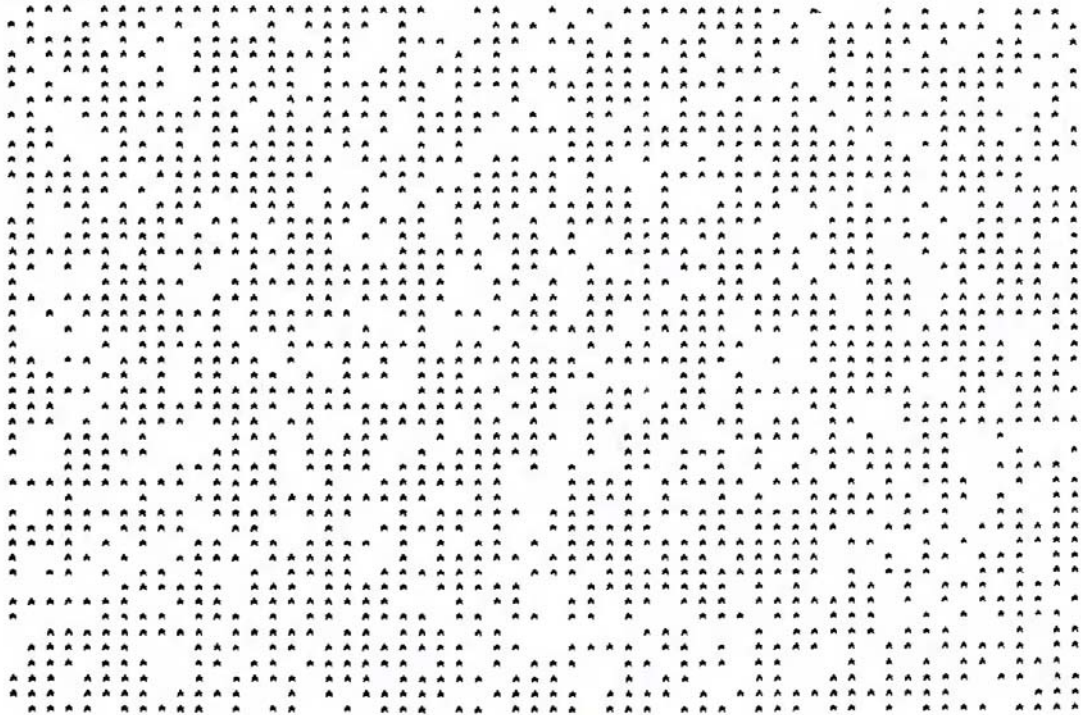


$P=0.60$



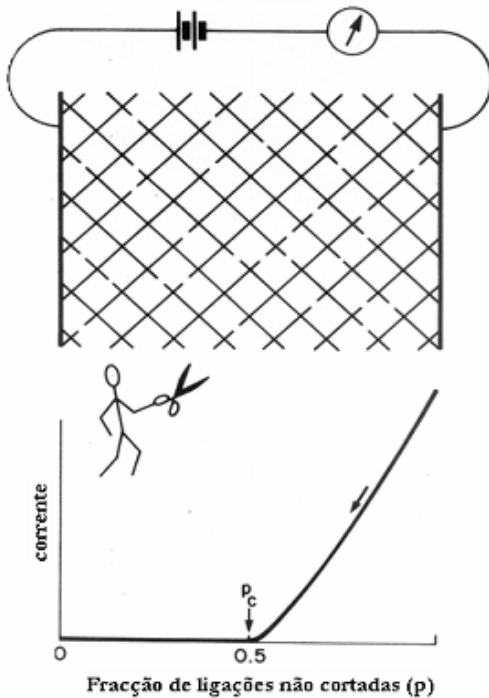
Agregado de percolação

$P=0.70$



Analogia com um circuito eléctrico

Percolação de ligações

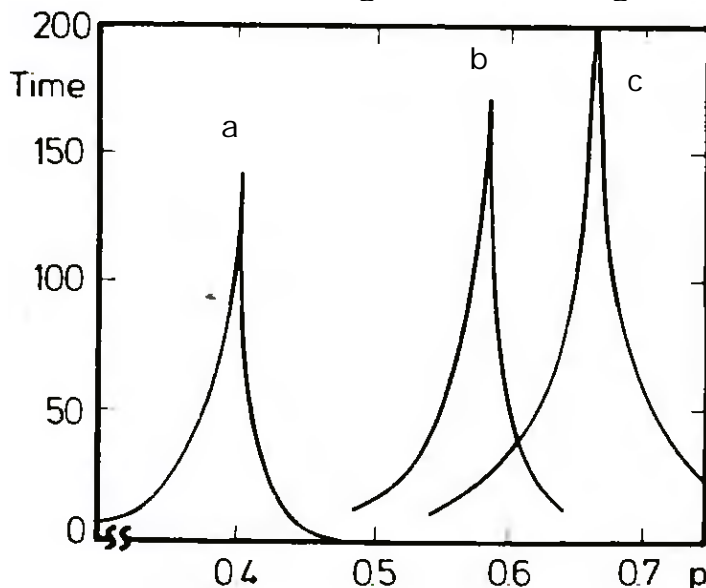


Existe um valor crítico para número de ligações cortadas a partir do qual a corrente não passa: **limite da percolação**

Na transição entre corrente e não corrente o agregado que se forma é o **agregado de percolação**. Este agregado pode ser descrito como um **fractal aleatório** (tem dimensão fraccionária e semelhança própria estatística).

<http://cftc.cii.fc.ul.pt/PRISMA/>

Analogia com um fogo florestal



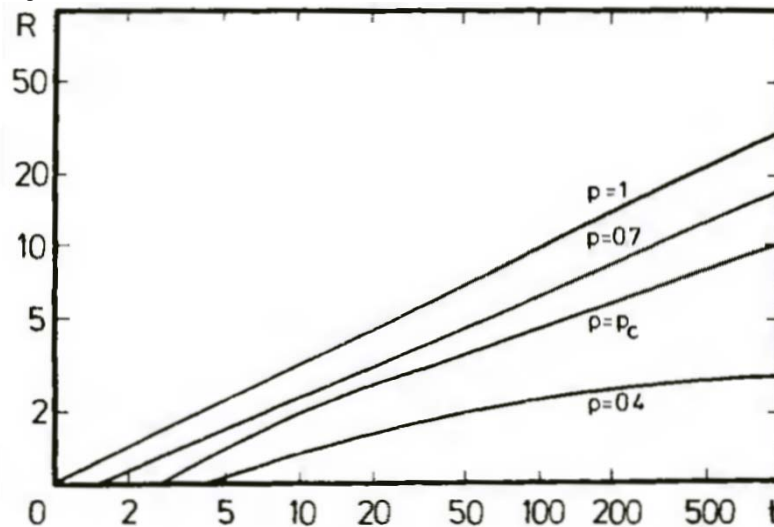
Tempo que o fogo demora a extinguir-se:

Os picos correspondem à **probabilidade crítica de percolação**

Tirado de Stauffer and Aharony, 1994, Introduction to percolation theory, Taylor and Francis, London

- a – o fogo transmite-se às árvores vizinhas e às vizinhas destas
- b – o fogo transmite-se às árvores vizinhas
- c – o fogo transmite-se às árvores vizinhas se estiverem duas árvore vizinhas a arder

Percolação e a difusão de um soluto numa matriz porosa



Tirado de Stauffer and Aharony, 1994, Introduction to percolation theory, Taylor and Francis, London

R – distância percorrida

$p = 1$ – Difusão corresponde ao movimento browniano. Declive é $1/2$ para t elevado.

$p \ll p_c$ – Difusão está restringida a pequenos agregados e a difusão é apenas local. Declive é 0 para t elevado.

$p = p_c$ – Difusão é uma situação intermédia entre os dois casos anteriores. A difusão é possível ao longo de toda a matriz (existe um agregado de percolação), mas a difusão demora mais tempo do que no movimento browniano. Declive é $1/3$ para t elevado

Para uma matriz quadrada $p_c = 0,59$

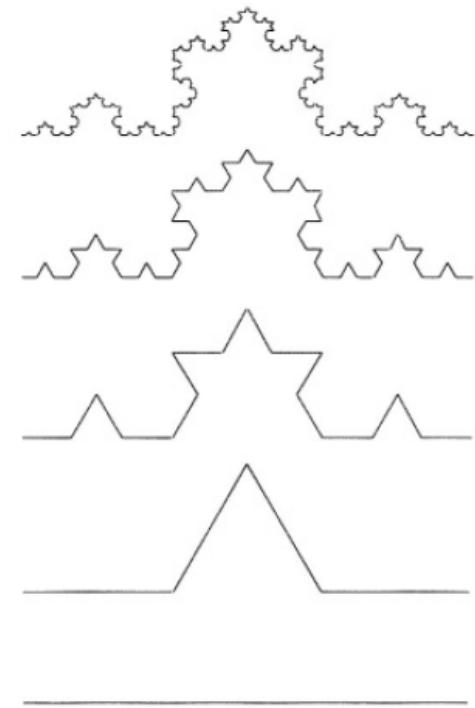
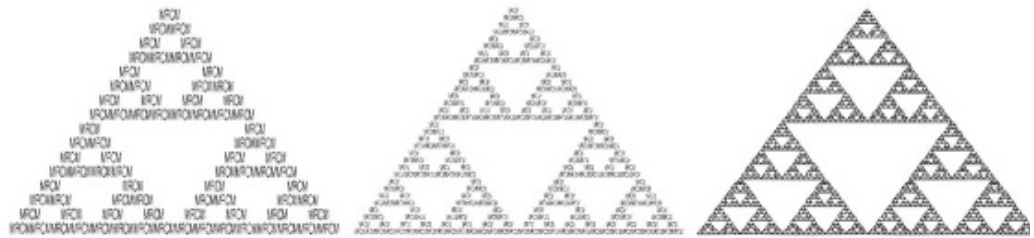
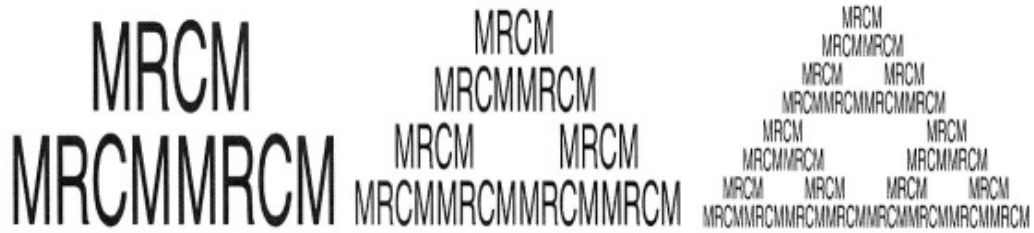
Percolação, o meio celular e as reacções bioquímicas

- Para $p \gg p_c$, o sistema comporta-se como um meio convencional no qual a reacção é limitada cineticamente
- Para $p \ll p_c$, existe uma **microcompartimentação**. Pode aumentar a probabilidade de encontro local dos reagentes, mas pode também impedir o encontro de metabolitos em agregados separados
- Para $p = p_c$, a dimensão do sistema (**dimensão fractal**) é diminuída relativamente à dimensão euclidiana. Esta diminuição topológica pode favorecer o encontro de duas entidades (ex. ligando/receptor ou reagente/enzima).
- Especulação: A célula ao regular a geometria ou a arquitetura do citoesqueleto pode **regular o limite de percolação**, p_c . Níveis diferentes de p_c podem determinar quando um mensageiro local ou um produto de uma reacção enzimática estende a sua influência para toda a célula através do agregado de percolação.

Fractais

Fractais: tem dimensão fraccionária e semelhança própria.

Semelhança própria: cada parte é uma cópia de si própria



Dimensão fractal (método da contagem das caixas):

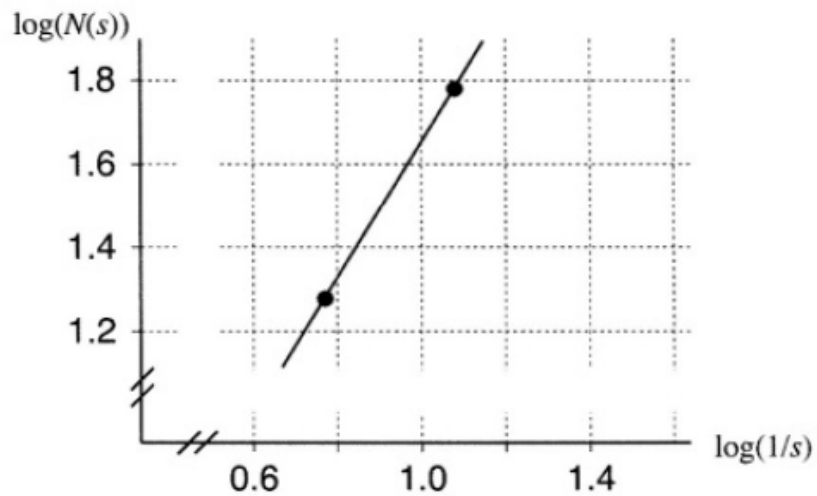
Neste fractal a semelhança própria é apenas estatística



$s=1/6$ $N(s) = 19$



$s=1/12$ $N(s) = 52$



Divide-se o mapa em quadrados:

12 6

Nº de quadrados que tocam a linha de costa:

52 19

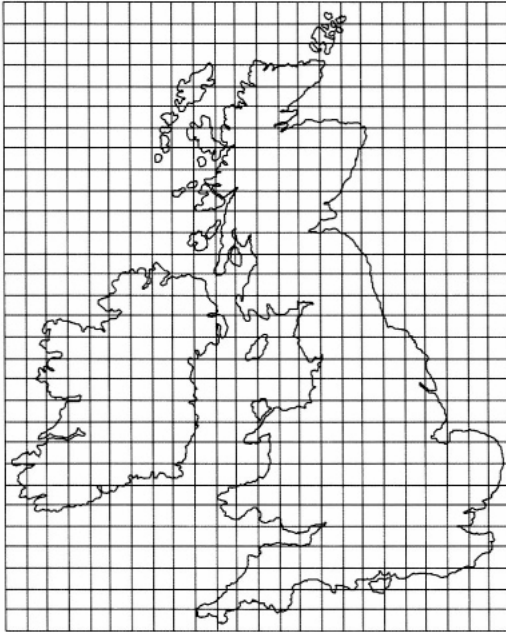
Dimensão fractal

$$\frac{\log 52 - \log 19}{\log 12 - \log 6} = 1,45$$

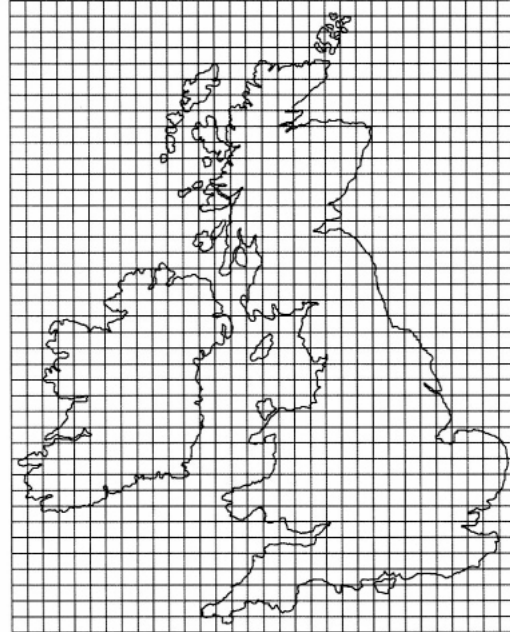
A dimensão fractal é intermédia entre a dimensão euclidiana de uma linha ($d=1$) e a dimensão euclidiana de uma área ($d=2$)

Na prática o gráfico dever ter vários pontos, e o declive deve ser determinado quando o tamanho da caixa tende para zero.

Dimensão fractal da costa britânica



24



32

Divide-se o mapa em quadrados:

24

32

Nº de quadrados que tocam a linha de costa:

194

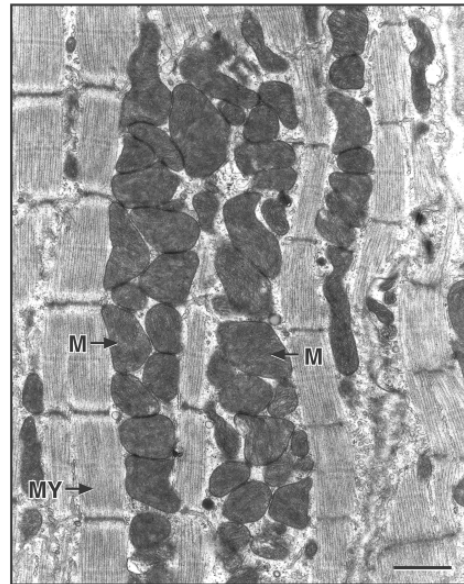
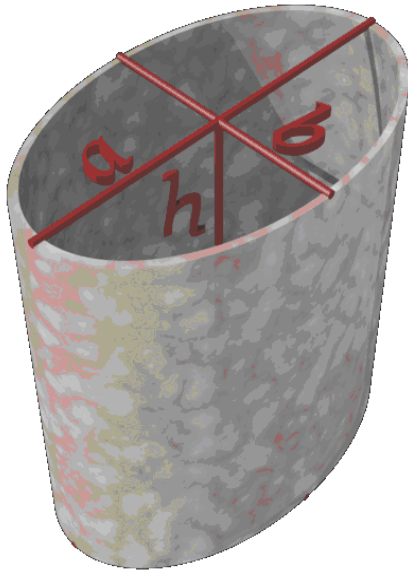
283

Dimensão fractal

$$\frac{\log 283 - \log 194}{\log 32 - \log 24} = 1,31$$

Percolação na rede mitocondrial de cardiomiócitos

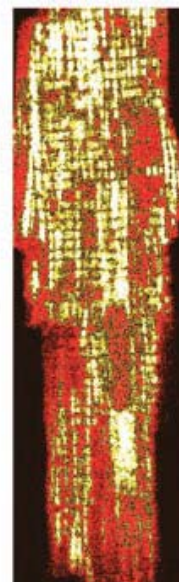
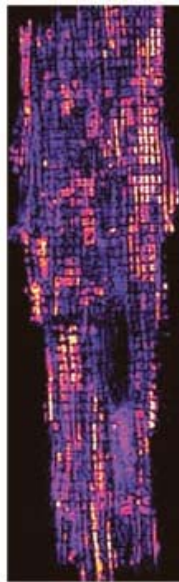
- Dimensão típica de um cardiomiócito: um cilindro elíptico com comprimento (h) = 80-140 μm ; e raios de 30 e 12 μm (a e b , respectivamente).
- Nos cardiomiócitos os mitocôndrios organizam-se ao lado das miofibrilas, formando uma rede que pode ser aproximada por uma rede quadrada.



Microscopia de fluorescência em cardiomiócitos (Aon *et al.* 2004)

TMRH (potencial de membrana)

DCFH (ROS)



0 s

40 s

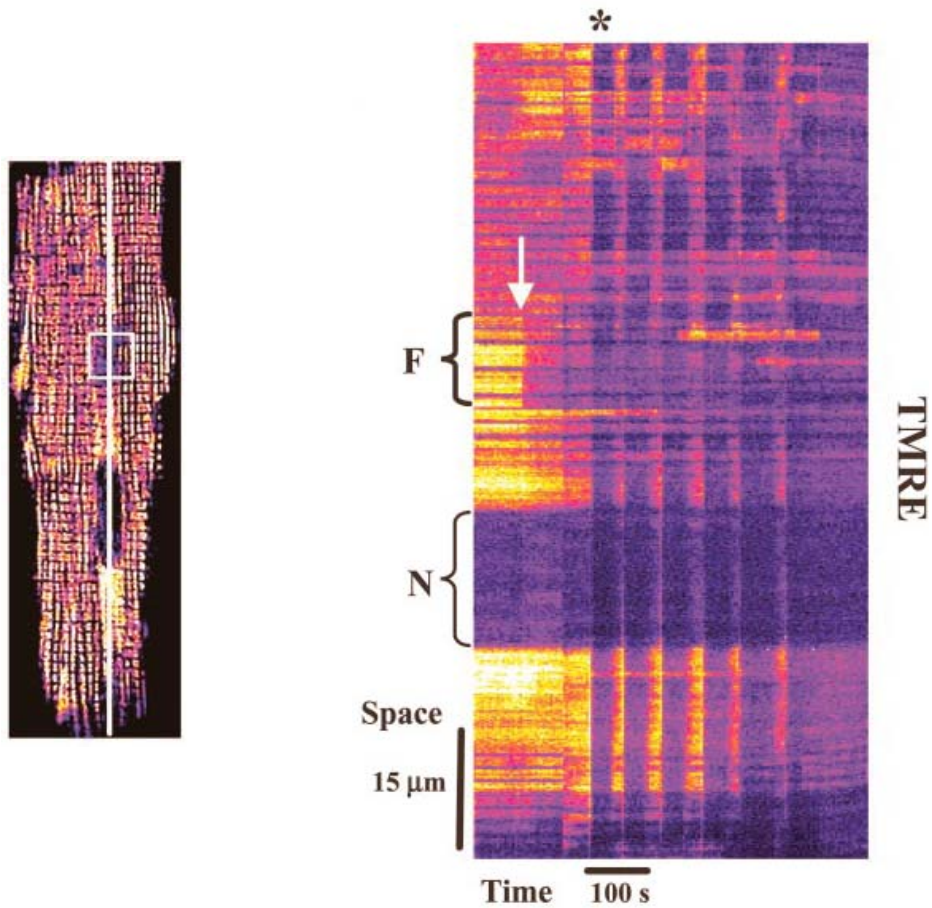
0 s

40 s

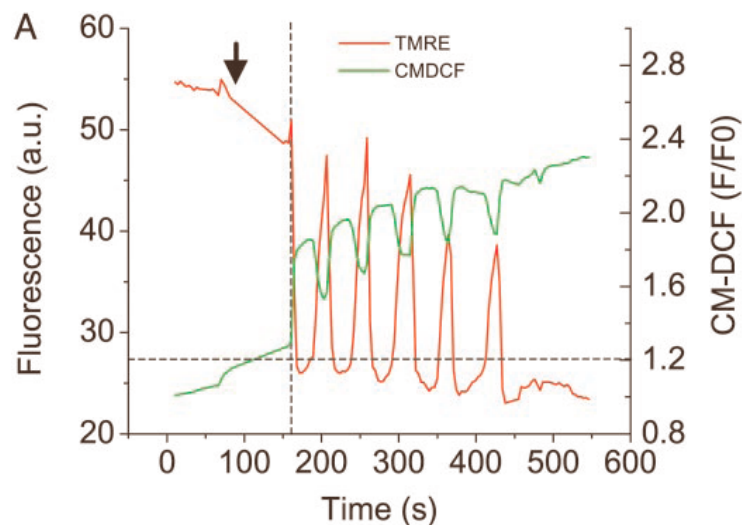
O quadrado representa um flash de excitação com luz que leva à perda do potencial e formação de ROS

Oscilações globais no potencial mitocondrial (Aon *et al.* 2004)

Oscilações são observadas em toda a célula algum tempo depois (43 ± 9 s) do estímulo despolarizador (imagens tiradas ao longo do segmento de recta)

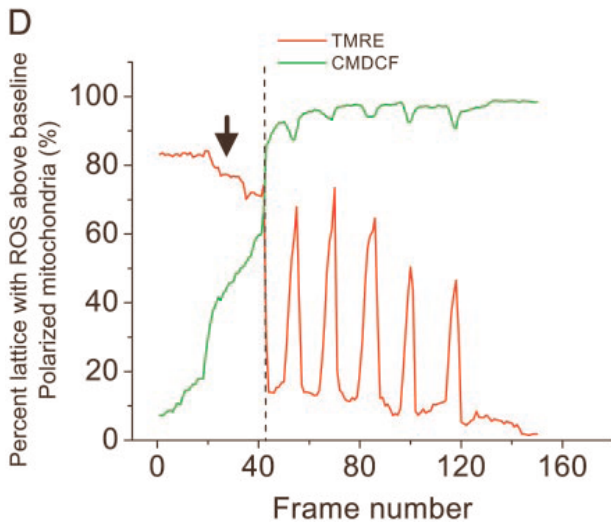
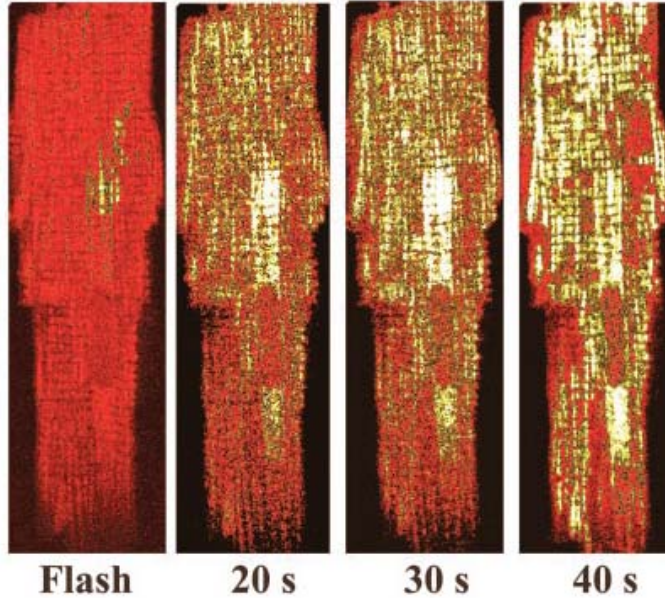


Um nível crítico de ROS (cerca de 20 % acima da linha de base) é atingido simultaneamente com o aparecimento da primeira despolarização global.



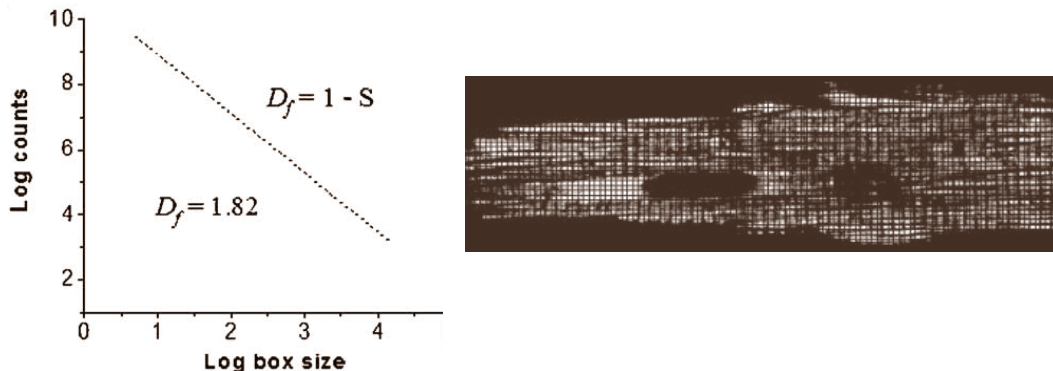
Propagação da onda de despolarização (Aon *et al.* 2004)

Imediatamente antes do início das oscilações globais gera-se um agregado de mitocôndrios com níveis de ROS acima do valor crítico.

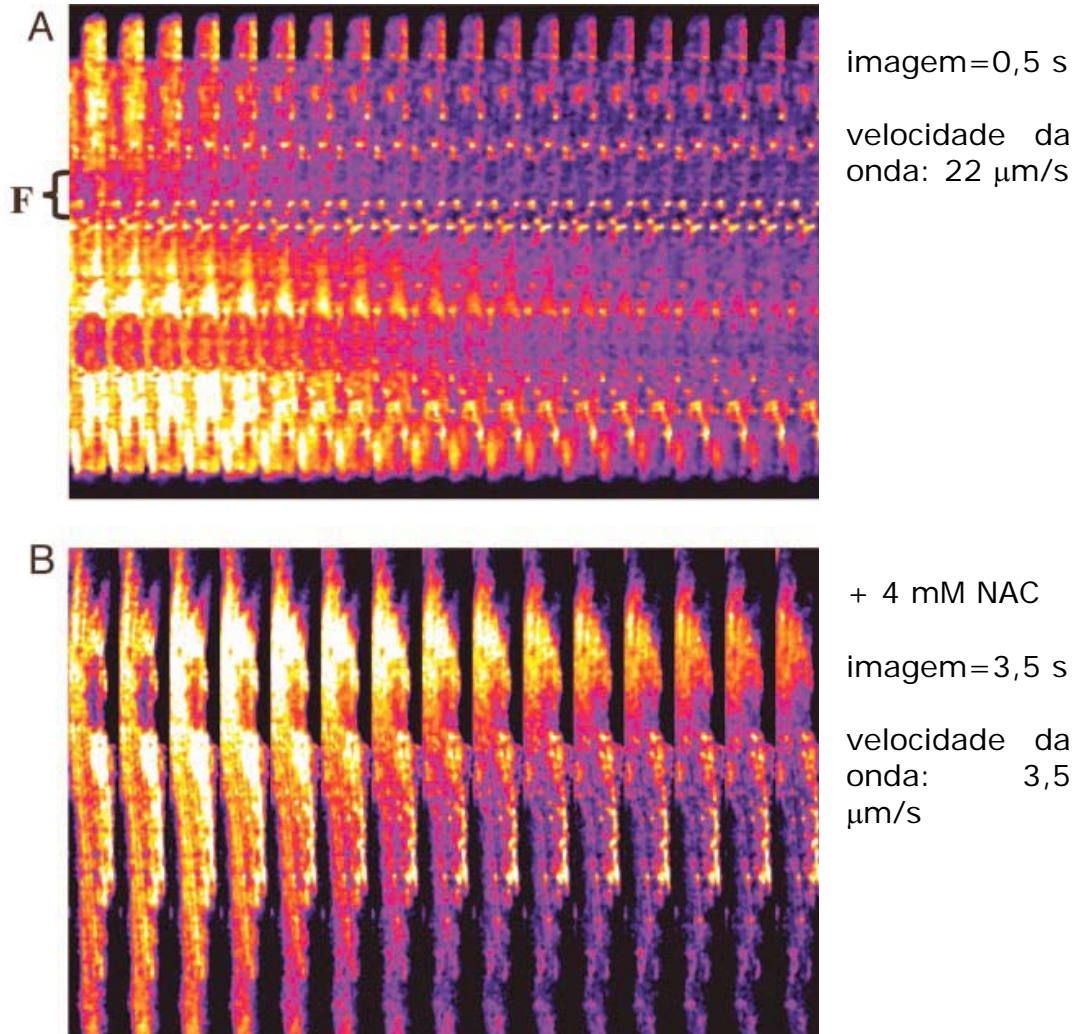


O agregado envolve 56 ± 7 % dos mitocôndrios da célula, um valor próximo do limite teórico de percolação para uma grelha quadrada 59 % (assumindo que cada mitocôndrio comunica com 4 mitocôndrios vizinhos).

O agregado exibe dimensão fractal (1,82) através do método da contagem das caixas



Propagação da onda de despolarização (Aon *et al.* 2004)

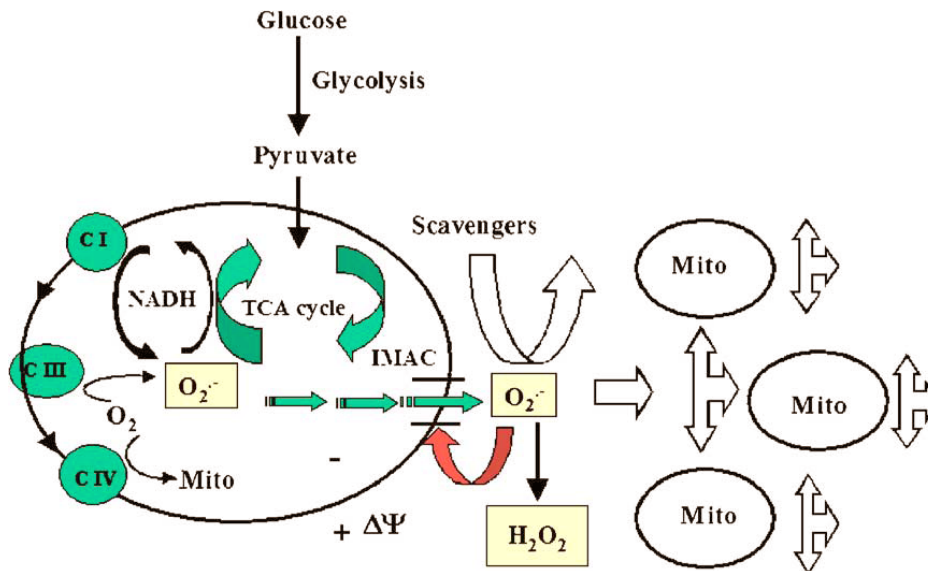


Uma velocidade de propagação de 22 $\mu\text{m/s}$ equivale a uma onda de despolarização que demora 4 s a atravessar um miócito de 100 μm .

Esta velocidade é fortemente diminuída na presença de 4 mM N-acetil-cisteína (NAC) indicando, segundo os autores, que ROS estão envolvidos.

Se o processo ocorresse num plano 2D através de um movimento browniano o tempo para percorrer um miócito seria 14 s. Este seria fortemente aumentado se considerarmos que os ROS têm um tempo de meia-vida curto.

Interpretação molecular



Libertação local de ROS no mitocôndrio provoca uma produção global e auto-propagada na rede mitocondrial.

ROS são libertados no citosol ou atravessam a membrana através do canal aniônico afectando os mitocôndrios vizinhos.

Os ROS libertados vão inibir a cadeia respiratória do mitocôndrio onde são produzidos e dos mitocôndrios vizinhos.

O intervalo de tempo entre o flash inicial e a primeira oscilação está relacionado com o aumento progressivo de ROS nos mitocôndrios. Nesta fase vai havendo comunicação mitocôndrio a mitocôndrio.

As ondas podem ser originadas em qualquer local, ou locais, da célula, não necessariamente perto do local do flash.

A observação que alguns mitocôndrios resistem à despolarização está relacionada com o facto de não pertencerem ao agregado de percolação.

Implicações fisiológicas

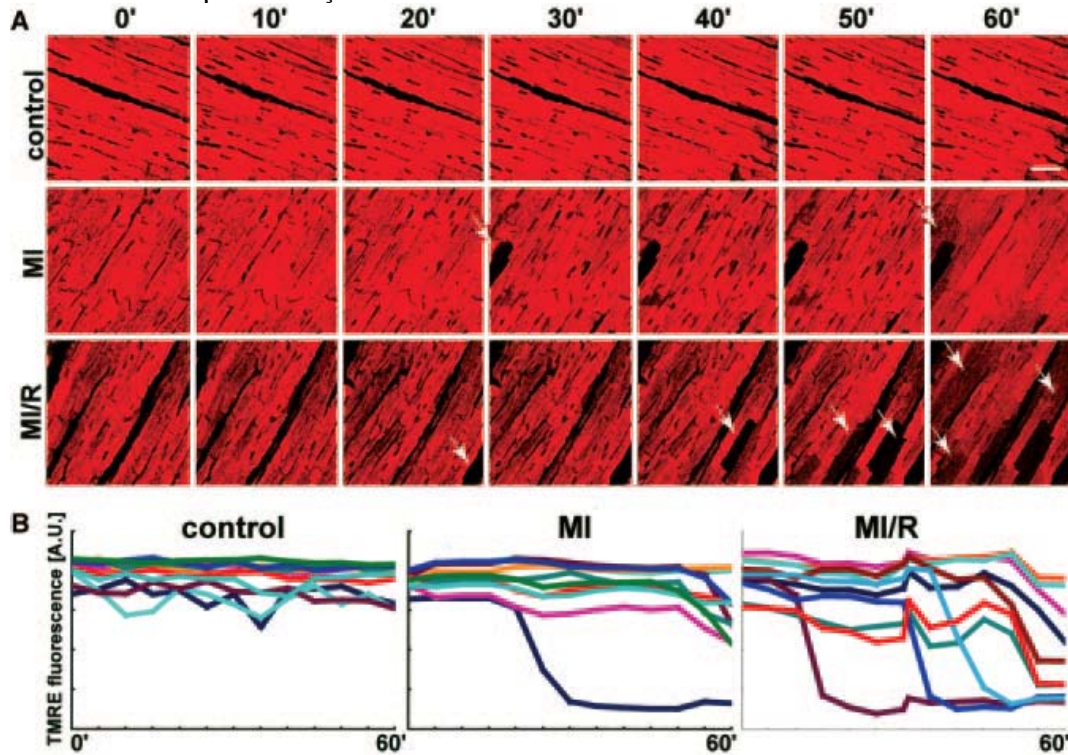
A existência de transições abruptas na bioenergética mitocondrial em células sujeitas a stress oxidativo indica que estas células estão perto de um ponto onde a homeostasia pode ser perdida.

Esta instabilidade pode ser relevante no miocárdio pós-isquémico (reperfusão) podendo determinar a morte celular.

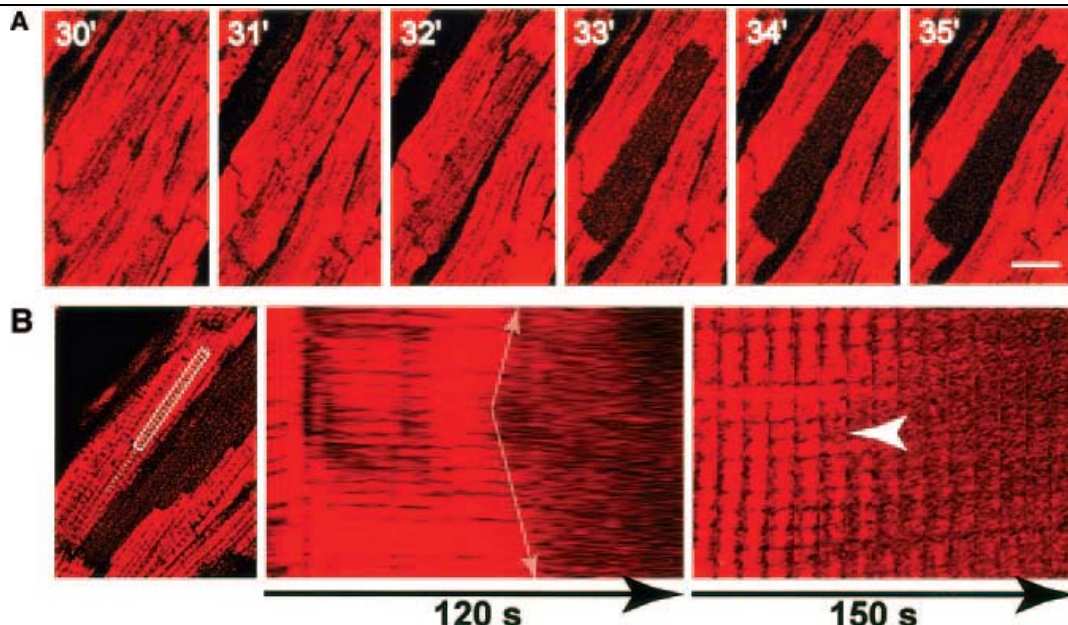
O desacoplamento oscilatório dos mitocôndrios leva a uma depleção dos níveis de ATP, activação de canais de K^+ sensíveis ao ATP, e alterações do potencial de acção.

Existe uma ligação entre instabilidade ao nível do organito e a disfunção do órgão? (Matsumoto-Ida *et al.*, 2006)

No coração reperfundido observa-se despolarização de cardiomiócitos individuais, mas não há comunicação célula a célula da despolarização. Aparentemente as junções GAP entre células fecham antes da despolarização.



A propagação intracelular da onda de despolarização é rápida (escala de tempo de segundos)



Possíveis estratégias de tratamentos (Matsumoto-Ida *et al.*, 2006)

IPC – Pré-condicionamento isquêmico

CsA – Ciclosporina A (inibidor do poro de transição transtória).

