

Teorias e Métodos da **BIOFÍSICA**

Sabrina Passoni Maravieski
(Organizadora)

 **Atena**
Editora
Ano 2019

Sabrina Passoni Maravieski
(Organizadora)

Teorias e Métodos da Biofísica

Atena Editora
2019

2019 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Diagramação e Edição de Arte: Lorena Prestes e Geraldo Alves

Revisão: Os autores

Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

T314 Teorias e métodos da biofísica [recurso eletrônico] / Organizadora
Sabrina Passoni Maravieski. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora,
2019.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-7247-189-3

DOI 10.22533/at.ed.893191403

1. Biofísica. I. Maravieski, Sabrina Passoni.

CDD 571.4

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2019

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

www.atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

A obra “Teorias e Métodos da Biofísica” faz parte de uma série de livros publicados pela Atena Editora, e neste volume único, em seus 12 capítulos, apresenta uma diversidade de estudos realizados nas diversas áreas da biofísica, bem como relação com outras áreas que esta exige nos dias atuais.

A biofísica é uma ciência interdisciplinar na qual se emprega as teorias, os métodos ou técnicas específicas da física para resolver questões biológicas. Atualmente, com o avanço tecnológico a biofísica está presente na maioria das ciências da saúde, tais como: Medicina, Fonoaudiologia, Odontologia, Enfermagem, Terapia Ocupacional, Fisioterapia, Bioengenharia e Biomedicina. Na área de Ecologia, temos também a biofísica Ambiental. Algumas especializações em biofísica podem ser ainda multidisciplinares, como por exemplo: a Bioinformática, a Biologia Estrutural, Toxicologia Ambiental e Biologia de Sistemas.

Dessa forma, o leitor poderá encontrar nesta obra, uma variedade pesquisas cujas áreas que envolvem a biofísica estão interligadas nas quais muitos pesquisadores buscam por soluções emergentes. A interdisciplinaridade entre estas diversas áreas aqui citadas é um processo natural e inevitável, pois a formação dos profissionais das ciências da saúde ou biológicas, seja qual for a sua formação, necessita da relação entre diversas áreas do conhecimento.

Hoje o profissional se destaca pela capacidade de saber inovar e alcançar resultados positivos em suas pesquisas com base nas diversas ciências, utilizando uma ou mais tecnologias. Isso se faz possível se este profissional tiver conhecimento das demais áreas, pois não basta ser bom em uma única ciência, é preciso ser multi-intelectual.

Nesta obra, portanto, o leitor poderá encontrar parcerias estabelecidas entre diversas áreas do conhecimento de diversos departamentos de pesquisa: Engenharia Elétrica e de Computação, Semicondutores, Biocalorimetria, Bioquímica Médica, Nanotecnologia e Nanomedicina, Bioquímica e Biofísica, Farmácia, Química do Estado Sólido, Ciências Médica, Clínica Médica (Nefrologia), Radioterapia, Histologia e Embriologia, Biofísica e Radiobiologia, Morfologia e Fisiologia Animal, Nanociências e Materiais Avançados.

Logo, este volume é dedicado à interdisciplinaridade nas diversas áreas das Ciências da Saúde e Biológica, pois o mercado atual exige uma revolução tecnológica e cabe a aos pesquisadores, dessas diversas áreas, buscar conhecer as demandas atuais para promover essas inovações de forma interdisciplinar, e não isoladamente. Neste sentido, esta obra foi dividida em 6 áreas temáticas da Biofísica: Bioeletricidade, Bioestatística, Biomecânica, Biofísica Ambiental, Biomedicina, e Radiobiologia.

Na área de Bioeletricidade, composta apenas de um capítulo (capítulo1), apresentamos uma pesquisa realizada entre os cursos de Engenharias de Computação e Elétrica e o curso de Ciências Médicas, em que envolve os Departamentos de Química de Estado Sólido, Semicondutores, Instrumentos e Fotônica e o de Clínica Médica

(Nefrologia). Trata-se da investigação do nível de fósforo no sangue, em que, quando este apresenta-se acima do normal está associado a casos de óbitos de pacientes renais crônicos. Para isto os autores propõem o desenvolvimento de um transistor de efeito de campo sensível a íons (ISFET) que possa ser utilizado para quantificar a massa de fósforo no dialisato total final extraída durante o processo de hemodiálise.

Na área de Bioestatística, apresentamos dois capítulos. No capítulo 2, a pesquisa foi desenvolvida pelos Departamentos de Morfologia e Fisiologia em conjunto com o Departamento de Biofísica e Radiobiologia de uma Faculdade Rural. Na pesquisa foi utilizando o método da complexidade de Lempel-Ziv (CLZ), o qual permite calcular a complexidade de uma série temporal sem a necessidade de longos segmentos de dados. Este método, estatístico é baseado em dinâmica não linear e costumam ser são amplamente empregado na análise e descrição adequada de processos nas áreas de química, física e biologia. Neste, o método foi desenvolvido com o objetivo de determinar a complexidade de sequências finitas na análise do particionamento do polietilenoglicol no nanoporo unitário de alfa-hemolisina inserido em uma bicamada lipídica plana. O objetivo foi investigar o processo de chegada e permanência da molécula polimérica (analito) no nanoporo (biossensor). No capítulo 3, os pesquisadores avaliaram diferentes espectrômetros utilizados em análises clínicas e laboratórios de pesquisa os quais permitem determinar as concentrações de espécimes químicas diversas. Por considerarem a aplicabilidade destes dispositivos importante no quesito qualidade dos resultados fornecidos, os autores apresentam técnicas de estatística e os métodos de obtenção de indicadores de qualidade, por meio da realização de experimentos laboratoriais utilizando espectrofotômetros.

O capítulo 4, inserido na área temática de Biomecânica, trata-se de uma pesquisa onde a Oftalmologia e a Estética Funcional, estão intimamente ligadas aos fenômenos de transferência de massa estudados na Física. Neste, os autores mostraram como a falha da transferência de massa intraocular, por convecção forçada, pode afeta o movimento oculomotor e provoca diversas enfermidades, tais como: erro de refração, ceratocone, glaucoma de ângulo aberto ou fechado. Sugerindo por fim, a necessidade do SUS incluir, em seus procedimentos, a cirurgia corretiva de elevação de sobrancelhas, assim como a ANS regulamentar esta cirurgia em todos os planos de saúde.

Na área temática de Biofísica Ambiental, pesquisadores do Laboratório de Nanociências e Materiais Avançados realizaram estudos por meio da técnica de espectroscopia UV-visível com o intuito de promover uma formação interdisciplinar entre alunos de Pós-Graduação. Nesse sentido, os autores desenvolveram estratégias experimentais que permitem aos estudantes dominarem o uso da técnica de espectroscopia UV-visível para análises qualitativas e quantitativas com uso de um corante altamente conhecido e de larga aplicação como é o azul de metileno (capítulo 5). No capítulo 6, pesquisadores realizaram um levantamento do número de veículos na cidade de Recife para verificação da poluição atmosférica. Para eles, a poluição

atmosférica é comprovadamente um agente causador e de piora do quadro de diversas doenças, entre elas doenças respiratórias, câncer de pulmão, acidente vascular cerebral e infarto do miocárdio. No capítulo 7, pesquisadores do Departamento de Biofísica e Radiobiologia utilizaram o ensaio cometa em hemócitos do moluscos de água doce *Biomphalaria glabrata*, é um biodicador natural utilizados para a detecção de possíveis danos no DNA após a exposição ao MMS e para avaliar a potencial aplicação para monitoramento da genotoxicidade do ambiente de água doce.

Na área temática de Biomedicina, o leitor poderá aprofundar seus estudos em três capítulos. No capítulo 8, os autores do Departamento de Histologia e Embriologia, analisaram e avaliaram a atividade leishmanicida *in vitro* do extrato etanólico do *Allium sativum* L. frente às formas promastigotas de *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. Na área de Bioquímica Médica no Laboratório de Biocalorimetria (capítulo 9), pesquisadores realizaram estudos de uma importante enzima a L-asparaginase, a qual é amplamente utilizada no tratamento da leucemia. Tendo em vista a importância de seu uso, surgiu a necessidade de buscar alternativas para reduzir seus efeitos adversos e aumentar sua estabilidade. Assim a pesquisa resultou na obtenção de nanopartículas de quitosana de alto peso molecular sem e com ZnCl₂. A alta concentração de quitosana, segundo os autores, permite maior incorporação de fármaco, mas aumenta o tamanho da partícula, o que não é interessante para a liberação intravenosa de fármaco. Já no capítulo 10, os autores analisaram e caracterizaram nanopartículas de quitosana-tripolifosfato (QT-TPP) associadas ao fármaco sumatriptano (SMT) como uma alternativa na terapia de enxaqueca via uso tópico.

A última área temática é a Radiobiologia, composta de dois capítulos promissores para as pesquisas atuais. Essa área vem crescendo em interdisciplinaridade, principalmente devido o crescimento das pesquisas em Medicina Nuclear, em Engenharia Biomédica e das técnicas de obtenção de imagem, as quais sofrem constantes avanços tecnológicos. Com isso, no capítulo 11, os autores investigaram a ação radioprotetora do extrato bruto da casca de *Anadenanthera colubrina* sobre os embriões de *Biomphalaria glabrata* e os resultados obtidos mostraram que o extrato da casca de A. colubrina apresentou uma discreta atividade radioprotetora. E por fim, no capítulo 12, com o intuito de fornecer mais dados sobre os efeitos da radiação ionizante no sistema nervoso central, os pesquisadores avaliaram a atividade elétrica cerebral de ratos expostos à radiação ionizante através do exame de eletrocorticograma (ECoG) e pode-se observar alterações nas ondas cerebrais através do uso de dois métodos matemáticos: a Transformada de Fourier (TF) Complexidade de Lempel-Ziv (CLZ) concluindo que a exposição a essa radiação causa alterações eletrofisiológicas, que incluem diminuição da complexidade e modificações nas ondas cerebrais.

Aos autores dos diversos capítulos, pela dedicação e esforços sem limites, que viabilizaram esta obra que retrata os recentes avanços científicos e tecnológicos nas Ciências da Saúde e Biofísica, os agradecimentos dos Organizadores e da Atena Editora.

Por fim, esperamos que este livro possa colaborar e instigar mais estudantes, professores e pesquisadores na constante busca de novas tecnologias promovendo a interdisciplinaridade nas diferentes áreas das Ciências da Saúde e Biofísica.

Sabrina Passoni Maravieski

SUMÁRIO

ÁREA TEMÁTICA BIOELETRICIDADE

CAPÍTULO 1 1

DESENVOLVIMENTO DE TRANSISTOR DE EFEITO DE CAMPO SENSÍVEL A ÍONS (ISFET) PARA QUANTIFICAÇÃO DA MASSA DE FÓSFORO REMOVIDO DE PACIENTES RENAIIS CRÔNICOS NAS SESSÕES DE HEMODIÁLISE

Sergio Henrique Fernandes

Leandro Tiago Manera

Helder José Ceragioli

Rodrigo Bueno de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.8931914031

ÁREA TEMÁTICA BIOESTATÍSTICA

CAPÍTULO 2 17

COMPLEXIDADE DE LEMPEL-ZIV NA ANÁLISE DO TRANSPORTE DO POLIETILENOGLICOL ATRAVÉS DO NANOPORO DE ALFA-HEMOLISINA

Gesilda Florenço das Neves

Dijanah Cota Machado

Carlos Manuel Machado Carneiro

Luiz Hamiel Almeida Consoni

Cláudio Gabriel Rodrigues

Romildo Albuquerque Nogueira

DOI 10.22533/at.ed.8931914032

CAPÍTULO 3 25

METODOLOGIA PARA AVALIAÇÃO DE ESPECTROFOTÔMETROS:ANÁLISE DA DISPERSÃO DAS MEDIDAS

Cleonilde Maria do Nascimento

Carla Luiza Barros Bernardes Borja

Bruno Edberg Alves de Lira

Jabson Herber Profiro de Oliveira

Dijanah Cota Machado

Milton Marcelino Filho

DOI 10.22533/at.ed.8931914033

ÁREA TEMÁTICA BIOMECÂNICA

CAPÍTULO 4 36

MOVIMENTO OCULOMOTOR E ALGUMAS PATOLOGIAS

Humberto Dória Silva

Eduardo Dória Silva

Maria Tamires Dória Silva

Cristiana Pereira Dória

Cristiane Pereira Dória

DOI 10.22533/at.ed.8931914034

CAPÍTULO 5 43

ESTRATÉGIA EXPERIMENTAL PARA ANÁLISE ESPECTROSCÓPICA DE ESTADOS AGREGADOS DE CORANTES

Adrienne Marlise Mendes Brito

Hebert Freitas dos Santos

Iseli Lourenço Nantes-Cardoso

DOI 10.22533/at.ed.8931914035

CAPÍTULO 6 60

POLUIÇÃO ATMOSFÉRICA E POSSÍVEIS EFEITOS À POPULAÇÃO DE RECIFE

Cleonilde Maria do Nascimento

Nicolas Nunes Ferreira

Helotônio Carvalho

Sheilla Andrade de Oliveira

DOI 10.22533/at.ed.8931914036

CAPÍTULO 7 66

UTILIZAÇÃO DO ENSAIO COMETA PARA DETECTAR EFEITO GENOTÓXICO DO METANOSULFONATO DE METILA EM CÉLULAS DE *Biomphalaria glabrata*

Dewson Rocha Pereira

Maíra de Vasconcelos Lima

Willams Nascimento de Siqueira

Gabrielly Christynne Nascimento Sales

Hianna Arely Milca Fagundes Silva

José Luiz Ferreira Sá

Ana Maria Mendonça de Albuquerque Melo

DOI 10.22533/at.ed.8931914037

ÁREA TEMÁTICA BIOMEDICINA

CAPÍTULO 8 73

AValiação DA ATIVIDADE LEISHMANICIDA *IN VITRO* DO EXTRATO ETANÓLICO OBTIDO DO *Allium sativum* L

Gleyka Daisa de Melo Santos

Erwelly Barros de Oliveira

Paloma Lys de Medeiros

Eliete Cavalcanti da Silva

João Soares Brito da Luz

DOI 10.22533/at.ed.8931914038

CAPÍTULO 9 82

OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA DE ALTO PESO MOLECULAR - TRIPOLIFOSFATO PARA CARREAMENTO DE PROTEÍNA

Caroline Dutra Lacerda

Patrícia Severino

Maria Lucia Bianconi

DOI 10.22533/at.ed.8931914039

CAPÍTULO 10 94

SÍNTESE E CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE NANOPARTÍCULAS DE QUITOSANA-TRIPOLIFOSFATO PARA APLICAÇÃO TÓPICA DE FÁRMACOS

Aryane Alves Vigato

Renato Grillo

Leonardo Fernandes Fraceto

Daniele Ribeiro de Araújo

DOI 10.22533/at.ed.89319140310

ÁREA TEMÁTICA RADIOBIOLOGIA

CAPÍTULO 11 109

AÇÃO RADIOPROTETORA DO EXTRATO BRUTO DA CASCA DE *Anadenanthera colubrina* SOBRE OS EMBRIÕES DE *Biomphalaria glabrata*

José Luís Ferreira Sá

Williams Nascimento Siqueira

Hianna Arely Milca Fagundes Silva.

Isabelle Cristinne Ferraz Bezerra

Dewson Rocha Pereira

Larissa Silva de Azevedo Melo

Maíra de Vasconcelos Lima

Luiz Alberto Lira Soares

Márcia Vanusa Silva

Maria Tereza Santos Correia

Ana Maria Mendonça Albuquerque Melo

DOI 10.22533/at.ed.89319140311

CAPÍTULO 12 117

MÉTODOS MATEMÁTICOS DE ANÁLISE DA ATIVIDADE ELÉTRICA CEREBRAL DE RATOS EXPOSTOS A RADIAÇÃO IONIZANTE

Camilla de Andrade Tenorio Cavalcanti

Isvânia Maria Serafim da Silva Lopes

Leandro Álvaro de Alcântara Aguiar

Alexandre Parísio Barbosa de Oliveira

Jonas Sérgio de Oliveira Filho

Romildo de Albuquerque Nogueira

DOI 10.22533/at.ed.89319140312

SOBRE A ORGANIZADORA..... 126

COMPLEXIDADE DE LEMPEL-ZIV NA ANÁLISE DO TRANSPORTE DO POLIETILENOGLICOL ATRAVÉS DO NANOPORO DE ALFA-HEMOLISINA

Gesilda Florenço das Neves

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA). Recife-Pernambuco.

Dijanah Cota Machado

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR). Recife-Pernambuco.

Carlos Manuel Machado Carneiro

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR). Recife-Pernambuco.

Luiz Hamiel Almeida Consoni

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR). Recife-Pernambuco.

Cláudio Gabriel Rodrigues

Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Departamento de Biofísica e Radiobiologia (DBR). Recife-Pernambuco.

Romildo Albuquerque Nogueira

Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA). Recife-Pernambuco.

RESUMO: A complexidade de Lempel-Ziv foi desenvolvida com o objetivo de determinar a complexidade de sequências finitas. Neste trabalho, este método estatístico foi aplicado na análise do particionamento do polietilenoglicol no nanoporo unitário de alfa-hemolisina

inserido em uma bicamada lipídica plana. O objetivo foi investigar o processo de chegada e permanência da molécula polimérica (analito) no nanoporo (biossensor). Nossos resultados mostram que, sob as condições estudadas, o biossensor baseado no nanoporo de alfa-hemolisina comportou-se como um processo estocástico tanto para o tempo de chegada do analito na boca do nanoporo quanto para seu tempo de permanência no lúmen do poro.

PALAVRAS-CHAVE: Biossensor. Alfa-hemolisina. CLZ. Nanoporo. Aleatoriedade.

ABSTRACT: The complexity of Lempel-Ziv developed with the purpose of determining the complexity of finite sequences was applied in this work to analyze the partitioning of polyethylene glycol in a single nanopore of alpha-hemolysin inserted in a planar lipid bilayer. The objective of this study was to investigate the process arrival and permanence of the polymer molecule (analyte) in the nanopore (biosensor). Our results show that under the conditions studied the biosensing with alpha-hemolysin nanopore behaved as a stochastic process both for the time of arrival of the analyte at the mouth of the nanopore and for its permanence time inside the pore.

KEYWORDS: Biosensor. Alpha hemolysin. CLZ. Nanopore. Randomness.

1 | INTRODUÇÃO

Métodos estatísticos baseados em dinâmica não linear são amplamente empregados na análise e descrição adequada de processos nas áreas de química, física e biologia. O aumento na capacidade de processamento computacional, juntamente com o desenvolvimento de linguagens de programação e algoritmos possibilitaram a disponibilização de programas de simulação e previsão em processos que há alguns anos seriam inexecutáveis. O método da complexidade de Lempel Ziv (CLZ) permite calcular a complexidade de uma série temporal sem a necessidade de longos segmentos de dados.

Uma série temporal corresponde a um conjunto de dados coletados em diferentes intervalos de tempo. O valor da CLZ correlaciona-se com a estocasticidade ou determinismo de uma série temporal. Séries temporais com o CLZ próximo de 1 são consideradas aleatórias; CLZs próximos a zero representam séries determinísticas (ABOY et al., 2006). Este método foi empregado em vários estudos para análise e inferência da complexidade em: segmentos de DNA (NUNES, 2014), ritmicidade elétrica pancreática *in silico* (NEVES et al., 2014), déficits cognitivos em pacientes esquizofrênicos (IBÁÑEZ-MOLINA et al., 2017).

Séries temporais podem ser obtidas por meio da aquisição de registros de corrente iônica gerada devido ao fluxo de íons através de nanoporos proteicos (HILLE, 2001). O poro proteico formado pela alfa-hemolisina (α HL) de *Staphylococcus aureus* é o principal nanoporo empregado no biossensoriamento estocástico (REINER et al., 2012). O biossensoriamento estocástico é uma abordagem que se baseia na observação de eventos de ligação entre as moléculas individuais de analitos e um único receptor (AGUIAR et al., 2015).

O nanoporo de α HL tem sido empregado na detecção de fármacos (KANG et al., 2006), polímeros (RODRIGUES et al., 2008, 2011) e até no sequenciamento de DNA (DING et al., 2010; FENG et al., 2015). O mecanismo de detecção ocorre com a entrada ou translocação do analito através do lúmen aquoso do nanoporo. Cada molécula entrante ou translocante produz uma variação discretizada (bloqueio) na corrente iônica. O bloqueio é caracterizado por uma amplitude e um intervalo temporal, que representa o tempo de permanência (TP) do analito no nanoporo. Outro parâmetro importante no biossensoriamento estocástico é o intervalo temporal que o analito não está presente no lúmen do nanoporo, ou seja, é o tempo de ausência (TA) (Figura 1). Neste contexto empregamos o método da CLZ na análise das séries temporais TP ou TA visando inferir se o processo de particionamento do polímero polietilenoglicol (PEG) no sistema solução / nanoporo é um processo estocástico ou determinístico.

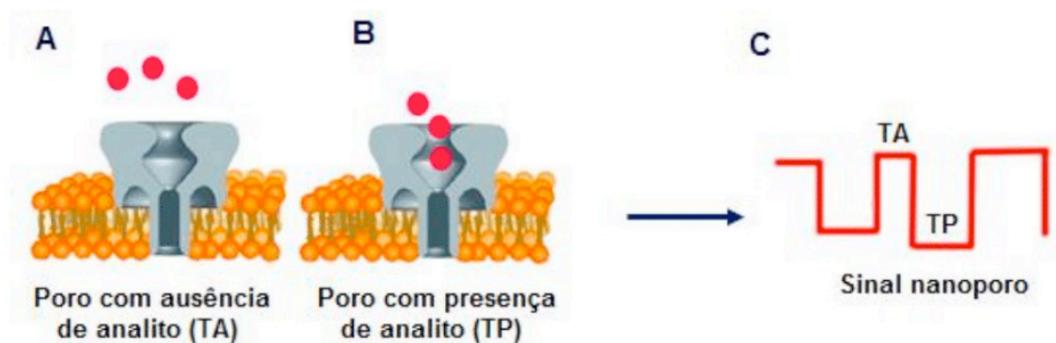


Figura 1. Nanoporo unitário de α HL inserido em uma bicamada lipídica plana. (A) Moléculas do analito (círculo vermelho) aproximando-se da entrada do nanoporo. Na ausência de analito no interior do nanoporo a corrente iônica tem valor máximo. (B) Moléculas do analito translocando-se pelo interior do nanoporo causando um bloqueio na corrente iônica que flui pelo nanoporo. (C) Representação da série temporal de flutuações da corrente iônica do nanoporo. TA (tempo de ausência) representa o tempo que a corrente iônica do nanoporo é máxima, ou seja, ausência de analito no seu lúmen. TP (tempo de permanência) representa o tempo que o nanoporo permanece bloqueado pelo analito caracterizado por um decréscimo na corrente iônica.

2 | MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Experimental

Todas as bicamadas lipídicas planas livres de solvente foram confeccionadas conforme as técnicas convencionais de construção de membranas (MONTAL & MUELLER, 1972). Esta técnica consiste basicamente na formação de uma bicamada lipídica por aposição de dois filmes monomoleculares de lipídeo sintético, num orifício de uma partição de Teflon® (Politetrafluoretileno) que separa dois compartimentos de uma câmara experimental também de Teflon®, contendo soluções aquosas.

Foram adicionados em cada hemicâmara aproximadamente 10 μ l de uma solução de diftanoil glicerofosfocolina 2% (p/v) em hexano. Decorridos aproximadamente 10 minutos, com a evaporação do hexano, ocorreu a formação espontânea dos filmes lipídicos monomoleculares na superfície da solução aquosa de cada compartimento. Posteriormente o menisco do líquido de um dos compartimentos foi elevado por adição de mais solução, formando a primeira monocamada. Este mesmo procedimento foi realizado no compartimento oposto para a formação da bicamada. A formação da membrana foi monitorada usando lupa binocular e principalmente pelo aumento da corrente capacitiva basal.

Após a construção da bicamada lipídica realizou-se a incorporação de um único nanoporo pela adição de uma alíquota de α -hemolisina na solução de uma das hemicâmaras. Posteriormente, adicionou-se o polietilenoglicol monodisperso de peso molecular 1294 (PEG 1294) ao compartimento oposto da câmara experimental e registrou-se a corrente iônica fluente através do nanoporo. Todos os experimentos foram realizados em condições de fixação de voltagem (20 a 100 mV, $\Delta=20$ mV), solução

banhante composta por KCl 4 M, Tris 5 mM, pH 7,5 e em temperatura controlada 23 ± 2 °C. Um condutímetro (Radiometer Analytical, CDM230) foi utilizado na determinação da condutividade de todas as soluções utilizadas nos experimentos.

Com a finalidade de minimizar a interferência de perturbações mecânicas e eletromagnéticas, toda a montagem do sistema experimental foi mantida sobre uma mesa de amortecimento de alta performance (TMC 63-500, USA) e blindada por uma gaiola de Faraday. Em todos os experimentos o sistema utilizado para estimulação, monitoração e aquisição dos registros era constituído por um gerador de onda triangular, um amplificador de patch clamp Axopatch 200B (Molecular devices, Foster City, CA), uma placa conversora analógico-digital (PCI 6024E da National Instruments Corporation ou DIGIDATA 1440 da Molecular Devices) acoplada a um microcomputador IBM PC compatível. Os registros de corrente iônica através dos nanoporos foram processados a 15 kHz e aquisitados a 100 ou 250 kHz. A conexão das soluções da câmara ao sistema de medidas elétricas se deu através de pontes salinas do tipo Ágar-KCl (3% em peso de Ágar em KCl 3 M) e eletrodos de prata-cloreto de prata (Ag/AgCl). A alfa-hemolisina foi adquirida da Calbiochem (USA) e o lipídeo diftanoil glicerofosfocolina da Avanti Polar Lipids (USA) (Figura 2).

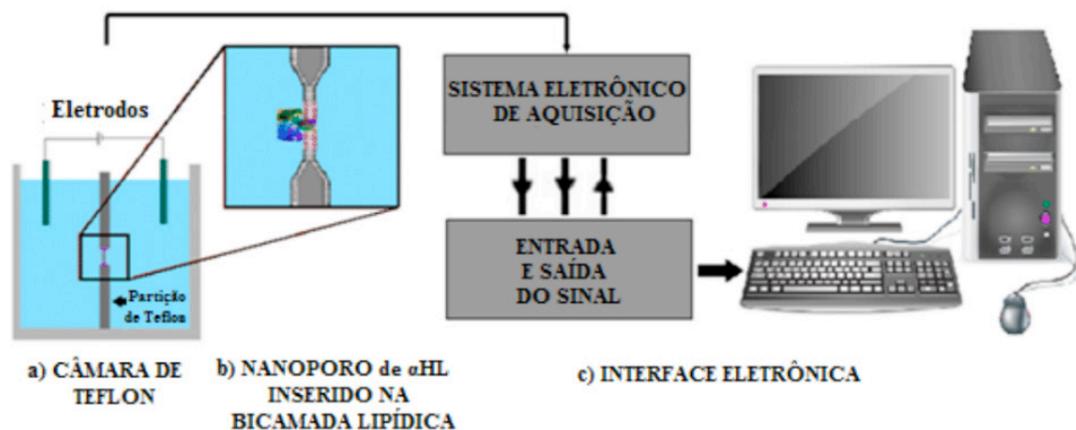


Figura 2. Representação esquemática da montagem experimental. (A) Câmara de Teflon. (B) Formação da bicamada lipídica e inserção de um poro nanométrico no orifício de um filme de Teflon o qual separa dois compartimentos contendo solução eletrolítica. (C) Diagrama da interface eletrônica para monitoramento e registro da corrente iônica.

2.2 Teórico

2.2.1 QUB

Os registros de corrente iônica foram segmentados em séries temporais de TP's e TA's através do Software QuB (www.qub.buffalo.edu) e analisado pelo método do CLZ.

2.2.2 Lempel-Ziv

O Lempel-Ziv é um método de cálculo de complexidade e avaliação da aleatoriedade em um sinal unidimensional ou sequências finitas. É considerada uma

medida não paramétrica de complexidade que reflete o padrão da série (LEMPEL; ZIV, 1976; ABÁSULO et al., 2006; GÓMEZ et al., 2016). Para calcular a CLZ é necessário transformar a série temporal em uma sequência binária que é gerada a partir da comparação de cada ponto de tempo da série com uma média de todos os pontos na série.

Se o valor do ponto é maior do que a média, passa a ser representado por 1, se é menor do que a média será representado por 0. Deste modo obtém-se uma sequência formada por 1 e 0 (ABÁSULO et al., 2006).

A complexidade de uma série pode ser medida da seguinte forma:

Seja uma série $X = x(1), x(2), \dots, x(N)$ que é convertida numa sequência 0-1 gerando um $P = s(1), s(2), \dots, s(N)$, com $s(i)$ definida por:

$$s_{(i)} = \begin{cases} 0, & \text{se } s_{(i)} < \text{média} \\ 1, & \text{se } s_{(i)} \geq \text{média} \end{cases}$$

Depois, esta cadeia de caracteres (P) é escaneada da esquerda para a direita e um contador de complexidade $C(n)$ é aumentado em uma unidade cada vez que uma nova subsequência de caracteres consecutivos é encontrada no processo de escaneamento. Finalmente, $c(n)$ é normalizado de modo a obter uma medida de complexidade independente do comprimento da sequência. Para uma conversão binária, o limite superior de $c(n)$ é dado por $b(n) = n/\log_2(n)$, e $c(n)$ pode ser normalizado via $b(n)$:

$$CLZ = \frac{c(n)}{b(n)}$$

O resultado do cálculo da CLZ é entre 0 e 1. Quanto mais próximo de 1 for o resultado maior a CLZ e mais aleatório será o comportamento do sinal, quanto mais próximo o resultado for de 0 menor será a CLZ, indicando que a série tem maior auto-similaridade (ABOY et al., 2006; NEVES et al., 2014; GÓMEZ et al., 2016). Os resultados foram analisados pelo teste estatístico de Kruskal-Wallis e post hoc de Dunn.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 3 representa o registro típico da corrente iônica através do nanoporo da α HL na presença de PEG1294 na concentração de 2 mM. Nota-se que os bloqueios (variações discretizadas) correspondem a presença de uma molécula do PEG no lúmen do nanoporo. Similarmente a outros relatos (ROBERTSON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2008) a amplitude dos bloqueios é praticamente constante e se deve a monodispersidade do polímero.

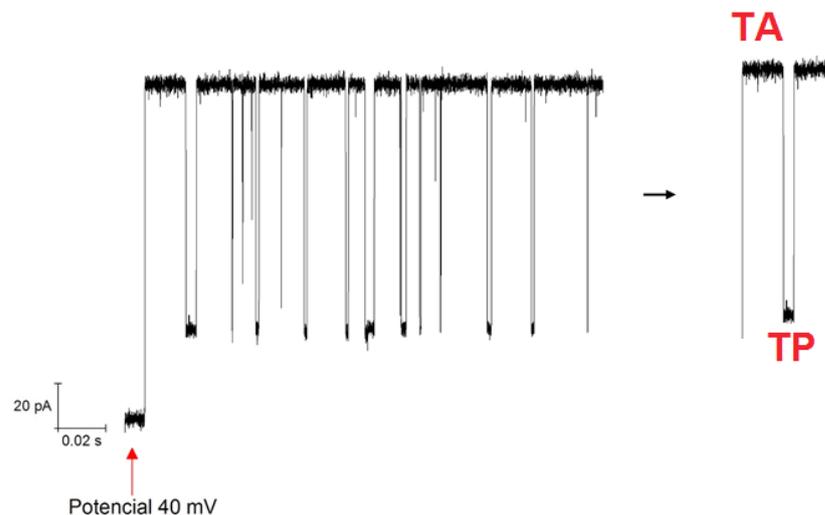


Figura 3. Registro da corrente iônica do nanoporo de α HL na presença de PEG. A entrada de uma molécula do PEG provoca o bloqueio temporário da corrente iônica (TP) e a saída da molécula resulta no retorno da corrente iônica do nanoporo ao seu valor máximo (TA). Voltagem aplicada: 40 mV.-

Pela escassez de trabalhos que inferem matematicamente as propriedades estocásticas do bloqueio e desbloqueio em biossensores baseados em nanoporos proteicos (Movileanu et al. 2005), utilizamos a CLZ para ajudar a esclarecer o perfil da translocação de moléculas em nanoporos. O Lempel-Ziv é uma medida bastante usada para caracterizar a complexidade em sinais biológicos (HU; GAO; PRINCIPE, 2006; HUDETZ et al., 2016). O CLZ é um método de cálculo de complexidade e avaliação da aleatoriedade em um sinal unidimensional ou sequências finitas.

Os altos valores de CLZ (aproximadamente igual a 1) obtidos para sequência dos tempos de permanência nos estados abertos e bloqueados podem sugerir, matematicamente, que os nanoporos de α HL, nas condições estudadas neste trabalho, se comportam como um biossensor estocástico. As análises com a CLZ mostraram uma alta complexidade nas duas concentrações de PEG testadas e em todas as voltagens aplicadas. Não houve diferenças significativas nos valores de CLZ nas diferentes voltagens e concentrações para um $p < 0.05$ através do teste de Kruskal-Wallis (Tabela 1).

VOLTAGEM \ CONCENT.	1mM		2mM	
	TP	TA	TP	TA
20mV	0.9662±0.0051	0.8459±0.0516	0.9760±0.0104	0.8965±0.0174
40mV	0.9704±0.0007	0.8717±0.0167	0.9762±0.0177	0.8937±0.0091
60mV	0.948±0.02720	0.9095±0.0101	0.9669±0.0088	0.9114±0.0051
80mV	0.9211±0.0715	0.9075±0.0597	0.9656±0.0012	0.9290±0.0125
100mV	0.9500±0.0143	0.9354±0.0315	0.9557±0.0166	0.9546±0.0114

Tabela 1. Resultado obtido a partir do algoritmo da CLZ nas análises das séries temporais da corrente iônica do nanoporo de α HL na presença de PEG 1294, nas concentrações de 1 e 2mM, e aplicação de voltagens de 20 a100mV (média±desvio padrão), $p < 0.05$.

4 | CONCLUSÕES

O particionamento do polietilenoglicol monodisperso 1294 no sistema solução/nanoporo da α HL é modelado adequadamente por um processo estocástico de alta complexidade.

REFERÊNCIAS

ABÁSULO, D. et al. Analysis of EEG background activity in Alzheimer's disease patients with Lempel-Ziv complexity and central tendency measure. **Medical Engineering and Physics**, v.28, n. 4, p. 315–322, 2006.

ABOY, M. et al. Interpretation of the Lempel-Ziv complexity measure in the context of biomedical signal analysis. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 53, n. 11, p. 2282–2288, 2006.

AGUIAR, J. P. et al. Biossensoriamento estocástico via nanoporo proteico individual no desenvolvimento de ferramentas analíticas. **Química Nova**, v. 38, n. 6, p. 817–827, 2015.

NUNES, Ciro Alves Justino. Algoritmo de Lempel-Ziv aplicado à classificação quantitativa de autômatos celulares. 2014. 127 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Exatas e da Terra) -Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

DING, K.J. et al. Progress of Research on Nanopore-macromolecule Detection. **Chinese Journal of Analytical Chemistry**, v. 38, n. 2, p. 280–285, 2010.

FENG, Y. et al. Nanopore-based fourth-generation DNA sequencing technology. **Genomics, Proteomics and Bioinformatics**, v. 13, n.1, p. 4–16, 2015.

GÓMEZ, C. et al. Characterization of EEG patterns in brain-injured subjects and controls after a Snoezelen® intervention. **Computer Methods and Programs in Biomedicine**, v. 136, p. 1–9, 2016.

HILLE, B. Ion Channels of excitable Membranes. SINAUER ASSOCIATES, 3^a ed., 2001.

HU, J.; GAO, J.; PRINCIPE, J. C. Analysis of biomedical signals by the Lempel-Ziv complexity: The effect of finite data size. **IEEE Transactions on Biomedical Engineering**, v. 53, n. 12, p. 2606–2609, 2006.

HUDETZ, A. G. et al. Propofol anesthesia reduces Lempel-Ziv complexity of spontaneous brain activity in rats. **Neuroscience Letters**, v. 628, p. 132–135, 2016.

IBAÑEZ-MOLINA, A. J. et al. P383 Multiscale Lempel-Ziv complexity in schizophrenia at rest and while performing a naming task. **Clinical Neurophysiology**, v. 128, n. 9, p. e302–e302, 2017.

KANG, X. F. et al. Stochastic detection of enantiomers. **Journal of the American Chemical Society**, v. 128, n. 33, p. 10684–10685, 2006.

LEMPEL, A.; ZIV, J. On the complexity of finite sequences. **IEEE Transactions Information Theory**, v. 22, p. 75–81, 1976.

MONTAL, M.; MUELLER, P. Formation of bimolecular membranes from lipid monolayers and a study of their electrical properties. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 69, n. 12, p. 3561–3566, 1972.

MOVILEANU, L. et al. Interactions of peptides with a protein pore. **Biophysical Journal**, v. 89, n. 2, p. 1030–45, 2005.

NEVES, G. F. et al. 60 Hz Electric Field Changes the Membrane Potential During Burst Phase in Pancreatic β -Cells: *In Silico* Analysis. **Acta Biotheoretica**, v. 62, n. 2, p. 133–143, 2014.

REINER, J. E. et al. Disease detection and management via single nanopore-based sensors. **Chemical Reviews**, v. 112, n. 12, p. 6431–6451, 2012.

RODRIGUES, C. G. et al. Mechanism of KCl enhancement in detection of nonionic polymers by nanopore sensors. **Biophysical Journal**, v. 95, n. 11, p. 5186–5192, 2008.

RODRIGUES, C. G. et al. Hofmeister effect in confined spaces: Halogen ions and single molecule detection. **Biophysical Journal**, v. 100, n. 12, p. 2929–2935, 2011.

ROBERTSON, J. W. F. et al. Single-molecule mass spectrometry in solution using a solitary nanopore. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 20, p. 8207–11, 2007.

RODRIGUES, C. G. et al. Mechanism of KCl enhancement in detection of nonionic polymers by nanopore sensors. **Biophysical Journal**, v. 95, n. 11, p. 5186–5192, 2008.

SOBRE A ORGANIZADORA

Sabrina Passoni Maravieski - Possui graduação em Licenciatura em Física e Mestrado em Ciências/ Física, ambos pela Universidade Estadual de Ponta Grossa. Atualmente é doutoranda na área de Ensino de Ciências nas Engenharias e Tecnologias pela Universidade Tecnológica Federal do Paraná. É também professora adjunta do Centro de Ensino Superior de Campos Gerais na cidade de Ponta Grossa. Ministra as disciplinas de: Mecânica dos Fluidos, Fenômenos de Transporte, Mecânica Aplicada, Eletricidade e Magnetismo, Física Atômica e Nuclear, Física da Ressonância Magnética Nuclear, Física das Radiações Ionizantes e Não Ionizantes e Física e Instrumentação Aplicada a Engenharia Biomédica; nos cursos de Engenharia Elétrica, Engenharia Civil, Tecnologia em Radiologia, Pós -Graduação em Segurança do Trabalho e Imagenologia. Já atuou como professora de Ensino Médio em escolas pública e particular ministrando aulas de Física e Robótica.

Agência Brasileira do ISBN
ISBN 978-85-7247-189-3

