

AYMARA MARTÍNEZ ARAGÓN

Desenvolvimento de um modelo biofísico para a
descrição do processo de reparo de quebra-dupla em DNA

São Paulo
2016

AYMARA MATÍNEZ ARAGÓN

Desenvolvimento de um modelo biofísico para a
descrição do processo de reparo de quebra-dupla em DNA

Tese apresentada ao
Programa Interunidades em Bioinformática da
Universidade de São Paulo
para obtenção do título de
Doutor em Ciências

Área de Concentração:
Bioinformática

Orientador: Prof. Dr.
João Dias de Toledo Arruda Neto

São Paulo
2016

Nome: Aragón, Aymara Martínez

Título: Desenvolvimento de um modelo biofísico para a descrição do processo de reparo de quebra-dupla em DNA

Tese apresentada ao Programa Interunidades em Bioinformática da Universidade de São Paulo para a obtenção do título de Doutor em Ciências.

Aprovado em:

Banca Examinadora:

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____ Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Ser culto es el único modo de ser libre.

José Martí

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Professor João Dias de Toledo Arruda Neto, por ser meu orientador, chefe, amigo confiante, inspiração e um cavalheiro de brilhante armadura.

Agradeço à CAPES pelo suporte econômico a esta pesquisa.

Agradeço aos meus Pais por me apoiarem sempre, pelo amor e pela confiança que depositaram em mim.

Agradeço ao meu noivo Olmer pela paciência, amor e apoio incondicional, por ser amigo, parceiro, crítico e amante. À família Folleco por todo o apoio e o carinho. Á Luna por ser tão especial.

Agradeço a minha Nana e família por ser sempre minha amiga além de irmã e por me dar sobrinhos incríveis, que me inspiram a ser melhor a cada dia.

Agradeço à Eliana Regina por ser essa super pessoa, a mãezona especial que sempre está lá quando se precisa. Obrigada.

Agradeço ao Carlos Gontijo, meu melhor amigo e parceiro, por fazer-me sentir em casa, pela amizade, ajuda e noites especiais.

Agradeço à Patricia, por ser mais amiga que secretaria, por ser meu anjo da guarda e pela energia que sempre me transmitiu.

Agradeço ao Beli, meus tios Hectico, Zoraida e Zenaida, pelo amor e paz que sempre me deram.

Agradeço ao Robert pela amizade, companhia e pelas comidas peruanas.

Agradeço à Thaís, à Nina, ao Valdir, ao Alexandre, ao Pedro e ao Berlioz por me acolherem em momentos difíceis e se converterem em minha família. Sem vocês, não teria conseguido.

Agradeço à Bijari por ser a família mais incrível e internacional que podia imaginar e pelas noites de apoio moral. À Pipoca pela companhia, mimos e jogos.

Agradeço ao Edu pela amizade, ajuda e conversas. Às meninas do BIONUC pelo apoio e incentivos para superar-me cada dia.

Agradeço a Cuba, por ensinar-me a sonhar, e ao Brasil, por me dar as asas.

Agradeço aos doutores Helaine Carrier, Carlos Menck, Claudia de Alencar e Joel Mesa, a banca mais incrível que poderia ter sonhado, pela paciência e compreensão ante imprevistos.

Agradeço a todos os que de uma ou outra forma apoiaram este trabalho e a mim para poder realizar esta pesquisa. Não dá para mencionar a todos, mas estarão sempre no meu coração.

RESUMO

ARAGÓN, A.M. **Desenvolvimento de um modelo biofísico para a descrição do processo de reparo de quebra-dupla em DNA** 2016. Tese (Doutorado) – Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Os mecanismos pelos quais células eucarióticas percebem e reconhecem quebras duplas nas fitas de DNA (DSB) ainda não foram elucidados. A rápida indução de atividade na ATM-kinase (da ordem de segundos), cabeça da cascata de reparo, após exposição à radiação ionizante indica que esta atua num estágio anterior à transdução de sinal. Dentre as questões mais importantes ainda não elucidadas, e que constituíram motivação para este trabalho, destacam-se: (1) quais fatores determinam a grande velocidade e extensão da resposta da ATM? E (2) como a ATM, e proteínas por esta recrutadas, reconhecem uma DSB, *double strand break* (constituída por alguns pares de base) inserida num universo de 3 bilhões de pares de bases?

Essas questões são elucidadas neste trabalho através da execução das seguintes etapas: (1) modelagem da natureza do sinal formado no sítio do dano responsável pela ativação das ATMs (um transiente elétrico) como sendo aquela de um *sóliton eletromagnético*; (2) cálculo do momento de dipolo elétrico permanente “efetivo” da ATM, via o efeito quanto-coerente conhecido por *free water dipole laser*, grandeza física esta responsável pelo processo de reconhecimento dos sítios danificados; (3) descrição de como se processa a formação de um campo elétrico estático no sítio do dano, DSB, que deve funcionar como marcador para as proteínas de reparo.

Obteve-se uma descrição qualitativa do sinal elétrico produzido na indução de uma DSB na forma de um *sinal solitônico eletromagnético* propagando-se no interior celular, em acordo com evidências experimentais já publicadas. Dessa forma, o sóliton eletromagnético é captado num processo ressonante por uma proteína (ATM neste estudo), induzindo sua fosforilação e assim iniciando o processo de reparo.

Os cálculos revelaram que grandes momentos de dipolo efetivos são induzidos nas proteínas de reparo via efeitos quanto-coerentes, responsáveis pelo recrutamento de moléculas de água por parte das proteínas (cunhadas, neste trabalho, de *proteínas vestidas*). Com isso, o *pool de reparo* teria grande sensibilidade para o reconhecimento de duplas quebras, ou seja, de apenas

alguns pares de base na totalidade do genoma, tendo por marcador um campo elétrico estático presente na DSB.

O quadro revelado, concisamente, por estes resultados e conclusões seria: uma DSB emite um sinal solitônico para fora do núcleo que é detectado pelas ATMs. Essas ATMs, inicialmente inativas, iniciam fosforilação quase que instantaneamente através de uma absorção ressonante do sóliton, dissociando-se em monômeros. Os monômeros de ATM, “vestidos” pelas moléculas de água via um processo quanto-coerente (*free water dipole laser*), deslocam-se no meio intracelular viscoso até o sítio de uma DSB.

Palavras chaves: sinalização celular, sóliton eletromagnético, dupla-quebra de DNA, proteína-ATM, radiação ionizante.

ABSTRACT

ARAGÓN, A.M. **Developing of a biophysical model to describe DNA double-strand repair process.** 2016. Tese (Doutorado) – Instituto de Matemática e Estatística, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

Mechanisms by which eukaryotic cells detect and recognize DNA double-strand breaks (DSB) were not yet elucidated. The fast induction of ATM-kinase activity (order of seconds), head of the repair cascade, following exposure to ionizing radiation indicates its acting in a previous stage of signal transduction. Two of the most important and non-elucidated questions, driving and motivating this work, are: (1) which factors determine both the high speed and great extent of the ATM response? and (2) how ATM, and its recruited proteins, recognize a DSB (constituted by a few base-pairs) inserted in a 3 billion base-pairs universe.

These questions are tackled in this work by carrying out the following steps: (1) modeling the physical nature of the signal induced in the damaged site, responsible by the ATMs activation (an electric transient), as an *electromagnetic soliton*; (2) calculation of the “effective” ATM electric dipole moment by means of a quantum-coherent effect know as *free water dipole laser*, a physical quantity playing an important role in the damaged sites recognizing process; (3) description of how a static electric field is generated in the DSB site, which should work as repair proteins marker.

It was obtained a qualitative description of the electric signal, produced when a DSB is induced, as an *electromagnetic solitonic signal* propagating in the cellular interior, in nice accordance with already published experimental evidences. In this way, the electromagnetic soliton is captured by a protein (ATM in this study) through a resonant process, inducing thus phosphorylation and starting the repair process.

The present calculations showed up that intense effective dipole moments are induced in repair proteins by means of quantum-coherent effects, which are the driving factors for the water molecules recruiting by proteins (here nicknamed as *dressed proteins*). In this case, the *repairing pool* would have great sensibility to recognize double breaks, meaning, only a few base-pair in the entire genome, having as marker the static electric field in the DSB.

The picture drawn by these results and conclusions is the one where a DSB emits a solitonic signal to outside the nucleus and is detected by the ATMs. These initially inactivated ATMs start phosphorylation almost instantly through a soliton resonant absorption which leads them to undergo dissociation into monomers. The ATM monomers, *dressed* by water molecules by means of a quantum-coherent process (*free water dipole laser*), are displaced in the viscous intracellular medium up to the DSB site.

Keywords: cellular signaling, electromagnetic soliton, DNA double-break, ATM-protein, ionizing radiation

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Danos principais ao DNA e seus correspondentes Mecanismos de reparo
- Figura 2 - Modelo esquemático da ativação da ATM depois de irradiação. Rupturas no DNA provocam alterações na estrutura da cromatina, que induz autofosforilação intermolecular no dímero de ATM e a dissociação desse dímero, anteriormente inerte. Os monômeros de ATM ativos são então livres para migrar e fosforilar substratos, tais como Nbs1 e p53.
- Figura 3 - (a) Representação pictórica do reconhecimento da DSB pelas proteínas de reparo. Essas proteínas usualmente tem um momento dipolar elétrico grande \vec{p} (em (b) representado com mais detalhes), o qual é orientado ao sitio do dano pelo campo elétrico estático \vec{E}_{ds} produzido pela quebra. (c) um campo elétrico estático exógeno (\vec{E}_{ext}) mais intenso que o \vec{E}_{ds} poderia reorientar o deslocamento das proteínas de reparo alinhando-as na sua direção
- Figura 4 - Comparação das curvas de sobrevivência da *D. radiodurans* após irradiação com gamas e com gamas mais campo elétrico (γ e $\gamma + SEF$).
- Figura 5 - (a) Campo magnético e (b) campo elétrico no DSB.
- Figura 6 - Recepção, decodificação e emissão de resposta de sinais.
- Figura 7 - O DNA apresenta (a) uma estrutura de dupla hélice, (b) ligações fosfodiéster e (c) uma cadeia senso e outra antisenso (fita molde e codificadora, respectivamente).
- Figura 8 - Purificação da ATM e microscopia eletrônica. (a) gel SDS (6%) de ATM recombinante purificado. Banda 1, marcador molecular a 250 kDa. Banda 2, ATM purificada. (b) Campo de micrografia eletrônica de ATM em negativo. As setas apontam algumas moléculas de ATM representativas e os asteriscos (*) indicam os grandes conglomerados de ATM. (c) Imagens de projeções individuais das ATMs selecionadas nas micrografias. (d) Dímeros de ATM.
- Figura 9 - (a) estrutura esquemática da bobina. (b) o dipolo formado nas extremidades. (c) as ligações de hidrogênio entre os grupos amino e carboxila mostradas com linhas

tracejadas

- Figura 10- Um diagrama do espectro eletromagnético, mostrando o tipo de radiação, comprimentos de onda (com exemplos), frequências e temperatura de emissão do corpo negro.
- Figura 11- Penetração dos três tipos de radiação ionizante: partículas alfa (α) são detidas por uma folha papel, as partículas beta (β) não são detidas pelo papel e sim por alumínio e a radiação gama (γ) é amortecida por materiais de grandes densidades como o chumbo.
- Figura 12- Representação dos efeitos direto e indireto da radiação ionizante no DNA
- Figura 13- Reações mais frequentes da radiólise e seus produtos mais importantes
- Figura 14- A corrente elétrica é definida por convenção na direção contrária ao deslocamento dos elétrons
- Figura 15- Esquema da transferência de cargas no DNA: a) Tunelamento coerente, b) Tunelamento incoerente e c) *Thermal hopping*. O eixo vertical representa a energia E, e o eixo horizontal representa a posição espacial X.
- Figura 16- (a) Campo magnético ao redor de um condutor produzido pelo fluxo elétrico, (b) Elétrons no condutor e a força magnética gerada pela corrente elétrica.
- Figura 17- Solenoide com frequência própria ω_p .
- Figura 18- (a) Espirilos: bactérias em forma de solenoide, ou helicoidais. (b) Planta em forma helicoidal. (c) Enrolamento tipo solenoide do DNA nas histonas.
- Figura 19- Dipolo elétrico formado por duas cargas iguais e opostas ($-q$ e $+q$) a uma distância d .
- Figura 20- (a) Um dipolo elétrico com momento dipolar p submerso num campo externo uniforme \vec{E} . (b) Uma vista em perspectiva para visualizar o momento produzido e

o $\vec{\tau}$ torque. (c) Moléculas de H₂O num campo elétrico \vec{E} .

- Figura 21- Tensão transiente produzida por um corte abrupto de energia, sobreposta à corrente (senoidal) de um circuito AC.
- Figura 22- Circuito elétrico simples
- Figura 23- Interação de dois sólitons de KdV. Depois da interação as ondas recuperam sua forma e sentido de propagação
- Figura 24- Formação de um momento de dipolo elétrico “permanente” nas proteínas ATM, via efeito Del Giudice.
- Figura 25- Emissão do sinal solitônico após a indução de uma DSB.
- Figura 26- Potencial retardado gerado por uma distribuição de carga localizada. Aqui,
$$\vec{R} = \vec{r} - \vec{r}' \text{ e } t' = t - \frac{R}{v}, t' < t$$
- Figura 27- Ativação das ATMs pelo pulso eletromagnético solitônico.
- Figura 28- Dipolo elétrico submetido a um campo elétrico.
- Figura 29- Dipolo elétrico submerso em água e submetido a um campo elétrico \vec{E} .
- Figura 30- Proteína vestida com duas camadas de moléculas de água
- Figura 31- Orientação da proteína
- Figura 32- Modelo do processo de reparo das DSBs induzidas pela radiação ionizante

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Equações de Maxwell. Aqui \vec{E} é o campo elétrico que atravessa uma superfície S, ρ é a densidade de carga no vácuo, q é a carga, ϵ_0 é a permissividade elétrica no vácuo, \vec{B} campo magnético, C uma curva fechada, μ_0 é a permeabilidade magnética no vácuo e \vec{J} é a densidade de corrente.

LISTA DE SIGLAS

ADP	Adenosina difosfato
ATM	Proteína Ataxia Telangiectasia Mutada.
ATP	Adenosina trifosfato.
B16F10	Cepa de Melanoma
BRCA1	Breast Cancer Associated protein 1.
BRCA2	Breast Cancer Associated protein 2.
CDC24A	Cell division Cycle protein 24A.
CDC25A	Cell division Cycle protein 25A.
CDK2	Kinase dependente de ciclina com atividade serina/treonina kinase.
CEE	Campo elétrico estático.
CHK1	Kinase que inicia os checkpoints do ciclo celular.
CHK2	Kinase que regula o ciclo celular.
CT-26	Cepa de Adenocarcinoma.
DAPI	Diagnóstico avançado por Imagem.
DNA	Ácido desoxirribonucleico.
DSB	Dupla quebra no DNA. Double strand break.
EGFP	Enhanced green florescent protein
G1	Fase de comprometimento com a divisão celular como resposta à sinalização externa.
G2	Fase de síntese de proteínas para a duplicação celular.
GBM	Glioblastoma multiforme.
H2AX	Histona
HCC	Carcinoma Hepatocelular.

HDM2	Regulador negativo do supressor de tumor p53.
HeLA	Célula imortal de câncer cervical.
LET	Linear Energy Transfer.
M	Fase do ciclo celular onde ocorre a mitose.
MDMX	Proteína determina a resposta à radiação.
MRG5	Células de câncer de pulmão.
MRN	Complexo proteico que contém Mre11, Rad50 e Nbs1.
Nbs1	Proteína associada ao reparo de DSB.
p53	Proteína supressora de tumores. Regula o ciclo celular.
PI3K	Fosfoinosítido 3-quinase ou fosfatidilinositol 3-quinases família de enzimas envolvidas em funções celulares.
Rad17	Proteína que para o ciclo celular
RI	Radiação ionizante
RNA	Ácido ribonucleico.
ROS	Espécies reativas de oxigênio.
RPA	Proteína de replicação.
S	Fase do ciclo celular onde ocorre a auto replicação
S1981	Serina.
T47D	Células de câncer de mama humano.
UV	Raios ultravioletas.
^{60}Co	Cobalto 60. Isótopo radioativo sintético.
Ca^{2+}	Íon de cálcio.
$\gamma - \text{H2AX}$	Histona H2AX fosforilada.

SUMÁRIO

1 – RESULTADOS ANTERIORES E MOTIVAÇÃO	1
1.1 – APRESENTAÇÃO	1
I- Importância/relevância da sinalização.	1
II- Necessidade de entender “como” se processa a sinalização a partir dos “primeiros princípios” da física quântica.	3
III- O caso específico deste trabalho: sinalização DNA–proteínas de reparo.....	4
1.2 – REPARAÇÃO DE DNA.....	6
1.3 – INTERFERÊNCIAS EXÓGENAS AO PROCESSO DE SINALIZAÇÃO	9
1.3.1 – Trabalhos seminais realizados localmente (Universidade de São Paulo).....	10
1.3.2 – Importância prática do estudo de interferência em DNA.....	14
1.4 – Problemas abertos – emissão e recepção do sinal DSB-ATM	15
2 - OBJETIVOS.....	19
2.1 - OBJETIVOS GERAIS	19
2.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
3 – BACKGROUNG CIENTÍFICO	20
3.1 - INTRODUÇÃO AOS CONTEÚDOS EM BIOLOGIA.....	20
3.1.1 Sinalização celular	20
3.1.2 - A molécula de DNA	22
3.1.3 - Danos e mecanismos de reparo no DNA	24
3.1.4 - Proteína ATM.....	24
3.2 - INTRODUÇÃO AOS CONTEÚDOS DE FÍSICA.	27
3.2.1 - Interação das radiações com a matéria.	27
3.2.2 - Corrente elétrica.....	32
3.2.3 - A condução elétrica no DNA	32
3.2.4 - Circuito elétrico	34
3.2.5 - Solenoides.....	35
3.2.6 - Dipolos elétricos.....	37
3.2.7 - Equações de Maxwell.....	38
3.2.8 - Transiente elétrico.....	41
3.2.9 - Sólitons	43
3.2.10 - O efeito <i>free water dipole laser</i>	47
4 - RESULTADOS/DISCUSSÃO	49
4.1 - SINALIZAÇÃO DSB-ATM.....	49

4.1.1 – Natureza do sinal	49
4.1.2 – Descrição do sinal (sóliton eletromagnético)	51
4.2 - ATM: RECEPÇÃO DO SINAL E ATIVAÇÃO	55
4.3 - NAVEGAÇÃO	57
4.3.1 - Dipolo elétrico submetido a um CEE no vácuo	57
4.3.2 - Dipolo elétrico submetido a um CEE em meio aquoso	58
4.3.3 - Torque total	60
4.4 - RECONHECIMENTO: A QUESTÃO DO CAMPO ESTÁTICO RESIDUAL DO DSB	63
5 - CONCLUSÕES	64
6 - PERSPECTIVAS FUTURAS	66
REFERÊNCIAS	68
ANEXO I - CÁLCULO DOS TORQUES.....	90
ANEXO II - ESTIMATIVA DO NÚMERO DE MOLÉCULAS DE ÁGUA NECESSÁRIAS PARA VESTIR UMA PROTEÍNA.....	93

1 – RESULTADOS ANTERIORES E MOTIVAÇÃO

1.1 – Apresentação

I- Importância/relevância da sinalização.

A emissão, recepção e processamento de sinais estão presentes em todos os aspectos da interação entre seres vivos. Isso ocorre, por exemplo, desde a utilização de telefones móveis até o intercâmbio de informação intracelular, passando por processos de orientação de cardumes de peixes, aves migratórias, enxames de insetos, animais marinhos (golfinhos, baleias, etc.), entre inúmeros outros.

Portanto, emitir, receber e processar informação é um dos aspectos mais fundamentais para a existência, manutenção e sobrevivência dos seres vivos. A sinalização é importante em várias escalas, como por exemplo:

- Em escala macroscópica, temos as aves que voam em bandos, como os patos que o realizam em formato de V invertido - além de intercambiarem a dianteira sem perder a formação. Também as mudanças rápidas e sincronizadas, aparentemente simultâneas, são características destes grupos (Lu e Vicario, 2014; Larsson, 2012; Lebar e Heppner, 2009; Andersson e Wallander, 2004). Este também é o caso dos cardumes de peixes que nadam de forma coordenada e, em algumas espécies, a grandes velocidades e diferentes direções, sem colisões. Seria como se seus movimentos fossem coreografados, mas na verdade os peixes têm sistemas sensoriais através dos quais recebem e processam sinais de outros peixes, possibilitando respostas rápidas a pequenas mudanças na posição (Larsson, 2012; Ballerini et al., 2008; Babineau et al., 2007). As aves migratórias são outro exemplo, pois apresentam um pigmento proteico nos olhos, o criptocromo, cujas propriedades mudam quando a ave é submetida ao campo magnético da Terra, permitindo que se orientem na direção do norte terrestre, como uma bússola natural (Gauger et al., 2011; Vlatko, 2011; Ritz et al., 2004).

- Em escala microscópica, temos vários exemplos como o “*quorum sensing*” (percepção de quórum) das bactérias, que, no caso das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, utilizam circuitos de comunicação de percepção de quórum para regular expressão gênica em resposta à densidade celular. É uma forma de comunicação celular de processos que incluem simbioses, virulência, competição, produção de antibióticos, entre outros. Este fenômeno é o responsável de que um conjunto de células independentes, por geração de sinais extracelulares, desenvolva comportamentos sociais coordenados como a formação de colônias, entre outros (Lang e Faure, 2014; Götz et al., 2012; Gobbetti et al., 2007; Reading e Sperandio, 2006; Miller e Bassler, 2001). Em muitos mamíferos, as células embrionárias trocam sinais com as células do útero (Knöfler e Pollheimer, 2013; Xie et al., 2008; Chen et al., 2005; Mohamed et al., 2005). No trato gastrointestinal humano, as bactérias trocam sinais entre si, com as células epiteliais e do sistema imunológico. (Allen e Torres, 2008; Clarke e Sperandio, 2005). Durante o processo de reprodução das *Saccharomyces cerevisiae*, algumas células enviam sinais peptídicos (fatores de conjugação) para o meio onde se encontram. Estes fatores de conjugação podem se ligar aos receptores da superfície celular de outros indivíduos da espécie, induzindo o processo de reprodução (Lin, Duell e Konopka, 2004).
- Em escala nanoscópica temos o interior celular onde constantemente estão sendo emitidos, processados e recebidos sinais que são os responsáveis pelo funcionamento da célula através da comunicação proteínas-proteínas, proteínas-DNA, entre outros. Outro exemplo de resposta celular que precisam de transdução de sinais são a ativação gênica onde os fatores de transcrição são produzidos como resultado de uma cascata de transdução de sinal que pode ativar mais genes. Muitas doenças são atribuídas à perda de regulação na sinalização celular, como câncer, diabetes, Alzheimer, entre outras (Souza et al., 2014; Ho et al., 2012; Berra et al., 2006; Santagati et al., 2001).

É importante frisar que a origem de todos os processos biológicos está na escala nanoscópica (sendo o DNA um de seus atores principais). Contudo, essa é uma área relativamente pouco estudada, notadamente no que diz respeito aos “primeiros princípios” que, neste caso, de origem quântica.

II- Necessidade de entender “como” se processa a sinalização a partir dos “primeiros princípios” da física quântica.

Em escala nano, a partir do século XX quando se criou a Mecânica Quântica, foi possível desenvolver modelos para estruturas de bio-macromoléculas e suas interações. Os chamados primeiros princípios utilizam os potenciais físico-químicos dos componentes do sistema em estudo, sem levar em conta a informação biológica. Por exemplo, no programa AMBER (“Assisted Model Building with Energy Refinement” ou Construção de Modelos Assistidos com Refinamento de Energia) simulam-se as interações das densidades eletrônicas dos átomos com ligações não covalentes, descrevendo a interação eletrostática por um potencial de Coulomb, e as forças Van der Waals por um potencial tipo Lennard-Jones (Martí e Turjanski, 2009; Jorgensen, 2004).

Portanto, é imperativo a compreensão com base nestes princípios, pois estas seriam a base para o desenvolvimento a médio e longo prazo de importantes aplicações, farmacológicas e em bionanotecnologia, entre outros. Ferramentas baseadas em modelos híbridos de mecânica quântica e mecânica molecular permitem descrever as hipersuperfícies de energia potencial de grandes sistemas moleculares, com a precisão necessária e custo computacional aceitável. Os métodos quânticos modelam a parte do sistema em que se encontram os átomos envolvidos na ruptura e formação de ligações, enquanto que o restante do sistema é representado classicamente por meio da mecânica molecular.

A mecânica quântica estuda o estado de sistemas em que não é possível sua descrição pelas vias usuais da mecânica clássica e tem por foco, geralmente, o movimento de partículas muito pequenas, em nível subatômico. Quando se diz “partículas muito pequenas”, subentende-se que a determinação simultânea e com absoluta precisão de sua posição e velocidade não é factível - circunstância esta regida pelo Princípio da Incerteza de Heisenberg (Hall, 2013).

Para compreender melhor a importância deste tipo de modelagem, considere-se a fotossíntese. Os organismos fotossintéticos, as plantas e algumas bactérias, captam a energia solar, transformando-a eficientemente em energia química a uma velocidade quase instantânea, por meio de reações moleculares. Atualmente, muitos trabalhos (Hildner et al., 2013; Collini et al., 2010; Keim, 2010; Sanders, 2010; van Grondelle e Novoderezhkin, 2010) explicam que a

eficiência e o alto rendimento da fotossíntese estão em nível quântico, associados aos efeitos mecânicos das partículas subatômicas. Os resultados mostram que superposição e coerência quântica estão envolvidas, ou seja, trata-se dos primeiros princípios da Mecânica Quântica. Enquanto que a superposição quântica permite situar-se em vários pontos ao mesmo tempo, a coerência quântica seleciona o melhor caminho. Os estudos mostraram que a coerência quântica é a responsável por manter os níveis de eficiência no transporte de energia em sistemas biológicos permitindo que se adaptem ao entorno. Isso explicaria a eficácia da fotossíntese, pois o sistema pode experimentar simultaneamente todos os caminhos e/ou possíveis vias de energias antes de selecionar o mais eficiente. Isto significa que estes organismos transformam 95% da energia solar em energia química em apenas um bilionésimo de segundo, enquanto que as células fotovoltaicas dos painéis solares só aproveitam 20% da energia solar. O conhecimento destes processos quânticos poderia ajudar a desenvolver sistemas fotovoltaicos com maior eficiência no aproveitamento da luz solar (Hildner et al., 2013; Collini et al., 2010; Keim, 2010; Sanders, 2010; van Grondelle e Novoderezhkin, 2010; Pérez-Urruía, 2009).

Outros exemplos do uso de modelagem empregando as mecânicas quântica e clássica são os modelos das proteínas (Fu et al., 2013; Perdomo-Ortiz et al., 2012; Kimura, Rajamani e Langley, 2011; Wang et al., 2011; Raha e Merz, 2005), do DNA (Mihelic, 2013; Lyshevski, 2004; McFadden e Al-Khalili, 1999), entre outros.

III- O caso específico deste trabalho: sinalização DNA–proteínas de reparo

Células requerem estímulos externos para sobreviver, pois a regulação dos programas genéticos é associada a sinais extracelulares. Tais sinais são específicos para cada célula e dependem do meio e do tipo e localização do tecido. Além disso, cada célula tem elementos próprios que lhe permitam reconhecer os sinais externos, decodificá-los e emitir uma resposta adequada ao estímulo. O mau funcionamento dos sistemas de sinalização na célula pode resultar em sua proliferação descontrolada, produzindo anomalias como as observadas nos tumores, por exemplo. Ou seja, quando as sinalizações nas células (seus sistemas de comunicação) não são as adequadas, pode-se ter a ocorrência de doenças, câncer entre elas. Daí a importância do estudo dos processos de sinalização nas células, especialmente se realizado a partir dos primeiros princípios da mecânica quântica. Em última instância, este tipo de análise poderia ser utilizado

para desenvolver um “interruptor” ou chave comutadora mais eficiente, que permita intervir no processo de sinalização, eliminando o risco de mutações indesejáveis (Brzozowa et al., 2013; Mo, Tang e Miele, 2013; Wang et al., 2010; Wang, Li e Sarkar, 2010).

Mas, primeiramente, é necessário realizar o mapeamento detalhado dos mecanismos moleculares dependentes da sinalização, destacando-se entre estes o *mecanismo de reparo de DNA*, objeto deste estudo. O funcionamento inadequado deste processo é responsável por várias doenças, entre elas, o câncer. De fato, o DNA sofre danos constantemente e as células têm mecanismos diferenciados para cada tipo de agressão ao genoma (detalhes em 1.2) que dependem de uma adequada sinalização. Por exemplo, no caso de quebra dupla da fita do DNA (DSB), a cascata de sinalização tem início com a ATM (Ataxia Telangiectasia Mutada), que é o sensor para este tipo de dano em células de mamíferos. Outros trabalhos indicam a ativação inicial de outras enzimas de reparo (detalhes em 1.2). Esta quinase (ATM) ativa todo um complexo de proteínas responsáveis pela interrupção do ciclo celular, pelo reparo e, em caso de não haver reparação, por levar a célula à apoptose, evitando que uma célula anômala sobreviva e, conseqüentemente, evitando que as mutações ou defeitos sejam transmitidos à descendência (Cremona e Behrens, 2013; Chen et al., 2012; Lee et al., 2010; Smith et al., 2010; Berra et al., 2009; Mundargi et al., 2008; Lavin e Kozlov, 2007; Browne e Feringa, 2006; Dupré et al., 2006; Jazayeri et al., 2006).

O conhecimento do processo de sinalização, associado ao mecanismo de reparo das DSBs, permitiria criar “interruptores” da cascata de reparo, que ajudariam *abortar* o reparo de células cancerígenas, criar medicamentos específicos associados às proteínas que participam deste processo, construir nano-dispositivos que permitam controlar o processo de reparo, entre outras possibilidades (Mo et al., 2013; Schimdt e Vogel, 2010; Burdak- Rothkamm e Prise, 2009; Paredes et al., 2006; Bernardi et al., 2003). A esse respeito, um dos objetivos deste trabalho é o estudo detalhado de como ocorre a “comunicação” entre os eventos “produção da DSB” e a “ativação da proteína de reparo”.

1.2 – Reparação de DNA

O genoma da célula é continuamente danificado, seja como resultado dos processos naturais da célula, seja pela exposição ambiental à radiação, agentes químicos ou luz ultravioleta. Na célula, os mecanismos de reparo e os *checkpoints* atuam conjuntamente na manutenção da integridade genômica. São conhecidos vários sistemas de reparo, a depender do tipo de dano infligido (ver Figura 1 para os principais), e podem ser muito complexos, envolvendo uma extensa rede de proteínas. O DNA danificado é detectado pelas proteínas sensores, que dão início à cascata de reparo, recrutando outros complexos de proteínas efetoras, que conduzem à interrupção do ciclo celular, à ativação do reparo de DNA e/ou processo de morte celular, dependendo do contexto.

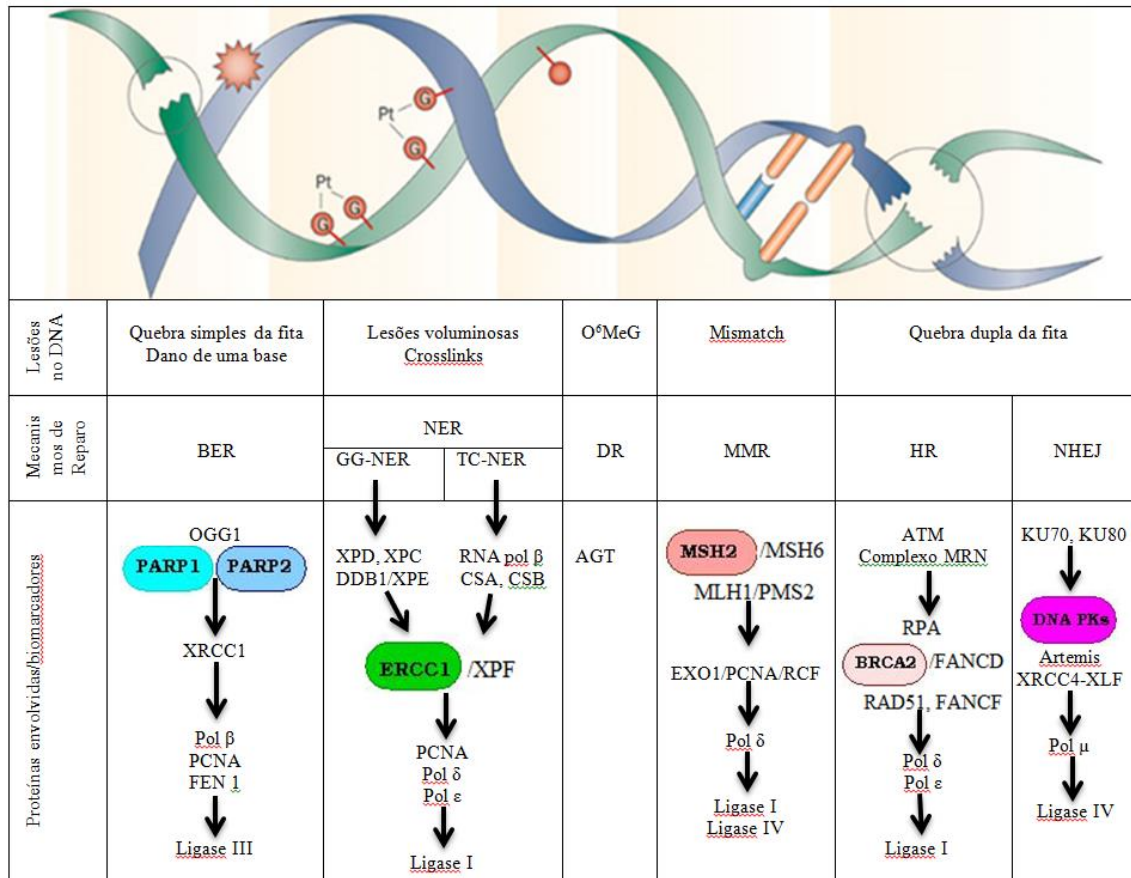


Fig. 1. Danos principais ao DNA e seus correspondentes Mecanismos de reparo (adaptado de Postel-Vinay et al., 2012)

Nas células de mamíferos, a proteína ATM desempenha um papel crítico como sensor na etapa de reconhecimento do dano e na transdução dos sinais como resposta celular à dupla

quebra da fita (*double strand break* - DSB) por estresse oxidativo (Brierley e Martin, 2013; Cremona e Behrens, 2013; Kyrston et al., 2011) (Figura 1, mais detalhes na seção 3.1.4). Encontram-se principalmente fora do núcleo, na forma de dímeros que permanecem inativos até ocorrer a DSB (Du et al., 2015; Kozlov et al., 2011; Bakkenist e Kastan, 2003).

Quase que instantaneamente após indução de uma DSB pela radiação ionizante (RI), a ATM capta um sinal produzido na DSB, que a ativa (Jakob, 2005). Importante observar que ainda não se sabe qual é a natureza do sinal que ativa a ATM (a ser tratada neste estudo). A ATM, não danificada pela radiação ionizante (RI), dá início à cascata de reparo recrutando uma rede muito ampla de proteínas. Por exemplo, é ativada a proteína p53, responsável pelo controle do ciclo celular, seu bloqueio e indução de apoptose, se for o caso. Por outro lado, a ATM ativa todo um complexo de proteínas como H2AX, CHK2, RPA, BRCA1, Nbs1, entre outras, que entram no núcleo até chegar à DSB, quando então tem início o reparo (Vega, 2013; Kyrston et al., 2011; Shiloh, 2006).

Em trabalho versando sobre reparo de danos em DNA a partir da ativação da proteína ATM via autofosforilação intermolecular, Bakkenist e Kastan (2003) mostraram que numa célula normal, não danificada, as proteínas ATM apresentam-se em pares fortemente unidos, constituindo o que se convencionou denominar “dímeros de ATM dormentes”. Então, imediatamente após ocorrer a produção de uma DSB, é induzida a fosforilação da ATM, fazendo com que o dímero se separe. Esses autores concluem que a ativação da ATM-kinase deve ser o evento iniciador da resposta celular à radiação. Os dados obtidos também indicam que a ativação da ATM não depende de uma ligação direta às quebras de fitas do DNA – dado que as ATM estão fora do núcleo celular. Além disso, os autores apresentam dados que apoiam um modelo no qual o dano ao DNA causa rapidamente mudanças na estrutura da cromatina, iniciando assim a ativação da ATM (Ver Figura 2).

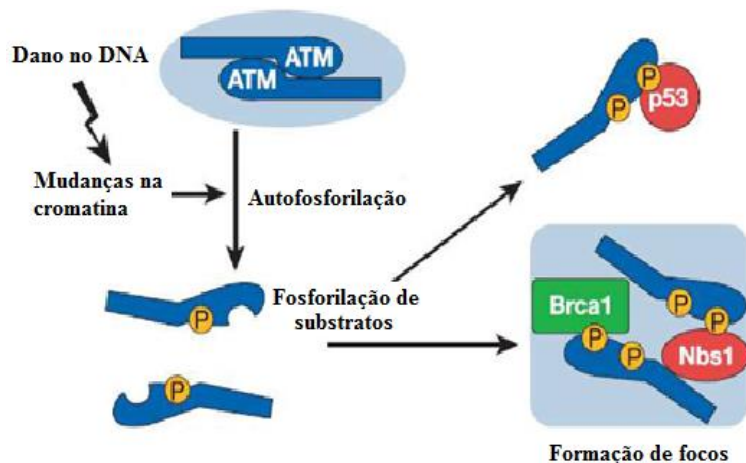


Fig. 2. Modelo esquemático da ativação da ATM depois de irradiação. Rupturas no DNA provocam alterações na estrutura da cromatina, que induz autofosforilação intermolecular no dímero de ATM e a dissociação desse dímero, anteriormente inerte. Os monômeros de ATM ativos são então livres para migrar e fosforilar substratos, tais como Nbs1 e p53 (Bakkenist e Kastan, 2003).

As várias questões polêmicas levantadas por Bakkenist e Kastan foram comentadas criticamente por Bartek e Lukas num artigo publicado na seção “News and Views” da revista *Nature* (2003). Os autores deram vários argumentos contra a ideia de que o relaxamento da cromatina fosse o sinal para o começo da fosforilação da ATM. De fato, ponderou-se que, se a ATM está “trancada” em um estado no qual não pode interagir e fosforilar suas proteínas alvo, de que maneira, logo após a produção de dano ao DNA, as proteínas que compõem o dímero ATM deixam de inibir umas às outras, apesar do fato de ainda estarem em contato? Bakkenist e Kastan sugerem que a DSB origina alterações locais na estrutura da cromatina, que poderiam ser a causa da ativação dos dímeros ATM e, portanto, do reparo. Contudo, o remodelamento de cromatina ocorre frequentemente, na medida em que genes são expressos durante todo o ciclo de divisão celular, quando o DNA é replicado, e mesmo assim as ATM parecem ignorar tais alterações. Então, o que realmente tem a ver a indução de DSB com alterações na cromatina?

B. Jakob e colaboradores (2005) evidenciaram a rapidez da ativação da ATM (em células HeLa, tipo de célula imortal muito usada em pesquisas científicas) ao ocorrer DSBs induzidos por feixes de íons de Níquel produzidos no acelerador de Darmstadt. Para visualizar indireta e rapidamente a dinâmica de recrutamento das proteínas nas lesões do DNA, foi usada detecção imunocitoquímica de proteínas de reparo do DNA EGFP-etiquetadas. Células de HeLa foram transfectadas com EGFP-aprataxin, proteína de reparo marcada com verde fluorescente

(Enhanced Green Fluorescent Protein EGFP) que permite monitorar, por exemplo, a localização e dinâmica dessa proteína. Desenvolveu-se um sistema de imagens por controle remoto para visualizar a agregação da proteína aprataxin em células vivas, em resposta ao dano em DNA. Foram obtidas imagens de EGFP-aprataxin em células HeLa a partir de uma sequência obtida antes e após a irradiação. Observou-se que não houve grandes mudanças espaciais da fluorescência EGFP no interior do núcleo das células em relação ao padrão típico nuclear relatado na literatura (Gueven et al., 2004). Em alguns segundos após a irradiação, agregados de proteínas fluorescentes eram visíveis. A resposta muito rápida da aprataxin manifestou-se com o surgimento de focos fluorescentes em uma célula selecionada. Realizou-se a análise cinética para quantificar a formação de focos de aprataxin em resposta à radiação. Enquanto a ativação da proteína foi muito rápida, o tempo de recrutamento foi estimado em 28 ± 2 s para EGFP-aprataxin após irradiação com íons de níquel com 4,2 MeV/nucleon (Jakob et al., 2005). A rapidez da ativação da ATM vai contra a ideia de que, ao ocorrer a DSB, a cromatina relaxa ativando a ATM. Se fosse esse o caso, levaria bem mais tempo para a quebra ser detectada fora do núcleo.

Resta, portanto, em aberto, a descrição do sinal biofísico que provoca resposta da ATM à DSB em tempo tão curto, e sem sofrer qualquer tipo de interferência no meio entre o DNA e a proteína. Como é bem conhecido, o citosol é abundante em íons e radicais livres (Lodish et al., 2007).

1.3 – Interferências exógenas ao processo de sinalização

Têm-se evidências de que campos elétricos e magnéticos interferem no reparo do DNA (Zimmerman et al., 2012; Kirson et al., 2009; Kirson et al., 2007; Kirson et al., 2004). Num estudo realizado por Zimmerman e colaboradores (2012) com campos eletromagnéticos em carcinoma hepatocelular (HCC) *in vitro* e *in vivo* para pacientes com câncer bucal e em células de câncer de mama, ocorreu um decréscimo significativo nas duas linhagens para frequências específicas do campo.

Outros experimentos realizados pelo grupo de Kirson (Kirson et al., 2009; Kirson et al., 2007; Kirson et al., 2004) mostraram como o uso de campos elétricos pulsados com intensidade

de apenas um ou dois volts por centímetro inibe o crescimento de várias linhagens de células tumorais humanas e de roedores *in vitro*, bem como tumores malignos em humanos e roedores *in vivo*. Por exemplo, no teste com tumores *in vivo* em ratos, os animais foram inicialmente inoculados com melanoma maligno (B16F10) e adenocarcinoma (CT-26), e imediatamente após foram instalados eletrodos (intradérmico) na região inoculada. Depois de 6 dias, observou-se que, com intensidades inferiores a 2 V/cm, efetivamente inibiu-se o crescimento tumoral comparativamente aos controles (Kirson et al., 2004). No caso de glioblastoma *in vivo* em humanos (Kirson et al., 2009; Kirson et al., 2007), a técnica foi aplicada em dez pacientes humanos com glioblastoma recorrente multifórmico (GBM), uma forma de câncer no cérebro, com taxa de sobrevivência muito baixa. Todos os pacientes tiveram seus tumores anteriores tratados por outros métodos, mas o câncer reapareceu em todos os casos. Os pacientes foram equipados com eletrodos que aplicavam campos elétricos de 200 kHz no couro cabeludo, em intervalos regulares de até 18 horas. Foi observado que os tumores evoluíram muito mais lentamente para estágios avançados do que o habitual (num tempo médio de 26 semanas), e em alguns casos houve regressão. Além disso, houve um aumento significativo da sobrevivência dos pacientes, atingindo uma média de 62 semanas. Os resultados foram comparados favoravelmente com históricos médicos para GBM recorrente porque, neste caso, não há grupo de controle. De acordo com os históricos médicos, o tempo para a progressão do tumor é de cerca de 10 semanas e a sobrevivência típica é de 30 semanas. Além disso, três dos 10 pacientes ainda estavam vivos, dois anos após o início da terapia. Esses valores são superiores ao dobro do que foi relatado nos históricos médicos. Com isso, Kirson e colaboradores (2009 e 2007) mostraram que campos elétricos alternados, corretamente sintonizados às intensidades fisiológicas, interferem no processo mitótico da divisão de células cancerígenas.

1.3.1 – Trabalhos seminais realizados localmente (Universidade de São Paulo)

Estudos experimentais de nosso grupo de pesquisa nas áreas de Biofísica Celular e Molecular apresentaram resultados inéditos que envolvem exposição de inúmeros microrganismos a radiações, campos elétricos e campos magnéticos. Uma revisão das publicações mais relevantes forneceu as seguintes informações:

1.3.1.1 – No artigo intitulado “Static electric fields interfere in the viability of cells exposed to ionising radiation” (Arruda-Neto et al.,2009) foram investigados os seguintes procariotos e eucariotos radiorresistentes:

a) *Microcystis Panniformis (Cyanobacteria)*

Amostras dessa cianobactéria foram cultivadas em meio adequado e irradiadas com gamas de ^{60}Co em doses de 0,5 a 5kGy com taxa de dose 0,94 kGy/h, e em seguida expostas por 2 h a um campo elétrico estático (CEE) de 20 V/cm entre as placas de um capacitor. As amostras-controle foram expostas somente à radiação ou ao CEE. Os resultados obtidos por determinação de viabilidade celular mostraram que a aplicação de um CEE (20 V/cm) não afeta o crescimento celular no experimento controle, mas, aplicado por 2 h imediatamente após a radiação, diminui significativamente o crescimento celular. Esse comportamento sugere que campos elétricos exógenos poderiam interferir destrutivamente no mecanismo de reparação de DNA, conforme posteriormente confirmado com o experimento de H2AX (abaixo comentado).

b) *Candida Albicans*

A cepa ICB-12-A foi inoculada num tubo com *Sabouraud agar*, depois irradiada com gama nas doses de 1-4 kGy e, em seguida, submetida a um CEE com intensidade de 180 V/cm por 1 hora e 30 minutos. A análise das células irradiadas em função da dose mostrou que, além de diminuir a viabilidade celular, o CEE também eliminou totalmente o ombro de reparo. Neste caso, a evidência de que o CEE interferiu destrutivamente com o mecanismo de reparação de DNA foi mais explícita.

c) MRG5 – células pulmonares – teste molecular

As células foram irradiadas com 2Gy, imediatamente após foram expostas a um CEE de 1250 V/cm, e incubadas por 24 h com o anticorpo-phospho-histona H2AX- diluição 1:200. As placas foram cobertas com 1mg/ml de DAPI e examinadas no microscópio fluorescente. Os núcleos com os foci de γ -H2AX foram quantificados usando o programa IMAGEJ 1.38. Observou-se que a contagem dos foci de γ -H2AX nas amostras crescendo em condições normais foi igual ao das amostras apenas submetidas ao CEE por 1 h. Por outro lado, nas células irradiadas com 2 Gy e submetidas ao mesmo CEE por 1 h, o número de foci γ -H2AX foi 40% maior do que em células somente irradiadas. Isso indica que o CEE interferiu a dinâmica de 40% das histonas H2AX nos sítios danificados do DNA. Uma vez que 2 Gy é uma dose do ombro de

reparação das células MRC5, este resultado é uma forte evidência de que a ação do CEE é mais efetiva para as doses em que ocorre mais eficientemente reparação do DNA. Portanto, muitos danos não foram reparados, uma vez que as histonas H2AX são iniciadoras dos foci de reparo, são facilitadoras do acesso da maquinaria de reparação ao sitio do dano. Como uma simples DSB é letal se não reparada, o final previsível como consequência do alto nível de não reparação das DSBs é a morte celular.

1.3.1.2 – No trabalho “Cancer Cells jointly exposed to γ -radiation and electric field develop S-phase arrest” (Moron et al., 2011), células de câncer Ductal Mamário T47D foram irradiadas com 1 e 2 Gy de radiação gama, em seguida expostas a um CEE de 1250 V/cm por 24h e analisadas via distribuição do ciclo celular por citometria de fluxo. Constatou-se que irradiação mais exposição ao CEE causa um grande acúmulo de células na fase S e a correspondente redução na G₁, embora a população em G₂/M não tenha sofrido mudanças. Uma inibição do ciclo no início da fase de replicação é a resposta prevalente aos danos causados pela radiação ionizante (RI) (detalhes em Friedberg et al., 2006) e, em nosso caso, um indicativo direto de que o processo de reparação de DNA não foi completado, sugerindo outra vez que o CEE interfere na sinalização associada aos mecanismos de reparo (Figura 3).

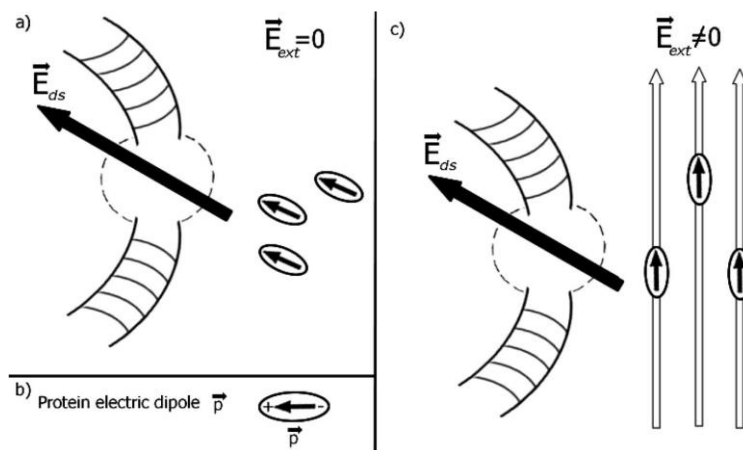


Fig. 3. (a) Representação pictórica do reconhecimento da DSB pelas proteínas de reparo. Essas proteínas usualmente tem um momento dipolar elétrico grande \vec{p} (em (b) representado com mais detalhes), o qual é orientado ao sitio do dano pelo campo elétrico estático \vec{E}_{ds} produzido pela quebra. (c) um campo elétrico estático exógeno (\vec{E}_{ext}) mais intenso que o \vec{E}_{ds} poderia reorientar o deslocamento das proteínas de reparo alinhando-as na sua direção (Arruda-Neto et al., 2009).

1.3.1.3 – No trabalho “Novel viability loss process induced by electric fields is observed in the extremophilic *Deinococcus radiodurans* exposed to gamma radiation” (J.D.T. Arruda-Neto e colaboradores, 2014), células da bactéria *D. radiodurans* (D.rad), foram irradiadas com gamas de ^{60}Co entre 0 e 12 kGy. Imediatamente após irradiadas, as células foram expostas a um campo elétrico estático de 2 kV/cm por 10 h. Após 36h, fez-se uma contagem de colônias. Foi evidenciada uma significativa diminuição no ombro de reparo em amostras irradiadas com doses entre 4 e 8 kGy e expostas ao campo elétrico. Além disso, a análise das curvas de sobrevivência mostrou que, para doses iguais ou superiores a 4 kGy, uma simples dose adicional de 0,9 kGy elimina 63% das células (Figura 4). Concluiu-se que campos elétricos estáticos são radiosintetizadores muito eficientes. Também sugere-se, no artigo, que isso acontece porque os campos elétricos atrapalham a remontagem de pequenos fragmentos de DNA, produzidos pela alta dose de radiação, evitando assim o processo de reparação efetivo.

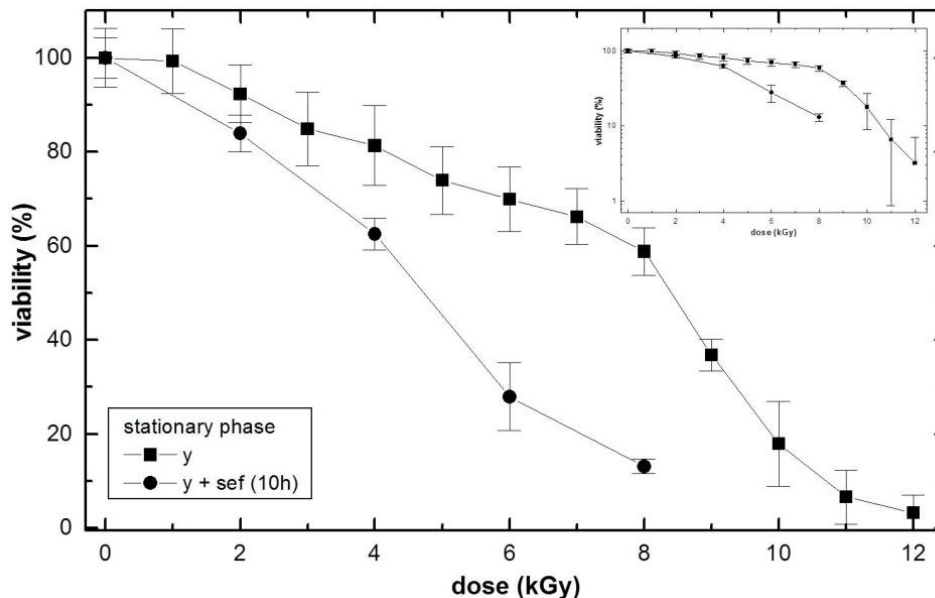


Fig. 4. Comparação das curvas de sobrevivência da *D. radiodurans* após irradiação com gamas e com gamas mais campo elétrico (γ e $\gamma + SEF$). Detalhes em (Arruda-Neto et al., 2014)

Concluindo esta análise, os resultados evidenciam que a aplicação de campos elétricos estáticos (CEE) em células anteriormente expostas à radiação ionizante incrementa grandemente a morte celular. O efeito é similar ao observado quando uma radiação muito ionizante (LET grande) é usada (Han & Yu, 2009; Ball, Moore & Turner, 2008; Attar, Molaje & Khansari, 2007; Mozumder & Hatano, 2004; Ritter, Cleaver & Tobias, 1977). Os resultados acima relatados nos

itens 1.3.1.1-c e 1.3.1.3 permitem inferir que um CEE exógeno interfere diretamente nos mecanismos de reparo do DNA celular, impedindo e/ou retardando sua realização. Em decorrência, essa interferência conduz à morte celular.

1.3.2 – Importância prática do estudo de interferência em DNA

Tem-se evidência empírica de diversas linhas de pesquisa que sugerem que o envelhecimento é um processo de aumento gradual das mutações somáticas que levam, eventualmente, à fragilidade e ao aumento do risco de um espectro de doenças associadas à idade (Rao et al., 2015; Kirkwood, 2005; Kirkwood, 2002). Por exemplo, a base oxidada 8-oxoguanina é detectada em maior quantidade com a idade (Cui, Kong e Zhang, 2012; Hamilton et al., 2001). Doenças como o envelhecimento prematuro e a síndrome progeroide estão associadas aos defeitos em genes envolvidos no reparo do DNA e manutenção do genoma (Schumacher et al., 2008). O câncer é uma doença genética e os indivíduos com defeitos nas vias de reparo de DNA são frequentemente predispostos a vários tipos de câncer (Zhou e Elledge, 2000). A carcinogênese pode ser produzida pela instabilidade genômica mutacional ou cromossômica (Lengauer et al., 1998). O fenótipo de instabilidade mutacional é caracterizado por mutações pontuais ou pequenas deleções, enquanto que o fenótipo de instabilidade cromossômica é caracterizado pelo rearranjo extenso de cromossomos, provavelmente iniciado por uma DSB (Slade e Radman, 2011; van Gent et al., 2001). Por isso, é importante o estudo da interferência no reparo das DSBs, uma vez que o estudo de como funciona a sinalização na maquinaria de reparo do dano poderia propiciar ferramentas para solucionar algumas dessas deficiências e a consequente cura de algumas doenças.

A progéria, o mais rápido processo de envelhecimento conhecido, e as doenças como o Mal de Alzheimer (Picklo et al., 2002; Hensley et al., 1995; Smith et al., 1991) e o Mal de Parkinson também estão claramente associadas ao estresse oxidativo (Willcox et al., 2004). A resposta inadequada às DSBs citotóxicas está relacionada às condições de câncer-progeroide, incluindo a Ataxia Telangiectasia (AT), caracterizada por mutações na quinase ATM e na síndrome da ruptura de Nijmegen (NBS), que por sua vez está associada aos defeitos na NBS1 (Shiloh, 2006; Petrini, 2000; Rotman e Shiloh, 1998). Defeitos na família das helicases RecQ do DNA, necessárias para o reparo do DNA, como desvio na replicação de danos no DNA, e recombinações estão na base das condições câncer-progeroide na síndrome de Werner (WS), na

síndrome de Bloom (BLS) e na síndrome de Rothmund-Thomson (RTS) (Ramirez et al., 2007). Defeitos hereditários nos BRCA1 e BRCA2 predisõem fortemente indivíduos ao câncer de mama (Hoeijmakers, 2001), enquanto os defeitos nos genes BRCA1 também causam fenótipos progeroides em camundongos (Slade e Radman, 2011; Cao et al., 2003).

Até agora, várias tentativas para desacelerar o envelhecimento, o câncer e outras condições associadas à fenomenologia do estresse oxidativo pela administração de terapia antioxidante (Verrax e Calderon, 2008; Bjelakovic et al., 2007; Omenn et al., 1996), ou até mesmo super-expressando geneticamente atividades antioxidantes (Lapointe e Hekimi, 2009; Perez et al., 2009; Muller et al., 2007), não mostraram benefícios no que diz respeito às doenças e, ocasionalmente, mostraram efeitos adversos. Por outro lado, estudos das notáveis propriedades antioxidantes da mistura de metabólitos-manganês derivados da *D. radiodurans* já têm se mostrado eficazes na proteção de linhas de células humanas contra danos oxidativos (Slade e Radman, 2011; Daly et al., 2010).

1.4 – Problemas abertos – emissão e recepção do sinal DSB-ATM

As várias questões levantadas na literatura (Liu e Hu, 2011; Kastan, 2008; Lavin e Kozlov, 2007; Bartek e Lukas, 2003; Bakkenist e Kastan, 2003), e ainda não respondidas, podem ser agrupadas em três tópicos:

i. Sinalização

a) A ATM está “trancada” em um estado no qual não pode interagir e fosforilar suas proteínas-alvo. De que maneira, logo após a produção de dano ao DNA, as proteínas que compõem o dímero ATM deixam de inibir umas às outras, apesar do fato de que ainda estão em contato?

b) As DSBs induzidas pela radiação originam alterações locais na estrutura da cromatina, que poderiam ser a causa da ativação dos dímeros ATM e, por fim, do reparo. Contudo, o remodelamento de cromatina ocorre frequentemente na medida em que os genes são expressos, e durante todo ciclo de divisão celular, quando então o DNA é replicado, e mesmo assim as ATMs parecem ignorar tais alterações. Então, o que realmente tem a ver a indução de DSB com as alterações na cromatina?

c) Que fatores determinam a elevada especificidade dessa ativação, uma vez que qualquer outro tipo de lesão ao DNA não afeta a cascata de reparo encabeçada pela ATM?

ii. Percepção/Reconhecimento:

a) Como a ATM “planeja” sua rota de navegação de forma a atingir o sítio danificado no DNA? Ou, o que, “nesse motor molecular”, funciona como bússola?

b) Como a ATM percebe a ruptura de estrutura diretamente na cromatina relaxada? Ou, haveria sensores ou mediadores adicionais envolvidos? Quais seriam eles?

c) Como as proteínas respondem coordenadamente? E como alguns pares de base (que constituem uma DSB) inseridos num universo de três bilhões de pares de base são reconhecidos?

d) De que maneira a ATM reconhece seus alvos estando fora das regiões danificadas?

iii. Tempo/ Duração:

Quais fatores determinam a grande velocidade e extensão da resposta da ATM?

Além do mais, temos novas questões derivadas dos resultados experimentais:

1- De que forma a DSB ativa a ATM sem envolver interação mecânica, uma vez que esse sinal tem que ser produzido, emitido e captado em questão de segundos pela ATM fora do núcleo?

2- De que maneira Campos Elétricos Estáticos (CEE) de baixa intensidade, que são agentes físicos não citotóxicos, aumentam consideravelmente a toxicidade celular quando aplicados concomitantemente à exposição à radiação ionizante? (discutido em 1.3.1).

1.4.1 – Sinalização DNA versus ATM (primeiro efeito quanto-coerente*)

Depois que a radiação induz uma DSB, a ATM dá início à auto-fosforilação (via hidrolização da ATP) disparando a cascata de reparo. Na auto-fosforilação, o radical fosfático mais fracamente ligado é separado da ATP, convertendo-a numa ADP. Esse processo, muito provavelmente, é devido a um transiente elétrico similar ao que ocorre na contração muscular (Mosca et al., 2013; Yasuda et al., 2013; Rios e Pizarro, 1991).

A existência de um transiente elétrico convencional a partir da região onde ocorreu uma DSB, e propagando-se até a ATM, poderia ser cogitada considerando as seguintes características da dupla fita. (1) Os fosfatos que compõem a estrutura do DNA o convertem num dos polímeros mais intensamente carregados. (2) Sua densidade linear de carga é de uma carga elementar (do elétron) por 0,17 nm de extensão da dupla fita (Bustamante et al., 2003). (3) Uma DSB provoca um desbalanço na distribuição de cargas de uma minúscula região (contendo apenas alguns pares de base), criando um grupo doador (ou receptor) de cargas num dado ponto da dupla fita de DNA. Neste caso, a transferência de elétrons pode ocorrer via dois processos principais: (1) pelo tunelamento de elétrons diretamente de um doador a um receptor, e (2) por saltos térmicos (*thermal hopping*) difusivos (Gondim, 2012).

O primeiro processo é *coerente*, no sentido de que os elétrons não trocam energia com a molécula durante sua transferência. Além disso, para deslocamentos em curtas distâncias (alguns pares de base), o tunelamento coerente pode ocorrer, mas apresentará decaimento exponencial em função da distância percorrida.

Por outro lado, sabemos que uma corrente elétrica variável no tempo gera um campo magnético igualmente variável que, por sua vez, induz um **campo elétrico** (Figura 5). Se essa corrente iniciada por um dano tipo DSB durar um curto intervalo de tempo (até os elétrons percorrer alguns poucos pares de base), o campo elétrico induzido assemelhar-se-ia também a um pulso de curta duração – esse pulso seria o sinal emitido. Poderíamos, então, conjecturar que este sinal seria um *transiente elétrico*.

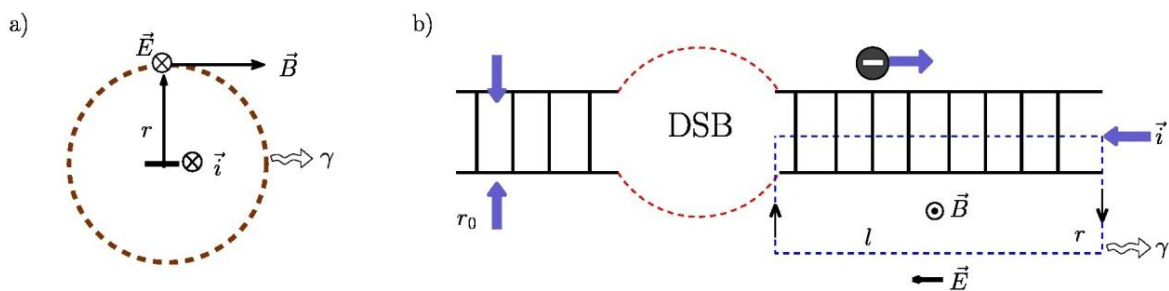


Fig. 5. a) Campo magnético e b) Sítio de perturbação de cargas, campo elétrico no DSB. Aqui \vec{B} campo magnético, \vec{E} campo elétrico e \vec{i} corrente elétrica.

Um transiente elétrico parece ser uma proposta plausível para a natureza do sinal. Por outro lado, a ATM encontra-se fora do núcleo onde se localiza a DSB. Assim, o transiente teria

que se propagar num meio com muitos eletrólitos, íons e outros obstáculos que interferem em um sinal de natureza elétrica **convencional**. Saliente-se o fato de que a ATM é especificamente ativada a partir de uma DSB (e não por qualquer outro tipo de dano) e, portanto, o sinal biofísico responsável por esse processo deve levar em conta essa especificidade. Dessa forma, qualquer alteração das propriedades do sinal no transito entre a DSB e a proteína de reparo frustraria todo o processo.

No caso do transiente elétrico, não haveria como manter os parâmetros físicos (frequência, amplitude, etc.) desse pulso inalterados num meio browniano tão complexo como o citosol em que se encontram vários corpos carregados eletricamente. Além disso, o sinal biofísico deve ser produzido, emitido e captado em tempos curtos, como mostrado por Jakob e colaboradores (2005).

Sabe-se que sinais transientes que não sofram interferências inserem-se numa categoria denominada “sólitons”. Com base no que foi acima discutido, muito provavelmente a sinalização DSB-ATM seria intermediada por um sóliton eletromagnético (a ser tratado neste estudo), propagando-se a partir da DSB, saindo do núcleo e atravessando o citosol até atingir as ATMs “dormentes”. Os sólitons são ondas solitárias que preservam assintoticamente sua forma e velocidade em interações não lineares com outras ondas solitárias ou com outras perturbações localizadas.

Investigadores descobriram que há sólitons em meios líquidos, sólidos, gasosos e inclusive em correntes elétricas ou campos eletromagnéticos. Foi possível estudar sólitons em sistemas tão diferentes quanto DNA, atmosferas dos planetas, cristais, plasmas, fibras de vidro, redes nervosas, proteínas e aparelhos eletrônicos (Landa et al., 2013; Sorrentino e Porfiri, 2011; Naumkin, 2008; Nápoles e Gonzalez, 2006; Agüero et al., 2002).

1.4.2 – Acoplamento CEE versus Momento de dipolo elétrico (P) (segundo efeito quanto-coerente)

A elevada perda de viabilidade celular decorrente de exposição de células irradiadas a um CEE (Campo Elétrico Estático), conforme relatado em detalhes na literatura (Arruda-Neto et al., 2014; Arruda-Neto et al., 2010; Arruda-Neto et al., 2009), poderia ser decorrente da seguinte

situação. As proteínas de reparo seriam polarizadas na direção do CCE aplicado, via rotação dos momentos de dipolo daquelas pelo torque aplicado pelo campo elétrico exógeno. Essa polarização, por sua vez constitui uma interferência negativa nos mecanismos de reparo (detalhes em Arruda-Neto et al., 2014; Arruda-Neto et al., 2010; Arruda-Neto et al., 2009).

Tais resultados são surpreendentes, pois as proteínas de reparo são muito grandes (grande “momento de inércia”) e, portanto, de difícil orientação por um CEE, notadamente quando associadas à grande viscosidade do interior celular em eucariotos. Portanto, seria esperada a necessidade em se utilizar CEEs de muitos kV/cm, os quais, provocando eletroporação celular, seriam *per se* a causa da inviabilidade celular. Mas, em experimentos realizados neste Laboratório (Arruda-Neto et al., 2014; Arruda-Neto et al., 2010; Arruda-Neto et al., 2009), surpreendentemente ocorreu essa polarização das proteínas utilizando-se CEE de intensidades moderadas. Essa circunstância também será objeto deste trabalho através da descrição e interpretação de um efeito quanto-coerente no interior celular denominado *free water dipole laser* (Del Giudice et al., 1988). Esse efeito provoca a formação nas proteínas de um “momento de dipolo elétrico efetivo” muito mais intenso do que o momento de dipolo fisiológico. Com isso, seria factível rotar proteínas com CEEs pouco intensos.

2 - OBJETIVOS

2.1 - Objetivo geral

Desenvolver um modelo biofísico, a partir do conceito de sólitons, que descreva o processo de *sinalização* de DNA-proteínas de reparo, iniciador da cascata de reparo para quebras duplas (DSB) e analisar como se processa a interferência de campos elétricos exógenos sobre este processo.

2.2 - Objetivos específicos

1) Modelar o “sinal biofísico” que descreve a rapidez e especificidade da resposta da ATM à DSB. Esse sinal deve contemplar os seguintes aspectos:

a) Ser “específico” para as DSBs. Portanto, o sinal não pode sofrer interferência entre o sítio-DNA, onde se encontra uma das DSBs, e a proteína.

b) Geração e emissão em tempos curtíssimos, e captação em alguns segundos como mostrado experimentalmente por Jakob e colaboradores (2005).

2) Descrever, através do conceito quântico de *free water dipole laser*, como um CEE pouco intenso pode interferir na sinalização DSB-proteínas, apesar dos pequenos dipolos nominais das proteínas e da grande viscosidade do interior celular. Para este fim, será realizado o seguinte:

a) Cálculo do efeito da viscosidade na rotação e translação de proteínas.

b) Estimativa de quanto deveria ser o momento de dipolo efetivo de uma proteína (P_{efet}) para que esses campos elétricos moderados (máximo de $2 \frac{kV}{cm}$) consigam alinhá-la em um tempo finito.

A sequência para a execução desses objetivos constará dos seguintes desenvolvimentos: (1) modelagem biofísica da natureza do sinal formado no sítio do dano responsável pela ativação das ATMs (um transiente elétrico) como sendo aquela de um *sóliton eletromagnético*; (2) cálculo do momento de dipolo elétrico permanente “efetivo” da ATM, via o efeito quanto-coerente conhecido por *free water dipole laser*, grandeza física esta responsável pelo processo de reconhecimento dos sítios danificados; (3) descrição de como se processa a formação de um campo elétrico estático no sítio do dano, DSB, que deve funcionar como marcador para as proteínas de reparo.

3 - BACKGROUND CIENTÍFICO

3.1 - Introdução aos conteúdos em Biologia

3.1.1 Sinalização celular

As células de organismos pluricelulares têm diferentes morfologias que dependem da sua localização e, dessa forma, devem adaptar-se às células vizinhas e ao entorno que é controlado

por sinais. O mecanismo responsável pelos sinais, do seu processamento até a emissão de respostas, é conhecido como **transducção do sinal** ou **sinalização** e permite a ativação ou desativação de genes (Figura 6). Erros neste processo de informação celular são responsáveis por doenças autoimunes e diabetes, entre outras (Herráez, 2012; Orengo, 2012; Alberts et al., 2007).

Todo processo de sinalização envolve sequências ordenadas de reações dentro da célula, que são levadas a cabo por proteínas, resultando no que chamaremos de **cascata de sinalização**. Por exemplo, na sinalização celular, as proteínas receptoras localizadas na superfície da célula recodificam o sinal extracelular, levando-o para o interior e ativando uma ou mais vias de sinalização. As proteínas intracelulares de sinalização transmitem, amplificam, integram e distribuem o sinal, levando-o até as proteínas-alvo (Figura 6).

Quando se tem um funcionamento alterado, excessivo ou diminuído, dos sistemas de comunicação celular produzem-se diversas doenças, como câncer, diabetes, doenças cardiovasculares, processos degenerativos ou inflamatórios que são decorrentes de alterações no sistema de sinalização celular. Estas alterações podem ocorrer pela mudança de níveis de mensageiros ou número de receptores, mudança na funcionalidade dos componentes da cascata de transducção ou na mistura destes. Um exemplo prototípico destas disfunções é o câncer, uma doença que tem sua origem na perda de regularização na cascata de sinalização que modula a proliferação e diferenciação celular, detecção e reparação de danos e o processo de apoptose ou morte programada. Por isso, um melhor entendimento dos processos de sinalização celular poderá contribuir para o tratamento de inúmeras doenças.

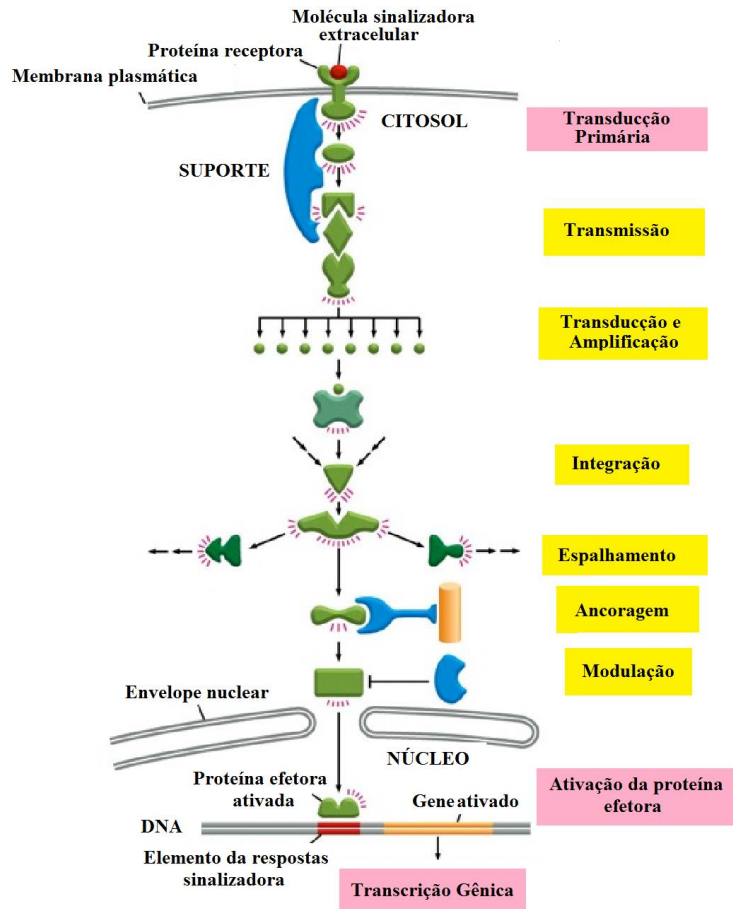


Fig. 6. Recepção, decodificação e emissão de resposta de sinais (Adaptado de Alberts et al., 2007)

3.1.2 - A molécula de DNA

O ácido desoxirribonucleico, DNA, é uma molécula heteropolimérica composta por quatro bases nitrogenadas: Adenina (A), Timina (T), Guanina (G) e Citosina (C). Essas bases encontram-se situadas ao longo de uma coluna vertebral açúcar-fosfato, conformando uma dupla fita constituída por duas cadeias complementares (fita molde e codificadora, ou anti-senso e senso, respectivamente), orientadas em sentidos opostos e unidas por pontes de hidrogênio através dos pares de bases A-T, G-C. A cadeia de DNA tem de 2,2 a 2,4 nm (um nanômetro é igual a 10^{-9} m) de largura, e distância entre pares de bases igual a 0,34 nm. As bases nitrogenadas dos nucleotídeos orientam-se para o interior da dupla fita, enquanto que os grupos fosfatos e as moléculas de açúcar orientam-se para o exterior, conformando um esqueleto de açúcar-fosfato (Figura 7) (Herráez, 2012; Orengo, 2012; Alberts et al., 2007).

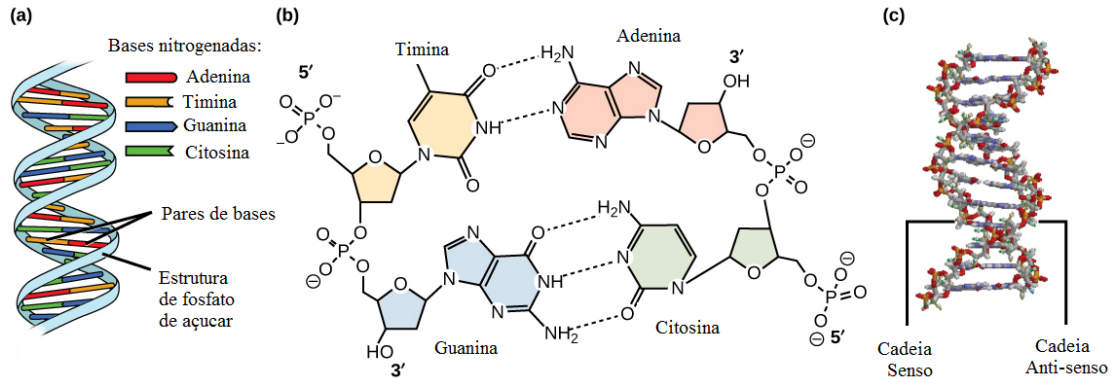


Fig. 7. O DNA apresenta (a) uma estrutura de dupla hélice, (b) ligações fosfodiéster e (c) uma cadeia senso e outra antisenso (fita molde e codificadora, respectivamente) (Adaptado de Dario-Becker, 2009).

As bases são classificadas em dois tipos: Adenina e Guanina, compostos heterocíclicos chamados purinas, enquanto que Citosina e Timina são pirimidinas. Existe uma quinta base (uma pirimidina) chamada Uracila (U) que aparece no RNA, quando substitui a Timina. A Uracila difere da Timina pela falta de um grupo de metila no seu anel, e normalmente não está presente no DNA, só aparece como produto da decomposição da Citosina. Exceções para esta regra são os bacteriófagos AR9, 3NT, I10, bem como o PBS1 (muito utilizado em pesquisas), que contêm Uracila no seu DNA, em vez de Timina (Herráez, 2012; Orengo, 2012; Alberts et al., 2007). A regra de pareamento de bases enfatiza que as forças de Van der Waals no empilhamento de bases ajudam a estabilizar a dupla fita de DNA. Desse modo, mesmo que as pontes de hidrogênio entre os pares de bases sejam ligações fracas, coletivamente estabilizam a molécula de DNA (Dryden et al., 2015; DiStasio et al., 2012; Gondim, 2012).

O DNA é a mais importante molécula do interior celular, responsável pelo material hereditário presente em todas as células de um organismo e fornece um *blue print* para as funções da célula, tais como crescimento, reprodução, morte, construção do proteoma; enfim, é o repositório de toda a **informação** que sustenta a vida. Esta informação se mantém através de um sistema de chaves (chamado código genético) que são expressas numa célula e transmitidas à descendência no processo de reprodução celular. Os segmentos de DNA que contêm a informação genética são denominados genes. O restante da sequência de DNA tem importância estrutural ou está envolvido na regulação do uso da informação genética.

O DNA está continuamente submetido a estresses, endógenos ou exógenos, como radicais livres de oxigênio, luz ultravioleta (UV), agentes químicos tóxicos, entre outros. Pela importância desta molécula, durante a evolução, as células têm desenvolvido diferentes mecanismos de reparação desses danos. Defeitos genéticos na maquinaria de reparo do DNA provocariam a acumulação de danos no DNA, interferindo na divisão e nas funções celulares, levando a falhas homeostáticas, assim como a mutações que eventualmente levam a lesões pré-neoplásicas e neoplásicas.

3.1.3 - Danos e mecanismos de reparo no DNA

Atenção especial será dada à ATM por seu papel central na cascata de sinalização de danos DSB ao DNA induzidos pela radiação ionizante (RI) em células de mamíferos (Smith et al., 2010; Garner e Costanzo, 2009; Berra et al., 2006; Bakkenist e Kastan, 2003; Bartek e Lukas, 2003) – a eficiência dos tratamentos radioterápicos poderia ser em muito aumentada através de um agente exógeno que interferisse negativamente nessa sinalização (comentado em 1.3). A cascata de sinalização da ATM ativa e recruta proteínas para o sítio do dano tais como a BRCA1/2, que induz reparo via recombinação homóloga (HR) pela interação com Rad51. Outra proteína muito importante, que é fosforilada e estabilizada pela ATM, é a p53. Esta proteína, p53, pode ser recrutada por outros membros da família PI3K e por CHK2, um substrato da ATM. A p53 é um potente ativador e/ou repressor de transcrição que pode induzir a paralisação do ciclo celular e/ou apoptose (Ferguson e Bahassi, 2013; Chen et al., 2012; Goodarzi et al., 2010; Lee et al., 2010; Lin et al., 2010; Smith et al., 2010; Dupré et al., 2006; Lee e Paull, 2005; Young et al., 2005; Zhou e Bartek, 2004). Vários estudos indicam a relação existente entre a ATM e a degeneração cerebelar, imunodeficiência, predisposição ao câncer e sensibilidade às RIs.

3.1.4 - Proteína ATM

O importante papel desempenhado pela ATM em mecanismos de reparo de DSB, bem com a dependência destes por essa proteína, foi bastante discutido na literatura, conforme sumarizado a seguir.

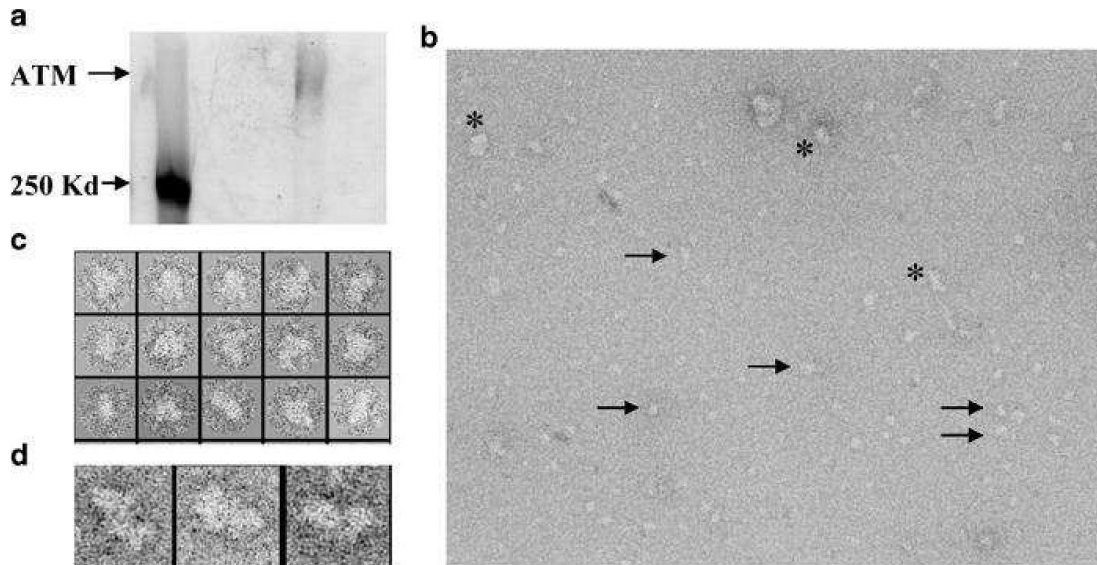


Fig. 8. Purificação da ATM e microscopia eletrônica. **(a)** gel SDS (6%) de ATM recombinante purificado. Banda 1, marcador molecular a 250 kDa. Banda 2, ATM purificada. **(b)** Campo de micrografia eletrônica de ATM em negativo. As setas apontam algumas moléculas de ATM representativas e os asteriscos (*) indicam os grandes conglomerados de ATM. **(c)** Imagens de projeções individuais das ATMs selecionadas nas micrografias. **(d)** Dímeros de ATM. (Adaptado de Llorca et al., 2003)

Ressalte-se, inicialmente, que a ATM é codificada pela região 11q22-23, com 3056 aminoácidos (aa) com um domínio C-terminal catalítico (-300 aa) e tem um tamanho aproximado de 370 kDa, como pode ser visto na Figura 8a. O diâmetro da proteína varia entre 190 Å e 255 Å (Rivera-Calzada et al., 2015; Cremona e Behrens, 2013; Goodarzi et al., 2010; Bakkenist e Kastan, 2003; Llorca et al., 2003) e está localizada preferencialmente no citoplasma. Em células não danificadas, a ATM encontra-se em forma de dímeros (duas proteínas unidas) inativos até a ocorrência de uma DSB, quando então esses dímeros são rapidamente induzidos a fosforilar na serina 1981 (S1981) (Jakob et al., 2005) separando-se em dois monômeros (uma única proteína) ativos (Rivera-Calzada et al., 2015; Stracker et al., 2013; Smith et al., 2010; Garner e Costanzo, 2009, Lee e Paull, 2009; Dupré et al., 2006; Young et al., 2005; Bakkenist e Kastan, 2003). Os monômeros participam no reparo por duas vias: diretamente recrutando as proteínas de reparo e detendo o ciclo celular.

Pela via direta, além da fosforilação na S1981, ocorrem fosforilações adicionais necessárias para a total ativação da ATM e das vias de sinalização correspondentes (Weber e Ryan, 2015; Stracker et al., 2013; Vega, 2013; Koslov et al., 2011). Essas fosforilações adicionais incluem um extenso elenco de proteínas, entre elas o complexo MRN, a TIP60, a Lys

3016, a p53, a BRCA1 e H2AX, cujas funções específicas estão descritas na literatura (Weber e Ryan, 2015; Shiloh e Ziv, 2013; Stracker et al., 2013; Vega, 2013; Derheimer e Kastan, 2010).

No caso do ciclo celular existem três pontos importantes para deter ou atrasar o seu progresso: G1/S, intra-S e G2/M. No caso de DSB, o primeiro ponto de controle é o G1, em que a ATM fosforila a p53 em Ser15 e provoca a parada do G1, dando tempo para que o dano seja reparado. A p53 é estabilizada por CHK2, HDM2 e MDMX, todas fosforiladas pela ATM, em que, por exemplo, a HDM2 previne a ubiquitinação da p53 estabilizando-a para iniciar a ativação da p21 que inibe o progresso de G1 à fase S. Se a DSB ocorrer na fase S a célula tem outras vias, também dependentes da ATM, para bloquear a replicação. A ATM fosforila a CHK2 que degrada a fosfatase CDC25A, que, por sua vez, inibe a CDK2 necessária para a síntese de DNA. Células com mutações na rota ATM/CHK2/CDC25A/CDK2 são incapazes de inibir a síntese de DNA. A rota paralela à anterior depende do complexo MRN, mas a ATM fosforila a NBS1, e, portanto, também participa desta via (Weber e Ryan, 2015; Shiloh e Ziv, 2013; Stracker et al., 2013; Vega, 2013; Derheimer e Kastan, 2010). No ponto de controle G2/M, que é o último para prevenir que células danificadas continuem com a mitose, existem vários mecanismos paralelos dependentes da ATM para deter a fase G2, estando envolvidos alguns substratos da ATM entre eles a CDC25, a Rad17 e a BRCA1, cujas funções são amplamente descritas na literatura (Weber e Ryan, 2015; Shiloh e Ziv, 2013; Stracker et al., 2013; Vega, 2013; Derheimer e Kastan, 2010).

Pelo relato acima apresentado evidencia-se que a ATM é peça chave na sinalização e reparo de danos tipo DSB no DNA, sendo dessa forma responsável pela manutenção da integridade genômica.

O reparo das DSB é importante para a sobrevivência da célula, mas no caso de células cancerígenas o objetivo é oposto. Num tratamento radioterápico, por exemplo, procura-se maximizar danos ao DNA através da exposição do tumor a doses elevadas. Caso fosse possível inibir a ação da ATM, ou das proteínas iniciadoras da cascata de reparo, por algum agente exógeno, a eficiência do tratamento seria em muito aumentada e com doses radiológicas bem menores. Esse procedimento, conhecido por *radiossensitização*, é uma das prioridades em estudos oncológicos, e também constitui um dos objetivos deste trabalho, ou seja, “propor uma técnica original e efetiva de *radiossensitização* que poderia ser utilizada em radioterapia”. Neste

caso, será necessário encetar um estudo mais detalhado das propriedades físicas da ATM (mais detalhes no Capítulo 4).

A ATM é uma proteína alfa-hélice. Nesta conformação, a cadeia da proteína é bem enrolada, como uma mola (solenóide, Figura 9 (a)). O esqueleto do polipeptídeo é enrolado na parte interior da bobina, enquanto que os grupos R estão saindo da bobina e existem ligações de hidrogênio entre o resíduo i e o resíduo $i + 4$ (Figura 9 (c)). A estabilidade da alfa-hélice depende do dipolo que está presente em cada aminoácido. O dipolo é mais relevante nas extremidades da hélice, formando uma carga positiva parcial na extremidade terminal amino e uma carga parcial negativa na extremidade terminal carboxila (Figura 9 (b)). Isto deriva numa carga superficial tipo dipolo elétrico pelas interações secundárias e terciárias entre seus domínios (Weber e Ryan, 2015; Shiloh e Ziv, 2013; Stracker et al., 2013; Nelson e Cox, 2008; Ophadt, 2003, e ver seção 3.2.5 e 3.2.6, propriedades físicas dos solenóides e dos dipolos elétricos, respectivamente).

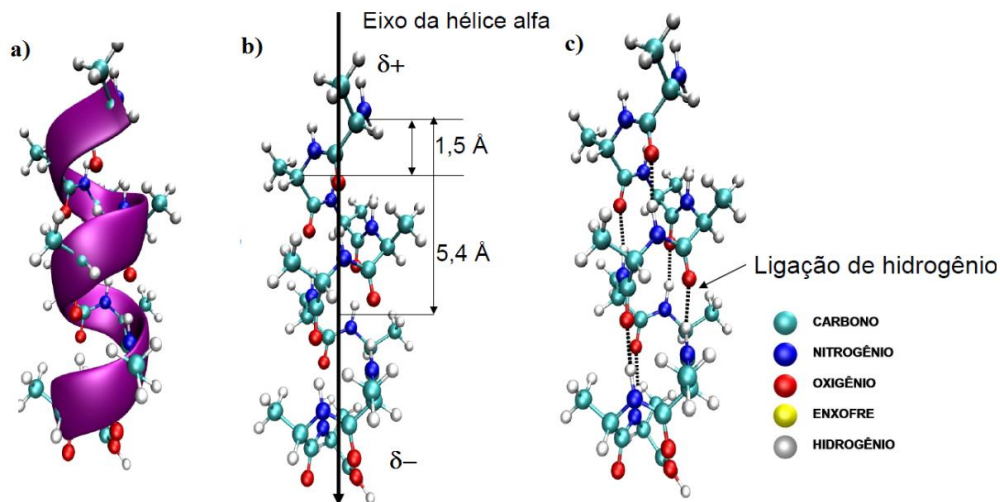


Fig. 9. (a) estrutura esquemática da bobina. (b) o dipolo formado nas extremidades. (c) as ligações de hidrogênio entre os grupos amino e carboxila mostradas com linhas tracejadas (meramente ilustrativa, pois adicionando-se todos os átomos ficaria difícil visualizar o solenóide, adaptado de <http://withfriendship.com/images/g/33606/what-is-an-alpha-helix.gif>).

3.2 - Introdução aos conteúdos de Física.

3.2.1 - Interação das radiações com a matéria.

A radiação é energia que se propaga a partir de uma fonte emissora, através de qualquer meio, em forma de ondas eletromagnéticas ou partículas subatômicas. Resumindo, a radiação é energia em trânsito e pode ser classificada quanto ao:

- Elemento condutor de energia:
 - Radiação eletromagnética: quando são fótons.
 - Radiação corpuscular: quando são partículas (prótons, nêutrons, etc.)
 - Radiação gravitacional: quando são grávitons

- Fonte de radiação:
 - Radiação solar: causada pelo sol.
 - Radiação Cherenkov: causada por partículas com a velocidade superior à da luz no meio.
 - Radioatividade: núcleos instáveis.

- Tipos de radiação:
 - Radiação alfa.
 - Radiação beta.
 - Radiação gama.
 - Raios X.

As ondas eletromagnéticas são caracterizadas pelo comprimento ou frequência da onda. O conjunto de todas as possíveis frequências constitui o espectro eletromagnético, com frequências tão baixas quanto as ondas de rádio, TV, microondas, radiação infravermelha, luz visível, radiação ultravioleta, e muito altas como os raios X e raios gama (Figura 10)

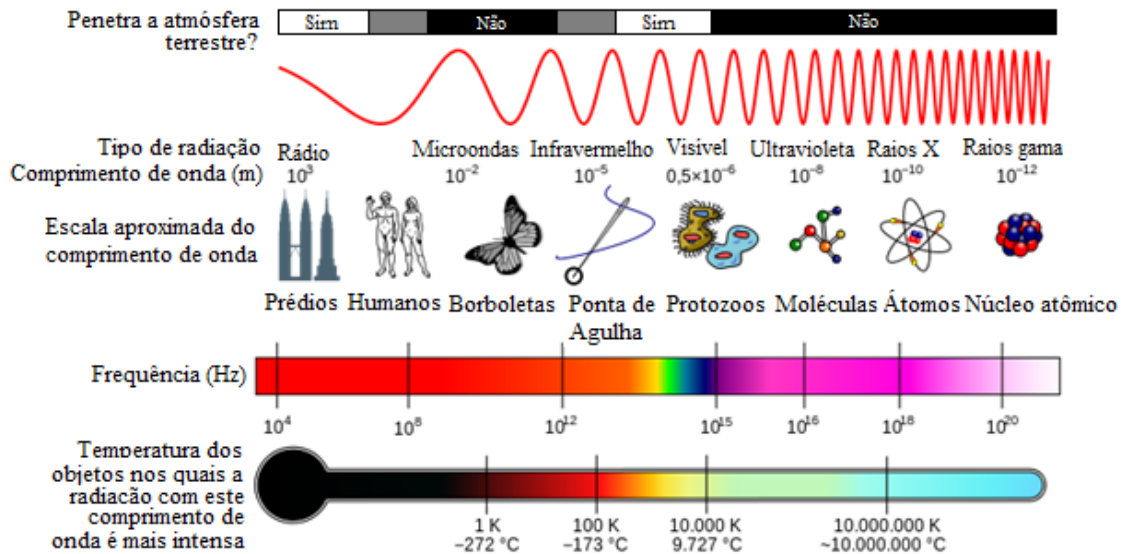


Fig. 10. Um diagrama do espectro eletromagnético, mostrando o tipo de radiação, comprimentos de onda (com exemplos), frequências e temperatura de emissão do corpo negro. (Adaptado de Ramírez e Rodríguez, 2014).

Classificando-se as radiações pela quantidade de energia transportada, **radiação ionizante** (acima de 10 eV) é a radiação suficiente para ionizar os átomos, moléculas e quebrar ligações químicas. As substâncias com excesso de prótons e nêutrons são conhecidas como **radioativas**. O excesso é corrigido eventualmente com a liberação de prótons ou nêutrons em forma de partículas α , que são núcleos de hélio, ou em forma de partículas β , que podem ser elétrons ou pósitrons, ou ainda são liberados fótons de alta frequência. Teríamos então (Figura 11),

- Radiação α : altera a massa do núcleo, e tem baixo poder de penetração.
- Radiação β : não altera a massa do núcleo, pois consiste na conversão de um próton em um nêutron ou vice-versa. Tem poder de penetração médio.
- Radiação γ : o estado excitado do núcleo muda para outro de menor energia, que ainda poderá continuar instável e emitir radiação de qualquer outro tipo. Alto poder de penetração, dado que os fótons não têm carga elétrica.

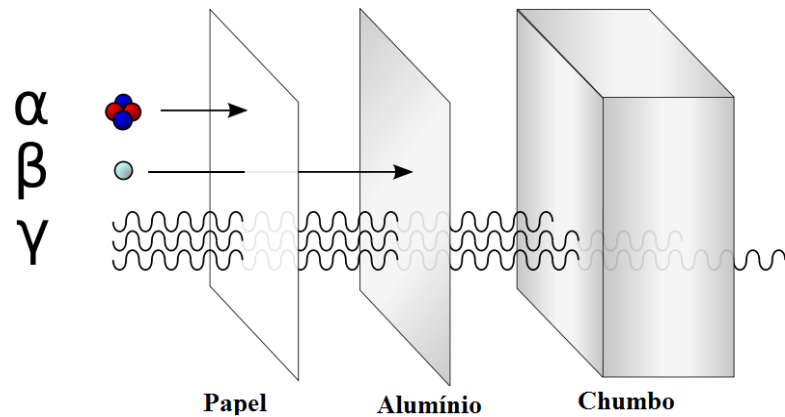


Fig. 11. Penetração dos três tipos de radiação ionizante: partículas alfa (α) são detidas por uma folha papel, as partículas beta (β) não são detidas pelo papel e sim por alumínio e a radiação gama (γ) é amortecida por materiais de grandes densidades como o chumbo. (Adaptado de Courtesy of Ehamberg and Stannered on Wikimedia Commons, available under Creative Commons Attribution 2.5 Generic license)

Uma grandeza que indica a quantidade de energia depositada no meio que a radiação está atravessando é a **transferência linear de energia** (LET, Linear Energy Transfer). A LET mede duas propriedades muito importantes: a capacidade de penetração e a dose que é depositada. Dose é a quantidade de energia depositada por unidade de massa do meio. A unidade de medida é o Gray (Joule por kg).

1. Um feixe de radiação de alta LET (por exemplo, partículas alfa) deposita toda a energia numa região pequena do meio, perdendo assim energia rapidamente. Com isso, diminui muito seu poder de penetração impossibilitando atravessar meios muito densos. Por isso, deposita uma alta dose no material. Energia depositada localmente.
2. Um feixe de radiação de baixa LET (por exemplo, a radiação gama) perde energia gradativamente à medida que atravessa um meio, conseguindo assim percorrer materiais muito densos e depositar uma baixa dose no material. Energia não depositada localmente.

Há duas formas principais nas quais a radiação ionizante interage com componentes e estruturas biológicas como o DNA: interação direta com uma ou ambas fitas (efeito direto), ou geração de radicais livres a partir da radiólise das moléculas de água do citosol, que interagem com outras estruturas biológicas além do DNA (efeito indireto) (Figura 12). O efeito indireto é o

responsável pelo aumento do estresse oxidativo, dos níveis de radicais livres e de espécies reativas do oxigênio (ROS) e nitrogênio (RNS).

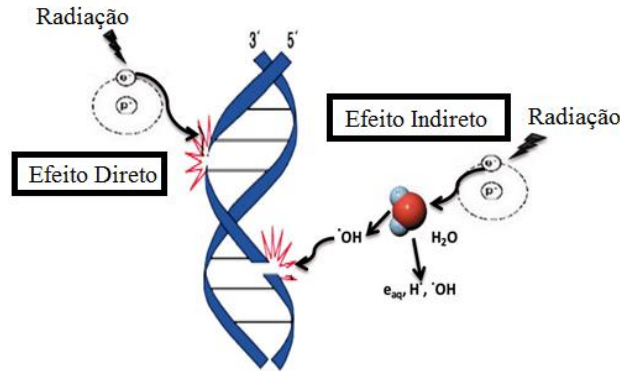


Fig. 12. Representação dos efeitos direto e indireto da radiação ionizante no DNA (Adaptado de Kwan-Hoong, 2003).

A sigla ROS (Reactive Oxygen Species) é usada para definir um grupo de substâncias oxidantes, radicais livres ou algumas espécies moleculares capazes de gerar radicais livres. O ROS compreende os radicais do óxido nitroso NO^\bullet e o radical $O_2^{\bullet-}$ (Figura 13). Os danos por ROS nas macromoléculas celulares fazem com que o ciclo celular seja detido até o dano ser reparado ou a célula sofrer apoptose. Portanto, as células têm mecanismos defensivos desenvolvidos contra o dano oxidativo por ROS (detalhes em 3.1.3).

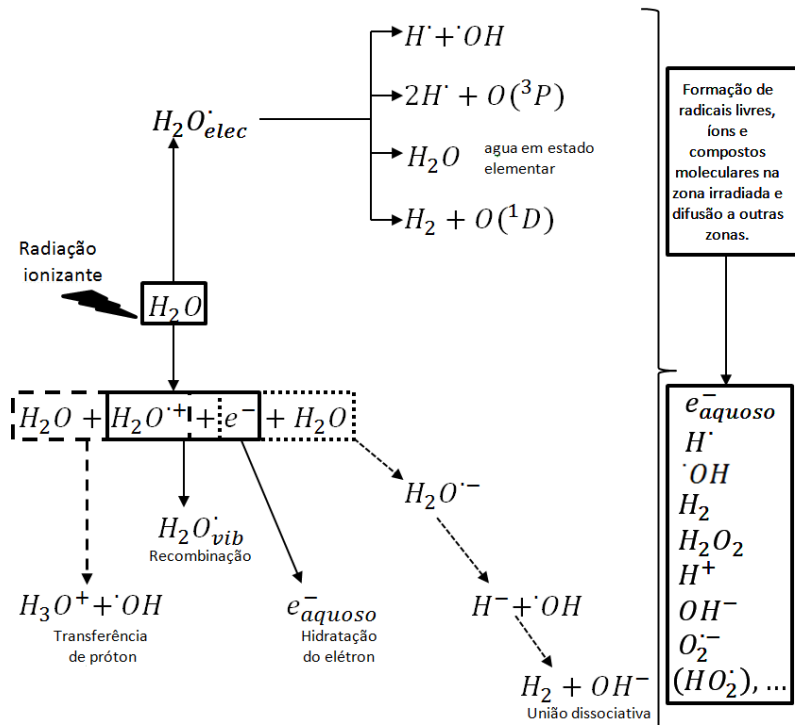


Fig. 13. Reações mais frequentes da radiólise e seus produtos mais importantes (Adaptado de Kwan-Hoong, 2003).

3.2.2 - Corrente elétrica

A **intensidade de corrente elétrica**, ou simplesmente **corrente elétrica**, é a quantidade de cargas elétricas (geralmente elétrons) que percorre um material por unidade de tempo. No Sistema Internacional de Unidades expressa-se em Coulombs por segundo (C/s), denominada Ampère (A). Devido a razões históricas, convencionou-se atribuir o movimento de cargas positivas às correntes elétricas, embora seja sabido que os portadores de cargas são os elétrons, cargas negativas, e que estes se deslocam no sentido contrário ao convencional (Figura 14).

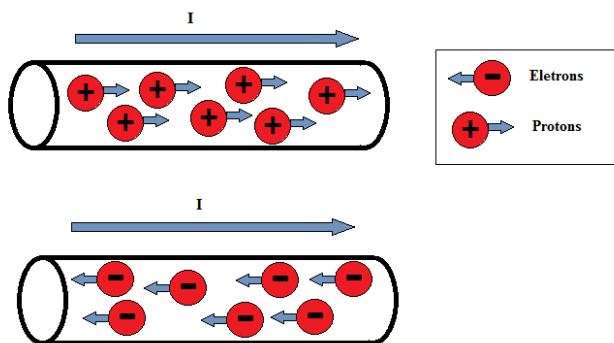


Fig. 14. A corrente elétrica é definida por convenção na direção contrária ao deslocamento dos elétrons (meramente ilustrativa).

Em um material condutor em seu estado natural os elétrons livres movimentam-se em equilíbrio termodinâmico, ou seja, com velocidade média nula. O centro de massa dessa nuvem de elétrons está em repouso. Quando se aplica uma fonte de tensão externa (como, por exemplo, uma bateria) aos extremos do material condutor gera-se um campo elétrico em seu interior. Sob a ação desse campo os elétrons livres deslocam-se produzindo uma corrente elétrica.

3.2.3 - A condução elétrica no DNA

Daniel Eley e D. I. Spivey (1962) foram os primeiros cientistas a sugerir que o DNA poderia ser um condutor de corrente elétrica. Esses pesquisadores propuseram que as interações π - π entre os pares de bases do DNA possibilitariam migrações de cargas elétricas. Estudos posteriores mostraram que o DNA se comportava como condutor, isolante e semiconductor. Em pesquisas realizadas se chegou a que as propriedades condutoras do DNA dependem entre outras

da disposição dos nucleotídeos. A ordem dos nucleotídeos não é aleatória, e dessa ordem depende a capacidade do DNA para conduzir a corrente elétrica. O DNA utiliza suas propriedades de condução elétrica para comunicar às proteínas problemas na fita; então, o sinal bioquímico para que as proteínas sejam induzidas a atuar seria a não condução adequada de eletricidade. Essas descobertas são utilizadas em nanotecnologia para dispositivos nanoeletrônicos como chips de DNA (Ribero, 2014; Watson et al., 2014; Yoo-Kong e Liewrian, 2014; Gondim, 2012; Glowacki et al., 2013).

Alguns experimentos e estudos em DNA têm mostrado que as reações de transferência eletrônica dentro da molécula podem ser explicadas, conforme apresentado em 1.4.1, por três mecanismos principais de transporte de cargas: tunelamento coerente, tunelamento incoerente e o *thermal hopping*. Mais especificamente,

- **Tunelamento coerente:** ocorre do doador para o receptor através das variações de energias nos pares de bases. A carga positiva ou buraco é a menor variação de energia entre os pares de bases e encontra-se entre os pares de base G-C. Por outro lado, os pares de base A-T funcionam como barreiras de potencial para a passagem das cargas positivas. Assim, as cargas positivas podem tunelar entre as G-C ao longo da cadeia. Neste caso, em que a carga positiva pode tunelar ao longo do DNA, o elétron não troca energia com a molécula na transferência. A função de onda que descreve este processo não tem perda de coerência de fase. (Figura 15a, Gondim, 2012).
- **Tunelamento incoerente ou sequencial:** neste caso, o tunelamento ocorre sequencialmente entre as G-C mais próximos. Com isto, a função de onda tem uma perda de coerência por efeitos de defasagem, como por exemplo, as vibrações moleculares ou espalhamento (Figura 15b, Gondim, 2012).
- ***Thermal hopping*:** os portadores de carga saltam várias barreiras de energia, em lugar de atravessá-las. Esse processo requer uma quantidade maior de energia térmica (Figura 15c, Gondim, 2012).

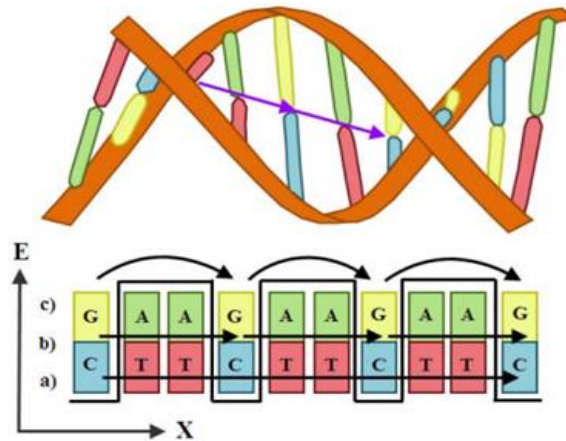


Fig. 15. Esquema da transferência de cargas no DNA: a) Tunelamento coerente, b) Tunelamento incoerente e c) *Thermal hopping*. O eixo vertical representa a energia E, e o eixo horizontal representa a posição espacial X. (Adaptado de Gondim, 2012).

Pelo anteriormente mostrado o DNA pode ser tratado como um circuito elétrico (Ribero, 2014; Watson et al., 2014; Yoo-Kong e Liewrian, 2014; Glowacki et al., 2013), propriedade que será usada neste trabalho para a modelação do processo de sinalização no reparo do DNA.

3.2.4 - Circuito elétrico

A palavra circuito nos remete a um caminho fechado onde o início é também o final. Um circuito elétrico, então, é um caminho fechado em que a corrente elétrica está circulando. Os circuitos podem conter diferentes elementos elétricos como resistores, indutores, capacitores, diodos, entre outros.

Após diversos estudos, Oersted verificou que em todo fio percorrido por uma corrente elétrica é gerado um campo magnético. Essa comprovação foi feita a através da movimentação da agulha de uma bússola num experimento básico que pode ser encontrado na literatura (detalhes em Freedman et al., 2009; Assis e Hernandez, 2009). Esse campo magnético é proporcional ao campo elétrico que o produz, isto é, quanto mais intensa é a corrente elétrica maior é o campo elétrico produzido à sua volta. Portanto, campos magnéticos envolvem materiais com corrente elétrica e podem ser detectados pela força que exercem sobre alguns materiais ou cargas elétricas em movimento. Por exemplo, se se colocam limalhas metálicas (pequenas partículas de ferro ou aço) ao redor de um fio condutor percorrido por uma corrente

elétrica, se observará que estas se organizam num círculo centrado no condutor, como pode ser visto na Figura 16 (Freedman et al., 2009).

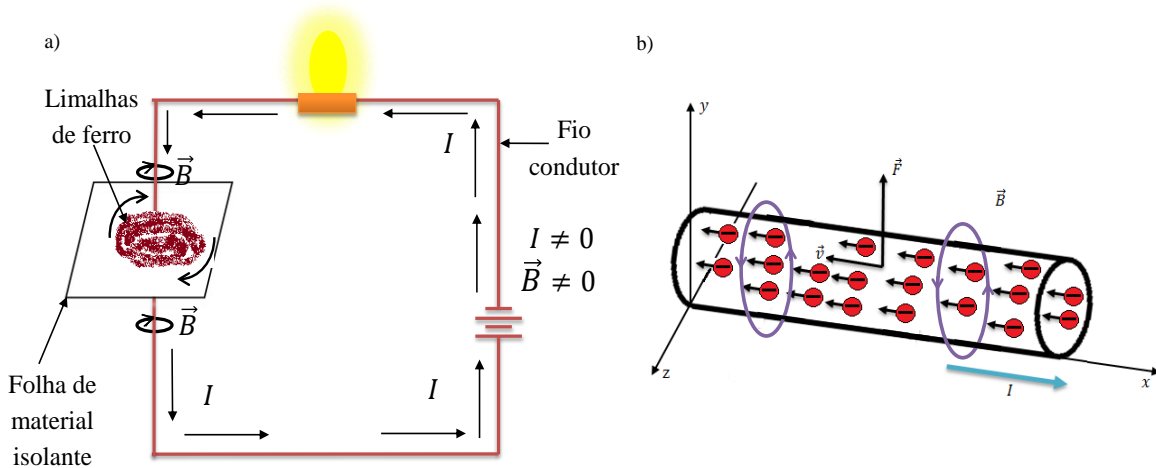


Fig. 16. a) Campo magnético ao redor de um condutor produzido pelo fluxo elétrico, b) Elétrons no condutor e a força magnética gerada pela corrente elétrica.

Uma das aplicações mais conhecidas são os eletroímãs. Por exemplo, um solenoide quando percorrido por uma corrente elétrica, cria um campo magnético em seu interior e exterior apresentando características de ímã em barra, constituindo um ímã obtido por meio de corrente elétrica, um eletroímã.

3.2.5 - Solenoides

Um solenoide é uma bobina enrolada em uma espiral apertada. O termo foi cunhado pelo físico francês André-Marie Ampère para designar uma bobina helicoidal (Freedman et al., 2009; Assis e Hernandez, 2009).

Na Física, o termo refere-se especificamente a um condutor enrolado em forma de hélice, percorrido por uma corrente elétrica. Possui propriedades de um campo magnético com direção coincidente com o eixo do solenoide e com sentido igual ao da corrente elétrica (Figura 17). Os solenoides têm frequências próprias que serão denominadas neste trabalho por ω_p .

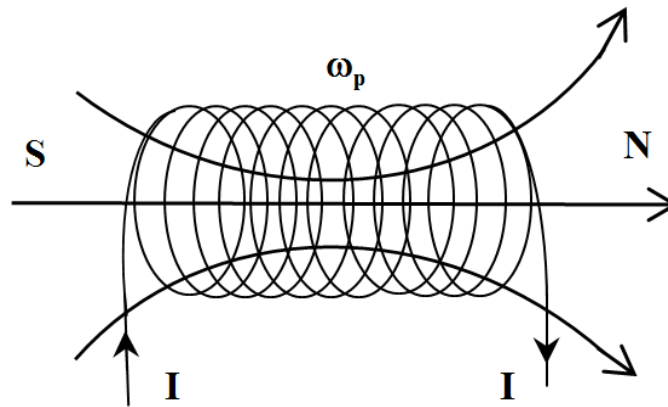


Fig. 17. Solenoide com frequência própria ω_p .

Na natureza, estão presentes vários tipos de solenoides naturais. Por exemplo, nas macromoléculas, proteínas alfa-hélices, plantas, no DNA enrolado nas histonas, entre outros (Figura 18). Neste trabalho, usaremos as propriedades dos solenoides na modelagem de proteínas de reparo (ATM) que apresentam conformação alfa-hélice ou senoidal.

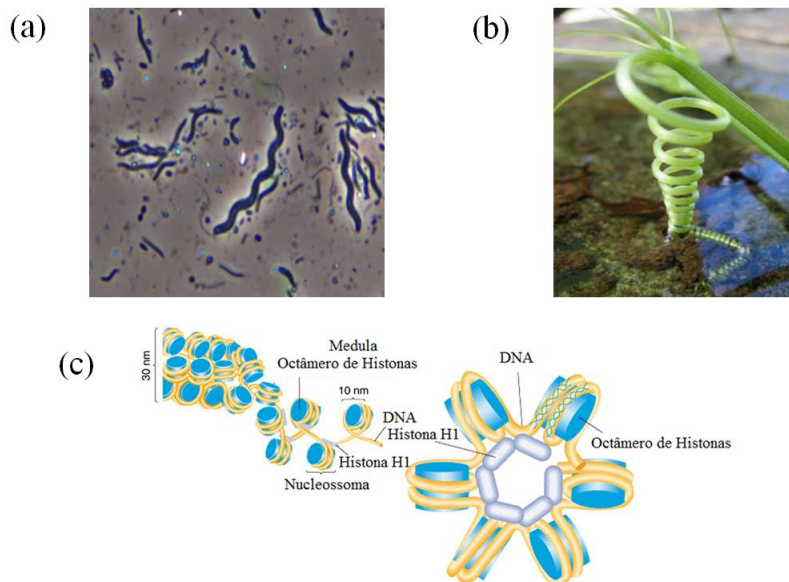


Fig. 18. (a) Espirilos: bactérias em forma de solenoide, ou helicoidais. (b) Planta em forma helicoidal. (c) Enrolamento tipo solenoide do DNA nas histonas. (Imagens da web).

Os solenoides são utilizados numa grande quantidade de aplicações, como por exemplo na indústria, em eletrodomésticos, eletrônica automotiva, além de muitos campos em que a eletrônica esteja presente.

3.2.6 - Dipolos elétricos

Um **dipolo elétrico** é um sistema de duas cargas com intensidades iguais, mas de sinais opostos, e geralmente separadas por pequenas distâncias (Figura 19). Na natureza há muitos exemplos de dipolos elétricos, como as moléculas de água, proteínas, entre outros.

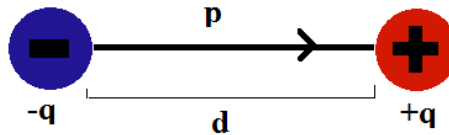


Fig. 19. Dipolo elétrico formado por duas cargas iguais e opostas ($-q$ e $+q$) a uma distância d .

Os dipolos elétricos expostos a campos elétricos tendem a reorientarem-se na direção do campo até alcançarem alinhamento completo (Figura 20), como no caso da água (ver Figura 20c), de moléculas orgânicas, de proteínas, etc. (Freedman et al., 2009; Assis e Hernandez, 2009).

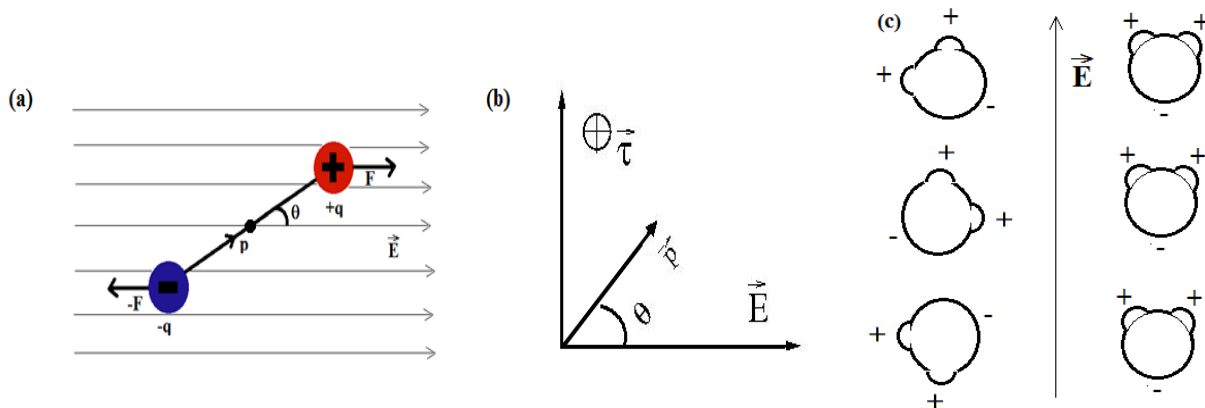


Fig. 20. (a) Um dipolo elétrico com momento dipolar p submerso num campo externo uniforme \vec{E} . (b) Uma vista em perspectiva para visualizar o momento produzido e o $\vec{\tau}$ torque. (c) Moléculas de H_2O num campo elétrico \vec{E} .

Submetendo-se um dipolo a um campo elétrico \vec{E} uniforme, ambas as cargas puntiformes ($q, -q$), separadas por uma distância $2r$, experimentam forças de igual intensidade em sentidos opostos ($\vec{F}, -\vec{F}$). Em consequência, a força resultante é zero e não há aceleração linear, mas esse binário de forças apresenta um torque resultante (τ_E) em relação ao centro do dipolo (Figura 20). A intensidade de τ_E é dada por:

$$\tau_E = 2F(r \sin \theta) = 2rF \sin \theta \quad (1)$$

Uma vez que $F = qE$ e $p = 2rq$, obtém-se:

$$\tau_E = 2rF \sin \theta = pE \sin \theta \quad (2)$$

Assim, um dipolo elétrico submetido a um campo elétrico externo \vec{E} experimenta um torque que tende a alinhá-lo com o campo dado por:

$$\vec{\tau}_E = \vec{p} \times \vec{E} \quad (3)$$

Os respectivos vetores estão na Figura 20 (b). O vetor \vec{p} é o **momento dipolar elétrico**, cujo módulo é o produto da carga q pela distância d , e com direção da carga negativa à positiva:

$$\vec{p} = q\vec{d} \quad (4)$$

3.2.7 - Equações de Maxwell

Interações eletromagnéticas serão utilizadas neste trabalho no modelo desenvolvido para a descrição da sinalização DNA-proteína. O ponto de partida será o conjunto das Equações de Maxwell.

Os fenômenos elétricos e magnéticos são unificados numa única teoria, o Eletromagnetismo, cujos fundamentos foram estabelecidos por Michael Faraday e completamente formulados pela primeira vez por James Clerk Maxwell. Maxwell demonstrou, com essa nova teoria, que todos os fenômenos elétricos e magnéticos poderiam ser descritos por quatro equações, conhecidas atualmente como Equações de Maxwell (Tabela 1).

Nome	Forma diferencial	Forma integral
Lei de Gauss:	$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0}$	$\oint_S \vec{E} \cdot d\vec{s} = \frac{q}{\epsilon_0}$
Lei de Gauss para o campo magnético:	$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0$	$\oint_S \vec{B} \cdot d\vec{s} = 0$
Lei de Faraday:	$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t}$	$\oint_C \vec{E} \cdot d\vec{l} = -\frac{d}{dt} \int_S \vec{B} \cdot d\vec{s}$
Lei de Ampère generalizada:	$\vec{\nabla} \times \vec{B} = \mu_0 \vec{J} + \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t}$	$\oint_C \vec{B} \cdot d\vec{l} = \mu_0 \int_S \vec{J} \cdot d\vec{s} + \mu_0 \epsilon_0 \frac{d}{dt} \int_S \vec{E} \cdot d\vec{s}$

Tabela 1. Equações de Maxwell. Aqui \vec{E} é o campo elétrico que atravessa uma superfície S, ρ é a densidade de carga no vácuo, q é a carga, ϵ_0 é a permissividade elétrica no vácuo, \vec{B} campo magnético, C uma curva fechada, μ_0 é a permeabilidade magnética no vácuo e \vec{J} é a densidade de corrente.

As equações de Maxwell para o Eletromagnetismo representa a unificação das Leis de Gauss para eletricidade e magnetismo, da Lei de Ampère generalizada e da Lei de Faraday para a indução eletromagnética. A primeira das equações (Equação 5) descreve o campo elétrico quando as cargas estiverem em repouso (Lei de Gauss, que relaciona o fluxo do campo elétrico e uma superfície fechada).

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = \frac{\rho}{\epsilon_0} \quad (5)$$

Esta lei relaciona os campos elétricos com as cargas elétricas, sendo equivalente à Lei de Coulomb em situações estáticas. Mas é uma lei mais geral por ser válida em situações não eletrostáticas, nas quais a Lei de Coulomb não é aplicável.

A segunda equação (Equação 6), a Lei de Gauss para o magnetismo, traduz em forma matemática a impossibilidade de separar os polos magnéticos de um ímã, evidenciando a não existência de monopolos magnéticos.

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = 0 \quad (6)$$

De acordo com essa lei, as linhas dos campos magnéticos são contínuas ou fechadas. Os campos magnéticos, diferentemente dos elétricos, não começam e terminam em cargas diferentes. Se, em algum momento demonstra-se que $\vec{\nabla} \cdot \vec{B} \neq 0$, se demonstrará também a existência de monopolos magnéticos e, assim, a Lei de Gauss para o campo magnético deve se modificar para adotar a forma: $\vec{\nabla} \cdot \vec{B} = \rho_m$ (onde ρ_m corresponde à densidade de monopolos magnéticos).

A lei de Faraday (Equação 7), a terceira equação de Maxwell, descreve as características do campo elétrico que origina um fluxo de campo magnético variável. Os campos magnéticos variáveis no tempo induzem assim campos elétricos rotacionais.

$$\vec{\nabla} \times \vec{E} = -\frac{\partial \vec{B}}{\partial t} \quad (7)$$

Em outras palavras, estabelece que a voltagem induzida no circuito fechado é diretamente proporcional à rapidez com que o fluxo magnético varia com o tempo quando atravessa uma superfície qualquer. Além disso, uma voltagem pode ser induzida ao se variar o fluxo magnético que atravessa uma superfície dada. É a base conceitual associada ao funcionamento dos motores e geradores elétricos.

Por último, a Lei de Ampère generalizada (Equação 8) expressa em termos de campos magnéticos e correntes elétricas a descoberta de Oersted:

$$\vec{\nabla} \times \vec{B} = \mu_0 \vec{J} + \mu_0 \epsilon_0 \frac{\partial \vec{E}}{\partial t} \quad (8)$$

No caso específico estacionário, esta relação corresponde à Lei de Ampère ($\vec{\nabla} \times \vec{B} = \vec{J}$). Para campos não estacionários (os que variam com o tempo), Maxwell reformulou esta lei, adicionando-lhe o último termo, indicando que o campo elétrico que varia com o tempo produz um campo magnético.

As equações de Maxwell são consideradas o marco final da Física Clássica. Em 1900, Max Planck deu início à chamada Física Quântica com seus postulados sobre a radiação de

corpos negros e Einstein em 1905 com a Teoria da Relatividade e o Efeito Fotoelétrico abre caminho para outras descobertas.

3.2.8 - Transiente elétrico.

O conceito de transiente elétrico será um dos pontos de partida na modelagem da geração do sinal DNA-proteína, desenvolvida neste trabalho. (4.1.1).

Um *transiente elétrico* é produzido por uma mudança brusca de tensão, em um curto intervalo de tempo. Num circuito de corrente alternada (AC), esse fenômeno representa uma significativa sobrevoltagem na onda senoidal da corrente AC (Figura 21).

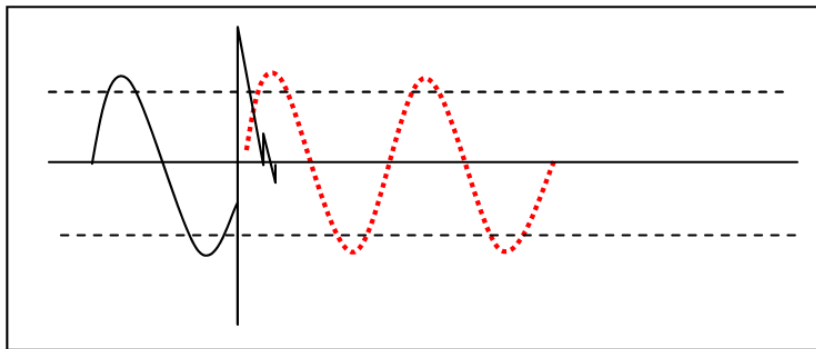


Fig. 21. Tensão transiente produzida por um corte abrupto de energia, sobreposta à corrente (senoidal) de um circuito AC (Adaptado de <http://www.itriplee.com/disturbios-electricos/cortes-de-energia.html>).

Existem duas formas de gerar transientes em equipamentos elétricos: via perturbações externas ou via uma resposta do próprio circuito elétrico na sua abertura ou fechamento. No caso de perturbações externas, elas podem ser por indução eletromagnética, como raios que caem perto das redes elétricas que induzem um aumento instantâneo da voltagem na rede. No caso da abertura de um circuito, a energia armazenada em forma de campo magnético em circuitos indutivos é usada para forçar a manutenção da corrente no circuito. Isto se traduz em um pulso rápido de alta tensão, um transiente, que produz uma faísca na chave do circuito, se não se tem uma proteção instalada.

Todo circuito elétrico tem, por menor que seja, capacitâncias e indutâncias associadas que o fazem responder de forma oscilatória transitória quando é ligado, chaveado ou desligado.

O comportamento de um circuito simples, como o mostrado na Figura 22 (meramente ilustrativo), pode-nos ajudar a entender melhor a geração de um transiente eletromagnético.

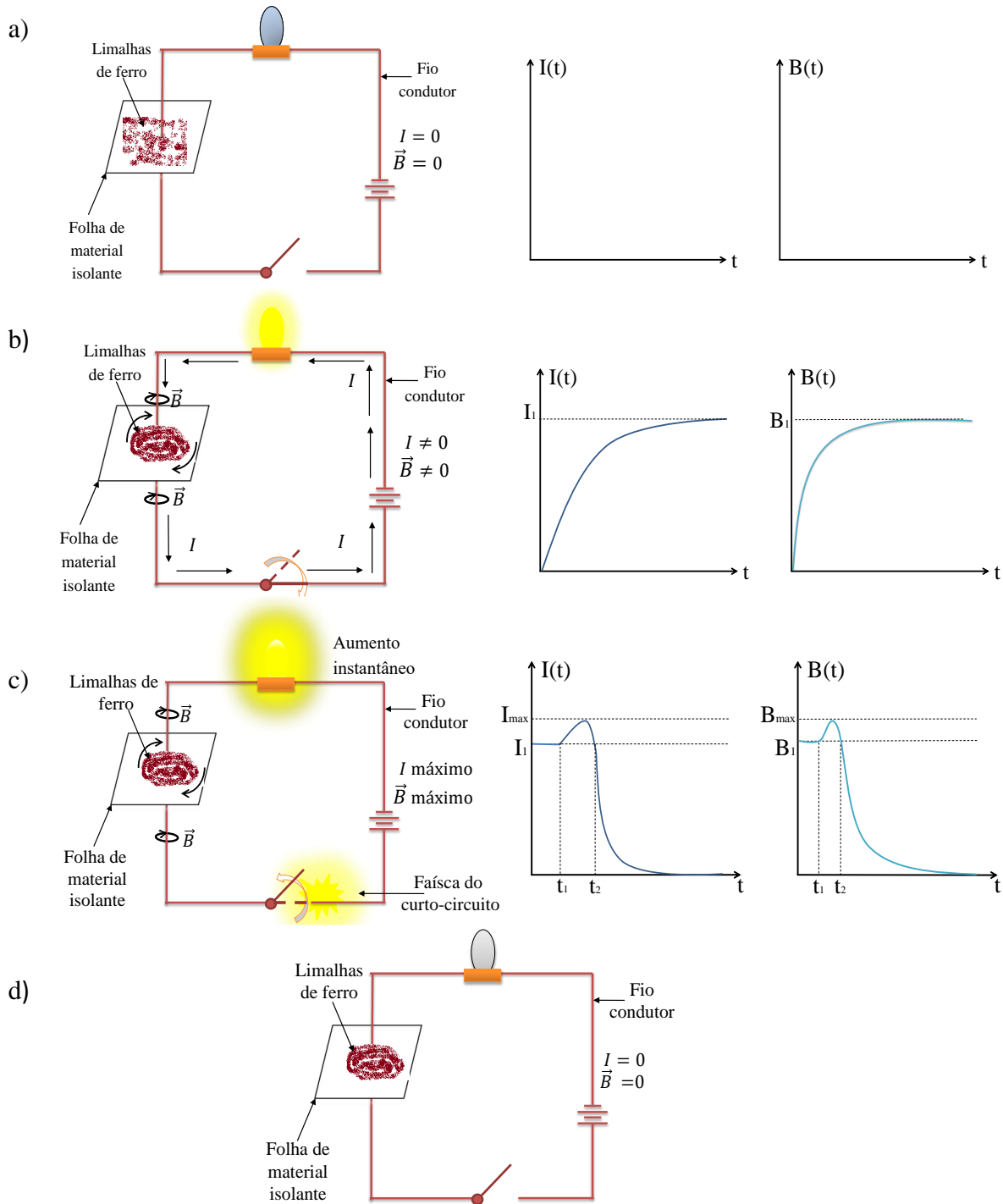


Fig. 22. Circuito elétrico simples (meramente ilustrativo).

O circuito está conformado por uma fonte de corrente, um interruptor, uma lâmpada e uma folha de material isolante com limalhas de ferro. Em (a) temos o circuito aberto, em que não há circulação de corrente elétrica, e nas limalhas observa-se que não se está gerando campo magnético (indicado pelos zeros nos gráficos de $\vec{I}(t)$ e $\vec{B}(t)$). Em (b) fecha-se o circuito, permitindo-se passagem de corrente elétrica crescente até seu valor de saturação I_1 , a lâmpada acende e pode-se observar como as limalhas formam anéis ao redor do condutor, atraídas pelo campo magnético gerado (os gráficos descrevem essa circunstância, em que o comportamento do campo magnético associado é similar ao da corrente). Em (c), é interrompida abruptamente a circulação da corrente com a abertura do circuito, produzindo-se um transiente que eleva a corrente até um I_{\max} por um curto intervalo de tempo (entre t_1 e t_2 – vide gráficos correspondentes). Esse aumento repentino (transiente) diminui exponencialmente até zero. O ar existente entre os contatos ioniza-se dando origem a uma faísca, muito característica em circuitos chaveados.

3.2.9 - Sólitons

Em 1834, o engenheiro escocês John Scott Russell, enquanto conduzia experimentos navais no canal de Edimburgo, observou ondas que se deslocavam ao longo do canal por vários quilômetros sem se deformar. Nos anos posteriores, Russel realizou vários experimentos estabelecendo as seguintes características para esse fenômeno por ele denominado “ondas solitárias”,

- a. As ondas solitárias tem uma forma estável (descrita pela equação $h \operatorname{sech}^2[k(x - vt)]$) e se deslocam por longas distâncias.
- b. Ondas com altura suficientemente grande em relação à profundidade da água produzem duas ou mais ondas solitárias independentes.
- c. A velocidade da onda depende da profundidade, altura da onda e gravidade:

$$v = \sqrt{g(d + h)}.$$
- d. Ondas solitárias que se cruzam mantêm suas formas individuais.

Russell relatou essa observação em uma publicação da *Royal Society* de Edimburgo em 1844. Vários cientistas na época argumentaram que as ondas solitárias não poderiam existir pois

não se ajustavam à teoria de ondas de Newton e Bernoulli. Em 1870 Boussinesq e Rayleigh derivaram, independentemente, expressões matemáticas para a forma e velocidade das ondas solitárias mostrando que era possível a existência de ondas com essas características. Diederick Johannes Korteweg e Gustav de Vries em 1895 obtiveram um perfil satisfatório da onda, cuja equação é denominada de Korteweg- de Vries (ou equação Kdv, Equação 9). Atualmente, essa é uma das equações clássicas da área não linear, descrevendo um referencial que se move com velocidade c_0 , em que $u = u(x,t)$ representa o perfil da onda e h_0 é a profundidade (Biswas, 2009; Gallavotti, 2008; Naumkin, 2008; Lomdahl et al., 1984).

$$\frac{\partial u}{\partial t} + \frac{3}{2} \frac{c_0}{h_0} u \frac{\partial u}{\partial x} + \frac{c_0 h_0^2}{6} \frac{\partial^3 u}{\partial x^3} = 0 \quad (9)$$

Por ser não linear, esta equação representou na época um desafio matemático. Com o advento dos primeiros computadores nos anos 1960, Kruskal e Zabusky descobriram a existência de ondas-soluções especiais com comportamento de partículas. Isso se deu enquanto procuravam descrever alguns tipos de ondas em plasma, relacionados com um problema físico de Fermi-Pasta-Ulam (Biswas, 2009; Gallavotti, 2008; Naumkin, 2008). Constataram que quando duas destas ondas interagem, após colisão, permaneciam sem deformações, somente com uma pequena mudança de fase (Figura 23). Para manter a ideia anteriormente estabelecida, ou seja, de “onda solitária”, rebatizaram a onda agregando o sufixo *on*, que é usado para identificar partículas (por exemplo, próton, elétron, nêutron, etc.), denominando-as finalmente *sólitons*.

A descoberta de Kruskal e Zabusky inspirou muitos outros pesquisadores de diferentes áreas, levando à aplicação dos sólitons em áreas como matemática, física, biologia, entre outras.

Em 1973, pesquisadores tentavam determinar como era realizada a transdução e transporte da energia química em sistemas biológicos e, no mesmo ano, foi proposta uma resposta dinâmica totalmente nova para a biologia. Explorando a regularidade da estrutura das proteínas alfa-hélice, mostrou-se que poder-se-ia autofocalizar ou capturar energia em ondas pulsadas e estáveis, os *sólitons*. Se a autofocalização é de fato uma realidade biológica, esta poderia ser responsável por muitos aspectos do comportamento da proteína, incluindo o transporte eficiente de energia (Biswas, 2009; Lomdahl et al., 1984).

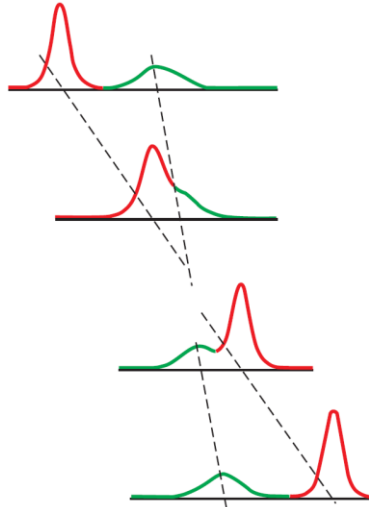


Fig. 23. Interação de dois sólitons de KdV. Depois da interação as ondas recuperam sua forma e sentido de propagação (Naumkin, 2008).

A energia para a maioria das atividades proteicas é fornecida pela hidrólise de ATP (adenosina trifosfato). O físico soviético Davydov (Davydov e Kislukha, 1973) sugeriu que essa energia poderia ser armazenada na vibração da amida-I, através de uma interação não linear que se autofocaliza ou se aprisiona num sóliton. Esse sóliton é resultante do acoplamento não linear da excitação vibracional e da deformação na estrutura da proteína alfa-hélice causada pela excitação. A excitação e deformação do equilíbrio compensam-se, e a excitação resultante se desloca livremente através da proteína, da mesma forma como se movem os elétrons no estado de supercondução de um metal. Para mostrar a veracidade do modelo, ele foi utilizado no problema da contração muscular (Oyaga, 2014; Davydov, 1982).

Além disso, Davydov e seus colaboradores consideraram a ideia de que as proteínas alfa-helicoidais poderiam facilitar o transporte de elétrons através de um mecanismo de sóliton, abrindo caminho para que outros pesquisadores trabalhassem a ideia (Oyaga, 2014; Nápoles e González, 2006; Heeger et al., 2001; Davydov, 1982; Davydov, 1978; Davydov e Kislukha, 1973; Davydov, 1973). Atualmente, a existência de sólitons nas proteínas e no DNA tem sido amplamente estudada como responsável por múltiplos processos biológicos, como a transmissão de informação a longa distância na cadeia (Alavi et al., 2015; Cosic et al., 2015; Ilieva et al., 2015; Kavitha et al., 2015; Oyaga, 2014; Csermely et al., 2012; Dang et al., 2012; Krokhotin et al., 2012; Pang, 2012; Saha e Kofane, 2012; Vanitha e Daniel, 2012; Daniel e Vanitha, 2011; Hu

et al., 2011; Pang, 2011; Chernodub et al., 2010; Austin, 2009; Biswas, 2009; Ivarsson et al., 2008; Saxena et al., 2003).

Na literatura se encontram muitos exemplos de sólitons no DNA na descrição de vários fenômenos, como a síntese de proteínas, processo realizado por meio da leitura local de segmentos específicos no DNA. Mas a iniciação e o controle da leitura são realizados por outro segmento, que pode estar localizado distante na sequência do DNA (até milhares de bases de distância). Isto indica que a molécula de DNA tem a capacidade de transmitir informação ao longo de grandes distâncias e de uma forma específica (a informação é transmitida para/a partir de locais ou alvos específicos). Na literatura várias pesquisas demonstram que sólitons são encontrados percorrendo a dupla fita de DNA e que são responsáveis pela transmissão de informação a longas distâncias no DNA. (Cosic et al., 2015; Zdravković et al., 2014; Tabi et al., 2014; Gaeta, 2013; Cuenda et al., 2006; Yakushevich et al., 2002; Lakhno, 2000; Hermon et al., 1998).

Por outro lado, Del Giudice e colaboradores (1988) reúnem duas teorias referentes à transferência de energia no DNA (as vibrações elétricas coerentes de Frohlich e os sólitons de Davydov) e concluem que, em determinadas condições, o DNA é capaz de intercambiar energia com o meio. Com isto, poderíamos ter a emissão de sinais solitônicos a partir do DNA.

Contudo, há evidências de que, para ondas de luz com determinadas frequências, pode-se induzir ou desencadear alguns processos biológicos que são naturalmente controlados por proteínas (Cosic et al., 2015; Fonseca et al., 2015; Peidaee et al., 2015; Peidaee et al., 2012; Biswas, 2009; Cosic et al., 2006; Kujawa et al., 2004; Cosic, 1990). Todos esses efeitos, com frequências características à da luz, implicaram a ativação de proteínas envolvendo energias de natureza e ordens iguais à radiação eletromagnética da luz.

Ciblis e Cosic (1997, ver também, Cosic et al., 2015; Peidaee et al., 2015) mostram que as frequências de ondas estão relacionadas à função que a proteína desempenha. As frequências não só caracterizam a função geral, mas também a interação e o reconhecimento entre proteínas particulares e seus alvos (os “alvos” de uma proteína são outras moléculas que serão fosforiladas por elas). Também se sabe que as proteínas e seus alvos têm a mesma frequência característica. Esta interação pode ser considerada como a mediadora de transferência ressonante de energia

transportada por oscilações de um campo eletromagnético, constituindo evidência de que as proteínas possuem algumas propriedades de condutores e semicondutores. Então, a carga, movimentando-se através da *espinha dorsal (backbone)* da proteína e passando por diferentes níveis de energia, originados pelos diferentes grupos de aminoácidos, pode produzir as condições necessárias para irradiação ou absorção eletromagnética específica.

Todos os resultados levam à conclusão de que a especificidade da interação das proteínas está baseada na transferência ressonante de energia eletromagnética, numa frequência específica para cada interação observada. Além disso, pesquisou-se a possibilidade de um mecanismo solitônico ter influência no processo ressonante de reconhecimento (Aydin et al., 2011; Fantini et al., 2007; Hibbins et al., 2006; Cesario et al., 2005; Edwards et al., 1984). Contudo, nenhum desses estudos tratou da geração, emissão e captação de um sinal solitônico do DNA até uma proteína ou, mais especificamente, de uma DSB até uma proteína de reparo (um dos objetivos deste trabalho).

3.2.10 - O efeito *free water dipole laser*

Um Campo Elétrico Estático (CEE) aplicado a uma célula, conforme discutido em 1.4.2, não pode ser maior do que alguns kV/m (problemas de eletroporação), deixando em aberto a seguinte questão: “como seria possível o alinhamento da ATM com a direção do CEE (como observado experimentalmente), uma vez que essa proteína apresenta um pequeno momento de dipolo (\vec{p}) e a viscosidade do meio (citossol) ser grande?”

A única maneira de se obter compatibilidade com a observação experimental seria a hipótese de que as proteínas, num meio aquoso, possuiriam momentos de dipolo “efetivos” bem maiores que os momentos de dipolo “nominais”. Neste caso, conforme tratado em Resultados, o efeito *free water dipole laser*, acrescido do conceito de “proteína vestida” (também proposto neste trabalho), daria uma resposta satisfatória a essa questão intrigante.

O efeito *free water dipole laser* (originalmente proposto por Del Giudice et al., 1988) é decorrente do acoplamento quanto-coerente dos dipolos elétricos das moléculas de água (neste caso, do citossol) com o dipolo elétrico de uma proteína, amplificando o \vec{p} desta e levando, assim, ao estabelecimento de um *momento de dipolo efetivo*, \vec{P}_{efet} , bem maior do que o momento

fisiológico original. A essa proteína, acompanhada por um conjunto de moléculas de água, daremos o nome de “proteína vestida”.

Seja V o volume de uma porção espacial envolvendo o sítio onde ocorreu uma DSB, contendo em seu interior N moléculas de água e pelo menos uma proteína. Utilizando uma abordagem teórica anteriormente desenvolvida para a dinâmica de *free-electron-laser*, Del Giudice e colaboradores (1988) mostraram que, sob determinadas condições, os dipolos elétricos das moléculas de água poderiam interagir *coerentemente* com modos específicos do campo de radiação. A presença de uma impureza no interior de V , com momento de dipolo muito maior do que o da água, geraria um campo elétrico (\vec{E}_p).

A Hamiltoniana de N moléculas de água dentro de V é

$$H = \sum_{i=1}^N H_i, \text{ com} \quad (10)$$

$$H_i = \frac{1}{2I} L_i^2 + \vec{A} \cdot \vec{d}_i, \quad (11)$$

em que I , L_i e \vec{d}_i representam o momento de inércia médio, o momento angular total e o vetor dipolo elétrico de uma única molécula de água, respectivamente. \vec{A} é o potencial vetor do campo eletromagnético.

As proteínas têm momentos de dipolo bem maiores do que os da água, e estão sujeitas a excitações coerentes dipolares ao longo de toda a sua extensão. Importante salientar que a dupla fita do DNA não apresenta momento dipolar elétrico.

Nesta abordagem, considera-se a ATM como a “impureza” referida por Del Giudice e colaboradores. Assim, devido ao campo elétrico dessa “impureza” (\vec{E}_p) o termo

$$Vp = -\vec{d}_i \cdot \vec{E}_p \quad (12)$$

deve ser adicionado à parte estática da Hamiltoniana H_i (Equação 10), misturando estados e gerando, conseqüentemente, novos autoestados. O desenvolvimento completo pode-se encontrar em Del Giudice et al (1988).

O resultado mais notável obtido por Del Giudice e seus colaboradores (1988) foi a previsão de uma polarização elétrica *permanente* surgindo em volta da “impureza”, neste caso a ATM (Figura 24), uma vez que seu dipolo elétrico é grande em comparação com o dipolo da

água. É importante notar que, sem interações coletivas coerentes, prevaleceria a desorientação térmica de todos os dipolos elétricos da água e, conseqüentemente, nenhuma polarização elétrica significativa poderia ser obtida, mesmo para campos elétricos muito intensos (das impurezas).

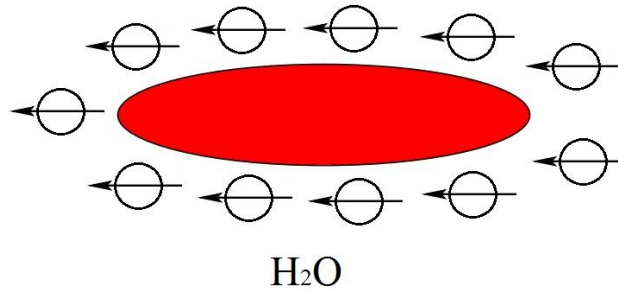


Fig. 24. Formação de um momento de dipolo elétrico “permanente” nas proteínas ATM, via efeito Del Giudice.

Essas considerações e resultados permitem estimar um momento de dipolo efetivo da ATM dado por

$$\vec{P}_{efet} = \vec{p} + \sum_{i=1}^n \vec{p}_i \quad (13)$$

em que p é o momento de dipolo nominal da ATM, n é o número de moléculas de água que vestem a ATM e p_i é o momento de dipolo da água.

Com isso, será possível descrever em detalhes os processos de polarização no interior celular em decorrência de sua exposição a campos elétricos exógenos.

4 - RESULTADOS/DISCUSSÃO

4.1 - Sinalização DSB-ATM

4.1.1 – Natureza do sinal

Como comentado em “Background Científico”, inúmeros trabalhos publicados indicam que as proteínas e seus alvos têm a mesma frequência específica. Apenas proteínas com funções similares apresentam frequências semelhantes. Os resultados permitem concluir que a interação

entre proteínas ocorre via transferência ressonante de energia eletromagnética, numa frequência específica para cada interação observada (Cosic et al., 2015; Peidaee et al., 2015; Cosic et al., 2006; Cosic, 2001; Ciblis e Cosic, 1997).

Um sinal eletromagnético convencional, propagando-se num meio como o citosol (em que estão presentes muitos corpos eletrizados e radicais livres), sofreria alterações de amplitude e frequência devidas principalmente às interações com o material iônico. Neste caso, a frequência inicial do sinal emitido alterar-se-ia erráticamente até atingir o seu alvo receptor – esse fenômeno é conhecido por “dispersão”. Essa circunstância torna inviável a manutenção da “especificidade” que é observada nas diferentes interações entre, por exemplo, proteína-proteína e DNA-proteína em particular (tema deste trabalho).

De fato, uma dupla quebra de fita no DNA (DSB) ativa unicamente a proteína ATM (cabeça da cascata de reparo). As ATMs, que estão fora do núcleo celular, ignoram qualquer outro tipo de dano ao DNA. Esse perfeito sincronismo entre emissor e receptor, denominado “especificidade” em Biologia, é possível somente se o sinal emitido não sofrer dispersão de frequência até atingir o alvo. Somente um **sinal solitônico** não seria disperso num meio tão complexo como o citosol.

As cargas que se movem através da estrutura do DNA, e que estão passando por diferentes estados de energia originados pelos diferentes grupos de nucleotídeos, constituem uma corrente elétrica específica. A ruptura na fita provocada pela indução de uma DSB interrompe instantaneamente esse fluxo de cargas (corrente elétrica), dando origem a um transiente elétrico que se propaga no meio celular. Mas, conforme discutido em 1.4.1 (*Sinalização DNA versus ATM...*), adicionalmente ao efeito de “dispersão” acima discutido, conclui-se que um sinal de natureza elétrica *convencional*, como um *transiente elétrico*, não poderia funcionar como o sinal biofísico responsável pela ativação da ATM.

Portanto, a única possibilidade fisicamente viável seria aquela em que a ruptura no DNA provocada pela radiação geraria um *sóliton eletromagnético* que seria emitido para fora do núcleo da célula, deslocando-se sem perturbações através do citosol até ser captado pelas ATMs, induzindo fosforilação nestas (Figura 25).

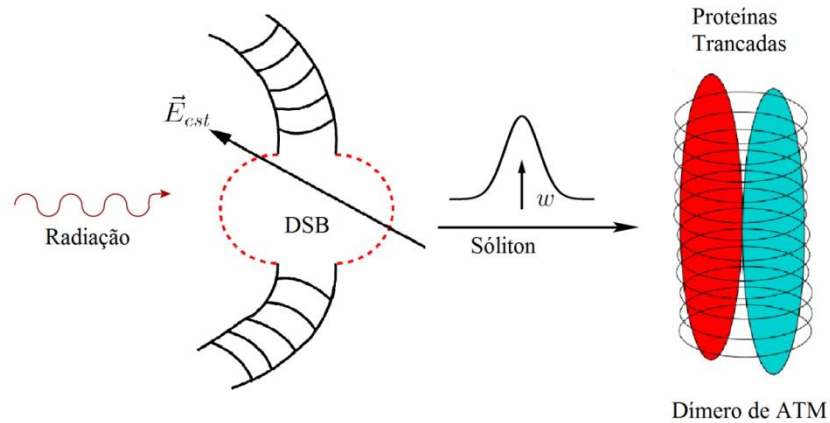


Fig. 25. Emissão do sinal solitônico após a indução de uma DSB.

4.1.2 – Descrição do sinal (sóliton eletromagnético)

A dinâmica de *sólitons eletromagnéticos* foi intensamente estudada (teórica e experimentalmente) para plasmas relativísticos e no contexto de ondas de Langmuir (Biwas et al., 2010; Biwas, 2009; Haas e Shukla, 2009; Funaro, 2008; Pashaev et al., 2008; Mancic et al., 2006). A característica comum, presente em todas as observações experimentais, é a emissão dessas ondas de Langmuir na forma de pulsos (*bursts*) eletrostáticos espacialmente muito estreitos – qualitativamente muito similares aos “transientes elétricos” que seriam gerados em rupturas da dupla fita de DNA.

O comportamento dos sólitons produzidos por ondas de Langmuir em plasmas é obtido pelas soluções de uma Equação de Schroedinger Não-Linear (Biwas et al., 2010; Haas e Shukla, 2009; Funaro, 2008; Malomed et al., 1999; Malomed e Stenflo, 1991). Uma solução exata para sólitons eletromagnéticos em plasmas relativísticos foi obtida por Biswas et al. (2010; equações 2, 8, 9 e 10).

O problema é mais simples para sólitons eletromagnéticos gerados por uma DSB e propagando-se no meio celular. De fato, o citosol não exhibe as complexidades físicas associadas ao plasma relativístico como, por exemplo, flutuações de densidade e dispersão devida a efeitos térmicos. Adicionalmente, a região do DNA circunscrita ao dano (DSB – apenas alguns pares de base) pode ser aproximada como fonte puntiforme de carga (vide a questão do desbalanceamento de cargas na DSB – 1.4.1), relativamente à distância em que se encontra a ATM. Neste caso, o

sinal solitônico pode ser considerado como uma onda esférica, e assim a Equação de Schroedinger Não-Linear reduzir-se-ia à seguinte equação diferencial (Jackson, 1999),

$$\nabla^2 \Psi(\vec{r}, t) - \frac{1}{v^2} \frac{\partial^2 \Psi}{\partial t^2}(\vec{r}, t) = -4\pi f(\vec{r}, t) \quad (14)$$

em que $f(\vec{r}, t)$ é uma dada função de distribuição de fontes (de cargas, no presente estudo), v é a velocidade de propagação no meio, *supondo-se que não haja dispersão* (condição solitônica), e $\Psi(\vec{r}, t)$ é a função de onda do sóliton emitido que representa o sinal emitido. Os vetores posição estão definidos na Figura 26.

A remoção da dependência temporal é realizada via Transformada de Fourier das funções de onda, ou seja,

$$\frac{\nabla^2}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \Psi(\vec{r}, \omega) e^{-i\omega t} d\omega - \frac{1}{2\pi v^2} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\partial^2 e^{-i\omega t}}{\partial t^2} \Psi(\vec{r}, \omega) d\omega = -\frac{4\pi}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} f(\vec{r}, \omega) e^{-i\omega t} d\omega \quad (15)$$

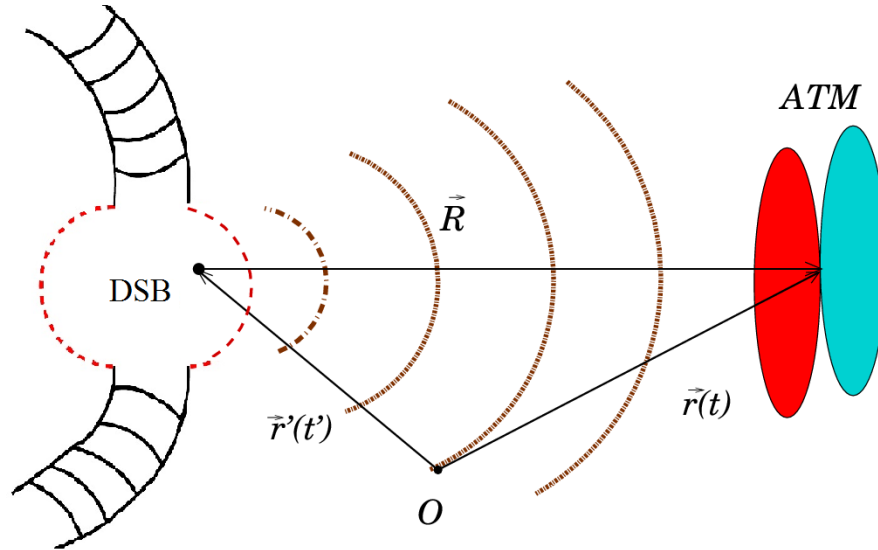


Fig. 26. Potencial retardado gerado por uma distribuição de carga localizada. Aqui, $\vec{R} = \vec{r} - \vec{r}'$ e $t' = t - \frac{R}{v}$, $t' < t$

Uma vez que,

$$\frac{\partial^2 e^{-i\omega t}}{\partial t^2} = \omega^2 e^{-i\omega t} \quad (16)$$

e agrupando-se os termos em (15), obtém-se

$$\frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \left[\nabla^2 \Psi(\vec{r}, \omega) e^{-i\omega t} + \frac{\omega^2}{v^2} \Psi(\vec{r}, \omega) e^{-i\omega t} \right] d\omega = -\frac{1}{2\pi} \int_{-\infty}^{\infty} \left[-4\pi f(\vec{r}, \omega) e^{-i\omega t} \right] d\omega \quad (17)$$

$$\left[\nabla^2 \Psi(\vec{r}, \omega) + \frac{\omega^2}{v^2} \Psi(\vec{r}, \omega) \right] e^{-i\omega t} = \left[-4\pi f(\vec{r}, \omega) \right] e^{-i\omega t} \quad (18)$$

Simplificando, e definindo $k \equiv \frac{\omega}{v}$, obtém-se a equação de onda não-homogênea de Helmholtz :

$$(\nabla^2 + k^2) \Psi(\vec{r}, \omega) = -4\pi f(\vec{r}, \omega) \quad (19)$$

O sinal emitido por uma fonte de cargas e correntes é melhor descrito por uma função de Green, a qual leva em conta o “atraso” de sinal entre emissão e recepção (Figura 30). A função de Green apropriada para a Equação 17 deve satisfazer à equação não-homogênea:

$$(\nabla^2 + k^2) G_k(\vec{r}, \vec{r}') = -4\pi \delta(\vec{r} - \vec{r}') \quad \delta(\vec{0}) = 1 \quad (20)$$

Calculando-se a transformada de Fourier da função G em função de uma variável auxiliar q obtém-se:

$$\tilde{G}(q) = \frac{(2\pi)^{3/2}}{2\pi^2} \frac{1}{q^2 - k^2} \quad (21)$$

e calculando-se a anti-transformada de Fourier da equação anterior:

$$G(\vec{r}) = \frac{1}{2\pi^2} \int \frac{e^{i\vec{q}\vec{r}}}{q^2 - k^2} d^3q \quad (22)$$

em que q é o parâmetro em coordenadas esféricas no eixo OZ na direção de \vec{r} ; portanto, $\vec{q} \cdot \vec{r} = qr \cos\theta$. Integrando-se apenas nas variáveis angulares chega-se a

$$G(r) = \frac{1}{\pi} \int_0^{\infty} \frac{1}{ir} \frac{1}{q^2 - k^2} (e^{i\vec{q}\vec{r}} - e^{-i\vec{q}\vec{r}}) dq \quad (23)$$

Através da mudança de variável $q \rightarrow -q$ essa integral pode ser reescrita como

$$G(r) = \frac{1}{i\pi r} \int_{-\infty}^{\infty} \frac{q}{q^2 - k^2} e^{iqr} dq \quad (24)$$

e resolvida pela técnica dos resíduos no plano complexo q . O integrando tem polos simples em $q = k$ e em $q = -k$; então,

$$G_+(r) = \frac{2\pi i}{i\pi r} \operatorname{Res} \Big|_{q=k} \frac{qe^{ikr}}{(q-k)(q+k)} = \frac{e^{ikr}}{r} \quad (25)$$

A amplitude de $G_+(r)$ diminui segundo $\frac{1}{r}$ e a intensidade diminui de acordo com $\frac{1}{r^2}$; esse comportamento corresponde ao de uma onda esférica. A dependência temporal é restituída multiplicando-se a Equação 16 por $e^{-i\omega t}$, obtendo-se,

$$G_+(r, t) = \frac{e^{i(kr - \omega t)}}{r} \quad (26)$$

em que a fase da onda esférica é $kr - \omega t$, correspondendo a uma onda sendo emitida da origem. Portanto, a função de Green $G_+(r, t)$ corresponde a uma condição de onda emergente. A função de onda captada fica:

$$G_-(r) = \frac{e^{-ikr}}{r} \quad (27)$$

Finalmente, a função de Green total será

$$G_T(r, t) = A \frac{e^{i(kr - \omega t)}}{r} + B \frac{e^{-ikr}}{r} \quad (28)$$

enfatizando que v seria, então, a velocidade de propagação no citosol e que $k \equiv \frac{\omega}{v}$.

Este resultado (Equação 28) pode ser interpretado como uma “solução aproximada” de uma solução solitônica exata da Equação de Schroedinger Não-Linear (Biwas et al., 2010) para o caso particular em que os termos que geram não linearidades (dispersão espacial, flutuações de densidade, entre outros) sejam pequenos. No citosol esses efeitos podem ser tratados perturbativamente. Sem perda de generalidade, a forma geral das novas soluções seria muito parecida com a Equação 28, mas com novos coeficientes A e B que incluíssem os efeitos perturbativos.

4.2 - ATM: Recepção do sinal e ativação

Conforme discutido anteriormente (Resultados Anteriores e Motivação, 1.4.1 e Figura 5), a interrupção de corrente provocada pela indução de um dano tipo DSB gera um sinal eletromagnético e este sinal deve ser solitônico (sóliton eletromagnético com uma frequência específica ω). Como tal, esse sinal não necessitaria de um meio material para propagar-se, atravessando o espaço intracelular do núcleo (onde se encontra o DNA danificado) até o dímero inativo ATM.

Atuando fisicamente como um solenóide, a proteína ATM tem uma frequência própria, ω_p , que é uma característica identificadora desses elementos de circuito. Então, um sóliton, com frequência específica ω , seria captado pela ATM mediante absorção ressonante, que ocorre quando a frequência do pulso se iguala ou se aproxima o suficiente da frequência própria do solenóide (ATM), $\omega \approx \omega_p$. Uma vez que as ATMs somente são ativadas por sinais oriundos de DSBs (induzidos pela radiação ionizante), fica então evidente que a frequência do sóliton ajusta-se à da ATM, ignorando outras moléculas que teriam frequências diferentes ou que não se aproximassem da frequência de sólitons produzidos nesse tipo de quebra.

Uma das três ligações químicas dos grupos-fosfato ligados à molécula de ATP é fraca e, portanto, mais fácil de romper, levando à produção de ADP + P e liberando energia. Um pulso elétrico atingindo a molécula de ATP poderia induzir vibração de ligação química (*bond-vibration*), levando, desta forma, à separação do grupo fosfato mais fraco (Resultados Anteriores e Motivação, 1.4.1). A energia potencial da ligação é liberada como energia cinética provocando, dessa forma, a dissociação do dímero ATM. Em resumo, por um lado o sinal elétrico solitônico

ativa as ATMs no citosol, e por outro lado, a *bond-vibration* da ATP leva à interrupção do contato entre as duas partes do dímero ATM (Figura 27).

Também permanece até hoje não esclarecida a questão relacionada ao reconhecimento da DSB pela ATM (e suas proteínas recrutadas), bem como à navegação da ATM através de um mar "browniano" (agitação térmica) no interior celular. A esse respeito, considere-se que o sinal que orienta a navegação é proporcional ao campo elétrico estático no DSB (\vec{E}_{est} , cuja intensidade é pequena) e ao momento de dipolo (p) do monômero de ATM. Contudo, sabe-se que os monômeros de ATM chegam ao DSB rapidamente, significando que o sinal de orientação é efetivo, e, portanto, o momento de dipolo elétrico (p) da ATM deve ser muito maior do que o nominal, como discutido a seguir.

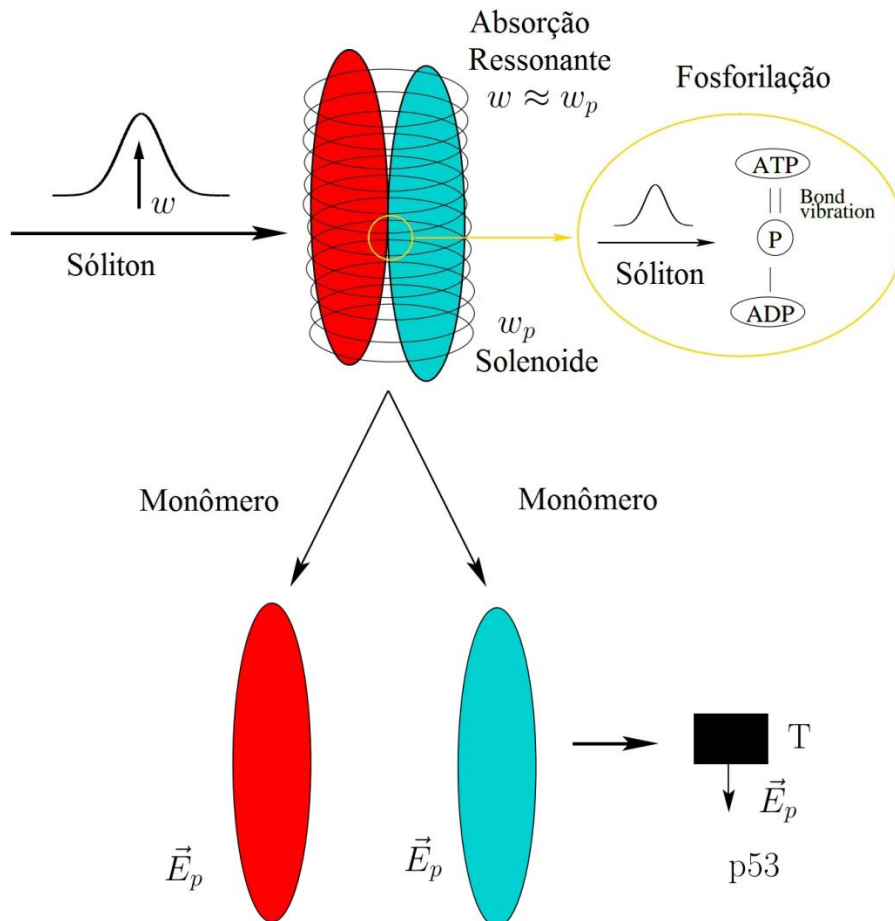


Fig. 27. Ativação das ATMs pelo pulso eletromagnético solitônico.

4.3 - Navegação

As macromoléculas, entre elas as proteínas, em geral podem ser modeladas como elipsoides de revolução (Richards, 1980). No caso das ATMs, as formas espaciais são aproximáveis por elipsoides de revolução como foi mostrado na reconstrução 3D feita por Llorca e colaboradores, 2003; ver também Rivera-Calzada et al., 2015.

Pela conformação molecular das proteínas elas são dipolos elétricos com as cargas localizadas e puntiformes, com valor igual a uma carga elementar. Esses dipolos estão imersos no citoplasma ou no núcleo celular, razão pela qual se supõe o meio como H₂O. Ao se expor proteínas a um CEE, seus momentos de dipolo elétrico se orientam na direção do campo. Tendo em vista a existência de várias forças intervenientes, será feita uma análise individualizada.

4.3.1 - Dipolo elétrico submetido a um CEE no vácuo

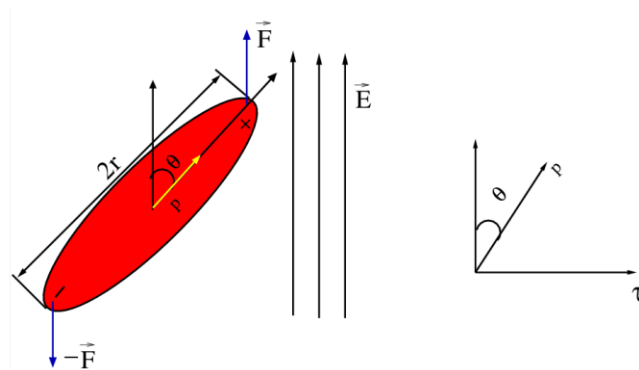


Fig. 28. Dipolo elétrico submetido a um campo elétrico.

Na seção 3.2.7, mostrou-se que um dipolo elétrico submetido a um campo elétrico externo \vec{E} experimenta um torque que tende a alinhá-lo com o campo (Figura 28), de acordo com a Equação 3. Substituindo os valores de campo elétrico e momento dipolar da proteína na Equação 2 a intensidade desse torque é estimada em:

$$\tau_E = 5,9 \times 10^{-26} \sin\theta \text{ Nm} \quad (29)$$

em que se considerou os seguintes valores: $p = de = 2,96 \times 10^{-27} \text{ Cm}$ e $E = 2 \text{ kV/cm}$.

(Cálculos detalhados no Anexo I. O intervalo de variação de θ é de 0 a π , Figura 28).

A localização espacial da proteína é aleatória uma vez que no meio celular em equilíbrio térmico o regime dinâmico é Browniano. Neste caso, como a direção e sentido de \vec{E} são fixados, a orientação de \vec{p} em relação a \vec{E} é equiprovável para todos os ângulos no intervalo θ de 0 a π . Portanto, é mais plausível e realista estimar-se um valor médio para τ_E , ou seja,

$$\langle \tau_E \rangle = \frac{1}{\pi} \int_0^{\pi} 5,9 \times 10^{-26} \sin \theta d\theta \quad (30)$$

$$\langle \tau_E \rangle = 5,9 \times 10^{-26} \frac{1}{\pi} \int_0^{\pi} \sin \theta d\theta \quad (31)$$

$$\langle \tau_E \rangle = 5,9 \times 10^{-26} \frac{1}{\pi} (-\cos \theta) \Big|_0^{\pi} \quad (32)$$

$$\langle \tau_E \rangle = 5,9 \times 10^{-26} \frac{1}{\pi} 2 \quad (33)$$

$$\boxed{\langle \tau_E \rangle = 3,8 \times 10^{-26} Nm} \quad (34)$$

Decorrido um tempo finito as proteínas alinhar-se-iam com \vec{E} de tal forma que θ tenderia a zero.

4.3.2 - Dipolo elétrico submetido a um CEE em meio aquoso

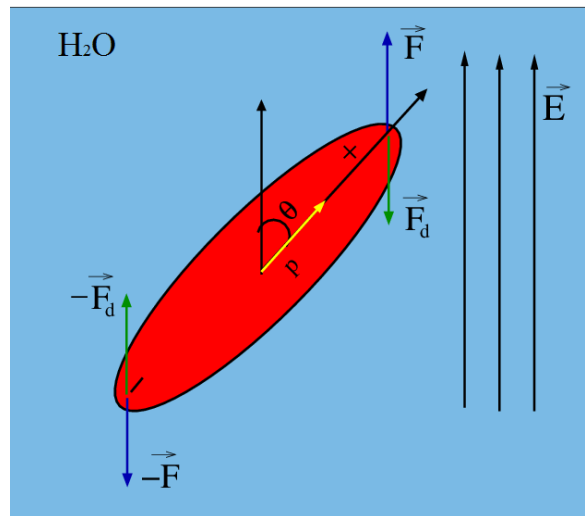


Fig. 29. Dipolo elétrico submerso em água e submetido a um campo elétrico \vec{E} .

As cargas puntiformes experimentam forças elétricas de mesma intensidade e sentidos opostos (\vec{F} , $-\vec{F}$) que tentam alinhá-lo com o campo, mas também experimentam forças de igual intensidade e sentidos opostos (\vec{F}_d , $-\vec{F}_d$) provocadas pelo meio (Figura 29). Essas forças devem-se à viscosidade da interface proteína-água, que, no movimento, manifestam-se como forças de dragagem. Então, contribuem com antitorques dados por

$$\vec{\tau}_d = 2\vec{r} \times \vec{F}_d \quad (35)$$

Levando-se em conta efeitos viscosos num elipsoide de revolução obtém-se:

$$\tau_d = \gamma\omega \sin \frac{\pi}{2} \quad (36)$$

em que ω é a velocidade angular e γ o coeficiente de fricção rotacional do elipsoide. A melhor estimativa para esses parâmetros levou a $\gamma = 6,05 \times 10^{-27} \frac{\text{kgm}^2}{\text{s}}$ e $\omega = 3,11 \times 10^6 (1 - \cos\theta)^{1/2} \frac{\text{rad}}{\text{s}}$.

Substituindo-se na Equação 36 temos

$$\boxed{\tau_d = 2,7 \times 10^{-21} \sin \frac{\theta}{2} \text{ Nm}} \quad (37)$$

(Cálculos detalhados no Anexo I).

Observa-se que há dependência angular para τ_d (Equação 37) e, pelos mesmos argumentos utilizados na estimativa de τ_E (Equação 29), calcula-se um valor médio de 0 a π , obtendo-se:

$$\langle \tau_d \rangle = \frac{1}{\pi} \int_0^{\pi} 2,7 \times 10^{-21} \sin \frac{\theta}{2} d\theta \quad (38)$$

$$\langle \tau_d \rangle = 2,7 \times 10^{-21} \frac{1}{\pi} \int_0^{\pi} \sin \frac{\theta}{2} d\theta \quad (39)$$

$$\langle \tau_d \rangle = 2,7 \times 10^{-21} \frac{1}{\pi} \left(-2 \cos \frac{\theta}{2} \right) \Big|_0^{\pi} \quad (40)$$

$$\langle \tau_d \rangle = 2,7 \times 10^{-21} \frac{2}{\pi} \quad (41)$$

$$\boxed{\langle \tau_d \rangle = 1,7 \times 10^{-21} Nm} \quad (42)$$

4.3.3 - Torque total

A proteína elipsoidal, portanto, é um dipolo elétrico com cargas puntiformes em meio aquoso e submetido a um campo elétrico externo \vec{E} . O torque resultante é dado por:

$$\tau_T = \tau_E - \tau_d \quad (43)$$

sendo τ_E o torque devido ao campo elétrico (Equação 29), e τ_d é o torque resistivo do sistema produzido pela viscosidade (Equação 37).

A análise numérica das equações 29 e 37 mostra que $\tau_E < \tau_d$, levando a $\tau_T < 0$, ou seja, o CEE exógeno não seria suficiente para polarizar a proteína. Contudo, resultados experimentais mostram que ocorreu polarização de proteínas de reparo (vide Arruda-Neto et al., 2014; Arruda-Neto et al., 2010 e Arruda-Neto et al., 2009). Portanto, algum ingrediente de natureza física, responsável pela produção de um τ_E bem maior, foi ignorado. Lembrando que (Equação 2)

$\tau_E = pE \sin \theta$ e, uma vez que a intensidade de \vec{E} não pode ultrapassar $20 \frac{V}{m}$, a única maneira de

obter-se um τ_E bem maior seria através de uma reestimativa de p levando-se em conta algum efeito físico que aumente consideravelmente sua intensidade.

De fato, o momento de dipolo p poderia ter sua intensidade muito aumentada pelo efeito *free water dipole laser*, conforme discutido na seção Background Científico, o qual é responsável pela formação de “proteínas vestidas” com momentos de dipolo efetivos muito maiores (P_{efet}). Dessa maneira, os torques devidos ao campo elétrico seriam dados por

$$\tau_{Ee} = P_{efet} E \sin \theta \quad (44)$$

Tem-se então que $\tau_{Ee} > \tau_E$. Conforme salientado em 3.2.10, $P_{efet} > p$ (nominal) devido ao recrutamento quanto-coerente das moléculas de água pela proteína. Com $\tau_{Ee} > \tau_d$ seria possível o alinhamento de \vec{p} com \vec{E} . Portanto, se

$$\tau_{Ee} > \tau_d \quad (45)$$

teríamos que

$$P_{efet} E \sin \theta > \tau_d \quad (46)$$

ou, se modificarmos a Equação 46 para a incógnita P_{efet} e aplicarmos o valor médio para $\sin \theta$, obteríamos,

$$P_{efet} > \frac{\tau_d}{E \langle \sin \theta \rangle} \quad (47)$$

Assim, as proteínas vestidas seriam capazes de superar o antitorque originado pela viscosidade do meio, sem a necessidade de uma força muito grande para realizar o alinhamento com o campo elétrico gerado pelo CEE. No caso de uma proteína não vestida, seria necessário um campo elétrico muito intenso, o que pode, certamente, levar à eletroporação. Em conclusão, se a proteína estiver “vestida” por moléculas de água, seu momento de dipolo elétrico permanente será muito mais intenso.

4.3.4 - Proteína vestida

Calculando-se P_{efet} tal que satisfaça a Equação 47 para um campo elétrico exógeno (CEE) de $2 \frac{kV}{cm}$ e τ_d como na Equação 34,

$$P_{efet} > \frac{\gamma \omega \sin \frac{\pi}{2}}{E \langle \sin \theta \rangle} \quad (48)$$

em que $0 < \langle \sin \theta \rangle \leq 1$. Substituindo-se P_{efet} da Equação 13 na Equação 48, e se tomarmos N_{esc} como o número de moléculas de água que estão vestindo a proteína, teremos

$$P + N_{esc} P_{H_2O} > \frac{\gamma \omega}{E} \quad (49)$$

Com algumas operações algébricas, pode-se obter uma expressão para o número de moléculas de água necessárias para vestir a proteína,

$$N_{esc} > \frac{\gamma\omega}{Ep_{H_2O}} - \frac{p}{P_{H_2O}} \quad (50)$$

Daqui obtém-se:

$$N_{esc} \approx 9 \times 10^{13} \text{ moléculas de água} \quad (51)$$

Trata-se, contudo, de um limite inferior da estimativa.

Mais detalhes no Anexo II. Finalmente, introduzindo-se a Equação 51 nas equações 2 e 36, obtemos novos valores para os torques:

$$\begin{aligned} \tau_{Ee} &= 1,11 \times 10^{-14} \sin \theta \text{ Nm} \\ \tau_{de} &= 1,07 \times 10^{-14} \sin \frac{\theta}{2} \text{ Nm} \end{aligned} \quad (52)$$

Calculando-se o valor médio entre 0 e π , e com os mesmos argumentos utilizados nas estimativas de τ_e (Equação 29) e τ_d (Equação 37), chega-se a

$$\begin{aligned} \langle \tau_{Ee} \rangle &= 7,07 \times 10^{-15} \text{ Nm} \\ \langle \tau_{de} \rangle &= 6,81 \times 10^{-15} \text{ Nm} \end{aligned} \Rightarrow \tau_{Ee} > \tau_{de} \quad (53)$$

Portanto, o torque exercido na proteína pelo CEE seria suficiente para alinhá-la. Embora apenas qualitativamente, a abordagem semiclássica e fenomenológica apresentada apoia o conceito proposto de *proteína vestida* (ver Secção 3.2.10), (Figura 30).

Verificou-se também que a adição de mais camadas de moléculas de água vestindo a proteína não aumenta substancialmente o τ_{Ee} , uma vez que neste nível de complexidade a abordagem semiclássica é inadequada. Na verdade, a agregação de muitas mais moléculas não pode ser tratada classicamente (uma boa revisão das propriedades da água em matéria viva pode ser encontrada no trabalho de Del Giudice e Tedeschi, 2009).

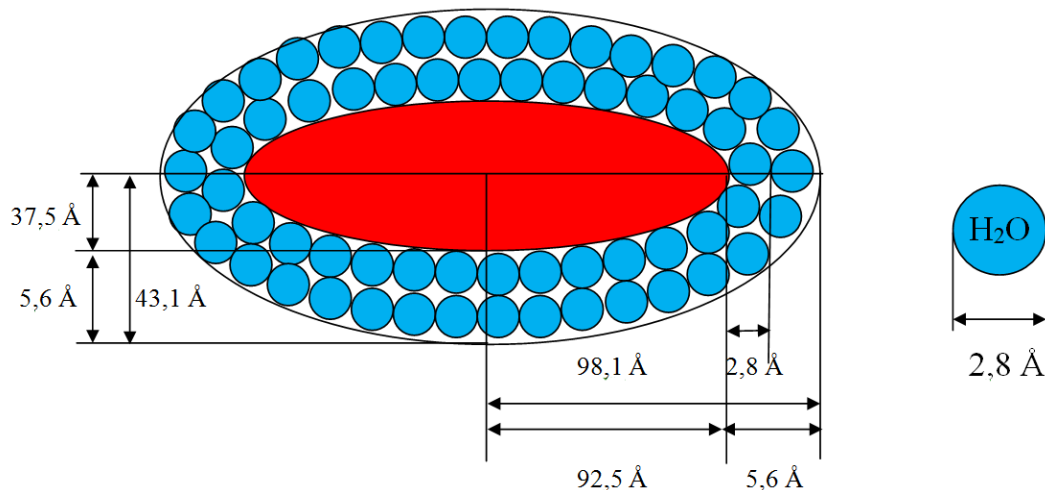


Fig. 30. Proteína vestida com duas camadas de moléculas de água (meramente ilustrativa).

Os resultados experimentais obtidos neste Laboratório (Arruda-Neto et al., 2014; Arruda-Neto et al., 2010 e Arruda-Neto et al., 2009) indicaram a existência de $P_{efet} > p$ (nominal), corroborados pelo efeito quanto-coerente de Del Giudice et al. (1988). Essa constatação será utilizada na descrição do reconhecimento de uma DSB pela proteína de reparo (4.4).

4.4 - Reconhecimento: a questão do campo estático residual do DSB

Retomando a questão do Mecanismo de Reparo de uma DSB, ou seja, excluindo-se agora a intervenção de agentes físicos exógenos, resta a questão do *reconhecimento*, muito debatida na literatura (Vega, 2013; Kryston et al., 2011; Shiloh, 2006). Mais especificamente, como alguns pares de base (do sítio danificado) são reconhecidos pelas proteínas de reparo num universo de bilhões de pares de base.

As DSBs no DNA também geram campos magnéticos e elétricos estáticos, como revelado por experimentos de correlações angulares perturbadas por raios gama (PAC), técnica experimental alternativa para estudar a dinâmica molecular do DNA (Kalfas et al., 1994; Kalfas et al., 1984). No caso dos campos elétricos estáticos E_{est} (identificados como de quadrupolo), estes persistem até a conclusão do reparo do dano. Enquanto ativos, são os candidatos mais prováveis para atuarem na sinalização e orientação das proteínas de reparo (Figura 31). Essa possibilidade é em muito aumentada quando se leva em conta os resultados acima deduzidos, ou seja, as *proteínas vestidas* são detentoras de grandes momentos de dipolo, P_{efet} . De fato, a

interação DSB-proteína é proporcional ao termo $E_{est} \bullet P_{efet}$. Portanto, mesmo para E_{est} de pequenas intensidades a interação seria considerável.

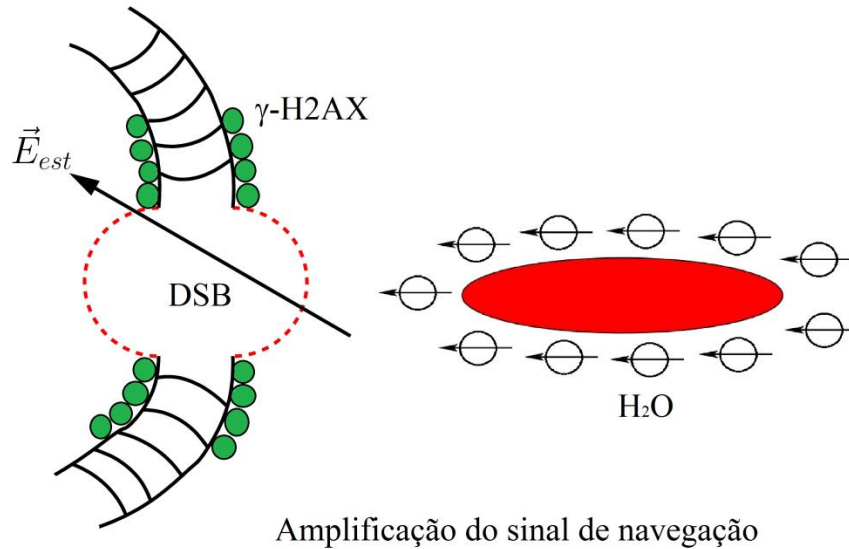


Fig. 31. Orientação da proteína

5 - CONCLUSÕES

1 – Proteínas no interior celular exibem momentos de dipolo efetivos muito maiores do que os momentos nominais, tornando assim possível a polarização destas por campos elétricos exógenos e endógenos, conforme relatos da literatura científica.

2 – Grandes momentos de dipolo efetivos são induzidos nas proteínas de reparo por efeitos quanto-coerentes do tipo *free water dipole laser*, caracterizados pelo recrutamento de moléculas de água por parte das proteínas (cunhadas, neste trabalho, de *proteínas vestidas*).

3 – Ruptura dupla da fita de DNA (DSB), provocada pela radiação ionizante, produz um transiente elétrico muito estreito no tempo, qualitativamente similar ao que se observa em chaveamento de circuitos elétricos.

4 – O sinal elétrico produzido na indução de uma DSB propaga-se no interior celular na forma de um *sinal solitônico eletromagnético*, conforme sólidas evidências experimentais aqui discutidas.

5 – O sólton eletromagnético emitido a partir de uma DSB é captado num processo ressonante por uma proteína (ATM neste estudo), induzindo sua fosforilação e assim iniciando o processo de reparo (modelo fenomenológico aqui desenvolvido).

6 – O reconhecimento de uma DSB (apenas alguns pares de base) pelo *pool* de proteínas de reparo, em um genoma de 3 bilhões de pares de base, é possibilitado pela interação entre o campo elétrico estático presente na DSB e os momentos de dipolo efetivos das proteínas.

No seu conjunto, todos os resultados possibilitaram a proposição de um arcabouço biofísico para o processo de reparo de DSBs induzidas pela radiação ionizante – representado na Figura 37. Nessa representação, uma DSB emite um sinal solitônico para fora do núcleo que é detectado pelas ATMs. Essas ATMs, inicialmente inativas, iniciam fosforilação quase que instantaneamente através de uma absorção ressonante do sólton. Esse processo induz vibração de ligações nas ATMs levando-as à dissociação em monômeros. Os monômeros de ATM, “vestidos” pelas moléculas de água via um processo quanto-coerente (*free water dipole laser*), deslocam-se no meio intracelular viscoso até o sítio de uma DSB.

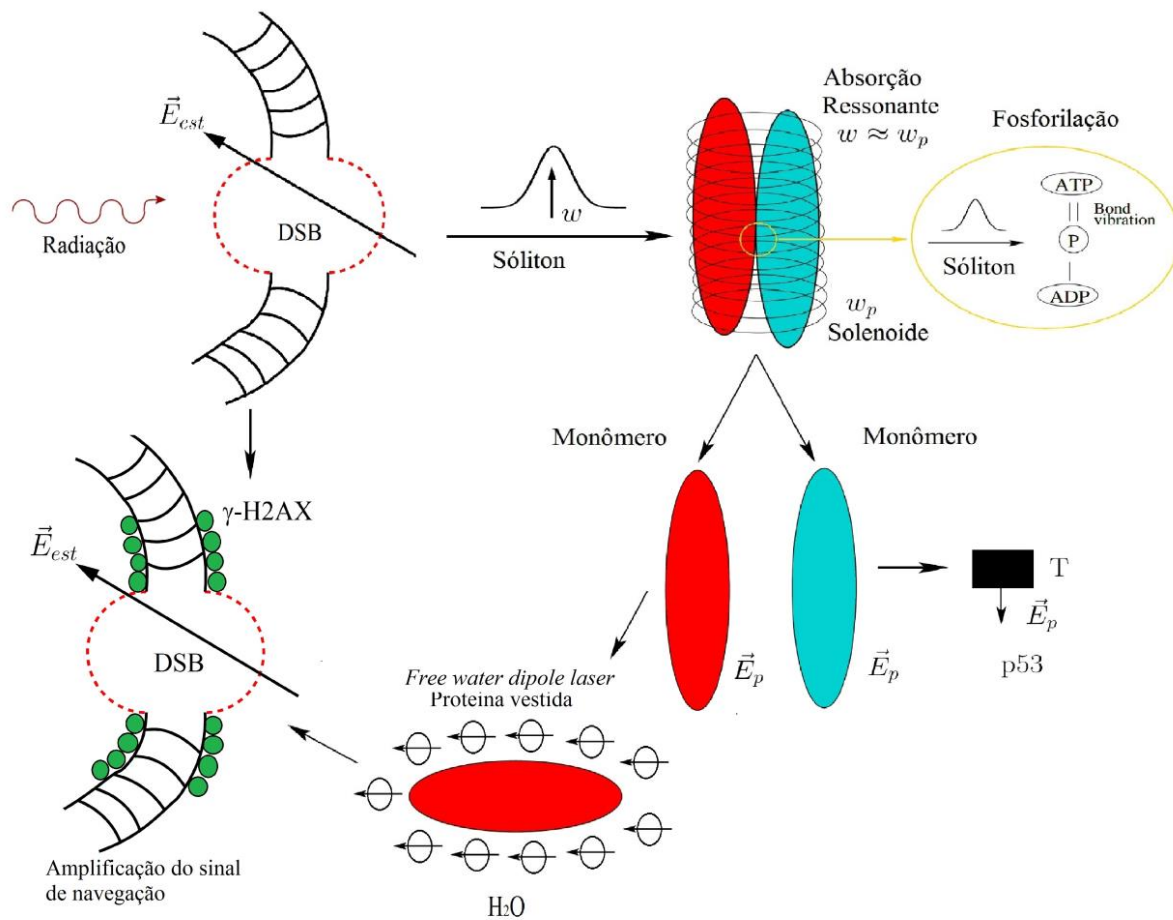


Fig. 37. Modelo do processo de reparo das DSBs induzidas pela radiação ionizante.

6 - PERSPECTIVAS FUTURAS

Um dos problemas fundamentais da Bioinformática é a troca de informações entre “objetos biológicos”. Essa troca de informações requer “emissão” e “recepção” de sinais com “especificidades” muito bem delineadas. A única natureza possível dos sinais é a *eletromagnética* (sendo que sinais eletrostáticos e magnetostáticos são casos particulares). De fato, interações gravitacionais são muito débeis e as nucleares não são acessíveis.

Este trabalho de tese, embora abordando um “estudo de caso” (reparo de DSB), concluiu que a sinalização no interior celular deve envolver emissão/recepção de sólitons eletromagnéticos. O modelo desenvolvido para a descrição desses sólitons foi “fenomenológico”.

As perspectivas para a continuidade do presente tema, conforme amplamente discutidas pelo Grupo, seria a descrição do sólito eletromagnético a partir de primeiros princípios do Eletromagnetismo, ou seja, a partir das Equações de Maxwell.

Contudo, as Equações de Maxwell em sua formulação original não admitem entre as suas soluções ondas do tipo “solitárias com energia finita”. Este tipo de onda é uma onda eletromagnética contínua que viaja ao longo de trajetórias retilíneas com velocidade igual à velocidade da luz. De fato, as equações clássicas do eletromagnetismo não são capazes de seguir apropriadamente a evolução de frentes de onda com energia finita porque é difícil impor simultaneamente $divE = 0$ e $divB = 0$ para cada ponto da frente de onda.

Será tentada, na continuidade deste trabalho, uma modificação da Lagrangeana a partir da hipótese de que $divE$ seja relativamente pequeno, situação recorrente em várias circunstâncias práticas, garantindo dessa maneira a existência de sólitons como possíveis soluções.

Evidências experimentais e teóricas obtidas pelo grupo quanto ao caráter eletromagnético de mecanismos de reparo em DNA serão reinterpretadas, bem como experimentos *ad-hoc* serão propostos. A identificação do papel que estes novos *insights* poderiam desempenhar no sentido de se propor e implementar novas terapias e prevenção de câncer será prioritária.

REFERÊNCIAS

Agüero, M., Fujioka, J. and Ceciliano, L., La antisoledad de la onda solitaria, *Ciencia ergosum*, Vol. 9-2. Universidad Autónoma del Estado de México, Toluca, 197- 201 (2002)

Alavi, S. E., Amiri, I.S., Idrus, S.M., Supa'at, A.S.M. and Ali, J. Cold laser therapy modeling of human cell/tissue by soliton tweezer. *Optik* 126, 578–582 (2015)
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijleo.2015.01.007>

Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. and Walter, P. *Molecular Biology of the Cell* (5th Ed.). Garland Science (2007) ISBN: 9780815341055

Allen, C.A. and Torres, A.G. Host-microbe communication within the GI tract. *Adv Exp Med Biol.* 635, 93-101(2008) DOI: 10.1007/978-0-387-09550-9_8.

Andersson, M. and Wallander, J. Kin selection and reciprocity inflight formation? *Behav Ecol* 15, 158–162 (2004) DOI:10.1093/bheco/arg10

Arruda-Neto JDT, Friedberg EC, Bittencourt-Oliveira MC et al. Static electric fields interfere in the viability of cells exposed to ionizing radiation. *International Journal of Radiation Biology* 85: 314-321(2009)

Arruda-Neto JDT, Friedberg EC, Bittencourt-Oliveira MC et al. The role played by endogenous and exogenous electric fields in DNA signaling and repair. *DNA Repair* 9: 356–357 (2010)

Arruda-Neto JDT, Segreto HR, Gomez JG et al. Radio Sensitization By Static Electric Fields Is Observed In The Extremophilic *Deinococcus Radiodurans* Exposed To Gamma Radiation. WebmedCentral plus BIOPHYSICS. ISSN 2051-0799 (2014).

Assis, A. K. T. and Hernandez J. A. A força elétrica de uma corrente. Editora da Universidade de São Paulo; Maceió: Editora da Universidade Federal de Alagoas, 256 p (2009) ISBN 978-85-314-1123-6

Attar M., Molaie Y. and Khansari, N. Effect of high dose natural ionizing radiation on the immune system of the exposed residents of Ramsar Town, Iran. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* Jun 6 (2), 73-8 (2007).

Austin, R.H. Alwyn C. Scott, a subversive character in Biological Physics. *J Biol Phys* 35, 1–3 (2009) DOI 10.1007/s10867-009-9136-1

Aydin, K., Ferry, V. E., Briggs, R.M. and Atwater, H.A. Broadband polarization-independent resonant light absorption using ultrathin plasmonic super absorbers. *Nature Communications* 2 (517), (2011) DOI:10.1038/ncomms1528

Babineau, D., Lewis, J.E. and Longtin, A. Spatial acuity and prey detection in weakly electric fish. *PLoS Comput Biol* 3, 402–411(2007) DOI: e3810.1371/journal.pcbi.0030038

Bakkenist, C.J. and Kastan, M.B., DNA damage activates ATM through intermolecular autophosphorylation and dimer dissociation, *Nature* 421, 499-506 (2003)

Ball, J., Moore, A.D. and Turner, S. *Ball and Moore's Essential Physics for Radiographers.* Chichester, UK: Blackwell Science (2008).

Ballerini, M., Cabibbo, N., Candelier, R., Cavagna, A., Cisbani, E., Giardina, I., Orlandi, A., Parisi, G., Procaccini, A., Viale, M. and Zdravkovic, V. Empirical investigation of starling flocks: a benchmark study in collective animal behaviour. *Anim Behav* 76, 201–215 (2008) DOI:10.1016/j.anbehav.2008.02.004

Bartek, J. and Lukas, J., Damage alert, *Nature* 421, 486-488, (2003)

Bernardi, A., Jacques-Silva, M.C. and Lenz, G. Abordagem molecular no desenvolvimento de fármacos anti-tumorais. *Infarma* 15 (9-10), 61-63 (2003)

Berra, C. M., Menck, C. F. M. and Di Mascio, P. Estresse oxidativo, lesões no genoma e processos de sinalização no controle do ciclo celular. *Quím. Nova*, vol.29, n.6, 1340-1344 (2006) ISSN 0100-4042.

Biswas, A. Quasi-stationary solitons for Langmuir waves in plasmas. *Commun. Nonlinear Sci. Numer. Simul.* 14 69–76 (2009)

Biswas, A., Milovic, D. and Zerrad, E. An exact solution for electromagnetic solitons in relativistic plasmas. *Phys. Scr.* 81, 025506(4pp) (2010) DOI:10.1088/0031-8949/81/02/025506.

Bjelakovic, G., Nikolova, D., Gluud, L. L., Simonetti, R. G. and Gluud, C., Mortality in randomized trials of antioxidant supplements for primary and secondary prevention: systematic review and meta-analysis. *JAMA* 297,842–857 (2007)

Brierley, D. J. and Martin, S. A. Oxidative stress and the DNA mismatch repair pathway. *Antioxid Redox Signal.* 18(18), 2420-2428, (2013). DOI: 10.1089/ars.2012.4994

Browne, W.R. and Feringa, B.L. Making molecular machines work. *Nature Nanotechnology* 1, 25 - 35 (2006) DOI:10.1038/nnano.2006.45

Brzozowa, M., Mielańczyk, Ł., Michalski, M., Malinowski, Ł., Kowalczyk-Ziomek, G., Helewski, K., Harabin-Słowińska, M. and Wojnicz, R. Role of Notch signaling pathway in gastric cancer pathogenesis. *Contemp Oncol (Pozn).* 17, 1–5 (2013) DOI: 10.5114/wo.2013.33765

Burdak- Rothkamm, S. and Prise, K.M. New molecular targets in radiotherapy: DNA damage signalling and repair in targeted and non-targeted cells. *European Journal of Pharmacology* 625 (1-3), 151-155 (2009)

Bustamante, C., Bryant, Z. e Smith, S.B. Ten years of tension: single-molecule DNA mechanics, *Nature* 421, 423-427 (2003)

Cao, L., Li, W., Kim, S., Brodie, S. G. and Deng, C. X., Senescence, aging, and malignant transformation mediated by p53 in mice lacking the Brca1 full-length isoform. *Genes Dev.* 17, 201–213 (2003)

Cesario, J., Quidant, R., Badenes, G. & Enoch, S. Electromagnetic coupling between a metal nanoparticle grating and a metallic surface. *Opt. Lett.* 30, 3404–3406 (2005).

Chen, B.P., Li, M. and Asaithamby, A. New insights into the roles of ATM and DNA-PKcs in the cellular response to oxidative stress. *Cancer Lett.* 327,103-110 (2012) DOI: 10.1016/j.canlet.2011.12.004.

Chen, Q., Zhang, Y., Lu, J., Wang, Q., Wang, S., Cao, Y., Wang, H. and Duan, E. Embryo-uterine cross-talk during implantation: the role of Wnt signaling. *Mol Hum Reprod.* 15, 215-21 (2005) DOI: 10.1093/molehr/gap009

Chernodub, M.N., Hu, S. and Niemi, A.J. Topological Solitons and Folded Proteins. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 82, 1-4 (2010) PMID: 2086665

Ciblis, P. and Cosic, I. The possibility of Soliton/Exciton transfer in proteins, *J. Theor. Biol.* 184, 331-338 (1997)

Clarke, M.B. and Sperandio, V. Events at the host-microbial interface of the gastrointestinal tract III. Cell-to-cell signaling among microbial flora, host, and pathogens: there is a whole lot of talking going on. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 288, G1105-1109 (2005)

Collini, E., Wong, C.Y., Wilk, K.E., Curmi, P.M.G., Brumer, P. and Scholes, G.D. Coherently wired light-harvesting in photosynthetic marine algae at ambient temperature. *Nature* 463, 644-647 (2010) DOI: 10.1038/nature08811

Cosic I. (1990). Resonant recognition model of protein-protein and protein-DNA interaction. In: *Bioinstrumentation and Biosensors* (Wise, D., ed.) pp. 475–510. New York: Marcel Dekker Inc.

Cosic, I, Cosic, D. and Lazar, K. Is it possible to predict electromagnetic resonances in proteins, DNA and RNA? *EPJ Nonlinear Biomedical Physics* 3:5 (2015) DOI:10.1140/epjnbp/s40366-015-0020-6

Cosic, I. The Resonant Recognition Model of Biomolecular Interactions: possibility of electromagnetic resonance. *Polish Journal of Medical Physics and Engineering* 7(1), 73-87 (2001).

Cosic, I., Pirogova, E., Vojisavljevic, V. and Fang, Q. Electromagnetic properties of biomolecules. *FME Transac.* 34 (2), 71-80 (2006)

Cremona, C.A. and Behrens, A. ATM signalling and cancer. *Oncogene.* 15, 1-10 (2013) DOI: 10.1038/onc.2013.275.

Csermely, P., Sandhu, K.S., Hazai, E., Hoksza, Z. Kiss, H.J.M., Miozzo, F., Veres, D.V., Piazza, F. and Nussinov, R. Disordered proteins and network disorder in network descriptions of protein structure, dynamics and function. Hypotheses and a comprehensive review. *Current Protein and Peptide Science* 13, 19-33 (2012)

Cuenda, A., Sánchez, A. and Quintero, N. R. Does the dynamics of sine–Gordon solitons predict active regions of DNA? *Physica D* 223 214–221 (2006) DOI:10.1016/j.physd.2006.09.005

Cui, H., Kong, Y. and Zhang, H. Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging. *Journal of Signal Transduction* Article ID 646354, 13 pages (2012) DOI:10.1155/2012/646354

Daly, M. J., Gaidamakova, E.K., Matrosova, V.Y., Kiang, J.G., Fukumoto, R., Lee, D. Y., Wehr, N.B., Viteri, G.A., Berlett, B.S. and Levine, R.L., Small-molecule antioxidant proteome-shields in *Deinococcus radiodurans*. *PLoS One* 5, e12570 (2010)

Dang, A., Tabi, C.B., Ekobena, H.P., Mohamadou, A. and Kofané, T.C. Nonlinear charge transport in the helicoidal DNA molecule. *Chaos.* 22(4), (2012) DOI: 10.1063/1.4766594.

Daniel, M. and Vanitha, M. Bubble solitons in an inhomogeneous, helical DNA molecular chain with flexible strands. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 84 (2011) PMID: 22060424

Davydov, A.S. and Kislukha, N.I. Solitary Excitons in One-Dimensional Molecular Chains. *Physica Status Solidi (b)* 59, 465-470 (1973)

Davydov, A.S. *Biology and Quantum Mechanics*. Oxford: Pergamon Press Ltd., 1982

Davydov, A.S. The Theory of Contraction of Proteins under Their Excitation. *Journal of Theoretical Biology* 38, 559-569 (1973).

Del Giudice E., Preparata G., Vitiello G. Water as a free electric dipole laser. *Physical Review Letters* 61, 1085-1088 (1988)

Del Giudice, E., Tedeschi, A., Water and the autocatalysis in living matter. *Electromagnetic Biology and Medicine* 28, 46-52 (2009). DOI: 10.1080/15368370802708728

Derheimer, F. A. and Kastan, M. B. Multiple roles of ATM in monitoring and maintaining DNA integrity. *FEBS Lett.* 584(17): 3675–3681 (2010) DOI:10.1016/j.febslet.2010.05.031.

DiStasio, R. A. Jr., von Lilienfeld, O. A. and Tkatchenkoc, T. Collective many-body van der Waals interactions in molecular systems. *PNAS* 109 (37), 14791–14795 (2012)

Dryden, D.M., Hopkins, J. C., Denoyer, L. K., Poudel, L., Steinmetz, N. F., Ching, W., Podgornik, R., Parsegian, A. and French, R. H. van der Waals Interactions on the Mesoscale: Open-Science Implementation, Anisotropy, Retardation, and Solvent Effects. *Langmuir* 31, 10145–10153 (2015) DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b00106

Du, F., Zhang, M., Li, X., Yang, C., Meng, H., Wang, D., Chang, Sh., Xu, Y., Price, B. and Sun, Y. Dimer monomer transition and dimer re-formation play important role for ATM cellular function during DNA repair. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 452(4), 1034–1039 (2015) DOI: 10.1016/j.bbrc.2014.09.038

Dupré, A., Boyer-Chatenet, L. and Gautier, J. Two-step activation of ATM by DNA and the Mre11-Rad50-Nbs1 complex. *Nat Struct Mol Biol.* 13, 451-457 (2006)

Edwards, G.S., Davis, C.C., Saffer, J.D. e Swicord, M.L. Resonant Microwave Absorption of Selected DNA Molecules. *Phys. Rev. Lett.* 53, 1284 (1984); Erratum *Phys. Rev. Lett.* 53, 2060 (1984)

Eley, D.D. and Spivy, D.I. Semiconductivity of organic substances. Part 8 - Porphyrins and dipyrromethenes. *Trans. Faraday Soc.* 58, 405-410 (1962) DOI: 10.1039/TF9625800405

Fantini, C., Jorio, A., Santos, A.P, Peressinotto, V.S.T. e Pimenta, M.A. Characterization of DNA-wrapped carbon nanotubes by resonance Raman and optical absorption spectroscopies. *Chemical Physics Letters* 439(1-3), 138–142 (2007)

Fonseca, A.S., Campos, V.M.A., Magalhães, L.A.G. and Paoli, F. Nucleotide excision repair pathway assessment in DNA exposed to low-intensity red and infrared lasers. *Braz J Med Biol Res* 48 (10) (2015) <http://dx.doi.org/10.1590/1414-431X20154457>

Freedman, R., Young, H., Ford, A. L. and Zemansky, S. *Física Universitaria con Física Moderna*, Vol. 2, Decimosegunda edición, Pearson Education, México (2009)

Friedberg E.C., Walker G.C., Siede W., Wood R.D., Schultz R.A., Ellenberger T., *DNA repair and mutagenesis*, ASM Press, Washington (2006).

Fu, T., Jin, Z., Xiu, Z. and Li, G. Binding free energy estimation for protein-ligand complex based on MM-PBSA with various partial charge models. *Curr Pharm Des.* 19, 2293-2307 (2013).

Funaro, D. *Electromagnetism and the Structure of Matter*. World Scientific, Singapore (2008).

Furgason, J. M. and Bahassi, el M. Targeting DNA repair mechanisms in cancer. *Pharmacol Ther.* 137(3), 298-308 (2013) DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.10.009.

Gaeta, G. Solitons and DNA. (2013) http://www.mat.unimi.it/users/gaeta/BMT/DNA_slides.pdf

Gallavotti, G. The Fermi-Pasta-Ulam Problem. *Lecture Notes in Physics* 728(2008) DOI: 10.1007/978-3-540-72995-2

Garner, E. and Costanzo, V. Studying the DNA damage response using *in vitro* model systems. DNA Repair. 8(9) 1025–1037 (2009) DOI:10.1016/j.dnarep.2009.04.015

Gauger, E.M., Rieper, E., Morton, J.J.L., Benjamin, S.C and Vedral, V. Sustained Quantum Coherence and Entanglement in the Avian Compass. Phy. Rev. Let. 106, 0405031- 0405034 (2011)

Glowacki, E. D., Irimia-Vladu, M., Bauer, S. and Sariciftci, N. S. Materials for biology and medicine. Journal of Materials Chemistry B 1(31), 3719-3870 (2013) ISSN 2050-750X.

Gobbetti, M., De Angelis, M., Di Cagno, R., Minervini, F., Limitone, A. Cell-cell communication in food related bacteria. Int J Food Microbiol. 120, 34-45 (2007)

Gölz, G., Sharbati, S., Backert, S. and Alter, T. Quorum sensing dependent phenotypes and their molecular mechanisms in Campylobacterales. Eur J Microbiol Immunol (Bp). 2, 50-60 (2012)

Gondim, R. Condução eletrônica e propriedades termodinâmicas da molécula de DNA. Universidade Federal de Rio Grande do Norte. Natal. Brasil (2012).

Goodarzi, A .A. Jeggo, P. and Lobrich, M. The influence of heterochromatin on DNA double strand break repair: Getting the strong, silent type to relax. DNA Repair 9, 1273-1282 (2010) DOI: 10.1016/j.dnarep.2010.09.013

Gueven, N., Becherel, O. J., Kijas, A. W., Chen, P., Howe, O., Rudolph, J. H., Gatti, R., Date, H., Onodera, O. and Lavin, M. F., Aprataxin, a novel protein that protects against genotoxic stress. Hum. Molo. Genet, 13, 1081-1093 (2004)

Haas, F. and Shukla, P. K. Translating oscillatory nonlinear structure in a plasma boundary. Phys. Plasmas 16, 092107 (2009)

Hall, B. C. Quantum Theory for Mathematicians, Springer, p. 239 (2013)

Hamilton, M. L., Van Remmen, H., Drake, J.A., Yang, H., Guo, Z.M., Kewitt, K., Walter, C.A., Richardson, A., Does oxidative damage to DNA increase with age? *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 98, 10469–10474 (2001)

Han, W. and Yu, K.N. Response of cells to ionizing radiation. *Adv. in Biomed. Sciences and Eng.*, Bentham Science Publisher Ltd, 204-262 (2009).

Heeger, A.J. Nobel Lecture: Semiconducting and metallic polymers: The fourth generation of polymeric materials. *Rev. Mod. Phys.* 73(3), 681-700 (2001)

Hensley, K., Hall, N., Subramaniam, R., Cole, P., Harris, M., Aksenov, M., Aksenova, M., Gabbita, S.P., Wu, J.F., Carney, J.M., Lovell, M., Markesbery, W.R. and Butterfield, D.A., Brain regional correspondence between Alzheimer's disease histopathology and biomarkers of protein oxidation. *J. Neurochem.* 65, 2146–2156 (1995)

Hermon, Z., Caspi, S. and Ben-Jacob, E. Prediction of charge and dipole solitons in DNA molecules based on the behaviour of phosphate bridges as tunnel elements. *EPL (Europhysics Letters)* 43 (4), 482 (1998) <http://iopscience.iop.org/0295-5075/43/4/482>

Herráez, A. *Biología molecular e ingeniería genética*. 2da edición. Elsevier España, S. I. (2012) ISBN: 978-84-8086-647-7.

Hibbins, A. P. *et al.* Resonant absorption of electromagnetic fields by surface plasmons buried in a multilayered plasmonic nanostructure. *Phys. Rev. B* 74, 073408 (2006).

Hildner, R., Brinks, D., Nieder, J.B., Cogdell, R.J. and van Hulst, N.F. Quantum Coherent Energy Transfer over Varying Pathways in Single Light-Harvesting Complexes. *Science* 21, 1448-1451 (2013) DOI: 10.1126/science.1235820

Ho, L., Yemul, S., Knable, L., Katsel, P., Zhao, R., Haroutunian, V. and Pasinetti, G.M. Insulin receptor expression and activity in the brains of nondiabetic sporadic Alzheimer's disease cases. *Int J Alzheimers Dis.* 2012:321280, 1-12 (2012) DOI: 10.1155/2012/321280

Hoeijmakers, J. H., Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature* 411, 366–374 (2001)

Hu, S., Krokhotin, A., Niemi, A.J. and Peng, X. Towards quantitative classification of folded proteins in terms of elementary functions. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* 83, 1-4 (2011) PMID: 21599201

Ilieva, N., Dai, J., Sieradzan, A. and Niemi, A. Solitons and protein folding: An In Silico experiment. *AIP Conference Proceedings* 1684, 030006 (2015) DOI: 10.1063/1.4934290

Ivarsson, Y., Travaglini-Allocatelli, C., Brunori, M. and Gianni, S. Mechanisms of protein folding. *Eur Biophys J.* 37(6):721-728 (2008) DOI: 10.1007/s00249-007-0256-x

Jackson, J. D., *Classical electrodynamics*, 3rd ed, New York: John Wiley & Sons, (1999) ISBN - 9780471309321

Jakob B., Rudolph J. H., Gueven N., Lavin M. F. and Taucher-Scholz G., Live cell imaging of heavy-ion-induced radiation responses by beam line microscopy. *Radiat. Res.*163, 681-690 (2005)

Jazayeri, A., Falck, J., Lukas, C., Bartek, J., Smith, G.C., Lukas, J. and Jackson, S.P. ATM- and cell cycle-dependent regulation of ATR in response to DNA double-strand breaks. *Nat Cell Biol.* 8, 37-45 (2006)

Jorgensen, W.L. The Many Roles of Computation in Drug Discover. *Science* 303, 1813-1818 (2004) DOI: 10.1126/science.1096361

Kalfas, C.A., Sideris, E.G. and Martin, P.W. Perturbed gamma-gamma angular correlation studies of ¹¹¹In bound to double and single stranded DNA. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes* 35, 889–893 (1984)

Kalfas, C.A., Sideris, E.G., Loukakis, G.K. and Anagnostopoulou-Konsta, A. Rotational correlation times in irradiated DNA. *Journal of Non-Crystalline Solids* vol.172–174, 1121–1124 (1994)

Kastan, M. B. DNA Damage Responses: Mechanisms and Roles in Human Disease. *Mol Cancer Res* 6; 517 (2008) DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-08-0020

Kavitha, L., Priya, R., Ayyappan, N., Gopi, D. and Jayanthi, S. Energy transport mechanism in the form of proton soliton in a one-dimensional hydrogen-bonded polypeptide chain. *J Biol Phys.* 22, 1-23 (2015) PMID: 26198375

Keim, B. Everywhere in a Flash: The Quantum Physics of Photosynthesis. *Wired Science* (2010).

Kimura, S.R., Rajamani, R. and Langley, D.R. Communication: Quantum polarized fluctuating charge model: a practical method to include ligand polarizability in biomolecular simulations. *J Chem Phys.* 135, 231101 (2011). DOI: 10.1063/1.3671638.

Kirkwood, T. B., Evolution of ageing. *Mech. Ageing Dev.* 123, 737–745 (2002)

Kirkwood, T. B., Understanding the odd science of aging. *Cell* 120, 437–447 (2005)

Kirson, E.D., Dbaly, V., Tovarys, F., Vymazal, J., Soustiel, J.F., Itzhaki, A., Mordechovich, D., Steinberg-Shapira, S., Gurvich, Z., Schneiderman, R., Wasserman, Y., Salzberg, M., Ryffel, B., Goldsher, D., Dekel, E. and Palti, Y., Alternating electric fields arrest cell proliferation in animal tumor models and human brain tumors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*, (2007) DOI: 10.1073/pnas.0609101104

Kirson, E.D., Gurvich, Z., Schneiderman, R., Dekel, E., Itzhaki, A., Wasserman, Y., Schatzberger, R. and Palti, Y. Disruption of cancer cell replication by alternating electric fields. *Cancer Research* 64, 3288–3295 (2004)

Kirson, E.D., Giladi, M., Gurvich, Z., Itzhaki, A., Mordechovich, D., Schneiderman, R. S., Wasserman, Y., Ryffel, B., Goldsher, D. and Palti, Y. Alternating electric fields (TTFields) inhibit metastatic spread of solid tumors to the lungs. *Clin Exp Metastasis.* 26(7), 633–640 (2009) doi: 10.1007/s10585-009-9262-y

Knöfler, M. and Pollheimer, J. Human placental trophoblast invasion and differentiation: a particular focus on Wnt signaling. *Front Genet.* 26, 4-190 (2013) DOI: 10.3389/fgene.2013.00190.

Kozlov, S. V., Graham, M. E., Jakob, B., Tobias, F., Kijas, A.W., Tanuji, M., Chen,P.; Robinson, P. J., Taucher-Scholz, G., Suzuki, K., So, S., Chen, D. and Lavin, M. F. Autophosphorylation and ATM Activation. *J Biol Chem.* 286(11): 9107–9119 (2011)

Krokhotin, A., Niemi, A.J. and Peng, X. Soliton concepts and protein structure. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.*85 (2012)

Kryston, T. B., Georgiev, A. B., Pissis, P. and Georgakilas, A.G. Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutation Research* 711, 193–201 (2011)

Kujawa, J., Zavodnik, L., Zavodnik, I., Buko, V., Lapshyna, A. and Bryszewska, M. Effect of low-intensity (3.75-25 J/cm²) near-infrared (810 nm) laser radiation on red blood cell ATPase activities and membrane structure. *J Clin Laser Med Surg.* 22(2), 111-7 (2004)

Kwan-Hoong, Ng. Non-Ionizing Radiations: Sources, Biological Effects, Emissions and Exposures. *Proceedings of the International Conference on Non-Ionizing Radiation at UNITEN ICNIR 2003 Electromagnetic Fields and Our Health* (2003)

Lakhno, V.D.Soliton-like Solutions and Electron Transfer in DNA. *J Biol Phys.* 26(2): 133–147 (2000) DOI: 10.1023/A: 1005275211233

Landa, H., Reznik, B., Brox, J., Mielenz, M. and Schaez, T. Structure, dynamics and bifurcations of discrete solitons in trapped ion crystals. *New Journal of Physics* 15 (2013) 093003 (23pp) DOI:10.1088/1367-2630/15/9/093003

Lang, J. and Faure, D. Functions and regulation of quorum-sensing in *Agrobacterium tumefaciens*. *Front Plant Sci.* 31, 5-14 (2014)

Lapointe, J. and Hekimi, S., When a theory of aging ages badly. *Cell. Mol. Life Sci.* 67, 1–8 (2009)

Larsson, M. Incidental sounds of locomotion in animal cognition. *Animal Cognition*. 15, 1-13 (2012) DOI: 10.1007/s10071-011-0433-2

Lavin, M.F. and Kozlov, S. ATM activation and DNA damage response. *Cell Cycle*. 6, 931-942 (2007)

Lebar, B.I. and Heppner, F.H. Organized flight in birds. *Anim Behav* 78, 777–789 (2009) DOI:10.1016/j.anbehav.2009.07.007

Lee, J.H. and Paull, T.T. ATM activation by DNA double-strand breaks through the Mre11-Rad50-Nbs1 complex. *Science*. 308, 551-554 (2005)

Lee, J.H., Goodarzi, A.A., Jeggo, P.A. and Paull, T.T. 53BP1 promotes ATM activity through direct interactions with the MRN complex. *EMBO J*. 29, 574-585 (2010) DOI: 10.1038/emboj.2009.372

Lengauer, C., Kinzler, K. W. and Vogelstein, B., Genetic instabilities in human cancers. *Nature* 396, 643–649 (1998)

Lin, J. C., Duell, K. and Konopka, J.B. A microdomain formed by the extracellular ends of the transmembrane domains promotes activation of the G protein-coupled alpha-factor receptor. *Mol Cell Biol*. 24, 2041-51 (2004)

Lin, S. Y., Liang, Y. and Li, K. Multiple roles of BRIT1/MCPH1 in DNA damage response, DNA repair, and cancer suppression. *Yonsei Med J*. 51, 295-301 (2010) DOI: 10.3349/ymj.2010.51.3.295

Liu, M. and Hu, W. Functional role of ATM in the cellular response to DNA damage. *Frontiers of Chemical Science and Engineering* (2) 179-187 (2011)

Llorca O., Rivera-Calzada A., Grantham J., Willison K. R., Electron microscopy and 3D reconstructions reveal that human ATM kinase uses an arm-like domain to clamp around double-stranded DNA, *Oncogene* 22, 3867–3874 (2003)

Lodish, H., Berk, A., Kaiser, C. A., Krieger, M., Scott, M. P., Bretscher, A. and Ploegh, H. Molecular Cell Biology. W. H. Freeman; 6th edition (2007) ISBN-13: 978-0716776017

Lomdahl, P.S, Layne, S. P and Bigio, I.J. Soliton in Biology. LOS ALAMOS SCIENCE Spring (1984) <https://www.fas.org/sgp/othergov/doe/lanl/pubs/00326976.pdf>

Lord, Ch.J. and Ashworth, A. Targeted therapy for cancer using PARP inhibitors. Current Opinion in Pharmacology 8(4), 363–369 (2008)

Lu, K. and Vicario, D. S. Statistical learning of recurring sound patterns encodes auditory objects in songbird forebrain. PNAS 111(40), 14553–14558. (2014)

Lyshevski, M.A. Quantum theory and high-fidelity mathematical models of DNA. 4th IEEE Conf. Nanotech., 559 - 561 (2004) DOI: 10.1109/NANO.2004.1392419

Malomed, B. A. and Stenflo, L. Modulational instabilities and soliton solutions of a generalized nonlinear Schrödinger equation. J. Phys. A: Math. Gen. 24, L1149–53 (1991)

Malomed, B. A., Frantzeskakis, D. J., Nistazakis, H. E., Tsigopoulos, A. and Hizanidis, K. Dynamics of Pereira–Stenflo solitons in the presence of third-order dispersion. Phys. Scr. T82, 36–42 (1999)

Mancic, A., Hadzievski, L. and Skoric, M. M. Dynamics of electromagnetic solitons in a relativistic plasma. Phys. Plasmas 13, 052309 (2006)

Martí, M.A. and Turjanski, A.A. La bioinformática estructural o la realidad virtual de los medicamentos. Rev. Quim. Viva. 1, 25-34 (2009)

Martin, F., Lavin, M. F., Kozlov, S., Gueven, N., Peng, Ch., Birrell, G., Chen, P. and Scott, S. ATM and Cellular Response to DNA Damage. Advances in Experimental Medicine and Biology 570. 457-476 (2005) DOI: 10.1007/1-4020-3764-3_16

McFadden, J. and Al-Khalili, J. A quantum mechanical model of adaptive mutation. BioSystems 50, 203 – 211 (1999)

- Mihelic, F.M. Model of Biological Quantum Logic in DNA. *Life* 3, 474-481 (2013) DOI: 10.3390/life3030474
- Miller, M.B and Bassler, B.L. Quorum sensing in bacteria. *Annu Rev Microbiol.* 55,165-99 (2001)
- Mo, Y.Y., Tang, H. and Miele, L. Notch-associated microRNAs in cancer. *Curr Drug Targets.* 14, 1157-1166 (2013)
- Mohamed, O.A., Jonnaert, M., Labelle-Dumais, C., Kuroda, K., Clarke, H.J. and Dufort, D. Uterine Wnt/beta-catenin signaling is required for implantation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 102, 8579-84 (2005)
- Moron, M., Arruda-Neto, J. D.T., Segreto, H., Maria, D., Batista, L. and Genofre, G. Cancer Cells Jointly Exposed To Gamma-radiation And Electric Field Develop S-phase Arrest. *WebmedCentral BIOLOGY* 2011; 2(9):WMC001154. ISSN 2046-1690 (2011)
- Mosca, B., Delbono, O., Messi, M. L., Bergamelli, L., Wang, Z., Vukcevic, M., Lopez, R., Treves, S., Nishi, M., Takeshima, H., Paolini, C., Martini, M., Rispoli, G., Protasi, F. and Zorzato, F. Enhanced dihydropyridine receptorcalcium channel activity restores muscle strength in JP45/CASQ1double knockout mice. *Nature Comm* 4(1541) 1-9 (2013) doi: 10.1038/ncomms2496
- Mozumder, A. and Hatano, Y. Charged Particle and Photon Interactions with Matter: Chemical, Physicochemical, and Biological Consequences with Applications. New York: Marcel Dekker (2004).
- Muller, F. L., Lustgarten, M. S., Jang, Y., Richardson, A. and Van Remmen, H., Trends in oxidative aging theories. *Free Radic. Biol. Med.* 43, 477–503 (2007)
- Mundargi, R.C., Babu, V.R., Rangaswamy, V., Patel, P. and Aminabhavi, T.M. Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly (D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *Journal of Controlled Release* 125(3), 193-209 (2008)

Nápoles, J. E. and González, A. Solitones, una no-linealidad no tan solitaria. Revista digital Matemática, Educación e Internet. (2006)

Naumkin P., ¿Qué es un solitón? Boletín de la UNAM. Campus Morelia 19, (2008).

Nelson, D.L. and Cox, M.M. Lehninger Principles of Biochemistry (5th ed). New York: W.H. Freeman and Company, 96-100 (2008)

Omenn, G. S., Goodman, G.E., Thornquist, M.D., Balmes, J., Cullen, M.R., Glass, A., Keogh, J.P., Meyskens, F.L., Valanis, B., Williams, J.H., Barnhart, S., Hammar, S., Effects of a combination of beta carotene and vitamin A on lung cancer and cardiovascular disease. N. Engl. J. Med. 334, 1150–1155 (1996)

Ophadt, C.E. Secondary Protein- Structure. Virtual Chembook (2003)
<http://www.elmhurst.edu/~chm/vchembook/547glycogen.html>

Orengo, D. J. Fundamentos de Biología Molecular. Editorial UOC. Barcelona. (2012) ISBN: 978-84-9029-919-7.

Oyaga, E. Soluciones solitón y aplicación a las proteínas. Trabajo Fin de Grado en Matemáticas. Univ. del País Vasco. (2014)

Pang, X.F. The properties of bio-energy transport and influence of structure nonuniformity and temperature of systems on energy transport along polypeptide chains. Prog Biophys Mol Biol.108 (1-2), 1-46 (2012) DOI: 10.1016/j.pbiomolbio.2011.09.005

Paredes, A., Blanco, J.L. and Echenique-Elizondo, M. Expresión de proteínas relacionadas con resistencia a múltiples fármacos (MDR-proteínas) en tumores sólidos. Cir. Esp. 79 (4), 202-214 (2006)

Pashaev, O. K., Lee, J-H. and Rogers, C. Soliton resonances in a generalized nonlinear Schrödinger equation. J. Phys. A: Math. Theor. 41, 452001 (2008)

Peidaee, P., Cosic, I. and Pirogova, E. Low Intensity Light Therapy Exposure System. IFMBE Proceedings 39, 1648-1651. World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering, China (2012)

Peidaee, P., Almansour, N.M. and Pirogova, E. In vitro evaluation of low-intensity light radiation on murine melanoma (B16F10) cells. *Med Biol Eng Comput.* 23, (2015)

Perdomo-Ortiz, A., Dickson, N., Drew-Brook, M., Rose, G. and Aspuru-Guzik, A. Finding low-energy conformations of lattice protein models by quantum annealing. *Scientific Reports* 2:571, 1-7 (2012) DOI: 10.1038/srep00571

Perez, V. I., Van Remmen, H., Bokov, A., Epstein, C.J., Vijg, J., Richardson, A. The overexpression of major antioxidant enzymes does not extend the lifespan of mice. *Aging Cell* 8, 73–75 (2009)

Petrini, J. H. The Mre11 complex and ATM: collaborating to navigate S phase. *Curr. Opin. Cell Biol.* 12, 293–296 (2000)

Picklo, M. J., Montine, T. J., Amarnath, V. and Neely, M. D. Carbonyl toxicology and Alzheimer's disease. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 184,187–197 (2002)

Postel-Vinay, S., Vanhecke, E., Olaussen, K. A., Lord, C. J., Ashworth, A. and Soria, J. C. The potential of exploiting DNA-repair defects for optimizing lung cancer treatment, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 9, 144 -155 (2012) DOI:10.1038/nrclinonc.2012.3

Raha, K. and Merz, K.M. Jr. Large-scale validation of a quantum mechanics based scoring function: predicting the binding affinity and the binding mode of a diverse set of protein-ligand complexes. *J Med Chem.* 48, 4558-4575 (2005)

Ramirez, C. L., Cadinanos, J., Varela, I., Freije, J. M. and Lopez-Otin, C., Human progeroid syndromes, aging and cancer: new genetic and epigenetic insights into old questions. *Cell. Mol. Life Sci.* 64,155–170 (2007)

Ramírez, G. and Rodríguez, A. Ondas electromagnéticas. Instituto Tecnológico de Nuevo León, España. (2014)

Rao, K. S., Chakrabarti, S. K., Dongare, V. S., Sharath, B. S., Vikas, H. M., Chetana, K. and Deb, K. D. An Intensive Mind and Body Therapeutic Program Leads to Alteration in Gene Expression Critical to Aging Process in Peripheral Blood Stem Cells. *Advances in Aging Research*, 4 (3), 89-95 (2015) DOI: 10.4236/aar.2015.43011

Reading, N.C. and Sperandio, V. Quorum sensing: the many languages of bacteria. *FEMS Microbiol Lett.* 254, 1-11 (2006)

Ribero, W.C. Investigação da condução elétrica em fitas duplas de D immobilizadas em eletrodos de ouro por medidas eletroquímicas. 2014. 110 f. Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Instituto de Química de Araraquara (2014). Disponível em: <<http://hdl.handle.net/11449/115619>>.

Richards, E. G., *An introduction to physical properties of large molecules in solution*, Cambridge University Press, 154-165 (1980)

Rieper, E., Anders, J. and Vedral, V. Quantum entanglement between the electron clouds of nucleic acids in DNA. *Quant Phys* (2011) <http://arxiv.org/abs/1006.4053v2>

Rios, E. and Pizarro, G. Voltage sensor of excitation-contraction coupling in skeletal muscle. *Physiological Reviews* 71, 849-908 (1991)

Ritter, M.A., Cleaver, J.E. and Tobias, C.A. High-LET radiations induce a large proportion of non-rejoining DNA breaks. *Nature* 266, 653 - 655 (1977) DOI:10.1038/266653a0

Ritz, T., Thalau, P., Phillips, J.B., Wiltschko, R. and Wiltschko, W. Resonance effects indicate a radical-pair mechanism for avian magnetic compass. *Nature* 429, 179-180 (2004)

Rivera-Calzada, A., López-Perrote, A., Melero, R., Boskovic, J., Muñoz-Hernández, H., Martino, F. and Llorca, O. Structure and Assembly of the PI3K-like Protein Kinases (PIKKs)

Revealed by Electron Microscopy. *AIMS Biophysics* 2(2), 36-57 (2015) DOI: 10.3934/biophy.2015.2.36

Rotman, G., and Shiloh, Y., ATM: from gene to function. *Hum. Mol. Genet.* 7, 1555–1563 (1998)

Saha, M. and Kofane, T.C. Long-range interactions between adjacent and distant bases in a DNA and their impact on the ribonucleic acid polymerase-DNA dynamics. *Chaos.* 22(1) (2012) DOI: 10.1063/1.3683430.

Sanders, L. Algae use quantum trick to harvest light. Study detects predicted wave like properties during photosynthesis. *ScienceNews* (2010).

Santagati, F., Botta, E., Stefanini, M. and Pedrini, A.M. Different dynamics in nuclear entry of subunits of the repair/transcription factor TFIIF. *Nucleic Acids Res.* 29, 1574-1581 (2001)

Saxena, A., Jacobson, J., Yamanashi, W., Scherlag, B., Lamberth, J. and Saxena, B. A hypothetical mathematical construct explaining the mechanism of biological amplification in an experimental model utilizing picoTesla (PT) electromagnetic fields. *Med Hypotheses.* 60(6), 821-39 (2003)

Schimdt, C. and Vogel, V. Molecular shuttles powered by motor proteins: loading and unloading stations for nanocargo integrated into one device. *Lab Chip* 10, 2195-2198 (2010) DOI: 10.1039/C005241H

Schumacher, B., Garinis, G. A. and Hoeijmakers, J. H., Age to survive: DNA damage and aging. *Trends Genet.* 24, 77–85 (2008)

Shiloh, Y. and Ziv, Y. The ATM protein kinase: regulating the cellular response to genotoxic stress, and more. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 14(4), 197-210 (2013) DOI: 10.1038/nrm3546.

Shiloh, Y., The ATM-mediated DNA-damage response: taking shape. *Trends Biochem Sci* 317, 402-410, (2006)

Slade, D. and Radman, M., Oxidative Stress Resistance in *Deinococcus radiodurans*. *Microbol. Mol. Biol. Rev.*, 75-1, 133–191 (2011) DOI:10.1128/MMBR.00015-10

Smith, C. D., Carney, J.M., Starke-Reed, P.E., Oliver, C.N., Stadtman, E.R., Floyd, R.A. and Markesbery, R.A., Excess brain protein oxidation and enzyme dysfunction in normal aging and in Alzheimer disease. *Proc. Natl. Acad. Sci.U. S. A.* 88, 10540–10543 (1991)

Smith, J., Tho, L.M., Xu, N. and Gillespie, D.A. The ATM-Chk2 and ATR-Chk1 pathways in DNA damage signaling and cancer. *Adv Cancer Res.* 108, 73-112 (2010) DOI: 10.1016/B978-0-12-380888-2.00003-0

Sorrentino, F. and Porfiri, M. Analysis of parameter mismatches in the master stability function for network synchronization. *EPL*, 93 (2011) 50002 www.epljournal.org DOI: 10.1209/0295-5075/93/50002

Souza, W.F., Araujo, W. M., De-Freitas-Junior, J.C. M. and Morgado-Diaz, J.A. Sinalização celular em câncer. *Cienc. Cult.* [Online] vol.66, 30-33 (2014) ISSN 2317-6660.

Stracker, T. H., Roig, I., Knobel, P. A. and Marjanović, M. The ATM signaling network in development and disease. *Front. Genet.* 25 March 2013. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2013.00037>

Tabi, C.B. Formation and Interaction of Bright Solitons with Shape Changing in a DNA Model. *J Phys Chem Biophys* 4, 161 (2014) DOI:10.4172/2161-0398.1000162

van Gent, D. C., Hoeijmakers, J. H. and Kanaar, R., Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. *Nat. Rev. Genet.* 2, 196–206 (2001)

van Grondelle, R. and Novoderezhkin, V.I. Photosynthesis: Quantum design for a light trap. *News and Views, Nature* 463, 614-615 (2010)

Vanitha, M. and Daniel, M. Internal nonlinear dynamics of a short lattice DNA model in terms of propagating kink-antikink solitons. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys* 85 (2012) PMID: 22680502

Vega, A. K. Caracterización molecular y celular de una cohorte de pacientes con ataxia-Telangiectasia. Universidad de Granada (2013) <http://hera.ugr.es/tesisugr/22560178.pdf>

Verrax, J. and Calderon, P. B., The controversial place of vitamin C in cancer treatment. *Biochem. Pharmacol.* 76, 1644–1652 (2008)

Vlatko, V. Quantum computers – have birds got there first? *Science Focus* (2011)

Wang, J.C., Lin, J.H., Chen, C.M., Perryman, A.L. and Olson, A.J. Robust scoring functions for protein-ligand interactions with quantum chemical charge models. *J Chem Inf Model.* 51, 2528-2537 (2011) DOI: 10.1021/ci200220v.

Wang, Z., Li, Y. and Sarkar, F.H. Notch Signaling Proteins: Legitimate Targets for Cancer Therapy. *Curr Protein Pept Sci.* 11, 398–408 (2010)

Wang, Z., Li, Y., Kong, D. and Sarkar, F.H. The role of Notch signaling pathway in epithelial-mesenchymal transition (EMT) during development and tumor aggressiveness. *Curr Drug Targets.* 11, 745-51 (2010)

Watson, S. M., Pike, A. R., Pate, J., Houlton, A. and Horrocks, B. R. DNA-templated nanowires: morphology and electrical conductivity. *Nanoscale* 6, 4027-4037 (2014) DOI: 10.1039/C3NR06767J

Weber, A. M. and Ryan, A. J. ATM and ATR as therapeutic targets in cancer. *Pharmacology & Therapeutics.* Vol. 149, 124–138 (2015) DOI:10.1016/j.pharmthera.2014.12.001

Willcox, J. K., Ash, S. L. and Catignani, G. L., Antioxidants and prevention of chronic disease. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 44, 275–295 (2004)

Xie, H., Tranguch, S., Jia, X., Zhang, H., Das, S.K., Dey, S.K., Kuo, C.J. and Wang, H. Inactivation of nuclear Wnt-beta-catenin signaling limits blastocyst competency for implantation. *Development.* 135, 717-27 (2008) DOI: 10.1242/dev.015339

Yakushevich, L.V. Dynamical Form-Factor of Neutron Scattering by DNA Solitons. *J Biol Phys.* 24(2-4): 131–139 (1999) DOI: 10.1023/A: 1005143428994

Yasuda, T., Delbono, O., Wang, Z., Messi, M. L., Girard, T., Urwyler, A., Treves, S. and Zorzato, F. JP-45/JSRP1 variants affect skeletal muscle excitation contraction coupling by decreasing the sensitivity of the dihydropyridine receptor. *Hum Mutat.* 34(1), 184–190 (2013) DOI: 10.1002/humu.22209.

Yoo-Kong, S. and Liewrian, W. Theoretical model of charge mobility in DNA: The path integral approach. (2014) <http://arxiv.org/pdf/1203.5917.pdf>

Young, D.B., Jonnalagadda, J., Gatei, M., Jans, D.A., Meyn, S. and Khanna, K.K. Identification of domains of ataxia-telangiectasia mutated required for nuclear localization and chromatin association. *J Biol Chem.* 280, 27587-27594 (2005)

Zdravkovic, S., Sataric, M. V. and Daniel, M. KINK SOLITONS IN DNA. *Int. J. Mod. Phys. B* 27, 1350184 (2013) DOI: 10.1142/S0217979213501841

Zhou, B.B. and Bartek, J. Targeting the checkpoint kinases: chemosensitization versus chemoprotection. *Nature Rev. Cancer* 4, March, 1-10 (2004)

Zhou, B.B. and Elledge, S.J. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* 408, Nov 23, 433-439 (2000) DOI: 10.1038/35044005

Zimmerman, J.W., Pennison, M.J., Brezovich, I., Yi, N., Yang, C.T., Ramaker, R., Absher, D., Myers, R.M., Kuster, N., Costa, F.P., Barbault, A. and Pasche, B. Cancer cell proliferation is inhibited by specific modulation frequencies. *British Journal of Cancer* 106, 307 – 313 (2012)

ANEXO I - Cálculo dos torques.

Em continuidade, serão apresentados cálculos realizados para estimar os torques decorrentes da aplicação de um campo elétrico sobre a proteína, utilizados na Seção 4.3.

Descreve-se, na seção 4.3.1, um dipolo que é submetido a um campo elétrico \vec{E} uniforme e um torque elétrico (τ_E) resultante deste processo (Figura 28). A intensidade de τ_E é dada pela Equação 2:

$$\tau_E = pE \sin \theta \quad (I.1)$$

em que p é o momento de dipolo da proteína e tem módulo calculado por $p = de = 296,402 \times 10^{-29} Cm$, com e sendo a carga elementar de valor $1,602 \times 10^{-19} C$, d é o diâmetro do elipsoide (proteína) dado por $185 \text{Å} = 185 \times 10^{-10} m$. Se se considera um campo elétrico $E = 2 \frac{kV}{cm} = 20 \frac{V}{m}$ e substituindo-se na Equação I.1,

$$\tau_E = 5928,0512 \times 10^{-29} \sin \theta Nm \quad (I.2)$$

$$\tau_E = 5,928 \times 10^{-26} \sin \theta Nm \quad (I.3)$$

Com isto se tem um valor estimado do torque provocado pelo CEE, que será utilizado na seção 4.3.1.

Na seção 4.3.2 descreve-se um dipolo que é submetido a um campo elétrico \vec{E} uniforme e que está submerso num meio aquoso. Abaixo são realizados cálculos do torque devido à viscosidade do meio (τ_d) e que se opõe ao alinhamento do dipolo com o campo elétrico (Figura 29). A Equação 36 mostra que τ_d depende da velocidade angular (ω) e do coeficiente de fricção rotacional (γ). Para determinar a velocidade angular ω utiliza-se a equação:

$$\tau = \alpha I \quad (I.4)$$

em que I é o momento de inercia e α é a aceleração angular. Então, igualando a Equação I.1 com a I.4,

$$\alpha I = pE \sin \theta \quad (I.5)$$

$$\alpha = \frac{pE}{I} \sin \theta \quad (\text{I.6})$$

$$\alpha = \frac{d\omega}{dt} = \frac{d\omega}{d\theta} \frac{d\theta}{dt} \quad (\text{I.7})$$

$$\alpha = \frac{d\omega}{d\theta} \omega \quad (\text{I.8})$$

$$\int \omega d\omega = \int \alpha d\theta + c \quad (\text{I.9})$$

$$\frac{\omega^2}{2} = \int \frac{pE}{I} \sin \theta d\theta + c \quad (\text{I.10})$$

$$\frac{\omega^2}{2} = -\frac{pE}{I} \cos \theta + c \quad (\text{I.11})$$

$$\omega^2 = -\frac{2pE}{I} \cos \theta + C \quad (\text{I.12})$$

Com as condições iniciais $\begin{cases} \theta \rightarrow 0 \\ \omega = 0 \end{cases}$, obtém-se $C = \frac{pE}{I}$; então:

$$\omega^2 = \frac{2pE}{I} (1 - \cos \theta) \quad (\text{I.13})$$

Sabe-se que o momento de inercia da proteína, I , é dado pela expressão:

$$I = \frac{m}{5} (a^2 + b^2) \quad (\text{I.14})$$

onde m é a massa do elipsoide, $m = 370 \text{ kDa} = 614,399 \times 10^{-24} \text{ kg}$, a o raio maior do elipsoide,

$a = \frac{115+70}{2} \text{ \AA} = 92,5 \times 10^{-10} \text{ m}$ e b o raio menor do elipsoide, $b = \frac{140+75}{2} \text{ \AA} = 37,5 \times 10^{-10} \text{ m}$;

portanto,

$$I = 1,224 \times 10^{-38} \text{ kgm}^2 \quad (\text{I.15})$$

Substituindo-se os valores obtidos para o momento de inercia (Equação I.15), campo elétrico $E = 20 \frac{V}{m}$ e momento de dipolo $p = 296,402 \times 10^{-29} Cm$ na Equação I.13 obtêm-se:

$$\omega^2 = 9,684 \times 10^{12} (1 - \cos \theta) \frac{rad^2}{s^2} \quad (I.16)$$

$$\omega = 3,112 \times 10^6 (1 - \cos \theta)^{\frac{1}{2}} \frac{rad}{s} \quad (I.17)$$

O coeficiente de fricção rotacional, para determinar o torque τ_d , será considerado como(*)

$$\gamma = \frac{16\pi\eta a^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a}{b} \right) - 1 \right)} \quad (I.18)$$

Com η_{H_2O} sendo a viscosidade do meio, $\eta_{H_2O} = 10^{-3} \frac{kg}{ms}$, a o raio maior do elipsoide e b o raio menor do elipsoide, calcula-se

$$\gamma = 6049609,58606363 \times 10^{-33} \frac{kgm^2}{s} \quad (I.19)$$

$$\gamma = 6,05 \times 10^{-27} \frac{kgm^2}{s} \quad (I.20)$$

Neste ponto é possível calcular o τ_d , sabendo-se que

$$\tau_d = -\gamma\omega \quad (I.21)$$

$$\tau_d = -1,88 \times 10^{-21} (1 - \cos \theta)^{\frac{1}{2}} Nm \quad (I.22)$$

$$\tau_d = -1,88 \times 10^{-21} \sqrt{2} \sin \frac{\theta}{2} Nm \quad (I.23)$$

$$\tau_d = -2,65 \times 10^{-21} \sin \frac{\theta}{2} Nm \quad (I.24)$$

(*) Richards, E. G., An introduction to physical properties of large molecules in solution, 1980, Cambridge University Press, (154-165)

ANEXO II - Estimativa do número de moléculas de água necessárias para vestir uma proteína.

Estima-se a seguir o número mínimo de moléculas de água necessário para “vestir” a proteína, tal que esta consiga suplantar a viscosidade do meio. Além disso, serão calculados os valores dos torques efetivos obtidos a partir da quantidade de moléculas encontrada.

Na seção 4.3.4 descreve-se o fenômeno cunhado neste trabalho por *proteína vestida*, e na Equação 45 obtêm-se uma expressão para o número de moléculas necessário para que

$$\tau_{de} < \tau_{Ee} \quad (\text{II.1})$$

ou seja:

$$\frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \sqrt{\frac{2P_{efet} E}{\frac{m}{5}(a_r^2 + b_r^2)}} (1 - \cos \theta) < P_{efet} E \sin \theta \quad (\text{II.2})$$

$$\left(\frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \right)^2 \frac{2P_{efet} E}{\frac{m}{5}(a_r^2 + b_r^2)} (1 - \cos \theta) < P_{efet}^2 E^2 \sin^2 \theta \quad (\text{II.3})$$

$$\left(\frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \right)^2 \frac{2}{\frac{m}{5}(a_r^2 + b_r^2)} (1 - \cos \theta) < P_{efet} E (1 - \cos^2 \theta) \quad (\text{II.4})$$

$$\left(\frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \right)^2 \frac{2}{\frac{m}{5}(a_r^2 + b_r^2)} E < P_{efet} (1 + \cos \theta) \quad (\text{II.5})$$

com $0 < (1 + \cos \theta) \leq 2$, então

$$P_{efet} > \left(\frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \right)^2 \frac{2}{\frac{m}{5} (a_r^2 + b_r^2) E} \quad (\text{II.6})$$

$$p + N_{esc} p_{H_2O} > \left(\frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \right)^2 \frac{2}{\frac{m}{5} (a_r^2 + b_r^2) E} \quad (\text{II.7})$$

$$N_{esc} > \left(\frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \right)^2 \frac{2}{\frac{m}{5} (a_r^2 + b_r^2) E p_{H_2O}} - \frac{p}{p_{H_2O}} \quad (\text{II.8})$$

A Figura 30 é um diagrama ilustrativo de uma proteína vestida com duas camadas de moléculas de água. A partir dessa conjectura se definiu $a_r = a + 2nr_{H_2O}$ e $b_r = b + 2nr_{H_2O}$ com $n = 2$ determinando tratar-se de duas camadas de moléculas de água, a o raio maior, b o raio menor da proteína, r_{H_2O} como o diâmetro da molécula de água, $r_{H_2O} = 2,8 \text{ \AA} = 2,8 \times 10^{-10} m$ e p_{H_2O} o momento de dipolo da molécula de água, $p_{H_2O} = 1,85 D = 6,16 \times 10^{-30} Cm$. Substituindo-se na Equação II.8,

$$N_{esc} > 8,44 \times 10^{13} \quad (\text{II.9})$$

$$N_{esc} \approx 9 \times 10^{13} \quad (\text{II.10})$$

Com este resultado pode-se recalculer os torques efetivos considerando-se que

$$P_{efet} = p + N_{esc} p_{H_2O} = 3 \times 10^{-27} + 9 \times 10^{13} \cdot 6,16 \times 10^{-30} = 5,5 \times 10^{-16} Cm$$

e com um campo elétrico de $20 \frac{V}{m}$ (como em Arruda-Neto et al., 2009). Obtém-se,

$$\tau_{Ee} = P_{efet} E \sin \theta \quad (\text{II.11})$$

$$\tau_{Ee} = 1,1 \times 10^{-14} \sin \theta Nm \quad (\text{II.12})$$

Para calcular o torque efetivo devido à viscosidade será necessário recalcular a velocidade angular e o coeficiente de fricção rotacional com os dados modificados. Neste caso, teríamos agora a_r , o raio maior do elipsoide, $a_r = 98,1 \times 10^{-10} m$ e b_r , o raio menor do elipsoide, $b_r = 43,1 \times 10^{-10} m$. Recalculando I , o momento de inercia da proteína será dado por $I_r = \frac{m}{s}(a_r^2 + b_r^2) = 1,4 \times 10^{-38} kgm^2$. Reformulando-se as equações I.13 e I.18 e substituindo-se estes valores, tem-se

$$\gamma = \frac{16\pi\eta a_r^3}{3 \left(2 \ln \left(\frac{2a_r}{b_r} \right) - 1 \right)} \quad (\text{II.13})$$

$$\gamma = 7,7 \times 10^{-27} \frac{kgm^2}{s} \quad (\text{II.14})$$

$$\omega^2 = \frac{2P_{efet}E}{I_r}(1 - \cos\theta) \quad (\text{II.15})$$

$$\omega^2 = 1,6 \times 10^{24} (1 - \cos\theta) \frac{rad^2}{s^2} \quad (\text{II.16})$$

$$\omega = 1,3 \times 10^{12} (1 - \cos\theta)^{1/2} \frac{rad}{s} \quad (\text{II.17})$$

Pode-se calcular com esses valores o torque efetivo τ_{de} ,

$$\tau_{de} = \gamma\omega \quad (\text{II.18})$$

$$\tau_{de} = 1,07 \times 10^{-14} \sin \frac{\theta}{2} Nm \quad (\text{II.19})$$

obtendo-se valores para os torques utilizados na seção 4.3.4.