Edital Universal 02/2006 – Proposta de Projeto de Pesquisa

Modelagem e Análise Formal de Sistemas Biológicos

(BioSys^{FM})

Coordenadora

Prof. Dra. Leila Ribeiro, Instituto de Informática
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

1 Caracterização do Problema e Motivação

Quando falamos em Computação, geralmente associamos a noção de programa à máquina concreta na qual esses programas executam, os computadores baseados em chips de silício que temos hoje em dia nas nossas casas, laboratórios de pesquisa, etc. Mas as bases teóricas da Ciência da Computação são independentes de máquinas concretas. As máquinas que chamamos de computadores são uma possível implementação de máquina capaz de computar. Existem várias propostas de outras máquinas que podem executar esse trabalho, mas até agora elas não passaram de propostas acadêmicas. Os grandes avanços na área de Biologia Molecular da última década podem mudar esse panorama, dando à Ciência da Computação uma máquina completamente diferente: uma máquina biológica. Por outro lado, um modelo teórico dessa máquina biológica pode servir de base para a área emergente de Bionanotecnologia, provendo técnicas para estruturar e construir programas biológicos, e para ajudar a entender como a natureza computa.

Os organismos vivos são sistemas reativos: dependendo de estímulos (condições ambientais e presença ou ausência de certas substâncias), a célula produz uma reação (produzindo as proteínas/ enzimas adequadas para tratar o estímulo). A informação sobre quais proteínas/enzimas devem ser geradas para cada situação está guardada no núcleo, no DNA. A área de Biologia Molecular começou a se desenvolver mais intensamente desde o descobrimento da estrutura do DNA, como uma dupla hélice de seqüências de bases (Adenina, Guanina, Citosina e Timina) e do chamado Dogma Central da Biologia Molecular, que explica como a célula transforma informações contidas no DNA em proteínas ou enzimas. O DNA contido em nossas células contem informações precisas sobre as seqüências de bases que geram cada proteína, e como e quando essas proteínas devem ser produzidas. Fazendo uma analogia, poderíamos ver o DNA como o software (englobando dados e programa), e a célula com o hardware biológico. Com o seqüenciamento dos genomas de várias espécies, temos as listas de bases que estão guardadas nos núcleos das células de indivíduos dessas espécies. Conhecendo o DNA (software) e o funcionamento da célula (hardware), poderíamos entender/prever o comportamento fisiológico dos seres vivos. Isso possibilitaria, por exemplo, o projeto de remédios e terapias muito mais eficazes. Porém, ainda há um grande caminho a ser percorrido. Este projeto tem como objetivo dar uma contribuição à essa área.

Biologia Sistêmica [CR02, IGH01] é o estudo de um organismo visto como uma rede integrada e interativa de genes, proteínas e reações químicas que dão origem à vida. Ao invés de analisar componentes ou aspectos individuais do organismo, como metabolismo de açúcar ou o núcleo celular, os biólogos desta área focam em todos os componentes e na interação entre eles, tudo como parte de um único sistema. Estas interações são responsáveis pela forma e funções de um organismo. O sistema imunológico, por exemplo, não é o resultado de um único gene ou mecanismo. Na verdade, as interações de numerosos genes, proteínas, mecanismos e o ambiente externo do organismo produzem respostas imunológicas para combater doenças e infecções.

à medida que cientistas desenvolvem ferramentas e tecnologias que nos permitem procurar pelas bases da atividade biológica – genes e proteínas –, aprendemos que estes componentes quase sempre funcionam em conjunto. Eles interagem uns com os outros e com outras moléculas de maneiras altamente estruturadas mas incrivelmente complexas. A Biologia Sistêmica procura entender estas interações complexas, pois elas são a chave para entender a vida.

A função individual e a interação coletiva dos genes, proteínas e outros componentes de um organismo são freqüentemente caracterizadas em conjunto como uma rede de interação. Na verdade, entender esta interação do genoma de um organismo e as influências ambientais externas é crucial para desenvolver o entendimento sistêmico de um organismo. A compreensão das interações de diversas hierarquias de informação biológica – DNA, RNA, proteínas, complexos macromoleculares, redes de sinalização, células, órgãos, organismos, espécies dentro de seu contexto ambiental – promoverá novos conceitos e inovações práticas.

Uma questão fundamental é como construir modelos abstratos fidedignos para analisar e prever o comportamento de sistemas tão complexos. A motivação para este projeto é a observação de que as características básicas de sistemas biológicos (compostos por um número enorme de componentes, reatividade, mobilidade dos componentes, comportamento não-determinístico, etc.) são também características encontradas com freqüência crescente em sistemas computacionais. Assim, técnicas de modelagem adequadas para esses sistemas computacionais poderiam ser utilizadas para modelar sistemas biológicos. Isso parece ainda mais natural se considerarmos que sistemas biológicos são também *programados*: o DNA contém o código que governa todo o comportamento desses sistemas (sendo sistemas essencialmente reativos, o controle se dá escolhendo as reações que devem ser realizadas).

2 Objetivo e Descrição

O projeto tem por objetivo desenvolver técnicas para a modelagem e análise de sistemas biológicos. Estas técnicas devem prover níveis de abstração, construtores e linguagens para especificação dos modelos e de propriedades adequados para a área de Biologia. Em especial, iremos considerar modelagem de vias metabólicas envolvendo antidepressivos. Assim, o presente projeto trará também benefícios para a área de Medicina.

Já existem muitos modelos formais para simular redes de interações biológicas. Os métodos mais difundidos são baseados em equações diferenciais e suas variações [dJ02]. Porém, estes métodos procuram modelar as redes em níveis de abstração bastante baixos, o que dificulta a modelagem de sistemas muito complexos. Além disso, eles não permitem Modelos híbridos, como XS-Systems [APUM03], ou simbólicos, como baseados em redes de Petri [Red94, GP98] são mais flexíveis nesta característica, mas não permitem uma descrição modular. Modelos baseados em álgebras de processos, como [RPS$^+$04, PFMR06, DK03, DK04, LPQ$^+$04, CDPB04], descrevem bem o comportamento interativo do sistema mas, como não existe uma representação explícita dos estados, a descrição de alguns tipos de sistemas e propriedades é difícil.

Algumas características parecem ser fundamentais para um método adequado para a modelagem de sistemas biológicos:

Reatividade: componentes de um sistema biológico reagem a estímulos de outros componentes ou do ambiente. Modelos computacionais para sistemas reativos são a base de modelos para sistemas biológicos;

Não-determinismo: normalmente, existe mais de um caminho para uma reação ser atingida, bem como existe a possibilidade da reação não ser realizada. Assim, um modelo adequado deve levar em consideração as probabilidades de ocorrência de cada ação.

Compartimentalização: os agentes dos processos biológicos interagem quando estão fisicamente próximos, em uma mesma região da célula. Como a célula é dividida em compartimentos, precisa-se levar em consideração o local onde o agente está para descrever seu comportamento (os agentes podem se mover entre os compartimentos);

Modularidade: A técnica básica para permitir a descrição de sistemas complexos é a divisão do modelo em componentes. Cada componente deve ter sua interface bem definida, e técnicas de abstração e refinamento devem ser usadas durante o processo de construção do modelo.

Além dessas características, outras, como economia de energia e falhas nos processos (processos biológicos são bastante suscetíveis a erros), também podem ter papel importante na modelagem.

2.1 Modelagem de Vias usando Transformações de Grafos

Em um sistema biológico, os estados são compostos por vários agentes autônomos que podem interagir segundo regras. Como o estado é distribuído, inúmeras regras podem ser aplicadas ao mesmo tempo. O comportamento depende basicamente dos agentes e/ou substratos presentes (ou ausentes) nos estados. Portanto, métodos *data driven* permitem uma modelagem mais natural deste tipo de sistemas. Neste projeto, propomos utilizar grafos para modelar os estados dos sistemas e regras que transformam grafos para descrever as possíveis mudanças de estado do sistema. O lado esquerdo das regras modela os agentes/substratos que devem estar presentes para a regra ser aplicada, e o lado direito os agentes/substratos gerados (e também os preservados) pela aplicação da regra. Adicionalmente, pode-se usar um contexto negativo, cuja presença no estado inibiria a aplicação de uma determinada regra. Gramáticas de grafos [Ehr79, Roz97, EEKR99] é um formalismo que pode ser usado para especificar diversos tipos de sistemas, em especial aqueles que são naturalmente orientados a dados, cujo comportamento é regido por regras com aplicação localizada em porções do estado e cujos estados são distribuídos.

Várias das características listadas acima já vinham sendo consideradas em diversos trabalhos de membros equipe deste projeto no contexto de desenvolvimento de sistemas computacionais reativos [CMR00, DFRS03], com mobilidade[DR00], com comportamento estocástico [MDR05], baseado em componentes[RDB05, RDSP06], considerando falhas [DMS05, DRdS04]. Uma proposta inicial de modelagem de vias metabólicas usando transformações de grafos foi apresentada em [PR04]. Porém, foi identificado que o modelo baseado em objetos não era adequado para a modelagem de sistemas biológicos, pois as restrições impostas não correspondem a realidade biológica. Neste projeto, investigaremos o modelo de grafo adequado para a representação dos estados de sistemas biológicos, bem como a forma que as regras que regem este tipo de sistema podem ter. Baseados neste modelo computacional, estudaremos linguagens para a descrição de propriedades sobre estes modelos, e analisaremos os tipos de propriedades que podem ser definidas e verificadas.

Para guiar o desenvolvimento dos conceitos e construir modelos e linguagens adequados para a área de aplicação em questão, bem como validar as técnicas propostas, trabalharemos com um estudo de caso na área de Medicina, que será descrito na seção a seguir.

2.2 Estudo de Caso: Modelagem de Vias Metabólicas relacionadas a Antidepressivos

A depressão é uma doença de importante morbidade e altamente prevalente na população. A descoberta das drogas antidepressivas e o estudo de sua farmacologia revolucionaram a psiquiatria nos últimos 50 anos [WL01]. Existem hoje dezenas de antidepressivos aprovados para uso, em algumas classes diferentes. Entretanto, as taxas de sucesso dessas drogas são somente de 60%. Quando um paciente não responde a uma dessas drogas, ela é trocada por uma outra num sistema de tentativa e erro. Até o momento, a escolha destas medicações é totalmente arbitrária, e assim o paciente, altamente sintomático pode passar por meses de experimentações até ser encontrado um antidepressivo efetivo para ele. Muitos pacientes desistem desses tratamentos devido a esse tipo de limitação do tratamento farmacológico, o que pode levar a desfechos desfavoráveis do quadro, o que inclui a possibilidade de suicídio.

Está claro que nosso entendimento insuficiente sobre a fisiopatologia da depressão tem limitado nossa habilidade de melhorar terapias antidepressivas. Nesse contexto, um dos fatores limitantes no desenvolvimento de novos tratamentos para depressão é a escassez de novos alvos biológicos. A totalidade dos antidepressivos hoje aprovados para uso em humanos exerce seus efeitos através de ações sobre o sistema de monoaminas. Alterações bioquímicas podem ser observadas algumas horas após a administração dessas drogas. Em contraste, os efeitos clínicos só ocorrem, pelo menos, três semanas depois de iniciado o uso das medicações. E ainda, drogas que agem em diferentes sistemas de monoaminas, como os inibidores seletivos da recaptação de serotonina e os inibidores seletivos da recaptação de noradrenalina, compartilham essas características.

Uma maneira de abordar globalmente o efeito antidepressivo é através do estudo pormenorizado dos diversos pontos biológicos chave desde a ingestão da cápsula da medicação até o seu efeito biológico final no órgão alvo. Esta análise tão compreensiva é inédita. Para a realizarmos, escolheremos marcadores de vários sistemas biológicos envolvidos na ação antidepressiva e estudaremos detalhadamente suas vias. Por exemplo, após absorvida pelo intestino, a medicação antidepressiva é primeiro metabolizada no fígado através do sistema de enzimas CYP2D6. Como esse ponto é chave, estudaremos a interação da medicação com essa via. Após a metabolização, o antidepressivo deve ter a capacidade de passar a barreira hemato-encefálica para chegar ao cérebro, outro ponto crítico para a determinação da ação antidepressiva da medicação. Para avaliar esta propriedade, analisaremos o sistema MDR1, e assim o faremos com outras etapas subseqüentes (figura 1).

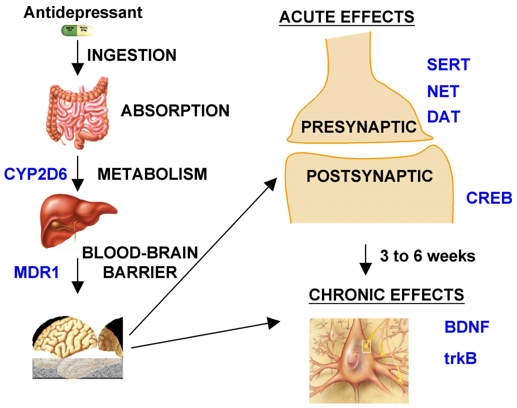

Figura 1: Via Metabólica

3 Metodologia

A tarefa principal do projeto é a definição de técnicas para a modelagem e análise de sistemas biológicos. Isso envolve o desenvolvimento conceitos teóricos e a validação destes conceitos através de estudos de caso. Para atingir esses resultados, reunimos uma equipe composta de pesquisadores de várias áreas envolvidas no tema do projeto. A equipe colaborará através de trocas de mensagens, reuniões presenciais, e missões científicas (algumas financiadas por projetos de cooperação internacional). A seguir, é apresentada a equipe, bem como as atividades do projeto e o seu cronograma.

3.1 Equipe

A equipe que realizará o projeto é composta pelos seguintes membros:

Pesquisadores

- **Profa. Dra. Leila Ribeiro – UFRGS (coordenadora)** Tem trabalhado há vários anos na área de modelagem e verificação formal de sistemas reativos, tendo coordenado vários projetos nesta área (tanto nacionais quanto de cooperação international). Nos últimos anos, tem se dedicado também à área de Bioinformática, em especial a computação com DNA e modelagem de sistemas biológicos usando métodos formais. Áreas de interesse: Engenharia de Software, Modelos de Computação e Bioinformática.
- **Prof. Dr. Luís Lamb – UFRGS** Tem realizado pesquisas em informática teórica desde sua graduação. Há vários anos tem trabalhado em teoria de prova para lógicas não-clássicas, bem como na integração de aprendizagem de máquina com lógicas não-clássicas. Áreas de interesse: Lógica, em especial não-clássicas; prova de teoremas; sistemas de dedução, modelos lógicos de sistemas multi-agentes.
- **Fernando Luís Dotti – PUCRS** Tem trabalhado com modelagem e verificação de sistemas distribuídos, especialmente considerando sistemas assíncronos e também a presença de falhas parciais, e com modelagem e avaliação de desempenho de protocolos de comunicação, especialmente considerando redes móveis ad-hoc. Áreas de interesse: algoritmos distribuídos e protocolos de comunicação; verificação de modelos; avaliação de desempenho.

Doutorandos

- **Luciana Foss**: Trabalhará na definição de conceito de módulos e refinamentos/abstrações para sistemas reativos, levando em consideração características de modelagem de sistemas biológicos.

- **Marcelo Cezar Pinto**: Trabalhará na definição de técnicas de modelagem de vias metabólicas usando gramáticas de grafos, bem como outros métodos formais

Mestrando : Será selecionado um mestrando para trabalhar na modelagem e análise do estudo de caso.

Para o desenvolvimento do estudo de caso, a equipe cooperará com pesquisadores da área de Ciências Médicas da Universidade de Miami:

- **Prof. Dr. Julio Licinio**: É Diretor do Department of Psychiatry & Behavioral Sciences, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Flórida. O Professor Julio Licinio ocupa a titularidade da cadeira de psiquiatria na universidade de Miami. Sua área de interesse tem focado a farmocogenômica há mais de dez anos. Possui mais de cem artigos sobre este assunto publicados em periódicos internacionais e submetidos à revisão por pares. O Professor Licinio é editor chefe do periódico *Molecular Psychiatry*, do grupo Nature, atualmente a revista de maior impacto científico na área de psiquiatria biológica. Também é editor chefe do *The Journal of Pharmacogenomics*.
- **Prof. Dr. Ma-Li Wong**: É Vice-Diretora do Department of Psychiatry & Behavioral Sciences, University of Miami Miller School of Medicine, Miami, Florida. Professora Wong ocupa a vice-titularidade da cadeira de psiquiatria da Universidade de Miami, conta com mais de uma centena de artigos publicados na área de farmacogenômica, e coordena o Laboratório de Farmacogenética e Farmacogenômica do Departamento de Psiquiatria da Universidade de Miami.
- **Dra. Luciana Ribeiro**: Vem exercendo atividades de pesquisa em farmacogenômica no contexto de seu programa de pós-doutoramento iniciado na Universidade da California em Los Angeles, o qual hoje dá continuidade na Universidade de Miami. Áreas de interesse: psicofarmacologia, farmacogenômica.
- **Dr. João Vicente Busnello** Vem exercendo atividades de pesquisa em farmacogenômica no contexto de seu programa de pós-doutoramento iniciado na Universidade da California em Los Angeles, o qual hoje dá continuidade na Universidade de Miami. Áreas de interesse: psicofarmacologia, farmacogenômica e mecanismos biológicos do funcionamento da eletroconvulsoterapia.

Além desta equipe, os seguintes pesquisadores desenvolvem pesquisas na área de modelagem e verificação formal de sistemas reativos em estreita colaboração com a coordenadora do projeto:

- Prof. Dr. Ugo Montanari (Universidade de Pisa/Itália) Áreas de interesse: Modelos computacionais, sistemas concorrentes, modularização e composição de sistemas.
- Prof. Dr. Andrea Corradini (Universidade de Pisa/Itália) Áreas de interesse: Gramáticas de grafos, verificação, semântica formal, sistemas concorrentes
- Prof. Dr. Paolo Baldan (Universidade Cá Foscari di Venezia/Itália) Áreas de interesse: Teoria dos Domínios, model checking, semântica formal.

3.2 Atividades

1. Análise do estudo de caso e outras vias biológicas.
2. Seleção de características essenciais dos métodos de modelagem para sistemas biológicos.
3. Definição de um modelo para representar os estados dos sistemas biológicos.
4. Análise da possibilidade de usar métodos de inteligência artificial para extrair modelos de vias tendo como base informações sobre expressão gênica (obtidas de microarrays).

5. Definição dos padrões para a regras de comportamento desses sistemas.
6. Definição dos conceitos de transação e refinamento.
7. Definição d noções de equivalência observacional adequadas a sistemas biológicos.
8. Definição de módulos e interfaces para sistemas biológicos.
9. Identificação de classes de propriedades de interesse para sistemas biológicos.
10. Análise da possibilidade de verificar tais propriedades tendo como base o modelo computacional proposto.
11. Definição de "visões"do modelo, através de traduções para outros formalismos, como álgebras de processos.
12. Investigação de técnicas de verificação de propriedades para os modelos propostos.
13. Estudo de caso - especificação do modelo
14. Estudo de caso - especificação e verificação das propriedades
15. Estudo de caso - análise do modelo para descoberta de novos alvos para antidepressivos.

3.3 Cronograma

Ativ.	Out-Dez/06	Jan-Mar/07	Abr-Jun/07	Jul-Set/07	Out-Dez/07	Jan-Mar/08	Abr-Jun/08	Jul-Set/08
1	X	X						
2	X	X						
3		X						
4			X	X	X	X		
5			X					
6			X	X				
7				X				
8					X	X		
9		X	X					
10			X	X	X			
11					X	X	X	
12				X	X	X		
13				X	X	X		
14					X	X	X	
15						X	X	X

4 Resultados Esperados

As contribuições científicas esperadas são:

1. Desenvolvimento/integração de linguagens de especificação de sistemas biológicos adequadas para descrever diferentes aspectos desses sistemas;
2. Desenvolvimento de conceitos de abstração e refinamento para sistemas biológicos (incluindo técnicas de verificação de equivalência observacional), e também de noções de módulos e interfaces;
3. Desenvolvimento de linguagens de consulta baseadas nesses modelos, que sejam adequadas para a verificação das propriedades relevantes deste tipo de sistemas;
4. Técnicas para auxiliar na construção dos modelos utilizando informações obtidas de microarrays [BH02, Ste03]

5. Através do estudo de caso em vias metabólicas implicadas na resposta aos antidepressivos, descobrir novos alvos de atuação para antidepressivos.

Serão escritos artigos científicos apresentando os resultados do projeto, que serão submetidos a conferências e periódicos relevantes das áreas de Computação e Medicina.

Além disso, espera-se melhorar a formação de recursos humanos em uma área emergente e estratégica para o Brasil.

5 Relevância

A modelagem computacional de problemas biológicos, vistos como sistemas reativos compostos por agentes (proteínas/enzimas), é relevante tanto para a área de Computação quanto para a área de Biologia. Do ponto de vista da Computação, novos modelos de computação podem surgir, inspirados na *computação* realizada nos processos biológicos. Do ponto de vista da Biologia, esses modelos podem ajudar no entendimento desses processos tão complexos, e o entendimento é o primeiro passo para podermos realizar intervenções seguras nesses processos (produzindo agentes que interagem controladamente com os já existentes nas células). Assim, resultados desse projeto podem auxiliar na área emergente de Bionanotecnologia [Goo04].

Investigações nestas área de pesquisa estão sendo realizados atualmente em todo o mundo, com alta prioridade de financiamento dos órgãos governamentais, dado o fator estratégico de se dominar tecnologias e métodos relacionados ao entendimento e controle de processos biológicos.

O entendimento da biologia fundamental da depressão tem se mostrado um desafio científico de enorme relevância clínica. Desse modo, abordagens multidisciplinares que busquem a identificação de novos alvos biológicos para atuação dos futuros antidepressivos são de extrema importância, e terão aplicabilidade direta na prática médica. A pesquisa de vias metabólicas implicadas na resposta aos antidepressivos levará, sem duvida, a tratamentos mais efetivos. Da mesma forma, a modelagem dessas vias possibilitará um conhecimento mais profundo sobre seu funcionamento, e nos dará ferramentas para testes virtuais com o objetivo de encontrar novos alvos terapêuticos. O entendimento da fisiopatologia da depressão e do mecanismo de ação das medicações antidepressivas é de extrema complexidade e, portanto, sua elucidação dependerá de esforços conjuntos de diferentes disciplinas que possam integrar de forma mais eficiente e harmônica o grande de número de informações a ser coletado sobre seus funcionamentos. Somente com estudos como este será possível chegarmos a um conhecimento que beneficiará direta e indiretamente uma grande parte da população, e irá fornecer um modelo de pesquisa para outras áreas da Medicina.

6 Orçamento

O presente projeto tem um orçamento previsto de R$ 50.000,00. Este valor será destinado a custear:

- Equipamentos: necessários para desenvolvimento da pesquisa, em especial para o trabalho com verificadores de propriedades;
- Material bibliográfico;
- Passagens e diárias: Para financiar missões de pesquisa para visitas a Universidade de Miami, para discutir e estudar o estudo de caso, e também para apresentar trabalhos relevantes resultantes deste projeto em eventos científicos;
- Material de consumo.

Referências

[APUM03] Marco Antoniotti, Alberto Policriti, Nadia Ugel, and Bud Mishra, *Model building and model checking for biochemical processes.*, Cell Biochem Biophys **38** (2003), no. 3, 271–86.

[BH02] Pierre Baldi and Wesly Hatfield, *DNA mivroarrays and gene expression*, Cambridge University Press, 2002.

[CDPB04] M. Curti, P. Degano, C. Priami, and C. T. Baldari, *Modelling biochemical pathways through enhanced π-calculus*, Theor. Comput. Sci. **325** (2004), no. 1, 111–140.

[CMR00] B. Copstein, M. C. Móra, and L. Ribeiro, *An environment for formal modeling and simulation of control systems*, 33rd Annual Simulation Symposium (USA), IEEE Computer Society Press, 2000, pp. 74–82.

[CR02] Lisa Chong and L. Bryan Ray, *Whole-istic Biology*, Science **295** (2002), no. 5560, 1661–.

[DFRS03] F. L. Dotti, L. Foss, L. Ribeiro, and O. M. Santos, *Verification of object-based distributed systems*, 6th Int. Conference on Formal Methods for Open Object-Based Distributed Systems (France), LNCS, vol. 2884, Springer, 2003, pp. 261–275.

[dJ02] Hidde de Jong, *Modeling and simulation of genetic regulatory systems: A literature review.*, Journal of Computational Biology **9** (2002), no. 1, 67–103.

[DK03] Vincent Danos and Jean Krivine, *Formal molecular biology done in CCS-R*, BioConcur'03, satellite workshop of CONCUR'03, ENTCS, 2003.

[DK04] ______, *Reversible communicating systems*, CONCUR 2004 - Concurrency Theory, LNCS, vol. 3170, Springer-Verlag, Sep 2004, pp. 292–307.

[DMS05] F. L. Dotti, O. M. Mendizabal, and O. M. Santos, *Verifying fault-tolerant distributed systems using object-based graph grammars*, 2nd Latin-American Symposium on Dependable Computing (Brazil), LNCS, vol. 3747, Springer, 2005, pp. 80–100.

[DR00] F. L. Dotti and L. Ribeiro, *Specification of mobile code systems using graph grammars*, 4th Int. Conference on Formal Methods for Open Object-Based Distributed Systems (USA), IFIP Conference Proceedings, vol. 177, Kluwer Academic Publishers, 2000, pp. 45–64.

[DRdS04] Fernando Luís Dotti, Leila Ribeiro, and Osmar Marchi dos Santos, *Specification and analysis of fault behaviours using graph grammars.*, AGTIVE – Applications of Graph Transformations with Industrial Relevance, Lecture Notes in Computer Science, vol. 3062, Springer, 2004, pp. 120–133.

[EEKR99] H. Ehrig, G. Engels, H.-J. Kreowski, and G. Rozenberg (eds.), *Handbook of graph grammars and computing by graph transformation*, vol. 2: Applications, Languages, and Tools, World Scientific Publisher, 1999.

[Ehr79] H. Ehrig, *Introduction to the algebraic theory of graph grammars*, Lecture Notes in Computer Science **73** (1979), 1–69.

[Goo04] David Goodsell, *Bionanotechnology: lessons from nature*, Wiley-Liss, 2004.

[GP98] Peter J. E. Goss and Jean Peccoud, *Quantitative modeling of stochastic systems in molecular biology by using stochastic Petri nets*, PNAS **95** (1998), no. 12, 6750–6755.

[IGH01] Trey Ideker, Timothy Galitski, and Leroy Hood, *A new approach to decoding life: Systems biology*, Annu. Rev. Genomics Hum. Genet. **2** (2001), 343–372.

[LPQ+04] Paola Lecca, Corrado Priami, Paola Quaglia, Barbara Rossi, C. Laudanna, and G. Costantin, *A stochastic process algebra approach to simulation of autoreactive lymphocyte recruitment*, SIMULATION: Transactions of the society for modelling and simulation international **80** (2004), 273–288.

[MDR05] O.M. Mendizabal, F.L. Dotti, and L. Ribeiro, *Stochastic object based graph grammars*, 8th Brazilian Symposium on Formal Methods (SBMF), 2005, pp. 128–143.

[PFMR06] Marcelo C. Pinto, Luciana Foss, J. C. M. Mombach, and Leila Ribeiro, *Modelling, property verification and behavioural equivalence of lactose operon regulation*, To appear in Computers in Biology and Medicine (2006).

[PR04] Marcelo Cezar Pinto and Leila Ribeiro, *Modeling metabolic pathways using graph grammars.*, III Brazilian Workshop on Bioinformatics, 2004, pp. 154–157.

[RDB05] Leila Ribeiro, Fernando Luís Dotti, and Roswitha Bardohl, *A formal framework for the development of concurrent object-based systems.*, Formal Methods in Software and Systems Modeling, Lecture Notes in Computer Science, vol. 3393, Springer, 2005, pp. 385–401.

[RDSP06] L. Ribeiro, F. L. Dotti, O. Santos, and F. Pasini, *Verifying object-based graph grammars: An assume-guarantee approach*, Accepted for publication in Software and Systems Modeling, 2006.

[Red94] V. N. Reddy, *Modeling biochemical pathways: a discrete event systems approach*, Master's thesis, University of Maryland, 1994.

[Roz97] G. Rozenberg (ed.), *Handbook of graph grammars and computing by graph transformation*, vol. 1: Foundations, World Scientific Publisher, 1997.

[RPS+04] Aviv Regev, Ekaterina M. Panina, William Silverman, Luca Cardelli, and Ehud Shapiro, *Bioambients: an abstraction for biological compartments*, Theor. Comput. Sci. **325** (2004), no. 1, 141–167.

[Ste03] Dov Stekel, *Microarray bioinformatics*, Cambridge University Press, 2003.

[WL01] M. Wong and J. Licinio, *Research and treatment approaches to depression*, Nature Reviews Neuroscience **2** (2001), 343–351.