



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

**GRADIENTES DE CONCENTRACIÓN DE QUIMIO-
ATRACTORES EN LA QUIMIOTAXIS.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

FÍSICO

P R E S E N T A:

ADRIANO VALDÉS GÓMEZ



DIRECTOR DE TESIS:
DR. GUILLERMO RAMÍREZ SANTIAGO

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Datos del jurado.

1. Datos del alumno

Valdés
Gómez
Adriano
55 11489155
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Ciencias
Física
406029944

2. Datos del tutor

Dr.
Guillermo
Ramírez
Santiago

3. Datos del sinodal 1

Dr.
Antonmaría
Minzoni
Alessio

4. Datos del sinodal 2

Dr.
Francisco
Fernández
de Miguel

5. Datos del sinodal 3

Dr.
David Philip
Sanders

6. Datos del sinodal 4

Dr.
Jorge Humberto
Arce
Rincón

7. Datos del trabajo escrito.

Gradientes de quimio-atractores en la quimiotaxis
125 p
2011

A Carla Santos Ribeiro.

Gracias por todo!

-Tú no crees que el amor sea entrega absoluta, renuncia a uno mismo...-No puede haber amor si uno no es uno mismo con todas sus fuerzas...

Italo Calvino, El Barón Rampante.

Agradecimientos

...If you've resisted the temptation to tell the teacher, "You're an asshole," which maybe he or she is, and if you don't say, "That's idiotic," when you get a stupid assignment, you will gradually pass through the required filters. You will end up at a good college and eventually with a good job. —Noam Chomsky

Agradesco a Papitt por su generosa ayuda económica a través del proyecto 118410. También me gustaría agradecer el apoyo de las siguientes personas: A mi tutor Dr. Guillermo Ramírez Santiago; a Andrea Gamba, gracias por aterrizar mis elucubraciones tan rápido; a Vladimiro, gracias por ayudarme con las ilustraciones; a Lucía Medina; David Sanders; Antonmaría Minzoni; Francisco Fernández de Miguel y a Jorge Humberto Arce Rincón. A mis familiares: Jesús Valdés Martínez, Mayra Adriana Gómez Alvarado, Marisa Del Río Ramírez, Sarah Esther Valdés Martínez, Roberto Arnulfo Cervantez Olivares, Jesús Valdés Félix, gracias por su apoyo incondicional a pesar de mi. A mis amigos: Rodrigo Imaz Alarcón, gracias por dejarme usar tus dibujos para decorar este trabajo, a Sandino Miguel Angel Rodriguez Rodriguez, Luca V. Székely Schlaepfer, Milka V. Székely Schlaepfer, Sebastián F. Amaro Cabada, Félix Cobos Candela, Mario E. Dominguez, Daniel Romero Valencia e Ivan López. A mis maestros: Fermín Viniegra, Jesús Flores Mijangos, César Rincón, Luis Fernando Magaña, Miguel Alcubierre, Tatsuo Akachi, Darío Moreno, Martha Rosete y Niels Bruce, Natalia Jonard, José Antonio Gómez, Andrés Porta, Manuel Tejada, Ruy Charão, Valderés Drago, Marcus Bane y Eliezer Batista.



"YA NO LLUEVE" / ACRÍLICO Y GRAFITO SOBRE PAPEL / 113 X 180 CM / 2010

Figura 1: Autor: Rodrigo Imaz Alarcón

Índice general

Agradecimientos	v
Resumen	ix
Introducción	xi
1. Elementos de la quimiotaxis	1
1.1. Señalización celular	2
1.1.1. Proceso de <i>fosforilación</i>	5
1.1.2. Enzima cinasa de 3-fosfatidil inositol (PI3K)	6
1.1.3. Fosfatasa PTEN	7
1.2. La membrana celular	8
1.2.1. Receptores	8
1.2.2. PIP2	15
1.3. Principios de Física estadística	16
1.4. Conceptos generales de la cinética química	23
1.4.1. Cinética enzimática	27
2. Metodología: Aproximación estocástica	37
2.1. La hipótesis fundamental de D. T. Gillespie	38
2.2. Aplicación al modelo Gamba	42
2.3. Construcción del algoritmo numérico	50
2.4. Relación entre las constantes k_μ y las funciones c_μ	54
2.5. Validez de la aproximación estocástica (a moot point)	58
2.5.1. Derivación usando probabilidad incondicional	59
2.5.2. Probabilidad de reacción condicionada	60
3. Resultados	65
4. Discusión	75

5. Conclusiones	81
5.1. Posibles extensiones de esta tesis	85
6. Apéndices	87
6.1. Demostración de la igualdad (2.29) y (2.35)	87
6.2. Elementos de la teoría de las probabilidades	88
6.2.1. Definiciones y teoremas elementales	88
6.2.2. Variables aleatorias	92
6.2.3. Función densidad de probabilidad	92
6.2.4. Vectores aleatorios	95
6.2.5. Función de probabilidad conjunta	95
6.3. Algunos Compuestos orgánicos relevantes	96
6.4. Código para fortran 77	98

Resumen

I know that many will call this
useless work.

Leonardo da Vinci

El objetivo de este trabajo de tesis es: simular de manera cuantitativa el proceso de polarización celular, que forma parte de la quimiotaxis. Para ello se usó una aproximación estocástica, a la evolución temporal sistemas de especies químicas que pueden reaccionar a través de varios canales de reacción, y dentro de las cuales, en este caso en particular, se encuentran dos especies: PIP2 y PIP3, que pueden difundirse sobre el plano de la membrana celular. Se eligió una aproximación estocástica debido a que algunas de las especies químicas, se encuentran presentes en concentraciones muy bajas ($\approx 50nM$), y porque los procesos contemplados en el modelo propuesto por Andrea Gamba *et al* ([5]), se dan fuera de equilibrio.

Para simular estocásticamente la polarización celular, se utilizó el algoritmo de Gillespie [7], generalizado al caso anisotrópico. Se obtuvieron un número representativo de simulaciones en las que se observa que, para valores reales de los parámetros, mismos que definen al sistema biológico, existe una acumulación local de PIP3 en las regiones que tienen receptores *activados*. Se observó que para algunos valores de estos parámetros, no existe una amplificación de la señal quimiotáctica, en desacuerdo con las observaciones *in vitro*. Por esta razón se modificó el código variando uno de los parámetros y cancelando la actividad enzimática de la fosfatasa PTEN, de acuerdo con [10], en las regiones donde hubiese receptores activados: Con esto se consiguió una acumulación nueve veces mayor, siendo más congruente estos resultados con las observaciones.

Introducción

“A God capable of continuously monitoring and controlling the individual status of every particle in the universe cannot be simple. His existence is going to need a mammoth explanation in its own right”

Richard Dawkins

Algunas células pueden censar la presencia de señales externas y guiar su movimiento en la dirección del gradiente de concentración de estas señales. Este proceso celular denominado *quimiotaxis*, juega un rol en diversas funciones como por ejemplo: en la localización de las fuentes de nutrientes por los procariontes, en la formación de estructuras multicelulares por los protozoarios, en el rastreo de bacterias asociadas a infecciones por los neutrófilos y en la organización de los embriones por el *Metazoa*. Debiese quedar claro la importancia que tiene la comprensión de los procesos bioquímicos que integran la *quimiotaxis*, en función de la enorme cantidad de fenómenos en donde está involucrada. Esta comprensión aún es insuficiente desde el punto de vista cuantitativo; no se conocen todas las reacciones químicas involucradas y no se conocen todas las propiedades fisicoquímicas de algunas de las moléculas más relevantes, como por ejemplo del fosfatidil inositol (4,5) bifosfato, abreviado PI(4,5)P₂.

Después de una breve explicación en qué consiste la quimiotaxia, se planteará el problema de si es posible describir de manera cuantitativa uno de los tres procesos que integran a la quimiotaxis, mismo que será el objetivo principal de esta tesis. En qué se fundamenta el modelo con el que se pueda generar este esquema, será la elección de temas del marco teórico. Naturalmente, debido a la complejidad de los procesos bioquímicos que constituyen la quimiotaxis, el modelo será un híbrido de varios esquemas que se comple-

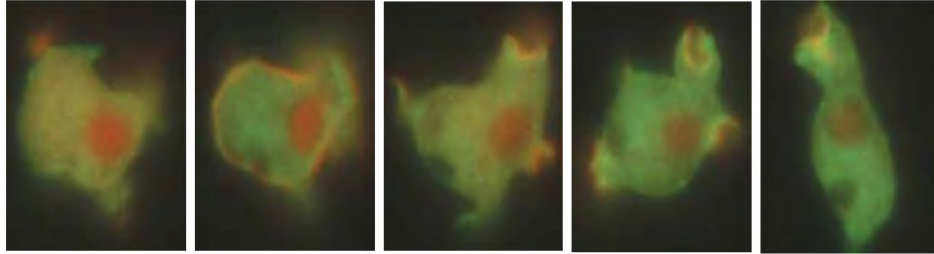


Figura 2: (Foto tomada de [10]) Formación de pseudópodos en células *Dictyostelium discoideum* en un gradiente con incremento uniforme de cAMP. Existe una bifase en la polimerización de la actina. La primera fase de picos se forman en el intervalo de 4-8s seguida de una fase de depolimerización. Durante este periodo la célula adquiere una forma esférica para posteriormente formar, habiendo transcurrido un periodo de 90s, un pseudópodo utilizando filamentos compuestos de actina hacia ciertas regiones específicas del perímetro.

mentarán. Se usarán aproximaciones deterministas y estocásticas, aunadas a simulaciones numéricas.

La quimiotaxis puede ser descompuesta en tres fenómenos interrelacionados: Extensiones periódicas de pseudópodos, establecimiento de polaridad y censo direccional, que se reajustan de manera cíclica si el gradiente es función del tiempo [10].

Aún cuando no exista movimiento, formación de pseudópodos y polaridad, las células eucariontas pueden censar y amplificar el gradiente espacial. Durante la quimiotaxis, tanto en células *Dictyostelium discoideum*, como en los neutrófilos, varias proteínas que contienen el dominio PH (de la siglas en Inglés: Pleckstrin Homology), se mueven del citosol al *frente*¹ de la membrana celular. En una serie de experimentos puede observarse la acumulación local de el fosfolípido fosfatidil inositol (3,4,5), trifosfato, PI(3,4,5)P3. Este fosfolípido es producido a partir del sustrato fosfatidil inositol(3,4)bifosfato, PI(3,4)P2. La enzima que cataliza esta reacción es la cinasa de 3-fosfatidil inositol, PI3K. En el caso de *Dictyostelium Discoideum*, están involucradas las enzimas PI3K1 y PI3K2, mientras que en los neutrófilos están involucradas PI3K_γ y la clase I PI3Ks.

PI(3,4,5)P3 es desfosforilado por la enzima fosfatasa de Tensin Homóloga, PTEN y por varias “fosfatasa-5”. En las células *D. discoideum* que carecen de PTEN, existe un incremento en el área de la membrana en la que los pseudópodos llenos de filamentos de actina se extienden. Por esta razón se

ha sugerido que la acumulación de PI(3,4,5)P3 estimula o incrementa la polarización de la *actina*², la cual conlleva a la formación de pseudópodos.

El objetivo principal de este trabajo es obtener información cuantitativa de la concentración superficial de los fosfolípidos PIP2 y PIP3. Esto se debe a que como está sugerido en los párrafos anteriores, estos fosfolípidos modulan la polimerización de la actina y de la miosina. Si las concentraciones obtenidas fuesen realistas, se podría utilizar estos valores para elucidar cómo se dan los procesos de polimerización y eventualmente cómo le hace la “célula” para moverse en un medio viscoso. El entendimiento cabal de estos procesos tendrían un sin fin de aplicaciones, en particular en la medicina en donde se podrían desarrollar técnicas para la producción de tejidos *in vitro*; utilizando ingeniería genética, podrían desarrollarse tratamientos contra bacterias, virus y células nocivas, con células con características particulares fabricadas para realizar tareas específicas, dentro de las cuales, la quimiotaxis es fundamental.

La pregunta principal a la que se enfoca toda la energía de este trabajo es la siguiente: Se pueden realizar simulaciones numéricas de la polarización celular que reflejen el comportamiento que se observa en algunos tipos de células como en los neutrófilos y en las células *Dictyostelium discoideum*, utilizando los valores de parámetros cinéticos de algunas de las reacciones químicas representativas y de los valores de las concentraciones de algunas de las especies químicas representativas?

Para ello la tesis consta de varios capítulos; en el primer capítulo se describirá brevemente como se abordan los procesos de señalización celular; cuáles son los elementos y conceptos necesarios para describirlos; cómo está estructurada la membrana celular y cual es su función en el contexto de la quimiotaxis. Además se describirá brevemente cuáles son las técnicas experimentales que han permitido observar la difusión de el plano de la membrana celular y la concentración de algunos compuestos orgánicos que se acumulan en ella.

Dentro de este capítulo, se definirán las constantes cinéticas de las reacciones químicas. Esto se hará desde dos escenarios diferentes: uno es desde la física estadística y otro es desde la aproximación determinista a la cinética química.

¹El *frente* está definido en función de la bioquímica local de la membrana y la geometría alargada que la célula adquiere durante la quimiotaxis.

²La *actina* es una proteína globular de aproximadamente 42-KDa, la cual puede formar polímeros.

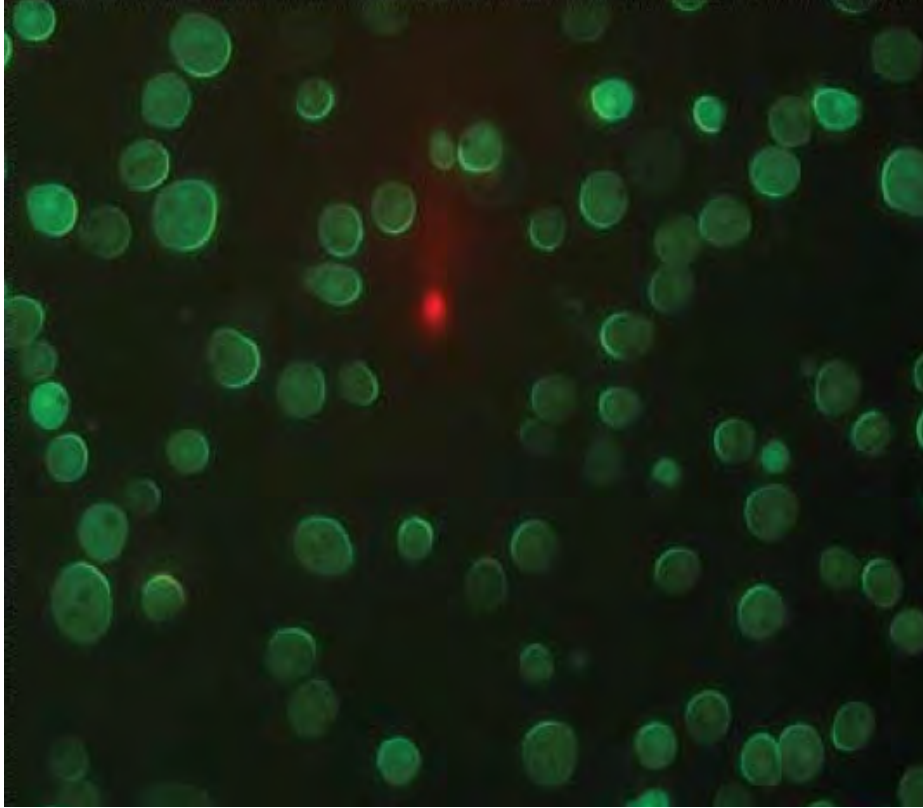


Figura 3: Censo direccional en células *Dictyostelium discoideum* inmovilizadas utilizando LY294002 inhibidor de la polimerización de actina [10]. En el punto rojo se ha colocado una pipeta liberando quimitácticos. La recuperación de fluorescencia es un indicador de la acumulación de ciertas moléculas involucradas en la quimiotaxis. Las partes que tienen un verde claro más intenso están caracterizadas por tener una acumulación local de PIP3 [10].

Posteriormente, en el capítulo 2 se explicará en que consiste el método estocástico de D. T. Gillespie, para simular la evolución temporal de reacciones químicas acopladas, generalizado para el caso de distribuciones espaciales inhomogéneas. Se utilizará el modelo propuesto por Andrea Gamba *et al*, que apareció en [5], de las reacciones químicas y los procesos de difusión que definen la quimiotaxis para generar un algoritmo numérico y poder realizar las simulaciones pertinentes.

Por último, se expondrán los resultados representativos de la simulaciones, acompañados de una discusión y de las conclusiones. Se incorporan en forma de apéndices, algunas de las demostraciones omitidas en el cuerpo principal del trabajo; algunos son resultados elementales de cálculo, otros son algunos teoremas elementales de la teoría de probabilidades. Además, se incorpora breve diccionario de algunos conceptos en biología y esto se hace con la finalidad de ser autocontenida y contemplando la posibilidad de lectores fuera de las áreas bioquímicas. Por último, en alguno de los apéndices se da el código en Fortran 77 del programa utilizado en algunas de las simulaciones.

Capítulo 1

Elementos de la quimiotaxis

No es el más fuerte de las especies el que sobrevive, tampoco es el más inteligente el que sobrevive. Es aquel que es más adaptable al cambio.

Charles Darwing

El propósito de este capítulo es hacer un resumen de los elementos necesarios para describir y entender el proceso de quimiotaxis desde un escenario biofísico.

Debido a que la quimiotaxis puede ser entendida como un proceso de comunicación celular, en el cual se integra información del gradiente externo y esto genera una respuesta específica, en la primera parte de este capítulo, se describirá cómo se estudian los procesos de señalización celular de manera general. Posteriormente, se abordará el problema en relación a la estructura de la membrana celular, sus componentes representativos en el contexto de la quimiotaxis, y el tipo de interacción que existe entre ellos.

Se verá que los procesos de señalización celular relevantes, están definidos y son conducidos por la variación en la concentración de algunos compuestos orgánicos. Especial énfasis se hará en el rol de las enzimas PI3K y PTEN y de los sustratos-productos PIP2 y PIP3. La variación en la concentración de estos compuestos, está gobernada por las reacciones químicas que se dan en el citoplasma de la membrana celular y por la difusión a lo largo de ella. Por esta razón, se discutirá brevemente de las técnicas experimentales para observar estas variaciones y movimientos dentro del citoplasma de la

membrana celular. Se hará ver que la descripción efectiva de las reacciones químicas, es una *pedra angular* para este trabajo de tesis. Se definirán las constantes de reacción de la cinética química, desde dos escenarios diferentes: uno es desde de la física estadística y otro es desde la aproximación macroscópica *determinista*. Esto es con el propósito de ganar un entendimiento más profundo de los diferentes mecanismo que conducen y modulan las reacciones químicas.

Con estos elementos se podrá justificar el modelo sugerido y utilizado por Andrea Gamba *et al*, para simular los procesos de polarización celular en función de la ocupación de receptores y de la constante de difusión para los fosfolípidos PIP2 y PIP3.

Por último se describirá brevemente en que consiste el modelo de Michaelis-Menten para describir las actividades enzimáticas de PI3K y de PTEN.

1.1. Señalización celular

La señalización celular controla los mecanismos internos de los organismos, permitiéndoles responder, adaptarse y sobrevivir. Las moléculas que constituyen las señales, la manera como viajan hacia sus objetivos y la manera en cómo son percibidas es similar en los diferentes reinos de las diferentes especies.

Independientemente de si las células viven individualmente o forman una parte de organismos multicelulares, son bombardeadas por una plétora de señales de manera perenne. Es de vital importancia su habilidad para censar y responder a estas señales. Para poder llevar acabo esto, han evolucionado una serie de redes complejas e interrelacionadas, en las que las señales se propagan.

La señalización celular no es importante sólo para entender el funcionamiento de células *normales*, sino también para entender el crecimiento y la actividad de células nocivas, particularmente las cancerosas.

El evento principal, dentro de los procesos de señalización celular, es la llegada de *algo* a la célula, a lo cual la célula debe responder. Ese algo, no necesariamente tiene que ser una molécula; pueden ser fotones como en el caso de los ojos. La mayoría de las señales, empero no todas, se perciben en

la frontera de las células, esto es, en la membrana celular. Los eventos que se siguen a la llegada de una señal son varios:

- Detección de la señal; usualmente por proteínas denominadas receptores.
- Transmisión de la señal, al interior de la célula por el receptor.
- Entrega del *mensaje* a una serie de componentes de señalización.
- La llegada del *mensaje* a su destino.
- Respuesta de la célula. Esta debe ser una acción apropiada a la señal original.

La respuesta puede tomar lugar en cualquier parte de la célula y la *trayectoria* estará diseñada para llevar el mensaje a un lugar definido. Algunas *trayectorias* terminan en el citosol, por ejemplo, el control del metabolismo para el Glucógeno, mientras que otros mensajes terminarían en el núcleo, como se observa en el control de la expresión genética.

Para entender los procesos de señalización, es importante tener presente una serie de principios y factores. Primero, una señal individual que llega a la superficie de la célula, puede producir más de una respuesta, esto es, puede conducir a la activación de más de una *trayectoria* de señalización. Por ejemplo, las hormonas que señalizan a través de *fosfolipasa C*, desencadenan una *trayectoria* de inositol y una *trayectoria* de cinasa. Segundo, una cantidad anodina de señal percibida por la célula, puede necesitar una gran respuesta. Por ejemplo, la llegada de una pequeña cantidad de hormonas a la célula, puede necesitar de la activación de un gran número de enzimas, por lo que el sistema, la célula, necesita tener elementos de amplificación. Tercero, las células no gozan del privilegio de recibir las señales *una por una*, sino que son bombardeadas con una miríada de ellas. La célula deberá responder a una selección de estas de manera simultánea. Cuarto, existen señales que pueden activar o desactivar el mismo componente de señalización; la idea de comunicación cruzada, en donde una trayectoria de transducción de señales puede influenciar en otra, se ha introducido para ayudar a esclarecer tales complicaciones [11].

La principal característica necesaria en todas las señales, es que deben ser específicas. La señal debe ser única lo suficiente para poseer una señal definida y para ser detectada únicamente por una maquinaria diseñada para

ella. Esto se debe a que si se produce y se detecta de manera incorrecta, la señal habrá fallado en entregar el mensaje específico.

En general las señales deben ser *pequeñas* y por lo tanto tener la habilidad de viajar del lugar de producción, al objetivo de manera razonablemente fácil; sin embargo, como en todas las reglas hay excepciones, algunas señales están constituidas por proteínas muy grandes, o lípidos que están integrados a la membrana y por lo tanto no pueden viajar muy lejos.

Otra característica importante es que la señal debe de poder ser producida, desplazada y modificada de manera relativamente rápida. Existen dos mecanismos principales para producir rápidamente señales. El primero consiste en emplear una enzima para la producción de la señal a partir de un sustrato que usualmente sea abundante, tal vez una molécula vital como el ATP. El segundo mecanismo consiste en la utilización de señales *prefabricadas*, éstas pueden ser secuestradas y sólo ser liberadas cuando fuese necesario.

Un ejemplo del primer mecanismo es la producción de cAMP, este es producido enzimáticamente a partir de moléculas de ATP que se encuentran en el interior de la célula, por una enzima específica, la cual es controlada por otro componente de señalización. Una vez que llega la hormona a la superficie de la célula, la cascada de señalización puede garantizar la activación de la enzima y cAMP es producido rápidamente, para iniciar la siguiente fase de la cascada de señalización.

Un ejemplo del segundo mecanismo, que es menos común en la señalización interna, es utilizado para controlar la concentración de iones de calcio. Los iones de calcio no pueden ser creados o destruidos, estos son secuestrados hasta que sean necesitados, ellos constituyen la señal.

Aunque generalmente la célula debe tener una respuesta rápida y la señal debe ser transmitida lo más rápido posible, es poco común que se necesite que la respuesta dure mucho tiempo. Por lo tanto, una vez que la señal ha sido producida y ha generado su efecto, ésta debe poder ser *apagada*. Esto se consigue usualmente destruyendo el mensaje, probablemente enzimáticamente, como en el caso de cAMP que es deciclizada a AMP. De forma alternativa, la señal puede ser secuestrada, o un receptor puede ser internalizado para efectivamente cesar la señal.

Las células han desarrollado una serie de enzimas con la finalidad de *apagar* señales. Entre ellas se encuentran las *fosfodiesterasas* y las *fosfatasas*.

1.1.1. Proceso de *fosforilación*

Uno de los eventos cruciales en la señalización celular es la modificación en la actividad de una enzima o la alteración de la función de factores de control.

La actividad enzimática puede ser alterada debido a el doblamiento desdoblamiento de la cadena de su polipéptido. La manera más común de modificar la estructura de una proteína es añadiendo o removiendo, de uno o más grupos fosfatos (PO_4^{3-}), a la secuencia primaria del amino ácido del polipéptido. A este proceso se le denomina *fosforilación-desfosforilación*. Para que la fosforilación pueda ser un mecanismo efectivo, la reacción debe ser reversible. La adición de grupos fosfatos es un proceso catalizado por enzimas, lo mismo que la retirada de los mismos.

La fosforilación, usualmente ocurre en alguno de los tres amino ácidos de la secuencia principal del polipéptido, ya sea en una *serina*, *treonina* o en una *tirosina*, aunque existen las excepciones.

Cinasa es el nombre que se utiliza para referirse a las enzimas que catalizan los procesos de fosforilación, mientras que *fosfatasa* es el nombre que se utiliza para referirse a las enzimas que catalizan los procesos de desfosforilación.

A pesar de existir cinasas que actúan en otros compuestos a los mencionados anteriormente, estos son usados para clasificar a las cinasas:

- Cinasas Serina/Treonina: Las cuales añaden el grupo fosfato a la Serina y o a la Treonina.
- Cinasas de la Tirosina, las cuales sólo actúan sobre las Tirosinas.

El grupo fosfato es aportado por las moléculas de ATP, siendo el tercer grupo (γ), de la cadena, el que es transferido al *grupo hidroxilo* (OH^{1-}) del amino ácido.

Cada enzima cataliza su reacción de manera irreversible, sin embargo, toda la reacción de fosforilación y el subsecuente regreso al estado original de la proteína es efectivamente acompañado por la hidrólisis de ATP y por lo tanto resultando en un cambio favorable de *energía libre*.

La fosforilación de un polipéptido puede alterar la actividad enzimática de la molécula y esto puede ocurrir por diferentes razones. El grupo fosfato

es un grupo relativamente grande, el cual necesita ser *acomodado*, pero al mismo tiempo añade carga negativa a la molécula, lo cual puede obstruir interacciones eléctricas, o puede ser un elemento para generar nuevas. El grupo fosfato puede formar puentes de hidrógeno, los cuales pueden favorecer una nueva conformación. El cambio en *energía libre* involucrado en el proceso de fosforilación puede ayudar a llevar al sistema de un estado conformacional hacia un nuevo estado equilibrio.

La mayoría de las proteínas cinasas contienen un dominio catalítico de aproximadamente 250 amino ácidos, el cual está presente en la mayoría de ellas. Dentro de este dominio al parecer existen dos regiones que tienen secuencia característica asignada. La primera región está localizada en el extremo de la *terminal-N* de la región catalítica. Está caracterizada por un residuo de *Lisina*, el cual se cree que está involucrado en la unión con moléculas de ATP. Este residuo se encuentra cercano a una región *estrecha* de residuos de Glicina. En la parte central de la región catalítica, la segunda región identificada contiene un residuo de ácido aspártico¹, el cual se cree que es importante en la actividad catalítica de la cinasa. Sin embargo, los aminoácidos alrededor de esta área, difieren en los dos grupos de cinasas, por lo que se pueden deducir dos patrones separados.

1.1.2. Enzima cinasa de 3-fosfatidil inositol (PI3K)

Una de las protagonistas más relevante en las simulaciones, es la cinasa de 3-fosfatidil inositol PI3K figura (1.1).

En un trabajo publicado en *The Journal of Biological Chemistry* ([2]), se dan las propiedades fisicoquímicas de la enzima cinasa de 3-fosfatidil inositol (PI3K), sintetizadas de hígado de rata.

Se especifica que PI3K está constituida por dos unidades proteicas, una de 85-kDa y otra de aproximadamente 110-kDa. La sub unidad de 85-kDa se ha demostrado se asocia con el receptor PDGF (Platelet-Derived Growth Factor receptor), son estas las características que se utilizan para realizar las simulaciones. Esta cinasa, se asocia al receptor PDGF quedando confinada al citoplasma de la membrana celular, en donde fosforila a PIP2 produciendo PIP3. Esta asociación sólo se lleva a cabo en principio, cuando el receptor está asociado con su ligando del medio extracelular. En el caso de las células *discoideum*, los ligandos pueden ser nutrientes, Factores de activación de plaquetas (PAF) y cAMP (cyclic adenosyn mono phosphate), mientras que en

¹El ácido aspártico o su forma ionizada, el aspartato (símbolos Asp y D) es uno de los veinte aminoácidos con los que las células forman las proteínas.

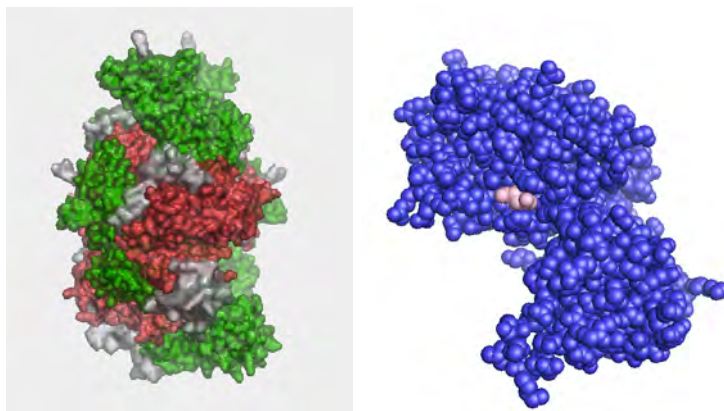


Figura 1.1: En el lado izquierdo de muestra un modelo de la enzima cinasa de 3-fosfatidil inositol PI3K, mientras que en el lado derecho se muestra la imagen de una fosfatasa de Tensin Homologa, PTEN, que se encuentra en células. La finalidad de mostrar estas imágenes de las enzimas que modulan los procesos de señalización, es mostrar que la geometría y distribución de carga de estos compuestos, inferida generalmente de experimentos de difracción de rayos X, puede ser un asunto muy difícil de obtener mediante métodos puramente analíticos (mecánica cuántica).

los neutrófilos, los ligandos son Met-Leu-Phe formilado (fMLP)², el factor complementario PAF, y las quimiocinas que son liberadas en los sitios de inflamación.

En este artículo se comenta que el mecanismo mediante el cual el receptor se ensambla ha sido estudiado en detalle. Dos componentes son necesarias, secuencias de Tirosina-fosforilada en el receptor y la presencia del dominio SH2 en los sustratos (en las simulaciones será la cinasa PI3K).

1.1.3. Fosfatasa PTEN

Como se ha mencionado sómeramente en este trabajo, muchos de los procesos de señalización están controlados a través de procesos de fosforilación conducidos por las enzimas cinasas y fosfatasas. PTEN (figura 1.1) es una fosfatasa que juega un papel esencial en la regularización de señales involucradas en el crecimiento celular, la apoptosis y mutaciones en esta enzima se sabe *crystalizan* en la formación tumores en algunos tejidos humanos [20]. Tiene una masa de aproximadamente 40-50kDa. PTEN utiliza

²Del inglés *formylated*: hace referencia a una reacción química en la que un compuesto orgánico, en este caso Met-Leu-Phe, es “funcionalizado” con el grupo $-CH = O$.

al fosfolípido fosfatidil inositol (3,4,5) tri fosfato como su sustrato fisiológico. Este fosfolípido es un importante regulador del crecimiento celular y de la señalización a través de cinasas de Serina-Treonina PDK1 y Akt. PTEN desfosforila la posición D3 de PIP3, funcionando como regulador negativo de este segundo mensajero. Debido a que mutaciones en PTEN se han encontrado en una gran variedad de tumores humanos, se ha llegado a la conclusión de que PTEN funciona como un supresor de tumores [20]. Una de las ventajas implícitas de estudiar la quimiotaxis, es que se puede estudiar la eficiencia catalítica de estas enzimas tan importantes en otros procesos.

1.2. La membrana celular

Debido a que todos los procesos simulados en este trabajo de tesis ocurren en la membrana celular, en esta parte del trabajo, se discutirán las principales características de las membranas celulares.

Las membranas *biológicas* están compuestas de lípidos, proteínas y carbohidratos. Sin embargo, las cantidades relativas pueden variar considerablemente en los diferentes sistemas. En términos generales podría decirse que las células están compuestas entre un 20 y un 60 % de proteínas, entre 30 y 80 % de lípidos y de 0 a 10 % de carbohidratos [13]

Existe una gran variedad de compuestos orgánicos integrados a la membrana celular, algunos le dan estructura como los que constituyen el citoesqueleto, otros compuestos le dan funcionalidad como PIP2 y los receptores. A continuación se describirán las características más importantes de los *actores* en este drama que es la quimiotaxis, en el modelo propuesto en [5].

1.2.1. Receptores

Los receptores son un conjunto de proteínas que juegan un papel vital en la comunicación celular y por lo tanto dentro de la quimiotaxis también.

La mayoría de estos receptores se encuentran en la membrana celular aunque existen unos que se encuentran localizados en el citosol e incluso dentro del núcleo celular. Para cada receptor existe un, o una familia de *ligandos*³ asociada a ellos.

La célula necesita tener la capacidad de responder a la presencia de señales. Estas señales se presentan generalmente en concentraciones muy bajas (del orden de 10^{-8} M [11] pag. 79). Por otro lado, la célula es bombardeada con una gran variedad de molécula de señales y sólo necesita responder a una fracción de estas. Debido a esto, existen tres características fundamentales que un receptor funcional debe tener:

- La afinidad de enlace entre el receptor y su ligando debe ser tal que el receptor pueda detectar a la molécula de señal a las concentraciones que esta se encuentra generalmente.
- El receptor debe ser capaz de poder transmitir la señal que a la célula le conviene.
- El receptor debe poder ser desactivado o *apagado* una vez que el mensaje es recibido o cuando se a modulado de alguna manera en la cascada de señal.

Usualmente la transducción de una señal involucra el enlazamiento con un ligando en el medio extracelular y con la interacción con una proteína en el medio intracelular. De tal manera que se podría decir que la *señal* se ha transmitido a través de la membrana celular.

Los receptores de la membrana celular poseen generalmente hélices α^4 , las cuales atraviesan la membrana celular. A veces estos receptores pueden tener siete hélices alfa, por lo que existe una gran probabilidad de que el receptor entre en contacto con alguna de las moléculas de ligando que está en el medio extra celular generalmente difundándose.

Una vez que el receptor forma un enlace con el ligando, este proceso induce una reconfiguración conformacional, estos es, de la forma como está distribuída en el espacio la macromolécula que funje como receptor. Debe estar claro que la descripción de este proceso desde la formulación cuántica es terriblemente complicada y que es por si mismo un campo bastante activo

³Estos ligandos son moléculas de diferentes tamaños con las cuales los receptores pueden formar enlaces. Las hormonas entran dentro de este conjunto de ligandos.

⁴Las hélices alfa se denominan de esa manera por que los aminoácidos que la conforman están configurados espacialmente en un arreglo helicoidal donde existen aproximadamente 3.6 aminoácidos por vuelta.

de investigación, pues no existe la solución analítica a tal problema. Lo que si se puede observar es que esta nueva configuración en la estructura tridimensional de la molécula produce un cambio en su *personalidad* química, pues se observa *in vitro* [26], que interaccionan con otras moléculas con la cuales antes de tener el cambio geométrico, no interactuaban.

El cambio conformacional tiene efectos en el otro lado de la membrana celular, esto es, en su interior [11] pag. 80. El escenario físico de las interacciones, como ya se mencionó anteriormente, es bastante complejo; la secuencia en los aminoácidos determinará la estructura tridimensional del receptor y esta debe ser apropiada para determinar la hormona o molécula que constituye el ligando, más aún, la interacción puede involucrar la atracción o repulsión de grupos cargados de tal forma que los aminoácidos del el sitio de enlace no tan sólo deben estar en la correcta orientación, sino que también deben tener la carga correcta, por lo que los ácidos o los grupos aminos deberán estar asociados o disociados con sus protones respectivos, lo cual estará ultimadamente determinado por el punto isoeléctrico⁵.

Por supuesto que están presentes otras otras interacciones, además de las electrostáticas están presentes fuerzas de Vander Waals, agitación térmica y en algunas ocasiones, pudiese haber interacción con radiación electromagnética.

Receptores acoplados a proteínas G (GPCRs, de las siglas en inglés G protein-coupled receptors)

Estos receptores tienen una estructura similar e interaccionan de diversas maneras con las proteínas G⁶. Cuando estos receptores están activados, esto es, unidos a su ligando, el resultado es la activación de una proteína G que transporta el mensaje al siguiente componente en la trayectoria de la señal. Existen una gran variedad de receptores que funcionan de esta manera, los cuales incluyen como caso específico, aquellos que son específicos de la hormona epinefrina (adrenalina), serotonina y glucagón.

⁵El **punto isoeléctrico** (pI) de una molécula es el pH en el cual la molécula no posee una carga eléctrica neta. Si el pH es alterado esto puede conducir a la pérdida o ganancia de protones alterando esta carga neta. Por ejemplo, el grupo $-COOH$ pudiese perder un protón (H^+) y convertirse en $-COO^-$ adquiriendo nuevas y diferentes propiedades a las que tenía anteriormente en relación a la atracción o repulsión de sus *compañeros* interactuantes, tales como los ligandos

En general, la topología de estos receptores contiene siete regiones de aproximadamente de 22-24 aminoácidos, las cuales forman hélices alfa *hidrofóbicas*⁷ que atraviesan el plasma de la membrana celular. Debido a esto se les conoce como los 7TMs, de las siglas en inglés seven-transmembrane receptors.

En estos receptores (GPCRs), el final de la terminal N del polipéptido se encuentra en la cara exterior de la membrana celular, mientras que la terminal C se encuentra en la cara interior. Esto quiere decir que existen cuatro regiones en el citosol, de las cuales la tercera sea probablemente la región donde se enlaza la proteína G, junto con la *cola* de la terminal C.

A las proteínas G asociadas a la transducción del mensaje se les conoce como proteínas triméricas (del inglés trimeric) o, heterotriméricas (heterotrimeric), que, tal como el nombre lo sugiere, están compuestas de tres subunidades de diferentes tamaños, denominadas α , β y γ .

En algunos casos, los receptores no son funcionales si no están configurados en dímeros, como por ejemplo el receptor $GABA_B$, el cual es heterodímero, de las subunidades: $GABA_B-R-1$ y $GABA_B-R-2$, las cuales necesitan estar conformadas en un dímero para que el receptor pueda funcionar. Algunos de los GPCRs responsables del reconocimiento de sabores, también se les encuentra como dímeros.

De la misma manera que la funcionalidad de un receptor puede ser modificada debido a la interacción entre las subunidades, existe otra clase de proteínas que puede ser asociada a los GPCRs que tienen efectos similares. Esta es la familia de proteínas **RAMP**, de las siglas en inglés receptor-activating-modifying protein. A diferencia de los GPCRs estas proteínas sólo tienen una región que atraviesa la membrana celular, en lugar de siete.

Un ejemplo curioso de su funcionamiento es la interacción que tienen con la proteína **CRLR** (calcitonin⁸ receptor-like-receptor). Si CRLR está asociada con RAMP1, es un receptor para el péptido relacionado con el gen, pero si CRLR está asociado con RAMP2 o con RAMP3, actúa como un receptor *adrenomedullin*. Sin embargo, cuando no está asociado con ninguna de estas proteínas, no tiene una función específica como receptor, lo cual hace evidente su necesidad de RAMP para su funcionamiento.

⁶Las proteínas G se denominan de esta manera debido a su alta afinidad por los nucleótidos de guanina ([?] pag. 429)

⁷El término *hidrofóbico* se usa para caracterizar aquellos compuestos que no poseen la configuración electrónica necesaria para interactuar con las moléculas de agua de manera significativa. No es el caso de que eviten estar entre las moléculas de agua, sino que las moléculas de agua prefieren estar interaccionando con otro tipo de compuestos que con los hidrofóbicos, de ahí que tiendan a separarse en solución.

⁸En español se utiliza el término Calcitonina. Esta es una hormona de un polipéptido lineal de 32 aminoácidos.

La actividad de un receptor GPCRs, puede ser alterada si este sufre un proceso de *fosforilación*. Estos procesos de fosforilación, pueden ser catalizados por proteínas cinasas dependientes de cAMP (PKA), o por una clase de cinasas conocidas como cinasas de receptores acoplados a proteínas G, (GRKs). Estas cinasas fosforilizan a los receptores en múltiples lugares, usando como blancos los residuos de serina o treonina. La fosforilación desactiva al receptor, o permite que el receptor interactue con alguna otra proteína conocida como β -arrestin⁹ que lo inhibe. Tal mecanismo está asociado a la desactivación o desensibilización del receptor.

Receptores asociados con cinasas de la Tirosina.

Puede ocurrir que algunos receptores no tengan un dominio para la cinasa de la Tirosina, pero que al activarse uniéndose al ligando, estimulen una cinasa de la Tirosina. Esas cinasas se localizan generalmente en el citosol y son capaces de reconocer a un receptor activado, uniéndose a este cuando ha adquirido una nueva conformación. El receptor (PDGF), usado en las simulaciones se consideró de esta clase. Las características fueron tomadas de la referencia [23], esto es, los valores de los parámetros cinéticos, en particular, de las constantes de asociación y de disociación de este receptor con la cinasa de 3-fosfatidil inositol (PI3K), a través de la región o dominio SH2.

Con los avances en las técnicas de la biología molecular moderna y toda la secuencia genómica, una vez identificada una secuencia característica para una clase de proteínas, tales como los receptores, se pueden identificar otros miembros de la familia. En el caso de los receptores, si se desconoce el ligando de un receptor identificado como parte de determinada familia o clase, estos son denominados *huérfanos*. Sin embargo, se necesita un análisis bioquímico y genómico funcional, para determinar si la proteína en consideración, en realidad lleva acabo alguna función.

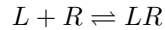
Los ligando asociados a los receptores se pueden clasificar en términos generales como *agonistas* aquel que se une a un receptor y al hacerlo lo activa, y *antagonista*, que es aquel que se une al receptor pero esto no resulta en la activación del mismo, más aún, la presencia de un ligando *antagonista*, puede interferir y detener la actividad de un *agonista*.

En el caso de que el receptor esté activo sin la necesidad de un ligando, se dice que es *constitutivamente* activo, situación observada en alguno oncogenes.

La fuerzas individuales involucradas en la unión de ligando con los receptores, son generalmente débiles, siendo atracciones iónica, fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno o interacciones hidrofóbicas.

⁹El término está en Inglés y el autor no encontró una traducción al español para el mismo.

La unión del ligando con el receptor es usualmente una reacción reversible, permitiendo la reutilización del receptor durante un periodo largo de tiempo. Si se define $L \equiv$ Ligando y $R \equiv$ Receptor, se tendría la siguiente reacción reversible:



Uno de los cálculos necesarios para caracterizar la unión del ligando, es la determinación de la concentración de ligando, a la cual la mitad de los receptores están unidos, mientras que la otra mitad no lo está. A este valor se le denomina K_d y puede ser definida por la siguiente ecuación:

$$K_d = \frac{[R][L]}{[RL]} \quad (1.1)$$

Donde $[X]$ denota la concentración de X . Entre menor sea el valor de K_d , mayor será la afinidad del receptor a su ligando.

Difusión a lo largo de la membrana celular

Las observaciones de difusión lateral en la membrana celular, fueron uno de los factores determinantes para establecer el modelo de *mosaico de fluido* para la membrana [24].

Existen varios métodos para observar la difusión de algunas proteínas o compuestos a lo largo de la membrana celular. Dentro de estos se encuentran: el Método de relajación después de electroforesis, Espectroscopía de correlación fluorescente, FCS, Microfotólisis de fluorescencia continua (CFM) y Fotoblanqueo de fluorescencia y recuperación (FPR/FRAP)¹⁰. Este último método ha demostrado ser bueno en la escala de micrómetros en una gran variedad de membranas artificiales y *nativas*. La esencia de esta técnica consiste en definir una región enfocando un láser en la membrana marcada con fluorescencia. El rayo atenuado se utiliza para monitorear la fluorescencia en la región, antes y después de que una fracción de los fluorocromos ha sido blanqueada por un pulso de un milisegundo de un láser a su máxima intensidad. La extensión de fluorescencia recuperada después de blanquear, F_∞ , es una medida de la fracción que se mueve de moléculas marcadas difundiendo-se en el tiempo de una medida de FPR (décimas de segundo a algunos minutos). La mitad del tiempo para recuperar el máximo es proporcional al área blanqueada y la constante de difusión de las especies marcadas. Se calcula de la relación:

$$t_{1/2} = \frac{\omega^2}{4D} \gamma$$

en donde ω es igual al inverso del radio del láser enfocado y γ es una función de la fracción de las moléculas sin blanquear. Su valores están comprendidos entre $1 < \gamma < 2$ para blanqueados del 5 al 95 % de la fluorescencia total.

¹⁰Estas siglas vienen del inglés Fluorescence Photobleaching and recovery para FPR y Fluorescence Recovery After Photobleaching para FRAP.

El método es bueno para determinar constantes de difusión en el rango de $10^{-8} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$ a $10^{-12} \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$

El aparato para hacer mediciones mediante esta técnica consiste en un láser como fuente de luz, un fotomultiplicador acoplados a un microscopio. La mayoría de los aparatos para FPR usan un láser de argón de 1 W, empero, existen algunos constituidos con láseres de menor potencia.

Se utiliza un *divisor* simple de haz para producir mediciones coaxiales y *haces* de blanqueado. Se incorpora una lente auxiliar para enfocar el láser en un segundo *plano imagen*, tal que el *objetivo* lo enfoque de manera precisa en el *plano del objeto*. Una *apertura* que limita la profundidad del campo de la luz colectada, se coloca entre el *objetivo* y el fotomultiplicador (PMT). Esto es para reducir la fluorescencia colectada del interior de la célula. De hecho, el microscopio de FPR se opera en el modo confocal. El tubo del detector del fotomultiplicador (PMT), puede variar en calidad, sensibilidad, y nivel de ruido. La salida del fotomultiplicador se conecta usualmente a una computadora para procesar la información; sin embargo, esto no es indispensable [24].

El análisis de las curvas obtenidas por este método, es complicado debido al perfil gaussiano de la intensidad del haz del láser, mismo que blanquea la región particular de interés. La solución en serie de la ecuación de difusión con esta condición contorno, converge muy lentamente. En realidad, lo que se suele hacer es ajustar utilizando un método no lineal de mínimos cuadrados.

El perfil de la curva de recuperación de fluorescencia obtenida con FPR y el cálculo de la constante de difusión a partir de esta curva, dependen de manera crítica en la región de la membrana definida por el haz del láser. Las mediciones del tamaño del punto donde incide el haz del láser son muy importantes para la determinación de D. Este tamaño del punto no puede ser determinado mejor que un 20 %, lo que implica un incertidumbre del 40 % en D [24] pag. 419. Debido a esto, la mayoría de las mediciones de D son mejor realizadas como comparaciones con el experimento, en lugar de valores absolutos. Sin embargo, se han obtenido resultados de determinadas células y etiquetas, en los últimos años, que están en un margen de diferencia del 10 % [24].

Etiquetas Fluorescentes para FPR

Las moléculas que sirven para marcar proteínas constituyen un amplio espectro, que va desde marcadores pequeños covalentes (la *Fluoresceína*), pasando por anticuerpos o fragmentos de anticuerpos, hasta marcadores grandes como LDL¹¹. Cada uno tiene ventajas y desventajas por lo que su utilización dependerá de el experimento particular en concreto. Además del tipo enlace covalente, la carga y la hidrofobicidad del marcador jugarán un papel en la determinación de éste [24].

¹¹de las siglas en inglés: Low density lipoprotein

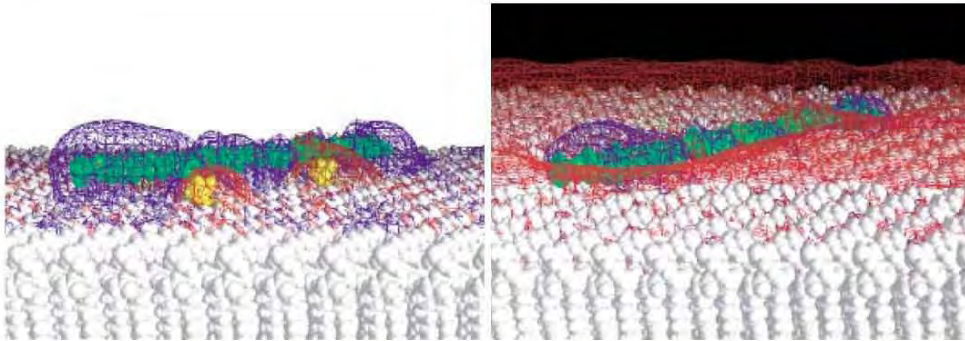


Figura 1.2: Imágenes publicadas en [21] que representan geometrías que podría tener PIP2 integrado al citoplasma de la membrana celular en el que puede difundirse libremente.

1.2.2. PIP2

El fosfatidil inositol (4,5) bi fosfato, figuras (1.2) y (1.3), es un fosfolípido integrado a la membrana celular. Se ha propuesto que está involucrado en muchas cascadas de señales de las cuales una esta asociada con los procesos involucrados en la quimiotaxis.

La masa molecular es 1042.05 g/mol, esto es, aproximadamente 1.042kDa. La orientación de la cabeza de PIP2 con respecto al plano de la membrana celular es desconocida, pero existen algunas evidencias de que podría estar orientada perpendicularmente en relación a este plano [21]. La carga de PIP2 depende de una serie de factores tales como el pH de la solución en que se encuentre inmerso y de las interacciones con otras proteínas. Bajo ciertas circunstancias, pueden unirse iones de calcio (K^+) o de hidrógeno (H^+), a este fosfolípido, por lo que la carga de PIP2 puede ser -3, -4, -5 ([21]).

En algunos casos se han realizados cálculos en la formulación de la mecánica cuántica no relativista, para determinar la distribución de la o las cargas parciales de algunos fosfolípidos. Desafortunadamente estos cálculos no se han realizado todavía para el PIP2. La falta de información acerca de la orientación de la cabeza y la distribución de las cargas parciales dentro de PIP2, limita radicalmente el tipo de cálculos teóricos que se pueden hacer con este importante fosfolípido [21].

La concentración de los fosfolípidos (Fosfatidil colina, fosfatidil etalomina y PIP2) de una célula esférica hipotética de radio $r = 10\mu m$ es tal, que si estos se disolviesen en el citoplasma, estarían presentes en una concentración de $1mM$. Si se supone ([21]), que PIP2 representa el 1% del fosfolípido presente en la membrana celular, entonces la concentración es aproximadamente $10\mu M$. Este dato fue el utilizado para realizar las primeras simulaciones.

1.3. Principios de Física estadística

En física estadística se define la entropía de un sistema, en donde las variables convenientes para describirlo son el número de partículas N , el volumen V y la energía total E , como:

$$S(N, V, E) = k_B \log [\Omega(N, V, E)] \quad (1.2)$$

en donde $\Omega(N, V, E)$ es, en la formulación clásica, el número de estados accesibles al sistema cuando el número de partículas es N , el volumen es V y la energía es E ; k_B es la constante de Boltzmann. En la formulación cuántica Ω representa el número total de funciones de onda o kets independientes, asociados a la energía E .

Un postulado fundamental de la formulación estadística, es que **en equilibrio, la probabilidad de encontrar al sistema en alguno de sus estados accesibles, con las restricciones que imponen los parámetros macroscópicos que caracterizan al sistema, es la misma para todos**, de lo que se sigue que si Ω_T es el número total de estados $P(E)_i = 1/\Omega_T$, para todo i .

La primera ley de la termodinámica, en su forma diferencial para un sistema descrito por las variables de estado N , V , y S es

$$dU = TdS - PdV + \mu dN \quad (1.3)$$

de lo que se sigue que $(\frac{\partial S}{\partial U})_{N,V} = 1/T$ y entonces utilizando la ecuación (1.2):

$$k_B \frac{\partial \log \Omega}{\partial U} = \frac{1}{T} \quad (1.4)$$

Lo cual afirma que la *temperatura absoluta* es una medida de la relación que hay entre el número de estados accesibles a un sistema y la energía interna de dicho sistema en la descripción (N, V, E) .

Cuando los sistemas pueden tener algún tipo de intercambio de energía, es más conveniente describirlos en función de otras variables termodinámicas. Los sistemas biológicos intercambian materia y energía con los alrededores. Es importante entender, desde principios fundamentales, cuáles son las *fuerzas termodinámicas* que conducen a la realización de estos procesos.

Considérese un sistema en el que existe un intercambio de energía con los alrededores de tal forma que la temperatura que caracteriza al sistema no cambie apreciablemente durante los procesos que este sufra. Supóngase al mismo tiempo que no se permite el intercambio de materia, ni que el volumen cambie. Se puede demostrar, [25] pag. 168, que la probabilidad de encontrar al sistema con una energía entre E y $E + dE$, es

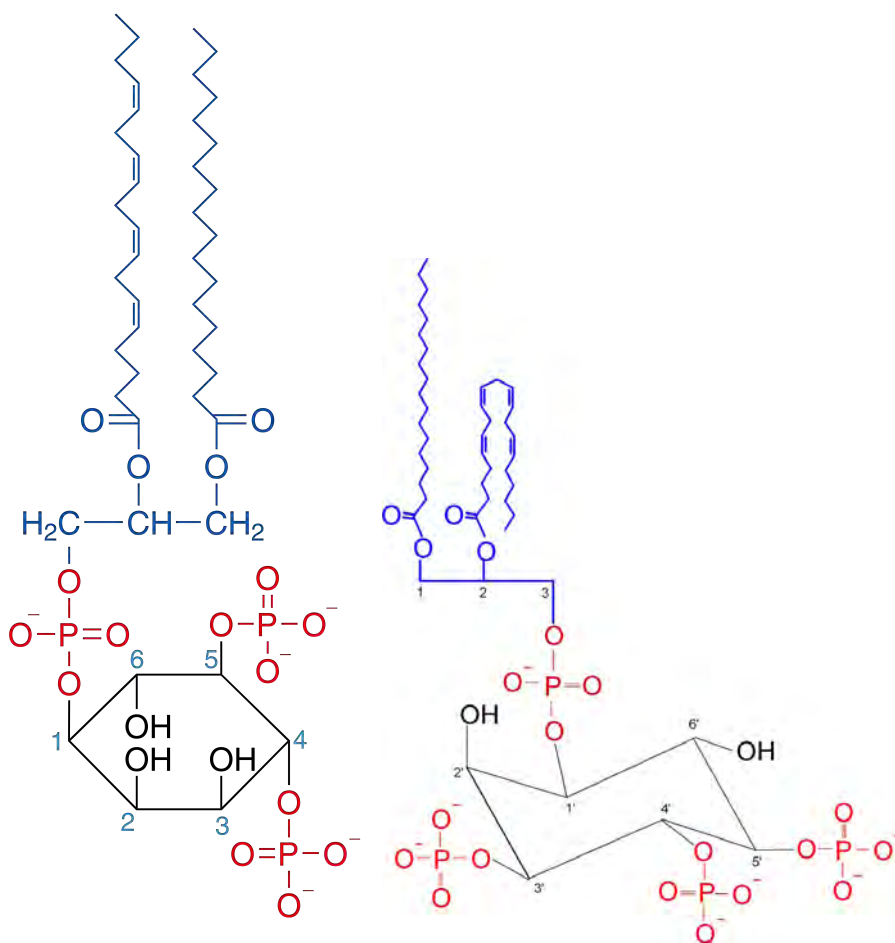


Figura 1.3: Izquierda: Modelo bidimensional del fosfolípido: fosfatidil inositol(3,4)bi fosfato, $C_{47}H_{80}O_{19}P_3$. Derecha: Modelo bidimensional del fosfatidil inositol (3,4,5) tri fosfato, $C_{47}H_{86}O_{22}P_4$, denominado como PIP3. Es importante señalar que, PIP3 es el producto de PIP2, en una reacción catalizada por la enzima cinasa PI3K, le añade un grupo fosfato a la posición 3-D de la cabeza del fosfolípido.

$$P(E_i) = \frac{\exp[-\beta E_i]}{\sum_i \exp[-\beta E_i]} \quad (1.5)$$

donde $\beta \equiv 1/k_B T$. La energía interna del sistema, siendo una función de variables macroscópicas, esta relacionada con el valor promedio de la energía del sistema, de la siguiente manera:

$$U = \frac{\sum_i E_i \exp[-\beta E_i]}{\sum_i \exp[-\beta E_i]} = -\frac{\partial (\log (\sum_i \exp[-\beta E_i]))}{\partial \beta} = -\frac{\partial \log Z}{\partial \beta} \quad (1.6)$$

Es importante señalar que los sistemas descritos propiamente por N, V y E, se mueven, de acuerdo con la segunda ley de la termodinámica, de tal forma que Ω se maximice. En la descripción de los sistemas por N, V y T, estos se mueven de tal forma que la función $Z \equiv \sum_i \exp[-\beta E_i]$, se maximice [1], página 12, esto es, van de macro estados de *baja* Z , a macro estados de *alta* Z . A la función Z se le denomina función de partición asociada al sistema.

Es conveniente definir otras funciones que sinteticen el comportamiento de un sistema dadas las restricciones particulares que existen sobre este, se define la *energía libre de Helmholtz* como

$$A \equiv U - TS \quad (1.7)$$

se sigue inmediatamente que un cambio infinitesimal en la energía libre de Helmholtz esta dado por:

$$dA = -SdT - PdV + \mu dN \quad (1.8)$$

en donde se puede apreciar la relación que guardan la energía libre de Helmholtz y la entropía, esta es:

$$S = \left(\frac{\partial A}{\partial T} \right)_{N,V}$$

Sustituyendo en la ecuación (1.7), se llega a

$$\begin{aligned} U &= A - T \left(\frac{\partial A}{\partial T} \right)_{N,V} = -T^2 \left[\frac{\partial}{\partial T} (A/T) \right]_{N,V} \\ &= \left[\frac{\partial (A/T)}{\partial (1/T)} \right]_{N,V} \end{aligned}$$

Ahora igualando con la ecuación (1.6) se obtiene una relación entre la función de partición del sistema y la energía libre de Helmholtz

$$A = -k_B T \log(Z)$$

En esta expresión está implícita una implicación muy fuerte para los sistemas (N,V,T) la cual es que, cuando los sistemas que cambian de estado y en ese cambio

de estado se minimiza la energía libre de Helmholtz, se maximiza Z . Es por esta razón que los sistemas se mueven hacia donde disminuye el gradiente de la energía libre de Helmholtz y se puede interpretar de manera abstracta como si fuese una fuerza que condujese a la realización de ciertos procesos.

La entropía en estos sistemas (N, V, T) puede ser deducida si te parte de la hipótesis de que la probabilidad de encontrar al sistema con una energía en un intervalo $[E, E + dE]$ es igual a (1.5), de lo que se sigue que:

$$\begin{aligned}\langle \log(P_i) \rangle &= -\log(Z) - \beta \langle E_i \rangle \\ &= -\log(Z) - \beta U = \beta(A - U) \\ &= -\beta TS\end{aligned}$$

de donde se puede inferir sin mayor dificultad que

$$S = -k_B \langle \log P_i \rangle = -k_B \sum_i P_i \log(P_i) = -k_B \sum_i \frac{1}{\Omega} (-\log(\Omega)) = k_B \log \Omega$$

ésta es la relación de Boltzmann para la entropía ecuación (1.2). La penúltima igualdad está suponiendo que en equilibrio cuando la E está fija, la probabilidad de encontrar al sistema en un estado particular, es simplemente $P_i = 1/\Omega$, que es la misma para absolutamente todos los estados.

Es importante señalar que los sistemas bioquímicos se encuentran a temperatura y presión constante en la mayoría de los casos de interés, donde las variables de estado adecuadas son (N, P, T). Para estos casos es mejor tener un potencial termodinámico que incorpore de manera fructífera este hecho. La *energía libre de Gibbs* juega este papel. Está definida en función de la *entalpía*, definida como la transformada de Legendre de la energía interna dada por, $H \equiv U + PV$, utilizando la forma diferencial de la primera ley se llega a que un cambio infinitesimal de la entalpía está dado por

$$dH = TdS + VdP + \mu dN \quad (1.9)$$

A presión constante, $dP = 0$, $dH = TdS$, esto es, al calor liberado o absorbido por el sistema. Es por esta razón que a veces se le denomina calor de reacción, pues las reacciones químicas generalmente ocurren en un medio donde la presión es constante. Se define la energía libre de Gibbs como la *doble transformada de Legendre* de la energía interna, o como la transformada simple de la entalpía, de la siguiente forma:

$$G \equiv U - ST + PV \equiv H - TS \quad (1.10)$$

de la ecuación (1.9), se deduce que $(\partial S/\partial H)_{N,P} = 1/T$ entonces para un sistema (N,P,T), la entalpía toma el papel de la energía interna. La ley de probabilidad para un sistema (N,P,T) es ([1]):

$$P_i = \frac{\exp[-\beta H_i]}{\sum_i \exp[-\beta H_i]}$$

Si se define $Q \equiv \sum_i \exp[-\beta H_i]$, se puede llegar por un camino análogo al empleado en el caso de la entropía para los sistemas (N,V,T), que:

$$H = -\frac{\partial \log(Q)}{\partial \beta}$$

Entonces

$$H = G - T \left(\frac{\partial G}{\partial T} \right)_{N,V} = -T^2 \left[\frac{\partial}{\partial T} (G/T) \right]_{N,V} = \left[\frac{\partial (G/T)}{\partial (1/T)} \right]_{N,V}$$

e igualando las dos expresiones anteriores:

$$G = -k_B T \log(Q) \quad (1.11)$$

De esta expresión se puede extraer que al minimizar G, se está maximizando Q, por lo que los sistemas descritos por (N,P,T), se mueven *espontáneamente*¹² hacia donde disminuye el gradiente de la energía libre de Gibbs.

En este punto debiese ser conveniente encontrar la relación que existe entre el la energía libre y el potencial químico, con el número de partículas que tiene el sistema, para poder aplicar los conceptos anteriores a los sistemas donde ocurren reacciones químicas.

Se han definido la energía libre de Helmholtz y la Entalpía en función de sus respectivas funciones de partición Z y Q. Ahora, considérese un sistema abierto que consiste de una molécula de proteína en solución. Si la molécula puede estar en un número determinado de microestados, sus respectivas funciones de partición serán:

$$Z_1 = \sum_i \exp[-\beta E_i]$$

$$Q_1 = \sum_i \exp[-\beta H_i]$$

Para el caso de que el sistema consista de dos molécula o proteínas idénticas, la función de partición asociada a este sistema, será:

¹²La espontaneidad es un término que se utiliza en termodinámica para hacer referencia a una serie de procesos que no son conducidos mediante la realización de trabajo, i. e., no es necesario *invertir* energía para que se realicen.

$$Z_2 = \frac{1}{2} \sum_i \sum_j \exp [E_i + E_j] = \frac{1}{2} Z_1^2 \quad (1.12)$$

El factor $1/2$, garantiza que no se cuenten doble las moléculas que son indistinguibles. Esto puede generalizarse inmediatamente al caso de N moléculas:

$$Z_N = \frac{1}{N!} Z_1^N \quad (1.13)$$

Esta ecuación asume que las moléculas no interaccionan de forma apreciables, pues la energía de una molécula no se ve afectada por las conformaciones de otra.

Con esta expresión se puede expresar la energía libre de Helmholtz de la siguiente manera:

$$\begin{aligned} A &= -k_B T \log (Z_N) = k_B T (\log N! - N \log Z_1) \\ &= k_B T (N \log N - N - N \log Z_1) \end{aligned}$$

En donde se utilizó la aproximación de Stirling, $\log N! \approx N \log N - N$, para $N \gg 1$

Y utilizando la relación que hay entre el potencial químico y la energía libre de Helmholtz (1.8)

$$\left(\frac{\partial A}{\partial N} \right)_{P,T} = \mu$$

Se llega a:

$$\mu = k_B T (\log N - \log Z_1) \quad (1.14)$$

o en función de la concentración $c \equiv N/V$,

$$\begin{aligned} \mu &= k_B T (\log N/V - \log Z_1/V) \\ &= k_B T \log c + \mu^0 \\ &= k_B T \log c/c_0 + \mu^0 \end{aligned} \quad (1.15)$$

en donde la constante μ^0 depende de la especie molecular. Debe quedar sobre entendido que la concentración se toma en referencia a una concentración unitaria $c_0 = 1$, y en realidad se tiene $\log c/c_0$ y no se tiene una cantidad dimensional a la hora de evaluar el logaritmo.

Debido a que las reacciones químicas que se dan en condiciones de laboratorio estándares, esto es, a presión (atmosférica) y temperatura (ambiente), constantes, éstas se suelen formular en función de la energía libre de Gibbs.

Recordando que:

$$dG = -SdT + VdP + \mu dN \quad (1.16)$$

Pero si la temperatura y la presión son constantes, se tiene que

$$(dG)_{P,T} = \mu dN$$

En sistemas *diluidos* con s especies químicas, el cambio en la energía libre de Gibbs es la suma de las contribuciones de cada especie individual ([1]).

$$(dG)_{P,T} = \sum \mu dN_i$$

Ahora, considérese la una reacción química arbitraria expresada de la forma:

$$-\sum_i^{N_s} A_i \nu_i \rightleftharpoons 0 \quad (1.17)$$

en donde las $\{A_i\}$, representan a las especies químicas y las $\{\nu_i\}$, representan los coeficientes estequiométricos. Suponiendo que la ecuación general (1.17) ha procedido una cantidad infinitesimal en alguna dirección, entonces se habrá liberado o absorbido una cantidad de energía libre de Gibbs

$$(dG)_{P,T} = \sum_{i=1}^{N_s} \mu_i \nu_i d\phi$$

en donde ϕ representa el número de veces que ha ocurrido una reacción en algún sentido. Usando esta expresión se define:

$$\Delta_r G = \left(\frac{dG}{d\phi} \right)_{P,T} = \sum_{i=1}^{N_s} \mu_i \nu_i \quad (1.18)$$

y usando la expresión (1.15) para μ

$$\Delta_r G = \sum_{i=1}^{N_s} (k_B T \log c_i/c_0 + \mu_i^0) \nu_i \quad (1.19)$$

$$= \Delta_r G^0 + \sum_i^{N_s} (k_B T \log c_i/c_0) \nu_i \quad (1.20)$$

en donde $\Delta_r G^0 \equiv \sum_i^{N_s} \nu_i \mu_i^0$. En esta ecuación $\Delta_r G$ y $\Delta_r G^0$, expresan el cambio en la energía libre debido a la realización de una única reacción química. Más comúnmente, estas energías son expresadas como unidades de energía por moles de flujo en una reacción. Para expresarlo de esta manera, se usa el hecho de que la constante universal de los gases es $R = N_a k_B$, donde N_a es el número de Avogadro, $N_a \approx 6,022 \times 10^{23}$, entonces $k_B = R/N_a$ y sustituyendo en la expresión anterior

$$\Delta_r G = \Delta_r G^0 + \sum_i^{N_s} (RT \log (C_i/C_0)) \nu_i \quad (1.21)$$

en donde

$$\Delta_r G^0 = \sum_{i=1}^{N_s} \Delta_f G_i^0 \nu_i$$

es la energía de formación de la especie i . Este valor dependerá de las condiciones ambientales, principalmente en la temperatura, presión y la fuerza iónica de la solución.

El equilibrio de reacción se alcanza cuando la fuerza conductora ΔG_r , se anula, lo cual implica

$$\begin{aligned} -\frac{\Delta G_r^0}{RT} &= \sum_{i=1}^{N_s} \log (C_i/C_0) \\ &= \log \prod_{i=1}^{N_s} \left(\frac{C_i}{C_0} \right)^{\nu_i} \\ &= \prod_{i=1}^{N_s} \left(\frac{C_i}{C_0} \right)^{\nu_i} \end{aligned}$$

$$\exp [-\Delta_r G^0 / RT] = K_{eq} \quad (1.22)$$

Aquí se ha demostrado cómo es posible obtener una expresión para la constante de equilibrio de un sistema químico, en función de las propiedades microscópicas particulares de las especies químicas involucradas. Como se verá más adelante, en la aproximación determinista a los sistemas químicos, estas constantes de reacción juegan un papel fundamental.

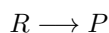
1.4. Conceptos generales de la cinética química

Los principios fundamentales de la cinética química son: la conservación de la masa y que los sistemas ordinarios están constituidos por un número muy grande de

partículas por lo que se les puede considerar como constituidos de un medio continuo y describir mediante funciones continuas univaluadas del tiempo y la posición.

La *cinética química* es una aproximación macroscópica, basada en datos empíricos. Pretende describir la dependencia que existe entre velocidad de una reacción química y los parámetros físicos tales como la concentración; la temperatura; los catalizadores involucrados; el *mecanismo* de la reacción, estos es, el número de pasos involucrados en la reacción; la naturaleza de los *intermediarios* formados; entre otras cosas.

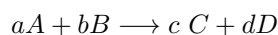
La velocidad con que se lleva acabo una reacción se define como el cambio en la concentración de reactante en el tiempo. Si se considera la reacción estequiométrica simple:



en donde R denota al reactante, P denota al producto de la reacción química; expresamos a la concentración en moles por litro, esto es, en unidades de molaridad (mol/L), entonces la velocidad instantánea de reacción es:

$$\text{velocidad de reacción} \equiv -\frac{d[R]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

el signo negativo se introduce para que la velocidad de reacción siempre sea una cantidad positiva. Es evidente que sus unidades son M/s . Si se considera una reacción más complicada estequiométricamente hablando, no necesariamente la velocidad con que se consume el reactante tiene que ser igual a la velocidad con que se genera el producto o los productos, en general se tiene que si la reacción tiene la forma estequiométrica general:



entonces la velocidad de reacción está dada por:

$$\text{velocidad de reacción} = -\frac{1}{a} \frac{d[A]}{dt} = -\frac{1}{b} \frac{d[B]}{dt} = \frac{1}{c} \frac{d[C]}{dt} = \frac{1}{d} \frac{d[D]}{dt} \quad (1.23)$$

La relación entre los reactantes involucrados en una determinada reacción química y la velocidad con que se lleva acabo la reacción se necesita determinar experimentalmente. En algunas ocasiones, pero de ninguna manera siempre, la velocidad de reacción para el caso general anterior de la ecuación 1.23, puede ser expresada como:

$$\text{velocidad de reacción} = k[A]^x[B]^y \quad (1.24)$$

A esta ecuación se le conoce como la *ley de reacción*; en ella está implícito que la velocidad de reacción no es constante; su valor en el tiempo t es proporcional a las

concentraciones de reactantes en ese tiempo elevadas a alguna potencia. La constante k se denomina constante de reacción, y ésta, como se discutirá más adelante no depende de las concentraciones, sino principalmente de la temperatura.

Si se expresa la velocidad de una reacción de esta manera, se dice que el *orden* de la reacción es de orden x respecto $[A]$ y de orden y respecto a $[B]$, teniendo un orden total $x + y$. El *orden* de una reacción especifica la dependencia empírica de la velocidad en las concentraciones. Puede ser cero, un entero o inclusive tener un orden que no sea entero. Integrándola pueden obtenerse los valores de las concentraciones en cualquier instante de tiempo.

En el estudio de la cinética química de una reacción una de las primeras tareas es determinar el orden de la reacción, para esto existen varios métodos, entre los cuales se encuentran el método de integración, el método de diferenciación, el método de la vida media y el método del aislamiento [3]. Una vez que se ha determinado el orden de una reacción a una temperatura dada, se puede proseguir en determinar el valor de la constante de reacción dividiendo la velocidad con que se da la reacción entre las concentraciones elevadas a su respectiva potencia que da el orden total de la reacción.

Rara vez la reacción ocurre de manera como lo sugiere la ecuación balanceada. Es muy común que la reacción se de en una serie de pasos. A esta serie de pasos se le denomina el *mecanismo* de la reacción. Conocer el mecanismo de la reacción, es conocer la naturaleza a nivel molecular de como ocurren las cosas, estos es, cómo se aproximan las moléculas unas a otras, cómo se forman y se rompen los enlaces, cómo se transfieren las cargas entre las moléculas, etc. Un determinado *mecanismo* para una reacción dada debe de satisfacer la ecuación estequiométrica balanceada y la *ley de reacción*, entre otros factores.

La palabra *orden* refleja el cambio total de ir de los reactantes a los productos, mientras que el término *molecularidad* de una reacción hace referencia a un solo proceso cinético en la reacción completa.

Cuando en un paso elemental sólo interviene una especie química, esto es, sólo está involucrada una molécula como reactante la reacción se denomina *reacción unimolecular*, de forma similar, cualquier paso elemental que involucre dos moléculas como reactantes se denomina *reacción bimolecular*. Las reacciones que tiene pasos elementales en los que intervienen más moléculas (termoleculares, etc), son menos comunes y no aparecerán en las simulaciones realizadas. Es importante señalar que las unidades de la constante de reacción k dependen de la *molecularidad* de la reacción; $[s^{-1}]$ para el caso de reacciones *unimoleculares*; $[M^{-1}s^{-1}]$ para reacciones *bimoleculares*, etc.

En 1889, Arrhenius descubrió que la dependencia entre la constante de reacción y la temperatura en muchos casos podía ser expresada como:

$$k = A \exp(-E_a/RT) \quad (1.25)$$

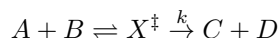
donde A se denomina el factor de frecuencia, E_a es la energía de activación en $kJ mol^{-1}$, R es la constante de los gases y T es la temperatura absoluta. La

energía de activación E_a es la mínima cantidad de energía necesaria para activar la reacción química. El *factor de frecuencia* A , es la frecuencia de las colisiones entre las moléculas reactantes. El factor $\exp(-E_a/RT)$ representa la fracción de colisiones moleculares que tienen energía igual o mayor a la energía de activación E_a .

Existen dos teorías acerca de la velocidad de las reacciones químicas que nos ayudan a entender más acerca de las energías y los mecanismos para que se lleven a cabo las reacciones. Estas son la *teoría de colisiones* y la *teoría de transición de estado*.

Como la teoría de colisiones se usará más adelante para motivar y justificar la aproximación empleada en las simulaciones, por el momento sólo se discutirá acerca de la teoría de transición de estado.

La teoría de transición de estado, también conocida como la *teoría del complejo activado*, fue desarrollada por el químico americano Henri Eyring (1901-1981) entre otros, en los años treinta, con la finalidad de elucidar mejor los detalles de cómo se llevaban a cabo las reacciones a un nivel molecular. El punto de partida es similar al de la teoría de colisiones; se supone que se tiene una reacción bimolecular que satisface la siguiente condición:



en donde A y B son reactantes y X^\ddagger es un complejo activado. Un supuesto fundamental de la teoría de transición es que los reactantes siempre están en equilibrio con X^\ddagger , el cual es un estado que no puede ser considerado como un complejo intermediario estable y aislado, ya que se supone que está en todo momento en proceso de descomposición¹³. Por esta razón el equilibrio entre los reactantes A y B , y X^\ddagger no es *ordinario*.

En este *equilibrio* particular, se puede escribir la constante de equilibrio como:

$$K^\ddagger = \frac{[X^\ddagger]}{[A][B]} \quad (1.26)$$

Esta constante también puede ser deducida partiendo de propiedades fundamentales físicas del sistema. La velocidad de reacción, es igual la concentración de complejo activado en el tope de la barrera de energía, multiplicado por la frecuencia, ν , de cruzar la barrera, esto es:

$$\begin{aligned} \text{velocidad de reacción} &= \text{el número de complejos activados que} \\ &\text{se descomponen para formar productos} \\ &\nu[X^\ddagger] \\ &\nu[A][B]K^\ddagger \end{aligned}$$

¹³Esto no es del todo cierto, ya que usando láseres se han obtenido espectroscopías que evidencian la existencia de tales complejos.

empero, la velocidad de reacción puede expresarse en la ley de reacción como una reacción funcional del tipo:

$$\text{velocidad de reacción} = k[A][B]$$

de lo que se sigue,

$$k = \nu K^\ddagger \quad (1.27)$$

En algunos casos se pueden calcular ν y K^\ddagger usando propiedades microscópicas del sistema, esto es, sus funciones de partición.

Puede demostrarse como está hecho en [3], que

$$K^\ddagger = \frac{[X^\ddagger]}{[A][B]} = \frac{Z_\ddagger}{Z_A Z_B} e^{-E_0/RT} \quad (1.28)$$

Donde E_0 es la diferencia de energía que hay entre el complejo activado y los reactantes, Z_α $\alpha = A, B$; K^\ddagger son las respectivas funciones de partición de las especies moleculares A , B y K^\ddagger , en [3] deducen la siguiente expresión:

$$k = \frac{k_B T}{h} K^\ddagger \quad (1.29)$$

1.4.1. Cinética enzimática

Principios generales de los procesos catalíticos

Un proceso catalítico es un tipo de reacción química en el que interviene un reactante que no se consume en la reacción. A esta sustancia se le denomina catalizador. Las características principales de los procesos catalíticos son [3]:

1. **Los catalizadores disminuyen la energía libre de Gibbs de activación de la reacción.**
2. Los catalizadores forman *intermedios* con los reactantes en el primer paso del *mecanismo* y son liberados durante el paso en que se forman los productos. Es por eso, que el catalizador no aparece en la reacción como un todo.
3. Independientemente del mecanismo y la energía de reacción, **el catalizador no puede alterar la energías libres de Gibbs o las entalpías**, de los productos y de los reactantes. Por lo tanto, los catalizadores sólo incrementa la velocidad con la que se aproxima al equilibrio, proporcionando un mecanismo alternativo para determinada reacción.

Las enzimas, al igual que otros catalizadores, incrementan la velocidad de aproximarse al equilibrio. En la teoría de los estados transitorios, se forman complejos activados. La diferencia en energías libres de Gibbs para este proceso en el que los reactantes forman un complejo activado se define como la diferencia entre la energía de Gibbs del complejo activado y la energía libre de Gibbs de los reactantes, esto es,

$$\Delta_r G^{\circ\dagger} = G^{\circ}(\text{complejo activado}) - G^{\circ}(\text{reactantes}) \quad (1.30)$$

En la aproximación termodinámica a la teoría de la transición de estados, se vió (ecuación 1.22) que:

$$\Delta G^{\circ\dagger} = -RT \log K^{\dagger}$$

en donde $\Delta G^{\circ\dagger}$, es la energía necesaria para desencadenar la reacción química. Se utiliza la energía libre de Gibbs porque la mayoría de reacciones que ocurren en los sistemas biológicos, ocurren a temperatura y presión constantes. Esta expresión puede ser rescrita de la siguiente forma:

$$K^{\dagger} = \exp \left[-\frac{\Delta G^{\circ\dagger}}{RT} \right]$$

Pero como un cambio en la energía libre de Gibbs está definida como la transformada de Legendre de la Entalpía por lo que un cambio estará dado por:

$$\Delta G^{\circ\dagger} = \Delta H^{\circ\dagger} - T\Delta S^{\circ\dagger} \quad (1.31)$$

entonces, comparando (1.31) con (1.27) se obtiene

$$K^{\dagger} = \exp \left[-\frac{\Delta H^{\circ\dagger}}{RT} \right] \exp \left[\frac{\Delta S^{\circ\dagger}}{RT} \right] \quad (1.32)$$

La constante de reacción quedará expresada en función de esta relación (1.32) y (1.29), de la siguiente manera:

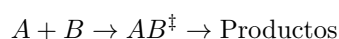
$$k = \frac{k_B T}{h} e^{[\Delta S^{\circ\dagger}/R]} e^{[-\Delta H^{\circ\dagger}/RT]} \quad (1.33)$$

El significado del cambio de entalpía del complejo activado, $\Delta H^{\circ\dagger}$, está relacionado con la energía de reacción, mientras que el cambio de entropía del complejo activado, $\Delta S^{\circ\dagger}$, está asociado con sus grados de libertad. En el caso de que sean átomos o moléculas simples, la redistribución de energía entre los nuevos estados accesibles será pequeña, por lo que $\Delta S^{\circ\dagger} \ll 1$ y el término que lo contiene como exponente es aproximadamente igual a la unidad, $\exp [\Delta S^{\circ\dagger}/RT] \approx 1$. De ahí que la ecuación de Arrhenius (1.25) parece plausible como un caso particular de la relación (1.33).

Aunque esta expresión para la constante de reacción es la más realista, al mismo tiempo es la más difícil de aplicar a macromoléculas, pues necesitamos una información más detallada de las funciones S y H. Es por esta razón, que en este trabajo de tesis, se soslayarán utilizando los valores de las constantes cinéticas que se calculan en base a datos experimentales.

Es provechoso hacerse una idea de cómo las enzimas funcionan como catalizadores de diferentes reacciones. Si se observa la ecuación (1.33), se podría pensar que generalmente las enzimas reducen la energía de activación, lo cual aumentaría la constante de reacción y al mismo tiempo la velocidad con que se da la reacción, de hecho, este es casi siempre el mecanismo de las enzimas, pero existen algunas veces en las que el término de la entropía juega un papel importante.

Para aclarar este punto, considérese la siguiente reacción bi molecular



Donde A y B no son moléculas *lineales*. Antes de que se forme el complejo activado, cada molécula tiene tres grados de libertad asociado al movimiento de traslación, tres grados de libertad debido a su movimiento de rotación y tres grados de libertad debido a sus vibraciones. Todos estos movimientos contribuyen a la entropía de la molécula, [3] capítulo 13. A temperatura ambiente, la mayor contribución proviene del movimiento de traslación (alrededor de $120 JK^{-1} mol^{-1}$), seguido por el movimiento de rotación (alrededor de $80 JK^{-1} mol^{-1}$) y por último la contribución más pequeña proviene del movimiento de vibración ($15 JK^{-1} mol^{-1}$). Debido a que la entropía del complejo activado aumenta ligeramente en comparación a las entropías individuales de los reactantes, existe una pérdida de entropía al momento de formación del complejo AB^\ddagger (del orden de $10^2 JK^{-1} mol^{-1}$). En las reacciones unimoleculares existe un cambio anodino en la entropía, al momento de formarse el complejo activado, esto es debido a que el complejo es formado a partir de una sola especie molecular. Una estimación, en el que se comparan los términos $\exp[\Delta S^\ddagger/R]$, para las reacciones unimoleculares y para las bimoleculares, demuestra que existe una diferencia del orden de 3×10^{10} , en este término, favoreciendo las reacciones unimoleculares.

Un modelo que podría hacer más plausible las reacciones bimoleculares que las enzimas catalizan es con un mecanismo como el siguiente:



En donde E denota a la enzima, S al sustrato de la enzima, ES es el complejo formado, ES^\ddagger , es el complejo activado, EP es el complejo formado con la enzima y el producto de la reacción que cataliza y por último, P es el producto liberado en la última etapa.

En este escenario, la enzima primero debe encontrar al sustrato en solución para formar el complejo ES. Esta es una reacción reversible, pero cuando la concentración del sustrato es alta, se favorece la formación de ES. Una vez asociadas

estas moléculas, fuerzas internas, o energía térmica del medio pueden conducir al complejo a un estado *activado*, es decir, el sistema gana la energía necesaria para quedar activado. La diferencia en este mecanismo, es que en la formación del complejo activado, habrá una pérdida mínima de entropía pues las moléculas ya formaban un complejo. En otras palabras, la pérdida de entropía asociada a los grados de libertad de traslación y rotación, ocurre en la formación del complejo ES , no en la formación del complejo ES^\ddagger , esta pérdida considerable de entropía, es compensada en una parte por la energía de enlace del sustrato. Una vez formado el complejo activado, se desencadena una reacción moviendo al sistema hacia un estado de menor energía, en el que se forma el producto, el cual se forma cuando está unido a la enzima y finalmente éste es liberado sin que se haya consumido la enzima.

Cinética de Michaelis-Menten

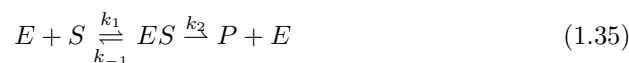
En los procesos catalíticos, usualmente, se mide la velocidad inicial de reacción (v_0), esto se hace con la finalidad de minimizar los efectos que tiene la otra dirección de la reacción reversible y la inhibición que tienen los productos en la solución, además de que la velocidad inicial corresponde a un momento en donde se pueden conocer con mucha precisión las concentraciones de los sustratos. Conforme el tiempo avanza, la concentración de sustrato disminuirá. La siguiente figura (1.4) muestra la dependencia de observaciones empíricas, que tiene la velocidad inicial de reacción con la concentración de sustrato.

En la primera parte, cuando la concentración de sustrato $[S]$ es baja, la velocidad inicial v_0 , aumenta linealmente con la concentración de sustrato $[S]$, pero gradualmente disminuye este aumento asintóticamente a un valor máximo, cuando las concentraciones de sustrato $[S]$ son altas. En esta región, prácticamente todos los sustratos están unidos a alguna enzima, por lo que la reacción se convierte de *orden cero* en la concentración de sustrato $[S]$. El comportamiento puede ser descrito matemáticamente de la siguiente manera:

$$v_0 = \frac{a[S]}{b + [S]} \quad (1.34)$$

en donde a y b , son constantes.

En 1913, el bioquímico alemán Leonor Michaelis y el bioquímico Maud L. Menten, basados en los trabajos de Victor Henri, propusieron un mecanismo para explicar la dependencia de la velocidad inicial v_0 de reacción con la concentración [3]. Consideraron el siguiente escenario:



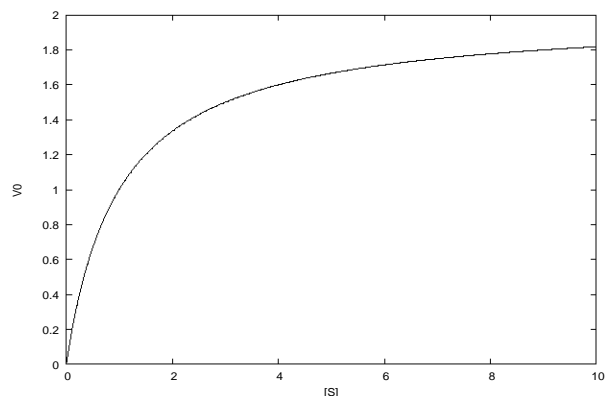


Figura 1.4: la velocidad de reacción v_0 como función de la concentración de sustrato $[S]$, disponible en una región del espacio con distribución uniforme de sus constituyentes. En la primera fase, cuando el sustrato comienza a ser abundante el cambio en la velocidad de reacción es lineal, mientras que para valores altos de la concentración de sustrato tiende asintóticamente a un valor constante.

La velocidad inicial de reacción, o de producción de P , denominada v_0 , está dada por:

$$v_0 = \left(\frac{d[P]}{dt} \right)_0 = k_2[ES] \quad (1.36)$$

Debido a las condiciones experimentales, Michaelis y Menten supusieron que $k_{-1} \gg k_2$ de tal forma que la formación del complejo ES pudiese ser tratado como un proceso que alcanza el equilibrio rápido. La constante de disociación estaría dada por:

$$K_s = \frac{k_{-1}}{k_1} = \frac{[E][S]}{[ES]} \quad (1.37)$$

Poco después de que empezó la reacción, la concentración total de enzima es:

$$[E]_0 = [E] + [ES]$$

sustituyendo el valor de la concentración de enzima, en función de la cantidad inicial y de la concentración de enzima asociada a algún sustrato, en (1.37) se obtiene la siguiente relación

$$K_s = \frac{([E]_0 - [ES])[S]}{[ES]} \quad (1.38)$$

ahora se puede despejar $[ES]$

$$[ES] = \frac{[E]_0[S]}{K_s + [S]} \quad (1.39)$$

sustituyendo en la ecuación (1.36) se obtiene una expresión para el ritmo con que se produce P en función de la concentración de sustrato,

$$v_0 = \left(\frac{d[P]}{dt} \right)_0 = \frac{k_2[E]_0[S]}{K_s + [S]} \quad (1.40)$$

Comparándola con la ecuación (1.34), se deduce que los parámetros físicos que definen la forma de la hipérbola son $a \equiv k_2[E]_0$ y $b \equiv K_s$.

Es conveniente analizar los dos casos límites: para bajas concentraciones, esto es $[S] \ll K_s$ la ecuación (1.40), se convierte en una reacción de segundo orden de acuerdo a la formulación de la cinética química,

$$v_0 = \left(\frac{d[P]}{dt} \right)_0 = \frac{k_2}{K_s} [E]_0 [S] \quad (1.41)$$

Esta relación corresponde a la parte lineal en la gráfica (1.4). Por otro lado, si la concentración de sustrato es alta $[S] \gg K_s$, entonces se tiene que la relación (1.40) puede ser expresada aproximadamente de la siguiente forma:

$$v_0 = \left(\frac{d[P]}{dt} \right)_0 = k_2[E]_0 \quad (1.42)$$

En este caso, todas las enzimas están asociadas con los sustratos, o lo que es lo mismo, el sistema está saturado en S . La consecuencia es que no depende este ritmo o velocidad de $[S]$, por lo que es una reacción de orden cero en $[S]$. Se define velocidad máxima $V_{\text{máx}}$, a la velocidad inicial v_0 que se tiene cuando todas las enzimas están en el complejo ES enzima sustrato y está dada por el valor en (1.42),

$$V_{\text{máx}} = k_2[E]_0 \quad (1.43)$$

Como último caso particular, considérese que pasa cuando $[S] = K_s$. En este caso la ecuación (1.40) dice que el ritmo inicial es la mitad del máximo

$$v_0 = \frac{V_{\text{máx}}}{2}$$

Otra aproximación a la cinética enzimática se les atribuye a los biólogos británicos Georges Briggs y a John Haldane [3] (pag.517), los cuales demostraron que no era necesario asumir que la enzima y el sustrato estaban en equilibrio termodinámico con el complejo sustrato-enzima ES . Para poder derivar la expresión (1.40), postularon que poco después de que el sustrato es mezclado con la enzima, el complejo sustrato-enzima alcanzará un valor constante tal que se puede utilizar una aproximación de estado estacionario:

$$\begin{aligned}\frac{d[ES]}{dt} &= 0 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] \\ &= k_1([E]_0 - [ES])[S] - (k_{-1} + k_2)[ES]\end{aligned}$$

De donde se puede obtener una relación entre la concentración $[ES]$, las constantes cinéticas y la concentración de sustrato $[S]$,

$$[ES] = \frac{k_1[E]_0[S]}{k_1[S] + k_{-1} + k_2} \quad (1.44)$$

sustituyendo este resultado en la ecuación (1.36) se obtiene:

$$\begin{aligned}v_0 = \left(\frac{d[P]}{dt}\right)_0 &= \frac{k_2 k_1 [E]_0 [S]}{k_1 [S] + k_{-1} + k_2} \\ &= \frac{k_2 [E]_0 [S]}{[(k_{-1} + k_2)/k_1] + [S]} \\ &= \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_M + [S]}\end{aligned}$$

por lo tanto,

$$\boxed{v_0 = \frac{k_2 [E]_0 [S]}{K_M + [S]}} \quad (1.45)$$

donde se define la constante cinética de Michaelis-Menten como

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1}$$

Es importante señalar que la constante de Michaelis-Menten K_M no es igual a la constante K_s en la ecuación (1.37),

$$K_M \neq K_s$$

a menos de que $k_{-1} \gg k_2$. Briggs y Haldane definen la velocidad máxima inicial igual que Michaelis y Menten, esto es, cuando $[S] \gg K_M$, de lo que se sigue que $V_{\text{máx}} = k_2[E]_0$. Sustituyendo en la ecuación (1.45), se obtiene una ecuación muy utilizada a través de la bibliografía en el tema, que es la siguiente:

$$v_0 = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_M + [S]} \quad (1.46)$$

Cuando la velocidad inicial es igual que la mitad de la máxima velocidad, la ecuación se lee:

$$\frac{V_{\text{máx}}}{2} = \frac{V_{\text{máx}}[S]}{K_M + [S]}$$

o lo que es lo mismo:

$$K_M = [S]$$

Por lo tanto en principio se pueden determinar las constantes $V_{\text{máx}}$ y K_M de gráficas experimentales de V_0 vs $[S]$. A veces es difícil localizar el valor asintótico de $V_{\text{máx}}$, por lo que se recurre a otro tipo de gráficas para determinarlas. Un tipo fue propuesto por los químicos americanos H. Lineweaver y Dean Burk. Consiste en graficar $\frac{1}{v_0}$ vs $\frac{1}{[S]}$, de la siguiente manera:

$$\frac{1}{v_0} = \frac{K_M}{V_{\text{máx}}[S]} + \frac{1}{V_{\text{máx}}} \quad (1.47)$$

De la gráfica se pueden obtener K_M y $V_{\text{máx}}$ usando la pendiente y las intersecciones con los ejes de la línea recta.

No obstante, la gráfica de Lineweaver-Burk tiene ciertas desventajas. Comprime los puntos de alta concentración en el sustrato en una región pequeña y enfatiza los puntos de baja concentración que generalmente son los menos precisos.

Existe otro método introducido denominado la gráfica de Eadie-Hofstee que se obtiene de multiplicar ambos lados de la ecuación (1.47) y se obtiene:

$$V_{\text{máx}} = v_0 + \frac{v_0 K_M}{[S]}$$

y despejando v_0 se obtiene:

$$v_0 = V_{\text{máx}} - \frac{v_0 K_M}{[S]} \quad (1.48)$$

Esta gráfica da una línea recta con pendiente $-K_M$ e intercepta $V_{\text{máx}}$ en el eje v_0 y $V_{\text{máx}}/K_M$ en el eje $v_0/[S]$.

La constante de Michaelis-Menten sirve para caracterizar a las diferentes enzimas y sus respectivos sustratos. Por definición, es igual a la concentración de sustrato cuando la velocidad de reacción es la mitad del valor máximo alcanzable. Dicho en otras palabras, es la concentración de sustrato en la cual, la mitad de los sitios activos de las enzimas están ocupados con moléculas de sustrato. K_M depende de la temperatura, la naturaleza del sustrato, pH , *fuerzas iónicas* y otras condiciones en las que se da la reacción. Cualquier variante en el valor de K_M (para el mismo conjunto: enzima-sustrato), es generalmente un indicador de la presencia de algún *inhibidor* o *activador*. La mayoría de las enzimas tienen una K_M con valores entre $10^{-1}M$ y $10^{-7}M$ [3] página 519.

La velocidad máxima $V_{\text{máx}}$ tiene bien definido un significado tanto empíricamente como teóricamente. Representa la velocidad máxima alcanzable cuando

todas las enzimas están presentes en el complejo ES , enzima-sustrato. Utilizando la ecuación (1.43) y el valor obtenido de $V_{\text{máx}}$ en alguna de las gráficas mencionadas anteriormente, se puede calcular k_2 . k_2 es una constante de reacción de primer orden y tiene unidades de inverso de tiempo, generalmente inverso de segundo s^{-1} . Se le denomina el número de *convertidos*¹⁴. A la constante k_2 también se le suele denominar la constante catalítica k_{cat} . El número de *convertidos* es el número de moléculas o moles que son convertidos a productos por unidad de tiempo, cuando la enzima está totalmente saturada con sustrato. Para la mayoría de las enzimas, el número de *convertidos* está entre 1 y $10^5 s^{-1}$ bajo condiciones fisiológicas ($25^\circ C$).

Si el número de sitios activos o la pureza de la enzima no es conocida, no es posible calcular el número de convertidos. En esos casos, la actividad de la enzima se especifica en unidades de actividad por miligramo de proteína y se le denomina *actividad específica*. Una unidad internacional es la cantidad de enzima que produce un micro mol de producto por unidad de tiempo.

Como se mencionó antes, es posible medir el número de convertidos k_2 medido bajo condiciones específicas. Sin embargo, bajo condiciones fisiológicas, el cociente $[S]/K_M$ es rara vez mayor que uno, de hecho, es frecuentemente mucho menor que uno. En ese caso $[S] \ll K_M$ y la ecuación (1.45) se convierte en una ecuación para una reacción de segundo orden:

$$\begin{aligned} v_0 &= \frac{k_2}{K_M} [E]_0 [S] \\ &= \frac{k_{\text{cat}}}{K_M} [E]_0 [S] \end{aligned} \quad (1.49)$$

El cociente k_{cat}/K_M es una medida de la eficiencia catalítica de la enzima; para valores mayores a uno se favorece la formación de productos y viceversa. Además, se puede ahora inferir cuál es el límite superior para la eficiencia catalítica de la enzima. Se tiene que

$$\frac{k_{\text{cat}}}{K_M} = \frac{k_2}{K_M} = \frac{k_1 k_2}{k_{-1} + k_2}$$

de lo cual se sigue que este valor será máximo cuando $k_2 \gg k_{-1}$ y k_1 será la constante que determinará la velocidad con que se forman los productos; tan rápido se forma el complejo ES , se forman los productos. Sin embargo, k_1 no puede ser mayor de que la frecuencia de encuentros entre las enzimas y los sustratos, que al mismo tiempo tiene que ver con las constantes de difusión, por eso se suele hacer énfasis en que la difusión restringe el comportamiento del sistema químico.

¹⁴ *convertidos* es un término que viene del nombre designado en Inglés: *turnover*

Capítulo 2

Metodología: Aproximación estocástica

Everything should be made as simple as possible, but no simpler.

Albert Einstein

La evolución temporal de un sistema constituido por una mezcla homogénea de moléculas que pueden reaccionar a través de varios canales de reacción, se suele calcular resolviendo un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias. Si existen N especies químicas, habrá N ecuaciones diferenciales; cada una expresando la variación temporal de la concentración de dicha especie, como función de las concentraciones de las otras especies, de acuerdo con las fórmulas estequiométricas y las respectivas constantes de reacción. Esta aproximación a la cinética química del sistema, está basada en una *formulación determinista*, en donde las constantes de reacción, se consideran como “velocidades de reacción” y las concentraciones de las diferentes especies químicas están representadas por funciones univaluadas continuas del tiempo. Existen algunos sistemas que no se pueden modelar con esta aproximación determinista, en particular aquellos sistemas no lineales cerca de inestabilidades químicas. Para estos sistemas, ciertas suposiciones no son realistas y las predicciones no son satisfactorias.

Una aproximación más general a la cinética química, es la *aproximación estocástica*. En ella, las constantes de reacción no son consideradas como “velocidades de reacción”, sino como probabilidades de reacción por unidad de tiempo, y la evolución temporal del sistema químico toma la forma de *una caminata aleatoria Marcoviana*, en el espacio N -dimensional de las poblaciones moleculares.

Generalmente lo que se suele hacer para simular de manera estocástica este tipo de sistemas, es resolver una ecuación en diferencias denominada la *ecuación*

maestra; la función que satisface esta ecuación maestra, se denomina la *gran función de probabilidad*, la cual permite calcular las probabilidades de todas las posibles configuraciones que las poblaciones moleculares pueden adquirir, para cada instante de tiempo. Donald McQuarrie publicó un trabajo ([22]), en el que profundiza en este tipo de aproximación a la cinética química.

En este trabajo de tesis se eligió una aproximación estocástica debido a que las concentraciones características de algunos de los compuestos orgánicos, están presentes en concentraciones muy bajas (aproximadamente $200nM$). Dado el caso, la representación de una especie molecular a través de una función **continua**, de la posición y del tiempo deja de ser “realista”.

El capítulo está dividido en cinco secciones: en la primera sección §2.1, se describirá en qué consiste la hipótesis fundamental de D. T. Gillespie, para simular estocásticamente la evolución temporal de poblaciones moleculares que pueden reaccionar a través de varios canales de reacción. Se utilizará un modelo sencillo en el que la hipótesis de Gillespie parezca plausible. En la sección §2.2 se empezará con el caso en que se tiene una distribución homogénea de las especies moleculares y posteriormente se generalizará para el caso en que la distribución no sea homogénea, esto con la finalidad de poder contemplar los procesos de difusión y simular lo que en este trabajo se define como el *modelo de Gamba*, haciendo referencia a que fue propuesto en un trabajo de Andrea Gamba *et al* [5]. En la sección §2.3 se deducirá el algoritmo numérico a implementar computacionalmente en función de lo deducido en las dos secciones anteriores. En la sección §2.4, se deducirá la relación que existe entre las constantes cinéticas k_μ de la aproximación determinista y las funciones c_μ de la aproximación estocástica, cuando las variables aleatorias que representan las poblaciones moleculares son estadísticamente independientes. Una vez encontrado el vínculo, se puede escribir el código o programa, que se adjuntó en uno de los apéndices (§6.4), para simular la evolución temporal del sistema biológico computacionalmente.

Por último, en la sección §2.5, se discute un punto relevante de la deducción para la expresión analítica de la función de probabilidad de reacción, que le da una estructura lógica sólida a esta aproximación estocástica.

2.1. La hipótesis fundamental de D. T. Gillespie

Existe una manera de soslayar, en la aproximación estocástica, la necesidad de buscar la *gran función de probabilidad*, [7] pag. 404. Es sobre esta línea, como se abordará el problema relacionado a la simulación de la evolución temporal de moléculas que pueden reaccionar a través de varios canales de reacción.

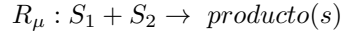
Será necesario construir una función que sirva de criterio para las posibles evoluciones de del sistema.

La existencia de esta función es lo que Daniel T. Gillespie denomina la *hipótesis fundamental* de la aproximación estocástica a la evolución temporal de reacciones químicas acopladas.

La expresión analítica de esta función, puede ser deducida de escenarios físicos idealizados como se mostrará a continuación. Por otro lado, existen teoremas matemáticos muy generales, en particular, el teorema de aproximación de Weierstrass [12], que garantiza la existencia de una sucesión de polinomios que converge de manera uniforme a estas funciones, cuando son continuas en un intervalo cerrado.

Por simplicidad, considérese una región bidimensional del espacio de tamaño V , en el que se encuentra conferida una mezcla de compuestos en estado gaseoso, en equilibrio térmico, pero no necesariamente en equilibrio químico. Supóngase que la distribución de carga en estos compuestos tiene simetría polar, (esférica en el caso de tres dimensiones), y que sólo es efectiva, e infinita, en una región finita del espacio. Bajo estas consideraciones podemos suponer que la mezcla está formada por *discos rígidos* no necesariamente del mismo tamaño.

Supongamos que dentro del volumen existen dos especies químicas S_1 y S_2 que bajo ciertas condiciones pueden reaccionar. La reacción química entre la especie uno y la especie dos se puede expresar como:



Si la especie uno tiene un radio R_1 y la especie dos un radio R_2 , ellas podrán colisionar si se están aproximando. Para analizar esta parte con más detalle, describábase el movimiento desde una de las moléculas, por ejemplo la molécula 1 y obsérvese cómo se mueve la molécula 2. La velocidad de la molécula 2, relativa a la molécula 1, determinará si es posible que en el futuro colisionen. Resulta ser que la molécula 1 colisionará con la molécula 2, si en un intervalo de tiempo $\delta\tau$, el centro de la molécula 1 se encuentra dentro del *volumen barrido* por un disco de radio igual a la suma de los dos radios ($R_1 + R_2$), con centro, en el centro de la molécula 2. Esto es, si se encuentra dentro de una área de tamaño (ver figura 2.1):

$$\delta A_{col} = (R_1 + R_2)^2 \pi v_{21} \delta\tau \quad (2.1)$$

en donde v_{21} es la velocidad relativa de la molécula 2 en el sistema de referencia de la molécula 1 .

Ahora se puede tomar el promedio de todas las velocidades relativas entre especies del tipo 1 y 2 para obtener una área promedio,

$$\langle \delta A_{col} \rangle = (R_1 + R_2)^2 \pi \langle v_{21} \rangle \delta\tau \quad (2.2)$$

Si suponemos que existe una distribución *uniforme* de los dos tipos de moléculas en V , la probabilidad **promedio** de que la molécula 1 este dentro de esta área de colisión es simplemente:

$$\frac{\langle \delta A_{col} \rangle}{V} = V^{-1} (R_1 + R_2)^2 \pi \langle v_{21} \rangle \delta\tau \quad (2.3)$$

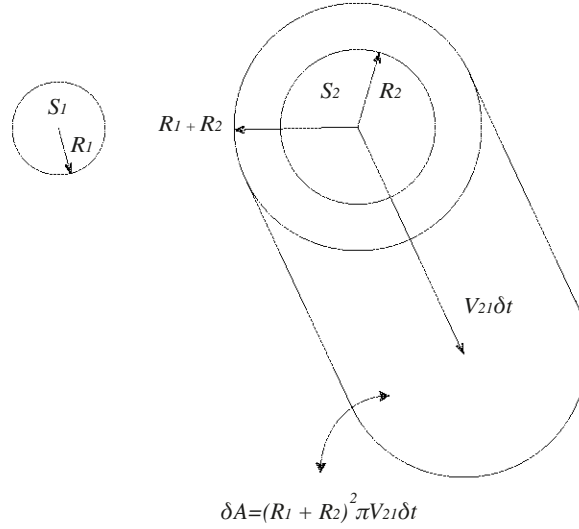


Figura 2.1: Diferencial de área *barrido*, δA por un disco de tamaño $R_1 + R_2$ desplazado en la dirección del vector velocidad relativa v_{21} , en el sistema de referencia de la molécula perteneciente a la clase S_1 .

Pues la probabilidad de que la molécula esté en alguna área particular es proporcional al tamaño de esta área. De aquí podemos ver que la probabilidad **promedio** la podemos expresar como el producto de un término que contiene *información física* de las moléculas en consideración ($c_\mu = V^{-1}(R_1 + R_2)^2 \pi \langle v_{21} \rangle$) por el intervalo de tiempo ($\delta\tau$).

Es importante que este intervalo de tiempo sea pequeño, para que la colisión entre moléculas del tipo 1 y 2 no sea impedida por la colisión con otra molécula.

Se podría sugerir que la relación funcional, entre la función de probabilidad promedio de reacción tiene la forma general:

$$\text{Probabilidad promedio} = c_\mu \delta\tau + O(\delta\tau^2) \quad (2.4)$$

en donde $O(\delta\tau^2)$ son términos que contemplan la colisión simultánea con más moléculas y otros factores que influyen sobre la probabilidad de reacción.

Si multiplicamos¹ esta probabilidad por el total de parejas de moléculas del tipo 1 y moléculas del tipo 2 que existen en V , obtenemos la probabilidad de que ocurra **una** reacción entre moléculas del tipo 1-2 en el intervalo de tiempo $\delta\tau$:

$$\text{Probabilidad} = h_\mu c_\mu \delta\tau + O(\delta\tau^2) \quad (2.5)$$

¹En este cálculo está implícito el teorema de probabilidad total para eventos excluyentes que se demuestra en uno de los apéndices de esta tesis.

Donde h_μ representa el número de parejas distintas que se pueden formar con las moléculas de tipo 1 y 2 en V.

Por ejemplo, si se tienen las siguientes fórmulas estequiométricas generales:

$$*^2 \rightarrow \text{productos} \quad (2.6)$$

$$S_j \rightarrow \text{productos} \quad (2.7)$$

$$S_j + S_k \rightarrow \text{productos} \quad (2.8)$$

$$2S_j \rightarrow \text{productos} \quad (2.9)$$

$$S_i + S_j + S_k \rightarrow \text{productos} \quad (2.10)$$

$$S_j + 2S_k \rightarrow \text{productos} \quad (2.11)$$

$$3S_j \rightarrow \text{productos} \quad (2.12)$$

donde los índices (i,j,k) denotan diferentes especies moleculares, se tendrá que las h_μ serán de la siguiente manera:

$$h_1 = 1, \quad (2.13)$$

$$h_2 = X_j, \quad (2.14)$$

$$h_3 = X_j X_k, \quad (2.15)$$

$$h_4 = X_j(X_j - 1)/2, \quad (2.16)$$

$$h_5 = X_i X_j X_k, \quad (2.17)$$

$$h_6 = X_j X_k(X_k - 1)/2 \quad (2.18)$$

$$h_7 = X_j(X_j - 1)(X_j - 2)/6 \quad (2.19)$$

Ahora, se podría pensar que se le está asociando la misma probabilidad ($c_\mu \delta\tau$), a una pareja de moléculas muy cernas entre sí, que a otra pareja que no lo está. Lo que se pasa por alto, es que aquí se tiene la probabilidad **incondicional**, independiente de cual sea la pareja en concreto. Se puede realizar el mismo cálculo utilizando la probabilidad **condicional**, cálculo que está realizado en uno de los artículos de D. Gillespie [8] para el caso unidimensional, e incorporado íntegramente en la sección §2.5.

Este modelo, a pesar de ser sencillo, contemplado en dos dimensiones con moléculas con simetría esférica, evidencia la posibilidad de poder expresar a la función de probabilidad, como siendo proporcional al intervalo de tiempo $\delta\tau$, siempre y cuando se cumpla la condición $\lim_{\delta\tau \rightarrow 0} \frac{O(\delta\tau^2)}{\delta\tau} = 0$.

²De esta manera se contempla la presencia de fuentes externas que tienen influencia sobre el sistema de estudio, en este caso un subvolumen

Es importante señalar que en esta aproximación, se considera como si cada colisión, resultara en una reacción química, lo cual no necesariamente es cierto. De lo discutido anteriormente en la sección §1, se podría considerar el término exponencial de la ecuación de Arrhenius (1.25):

$$k = A \exp(-E_a/RT)$$

obteniendo una expresión más “realista”,

$$\frac{\langle \delta A_{col} \rangle}{V} = V^{-1} (r_1 + r_2)^2 \pi \langle v_{21} \rangle \exp(-E_a/RT) \delta \tau \quad (2.20)$$

Más aún, si la distribución de velocidades sigue la distribución de Maxwell-Boltzmann, entonces $\langle v_{21} \rangle = \sqrt{(8KT/\pi m_{12})}$ [9], donde $m_{12} = m_1 m_2 / m_1 + m_2$, es la masa reducida, K es la constante de Boltzmann y T es la temperatura absoluta del sistema. Entonces la expresión (2.20), quedaría:

$$\frac{\langle \delta A_{col} \rangle}{V} = V^{-1} (r_1 + r_2)^2 \pi \sqrt{(8KT/\pi m_{12})} \exp(-E_a/RT) \delta \tau \quad (2.21)$$

Esta cantidad corresponde a $c_\mu \delta \tau$ definida en (2.4).

De esta expresión para la probabilidad de que ocurra una reacción en V, se puede observar que si la *forma* de estas moléculas no tuviese simetría esférica, la deducción sería más complicada. A veces, en la práctica es más fácil medir experimentalmente c_μ que obtenerlo por métodos analíticos en los que usualmente tendría que utilizarse la mecánica cuántica.

2.2. Aplicación al modelo Gamba

Con una noción en los conceptos desarrollados en los párrafos anteriores se expondrá como se puede construir la función conjunta de probabilidad de reacción y difusión, para algunos de los fenómenos relevantes que se dan en el citoplasma de la membrana celular como se describieron en la sección (§1.2).

Estos fenómenos relevantes, son los siguientes: En presencia de un gradiente externo de cierto tipo de ligandos, los receptores pueden irse asociando a estos ligando reflejando la existencia de dicho gradiente externo. Una vez asociado el receptor con su respectivo ligando, este sufre un cambio conformacional con el cual puede asociarse con la cinasa de 3-fosfatidil inositol PI3K, a través de la región SH2. Esto quiere decir que el receptor, una vez activado, aumenta la concentración relativa de la cinasa PI3K en la región que posee receptores activados. Por otro lado, el fosfolípido fosfatidil inositol (4,5) bi fosfato, el cual está integrado a la membrana celular, y se difunde a través de ella, es *fosforilado* por PI3K produciendo al fosfolípido fosfatidil inositol (3,4,5) tri fosfato, PIP3, el cual se ha sugerido está involucrado en

1. $\text{PI3K}(\text{citosol}) + \text{Rec}(i) \rightleftharpoons \text{PI3K} \cdot \text{Rec}(i)$
2. $\text{PTEN}(\text{citosol}) + \text{PIP2}(i) \rightleftharpoons \text{PTEN} \cdot \text{PIP2}(i)$
3. $\text{PI3K} \cdot \text{Rec}(i) + \text{PIP2}(i) \rightarrow \text{PI3K} \cdot \text{Rec}(i) + \text{PIP3}(i)$
4. $\text{PTEN} \cdot \text{PIP2}(i) + \text{PIP3}(i) \rightarrow \text{PTEN} \cdot \text{PIP2}(i) + \text{PIP2}(i)$
5. $\text{PIP2}(i) \rightarrow \text{PIP2}(j)$
6. $\text{PIP3}(i) \rightarrow \text{PIP3}(j)$

Cuadro 2.1: Modelo sugerido por Andrea Gamba *et al* [5], para simular los procesos de quimiotaxis en células eucariontas.

los procesos de polimerización de la actina y en la formación de pseudópodos. Este proceso de fosforilación de PIP2, es contrarrestado por la actividad enzimática de la fosfatasa PTEN, que se encuentra en el citosol. PTEN puede enlazarse a través de el dominio SH2, al fosfolípido PIP2 y quedar confinada a esta región interna de la membrana celular, donde, al interactuar con PIP3 lo desfosforila regresándolo a su configuración original PIP2. En resumen y de forma estequiométrica, se tiene el conjunto de los procesos que paracene en el cuadro (2.1).

Suponiendo que la membrana celular se ha discretizado de forma conveniente; en esta lista, i hace referencia a cualquier punto de la red y j a un vecino contiguo. Citosol hace referencia a que esta molécula se encuentra en el citosol. En la reacción (1.) se tiene que la enzima cinasa PI3K que se encuentra en el citosol, reacciona con un receptor *activado*, el cual está conferido a un punto de esta red en la membrana celular y forman un complejo $\text{PI3K} \cdot \text{Rec}(i)$ en el mismo lugar i donde toma lugar la reacción. Análogamente, el proceso (2.), corresponde a la reacción entre la fosfatasa PTEN que se encuentra en el citosol y el fosfolípido PIP2. Los procesos (3.) y (4.) corresponden a los procesos catalíticos de las enzimas PI3K y PTEN, de acuerdo a la cinética de *Michaelis-Menten*. Por último, los procesos (5.) y (6.) corresponden a la difusión de los fosfolípidos PIP3 y PIP2.

En la tabla 2.3 se dan los valores experimentales para las constantes cinéticas de reacción y la constante de difusión de los fosfolípidos.

A continuación, se empleará lo que se denominó la **Hipótesis fundamental**. Este es la base para deducir las expresiones analíticas utilizadas en las simulaciones computacionales.

El punto de partida será que la probabilidad se puede expresar como siendo

proporcional al intervalo de tiempo, multiplicada por una función que posea información física del fenómeno como se dedujo en (2.3). Debióse quedar claro, que esta probabilidad promedio, es válida en regiones del espacio donde la distribución de las diferentes especies químicas es homogénea y esto a su vez no siempre será cierto. Lo será en algunas ocasiones, como por ejemplo, cuando el número de choques que resultan en una reacción química es mucho menor que el número de colisiones de tipo *elástico*. En este caso existirá una distribución homogénea y uniforme de las especies químicas, debido a que las colisiones elásticas tienden a homogeneizar la distribución, antes de que ocurran las reacciones químicas, por lo que para cada instante de tiempo se tiene una distribución aproximadamente homogénea. En otros casos, cuando el número de colisiones que resultan en una reacción química es mayor que el número de colisiones *elásticas*, esta aproximación no será válida y tendrán que emplearse los métodos de la dinámica molecular [7]. En algunos casos, existe otra manera de soslayar estos problemas como se verá más adelante.

Considere primero una región V del espacio con distribución homogénea. Supóngase que se tiene N especies químicas en equilibrio térmico (no necesariamente químico), en esta región determinada, que pueden reaccionar a través de M canales de reacción. Donde estos canales de reacción hacen referencia a una fórmula estequiométrica bien definida, como cualquiera de las expresiones en 2.6-2.7.

Considérese ahora la hipótesis fundamental:

$$c_\mu \delta\tau \equiv \text{Probabilidad promedio en } t, \text{ a primer orden en } \delta\tau \text{ de} \\ \text{que una combinación particular de reactantes del} \\ \text{canal } R_\mu \text{ reaccionen en V en el intervalo de tiempo} \\ (t, t + \delta\tau) \quad (2.22)$$

En un lenguaje un poco más abstracto, si la función de probabilidad buscada fuese continua para cada $\mu \in \mathbb{N}$, esta función, se podría expandir como una serie de potencias en algún parámetro (tal como se sugiere en [25], pag. 93). En este caso, ese parámetro es $\delta\tau$ y el primer término en la expansión, (una constante), es cero porque conforme el parámetro, el intervalo de tiempo $\delta\tau$, disminuya, la probabilidad de que *algo* acontezca deberá igualmente tender a cero. Esto es,

$$\text{Probabilidad promedio} = a_0 + a_1 \delta\tau + a_2 (\delta\tau)^2 + a_3 (\delta\tau)^3 + \dots$$

donde $a_0 = 0$ y si se desprecian los términos de orden superior, $O(\delta\tau^2)$, se puede inferir que $a_1 = c_\mu$, siendo esta una aproximación matemática que converge, bajo estos supuestos, en la hipótesis fundamental. Como esta es la probabilidad

promedio de que una reacción particular ocurra en V , si se suman todos los eventos que satisfacen estas condiciones, esto es, si se suman TODAS las parejas diferentes de reactantes³ se obtiene la probabilidad de que ocurra una reacción a través del canal R_μ :

$$p(t, \mu) = h_\mu c_\mu \delta\tau \quad (2.23)$$

El objetivo siguiente, consiste en buscar una expresión analítica para:

$$P(\tau, \mu)\delta\tau = \text{Probabilidad en } t, \text{ que en intervalo} \\ (t + \tau, t + \tau + \delta\tau) \text{ ocurra una reacción} \\ \text{de tipo } R_\mu \text{ en } V. \quad (2.24)$$

Para ello se descompone esta función como el producto, utilizando la *regla del producto* demostrada en los apéndices:

$$P(\tau, \mu)\delta\tau = P(\tau)P(\mu|\tau)\delta\tau \quad (2.25)$$

En esta expresión el primer término del lado derecho representa la probabilidad al tiempo t , de que NO ocurra ningún tipo de reacción en el intervalo de tiempo $(t, t + \tau)$, veces la probabilidad de que dado que NO ocurrió ninguna reacción en todo este intervalo. La próxima reacción en el intervalo de tiempo $(t + \tau, t + \tau + \delta\tau)$, será de tipo μ .

A este proceso se le conoce como “condicionando”, [7].

Ahora, para encontrar la función que depende exclusivamente de τ se procede de la siguiente manera: se toma el intervalo de tiempo $(t, t + \tau)$ y se subdivide en k intervalos iguales de tamaño $\epsilon = \frac{\tau}{k}$. La probabilidad de que NO ocurra ninguna reacción del tipo μ , al tiempo t , es igual a:

$$1 - (h_\mu c_\mu \epsilon + O(\epsilon^2)) \quad (2.26)$$

Esto se debe a una de las propiedades de cualquier función de probabilidad, pues si se tiene que Ω es el espacio muestral y $A \in \Omega$, entonces $P(A^c) = 1 - P(A)$,

³Este es un punto que se ha discutido, es lo que denominarían en inglés: a mot point, pues al parece se le está asociando la misma probabilidad a dos moléculas de reactantes que estén muy alejas, que a dos moléculas que estén muy cerca, además de que no se está considerando inclusive si estas se están acercando. Para una discusión de por qué esto no es válido, véase la última sección de este capítulo.

ver 6.2.1. La letra A denota el evento ocurrir una reacción tipo μ a través del canal μ y A^c denota la no ocurrencia de la reacción tipo μ . Suponiendo que la probabilidad de que exista una interacción previa que impida la ocurrencia de la reacción μ es al menos de órdenes cuadráticos en ϵ ; $O(\epsilon^2)$. Podemos considerar ahora la probabilidad de que no ocurra ninguna reacción en el intervalo de tiempo de tamaño ϵ . Utilizando la regla del producto:

$$P(A_1^c \cap A_2^c \cap \dots \cap A_N^c) = P(A_1^c)P(A_2^c|A_1^c) \dots P(A_N^c|A_1^c \cap A_2^c \cap \dots \cap A_{N-1}^c) \quad (2.27)$$

que expresa que la probabilidad asociada al evento, en que ninguna de las reacciones ocurre en el intervalo de tiempo $[t, t + \epsilon]$, es igual al producto de la probabilidad de que no ocurra la reacción número uno, por la probabilidad de que no ocurra la reacción número dos, dado que no ocurrió la reacción número uno, etc. Utilizando la notación anterior se puede escribir de la siguiente manera:

$$\prod_{\mu=1}^m (1 - h_{\mu}c_{\mu} - O(\epsilon^2)) \quad (2.28)$$

Pero esta probabilidad también es válida cuando el intervalo de tiempo en consideración es $[t+\epsilon, t+2\epsilon]$, puesto que seguimos teniendo las “mismas” condiciones iniciales (distribución uniforme) y lo mismo ocurrirá en los subsiguientes pues no ha ocurrido nada que modifique el escenario que influye sobre el comportamiento del sistema, eso no quiere decir que sea estático, sino que aunque las especies químicas se muevan, los diferentes escenarios físicos no cambian las probabilidades de que ocurran las reacciones. Como existen k de estos intervalos, se tiene que tomar el producto de todos ellos:

$$\begin{aligned} P(\tau) &= \left(\prod_{\mu=1}^m (1 - h_{\mu}c_{\mu}\epsilon + O(\epsilon^2)) \right)^k = \left(1 - \sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\epsilon + O(\epsilon^2) \right)^k = \\ &= \left(1 - \sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu} \frac{\tau}{k} + O\left(\left(\frac{\tau}{k}\right)^2\right) \right)^k = \left(1 - \frac{\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau + O\left(\frac{\tau^2}{k}\right)}{k} \right)^k \end{aligned}$$

Si tomamos el límite⁴ cuando k tiende a infinito y despreciamos los términos cuadráticos en $\left(\frac{\tau}{k}\right)$:

$$\lim_{k \rightarrow \infty} \left(1 - \frac{\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau + O\left(\frac{\tau^2}{k}\right)}{k} \right)^k = \exp \left(- \sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau \right) \quad (2.29)$$

Por lo tanto:

$$P(\tau, \mu)\delta\tau = \exp\left(-\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau\right) h_{\mu}c_{\mu}\delta\tau \quad (2.30)$$

Densidad de Probabilidad que está debidamente normalizada (la integral puede realizarse con un cambio de variable en el argumento de la exponencial):

$$\sum_{\mu=1}^m \int_0^{\infty} \left[\exp\left(-\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau\right) h_{\mu}c_{\mu} \right] \delta\tau = \frac{\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}}{\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}} = 1$$

Con esta función, se puede calcular el valor medio para los intervalos de tiempo entre reacciones, de hecho, este tiempo se utiliza en algunas simulaciones y al método se le conoce como: “the leap τ method”, [16] pag. 276.

$$\begin{aligned} \langle \tau \rangle &= \sum_{\mu=1}^m \int_0^{\infty} \left[\tau \cdot \exp\left(-\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau\right) \right] \delta\tau = \sum_{\mu=1}^m \left[\frac{-\tau}{\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}} \exp\left(-\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau\right) \right]_0^{\infty} + \\ &+ \frac{1}{\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}} \int_0^{\infty} \exp\left(-\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}\tau\right) \delta\tau = \frac{1}{\sum_{\mu=1}^m h_{\mu}c_{\mu}} \end{aligned}$$

Ahora supongamos que no existe una distribución uniforme de las especies químicas en V . Si V tiene dimensiones *macroscópicas*, se puede dividir en pequeños sub volúmenes, de tal forma que en esos pequeños subvolúmenes exista una distribución uniforme y entonces se pueda expresar la probabilidad de que ocurra una reacción química en particular, en cada uno de estos subvolúmenes, como en (2.24). Pero ahora el término dependerá del subvolumen particular. Defínase $P : \mathbb{R} \times \mathbb{N} \times \mathbb{N} \times \mathbb{N} \rightarrow [0, 1]$, como:

$$\begin{aligned} P(\tau, \mu, i, j)\delta\tau &\equiv \text{Probabilidad en } t \text{ a primer orden en } \delta\tau, \text{ de} \\ &\text{que en el intervalo de tiempo } [t+\tau, t+\tau + \delta\tau], \quad (2.31) \\ &\text{ocurra un proceso } \mu \text{ de reacción-difusión,} \\ &\text{en el punto } (i, j) \text{ de la red bidimensional} \\ &\text{que representa el plasma de la membrana} \\ &\text{celular.} \end{aligned}$$

⁴Esta equivalencia está demostrada en los apéndices de este trabajo.

Para deducir la expresión analítica de esta *función conjunta*, se sigue un procedimiento similar al que se empleó en los párrafos anteriores para el caso de una distribución *uniforme* de las especies químicas.

Esta función conjunta de probabilidad puede ser expresada como el producto, *condicionando* los diferentes tipos de eventos. Sólo es necesario usar la definición de probabilidad condicional, con ciertas condiciones sobre los *eventos*: el tiempo (τ), el proceso (μ) de reacción-difusión y el lugar con dos grados de libertad (i, j).

Consideremos a $x(S_l, i, j)$ como la población molecular de la especie química S_l en el punto (i, j) de una red. En este caso esta red bidimensional representa el citoplasma de la membrana celular.

Se pueden considerar los procesos de difusión de las diferentes especies químicas a través de una región bidimensional, como una reacción en donde existen *fuentes* que absorben o producen especies químicas, esto es, expresado como una ecuación estequiométrica sería: $* \rightarrow \text{productos}$ o, $S_i \rightarrow *$, tal como está contemplado en (2.6), con una densidad de probabilidad de *reacción* igual a

$$a(\mu, \mathbf{Q}, \mathbf{P}) = DA_{(\mathbf{Q}, \mathbf{P})} [x(S_l, \mathbf{Q})/V - x(S_l, \mathbf{P})/V] / |d_{(\mathbf{Q}, \mathbf{P})}| \quad (2.32)$$

Debióse quedar claro, que para cada punto de la red cuadrada, existen cuatro posibilidades para difundirse (para *arriba, abajo, a un lado y al otro*), en este caso en concreto se tiene que $\mathbf{Q} = (i, j)$ y la probabilidad es asociada a una difusión hacia otro punto de la red $\mathbf{P} = (i^*, j^*)$. $A_{(\mathbf{Q}, \mathbf{P})}$ es el área de la región a través de la cual *fluyen* las especies químicas, $d_{(\mathbf{Q}, \mathbf{P})}$ es la distancia entre los puntos \mathbf{Q} y \mathbf{P} , con área común $A_{(\mathbf{Q}, \mathbf{P})}$ en la red. Esta expresión no es sino la discretización de la ley de Fick [14], pag. 142, que hace referencia a la dirección y la velocidad con que se difunden las diferentes especies químicas ($J = -D\nabla c$, siendo c es la concentración) .

Entonces, la probabilidad de que ocurra algún proceso de reacción o difusión, sigue siendo proporcional, a primer orden, al intervalo de tiempo⁵:

$$P(\mu, i, j) = a(\mu, i, j)\delta t \quad (2.33)$$

Ahora, para encontrar una expresión analítica para la función conjunta de probabilidad ecuación (2.31), ésta se descompone como el producto, de una función de probabilidad de que NO ocurra ningún tipo de proceso, reacción-difusión, en ningún punto (i, j) de la red en todo el intervalo de tiempo $[t, t + \tau]$, veces la probabilidad de que dado que NO ocurrió ningún proceso en el intervalo de tiempo

⁵Ahora la dependencia con los puntos de la red contemplados en los procesos de difusión, queda relegada a la variable μ , para algunos valores de μ , esto es, a los que estén asociados a los procesos de difusión, ahora $\mu = \mu(i^*, j^*)$, para estos y es una manera de contemplar ambos procesos en la misma *categoría probabilística*.

$(t, t + \tau)$ en ningún punto de la red, ocurra el proceso μ en el intervalo de tiempo $(t + \tau, t + \tau + \delta\tau)$, en el punto (i, j) , esto es:

$$P(\tau, \mu, i, j) = P_a(\tau)P_b(\mu, i, j|\tau) \quad (2.34)$$

La expresión analítica para esta función *conjunta* de probabilidades, se obtiene de manera análoga a la expresión en que no depende del lugar (i, j) .

Nuevamente, se divide el intervalo de tiempo $(t, t + \tau)$ en k sub intervalos de tamaño $\epsilon \equiv \frac{\tau}{k}$. Por razonamientos análogos a los empleados en la ecuación (2.26) se llega a que:

$$1 - a(\mu, i, j)\epsilon$$

es igual a la probabilidad de que NO ocurra un de proceso μ en el punto (i, j) en el intervalo de tiempo $(t, t + \epsilon)$, por lo que:

$$\prod_{\mu=1}^M (1 - a(\mu, i, j)\epsilon)$$

es la probabilidad de que NO ocurra ningún tipo de proceso μ , en el punto (i, j) , y entonces:

$$\prod_i \prod_j \prod_{\mu} (1 - a(\mu, i, j)\epsilon) = 1 - \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j)\epsilon + O(\epsilon^2)$$

representa la probabilidad de que NO ocurra ningún tipo de proceso; en NINGÚN punto de la red, en el intervalo de tiempo $(t, t + \epsilon)$, pero esta es la misma subsecuente probabilidad de que NO ocurra ningún tipo de proceso en ningún punto de la red en el intervalo $(t + \epsilon, t + 2\epsilon)$ y también en el intervalo $(t + 2\epsilon, t + 3\epsilon)$, así sucesivamente, hasta el intervalo $(t + (k - 1)\epsilon, t + k\epsilon)$. Posteriormente, si se hacen los intervalos cada vez más pequeños y se desprecian los términos cuadráticos en ϵ ,

$$\lim_{k \rightarrow \infty} \left(1 - \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \frac{\tau}{k} \right)^k = \exp \left[- \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \tau \right] \quad (2.35)$$

Por lo tanto:

$$P_a(\tau) \equiv \exp \left[- \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \tau \right]$$

Y usando la hipótesis fundamental:

$$P_b(\mu, i, j|\tau) = a(\mu, i, j)\delta\tau$$

sustituyendo ambos resultados en (2.34),

$$P(\tau, \mu, i, j)\delta\tau = \exp\left[-\sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j)\tau\right] a(\mu, i, j)\delta\tau \quad (2.36)$$

naturalmente se tiene que fuera de sus dominios de definición.:

$$P(\tau, \mu, i, j) = 0$$

El algoritmo numérico está sustentado en esta función conjunta de probabilidad de reacción-difusión. El algoritmo consiste esencialmente en generar diferentes historias congruentes con la información que posee esta función y obtener los promedios de las diferentes poblaciones moleculares como funciones del tiempo promediando con estas historias equivalentes.

Esta función conjunta de probabilidad de reacción-difusión ya está debidamente normalizada en sus dominios de definición,

$$\int_0^\infty \sum_{\mu, i, j} P(\tau, \mu, i, j) \delta\tau = 1$$

2.3. Construcción del algoritmo numérico

Para poder usar la expresión (2.36) en las simulaciones computacionales, es necesario descomponerla como el producto de una función que depende exclusivamente del tiempo, multiplicada por otra condicionada a que dado que avanzó el tiempo un lapso determinado, el siguiente proceso que ocurre en un intervalo infinitesimal de tiempo es uno de tipo μ de acuerdo con el canal R_μ en el punto (i, j) de la red, de la siguiente manera:

$$P(\tau, \mu, i, j) = P_1(\tau)P_2(\mu, i, j|\tau) \quad (2.37)$$

Donde $P_1(\tau)$, no es igual a $P_a(\tau)$ en (2.34), aquí $P_1(\tau)$, es la probabilidad de que independientemente de que proceso ocurra, este **ocurre** habiendo transcurrido un lapso de tiempo de tamaño, τ . Por otro lado, $P_2(\mu, i, j|\tau)$ representa la probabilidad de que dado que el tiempo transcurrido ha sido τ , el proceso que ocurre es μ , y ocurre en el punto (i, j) de la red.

Para encontrar una expresión para $P_1(\tau)$, basta pensar que esta probabilidad es igual a la probabilidad de que en el intervalo de tiempo $[t + \tau, t + \tau + \delta\tau]$, ocurra cualquiera de los procesos $\mu = 1, 2, 3, 4, \dots$, en cualquier lugar $1 \leq i \leq m, 1 \leq j \leq n$. Utilizando el teorema de la probabilidad total, demostrado en los apéndices de

este trabajo, se deduce que la probabilidad buscada, $P_1(\tau)$ es igual a la suma sobre todos los valores en (2.36), esto es:

$$P_1(\tau) = \sum_{\mu ij} P(\tau, \mu, i, j) = \sum_{\mu ij} \left(\exp \left[- \sum_{\mu ij} a(\mu, i, j) \tau \right] a(\mu, i, j) \right) \quad (2.38)$$

$$P_1(\tau) = \exp \left[- \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \tau \right] \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \quad (2.39)$$

Ahora, sustituyendo $P_1(\tau)$ en (2.37) se sigue que

$$P_2(\mu, i, j | \tau) = P(\tau, \mu, i, j) / P_1(\tau)$$

y sustituyendo las expresiones (2.36) y (2.39) para $P_1(\tau)$ y $P_2(\mu, i, j)$ se llega a que:

$$P_2(\mu, i, j | \tau) = \frac{a(\mu, i, j)}{\sum_{\mu ij} a(\mu, i, j)} \quad (2.40)$$

Esta es la probabilidad de que en el intervalo de tiempo $(t + \tau, t + \tau + \delta\tau)$ ocurra el procesos μ en el punto (i, j) de la red que representa el plasma de la membrana celular cuando se tienen las configuraciones particulares del tiempo t .

Una vez obtenida esta función de densidad, podemos construir de forma análoga (teorema de probabilidad total), la función:

$$\begin{aligned} P_3(\mu | \tau) &= \sum_{i, j} P_2(\mu, i, j | \tau) \\ &= \sum_{i, j} \left[\frac{a(\mu, i, j)}{\sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j)} \right] \end{aligned} \quad (2.41)$$

Que representan la probabilidad de que ocurra un proceso del tipo μ en el intervalo de tiempo $(t + \tau, t + \tau + \delta\tau)$ en ALGÚN punto de la red (i, j) .

Ahora se pueden construir dos funciones que midan la probabilidad de que ocurra en el intervalo de tiempo $(t + \tau, t + \tau + \delta\tau)$ un proceso μ en el punto i independientemente del punto j de la red y la probabilidad de que ocurra en el intervalo de tiempo $(t + \tau, t + \tau + \delta\tau)$ un proceso μ en el punto j independientemente del punto i donde se lleve a cabo, de la siguiente manera:

$$\begin{aligned}
P_4(\mu, i|\tau) &= \sum_j P_2(\mu, i, j|\tau) \\
&= \sum_j \left[\frac{a(\mu, i, j)}{\sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j)} \right]
\end{aligned} \tag{2.42}$$

$$\begin{aligned}
P_5(\mu, j|\tau) &= \sum_i P_2(\mu, i, j|\tau) \\
&= \sum_i \left[\frac{a(\mu, i, j)}{\sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j)} \right]
\end{aligned} \tag{2.43}$$

Usando estas funciones de probabilidad, se pueden generar cuartetos de (τ, μ, i, j) que se distribuyan de acuerdo a la función (2.36) lo que representa posibles evoluciones temporales del sistema químico. Para esto se necesitan las *funciones de distribución* (sección 6.2.3), asociadas a cuatro de las cinco funciones de probabilidad deducidas, todas menos $P_2(\mu, i, j)$, pues esta no se puede emplementar directamente en el algoritmo computacional. Con estas funciones de distribución, se puede generar una rutina del tipo Monte carlo [7]

Para generar un tiempo de avance τ^* , primero se genera un número pseudo aleatorio r_1 y suponemos que es el resultado de integrar a la función 2.36 hasta el valor particular τ^* , esto es:

$$r_1 = \int_{-\infty}^{\tau^*} P_1(\tau) d\tau = \int_0^{\tau^*} \left(\exp \left[- \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \tau \right] \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \right) d\tau$$

llevando acabo la integral,

$$r_1 = - \frac{1}{\sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j)} \left(\exp \left[- \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \tau \right] \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j) \right) \Big|_0^{\tau^*}$$

y definiendo $a_0 \equiv \sum_{\mu, i, j} a(\mu, i, j)$, podemos reescribir la expresión anteior como:

$$r_1 = - (\exp[-a_0 \tau^*] - 1)$$

y despejando τ^* se obtiene:

$$\tau^* = \frac{1}{a_0} \log \left(\frac{1}{1 - r_1} \right)$$

Como r_1 es un número pseudo aleatorio con distribución uniforme en el intervalo $[0, 1]$, se puede tomar directamente el número r_1 como $1 - r_1$ pues ambos números tienen una distribución uniforme en el intervalo $[0, 1]$, lo cual no quiere decir que tengan la misma distribución, pues claramente son dos números que deferirán en una unidad. Haciendo esto se consigue evitarle un cálculo innecesario a la computadora.

$$\tau^* = \frac{1}{a_0} \log \left(\frac{1}{r_1} \right) \quad (2.44)$$

A continuación se obtienen, de forma similar, un tipo de proceso μ , un renglón i y una columna j que se distribuyan de acuerdo a sus respectivas funciones de densidad.

Para obtener μ que se distribuya de acuerdo con (2.41), se genera un número pseudo aleatorio r_2 y se toma μ tal que se satisfaga la siguiente condición:

$$\sum_{\nu=1}^{\mu-1} P_3(\mu|\tau) < r_2 \leq \sum_{\nu=1}^{\mu} P_3(\mu|\tau) \quad (2.45)$$

De manera similar para encontrar un i y un j se suman las funciones de probabilidad (2.42) y (2.43) hasta los valores particulares: i^* y j^* tal que se satisfagan las siguientes dos condiciones:

$$\sum_{i=1}^{i^*-1} P_4(\mu, i|\tau) < r_3 * P_3(\mu|\tau) \leq \sum_{i=1}^{i^*} P_4(\mu, i|\tau) \quad (2.46)$$

$$\sum_{j=1}^{j^*-1} P_5(\mu, j|\tau) < r_4 * P_3(\mu|\tau) \leq \sum_{j=1}^{j^*} P_5(\mu, j|\tau) \quad (2.47)$$

Con estos números (τ^*, μ, i^*, j^*) podemos actualizar el estado del sistema de acuerdo a las fórmulas estequiométricas particulares de las reacciones químicas y los procesos de difusión de acuerdo a la ley de Fick.

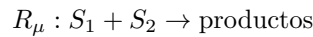
Por ejemplo, supongamos que la fórmula general estequiométrica es del tipo $R_\mu : S_1 + S_2 \rightarrow S_3$, entonces después de ocurrir una reacción de este tipo, se actualizan las poblaciones moleculares de la siguiente manera: $x(S_1) \rightarrow x(S_1) - 1$, $x(S_2) \rightarrow x(S_2) - 1$ y $x(S_3) \rightarrow x(S_3) + 1$, donde $x(S_1)$ representa la concentración local de la especie química S_1 . De forma similar, en un proceso en el que μ^* defina un proceso de difusión, y supóngase por simplicidad que la difusión sea de un punto (i, j) cualquiera al punto $(i - 1, j)$, hacia arriba, i denotando un renglón particular de la red. Si la especie química que se difunde está denotada por S_k ; las actualizaciones correspondientes serían:

$$x(S_k, i, j) \rightarrow x(S_k, i, j) - 1 \text{ y } x(S_k, i - 1, j) \rightarrow x(S_k, i - 1, j) + 1$$

2.4. Relación entre las constantes k_μ y las funciones c_μ .

Para poder asignar valores a las diferentes densidades de probabilidad de reacción, $a(\mu, i, j)$, es necesario encontrar la relación que hay entre las densidades de probabilidad promedio de reacción, c_μ , y las constantes de reacción (k) de la aproximación determinista discutida en §1.4.

Para ello, se usará como caso estereotipo, la reacción bimolecular:



que está tomando lugar en un volumen V determinado. Si existen, X_1 moléculas de la especie S_1 y X_2 moléculas de la especie S_2 dentro del volumen V , entonces habrán $X_1 X_2$ parejas de moléculas reactantes de R_μ . Utilizando la hipótesis fundamental; $c_\mu \delta t$ representa la probabilidad promedio de que ocurra una reacción en el intervalo de tiempo δt y utilizando el teorema de la probabilidad total, se tiene que $X_1 X_2 \cdot c_\mu \delta t$ es la probabilidad de que ocurra una reacción a través del canal R_μ en algún lugar de V , en el próximo intervalo de tiempo δt . De aquí se puede inferir que $\langle X_1 X_2 \cdot c_\mu \rangle = \langle X_1 X_2 \rangle \cdot c_\mu$, es la “velocidad promedio” a la que están ocurriendo las reacciones R_μ en el volumen V , donde $\langle \dots \rangle$ denota promedio sobre un ensamble de sistemas equivalentes. Entonces, la velocidad de reacción por unidad de volumen será $\langle X_1 X_2 \rangle c_\mu / V$. Esta expresión se puede escribir en función de las concentraciones moleculares $x_i = X_i / V$; obteniendo la siguiente expresión: $\langle x_1 x_2 \rangle \cdot c_\mu V$. Por otro lado, la constante de reacción, k_μ en la aproximación determinista a la cinética química, se define como la velocidad *promedio* de reacción, entre el producto de las concentraciones; esto es,

$$k_\mu \equiv \frac{\langle x_1 x_2 \rangle \cdot c_\mu V}{\langle x_1 \rangle \langle x_2 \rangle} \quad (2.48)$$

Empero, en la aproximación determinista no se hace ninguna distinción entre el promedio del producto y el producto de los promedios, por lo que se supone que $\langle x_i x_j \rangle = \langle x_i \rangle \langle x_j \rangle$. Para $i = j$, esta suposición elimina los efectos de las fluctuaciones; mientras que para $i \neq j$, elimina los efectos de las correlaciones. En cualquiera de los dos casos se tendría:

$$k_\mu = V c_\mu \quad (2.49)$$

En el caso de reacciones monomoleculares, $S_1 \rightarrow$ productos, se tendrá:

$$k_\mu = c_\mu \quad (2.50)$$

mientras que, si se hubiese tenido una reacción del tipo $S_1 + S_1 \rightarrow$ productos, se tendría que el número de distintas parejas que se puede formar con X_1 moléculas es $X_1(X_1-1)/2 \simeq X_1^2/2$, de donde se podría deducir de forma análoga, la relación $k_\mu \simeq V c_\mu/2$. Para una reacción termomolecular, que involucrase tres especies diferentes, la relación sería $k_\mu = V^2 c_\mu$, etc.

En pocas palabras, se tiene que, aunque la relación entre k_μ y c_μ es simple, c_μ parece tener una base más sólida, desde el punto de vista *físico*, que k_μ . Este era el último vínculo que faltaba para poder determinar las probabilidades por unidad de tiempo que utilice el algoritmo numérico para realizar las simulaciones. A partir de esta información y de lo discutido en la sección §2.2 se construyó la siguiente tabla (2.2).

En este punto del desarrollo, se cuenta con todos los elementos necesarios para realizar las simulaciones. Para ello es necesario introducir los parámetros de la tabla (2.3), en las funciones de la tabla (2.2) y con ellas aplicar el algoritmo, ecuaciones (2.44)-(2.47).

Es importante señalar que la formulación estocástica de la cinética química para sistemas espacialmente homogéneos, toma en consideración las fluctuaciones y las correlaciones, las cuales son ignoradas en la formulación determinista. Oppenheim y Kurtz han demostrado [7], en diferentes trabajos, que estas correlaciones y fluctuaciones desaparecen en el límite termodinámico, (cuando el número de partículas y el volumen tienden a infinito de tal forma que la densidad permanece finita). Que tan *grande* deberá ser el sistema para que esto ocurra, dependerá de cada sistema en particular. Algunas experiencias señalan que, para la mayoría de los sistemas, el número de moléculas constituyentes puede ser de cien o mil, para que este límite termodinámico sea alcanzado y la aproximación determinista sea válida. Para la mayoría de los sistemas, la diferencia entre la formulación determinista y la formulación estocástica es una cuestión *académica*, y se es libre en escoger la más conveniente o la más eficiente. Sin embargo, para sistemas no lineales, cerca de inestabilidades químicas, las fluctuaciones y las correlaciones pueden producir efectos

Proceso μ	$a(\mu, i, j)$
$PI3K(i,j)+Rec(i,j) \longrightarrow PI3K \cdot Rec(i,j)$	$V_{cel}^{-1} K_{aso}^{rec} X(1, i, j) \cdot X(2, i, j)$
$PTEN(i,j)+PIP2(i,j) \longrightarrow PTEN \cdot PIP2(i,j)$	$V_{cel}^{-1} K_{aso}^{PIP2} X(3, i, j) \cdot X(5, i, j)$
$PI3K \cdot Rec(i,j) \longrightarrow PI3K(i,j)+Rec(i,j)$	$K_{dis}^{rec} X(6, i, j)$
$PTEN \cdot PIP2(i,j) \longrightarrow PTEN(i,j)+PIP2(i,j)$	$K_{dis}^{PIP2} X(7, i, j)$
$PI3K \cdot Rec(i,j)+PIP2(i,j) \rightarrow$ $\rightarrow PI3K \cdot Rec(i,j)+PIP3(i,j)$	$K_{cat}^{PI3k} \left(\frac{[PI3k \cdot Rec(i,j)][PIP2(i,j)]}{K_M^{PI3k} + [PIP2(i,j)]} \right)$
$PTEN \cdot PIP2(i,j)+PIP3(i,j) \rightarrow$ $\rightarrow PTEN \cdot PIP2(i,j)+PIP2(i,j)$	$K_{cat}^{PTEN} \left(\frac{[PTEN \cdot PIP2(i,j)][PIP3(i,j)]}{K_M^{PTEN} + [PIP3(i,j)]} \right)$
$PIP2(i,j) \longrightarrow PIP2(i^*, j^*)$	$\frac{D}{L \cdot l} [X(3, i, j) - X(3, i^*, j^*)]$
$PIP3(i,j) \longrightarrow PIP3(i^*, j^*)$	$\frac{D}{L \cdot l} [X(4, i, j) - X(4, i^*, j^*)]$

Cuadro 2.2: En esta tabla se especifican las probabilidades por unidad de tiempo de a cada uno de los procesos simulados en este trabajo, para dada una configuración en el espacio de las poblaciones moleculares. Estas probabilidades por unidad de tiempo son calculados apartir de los discutido en este capítulo. Se define $X(S_l, i, j)$ como el número de moléculas de la especie S_l en el punto (i, j) de la red. Con $S_1 = PI3K$, $S_2 = Rec$, $S_3 = PIP2$, $S_4 = PIP3$, $S_5 = PTEN$, $S_6 = Rec * PI3K$ y $S_7 = PTEN * PIP2$. Cuando se hace referencia a una concentración asociada a una proteína se utilizan los corchetes; por ejemplo, la concentración de PIP2 en (i, j) , se denota como $[PIP2](i, j)$.

Parámetro	Valor	Referencia
$[Rec]$	0-50 nM	[18]
k_{aso}^{Rec}	$50.00 (s \cdot \mu M)^{-1}$	[23]
k_{dis}^{Rec}	$0.10 s^{-1}$	[23]
$[PI3K]$	50.00 nM	[2]
k_{cat}^{PI3K}	$1.00 s^{-1}$	[5]
k_M^{PI3K}	200.00 nM	[5]
$[PTEN]$	50.00 nM	[5]
k_{cat}^{PTEN}	$0.50 s^{-1}$	[20]
k_M^{PTEN}	200.00 nM	[20]
$[PIP2]$	500 nM	[21]
k_{aso}^{PIP2}	$50.00 (s \cdot \mu M)^{-1}$	[5]
k_{dis}^{PIP2}	$0.10 s^{-1}$	[5]
D	$1.0 \mu m^2/s$	[4]
L	$10.00 \mu m$	[10]

Cuadro 2.3: En esta tabla se dan todos los parámetros físicos que aparecieron en [5] y que se utilizaron en las simulaciones. Están las concentraciones de las diferentes especies químicas, sus constantes de disociación y de asociación. Las constantes catalíticas de Michaelis-Menten y la constante de difusión para los fosfolípidos PIP2 y PIP3.

dramáticos, aún para cantidades macroscópicas de moléculas; para estos sistemas, la formulación estocástica es más adecuada. Para un ejemplo en concreto véase la simulación de la reacción *Lotka*, en el trabajo de Gillespie [6], pag. 2351.

2.5. Validez de la aproximación estocástica (a moot point)

En esta sección se discutirá por qué es válido asignar el mismo valor numérico a la probabilidad de que reaccione un par particular de reactantes independientemente de la posición en que se encuentren dentro del volumen o del sub volumen.

En la deducción de la función de densidad de probabilidad para el sistema químico se consideró la probabilidad promedio de que ocurriese una reacción del tipo R_μ , ecuación (2.22) en un volumen determinado, en un intervalo de tiempo $\delta\tau$. Posteriormente se multiplicó esta probabilidad promedio por el número de combinaciones posibles de reactantes en V, ecuación (2.23), de acuerdo a la forma estequiométrica para obtener la probabilidad total de que ocurra una reacción del tipo R_μ .

El problema radica en que pareciese que se le está asignando la misma probabilidad a una pareja (suponiendo que la reacción sea del tipo: $R_\mu; S_1 + S_2 \rightarrow$ productos), que está a una determinada distancia que a otra pareja en V con una distancia mucho mayor. Físicamente no hace sentido que la probabilidad sea la misma, pues entre mayor sea la distancia, menor debería ser la probabilidad de que esa pareja particular colisione.

En esta sección es una traducción fiel de ([8]) y debido a que en su momento, en los años setentas, principios de los ochentas la comunidad científica cuestionó mucho los métodos desarrollados por Gillespie, al autor de este trabajo le pareció pertinente adjuntarlo.

Supongase un conjunto de N partículas puntuales en un volumen unidimensional de tamaño L y en equilibrio térmico. Se quiere calcular la siguiente cantidad:

$$P(\delta t) = \text{Probabilidad al tiempo } t, \text{ de que ocurra una colisión} \\ \text{entre dos partículas en algún lugar dentro de V} \quad (2.51) \\ \text{en el siguiente intervalo de tiempo } (t, t+\delta t)$$

Es importante señalar que en esta afirmación están implícitas dos cosas:

- **Prop1.** Se supone que las posiciones de las partículas pueden considerarse como variables aleatorias con una distribución uniforme en el intervalo $(0,L)$. Esto quiere decir que la probabilidad de que una partícula cualquiera se encuentre en un intervalo determinado (x_1, x_2) para $x_1, x_2 \in (0, L)$, es $(x_2 - x_1)/L$, independientemente de la posición de las otras partículas.
- **Prop2.** Se considera que las velocidades de estas partículas tienen una distribución con las características esenciales de la distribución de Maxwell-Boltzman. Esto es, que la probabilidad de que una partícula este viajando en la dirección x positiva es igual a que esté viajando en la dirección x negativa y se supone que la probabilidad de que una pareja cualquiera de partículas tenga una velocidad relativa entre v y $v + \delta v$ al tiempo t , se puede expresar como $f(v)dv$, donde f es una función positiva de v tal que $\int_{-\infty}^{\infty} f(v) dv = 1$ y tiende a cero *rápidamente* conforme $v \rightarrow \infty$

2.5.1. Derivación usando probabilidad incondicional

La siguiente derivación es totalmente análoga a la deducción para las expresiones (2.30) y (2.36):

Primero tómesese, al tiempo t , aleatoriamente dos partículas de este gas confinado a una *caja* unidimensional de tamaño L y sea v la velocidad relativa de una de estas partículas en relación a la otra. Por simplicidad sea la partícula 1 la que se utiliza como sistema de referencia. Entonces la segunda partícula o partícula 2, *barre* un *volumen*⁶ de colisión en el intervalo de tiempo $(t, t + \delta t)$ de tamaño $v\delta t$. Se le denomina volumen de colisión en el sentido de que si resulta que la primera partícula se encuentra en este volumen, ocurrirá una colisión entre ellas en el intervalo de tiempo $(t, t + \delta t)$. Es necesario tomar δt como infinitésimo, por dos razones: la primera surge de que eventualmente se tomará el $\lim_{\delta t \rightarrow 0} p(\delta t)$ y porque solamente si se toma δt pequeño, el intervalo $v\delta t$ será pequeño y por lo tanto se podrá garantizar que la colisión entre estas dos partículas no será impedida por una colisión intermedia con otra partícula, si la primera partícula se encuentra dentro de este *volumen* (intervalo).

De acuerdo con la propiedad 1, la probabilidad de que la primera partícula se encuentre al tiempo t en este *volumen de colisión* es $v\delta t/L$, esto es, a su vez, la probabilidad al tiempo t , de que una pareja elegida al *azar* con velocidad relativa v colisionen en el intervalo de tiempo $(t, t + \delta t)$. Si posteriormente se promedia sobre todas las velocidades relativas, lo que a su vez quiere decir si se promedia esta

⁶Se está usando en el texto, una noción más general de volumen. *Volumen* en este caso es un número real positivo generado por una función $M : \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^+$ de *medida* [28].

probabilidad sobre todas las parejas, de acuerdo con la propiedad 2, se obtendrá la probabilidad de que una pareja elegida al *azar* al tiempo t , **independientemente de su posición o su velocidad**, colisionen en el intervalo $(t, t + \delta\tau)$, en símbolos:

$$\langle v\delta t/L \rangle = \langle v \rangle \delta t/L$$

Donde $\langle v \rangle = \int_0^\infty v f(v) dv$. Además, el número de parejas diferentes que se pueden formar con N partículas iguales es igual $N(N - 1)/2^7$. Usando el teorema de la probabilidad total §6.2.1

se puede concluir [8]:

$$p(\delta t) = [N(N - 1)/2][\langle v \rangle \delta t/L] + O(\delta t^2) \quad (2.52)$$

En los términos de $O(\delta t^2)$ está considerada la probabilidad de ocurrir más de una reacción en el intervalo de tiempo $(t, t + \delta t)$ ⁸

Viendo la expresión (2.52), se ve que se le ha asignado la misma probabilidad a todas las parejas $S_1 - S_2$ partículas, cuando unas podrían estar más cerca que otras. Está visión errada es producto de no saber distinguir entre la probabilidad *incondicional* y la probabilidad *condicional*. La relación (2.52) es la *probabilidad incondicional de colisión*, esto quiere decir que es independiente de las posiciones y las velocidades. Si se impone la condición de que las dos partículas tuviesen una separación determinada ξ_n al tiempo t , entonces la expresión $\langle v \rangle \delta t/L$ para la probabilidad ya no sería válida.

2.5.2. Probabilidad de reacción condicionada

Supóngase que se tienen N moléculas en el intervalo $[0, L]$ y las cuales son numeras al instante t de izquierda a derecha con un índice n ($n = 1, \dots, N$). Cómo se está interesado en la próxima colisión en el intervalo de tiempo $(t, t + \delta t)$, sólo se debe contemplar la primera colisión que ocurre después de t . Debe quedar claro que esta colisión sólo podrá tomar lugar entre moléculas adyacentes, ya sea entre 1 y 2, o entre 2 y 3 o, etc.

Sea:

$$p_n(\delta\tau) \equiv \begin{array}{l} \text{Probabilidad al tiempo } t \text{ de que} \\ \text{las moléculas } n \text{ y } n + 1 \text{ colisionen} \\ \text{en el siguiente intervalo } (t, t + \delta t) \end{array} \quad (2.53)$$

⁷esto se puede deducir si se expresa de la siguiente manera: $(N - 1) + (N - 2) + \dots + (N - (N - 1)) = N(N - 1) - \sum_{n=1}^{N-1} n = N(N - 1) - N(N - 1)/2$

⁸Lo único que se necesita para una simulación plausible, es que el $\lim_{\delta t \rightarrow 0} \frac{O(\delta t^2)}{\delta t} = 0$

del teorema de la probabilidad total se tiene que:

$$p(\delta t) = \sum_{n=1}^{N-1} p_n(\delta t) + O(\delta t^2) \quad (2.54)$$

representa la probabilidad de que haya una colisión entre las moléculas 1 y 2, o entre las moléculas 2 y 3 o, ..., o, entre las moléculas n y $n + 1$ así hasta las moléculas $N - 1$ y N y entonces, la probabilidad de que exista *alguna* colisión en algún lugar dentro de $[0, L]$ en el intervalo de tiempo $(t, t + \delta t)$.

Para calcular $p_n(\delta t)$ se necesita considerar que la posibilidad de una colisión entre las partículas n y $n + 1$ se dará si y sólo si estas moléculas se están aproximando al tiempo t con una velocidad $v > \xi_n/\delta t$, en donde ξ_n denota la distancia entre las molécula n y $n + 1$ en el tiempo t . En congruencia con la propiedad 2., en donde está implícita una distribución simétrica alrededor del cero en la variable v esta probabilidad es⁹

$$\frac{1}{2} \int_{\frac{\xi_n}{\delta t}}^{\infty} f(v) dv$$

Si se considera que ξ_n está dado. Para obtener este valor, considerese:

$$P_n(\xi_n)d\xi_n \equiv \text{Probabilidad al tiempo } t \text{ de que las} \\ \text{moléculas } n \text{ y } n + 1 \text{ estén separadas} \\ \text{una distancia } \xi_n \quad (2.55)$$

Se deduce del teorema de probabilidad total y de la regla del producto que:

$$p_n(\delta t) = \int_{\xi_n=0}^L \int_{v=\frac{\xi_n}{\delta t}}^{\infty} P_n(\xi_n)d\xi_n \frac{1}{2} f(v) dv \quad (2.56)$$

Cambiando el orden de integración en 2.56, se llega:

$$p_n(\delta t) = \frac{1}{2} \int_0^{\frac{L}{\delta t}} \int_0^{v\delta t} f(v)P_n(\xi_n) dv d\xi_n + \frac{1}{2} \int_{L/\delta t}^{\infty} \int_0^L f(v)P_n(\xi_n) dv d\xi_n$$

Para integrar es conveniente señalar que $f(v)$ es una función que decrece *rápidamente* cuando $v \rightarrow \pm\infty$ y para fines prácticos, todo sistema termodinámico de estudio, posee una cantidad finita de energía independientemente de las formas que esta energía pueda tomar, por lo tanto existe una velocidad máxima a la que las

⁹Nuevamente se está utilizando el teorema de la probabilidad total en su versión para una variable continua. Debe estar claro que la probabilidad de que se estén acercando es de $\frac{1}{2}$ y de los casos en que efectivamente se estén acercando, sólo la fracción $\int_{\xi_n/\delta t}^{\infty} f(v) dv$ tendrá una velocidad mayor a $\xi_n/\delta t$

moléculas se puedan mover, por lo que podemos condiderar que $f(v) = 0$ para ciertos valores mayores iguales a $V_{\text{máx}}$ si se elige δt lo suficientemente pequeño para que $L/\delta t > V_{\text{máx}}$ la segunda integral tiende a cero simplificándose a:

$$p_n(\delta t) = \frac{1}{2} \int_0^V \int_0^{v\delta t} f(v) P_n(\xi_n) dv d\xi_n \quad \text{para } \delta t \leq L/V$$

Cuando se toma $\delta t \ll L/V$ es inmediato que $v\delta t \ll L$ y en consecuencia se puede realizar la integral¹⁰ a primer orden en δt :

$$\begin{aligned} \frac{1}{2} \int_0^V \left(\int_0^{v\delta t} P_n(\xi_n) d\xi_n \right) f(v) dv &= \frac{1}{2} \int_0^V (P_n(0)v\delta t + O(\delta t^2)) f(v) dv \\ &= \frac{1}{2} P_n(0) \langle v \rangle \delta t + O(\delta t^2) \end{aligned}$$

$$p_n(\delta t) = \frac{1}{2} P_n(0) \langle v \rangle \delta t + O(\delta t^2) \quad (2.57)$$

En esta expresión es evidente que se necesita conocer el valor de $P_n(\xi_n)$ en $\xi_n = 0$ y para este fin, es necesario construir primero la función de densidad de probabilidad de dos variables aleatorias tal que

$$P'_n(x_n, x_{n+1}) dx_n dx_{n+1}$$

denota la probabilidad de que la molécula n se encuentre en el intervalo $(x_n, x_n + dx_n)$ y la molécula $n+1$ se encuentre en el intervalo $(x_{n+1}, x_{n+1} + dx_{n+1})$. Utilizando el teorema de Probabilidad total y la regla del producto, junto con la proposición 2. En la que se especifica que la distribución de las moléculas a lo largo del *volumen* (intervalo), es uniforme:

$$\begin{aligned} P'_n(x_n, x_{n+1}) dx_n dx_{n+1} &= \left(\frac{dx_n}{L} \right) \left(\frac{dx_{n+1}}{L} \right) \left(\frac{x_n}{L} \right)^{n-1} \times \\ &\quad \times [(L - x_{n+1})/L]^{N-n-1} \frac{N!}{[1!1!(n-1)!(N-n-1)!]} \end{aligned} \quad (2.58)$$

en donde $0 \leq x_n \leq x_{n+1} \leq L$. El primer término representa la probabilidad de que la molécula n se encuentre en el intervalo $(x_n, x_n + dx_n)$, el segundo término

⁹Suponiendo que la función $P_n(\xi_n)$ es de variación suave en el dominio de su definición; que en base en argumentos físicos no tendríamos porque esperar que no lo fuese. Deberá entonces, poderse expresar con su respectiva serie de Taylor: $P_n(\xi_n) = P_n(0) + \frac{dP_n(0)}{d\xi_n}(\xi_n - 0) + \dots$

representa la probabilidad de que la molécula $n + 1$ se encuentre en el intervalo $(x_{n+1}, x_{n+1} + dx_{n+1})$, de acuerdo a que la distribución de TODAS las moléculas es uniforme en el volumen $(0, L)$; el tercer factor es la probabilidad de que $(n - 1)$ moléculas se encuentren conferidas al volumen $(0, x_n)$, puesto que cada una de ellas tiene una distribución de probabilidad uniforme en todo el volumen, y las diferentes moléculas son consideradas estadísticamente independientes, este término se obtiene multiplicando lo $n - 1$ términos x_n/L . Análogamente, el cuarto término representa la probabilidad de que $N - n - 1$ de las moléculas restantes (recuérdese que las moléculas fueron numeradas de izquierda a derecha), se encuentren en el intervalo (x_{n+1}, L) ; por último, el quinto factor es el número de maneras distintas en que se pueden distribuir N moléculas en cuatro grupos de $1, 1, n - 1$ y $N - n - 1$, llegando a la siguiente expresión para función de densidad

$$P'_n(x_n, x_{n+1}) = \frac{N!}{[(n - 1)!(N - n - 1)!]} \left(\frac{1}{L^N} \right) x_n^{n-1} (L - x_{n+1})^{N-n-1} \quad (2.59)$$

Siempre que se tenga $0 \leq x_n \leq x_{n+1} \leq L$, en los otros casos se sobre entiende que $P'_n(x_n, x_{n+1}) = 0$. Si bajo este panorama se toma el cambio el variables

$$(x_n, x_{n+1}) \rightarrow (x_n, \xi_n \equiv x_{n+1} - x_n) \quad (2.60)$$

Recordando que ξ_n es la distancia entre la molécula n y la molécula $n+1$, usando la regla de transformación ([15] pag. 367), podemos obtener la función de densidad $P''_n(x_n, \xi_n)$ usando el jacobiano de la transformación de la siguiente manera:

$$P''_n(x_n, \xi_n) = P'_n(x_n, x_{n+1}(x_n, \xi_n)) \left| \frac{\partial(x_n, x_{n+1})}{\partial(x_n, \xi_n)} \right| \quad (2.61)$$

se puede demostrar fácilmente que el jacobiano de esta transformación es unitario¹¹, por lo que:

$$P''_n(x_n, \xi_n) = \frac{N!}{[(n - 1)!(N - n - 1)!]} \left(\frac{1}{L^N} \right) x_n^{n-1} (L - x_n - \xi_n)^{N-n-1} \quad (2.62)$$

Con sus debidas restricciones $x_n \geq 0$, $\xi_n \geq 0$ y $x_n + \xi_n \leq 0$. Si se integra esta función sobre todos los valores posibles que pueda tomar la variable x_n , se obtiene la probabilidad de que la distancia entre la molécula n y la molécula $n + 1$ estén separadas una distancia x_n . Esto es,

¹⁰Sólo es necesario tomar $x_{n+1} = x_n + \xi_n$ de lo que se sigue que:

$$\left| \begin{array}{cc} \partial x_n / \partial x_n & \partial(x_n + \xi_n) / \partial x_n \\ \partial(x_n) / \partial \xi_n & \partial(x_n + \xi_n) / \partial \xi_n \end{array} \right| = 1$$

$$P_n(\xi_n) = \int_0^{L-\xi_n} P_n''(x_n, \xi_n) dx_n$$

Sustituyendo la ecuación 2.62 en la expresión anterior y realizando la integral¹² se obtiene:

$$P_n(\xi_n) = \frac{N}{L^N} (L - \xi_n)^{N-1} \quad (2.63)$$

para $0 \leq \xi_n \leq L$. Nótese, además que NO depende de n . De aquí que $P_n(0) = N/L$ y sustituyendo en la ecuación (2.57)

$$p_n(\delta t) = \frac{1}{2} \left(\frac{N}{L} \right) \langle v \rangle \delta t + O(\delta t^2) \quad (2.64)$$

Ahora sustituyendo en la expresión para $p(\delta t)$ (la ecuación 2.54) se llega a la siguiente expresión:

$$\boxed{p(\delta t) = (N - 1) \left(\frac{N \langle v \rangle \delta t}{2L} \right) + O(\delta t^2)} \quad (2.65)$$

siendo la misma expresión a la deducida en (2.52), la única diferencia es el orden en como aparecen los términos que la componen. En la expresión (2.52), el segundo término representa la probabilidad promedio de que una pareja, *independientemente* de cual, colisione. El primer término representa el número total de parejas diferentes que existen en el *volumen* considerado.

En el caso de la expresión (2.65), el segundo término representa la probabilidad de colisión entre parejas de moléculas adyacentes y el primer término es el número total de esas parejas.

¹¹La integral es del tipo

$$\int_0^A x^{n_1} (A - x)^{n_2} dx = A^{n_1+n_2+1} \frac{n_1! n_2!}{(n_1 + n_2 + 1)!}$$

Expresión que puede ser deducida sin dificultad integrando por partes y usando inducción matemática

Capítulo 3

Resultados

Duda de los datos hasta que los datos no dejen lugar a dudas.

Henri Poincaré

En esta parte del trabajo se mostrarán algunos de los resultados representativos obtenidos de las simulaciones realizadas en el cluster de Ollín del Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México.

El procedimiento para realizar las simulaciones consistió en suponer que la membrana celular podía ser representada como una superficie cuadrada de tamaño $10\mu\text{m}$ de lado, esto es por que las células *Dictyostelium discoideum* tienen membranas que si fuesen estendidas tendrían un área de aproximadamente $4\pi(10\mu\text{m})^2$. La diferencia *topológica* entre un cuadrado y una superficie aproximadamente esférica, consiste en que una puede ser considerada *cerrada*: la esférica mientras la otra no puede ser considerada cerrada; si una partícula camina sobre ella siempre en la misma dirección, no regresará al mismo punto de partida, mientras que en la esfera si puede acontecer eso. Por esta razón se impusieron *condiciones periódicas de contorno*, y se tendrá una topología similar a la del toro $\mathbb{S}^1 \times \mathbb{S}^1$, módulo $10\mu\text{m}$, en lugar de 2π ó 1.

Posteriormente se discretizó esta membrana celular en 10000 nodos equidistantes ($,1\mu\text{m}$), para poder contemplar inhomogeneidades a lo largo de la membrana celular. El tamaño específico con el que se discretizó esta red, fue tal que, el orden de la velocidad de producción de los fosfolípidos PIP2 y PIP3 fuese tres órdenes de magnitud **menor**, que el orden de la velocidad de difusión a lo largo de la membrana. De esta forma se puede suponer que el sistema alcanza el *equilibrio localmente*, antes de que se den las reacciones químicas relacionadas con la producción de los fosfolípidos.

En las figuras, el tiempo avanza de izquierda a derecha y de arriba hacia abajo. Los parámetros que definen al sistema son: la ocupación de receptores, esto es, la

densidad de quimiotáctico del gradiente externo y, la constante de difusión D , que como se discutirá más adelante, tiende a desordenar al sistema.

Se utilizaron condiciones periódicas debido a que la membrana celular puede ser considerada como una superficie cerrada, en ella, las partícula *caminando* en una misma dirección, pueden regresar al mismo punto de partida. Esto esta definido en una subrutina del programa que está en §6.4

Lo ideal para analizar de forma cualitativa estas matrices, sería proyectarlas en secuencias de 24 diapositivas por segundo, y que esas diapositivas contengan 1 segundo de tiempo real simulado. Esas películas virtuales podrían ser comparadas con observaciones ya sea *in vivo* o *in vitro*.

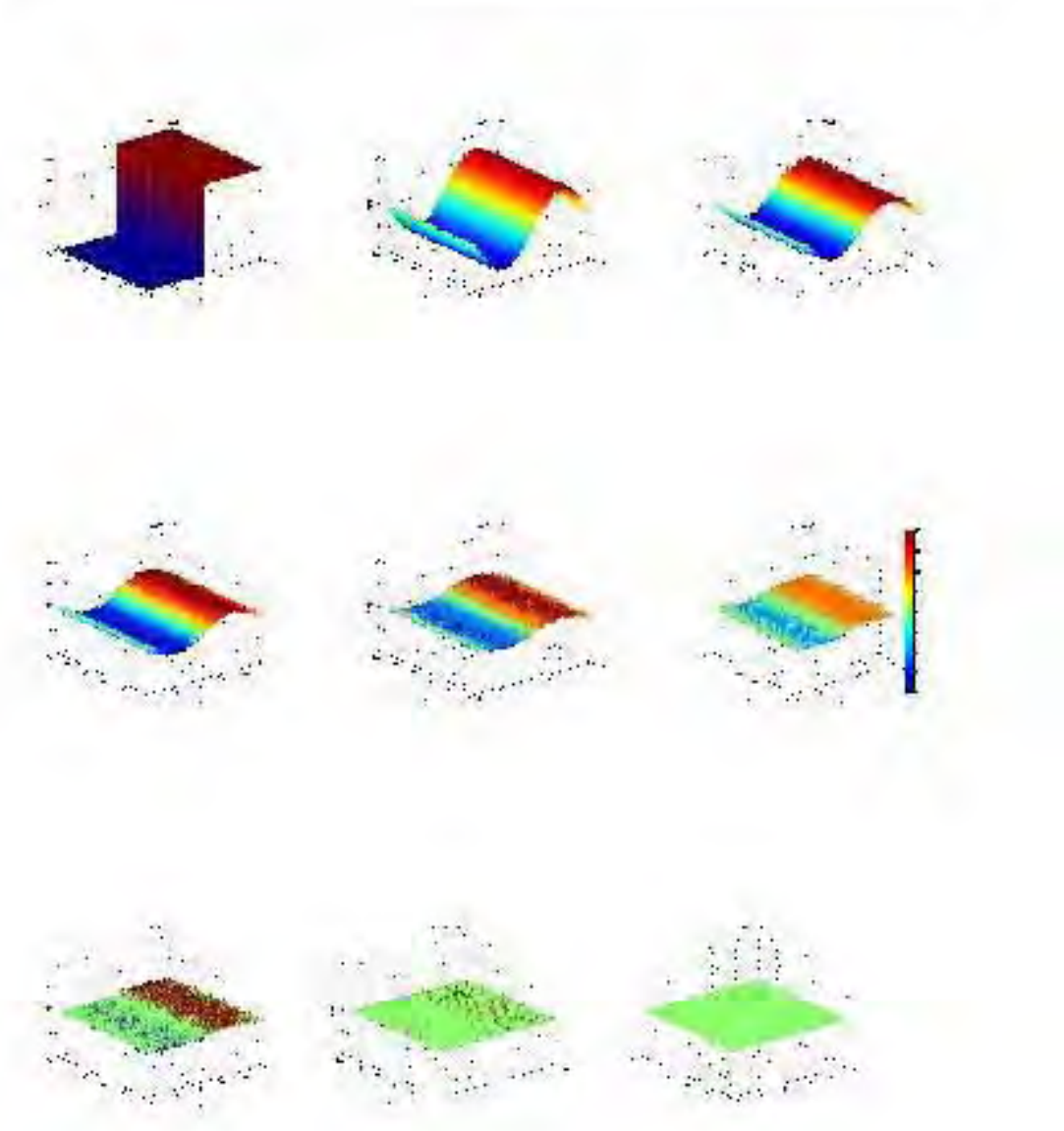


Figura 3.1: Simulación de un proceso de difusión del fosfolípido PIP3 en el que la configuración inicial consistió en distribuir al fosfolípido PIP3 en la mitad derecha de la red que representa el citoplasma de la membrana celular. Se utilizó una constante de difusión de $D = 1\mu m^2/s$. En este caso se simuló un intervalo de 118.576942444s. El sistema alcanzó el equilibrio en aproximadamente 13s. En la escala el color rojo intenso representa una concentración de 12 moléculas por nodo de la red, mientras que el tono azul oscuro representa 8 moléculas.

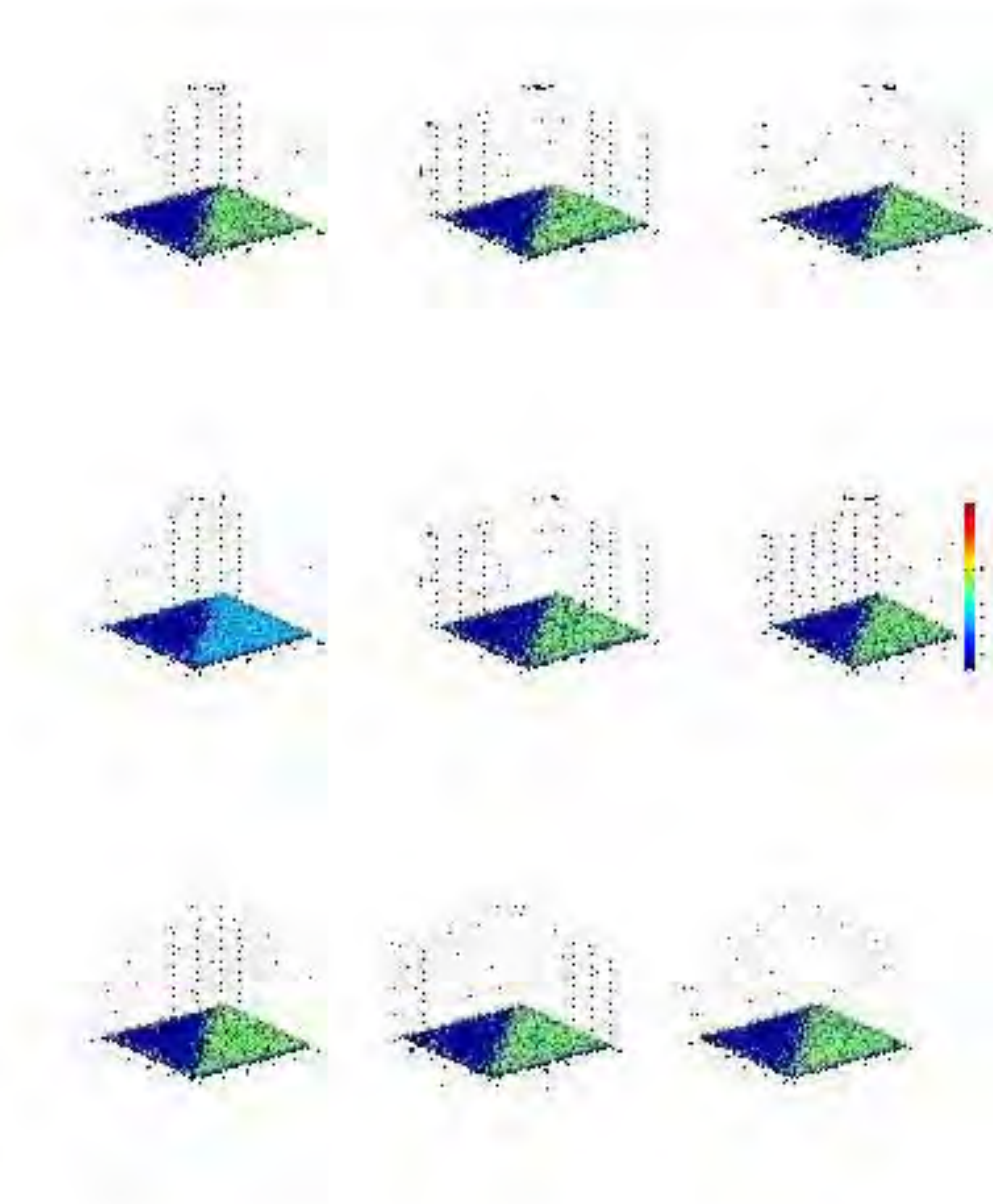


Figura 3.2: En esta simulación se utilizaron los parámetros: densidad superficial de receptores, aproximadamente 3 receptores por nodo, lo que equivale a una densidad de $\sigma = 3/(0,1\mu m)^2$, constante de difusión $D = 1\mu m^2/s$ tomados de la tabla 2.3. Como se puede observar; No hay efectos de amplificación, existen 3 receptores ocupados y la acumulación local de PIP3 es de un fosfolípido por nodo de la red, esto no representa el gradiente externo existente (3 moléculas de ligando por nodo). El tono rojo oscuro representa 2 moléculas mientras que el tono azul oscuro representa 0.

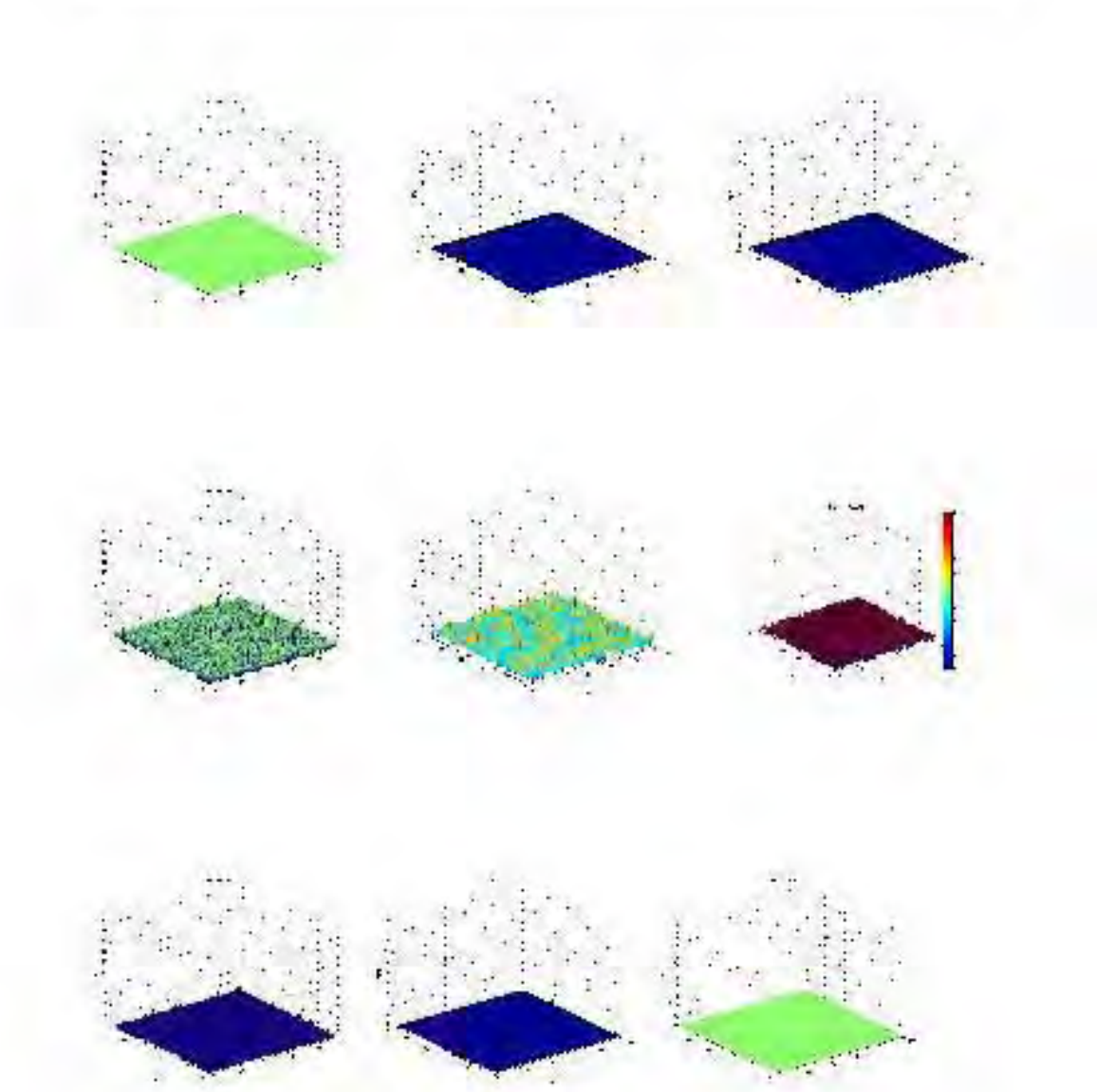


Figura 3.3: Evolución temporal en la concentración superficial del fosfolípido PIP3 de una membrana con una distribución uniforme de receptores (en este y todos los demás casos se tomó una densidad de 12 receptores por nodo, además se cancela el canal de reacción química 6) en el que PTEN asociada a PIP2 desfosforila a PIP3, en los puntos de la red en donde hay receptores ocupados. Estos receptores son apagados cuando ha transcurrido un tiempo de 0.136049256s.

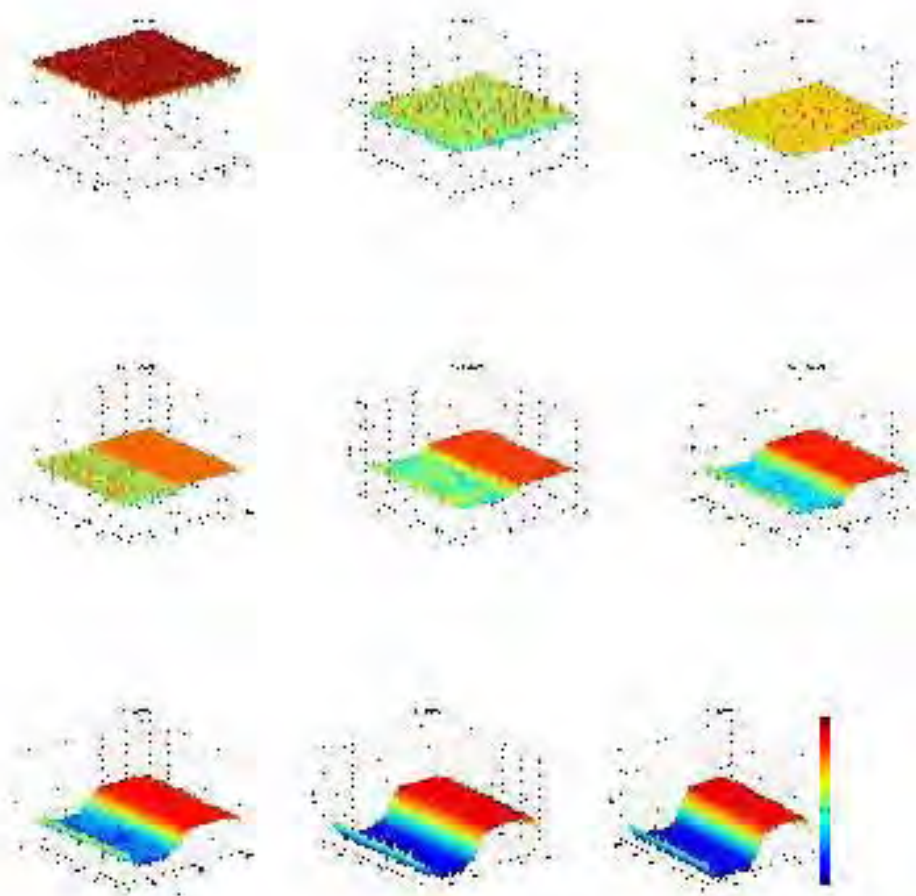


Figura 3.4: Evolución temporal de la concentración del fosfolípido PIP2, en el intervalo (0.000004066s, 2.52103245s). Se ocuparon los receptores del lado izquierdo de la red ($0 \leq j \leq 50$). El color rojo oscuro indica una concentración de 9 moléculas por punto de la red, mientras que el azul oscuro representa 0 moléculas.

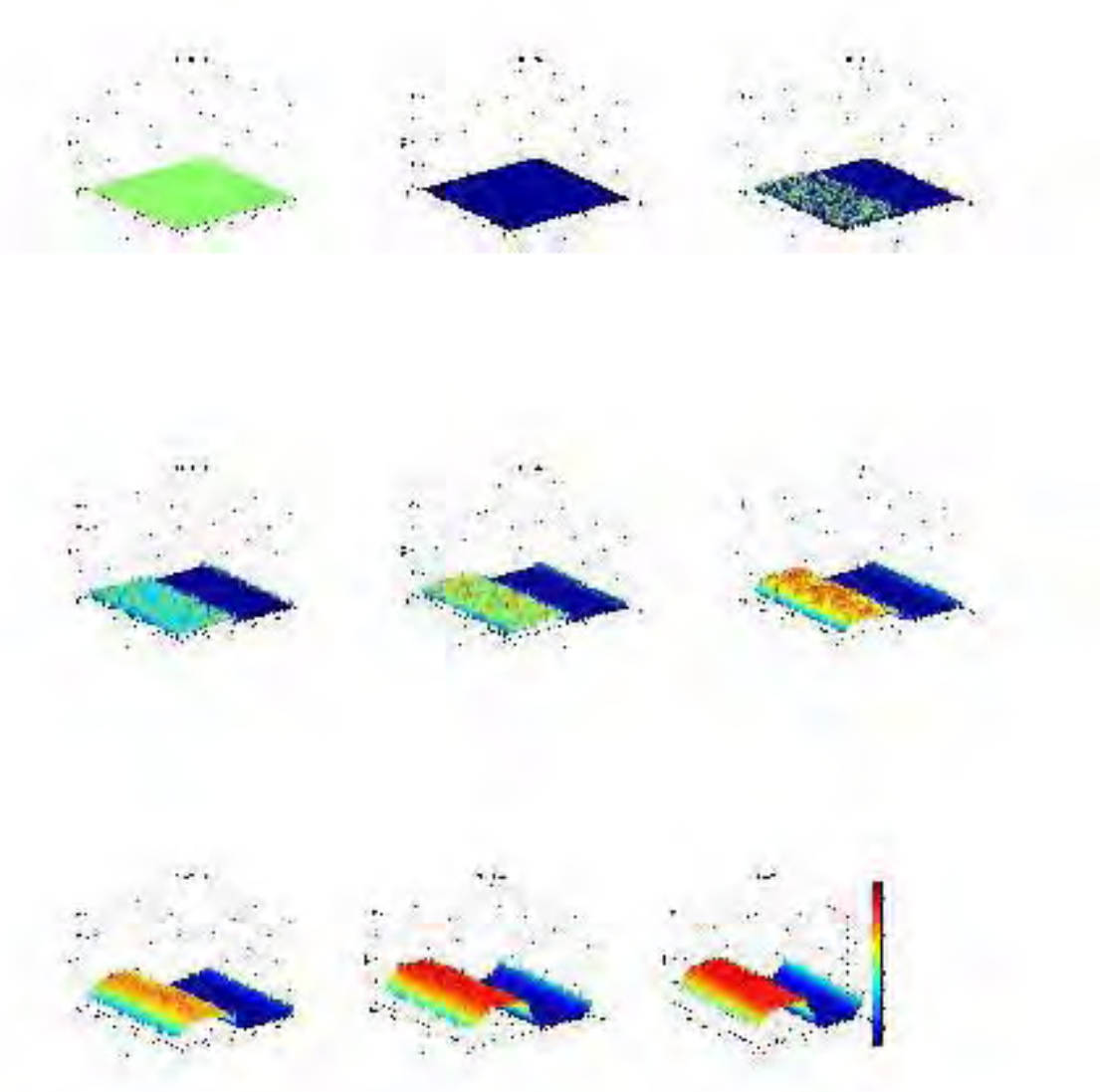


Figura 3.5: Evolución temporal de la concentración del fosfolípido PIP3, en el intervalo $(0.000004066s, 2.52103245s)$. Se ocuparon los receptores del lado izquierdo de la red ($0 \leq j \leq 50$). El color rojo obscuro indica una concentración de 9 moléculas por punto de la red, mientras que el azul obscuro representa 0 moléculas.

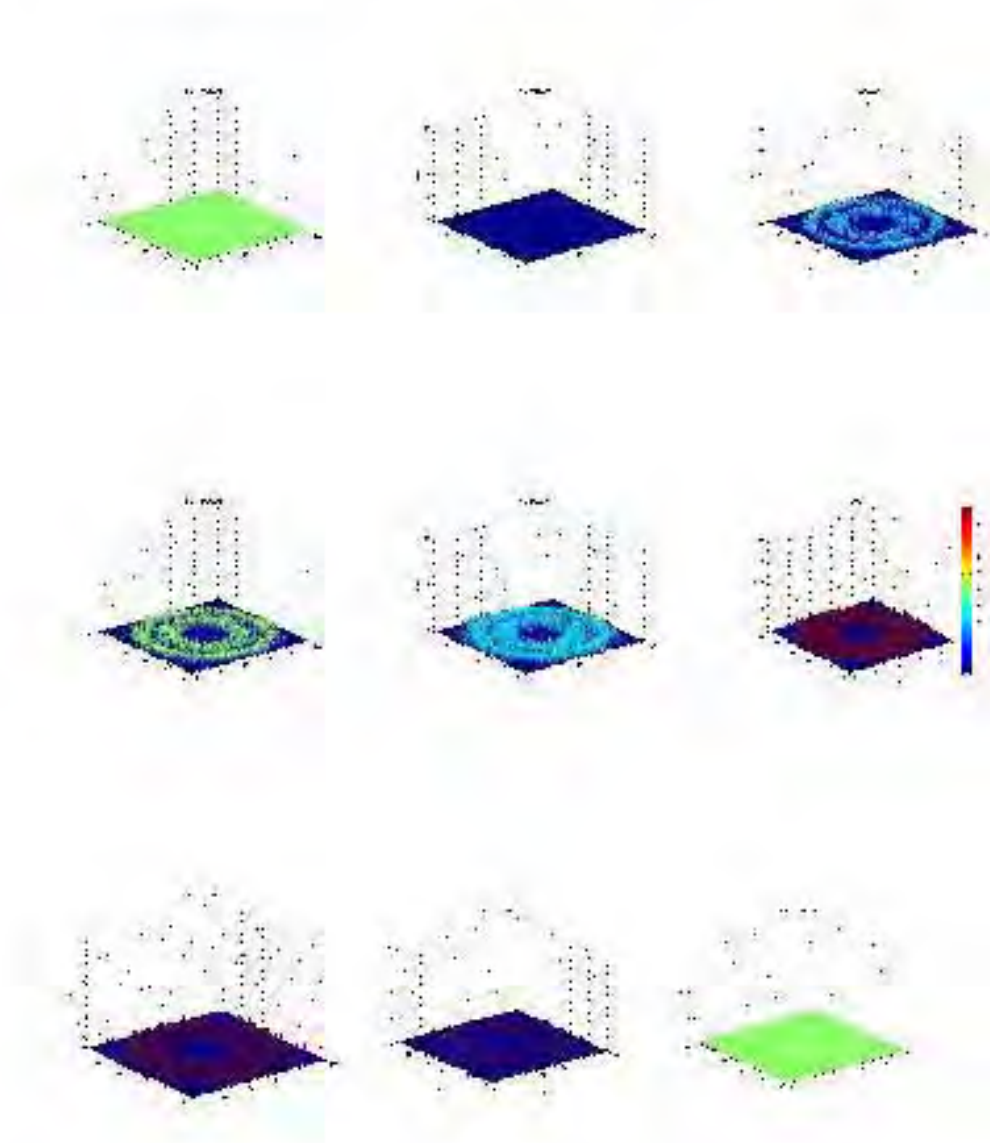


Figura 3.6: Evolución temporal del fosfolípido PIP3 cuando se ocupan los receptores que están comprendidos en los discos de radios internos y externos respectivamente: $r_1 = 19$ y $r_2 = 21$, $r_3 = 24$ y $r_4 = 26$, $r_5 = 28$ y $r_6 = 30$, $r_7 = 40$ y $r_8 = 45$. Los receptores se apagaron en el tiempo $t=0.288934976s$, que corresponde a la configuración del cuadro del centro. Aquí se puede observar que el sistema vuelve a la configuración inicial en la concentración de PIP3. En este caso el intervalo de tiempo real simulado es (0.000004689s, 45.155776978s)

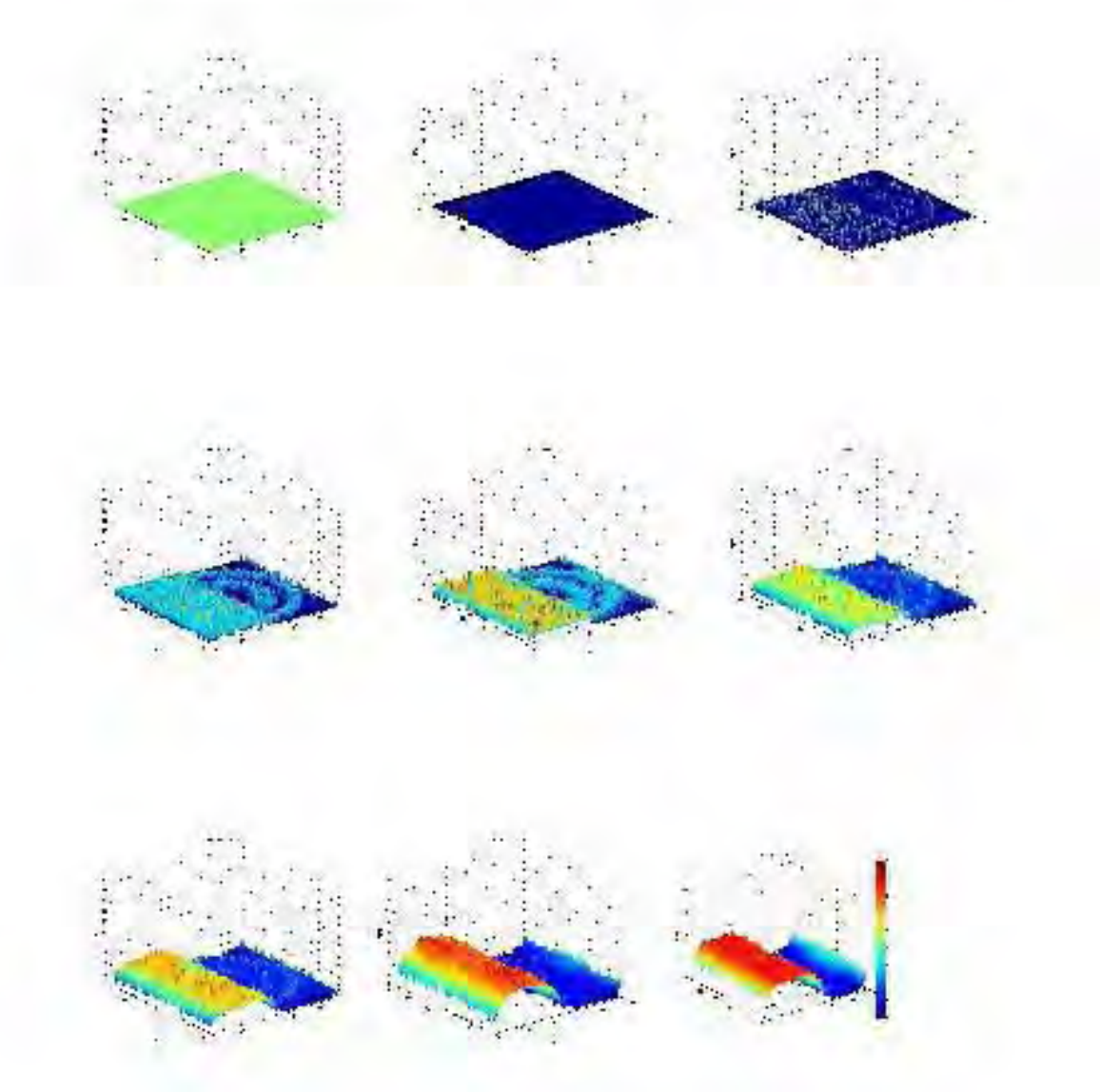


Figura 3.7: Evolución temporal del fosfolípido PIP3 cuando se ocupan los receptores que están comprendidos en los discos de radios internos y externos respectivamente: $r_1 = 19$ y $r_2 = 21$, $r_3 = 24$ y $r_4 = 26$, $r_5 = 28$ y $r_6 = 30$, $r_7 = 40$ y $r_8 = 45$ y se puperponen esos receptores con la distribución de ocupar todos los del lado izquierdo. Los receptores se apagaron en el tiempo $t=0.288934976s$, que corresponde a la configuración del cuadro del centro. Aquí se puede observar que el sistema vuelve a la configuración inicial en la concentración de PIP3. En este caso el intervalo de tiempo real simulado es $(0.000003857s, 2.396473646s)$

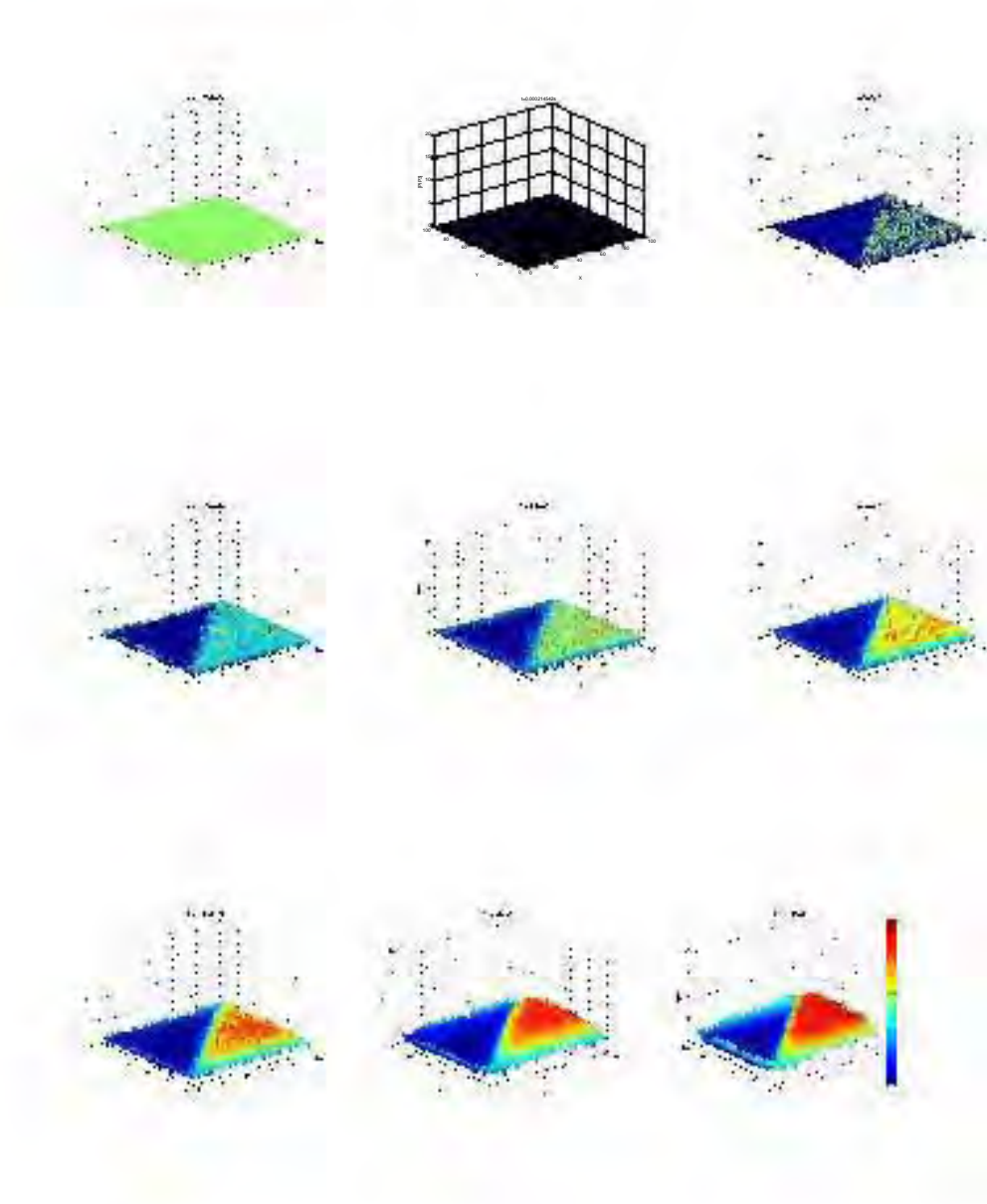


Figura 3.8: En esta simulación se ocuparon los receptores debajo de la diagonal en el plano X-Y. Se utilizaron los valores de los parámetros físicos excepto el de la densidad de receptores. Se puede observar la formación de dos polos en los que la concentración de los fosfolípidos PIP2 y PIP3 varía radicalmente. En intervalo de simulación es (0s, 2.709372759s)

Capítulo 4

Discusión

The fate of our times is
characterized by rationalization
and intellectualization and,
above all, by the disenchantment
of the world.

Maximilian Carl Emil Weber

En este capítulo se expondrán las observaciones pertinentes a los resultados del capítulo anterior.

- Habiendo simulado un proceso de difusión en el que todos los PIP3 son distribuidos en la mitad derecha ($50 < j \leq 100$), de la red que corresponde al citoplasma de la membrana celular, podemos comparar con resultados de soluciones analíticas. Por ejemplo, podemos usar el resultado $\sqrt{\langle x^2 \rangle} = \sqrt{4\pi Dt}$ ([14] pag. 145), para estimar el tiempo necesario para que se alcance una distribución homogénea. Si consideramos que la raíz cuadrada del valor promedio del cuadrado del desplazamiento es aproximadamente el tamaño de la red completa ($10\mu m$) y que $D = 1\mu m^2/s$, se tendrá que

$$\sqrt{2}10\mu m = \sqrt{4\pi(1\mu m^2/s)t}$$

y despejando el tiempo se tiene que:

$$t \simeq 15,9154s$$

comparemos con la simulación figura (3.1), a los 13.093684196s la situación esta retratada en la figura (4.1):

- Es importante señalar que TODAS (excepto la simulación exclusiva de difusión), las simulaciones expuestas, empezaron con una distribución nula de

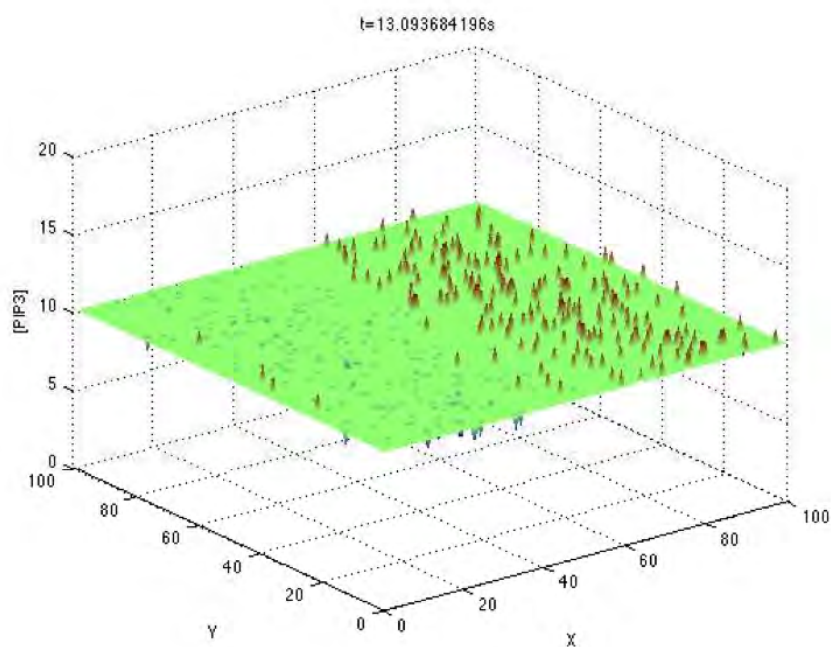


Figura 4.1: En esta gráfica se puede apreciar que el sistema está prácticamente con una distribución uniforme alrededor del valor promedio 10 moléculas por nodo, en el tiempo $t=13.093684196s$.

PIP3, esto es, estarían simulando una célula que hace “mucho” tiempo no ha sido estimulada y en la que la fosfatasa ha degradado completamente a PIP3. No obstante, las células *in vivo* se encuentran en medios en los que son bombardeadas por una plétora de señales. Así que lo más sensato sería hacer simulaciones en las que existe alguna distribución preexistente de PIP3.

- Con la finalidad de tener un espectro más grande en las simulaciones, se optó por cancelar la actividad enzimática de la fosfatasa en las regiones donde hay receptores ocupados. Esto se hizo tomando en cuenta los resultados publicados por Van Haastert *et al* en [10] y por Lan Ma *et al* en [19].
- Definitivamente existe una correlación entre la distribución de los receptores ocupados y la geometría de la distribución de fosfolípidos en la membrana celular, a este cambio morfológico se le denomina en la literatura *polarización celular*. Para demostrar esto, basta conocer las distribuciones de los receptores en la red que representa el citoplasma de la membrana celular y observar las diferentes concentraciones locales de los fosfolípidos en equilibrio.

En el caso en que se distribuyeron los receptores en sólo una de las mitades de la red cuadrada se tiene que el estado de equilibrio es el mostrado en la siguiente figura (4.2).

En el caso en que se distribuyeron los receptores en el triángulo inferior, la situación de equilibrio fue la que se muestra en la figura (4.3). Se puede apreciar que los lugares con una diferencia mayor en la concentración de PIP3 son los centros de los respectivos triángulos. Esto es natural ya que PIP3 se difunde libremente, al llegar a regiones donde no hay receptores ocupados es degradado por la fosfatasa. Es por esta razón que no se tiene la misma acumulación en toda la región con receptores ocupados y análogamente en la región donde no los hay. En principio se podría pensar que en la región que no hay receptores ocupados tampoco debería haber PIP3, pero claramente el que aparece ahí es por medio de la difusión, no de la *producción*.

- Cuando se cancela la actividad enzimática de PTEN, se observa que la acumulación local de PIP3 es nueve veces mayor (de 1 molécula por nodo a 9 moléculas por nodo), comparar figuras (3.2) con (3.8). Pero para obtener estos resultados, se aumentó la concentración local de receptores de 3 a 12 (de acuerdo con los valores en [5]) y se canceló la actividad enzimática de PTEN. El estímulo principal para realizar estos cambios en los parámetros usados se debe a que: Las células eucariontas pueden responder a diferencias en concentración, en las que la diferencia entre la parte delantera y la parte posterior es de 2-10 %, independientemente de que la ocupación de los receptores sea grande o pequeña [10]. Si la polarización celular dependiese exclusivamente de la actividad enzimática de PI3K, no podría distinguir entre estas pequeñas variaciones, pues no habría un aumento en la concentración local; PTEN degradaría lo poco que PI3K estuviese produciendo.

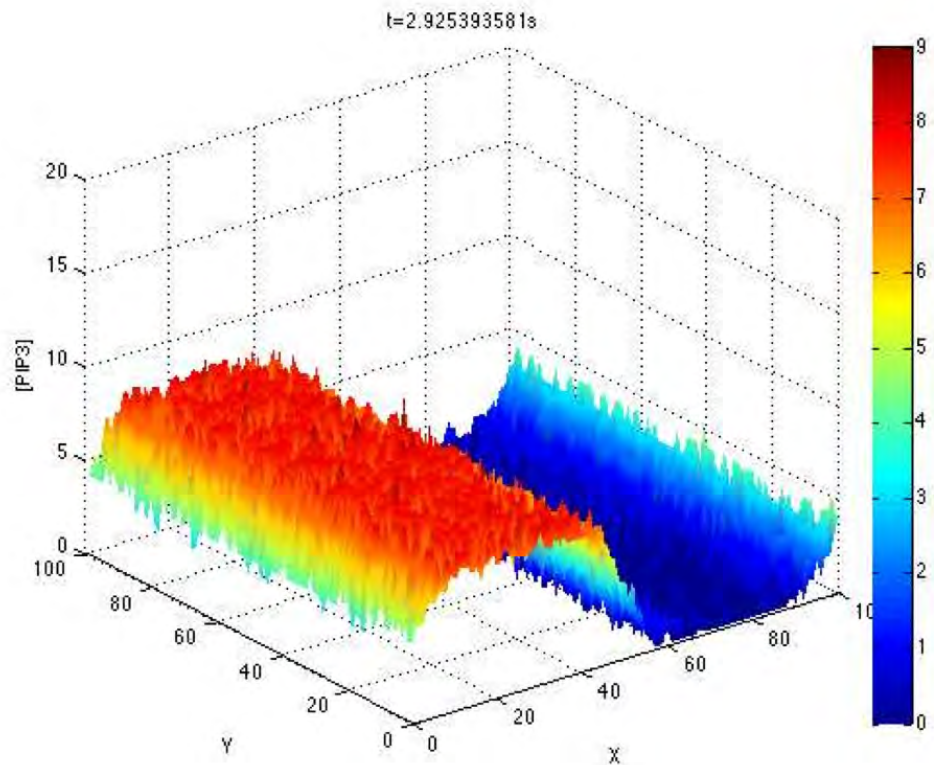


Figura 4.2:

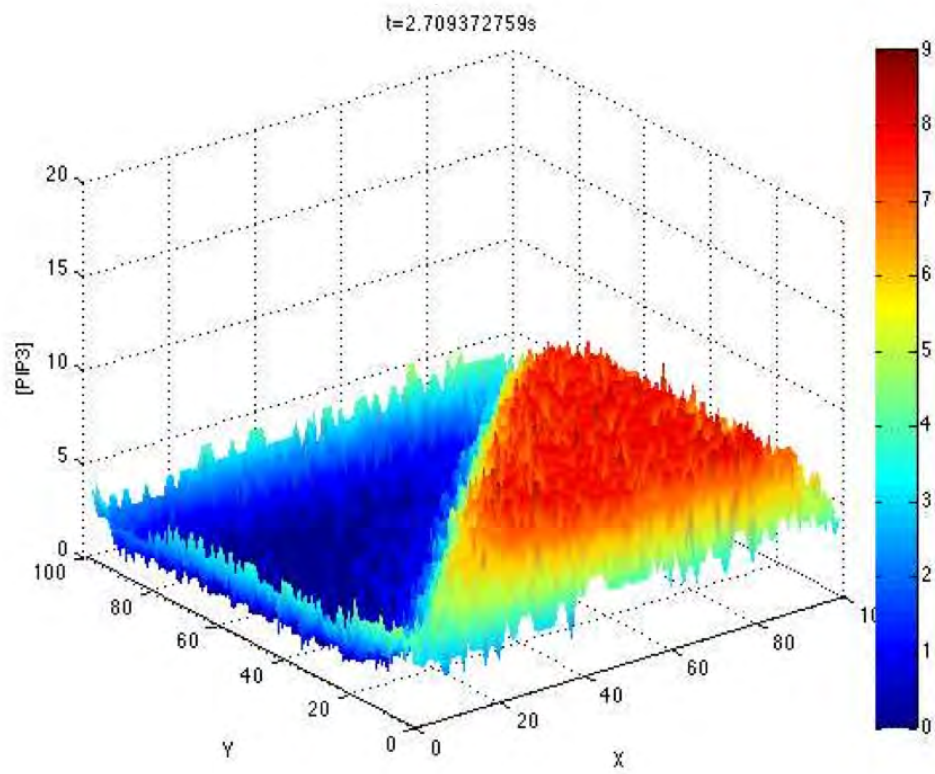


Figura 4.3:

Capítulo 5

Conclusiones

L'homme est une prison où
l'âme reste libre.

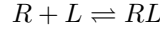
Victor Hugo

- Es necesario hacer un análisis de que tan *realistas* fueron las simulaciones. La membrana celular simulada, no existe en principio, esto se debe a que los elementos que la definieron en las simulaciones, fueron tomadas de varios organismos diferentes. La densidad de receptores pertenece a los receptores KDR/Flk-1 de células *endoteliales vasculares*, mientras que las constantes de asociación y disociación fueron tomadas de otro tipo de receptores siendo estos PDGFR. Las constantes cinéticas de PTEN fueron de mosca, las cinasa PI3K fue tomada de hígado de rata y el autor de este trabajo desconoce realmente la fuente de los parámetros de PIP2, esto es; del organismo que fue sintetizada para medir estos parámetros cinéticos. Sin embargo, al parecer todas estas proteínas son muy *parecidas*, tienen lo que en biología se denominan homologías. Lo cual quiere decir que algunas secuencias en las cadenas de los polipéptidos son iguales, en particular la de regiones que tienen alguna actividad enzimática. Es por esta razón que los resultados no debiesen ser tan distintos a los observados en seres “reales”.

Podría decirse que las simulaciones reflejan al menos de forma cualitativa algunos de los comportamientos observados en las células. En particular los procesos de difusión de los fosfolípidos protagónicos y la acumulación de estos en algunas regiones del citoplasma de la membrana celular. Sin embargo todas estas simulaciones no contemplan la cinética de los receptores. Los receptores, como se discutió en §1.2.1, se asocian a su respectivo ligando *agonista* o a un ligando del tipo *antagonista*, pero el efecto es reversible, esto es; se suelen disociar al poco tiempo. Un escenario más realista sería en el que los receptores se simulan de forma análoga a otras reacciones químicas y la

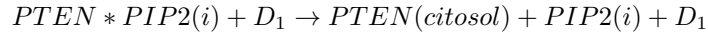
frecuencia con que los ligandos interactúan con los receptores dependerá del gradiente externo de estas señales.

Una forma de extender estas simulaciones a escenarios más realistas es construir un campo escalar $L : \mathbb{R}^3 \times \mathbb{R} \rightarrow \mathbb{R}^+$, que represente la concentración de ligando como función del espacio y del tiempo. Posteriormente habría que utilizar este campo para conocer la frecuencias de colisiones de los ligando en la membrana celular y qué fracción de estas colisiones termina en la asociación con un receptor. Para ver esto hay que conocer las constantes cinéticas de los ligandos y receptores, pues habrá que simular:



La extensión no representa mayor problema a la arquitectura del programa utilizado, pues sólo será necesario agregar unas líneas en las que se contemplen estas reacciones, pero la rutina seguirá siendo la misma.

- De las simulaciones se puede concluir que para tener un efecto amplificador considerable es necesario tomar en cuenta las interacciones que pueda tener PTEN. En este modelo no se está contemplando que PTEN se encuentra localizado en el citoplasma de la membrana celular cuando NO hay receptores ocupados. Posteriormente como ya se ha comentado, una vez asociados los receptores con su respectivo ligando, PTEN se disocia de la membrana, esto es



en donde D_1 es una molécula de señalización desconocida pero producida en la cascada generada por el receptor, tal vez a través de una proteína G.

- Debido a que la concentración de PIP2 es mayor que la concentración de receptores (500nM vs. 0-50nm) y se contempla en este modelo que la cinasa PI3K sólo tiene actividad enzimática en la membrana celular cuando está asociada al receptor a través de la región SH2, la actividad enzimática depende directamente de la concentración de receptores, sin embargo; PTEN depende de PIP2, el cual es más abundante, entonces habrá más parejas PTEN*PIP2 que Rec*PI3K. Por otro lado las constantes de *actividad* o *catalíticas* de PI3K y de PTEN satisfacen $K_{cat}^{PI3K} = 2K_{cat}^{PTEN}$ ver tabla (2.3), por lo que si no se bloquea la actividad enzimática de PTEN en las regiones donde hay receptores ocupados, la concentración de PIP3 no podrá elevarse apreciablemente, esto es lo que acontece en la simulación mostrada en la figura (3.3) del capítulo Resultados. En esta simulación se puede apreciar que la acumulación máxima de PIP3 es de una molécula por nodo de la red, sin embargo; existen tres receptores activados trabajando con tres enzimas cinasas PI3K. Esto quiere decir que la *actividad* de la fosfatasa PTEN, es mayor que la de PI3K, por lo que correlacionar un efecto amplificador de la señal (gradiente externo), con la producción de PIP3 no es tan directa. Andrea Gamba *et al*

proponen en [5] que los efectos amplificativos están correlacionados no directamente con la concentración superficial de carga, sino con la *separación de fases* de los dos fosfolípidos, esto es con el campo $\phi \equiv [PIP3] - [PIP2]$ y analizar este campo en un futuro pudiese ser más efectivo. No obstante, debe quedar claro que no se han propuesto todos los mecanismos involucrados en los procesos de señalización que integran a la quimiotaxis. Como ya se ha mencionado, se ha observado que incluso eliminando la actividad enzimática de la cinasa PI3K, se forman pseudópodos en la membrana celular cuando ésta es expuesta a un gradiente de quimiotáctico. *Así que aunque todo parece indicar que la acumulación de PIP3 optimiza a la quimiotaxis no es fundamental para ella.*

- Es de fundamental importancia conocer la incertidumbre o errores asociados a las simulaciones realizadas. Lo que generalmente se utiliza para cuantificar estos errores es utilizar la desviación estándar de las diferentes simulaciones que representen un *ensamble* [17]. Esto es, se realizan una serie de simulaciones con exactamente las mismas condiciones iniciales pero con diferentes semillas para los números seudoaleatorios. Posteriormente lo que se hace, es tomar los promedios de las diferentes simulaciones y ver como se distribuyen esos valores. Enonces se tendrá:

$$\sigma(s, i, j, t) = \sqrt{\langle x(s, i, j, t)^2 \rangle - \langle x(s, i, j, t) \rangle^2}$$

representa una medida del *esparcimiento* de los datos. Está obviamente parametrizada por el tiempo, al igual que las variables aleatorias que constituyen el proceso estocástico.

Las concentraciones “reales” estarán en el intervalo,

$$x \in [\langle x \rangle - \sigma, \langle x \rangle + \sigma]$$

Cuando $\sigma \ll \langle x \rangle$ entonces podemos tomar los valores de $\langle x \rangle$ como representativos para la evolución del sistema. Este es el caso que se ha tomado como criterio para interpretar los datos *experimentales*. Puesto que se utilizaron geometrías muy sencillas que contienen regiones estadísticamente equivalentes; podemos inferir sin mayor dificultad cuál es el orden o tamaño de esas fluctuaciones, comparando el comportamiento dentro de esa misma región. Por ejemplo, en el caso en el que se distribuyeron los receptores en sólo una de las mitades que representa el citoplasma de la membrana celular, toda la región que no es frontera de esta región, tiene exactamente las mismas condiciones desde el punto de vista estadístico, ya que las $a(\mu, i, j)$ depende sólo de las constantes cinéticas y de las concentraciones locales, ver tabla (2.2). La elección del programa por alguno de estos lugares depende del número seudoaleatorio que se elija y de ellos dependerá que verdaderamente sean estadísticamente equivalentes a la hora de realizar las simulaciones. Toda esta región evolucionará de forma equivalente.

Existe otro detalle que es necesario para realizar formalmente el cálculo de estas fluctuaciones. Los tiempos registrados depende de la forma particular en como se va dando la simulación. El intervalo de tiempo que existe entre cada proceso es el que aparece en la ecuación (2.44):

$$\tau^* = \frac{1}{a_0} \log \left(\frac{1}{r_1} \right)$$

Por lo que τ^* tendrá una función de probabilidad que depende de $\log \left(\frac{1}{r_1} \right)$, recuérdese que r_1 es un número pseudoaleatorio, se puede demostrar de manera sencilla que

$$\left\langle \frac{1}{a_0} \log \left(\frac{1}{r_1} \right) \right\rangle = \frac{1}{a_0}$$

y de ahí que existan diferentes grupos que utilicen $1/a_0$ como el paso de las simulaciones ahorrando un poco de tiempo de simulación.

- El monitoreo en el desempeño funcional de la fosfatasa PTEN y de PIP2 es muy importante, ya que PTEN esta relacionada con varios tipos de cáncer [20] al igual que PIP2 [21]. Antes de producir cáncer, puede ser que modifique de manera cuantificable algún efecto en la quimiotaxis. Por lo que se podrían desarrollar diagnósticos en función de observaciones *in vivo*, de la efectividad catalítica de PTEN durante la quimiotaxis.
- Una de las ventajas de este tipo de simulaciones es que pueden ser incorporadas en una clase tradicional o en un laboratorio de biología molecular. En ellos los alumnos podrán proponer modelos que incluyan otras cascadas de señales. De preferencia aquellas de las que ya se tiene algún conocimiento cuantitativo.
- **Sobre la discretización de la red:** El tema de discretizar una red para simular procesos de difusión es un tema delicado, si se hace mal se llegará a resultados incorrectos o poco realistas. El criterio que aquí se utilizó, fue comparar el orden de las frecuencias con que se dan los procesos catalíticos (principalmente los que producen PIP3), con la frecuencia con la que están fluyendo los fosfolípidos. El orden de la frecuencia con que se dan los procesos catalíticos depende la constante de actividad de PI3K tabla 2.2 y tabla 2.3, una vez utilizados los parámetros en las constantes de probabilidad se puede observar que la diferencia de frecuencias de tres órdenes de magnitud (ver código en los apéndices de este trabajo):

$$a(5, i1, i2) = 0,00232 * ((x(6, i1, i2) * x(3, i1, i2))/((52) + x(3, i1, i2)))$$

contra

$$a(7, i1, i2) = (1) * (x(3, i1, i2) - x(3, i1 - 1, i2))$$

el orden de $O(x(6, i1, i2) * x(3, i1, i2)) \simeq 240$ como valor máximo en función de las concentraciones máximas de PI3K*Rec y de PIP2 de donde se puede inferir sin mayor dificultad que

$$O(a(5)) \simeq 0,00232 \times 12 = 0,02784$$

mientras que el orden de $a(7)$ para los procesos de difusión es

$$O(a(7)) \simeq 20$$

por lo tanto la difusión tenderá a homogeneizar la distribución de PIP2 y de PIP3 y se tendrá al menos un distribución uniforme en la cual se basa esta aproximación de *equilibrio local*.

- Localización de PTEN; este se encuentra en el citosol o se encuentra asociado a PIP2 u otros fosfolípidos integrados a la membrana celular. Según [19], PTEN se encuentra originalmente adherido a la membrana celular hasta que se ocupan los receptores, una vez ocupados, se disocia y se difunde en el citosol para volver adherirse a los pocos segundos. Pero en [5], simulan como si la fosfatasa PTEN estuviese generalmente en el citosol .
- Es importante señalar que en estas simulaciones se consideraron a los receptores como si estos permaneciesen fijos en los puntos de la red. Esto no es del todo cierto, lo que acontece es que la constante de difusión de estos receptores suele ser varios órdenes de magnitud menor que el de los fosfolípidos, por ejemplo una constante de difusión típica de un receptor GPCR es $D = 0,001\mu m^2/s$ [29], mientras que la constante de difusión de PIP2 o PIP3 es $D = 1\mu m^2/s$. Simulaciones más realistas podrían considerar este hecho. Sin embargo, debido a los órdenes de diferencia que tienen estas constantes no se espera generen un comportamiento cualitativamente distinto al observado.
- Por último, existen ligeras variaciones al programa utilizado para realizar las simulaciones que optimizan el tiempo empleado. Hay un par de ciclos Do en los que no es necesario actualizar todos los pesos probabilísticos en todos los puntos de la red. Basta con actualizar el peso que haya sido modificado como resultado de que aconteció algún proceso.

5.1. Posibles extensiones de esta tesis

Naturalmente este programa puede ser extendido para simular procesos en 3-Dimensiones, sólo basta definir a los vectores \mathbf{X} y \mathbf{a} de programa con una coordenada más espacial. Además, se puede extender el programa para contemplar el efecto que tiene la variación del pH ocasionada por algunas reacciones químicas y

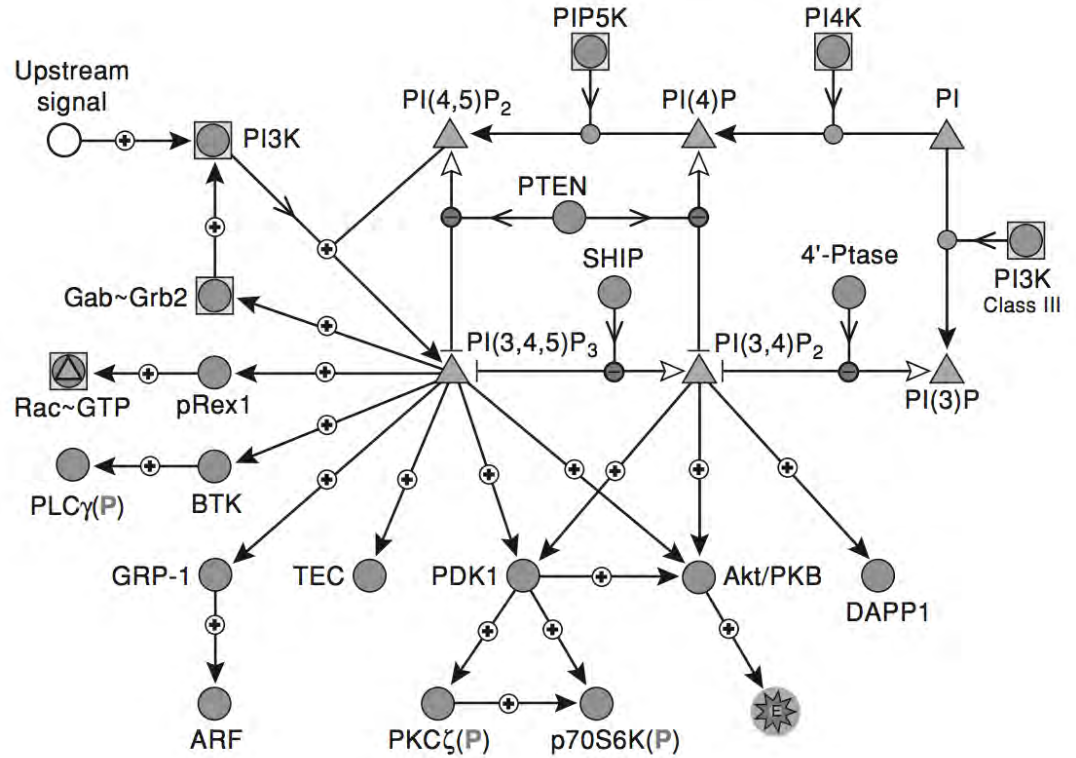


Figura 5.1: Como se puede apreciar en este diagrama tomado de [1], PIP3 es una molécula que participa en una gran cantidad de cascadas de señalización. Un programa más realista debería contemplar el papel que este importante fosfolípido tiene, incorporando las diferentes reacciones en las que participa.

para contemplar la influencia que tiene sobre los *puntos isoeléctrico* de las diferentes macromoléculas como se discutió en §1.2.1. Como ya se discutió en otro momento, PIP2 o PIP3 participan en muchos procesos de señalización que se dan de manera simultánea, para esto véase la figura (5.1). El programa debería contemplar algunos de estos procesos en los que pudiesen haber ciclos de retroalimentación o convergencia de señales como se discutió en §1.1.

Capítulo 6

Apéndices

Beauty is nothing, beauty won't stay. You don't know how lucky you are to be ugly, because if people like you then you know it's for something else...

Charles Bukowski

6.1. Demostración de la igualdad (2.29) y (2.35)

De la definición de la función logaritmo para una variable real.

$$\log(x) \equiv \int_1^x \frac{dt}{t} \quad (6.1)$$

usando el teorema fundamental del cálculo se deduce que:

$$\left. \frac{d(\log x)}{dx} \right|_{x=1} = 1 \quad (6.2)$$

Utilizando la definición de límite, podemos deducir que :

$$\lim_{y \rightarrow 0} \frac{\log(1+y) - \log(1)}{y} = \lim_{y \rightarrow 0} \frac{\log(1+y)}{y} = 1 \quad (6.3)$$

Haciendo un cambio de variables, $x \rightarrow \frac{1}{y}$ obtenemos la siguiente identidad:

$$\lim_{x \rightarrow \infty} x \log \left(1 + \frac{1}{x} \right) = 1 \quad (6.4)$$

Sabemos que la función exponencial es una función continua por lo que

$$\begin{aligned} \exp [1] &= \exp \left[\lim_{x \rightarrow \infty} \log \left(1 + \frac{1}{x} \right)^x \right] = \lim_{x \rightarrow \infty} \exp \left[\log \left(1 + \frac{1}{x} \right)^x \right] = \\ &= \lim_{x \rightarrow \infty} \left(1 + \frac{1}{x} \right)^x \end{aligned} \quad (6.5)$$

Podemos intercambiar el límite con la función exponencial debido a que la función exponencial es una función continua. Como se tiene que el valor del límite de $\log \left(1 + \frac{1}{x} \right)^x = 1$, esto quiere decir que dado ϵ pequeño podemos encontrar una n positiva tal que si $x \geq n \in \mathbb{N}$ tenemos que $|1 - \log \left(1 + \frac{1}{x} \right)^x| < \epsilon$. Pero de la continuidad de la función exponencial (en particular en 1) se sigue que $\forall \epsilon > 0$ existe una $\delta > 0$ tal que si $|y - 1| < \delta$, entonces $|\exp(1) - \exp(y)| < \epsilon$. Por lo tanto si se toma $x > N$ se tiene que $|\exp(1) - \exp[\log(1 + \frac{1}{x})^x]| < \epsilon$.

Entonces la exponencial evaluada en la potencia a se puede expresar como el siguiente límite:

$$\exp [a] = \left(\lim_{x \rightarrow \infty} \left(1 + \frac{1}{x} \right)^x \right)^a = \lim_{x \rightarrow \infty} \left(1 + \frac{1}{x} \right)^{ax} \quad (6.6)$$

Haciendo ahora el cambio de variable $y \rightarrow ax$ $\frac{1}{x} = \frac{a}{y}$. De lo que se sigue:

$$\exp [a] = \lim_{x \rightarrow \infty} \left(1 + \frac{1}{x} \right)^{ax} = \lim_{y \rightarrow \infty} \left(1 + \frac{a}{y} \right)^y \quad (6.7)$$

6.2. Elementos de la teoría de las probabilidades

6.2.1. Definiciones y teoremas elementales

Existen varias maneras de definir a la probabilidad, pero todas estas definiciones satisfacen los tres axiomas de Komolgorov, por lo que una manera de adentrarse en materia es definirla de manera axiomática.

Antes de definirla es necesario tener presentes ciertas definiciones y resultados de la teoría de conjuntos para la demostración de algunas propiedades que satisface toda medida de probabilidad.

Una familia de subconjuntos $A_\alpha \in \Omega$ que satisface las siguientes propiedades:

1. $\forall \alpha \in I$ $A_\alpha \neq \emptyset$
2. Si $A_\alpha \cap B_\beta \neq \emptyset$ entonces $A_\alpha = B_\beta$
3. Se tiene que $\bigcup_{\alpha \in I} A_\alpha = \Omega$

Se denomina *partición*¹ del conjunto Ω

Se puede demostrar que (usando tablas de verdad de la lógica proposicional como en [30]) que

$$A \cap \left(\bigcup_{\alpha \in I} B_\alpha \right) = \bigcup_{\alpha \in I} (A \cap B_\alpha)$$

Los siguientes elementos de la teoría de las probabilidades.

Tomando a la probabilidad como una función $P : A \in \Omega \rightarrow [0, 1]$ que satisface los tres axiomas de Kolmogorov, los cuales son:

1. $P(A) \geq 0$
2. $P(\Omega) = 1$
3. $P(A \cup B) = P(A) + P(B)$
cuando $A \cap B = \emptyset$

Usando estas propiedades que debe de tener cualquier función de probabilidad, se pueden demostrar las siguientes propiedades:

- (a) $P(A^c) = 1 - P(A)$.
- (b) $P(\emptyset) = 0$.
- (c) Si $A \subseteq B$ entonces $P(A) \leq P(B)$.
- (d) Si $A \subseteq B$, entonces $P(B - A) = P(B) - P(A)$.
- (e) $0 \leq P(A) \leq 1$.
- (f) $P(A \cup B) = P(A) + P(B) - P(A \cap B)$.
- (g) $P(A \cup B \cup C) = P(A) + P(B) + P(C) - P(A \cap B) - P(A \cap C) - P(B \cap C) + P(A \cap B \cap C)$.

Demostración:

- (a) Se sabe que $\Omega = A \cup A^c$ y como $A \cap A^c = \emptyset$ (son ajenos). Usando el tercer axioma de Komolgorov $P(A \cup A^c) = P(A) + P(A^c)$ y del segundo axioma de Komolgorov despejando $P(A^c)$ se llega al resultado deseado.
- (b) Se tiene que $\Omega^c = \emptyset$ utilizando la propiedad anterior se llega a $P(\emptyset) = P(\Omega^c) = 1 - P(\Omega) = 0$ donde se utiliza el segunda axioma de Komolgorov.

¹Por ejemplo: Las relaciones de equivalencia en un conjunto A , inducen una partición en el conjunto A

- (c) La clave de esta demostración consiste en expresar al conjunto B como $B = A \cup (B - A)$ mismos que son ajenos. Entonces $P(B) = P(A) + P(B - A)$ y como $P(B - A) \geq 0$ que constituye el primer axioma de Komolgorov tenemos que $P(B) - P(A) \geq 0$, de lo que se sigue la proposición.
- (d) Esta demostración es totalmente análoga a la anterior, pues si $B = A \cup (B - A)$, entonces $P(B) = P(A) + P(B - A)$ y despejando a $P(B - A)$ se llega al resultado deseado.
- (e) (d) Se tiene que $A \subseteq \Omega$ por lo que, utilizando la proposición (c) $P(A) \leq P(\Omega)$ y de los axiomas 1 y 2 de Komolgorov ($P(A) \geq 0$ y $P(\Omega) = 1$) Llegamos a $0 \leq P(A) \leq 1$
- (f) Obsérvese que $A - B = A - (A \cap B)$. Se puede escribir al conjunto $A \cup B$ como la unión disjunta de tres conjuntos: $(A - B) \cup (A \cap B) \cup (B - A)$. A esta expresión se le puede aplicar el axioma 3 de Komolgorov llegando a $P(A \cup B) = P(A - B) + P(A \cap B) + P(B - A)$. Ahora, como $A \cap B \subseteq A$ se tiene por la proposición (d) que $P(A - B) = P(A - A \cap B) = P(A) - P(A \cap B)$, análogamente para $P(B - A) = P(B - B \cap A) = P(B) - P(B \cap A)$. Sustituyendo en la expresión obtenida para $P(A \cup B)$ se llega al resultado deseado.
- (g) Para demostrar esta proposición slo basta escribir al conjunto $A \cup B \cup C$ como $(A \cup B) \cup C$ y utilizar la proposición anterior.

Estas propiedades son la médula para muchas de las consecuencias y manipulaciones matemáticas implícitas en esta tesis.

Probabilidad condicional

Se define la *probabilidad condicional* del evento A dado que ocurrió el evento B como:

$$P(A | B) = \frac{P(A \cap B)}{P(B)}$$

En donde es claro que para que este bien definida se tiene que cumplir que $P(B) > 0$.

En función de esta definición, es fácil demostrar la regla del producto: Sean A_1, A_2, \dots, A_n eventos tales que $P(A_1 \cap A_2 \cap \dots \cap A_n) > 0$, entonces se tiene que:

$$P(A_1 \cap A_2 \cap \dots \cap A_n) = P(A_1)P(A_2 | A_1)P(A_3 | A_1 \cap A_2) \cdots \cdots P(A_n | A_1 \cap A_2 \cap \dots \cap A_{n-1}) \quad (6.8)$$

Podemos decir que dos eventos A y B son *independientes* si $P(A \cap B) = P(A)P(B)$, que puede generalizarse inmediatamente para cualquier número de conjuntos. Se dice que n eventos A_1, A_2, \dots, A_n son *independientes* si se satisfacen todas y cada una de las condiciones siguientes:

$$\begin{aligned}
 P(A_i \cap A_j) &= P(A_i)P(A_j) \text{ para } i \neq j \\
 P(A_i \cap A_j \cap A_k) &= P(A_i)P(A_j)P(A_k) \text{ para } i \neq j \neq k \\
 &\vdots \\
 P(A_i \cap A_j \cap \dots \cap A_n) &= P(A_i)P(A_j) \dots P(A_n) \text{ para } i \neq j \neq \dots \neq n
 \end{aligned}$$

De importancia fundamental son los siguientes teoremas:

theorem 6.2.1 Teorema de la probabilidad total Sea $\{B_i\}_{i=1}^n$ una partición de Ω en donde cada elemento de la partición tiene probabilidad estrictamente positiva. Sea A cualquier evento. Entonces:

$$P(A) = \sum_{i=1}^n P(A | B_i)P(B_i)$$

Demostración: Sabemos que,

$$A = A \cap \Omega = A \cap (\cup_{i=1}^n B_i) = \cup_{i=1}^n (A \cap B_i)$$

Entonces

$$P(A) = P(\cup_{i=1}^n (A \cap B_i)) = \sum_{i=1}^n P(A \cap B_i) = \sum_{i=1}^n P(A | B_i)P(B_i)$$

theorem 6.2.2 Teorema de Bayes Sea $\{B_i\}_{i=1}^n$ una partición de Ω espacio muestral. Sea A un evento con probabilidad estrictamente positiva. Entonces:

$$P(B_j | A) = \frac{P(A | B_j)P(B_j)}{\sum_{i=1}^n P(A | B_i)P(B_i)}$$

Demostración:

$$P(B_j | A) = \frac{P(B_j \cap A)}{P(A)} = \frac{P(A \cap B_j)}{P(A)} = \frac{P(A | B_j)P(B_j)}{\sum_{i=1}^n P(A | B_i)P(B_i)}$$

Donde se utilizó la definición de probabilidad condicionada en la primera igualdad. En la segunda se utiliza la conmutatividad de la intersección de dos conjuntos. En la última igualdad se utiliza nuevamente la definición de probabilidad condicional y el teorema de probabilidad total en el dividendo.

6.2.2. Variables aleatorias

Una *variable aleatoria* \mathbf{X} es una función del espacio muestral Ω a los números reales ($X : \Omega \rightarrow \mathbb{R}$) que es *medible* [28].

Si el resultado de un experimento aleatorio es ω con $\omega \in \Omega$, entonces $X(\omega) = x$ con $x \in \mathbb{R}$. Podemos usar estos números como si fueran los resultados mismos del experimento aleatorio y obtener resultados generales que no involucren un experimento particular. Esta es la principal ventaja de considerar a las variables aleatorias como elementos de la teoría.

6.2.3. Función densidad de probabilidad

y **función distribución de probabilidad:**

Estas dos funciones dan información de la *variable aleatoria*, puesto que permiten representar los valores que puede tomar con sus respectivas probabilidades simultáneamente.

- **Función de probabilidad para una variable aleatoria discreta:** Sea X una variable aleatoria que toma los valores b_1, b_2, \dots, b_n con probabilidades $P(X = b_1), P(X = b_2), \dots, P(X = b_n)$. La única restricción que se le pide a esta lista de valores es que sea *numerable*. La función de probabilidad de la variable discreta X denotada por $f : \mathbb{R} \rightarrow [0, \infty)$ se define de la siguiente manera:

$$f(x) = \begin{cases} P(X = x) & \text{si } x = b_1, b_2, \dots, x = b_n \\ 0 & \text{otro caso} \end{cases}$$

Esta función satisface dos propiedades:

- (a) $f(x) \geq 0$
- (b) $\sum_x f(x) = 1$

Pero también se acostumbra a tomar como función de probabilidad a cualquier función que satisfaga estas dos propiedades.

- Función de densidad de probabilidad para una variable continua. Sea X una variable aleatoria continua. Se dice que la función integrable y no negativa $f : \mathbb{R} \rightarrow [0, \infty)$ es la función de densidad de X si para cualquier intervalo (a, b) de \mathbb{R} se cumple la siguiente igualdad

$$P(X \in (a, b)) = \int_a^b f(x) dx$$

Es inmediato que la función de densidad de probabilidad de la variable aleatoria X cumple con las siguientes propiedades

- (a) $f(x) \geq 0$
- (b) $\int_{-\infty}^{\infty} f(x) = 1$

Toda función que cumpla con estas dos propiedades se denomina función de densidad para la variable aleatoria X

La otra función importante en el ámbito de las teorías probabilísticas es la *función de distribución*. La función de distribución se define como:

$$F(m) = \sum_{i=1}^m P(A_i)$$

en el caso de una variable aleatoria discreta y, para el caso de una variable aleatoria continua se define como:

$$F(x) = \int_{-\infty}^x f(\xi) d\xi$$

De la definición es claro que la *función de distribución* evaluada en alguno de los valores que la variable aleatoria pueda tomar, da la probabilidad de que el valor de la variable aleatoria se menor o igual elegido de su dominio ($F(x) = P(X \leq x)$). Por esta razón, en algunos textos se le denomina *función de acumulación*.

Utilizando el teorema fundamental del cálculo podemos obtener $f(x)$ a partir de $F(x)$, pues $\frac{dF(x)}{dx} = f(x)$

En el caso discreto se tiene que, $f(x) = P(X = x) = F(x) - F(x-)$, en donde $F(x-)$ es el límite por la izquierda ($F(x-) = \lim_{h \rightarrow 0} F(x - h)$ con $h > 0$). Es automática la definición de límite por la derecha como $F(x+) = \lim_{h \rightarrow 0} F(x + h)$ $h > 0$

Cualquier función de distribución satisface las siguientes propiedades:

- a) $0 \leq F(x) \leq 1$
- b) $\lim_{x \rightarrow \infty} F(x) = 1$
- c) $\lim_{x \rightarrow -\infty} F(x) = 0$
- d) si $x_1 \leq x_2$, se sigue que $F(x_1) \leq F(x_2)$
- e) si $x_1 \leq x_2$, se sigue que $P(x_1 < X \leq x_2) = F(x_2) - F(x_1)$
- f) $F(x) = F(x+)$

Por estar implícitas en muchas de las argumentaciones de esta tesis, se dar una demostración igual a la que se puede encontrar en [27] .

Demostración

- a) Como $F(x)$ es una probabilidad, la probabilidad de que la variable aleatoria tenga un valor en el intervalo $(-\infty, x]$, hereda de entre otras propiedades de la probabilidad *axiomática*, la propiedad de adquirir valores entre cero y uno.
 - b) Cuando x se hace muy grande, el conjunto $(X \leq x)$ se aproxima a Ω , estos es, si $(X \leq x) \nearrow \Omega$, entonces $F(x) = P(X \leq x) = P(\Omega) = 1$
 - c) De la misma forma, cuando x tiende a menos infinito, el conjunto $(X \leq x) \searrow \emptyset$, por lo que cuando x tiende a menos infinito $F(x) \rightarrow P(X \leq x) \rightarrow P(X \leq -\infty) = P(\emptyset) = 0$
 - d) Se tiene que si $x_1 \leq x_2$, entonces $(X \leq x_1) \subseteq (X \leq x_2)$ utilizando la propiedad de la probabilidad, [Citar tesis] se obtiene automáticamente el resultado deseado.
 - e) Sólo es necesario ver que el evento $(x_1 < X \leq x_2)$ puede descomponerse en la diferencia de conjuntos $(X \leq x_2) - (X \leq x_1)$, donde el segundo conjunto está contenido en el primero, $(X \leq x_1) \subseteq (X \leq x_2)$, se sigue de la propiedad [cita en tesis] que $P(x_1 < X \leq x_2) = P(X \leq x_2) - P(X \leq x_1) = F(x_2) - F(x_1)$
- Si $h > 0$ entonces tenemos que $F(x+h) = P(X \leq x+h) = P(X \leq x) + P(x < X \leq x+h)$ pero al hacerse h pequeño, el conjunto $(x < X \leq x+h)$ tiende al conjunto vacío, por lo tanto $\lim_{h \rightarrow 0} F(x+h) = F(x) + P(\emptyset) = F(x)$

6.2.4. Vectores aleatorios

Las ideas y conceptos elementales de la teoría de las probabilidades se pueden generalizar para más dimensiones. Esto es, se puede tener objetos abstractos que dependan de más de una variable aleatoria; (X_1, X_2, \dots, X_N) donde X_n , $n = 1, \dots, N$ son variables aleatorias como se definieron en la sección 6.2.2. A estos objetos se les denomina *vectores aleatorios*. Se les puede considerar como mapeos o funciones $f : \Omega \rightarrow \mathbb{R}^N$.

Asociadas a estos vectores aleatorios existen unas funciones totalmente análogas a las funciones de una variable aleatoria. Estas son: *función de probabilidad conjunta*, *función de densidad conjunta* y *función de distribución conjunta*. Se pueden combinar variables aleatorias en vectores aleatorios con variables aleatorias continuas y variables aleatorias discretas.

6.2.5. Función de probabilidad conjunta

Considérese el vector aleatorio (X_1, X_2, \dots, X_N) de variables aleatorias X_n , $n = 1, \dots, N$ discretas que toman valores en A_1, A_2, \dots, A_N , en donde cada A_n es el conjunto de eventos posibles en el dominio de la variable aleatoria X_n , esta a su vez produce un número real para cada evento en su respectivo espacio muestral. Entonces se puede deducir que el vector aleatorio tiene dominio $A_1 \cap A_2 \cap \dots \cap A_N$ y que evaluado en este conjunto produce un punto en \mathbb{R}^N . La función de Probabilidad del vector aleatorio (X_1, X_2, \dots, X_N) es una función de $f : \mathbb{R}^N \rightarrow [0, 1]$, definida como:

$$f(x_1, x_2, \dots, x_N) = \begin{cases} P(X_1 = x_1, X_2 = x_2, \dots, X_N = x_N) & \text{si } (x_1, x_2, \dots, x_N) \\ & \in A_1 \cap A_2 \cap \dots \cap A_N \\ 0 & \text{cualquier otro caso} \end{cases}$$

Toda función de Probabilidad de este tipo satisface:

1. $f(x_1, x_2, \dots, x_n) \geq 0$
2. $\sum_{x_1 x_2 \dots x_N} f(x_1, x_2, \dots, x_N) = 1$

en el caso de variables aleatorias discretas, y viceversa, toda función que satisfaga las dos propiedades anteriores es una función de probabilidad conjunta. Se pueden seguir generalizando los elementos de la teoría para los casos más diversos. Se pueden considerar ahora variables aleatorias continuas y después variables aleatorias de ambos tipos y sus respectivas funciones de probabilidad. Pero habrá que considerarse ahora integrales² en lugar de sumas sobre las variables aleatorias continuas.

²Claro está que estas funciones estarán definidas cuando las sumas o integrales, dependiendo del caso, sean convergentes

En términos más generales, estas funciones lo que proveen es la probabilidad de que las diferentes variables aleatorias tomen sus diferentes posibles resultados.

También se puede definir una función de *acumulación conjunta*³ para el caso de un vector aleatorio de la siguiente manera:

$$F(x_1, x_2, \dots, x_n) \equiv P(X_1 \leq x_1, X_2 \leq x_2, \dots, X_N \leq x_N)$$

6.3. Algunos Compuestos orgánicos relevantes

Existen una gran variedad de compuestos orgánicos caracterizados por contener carbón, debido a esto el estudio de estos compuestos se considera como una disciplina separada dentro de la química. Esto se debe a que el carbón se puede unir a otros átomos de carbono con relativa facilidad y con otros elementos como el hidrógeno, el oxígeno, el nitrógeno y el azufre. En estos compuestos *orgánicos*, los átomos de carbono forman cadenas y anillos. Estas son el esqueleto de los compuestos resultantes. De todos los compuestos orgánicos, sólo un pequeño porcentaje son iónicos. Los hidrocarburos o, hidratos de carbono, son los compuestos orgánicos más simples. Son compuestos formados exclusivamente por carbono e hidrógeno. Conforme el número de átomos de carbono crece, el número de átomos de hidrógeno también aumenta de forma sistemática. Debido a que los enlaces entre átomos de carbono pueden ser de diferentes tipos (*sencillos*, *dobles* o hasta *triples*), la cantidad de combinaciones posibles es enorme.

Los compuestos de carbón que sólo tienen enlaces sencillos se denominan *alcanos*. Sus nombres están formados por dos partes: Una que indica el número de átomos, (prefijo) y otra que indica que es un alcano (sufijo). Los hidrocarburos que tienen uno o más de un enlace doble se denominan *alquenos*. Los *Isómeros* son los compuestos moleculares que tienen el mismo número de átomos y entonces la misma fórmula química, pero diferente geometría para organizarse en el espacio. Al aumentar las dimensiones de los compuestos formados con hidrocarburos o hidratos de carbono, crece las posibilidades de aumentar los isómeros.

[**Hidratos de carbono**]: Su composición general es $C_x(H_2O)_y$, a los más sencillos se les denomina **monosacáridos**. Los siguientes hidratos de carbono más sencillos son los **oligosacáridos**, que están constituidos por dos o más monosacáridos. Los hidratos de carbono que contienen más de diez monosacáridos se denominan **polisacáridos**. Es posible que se denoten por *glicosas* a todos los tipos de hidratos de carbono. Es importante señalar que algunos hidratos de carbono tienen propiedades ópticas interesantes; rotan el plano en el que se encuentra polarizada la luz. Debido a esto se puede predecir la composición de algunos tipos de glicosas en función de efectos ópticos medibles.

³ *Conjunta* hace referencia a que depende de las variables aleatorias X_1, X_2, \dots, X_N

[Alcoholes]: Se forman a partir de un hidrocarburo en el que se sustituye un hidrógeno por un ion hidróxido. Sus nombres se construyen usando el nombre del hidrocarburo pero utilizando un sufijo *ol*

[Ésteres]: Son productos de una reacción entre un alcohol y un ácido. Este tipo de reacción se denomina de *condensación*, ya que en ella se forma una molécula de agua a partir de elementos de dos compuesto que acaban formando este producto denominado de éster.

[**Grupos funcionales**]: En las cadenas de átomos de carbono pueden ser sustituidos los átomos de hidrógeno por grupos de átomos o átomos individuales. En función de esto se pueden clasificar los compuestos con carbón, pues por ejemplo los *alcoholes* se caracterizan por tener un grupo *funcional* -OH. El grupo funcional determina las propiedades comunes de ese tipo de compuesto orgánico. El grupo funcional -OH se denomina *hidroxilo*. Otro de los grupos funcionales importantes es el grupo *carboxilo* (-COOH) el cual genera las propiedades ácidas del compuesto. El átomo de carbono de este grupo se puede unir a los átomos de oxígeno de dos maneras diferentes: en el caso de que el enlace sea sencillo, este átomo de oxígeno puede unirse a un átomo de hidrógeno. En el caso en el que el enlace es doble, este átomo de oxígeno ya no se une a otro átomo debido a que completó su última capa de valencia con una configuración estable. El átomo que aumenta la concentración de H^+ en la solución es el átomo de hidrógeno unido al oxígeno.

[Ácidos carboxilos]: Son aquellos compuestos que cuentan con el grupo funcional carboxilo (COOH), mismo que aporta las características ácidas de la molécula.

[**Lípidos**]: Son aquellas sustancias que se son solubles en disolventes de baja polaridad (cloroformo, tetracloruro de carbono, benceno, etc.) De los compuestos que se ajustan a esta definición, se definirán los *trigliceros*: Son ésteres de la glicerina y de ácidos monocarboxilos de cadena larga (ácidos grasos). La glicerina provee la estructura de tres carbonos y los ácidos grasos proporcionan el grupo *acilo*. Los trigliceros pueden hidrolizarse en disolución alcalina para producir glicerina y sales de los ácidos grasos. Este proceso se conoce como **saponificación** y las sales se conocen corrientemente como jabones. Las **grasas** son ésteres de glicerina en los que predominan componentes de ácidos *saturados*; son sólidos a temperatura ambiente. En los aceites predominan los ácidos *insaturados* y se les encuentra como líquidos a temperatura ambiente. Las grasas o aceites insaturados, pueden convertirse en saturados mediante la adición catalítica de hidrógeno (hidrogenación).

[**Fosfolípidos**]: Proceden de la glicerina, ácidos grasos, ácido fosfórico y una base nitrogenada, la etanolamina en las *cefalinas* y la colina en las *lecitinas*. Los fosfolípidos tienen una cabeza hidrofílica y unas colas hidrofóbicas. Debido a estas características los fosfolípidos pueden transportar grasas y aceites al igual que solubilizarlos.

[**Aminoácidos**]: Los aminoácidos son estructuras moleculares formadas por un carbón, denominado carbón alfa, el cual está unido a un grupo amino (NH_2), a un grupo carboxilo ($COOH$), a un hidrógeno (H) y a una cadena de estructura variable denominada radical (R). Esta es la estructura general que los identifica. Los aminoácidos se unen para formar polipéptidos.

[**Proteínas**]: Son polímeros que están compuestos de α -aminoácidos. Los α -aminoácidos tienen su grupo amino (NH_2) en el carbono α . La masa molecular de las proteínas es elevada y al igual que las enzimas catalizan reacciones químicas. Son incoloros, cristalinos, en estado sólido a las temperaturas en cuestión (285-315K) con un punto de fusión elevado y se sabe que son moderadamente solubles en agua. Se les encuentra como cationes en disoluciones de ácido fuertes, debido a que los protones de la disolución se unen al átomo de nitrógeno del grupo amino (NH_2). En cambio en disoluciones alcalinas se les encuentra como aniones debido a la pérdida de protones de los grupos CO_2H y NH_3^+ . Existe un caso intermedio en donde el grupo CO_2H pierde un protón pero este se queda en el grupo NH_3^+ . El resultado es un ion dipolar.

[Proceso de hidrólisis] : Es una reacción entre un ion y el agua. La sustancia hidrolisada es aquella en la que se neutraliza la carga i.e., la sustancia iónica. Con la ayuda de enzimas, compuestos orgánicos pequeños se unen para formar macromoléculas. Las enzimas tienen la capacidad para reconocer una región específica de la molécula y actuar sobre ella produciendo ciertos cambios en estos grupos funcionales. La nueva configuración puede cambiar radicalmente su actividad química. Se ha propuesto que es a través de estos cambios donde se transportan los mensajes o la información en las células.

6.4. Código para fortran 77

```

      program Simulacion_reacion_difusio_ULTO9
      parameter (ira=4)
      external randoo
      real*8 seed, rnd,na1,na2,na3,na4,na5
      real*8 drtres,drcuatro
      common /se/seed(ira)
      common /rd/rnd(ira)
      real*8 r1,r2,r3,r4
      integer b,d,k1,k2,k3,i1,i2,i3,ind1,ind2,m1,m2
      integer i9,mu
      dimension a(1:14,1:100,1:100)
      dimension x(1:7,0:101,0:101)
      dimension super(1:14)
      real*8 a0,b0,c0,l0,d0,e0,f0,g0,pip2tot
      seed(1)=998122.0d0
      seed(2)=309765.0d0
      seed(3)=654599.0d0
      seed(4)=213445.0d0
      ! seed(5)=137296.0d0
      open(1,file='pip2-cin03-d01.txt',status='replace')
      open(2,file='pip3-cin03-d01.txt',status='replace')

```

```

open(3,file='a0-t-cin03-d01.txt',status='replace')
open(4,file='pip2*pten-cin03-d01.txt',status='replace')
open(5,file='conservacion-cin03.txt',status='replace')
!s1=PI3K, s2=receptor, s3=PIP2, s4=PIP3, s5=PTEN
!s6=PI3K*rec, s7=PIP2*PTEN
!canal 1: pi3k+rec--->pi3k*rec
!canal 2: pip2+pten--->pip2*pten
!canal 5: pi3k*rec+pip2--->pi3k*rec+pip3
!canal 6: pip2*pten+pip3--->pip2*pten+pip2
!canal 3: pi3k*rec--->pi3k*rec
!canal 4: pip2*pten--->pip2*pten
!canal 7: pip3(i,j)--->pip3(k,l)
!canal 8: pip2(i,j)--->pip2(k,l)
do i1=1,100
do i2=1,100
x(1,i1,i2)=13
x(2,i1,i2)=5
x(3,i1,i2)=126
x(4,i1,i2)=0
x(5,i1,i2)=13
x(6,i1,i2)=0
x(7,i1,i2)=0
end do
end do
!COMIENZA MONTE CARLO!!!!
t=0.
do m1=1,100000000
call randoo(seed,rnd,ira)
  r1=rnd(1)
  r2=rnd(2)
  r3=rnd(3)
  r4=rnd(4)
  do i3=3,4
  DO i9=1,100
x(i3,i9,0)=x(i3,i9,100)
x(i3,0,i9)=x(i3,100,i9)
x(i3,i9,101)=x(i3,i9,1)
x(i3,101,i9)=x(i3,1,i9)
  END DO
end do
  if(m1.ge.5000000) then
    do i1=1,100
    do i2=1,100
x(2,i1,i2)=0
x(1,i1,i2)=x(1,i1,i2)+x(6,i1,i2)

```



```

                                x(6,i1,i2)=0
                                end do
                                end do
else
                                end if

do i1=1,100
do i2=1,100
a(1,i1,i2)=(0.1865)*x(1,i1,i2)*x(2,i1,i2)
a(2,i1,i2)=(0.0309)*x(3,i1,i2)*x(5,i1,i2)
a(3,i1,i2)=(.00001)*x(6,i1,i2)
a(4,i1,i2)=(.00001)*x(7,i1,i2)
a(5,i1,i2)=0.00232*((x(6,i1,i2)*x(3,i1,i2))/((52)
/+x(3,i1,i2)))
a(6,i1,i2)=.001158*((x(4,i1,i2)*x(7,i1,i2))/((52)
/+x(4,i1,i2)))
a(7,i1,i2)=(1)*(x(3,i1,i2)-x(3,i1-1,i2))
if(a(7,i1,i2).lt.0) then
a(7,i1,i2)=0.
end if
a(8,i1,i2)=(1)*(x(3,i1,i2)-x(3,i1+1,i2))
if(a(8,i1,i2).lt.0) then
a(8,i1,i2)=0
end if
a(9,i1,i2)=(1)*(x(3,i1,i2)-x(3,i1,i2-1))
if(a(9,i1,i2).lt.0) then
a(9,i1,i2)=0
end if
a(10,i1,i2)=(1)*(x(3,i1,i2)-x(3,i1,i2+1))
if(a(10,i1,i2).lt.0) then
a(10,i1,i2)=0
end if
a(11,i1,i2)=(1)*(x(4,i1,i2)-x(4,i1-1,i2))
if(a(11,i1,i2).lt.0) then
a(11,i1,i2)=0.
end if
a(12,i1,i2)=(1)*(x(4,i1,i2)-x(4,i1+1,i2))
if(a(12,i1,i2).lt.0) then
a(12,i1,i2)=0
end if
a(13,i1,i2)=(1)*(x(4,i1,i2)-x(4,i1,i2-1))
if(a(13,i1,i2).lt.0) then
a(13,i1,i2)=0
end if
a(14,i1,i2)=(1)*(x(4,i1,i2)-x(4,i1,i2+1))
if(a(14,i1,i2).lt.0) then

```

```
a(14,i1,i2)=0
end if
end do
end do
a0=0
do i3=1,14
do i1=1,100
do i2=1,100
a0=a0+a(i3,i1,i2)
end do
end do
end do
if(a0.eq.0) then
t=t+(.000001)
write(*,*) 'a0 fue cero'
else
t=t+(1/a0)*log(1/r1)
end if
c0=0.
do i3=1,14
do i1=1,100
do i2=1,100
c0=c0+a(i3,i1,i2)
end do
end do
if(c0.ge.r2*a0) then
mu=i3
go to 101
else
end if
end do
101 continue
d0=0.
do i1=1,100
do i2=1,100
d0=d0+a(mu,i1,i2)
end do
end do
e0=0.
do i1=1,100
do i2=1,100
e0=e0+a(mu,i1,i2)
end do
if(e0.ge.d0*r3) then
ind1=i1
```

```
    go to 102
    else
    end if
end do
102  continue
    f0=0.
    do i2=1,100
    f0=f0+a(mu,ind1,i2)
    end do
    g0=0.
    do i2=1,100
    g0=g0+a(mu,ind1,i2)
    if(g0.ge.r4*f0) then
    ind2=i2
    go to 103
    else
    end if
    end do
103  continue
    if(mu.eq.1) then
    x(1,ind1,ind2)=x(1,ind1,ind2)-1
    x(2,ind1,ind2)=x(2,ind1,ind2)-1
    x(6,ind1,ind2)=x(6,ind1,ind2)+1
    go to 104
    else
    end if
    if(mu.eq.2) then
    x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)-1
    x(5,ind1,ind2)=x(5,ind1,ind2)-1
    x(7,ind1,ind2)=x(7,ind1,ind2)+1
    go to 104
    else
    end if
    if(mu.eq.5) then
    x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)-1
    x(4,ind1,ind2)=x(4,ind1,ind2)+1
    go to 104
    else
    end if
    if(mu.eq.6) then
    x(4,ind1,ind2)=x(4,ind1,ind2)-1
    x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)+1
    go to 104
    else
    end if
```

```
if(mu.eq.3) then
x(6,ind1,ind2)=x(6,ind1,ind2)-1
x(1,ind1,ind2)=x(1,ind1,ind2)+1
x(2,ind1,ind2)=x(2,ind1,ind2)+1
go to 104
else
end if
if(mu.eq.4) then
x(7,ind1,ind2)=x(7,ind1,ind2)-1
x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)+1
x(5,ind1,ind2)=x(5,ind1,ind2)+1
go to 104
else
end if
if(mu.eq.7) then
x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)-1
x(3,ind1-1,ind2)=x(3,ind1-1,ind2)+1
if(ind1.eq.1) then
x(3,100,ind2)=x(3,0,ind2)
end if
go to 104
else
end if
if(mu.eq.8) then
x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)-1
x(3,ind1+1,ind2)=x(3,ind1+1,ind2)+1
if(ind1.eq.100) then
x(3,1,ind2)=x(3,101,ind2)
end if
go to 104
else
end if
if(mu.eq.9) then
x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)-1
x(3,ind1,ind2-1)=x(3,ind1,ind2-1)+1
if(ind2.eq.1) then
x(3,ind1,100)=x(3,ind1,0)
end if
go to 104
else
end if
if(mu.eq.10) then
x(3,ind1,ind2)=x(3,ind1,ind2)-1
x(3,ind1,ind2+1)=x(3,ind1,ind2+1)+1
if(ind2.eq.100) then
```

```

x(3,ind1,1)=x(3,ind1,101)
end if
go to 104
else
end if
if(mu.eq.11) then
x(4,ind1,ind2)=x(4,ind1,ind2)-1
x(4,ind1-1,ind2)=x(4,ind1-1,ind2)+1
if(ind1.eq.1) then
x(4,100,ind2)=x(4,0,ind2)
end if
go to 104
else
end if
if(mu.eq.12) then
x(4,ind1,ind2)=x(4,ind1,ind2)-1
x(4,ind1+1,ind2)=x(4,ind1+1,ind2)+1
if(ind1.eq.100) then
x(4,1,ind2)=x(4,101,ind2)
end if
go to 104
else
end if
if(mu.eq.13) then
x(4,ind1,ind2)=x(4,ind1,ind2)-1
x(4,ind1,ind2-1)=x(4,ind1,ind2-1)+1
if(ind2.eq.1) then
x(4,ind1,100)=x(4,ind1,0)
end if
go to 104
else
end if
if(mu.eq.14) then
x(4,ind1,ind2)=x(4,ind1,ind2)-1
x(4,ind1,ind2+1)=x(4,ind1,ind2+1)+1
if(ind2.eq.100) then
x(4,ind1,1)=x(4,ind1,101)
end if
go to 104
else
end if
104 continue
if(mod(m1,10000).eq.0) then
write(1,105) t,x(3,1,1),x(3,1,100),x(3,100,1),
/x(3,100,100),x(3,50,50),x(3,60,50),x(3,50,60),

```

```

/x(3,50,40),x(3,40,50)
      write(2,105) t,x(4,1,1),x(4,1,100),x(4,100,1),
/x(4,100,100),x(4,50,50),x(4,60,50),x(4,50,60),
/x(4,50,40),x(4,40,50)
      write(4,*) t, x(7,50,50)
write(3,106) t,a0
      pip2tot=0.
      do i=1,100
      do j=1,100
      pip2tot=pip2tot+x(3,i,j)+x(4,i,j)+x(7,i,j)
      end do
      end do
      write(5,*) t,pip2tot
else
end if
105      FORMAT(2X,F10.2,2X,9(1X,F12.1))
106      FORMAT(2X,F10.2,2X,F7.2)
end do

!FIN DE MONTE CARLO!!!!!!!!!!
close(1)
close(2)
close(3)
close(4)
close(5)
      call cpu_time(tiempo)
      write(*,*) tiempo
end program
      SUBROUTINE randoo(SEED,RND,IRA)
      REAL *8 A,AM,Q,R,ALO,HI,TEST
      REAL *8 SEED,RND
      DIMENSION SEED(4), RND(4)
C VOIR : RANDOM GENERATORS:GOOD ONES ARE HARD TO FIND
C S.K. PARK ET K.W. MILLER COMM OF THE ACM 31,10,PP1192,1201(1988)
C CE GENERATEUR = MINIMAL STANDARD
C IL MARCHE SI SEED 10001 = 1043618065. AVEC SEED 1 = 1.
C CETTE IMPLEMENTATION OK SUR IBM, SUN ET CONVEX
C
      A=16807.0D0
      AM=2147483647.0D0
      Q=127773.0D0
      R=2836.0D0
      DO 100 I=1,IRA
      HI= INT(SEED(I)/Q)
      ALO=SEED(I)-Q*HI

```



SIN TÍTULO/ ACRÍLICO Y COLLAGE SOBRE PAPEL/ 76 X 56 CM/ 2010

Figura 6.1: Autor: Rodrigo Imaz Alarcón.

```
TEST=A*ALO-R*HI
IF (TEST.GT.0.) THEN
SEED(I)=TEST
ELSE
SEED(I)=TEST+AM
ENDIF
RND(I)=SEED(I)/AM
100 CONTINUE
RETURN
END
```

Bibliografía

- [1] Daniel A. Beard and Hong Oian. *Chemical Biophysics: Quantitative analysis of cellular systems*. Cambridge University Press: Cambridge text in biomedical Engineering, 2008.
- [2] Christopher L. Carpenter, Brian C. Duckworth, Kurt R. Auger, and Bruce Cohen. Purification and Characterization of Phosphoinositide 3-kinase from Rat Liver. *The Journal of Biological Chemistry*, 265(32):19704–19711, November 1990.
- [3] Raymond Chang. *Physical chemistry for chemical and biological sciences*. University science books, first edition, 2000.
- [4] Takahiro Fujiwara, Ken Ritchie, Hideji Murakoshi, Ken Jacobson, and Akihiro Kusumi. Phospholipids undergo hop diffusion in compartmentalized cell membrane. *The Journal of Cell Biology*, 157(6):1071–1081, June 2002.
- [5] Andrea Gamba, Antonio Candia, Stefano Di Talia, Antonio Coniglio, Federico Bussolino, and Guido Serini. Diffusion-limited phase separation in eukaryotic chemotaxis. *PNAS*, 102(47):16927–16932, November 2005.
- [6] Daniel T. Gillespie. Concerning the validity of the stochastic approach to chemical kinetics. *Journal of Statistical Physics*, 16:311–318, 1976.
- [7] Daniel T. Gillespie. A general method for numerical simulating the stochastic time evolution of coupled chemical reactions. *Journal of Computational Physics*, 22:403–434, 1976.
- [8] Daniel T. Gillespie. Exact stochastic simulation of coupled chemical reactions. *The Journal of Physical Chemistry*, 81:2340–2361, 1977.
- [9] Walter Greiner, Ludwig Neise, and Horst Stöcker. *Thermodynamics and Statistical mechanics*. Springer, first english edition edition, 2004.
- [10] Peter J. M. Van Haastert and Peter N. Devrotes. Chemotaxis: Signalling the way forward. *Nature*, 5:626–634, 2004.
- [11] John T. Hancock. *Cell Signalling*. Oxford University Press, 3th edition, 2010.
- [12] Harry Hochstadt. *The functions of mathematical physics*. Dover Publications Inc., first edition, 1986.

- [13] Petty Howard R. *Molecular biology of membranes Structure and Function*. Plenum Press, first edition, 1993.
- [14] Meyer B. Jackson. *Molecular and Cellular Biophysics*. Cambridge University Press, first edition, 2006.
- [15] Marsden Jerrold E. *Cálculo Vectorial*. Pearson Educación, quinta edition, 2004.
- [16] Edda Klipp, Wolfram Liebermeister, Christoph Wierling, Axel Kowald, Hans Lehrach, and Ralf Herwig. *Systems Biology: A textBook*. Wiley-Blackwell, first edition, 2009.
- [17] David P. Landau and Kurt Binder. *A guide to Monte Carlo Simulation in Statistical Physics*. Cambridge University Press, 2th edition, 2000.
- [18] Ben-Quan Shen and David Y. Lee, Hans-Peter Gerber, Bruce A. Keyt, Napoleone Ferrara, and Thomas F. Zioncheck. Homologous Up-regulation of KDR/Flk-1 Receptor Expression by Vascular Endothelial Growth Factor in Vitro. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(45):29979–29985, November 1998.
- [19] Lan Ma, Chris Janetopoulos, Liu Yang, Peter N. Devrotes, and Pablo A. Iglesias. Two complementary, local excitation, global inhibition mechanisms acting in parallel can explain the chemoattractant-induced regulation of $\text{pi}(3,4,5)\text{p}_3$ response in *Dictyostelium* cells. *Biophysical Journal*, 87:3764–3774, December 2004.
- [20] Tomohiko Maehama, Gregory S. Taylor, and Jack E. Dixon. PTEN and MYO-TUBULARIN: Novel Phosphoinositide Phosphatases. *Annual Review of Biochemistry*, 70:247–279, 2001.
- [21] Stuart McLaughlin, Jiyao Wang, Alok Gambhir, and Diana Murray. PIP2 AND PROTEINS: Interactions, Organization, and Information Flow. *Annual Review of Biophysics and Biomolecular Structure*, 273(31):151–175, 2002.
- [22] Donald A. McQuarrie. Stochastic approach to chemical kinetics. *Journal of Applied Probability*, 4:413–478, 1967.
- [23] G. Panayotou, G. Gish, P. End, O. Truong, I. Gout, R. Dhand, M. J. Fry, I. Hiles, T. Pawson, and M. D. Waterfield. Interactions between SH2 Domains and Tyrosine-Phosphorylated Platelet-Derived Growth Factor β -Receptor Sequences: Analysis of Kinetic Parameters by a Novel Biosensor-Based Approach. *Molecular and Cellular Biology*, 13(6):3567–3576, June 1993.
- [24] Yeagle Philip L., editor. *The Structure of Biological Membranes*. CRC Press, second edition, 2005.
- [25] Frederick Reif. *Berkely physics course volume 5; Física estadística*. Editorial Reverté, S. A., first edition, 1969.

-
- [26] Anne J. Ridley, Martin A. Schwartz, Keith Burridge, Richard A. Firtel, Mark H. Ginsberg, Gary Borisy, J. Thomas Parsons, and Alan Rick Horwitz. Cell migration: Integrating signals from front to back. *Science*, 302:1704–1709, December 2003.
- [27] Luis Rincón. *Curso elemental de PROBABILIDAD Y ESTADÍSTICA*. Formato electrónico, versión 2010 de la dirección <http://www.matematicas.unam.mx/lars>.
- [28] Elias M. Stein and Rami Shakarchi. *Real Analysis; Measure Theory, Integration, and Hilbert Spaces*. Princeton University Press, first edition, 2005.
- [29] Xuehua Xu, Tobias Meckel, Brzostowski Joseph A., Jianshe Yan, Martin Meier-Schellersheim, and Tian Jin. Coupling Mechanism of a GPCR and Heterotrimeric G protein During chemoattractant gradient Sensing in *Dyctyostelium*. *Science Signaling*, 3(141):1–10.
- [30] Felipe Zaldivar. *Fundamentos de álgebra*. Fondo de cultural económica, primera edition, 2005.