

1993/12

V658



Fernando de Magalhães Coutinho Vieira

**ESTUDO DE MODELOS NÃO-LINEARES
PARA O TRANSPORTE ATIVO
EM BIOMEMBRANAS**

Tese de Doutorado

**Centro Brasileiro de Pesquisas Físicas
Rio de Janeiro, Dezembro de 1993**

003.85

Para
Maria Nazaré

Agradecimentos

Gostaria de expressar minha gratidão :

a Paulo Bisch, por me dar liberdade de trabalho, pela dedicação e pela paciência.

àqueles Professores, cujas visões apaixonadas da física me trouxeram para este caminho.

a Flávio Nogueira, pelas inúmeras e interessantes conversas sobre física e matemática.

a Marcelo Martins, pela confiança e solidariedade.

a Javier e Mateo, por simples, mas importantes, sugestões.

a Cambraia, Célia, Junão, Orlando e Túlio, pela ajuda.

a André C., André S., Édson, Ladário, Leoni, Luis Cláudio, Pancho, Víctor, Xia e Zé Arnaldo, pela convivência agradável.

a Myriam, Vera e Denise, pelo suporte.

ao Departamento de Física da UFV, pela compreensão.

ao CNPq, pelo apoio financeiro.

por fim, e especialmente, a meus pais e irmãos, pelo apoio e pela amizade.

Resumo

São investigados alguns modelos para transporte ativo em biomembranas cujas equações dinâmicas associadas possuem um caráter não-linear.

As bases experimentais de tais propostas são discutidas.

Um dos objetivos centrais deste estudo foi procurar os elementos essenciais capazes de gerar um comportamento não-trivial em sistemas de transporte ativo.

Os esquemas de reação propostos foram estudados através dos sistemas de equações diferenciais ordinárias relativos às redes de reações químicas, associadas aos diversos modelos de transporte. Para levar a cabo este objetivo são empregadas ferramentas matemáticas especialmente construídas para o estudo de redes complexas de reações químicas. A teoria relativa a estes métodos, em geral pouco conhecida, é apresentada.

Os mecanismos investigados deram origem a oscilações no fluxo transportado, para conjuntos adequados de constantes cinéticas. Não se conhece um resultado como este na literatura sobre transporte ativo.

Para entender o efeito da difusão das proteínas transportadoras, uma rede de reações simples foi simulada via autômato celular probabilístico. Este sistema apresentou oscilações, “ondas químicas” e formação de padrões espaciais.

Abstract

We investigate some models for active transport whose associated dynamical equations have a non-linear character.

The experimental basis for these models is discussed.

One of the objectives of this study was to search the essential aspects that could generate some non trivial behavior for active transport systems.

The proposed schemes have been studied through the differential equations systems associated with the reaction networks related to the active transport mechanisms. This investigation has been done by means of some mathematical tools designed for complex reaction networks studies. The theory associated with these tools is presented.

The proposed equations originate oscillations for some sets of rate constants. As far as we know, this kind of behavior has not been previously reported in the literature about active transport.

To study the effects of transport protein diffusion, a simple reaction network has been simulated by means of a probabilistic cellular automaton model. This reaction-diffusion system shows oscillations, chemical waves and spatial pattern formation.

Sumário

Resumo	i
Abstract	ii
Lista de Figuras	v
Lista de Tabelas	vii
Introdução	1
1 Aspectos do Transporte Ativo em Biomembranas	4
1.1 Modelo do mosaico fluido	5
1.2 Transporte ativo em biomembranas	7
1.3 Oscilações em sistemas biológicos	12
2 Sistemas Dinâmicos e Redes de Reações	14
2.1 Ferramentas Matemáticas	14
2.1.1 Equações diferenciais associadas à redes de reações químicas .	15
2.1.2 Breve revisão sobre sistemas de equações diferenciais ordinárias	19
2.1.3 Estrutura básica das equações associadas à redes de reações químicas	27
2.2 Resultados matemáticos preliminares	34
2.2.1 O 1° sistema equivalente	34
2.2.2 Análise de deficiência	36
2.3 O método da análise de redes estequiométricas	41
2.3.1 Novos parâmetros	41
2.3.2 Matriz de linearização parametrizada	48
3 Modelos Não-Lineares para o Transporte Ativo	52
3.1 Modelos Usuais	53
3.2 Etapa Autocatalítica	55

3.4	Formação de dímeros	63
4	Reação Autocatalítica	68
4.1	Oscilações em um modelo com autocatálise	68
4.2	Determinação completa do conjunto de bifurcação de Hopf para o modelo 4	76
4.2.1	O conjunto \mathcal{N}	81
4.2.2	A hipersuperfície \mathcal{Z}	90
4.3	Discussão	91
5	Formação de Dímeros e de Complexos	93
5.1	Formação de complexos entre as macromoléculas	94
5.2	Formação de dímeros entre as proteínas transportadoras	97
5.3	Um modelo com formação concorrente de dímeros e complexos	100
5.4	Discussão	103
6	Sistemas de Reação-Difusão e Autômatos Celulares	106
6.1	Autômatos Celulares	107
6.2	Modelando o Transporte Ativo com Autômato	108
6.3	Comportamento do Autômato	111
6.4	A Reação Autocatalítica $A+B \rightarrow 2A$	119
6.5	Discussão	120
	Conclusões	123
	Apêndice	126
	Bibliografia	128

Lista de Figuras

1.1	Representação esquemática do “modelo do mosaico fluido”	6
1.2	Representação da barreira energética sentida por um íon no interior de uma bomba de transporte ativo.	10
1.3	Modelo Mínimo do acesso alternado.	11
2.1	Subespaço estequiométrico e uma das classes de compatibilidade estequiométrica.	31
2.2	Politopo \mathcal{P}_N e cone \mathcal{C}_N	45
2.3	Representação gráfica das correntes extremas.	47
3.1	Modelo 1	56
3.2	Curva de fluxo de íons por bomba versus concentração de bombas	57
3.3	Modelo 2	58
3.4	Correntes extremas do modelo 2	59
3.5	Modelo 3	60
3.6	Corrente extrema instável do modelo 3	61
3.7	Modelo 4	61
3.8	Modelo 5	62
3.9	Modelo 6	64
3.10	Modelo 7	65
3.11	Modelo 8	66
4.1	Correntes extremas do modelo 3	71
4.2	Oscilação no modelo 3.	75
4.3	Diagrama de bifurcação para o modelo 3	75
4.4	Modelo 4	77
4.5	Sinal de P ao longo de um raio no plano (b, c)	83
4.6	Sinal de P ao longo de uma hipérbole no plano (b, c)	85
4.7	Polígono de Newton associado à equação 4.7	88
4.8	Região N no plano (l, e)	89

4.9	Cortes do conjunto \mathcal{Z}	91
5.1	Algumas correntes extremas do modelo 6.	94
5.2	Varição da concentração da espécie C no estado estacionário em relação a constante cinética k_{-3}	96
5.3	Diagrama de bifurcação para o modelo 6 no plano $k_3 \times k_{-3}$	97
5.4	Algumas correntes extremas do modelo 7.	98
5.5	Diagrama de bifurcação para o modelo 7 no plano $k_2 \times k_{-2}$ para diversos valores de k_1	100
5.6	Curva $\Phi \times T$ para o modelo 8, com $\kappa = 0$ e $\kappa = 10$	103
5.7	Evolução temporal do fluxo de íons por bomba no modelo 8.	105
6.1	Difusão de Margolus.	109
6.2	Autômato Celular em diferentes passos de tempo.	112
6.3	(a) Evolução temporal da concentração do estado 2. (b) Transformada de Fourier da figura anterior	113
6.4	(a) Evolução temporal da concentração do estado 2. (b) Transformada de Fourier da figura anterior	114
6.5	Evolução temporal de C_2 em um AC com (a) 20 % de sítios vazios. (b) 50 % de sítios vazios. Os demais parâmetros são os mesmos da figura 6.3.	115
6.6	Aglomeración \mathcal{A}_2 para diferentes valores da probabilidade p_{12}	117
6.7	Esboço do diagrama de transição para a região de oscilação-aglomeração no espaço de probabilidades $p_{12} \times p_{23}$	118
6.8	Desvio-padrão contra inverso do tamanho de rede para $p_{12} = 0.7$ e $p_{12} = 0.1$	119
6.9	Esquema do modelo para a reação $A + B \rightarrow 2A$	120
6.10	Evolução da concentração da espécie B com o tempo.	121

Lista de Tabelas

1.1	Valores típicos de concentração no interior e no exterior de uma célula de um mamífero [4].	8
2.1	Padrões de estabilidade para $d = 1, 2$ ou 3	37
4.1	Constantes cinéticas para o modelo 3	74
5.1	Parâmetros para estudo de bifurcação no modelo 6.	96
5.2	Parâmetros usados para análise de bifurcação do modelo 7.	99
5.3	Constantes cinéticas para o modelo 8	102
5.4	Constantes cinéticas para comportamento oscilatório no modelo 8. . .	104

Introdução

O uso da matemática na descrição dos fenômenos naturais é o aspecto marcante da ciência moderna. Ainda que em graus diferentes, desde a física, a mais antiga parceira, até a biologia, todas as ciências procuram de uma ou outra maneira descrever alguns de seus aspectos de forma matemática.

O grande avanço observado este século na compreensão do fenômeno da vida se deveu, talvez de forma fundamental, ao avanço no entendimento da estrutura atômica e molecular, decorrente dos progressos da física quântica. Estes progressos se fizeram sentir não só na melhor compreensão teórica, mas também no desenvolvimento de diversas técnicas e equipamentos para a análise experimental.

Em décadas recentes, vários processos que ainda pareciam misteriosos, como a morfogênese, a auto-reprodução e a auto-organização nos seres vivos, passaram a ter algumas de suas características capturadas, pelo menos em seus aspectos essenciais, por modelos matemáticos e computacionais.

Não obstante, muito continua por fazer, seja do ponto de vista do entendimento dos aspectos fundamentais, seja no entendimento dos detalhes de funcionamento dos diversos mecanismos. Tudo isto para não falar da integração entre os vários processos.

O surgimento e a manutenção de ritmos biológicos tem sido uma das questões intensamente investigadas. Porém, pode-se dizer que a compreensão de tais fenômenos ainda está em seu início. Cada processo que ocorre nos seres vivos apresenta o seu próprio ritmo, gerado por eventos particulares, o que não impede a integração de mecanismos diferentes agindo sobre o mesmo sistema.

Entre os componentes fundamentais dos seres vivos estão as biomembranas, nas quais, entre outros, têm importância vital os processos de transporte. Será o estudo da formação de ritmos biológicos em sistemas de transporte nas membranas a principal motivação deste trabalho. Tal estudo será levado a cabo através das equações matemáticas que descrevem os fenômenos e seu comportamento dinâmico.

No capítulo 1 são apresentados os elementos essenciais associados às membranas biológicas e ao transporte de substâncias através das mesmas, notadamente o transporte ativo, objeto principal de estudo nesta tese. Também neste capítulo são discutidos a presença e o papel de oscilações em sistemas biológicos.

No capítulo 2 são descritas as técnicas matemáticas empregadas no estudo dos diversos modelos. Estas técnicas permitem a determinação de diversas características da dinâmica devida a sistemas de equações diferenciais ordinárias relacionados com redes complexas de reações químicas. Além da parte operacional, as ferramentas matemáticas usadas fornecem elementos úteis na análise dos aspectos físicos fundamentais dos fenômenos investigados. A descrição destes métodos pretende ter um caráter didático em face da pouca divulgação dos mesmos.

No capítulo 3 são apresentados todos os modelos estudados nesta tese, alguns dos quais serão mais profundamente investigados nos dois capítulos seguintes. Neste ponto são dadas as razões que motivam cada uma das diferentes propostas. Alguns resultados, relativos às propostas mais simples, são descritos.

No capítulo 4 são estudados os modelos com uma etapa chamada autocatalítica. O aparecimento de dinâmica oscilatória nestes sistemas pode ser ligado a ritmos biológicos. Um modelo simples é estudado em detalhe, sendo determinado todo o conjunto de constantes cinéticas para as quais ocorre a mudança entre os comportamentos oscilatório e não-oscilatório. Os sistemas aqui estudados assumem uma importância ainda maior por servirem de base para os estudos levados a cabo no capítulo seguinte.

No capítulo 5 modelos com uma maior motivação biológica em resultados experimentais são apresentados. Neste caso, são investigados mecanismos de transporte contendo, além de ciclos usuais, a formação de dímeros entre as proteínas trans-

portadoras e a formação de complexos entre as proteínas transportadoras e outras moléculas. Tais modelos também levam ao surgimento de ritmos biológicos. Será mostrada a relação entre as redes com reações autocatalíticas e as redes com formação de dímeros.

No capítulo 6 um modelo de autômato celular para uma rede de reação química, associada ao transporte ativo, é apresentado. Este sistema foi estudado com o objetivo de acoplar as reações associadas ao transporte ativo e a difusão das proteínas transportadoras. O autômato celular apresenta oscilações, "ondas químicas" e estruturas espaço-temporais.

No capítulo 7, ao lado da conclusão em cima dos resultados anteriores está uma projeção de possíveis extensões deste trabalho.

Capítulo 1

Aspectos do Transporte Ativo em Biomembranas

Entre todos os seres vivos há uma série de características comuns, as quais, além de fornecerem suporte à teoria de uma única origem para a vida na terra, facilitam o estudo destes mesmos seres. (Como seria o estudo da biologia em um planeta constituído por seres vivos cujas características bioquímicas essenciais sejam diferentes entre certos grupos?).

Dentre os aspectos comuns aos seres vivos está a presença constante das biomembranas. Estas possuem como função mais evidente compartilhar o sistema. Assim, nos seres multicelulares, não apenas cada célula se encontra separada das demais por meio de uma membrana celular, mas também dentro de cada célula os diversos compartimentos (se existirem) se encontram separados por meio de membranas [4, 63].

Por si só, este seria um aspecto suficientemente relevante, pois a vida (como a conhecemos) exige diferenciação em relação ao meio circundante. Entretanto, existem inúmeras outras funções exercidas pelas biomembranas.

Entre outras tarefas, as biomembranas são fundamentais na comunicação celular e em diversas rotas metabólicas. Dois importantes processos de conversão energética : a fotossíntese nos cloroplastos e a fosforilação oxidativa nas mitocôndrias,

ocorrem, basicamente, nas membranas. Além disto, as biomembranas são essenciais na criação e manutenção de gradientes eletroquímicos entre as partes separadas pelas mesmas [74], objeto de investigação do presente estudo.

Apesar de delimitarem diferentes células e organelas, de possuírem composição química diferente e, mesmo, de exercerem funções diferentes, todas as membranas possuem a mesma estrutura e componentes básicos. Estudos diversos acabaram por permitir a elaboração de um modelo para o arranjo molecular nas biomembranas, conhecido por "modelo do mosaico fluido" [4, 74].

Nas próxima seção será apresentado este modelo. Na seção posterior estarão discutidos os elementos essenciais do transporte químico em membranas, particularmente o chamado transporte ativo. Finalmente, na última seção, será discutida a questão dos fenômenos oscilatórios em sistemas biológicos.

1.1 Modelo do mosaico fluido

O elemento estrutural básico das biomembranas é uma bicamada de lipídios, composta majoritariamente por fosfolipídios [63, 74]. Esta bicamada se forma principalmente devido ao caráter anfifílico dos lipídios, isto é, pela diferente afinidade por água que estas moléculas de forma alongada possuem em suas duas partes. Assim, a cabeça polar dos fosfolipídios (hidrofílica) tende a hidratar, enquanto suas cadeias de hidrocarbonetos (hidrofóbicas) evitam o contato com a água. Esta estrutura se mantém pela interação eletrostática e pontes de hidrogênio entre as cabeças polares e a água, e pela atração de van der Waals entre as cadeias de hidrocarbonetos [13].

Esta é uma estrutura fluida no sentido de permitir a difusão de moléculas individuais no plano da membrana. Isto torna possível a formação de domínios com características distintas na superfície das membranas [74].

A bicamada tem espessura da ordem de 10 nm, é permeável à água, pequenas moléculas hidrofóbicas (O_2 , benzeno) e pequenas moléculas polares sem carga (CO_2 , uréia), mas é virtualmente impermeável a íons e moléculas maiores (Ca^{2+} , glicose, ATP) [63, 74].

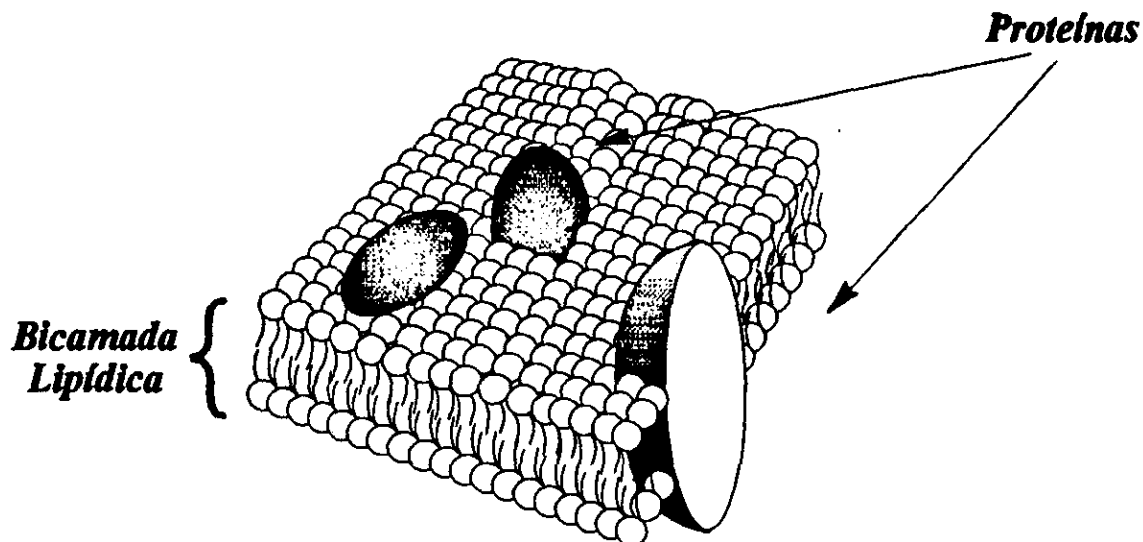


Figura 1.1: Representação esquemática do “modelo do mosaico fluido”.

A composição química lipídica variada entre as membranas de diferentes subestruturas (e mesmo entre as duas camadas de uma mesma membrana) bem como a existência de transições de fase em biomembranas podem indicar um papel não apenas passivo das bicamadas lipídicas [11, 63].

O segundo elemento básico das biomembranas são as proteínas. De fato são estas as principais responsáveis pela maioria das funções das membranas.

Uma representação esquemática do “modelo do mosaico fluido” contendo os dois elementos básicos, lipídios e proteínas, pode ser vista na figura 1.1.

Uma primeira característica diferenciadora das proteínas de membrana se deve à sua localização. Estas proteínas se encontram, basicamente, posicionadas ou em um dos lados da membrana (proteínas periféricas) ou atravessando-a completamente (proteínas integrais) [74].

No caso de proteínas periféricas, a ligação com a bicamada lipídica se dá

através de interação eletrostática ou, em alguns casos, por ligações covalentes. As proteínas integrais possuem em sua superfície regiões hidrofílicas e regiões hidrofóbicas. A interação destas regiões com a bicamada lipídica e a água são fundamentais, não apenas para a fixação das proteínas integrais, mas também pela manutenção da forma ativa destas proteínas [4, 74].

A área de membrana ocupada por proteínas bem como a razão entre o peso total de lipídios e o peso total de proteínas varia muito entre os diversos tipos de membrana e está intimamente ligado à própria função biológica exercida por cada membrana [5, 74].

Entre diversas tarefas, pode ser destacado o papel das proteínas de membrana em processos de comunicação intercelular e intracelular (recepção de hormônios e outros sinais químicos) e em processos estruturais (ligação intercelular, suporte mecânico para a membrana citoplasmática via filamentos de actina, etc.) [63].

Como já foi dito, poucas são as moléculas com livre trânsito pela bicamada lipídica. Às proteínas cabe então o papel de transporte de moléculas de um lado ao outro da membrana. Na próxima seção será discutido este aspecto.

1.2 Transporte ativo em biomembranas

A ingestão de nutrientes, a excreção de refugos metabólicos e a manutenção de níveis adequados de concentração das diversas substâncias no interior das células e organelas são aspectos essenciais para o funcionamento celular. Os mecanismos de transporte são peças-chave nestes processos.

O transporte de substâncias pode acontecer tanto no sentido de diminuir a diferença de potencial eletroquímico entre os dois lados da membrana (transporte passivo), como no sentido de aumentar esta diferença de potencial (transporte ativo). Este último processo exige uma fonte de energia, sendo as mais comuns a hidrólise de ATP, a absorção de luz ou gradientes químicos de outras substâncias [59].

As proteínas associadas ao transporte passivo são chamadas de proteínas formadoras de canais. Aquelas associadas ao transporte ativo são chamadas de bombas.

	Interior (mM)	Exterior (mM)
Na^+	5-15	145
K^+	140	5
Mg^{2+}	0.5	1-2
Ca^{2+}	10^{-4}	1-2
Cl^-	5-15	110

Tabela 1.1: Valores típicos de concentração no interior e no exterior de uma célula de um mamífero [4].

Bombas e canais são constituídos fundamentalmente por proteínas integrais. Durante o transporte, canais e bombas sofrem mudanças conformacionais, responsáveis pelo processo de transporte. A diferença fundamental entre os dois processos está na dependência (transporte ativo) ou não (transporte passivo) de uma fonte externa de energia.

Cabe ressaltar que, mesmo no transporte passivo, a regulação do fluxo é um fenômeno bastante complexo. Além disto, há uma alta seletividade quanto às moléculas a serem transportadas por um determinado canal [74].

O papel do transporte ativo pode ser apreciado ao se verificar a diferença de concentração típica entre o interior e o exterior de uma célula de mamíferos, como mostra a tabela 1.1 [4].

A força motriz é o mais importante elemento de diferenciação entre os diversos mecanismos de transporte ativo. Como já foi dito, estas forças são, usualmente, a hidrólise de ATP, a luz ou um gradiente químico. O surgimento e a evolução dos diversos processos de transporte ativo tem sido discutido na literatura [75, 78]. A compreensão desta evolução tem sido baseada tanto no mecanismo de cada processo como em informações sobre as seqüências de aminoácidos das diferentes bombas.

Mesmo entre as bombas cuja força motriz é a hidrólise de ATP existe uma subdivisão relativa à existência ou não de um estado intermediário fosforilado [78].

Neste estudo serão vistos modelos com motivação em sistemas ATP-ase

classe P, isto é, aqueles sistemas de transporte ativo para os quais a hidrólise de ATP é a fonte de energia que possuem um intermediário fosforilado. Os métodos teóricos empregados são, todavia, de alcance mais abrangente.

Diversas são as substâncias transportadas por bombas ATP-ase classe P, e sua presença se dá nas mais variadas espécies [78].

Técnicas de biologia molecular tem permitido a identificação dos sítios de ligação das moléculas de ATP e do fosfato inorgânico com as bombas [5]. De fato, este estudo, bem como o de sequenciamento das bombas ATP-ase classe P tem mostrado uma grande homologia entre os diversos tipos de bombas. Parece existir uma grande conservação das seqüências de aminoácidos nas regiões de ligação de ATP e fosfato, podendo ser inclusive proposta uma linha evolutiva para as bombas desta classe [50, 78].

Embora a partir da seqüência de aminoácidos seja possível propor o arranjo destas proteínas nas bicamadas lipídicas, são poucas aquelas cuja estrutura tridimensional é bem conhecida. Isto explica, em parte, o mal entendimento do caminho realizado pelas substâncias a serem transportadas. Todavia, com este intuito, vários modelos tem sido propostos e estudados [50, 68].

Praticamente todos os modelos para o transporte ativo entre as ATP-ases classe P são baseados no chamado modelo do acesso alternado [59, 84].

A bomba é vista como um conduto ao longo do qual existe um potencial energético sentido pelo íon ou molécula a ser transportada [59]. Uma barreira energética marca a restrição à livre passagem de um lado ao outro da membrana. Uma barreira de menor intensidade marca a existência de um sítio de ligação. A mudança conformacional da proteína é o passo dependente de energia, marcada pela troca de posições entre os dois picos energéticos. Assim, em um dado estado um dos lados da membrana é mais facilmente acessível aos íons do que o outro. Após a mudança conformacional, e conseqüente mudança do perfil energético no interior da membrana, a situação se inverte. Estas idéias estão representadas na figura 1.2.

Uma versão simplificada do modelo do acesso alternado é o chamado modelo mínimo do acesso alternado [59]. Um ciclo de quatro estados contendo reações de

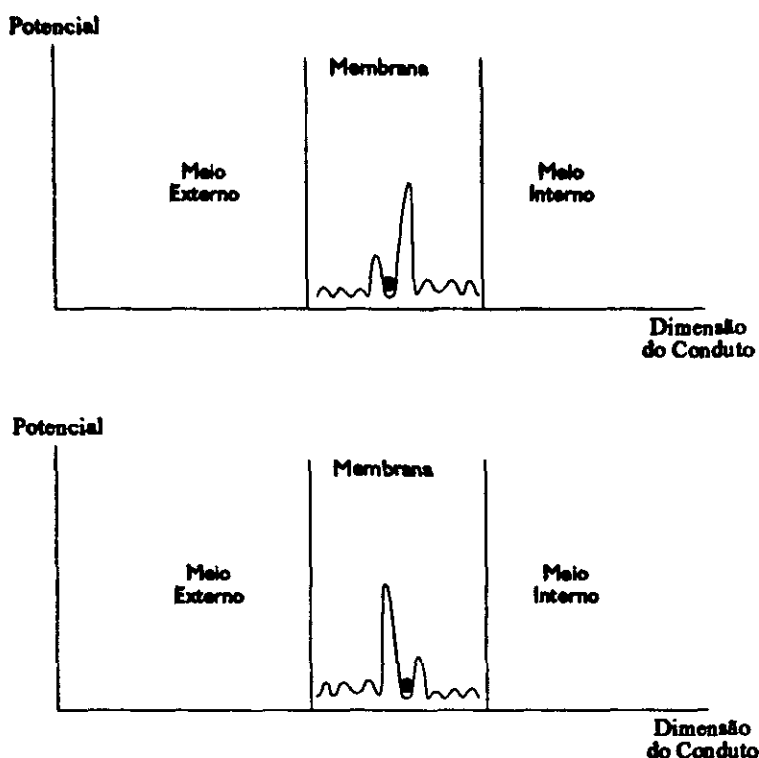


Figura 1.2: Representação da barreira energética sentida por um íon no interior de uma bomba de transporte ativo.

fosforilação e defosforilação bem como mudanças conformacionais constituem a rede de reações associada. Um esquema deste ciclo pode ser visto na figura 1.3.

Completando este ciclo completa-se também o transporte através da membrana. Olhando para o processo como um ciclo de reações químicas fica claro que um excesso relativo da concentração de ATP pode induzir o transporte mesmo contra o potencial eletroquímico do soluto.

Além de ATP diversas outras substâncias químicas afetam o transporte ativo, seja ativando ou inibindo o processo, por exemplo, Mg^{2+} e calmodulina no transporte de cálcio [3, 12, 52].

A calmodulina é uma proteína presente em diversos sistemas[16]. Sua participação nos mais diferentes processos envolvendo cálcio a tornam um importante elemento regulador. A calmodulina se liga a íons de cálcio, ativando a seguir enzimas

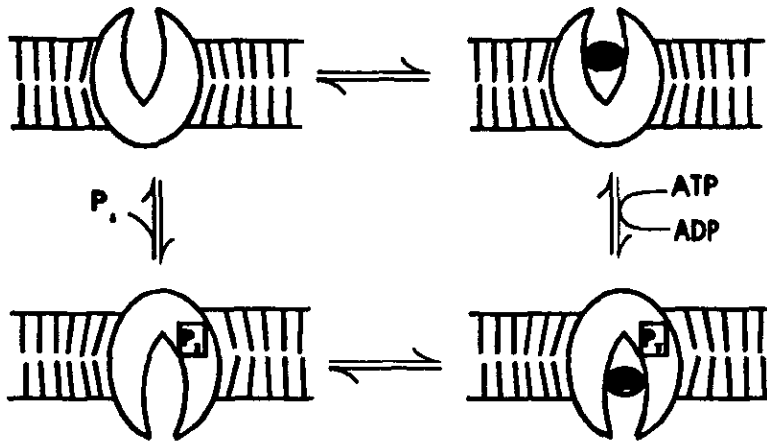


Figura 1.3: Modelo Mínimo do acesso alternado. Representação de um corte transversal da membrana, mostrando a bicamada lipídica e uma proteína integral transportadora. A elipse sombreada representa o íon a ser transportado. As reações com a ATP e a ADP, bem como a reação com o fosfato inorgânico estão indicadas. O símbolo P_i significa que a bomba está fosforilada.

específicas. Neste trabalho serão estudados modelos de formação de complexos entre bombas e moléculas externas. A ativação por calmodulina é uma referência para tais modelos.

Assim, em estudos experimentais, é fundamental um controle rígido sobre as substâncias presentes no sistema. De qualquer forma, esta regulação do processo por diversos componentes é um outro indicador da complexidade do sistema.

Uma questão ainda não resolvida para diversos sistemas de transporte ativo é quanto a unidade funcional do processo [5, 47, 51, 52, 76]. Para muitas bombas é discutível se o transporte acontece através de uma única proteína ou através da associação de diversas proteínas. Em diversos casos parece clara a ocorrência de oligomerização, mas o mecanismo completo de transporte ainda é discutível. Nesta tese, serão estudados possíveis efeitos da oligomerização entre as bombas.

1.3 Oscilações em sistemas biológicos

Diversos argumentos e vários resultados experimentais permitem concluir pela importância central de processos oscilatórios para o fenômeno da vida.

Um primeiro argumento provém da existência de ciclos naturais (noite-dia, estações do ano, marés, etc.) aos quais a vida necessariamente teve de se adaptar.

Por outro lado, observa-se que todas as máquinas conhecidas funcionam em ciclos, convertendo continuamente energia em trabalho.

Finalmente, os processos bioquímicos podem ser descritos matematicamente por equações diferenciais não-lineares, às quais estão associados, muito frequentemente, comportamentos oscilatórios (aí incluído o caos como uma “oscilação sem período nem amplitude definidos”).

Mais do que oscilar acompanhando um agente externo periódico, são fundamentais aqueles mecanismos cuja dinâmica interna, desprovida de um ritmo evidente, leva a uma oscilação autônoma de tais sistemas. Estas são as chamadas auto-oscilações [96].

Diversos fenômenos auto-oscilatórios são conhecidos em sistemas biológicos, desde o nível molecular, como na glicólise e na fotossíntese [69], passando pelo ritmo cardíaco, até o nível da dinâmica de populações, como é conhecido desde o trabalho de Volterra e confirmado por observações de campo [69, 96].

Estes fenômenos auto-oscilatórios e outros processos de auto-organização, como estruturas espaciais ou espaço-temporais, são conhecidas como estruturas dissipativas [69], pois tais processos dependem da dissipação de energia para sua ocorrência. Estas estruturas estão ligadas, por exemplo, aos processos de morfogênese. Desta forma têm sido estudados diversos processos de auto-organização em sistemas biológicos.

A presença de oscilações no transporte em membranas tem sido estudada e verificada experimentalmente [36, 60, 67, 77, 80, 85, 89, 93, 103]. Em alguns casos, a existência de comportamento oscilatório no transporte em membranas se deduz indiretamente a partir de outros fenômenos, cujos processos dependem do transporte. Tais processos são, em geral, associados a uma conjunção de mecanismos, sendo o

papel do transporte ativo, nestes casos, considerado como auxiliar.

Assim, seria interessante saber sob que condições o transporte ativo é capaz de gerar um fluxo de íons oscilatório. Este é o principal objetivo do presente trabalho.

Capítulo 2

Sistemas Dinâmicos e Redes de Reações

Neste capítulo são apresentadas as definições e teoremas fundamentais associados às técnicas matemáticas usadas neste trabalho. Além de aspectos básicos e gerais relativos aos sistemas de equações diferenciais ordinárias, são apresentadas e explicadas, em certo detalhe, algumas técnicas específicas para o tratamento de redes complexas de reações químicas. Todos os resultados deste capítulo provém da literatura.

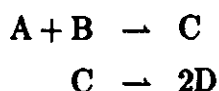
2.1 Ferramentas Matemáticas

Nesta seção são apresentados os resultados da teoria de sistemas de equações diferenciais ordinárias mais relevantes para o presente trabalho. São dadas também as definições básicas associadas às equações relativas às redes de reações químicas.

2.1.1 Equações diferenciais associadas à redes de reações químicas

Se um determinado processo é descrito (modelado) por um dado conjunto de etapas de transformações, este conjunto constitui a rede de reações associada ao processo. A rede de reações fornece uma estrutura topológica, indicando as diversas conexões existentes entre as espécies químicas participantes do mecanismo de reação. Além disto, define a estequiometria entre as espécies.

Por exemplo, seja a seguinte rede com três espécies e duas reações :



Ela mostra que um elemento da espécie A reage com um elemento da espécie B dando um elemento da espécie C, e um elemento da espécie C se transforma em dois elementos da espécie D.

Em termos de conectividade tem-se A, B e D ligados a C por alguma reação (seja consumindo C, seja produzindo C). A e B estão presentes em uma mesma reação, o que representa forte conectividade, mas não têm ligação direta com a espécie D (embora estejam ligados à espécie D através da espécie C).

Para a descrição dinâmica do processo, deve ser feita a ligação entre a rede de reações e a taxa de variação no tempo da concentração de cada uma das espécies. Isto é, dadas as espécies X_1, \dots, X_n , o objetivo é obter as n -equações diferenciais

$$\frac{d[X_i]}{dt} = f_i([X_1], \dots, [X_n])$$

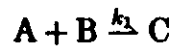
relacionando a taxa de variação da concentração da espécie X_i com o tempo e as concentrações das espécies X_1, \dots, X_n . Será usada a notação compacta $\dot{x}_i = dX_i/dt$.

De uma forma mais geral, pode ser considerada a difusão das espécies, levando a um sistema de equações diferenciais parciais. Esta é a classe das famosas equações de reação-difusão [69]. Este tipo de modelo será estudado neste trabalho através da técnica de simulação via autômatos celulares, a ser apresentada mais adiante.

A função f descrita acima, é decorrente da cinética adotada para o sistema (uma definição formal de cinética será dada na seção 2.1.3). Aqui, será adotada sempre a lei de ação de massas, por ser a cinética própria, do ponto de vista experimental, para reações elementares, como as que se pretende tratar aqui.

A lei de ação de massas associa uma constante cinética k_i a cada reação i , e diz que a taxa de variação de cada espécie participante da reação i com respeito à mesma será proporcional à k_i , às concentrações dos reagentes e a um coeficiente estequiométrico definido pelo número de moléculas daquela espécie criada pela reação menos o número destruído pela reação.

Por exemplo, dada a seguinte reação



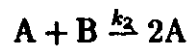
Tem-se as equações dinâmicas : ¹

$$\dot{A} = -k_1.A.B$$

$$\dot{B} = -k_1.A.B$$

$$\dot{C} = k_1.A.B$$

outro exemplo



dando

$$\dot{A} = k_2.A.B$$

$$\dot{B} = -k_2.A.B$$

ou ainda



dando

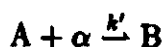
$$\dot{A} = -2.k_3.A^2$$

$$\dot{B} = k_3.A^2$$

$$\dot{C} = k_3.A^2$$

¹Será usado $X_i \equiv [X_i]$

Ao longo deste trabalho, serão consideradas não somente as reações “tradi-
cionais” do tipo $A + B \xrightarrow{k_1} C$, mas também as chamadas *pseudo-reações* (ver [19, 43])
do tipo



onde α tem concentração constante, por exemplo, considerando α como proveniente
de um reservatório. As equações dinâmicas ficam :

$$\begin{aligned}\dot{A} &= -k' \cdot [\alpha] \cdot A \\ \dot{B} &= k' \cdot [\alpha] \cdot A \\ \dot{[\alpha]} &= 0\end{aligned}$$

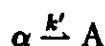
Pode-se “incorporar” $[\alpha]$ à constante k' , fazendo $k = k' \cdot [\alpha]$, a reação acima
ficando representada por :



com as equações :

$$\begin{aligned}\dot{A} &= -k \cdot A \\ \dot{B} &= k \cdot A\end{aligned}$$

Outro tipo importante de pseudo-reação é :



onde α tem concentração constante. As equações dinâmicas ficam :

$$\begin{aligned}\dot{A} &= k' \cdot [\alpha] \\ \dot{\alpha} &= 0\end{aligned}$$

Neste caso pode ser feito $k = k' \cdot [\alpha]$. O símbolo \square será usado para denotar
a simples presença de um reservatório químico em um dos lados da reação. A reação
anterior fica :



com a equação :

$$\dot{A} = k$$

Assim, muito freqüentemente, aparecerão pseudo-reações e pseudo-constantes cinéticas, embora daqui para frente seja pouco empregado o prefixo "pseudo" para caracterizá-las. Todas as reações serão tratadas em pé-de-igualdade.

Uma característica importante de reações químicas é que, rigorosamente falando, se um sistema apresenta uma reação em um dado sentido, então ele também apresentará a reação de sentido oposto o que, em princípio, permitiria ao sistema atingir seu estado de equilíbrio. Assim, ainda que uma reação tenha, no sentido oposto, uma constante cinética muito pequena, é mais real considerar todas as reações como sendo reversíveis. Assim, na maioria das vezes, serão estudadas redes de reação reversíveis. Todavia, alguns sistemas com etapas de reação irreversíveis irão ser estudados e serão igualmente importantes no contexto deste trabalho.

A última questão geral importante sobre redes de reação a ser levantada nesta visão inicial diz respeito à ordem das reações (com a cinética da lei de ação de massas).

Uma reação é dita de *ordem zero* se o reagente for o \square

Uma reação é dita de *primeira ordem* quando há um reagente

Uma reação é dita de *segunda ordem* quando há dois reagentes e assim por diante.

Muito embora sistemas de terceira ordem tenham sido estudados [69] e sejam importantes do ponto de vista teórico e histórico, a suposição realista de redes com reações de, no máximo, segunda ordem será adotada neste trabalho.

Resumindo, serão estudados os sistemas de equações diferenciais ordinárias associados à redes de reações químicas, para as quais serão assumidas a cinética da lei de ação de massas, a existência de pseudo-reações (a serem tratadas em pé-de-igualdade com as reações usuais), e ordem de reação máxima igual a dois.

2.1.2 Breve revisão sobre sistemas de equações diferenciais ordinárias

Nesta seção serão apresentados, sem prova, alguns dos principais resultados conhecidos sobre sistemas de equações diferenciais ordinárias, os quais serão importantes em análises posteriores.

Os resultados apresentados estão bem estabelecidos e se encontram detalhados, demonstrados (e acompanhados de muitos outros resultados) em diversos livros [6, 38, 46, 71, 82].

Um sistema de equações diferenciais ordinárias é um sistema :

$$\begin{aligned} \frac{dx_1}{dt} &= f_1(x_1, \dots, x_n, t) \\ &\vdots \\ \frac{dx_n}{dt} &= f_n(x_1, \dots, x_n, t) \end{aligned}$$

Se todas as funções f_i forem independentes do tempo o sistema é dito *autônomo*. De qualquer forma, fazendo $x_{n+1} = t$ qualquer sistema pode ser convertido em um sistema autônomo, o qual pode ser escrito compactamente :

$$\frac{dx}{dt} = \dot{x} = f(x) \quad (2.1)$$

onde $x \in U \subseteq \mathbb{R}^n$ e $f : U \rightarrow \mathbb{R}^n$, com f contínua, e neste trabalho, com derivada contínua de todas as ordens.

O campo vetorial f gera um fluxo $\phi_t : U \rightarrow \mathbb{R}^n$, onde $\phi_t(x) = \phi(x, t)$ é uma função contínua e diferenciável definida para todo x em U e $t \in I = (a, b) \subseteq \mathbb{R}$, onde ϕ satisfaz a equação 2.1, isto é :

$$d(\phi(x, t))/dt |_{t=\tau} = f(\phi(x, \tau))$$

para todo $x \in U$ e $\tau \in I$.

A definição mais geral de campos em variedades pode ser encontrada em [6, 71].

Os dois primeiros teoremas aqui citados são dos mais gerais dentro da teoria de sistemas de equações diferenciais ordinárias.

Teorema 1 (Teorema de existência e unicidade local) *Seja $U \subset \mathbb{R}^n$ um subconjunto aberto de um espaço Euclidiano, seja $f : U \rightarrow \mathbb{R}^n$ uma função com derivada contínua. Então existe uma constante $c > 0$ e uma única solução $\phi(x_0, \cdot) : (-c, c) \rightarrow U$, satisfazendo a equação $dx/dt = f(x)$ com condição inicial $x(0) = x_0$.*

Se as soluções ϕ_t estiverem contidas em subconjuntos limitados e fechados (isto é compactos) de \mathbb{R}^n , então há uma versão global do teorema acima.

Teorema 2 *O sistema de equações diferenciais $\dot{x} = f(x)$, $x \in U$, com U compacto e f diferenciável com derivada contínua, possui curvas de solução dadas por :*

$$\phi(x_0, \cdot) : (-\infty, \infty) \rightarrow U$$

Uma importante classe de soluções da equação 2.1 é a dos chamados pontos fixos (ou singulares, ou de equilíbrio, ou, como serão chamados neste trabalho, estados estacionários) \bar{x} . os estados estacionários são os pontos em que o campo vetorial f se anula

$$dx/dt |_{x = \bar{x}} = f(\bar{x}) = 0$$

Um estado estacionário é dito **estável** se para toda vizinhança V de \bar{x} em U existe uma vizinhança $V_0 \subset V$ e $x_0 \in V_0$ com $\phi(x_0, t)$ em V para todo $t > 0$, isto é, uma solução $x(t)$ que passe suficientemente perto de \bar{x} permanece em uma vizinhança de \bar{x} para todo tempo.

Um estado estacionário é dito **assintoticamente estável** se for estável e, além disto, V_0 pode ser escolhido de tal forma que $\phi(x_0, t) \rightarrow \bar{x}$ quando $t \rightarrow \infty$, isto é, existe uma vizinhança de \bar{x} tal que toda solução baseada nesta vizinhança tende a \bar{x} para um tempo infinito.

Um estado estacionário é dito **instável** se não for estável.

Um primeiro caminho para caracterizar estados estacionários vem do método da chamada *função de Liapunov*, que provém do seguinte teorema :

Teorema 3 *Seja um estado estacionário \bar{x} e $F : W \rightarrow \mathbf{R}$ uma função diferenciável definida em uma vizinhança $W \subseteq U$ de \bar{x} tal que :*

- (i) $F(\bar{x}) = 0$ e $F(x) > 0 \quad \forall x \neq \bar{x}$
- (ii) $\dot{F} \leq 0$ em $W - \{\bar{x}\}$

então \bar{x} é estável.

se, além disto

- (iii) $\dot{F} < 0$ em $W - \{\bar{x}\}$

então \bar{x} é assintoticamente estável.

No teorema acima a função F é definida por :

$$\dot{F} = \sum_{j=1}^n \frac{\partial F}{\partial x_j} \cdot \dot{x}_j = \sum_{j=1}^n \frac{\partial F}{\partial x_j} \cdot f_j(x)$$

Os mais simples, mas importantes, tipos de sistema de EDO são os sistemas lineares, definidos como :

$$\dot{x} = A \cdot x, \quad x \in \mathbf{R}^n$$

onde A é uma matriz $n \times n$ com coeficientes constantes. note-se que se A for invertível, o único estado estacionário do sistema será o $\mathbf{0}$ (a origem de \mathbf{R}^n).

Os autovetores de A definem três possíveis subespaços :

os autovetores com parte real dos autovalores $Re(\lambda) > 0$ formam uma base para o subespaço instável E^u .

os autovetores com parte real dos autovalores $Re(\lambda) = 0$ formam uma base para o subespaço central E^c .

os autovetores com parte real dos autovalores $Re(\lambda) < 0$ formam uma base para o subespaço estável E^s .

Se x_0 está contido em algum subespaço então $\phi(x_0, t)$ permanece neste subespaço para todo t .

Além disto, se x_0 está contido em E^u então $\phi(x_0, t) \rightarrow \mathbf{0}$ quando $t \rightarrow -\infty$, se x_0 está contido em E^s então $\phi(x_0, t) \rightarrow \mathbf{0}$ quando $t \rightarrow \infty$.

Em outras palavras, os subespaços instáveis, centrais e estáveis, definem subespaços para os quais a origem 0 é, respectivamente, instável, estável e assintoticamente estável.

O método de Liapunov origina o seguinte teorema para sistemas lineares, ver [7, 19] :

Teorema 4 *Para um sistema linear $\dot{x} = Ax$ a origem é assintoticamente estável se e somente se existir uma matriz simétrica, positivo-definida B (como a matriz é simétrica, isto significa que todos os seus autovalores são reais positivos) tal que :*

$$B.A + A^T.B = -C$$

onde T indica a operação de transposição e C é uma matriz simétrica positivo-definida.

Pode ser observado que sistemas lineares para os quais todos os autovalores da matriz A tem parte real negativa são assintoticamente estáveis, pois assim \mathbb{R}^n se decompõe em um único subespaço estável, $E^s = \mathbb{R}^n$.

Todo este estudo dos sistemas lineares é fundamental para a classificação de sistemas não-lineares. Como foi visto (equação 2.1), um sistema de EDO geral pode ser escrito como $\dot{x} = f(x)$. Em cada ponto x_0 uma "aproximação" para o sistema não-linear será dada por $\dot{x} = Df|_{x_0} \cdot (x - x_0)$, onde $Df = [\partial f_i / \partial x_j]$ é uma matriz $n \times n$, conhecida como o *Jacobiano* de f . O seguinte teorema, fundamental para todo o estudo posterior, faz a conexão entre o comportamento de sistemas lineares e sistemas não-lineares, em torno de seus estados estacionários.

Teorema 5 (Hartman-Grobman) *Se $Df(\bar{x})$ não possui autovalores com parte real nula, então existe um homeomorfismo (função contínua bijetiva com inversa contínua) definido em uma vizinhança V de \bar{x} em \mathbb{R}^n , localmente levando órbitas de $\dot{x} = f(x)$ em órbitas do sistema linear $\dot{x} = Df|_{\bar{x}} \cdot (x - \bar{x})$. Este homeomorfismo preserva o sentido das órbitas.*

Em outras palavras, o teorema de Hartman-Grobman diz que o sistema $\dot{x} = f(x)$ na vizinhança de \bar{x} é topologicamente equivalente ao sistema linear dado pela equação $\dot{x} = Df|_{\bar{x}} \cdot (x - \bar{x})$, ou ainda, que o comportamento local em torno dos estados estacionários de um sistema não-linear é equivalente ao de sua aproximação linear em torno deste ponto, desde que os autovalores da matriz de linearização, isto é o Jacobiano, tenham parte real não-nula. Estes estados estacionários são ditos *estados estacionários hiperbólicos*.

Assim, um sistema não-linear será assintoticamente estável em torno de um estado estacionário se $Df|_{\bar{x}}$ possuir todos os autovalores com parte real negativa. Se o Jacobiano possuir ao menos um autovalor com parte real positiva, o estado estacionário possui ao menos uma direção de instabilidade e será, portanto, instável pela definição de estado estacionário instável.

Os autovalores de uma matriz A são calculados resolvendo-se a equação característica $\text{Det}(A - \lambda I) = 0$, onde Det é a função determinante e I a matriz identidade de mesma dimensão que A . Para uma matriz $n \times n$ a equação característica pode ser escrita na forma

$$c(\lambda) \equiv \lambda^n + a_1 \lambda^{n-1} + \dots + a_{n-1} \lambda + a_n = 0 \quad (2.2)$$

Antes do próximo teorema, é necessária uma outra definição.

Seja uma matriz $n \times n$:

$$\begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1n} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{n1} & a_{n2} & \cdots & a_{nn} \end{pmatrix}$$

Um *menor principal diagonal* da matriz acima será o determinante :

$$\begin{vmatrix} a_{11} & a_{12} & \cdots & a_{1m} \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ a_{m1} & a_{m2} & \cdots & a_{mm} \end{vmatrix}$$

onde $m \leq n$. O seguinte teorema [19, 34] relaciona as condições necessárias e suficientes para que uma equação característica tenha todos os seus autovalores com parte real negativa.

Teorema 6 (Condições de Routh–Hurwitz) *Para que todas as raízes da equação característica 2.2 tenham parte real negativa é necessário e suficiente que todos os menores principais da matriz de Hurwitz*

$$\begin{pmatrix} a_1 & a_3 & a_5 & \cdots & 0 \\ 1 & a_2 & a_4 & \cdots & 0 \\ 0 & a_1 & a_3 & \cdots & 0 \\ \vdots & \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ 0 & 0 & 0 & \cdots & a_n \end{pmatrix}$$

sejam positivos

Uma simplificação significativa do trabalho necessário para se testar as condições de Routh–Hurwitz é dada pelas condições de Liénard–Chipart :

Teorema 7 (Condições de Liénard–Chipart) *Para que todas as raízes da equação característica 2.2 tenham parte real negativa é necessário e suficiente que*

- 1) $a_i > 0, \quad i = 0 \dots 1$
- 2) $\Delta_{n-1} > 0, \quad \Delta_{n-3} > 0, \dots$

onde Δ_k é um menor principal diagonal de ordem k da matriz de Hurwitz.

Uma condição suficiente, simples, para que todos os autovalores de certo tipo de matrizes não tenham parte real positiva é dado pelo seguinte teorema [21].

Teorema 8 (Xu Daoyi) *Se uma matriz M , $n \times n$, a coeficientes reais $M = \{m_{ij}\}$ satisfaz $m_{ii} < 0 \quad \forall i$ e*

$$(-1)^k \begin{vmatrix} m_{11} & |m_{12}| & \cdots & |m_{1k}| \\ |m_{21}| & m_{22} & \cdots & |m_{2k}| \\ \vdots & \vdots & \ddots & \vdots \\ |m_{k1}| & |m_{k2}| & \cdots & m_{kk} \end{vmatrix} > 0$$

para todo $k = (1, 2, \dots, n)$, então nenhum autovalor de M tem parte real positiva.

Outro importante aspecto dos sistemas dinâmicos é o seu comportamento assintótico. Define-se um conjunto \mathcal{I} invariante pelo fluxo ϕ_t em \mathbb{R}^n , como sendo o subconjunto $\mathcal{I} \subset \mathbb{R}^n$ tal que $\phi_t(\mathbf{x}) \in \mathcal{I}$ para $\mathbf{x} \in \mathcal{I} \quad \forall t \in \mathbb{R}$.

Os estados estacionários e os subespaços estáveis, instáveis e centrais são exemplos de conjuntos invariantes pelos fluxos.

Um subconjunto invariante fechado $\mathcal{A} \subset \mathbb{R}^n$ é dito um conjunto atrator se existir uma vizinhança V de \mathcal{A} tal que $\phi_t(\mathbf{x}) \in V$ para $t \geq 0$ e $\phi_t \rightarrow \mathcal{A}$ quando $t \rightarrow \infty \quad \forall \mathbf{x} \in V$. Um conjunto repulsor é definido analogamente, fazendo uma inversão temporal, isto é, trocando-se t por $-t$.

Os estados estacionários assintoticamente estáveis são um exemplo de conjunto atrator.

Outra importante categoria de conjuntos atratores é formada pelos ciclos-limite estáveis. Estes são soluções periódicas do sistema 2.1 tais que $\phi_t(\mathbf{x}) = \phi_{t+T}(\mathbf{x})$, onde T é o período de oscilação. Esta órbita é um conjunto atrator.

A existência de ciclos-limite em sistemas dinâmicos nem sempre é fácil de se demonstrar. Todavia, este tipo de solução é muito importante, em particular quando o sistema dinâmico está associado a algum sistema físico de interesse, como será o caso desta tese, uma vez que o caráter oscilatório do ciclo-limite implica em um comportamento não trivial do sistema. É também de se notar que este é um comportamento exclusivo de sistemas não-lineares.

Menos triviais, e ainda bem menos compreendidos, são os chamados atratores estranhos. Estes são os atratores que aparecem nos chamados sistemas caóticos, os quais têm sido muito estudados nos últimos anos. Estes sistemas só começaram a ser melhor entendidos em meados da década de 70, e, mesmo hoje em dia, restam muitas questões fundamentais não respondidas. A característica mais marcantes de sistemas caóticos é a sensibilidade a condições iniciais.

A existência de sistemas com tal peculiaridade já havia sido detectada por Poincaré em seu trabalho sobre o problema dos três corpos. O trabalho de Smale na década de 60 sobre estabilidade estrutural de sistemas dinâmicos e a sua famosa construção da "ferradura de Smale" também trazem embutidos o fenômeno de caos [38].

Foi, porém, com os trabalhos de Lorenz [66], os quais ficaram conhecidos amplamente apenas alguns anos após sua publicação, que começou a ficar clara a importância e a presença dominante de sistemas dinâmicos caóticos. Ultimamente, esta tem sido uma área de intensa pesquisa e interesse, tanto para físicos e matemáticos como para biólogos, economistas, filósofos, etc.

Tanto no caso de ciclos-limite quanto no caso de caos, mas também para outros fenômenos, como estados estacionários múltiplos, está presente o chamado *problema de bifurcação*. O significado matemático de bifurcação é o mesmo da vida diária, isto é, “ponto em que alguma coisa se divide em dois ramos” [31].

O primeiro, nem assim o mais fácil, problema de bifurcações a ser atacado foi o da caracterização dos pontos de “desdobramentos” de pontos estacionários em uma família de equações diferenciais. Seja :

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{f}_\mu(\mathbf{x}); \quad \mathbf{x} \in \mathbf{R}^n, \mu \in \mathbf{R}^k \quad (2.3)$$

uma família de sistemas de equações diferenciais, dependentes do parâmetro k -dimensional μ . Os estados estacionários são dados pela solução do sistema de equações $\mathbf{f}_\mu(\mathbf{x}) = 0$. Pelo teorema da função implícita, ao se variar μ estes pontos estacionários constituirão funções contínuas e diferenciáveis de μ fora dos pontos em que o Jacobiano de $\mathbf{f}_\mu(\mathbf{x})$ com respeito a \mathbf{x} ($D_{\mathbf{x}}\mathbf{f}_\mu$) possuir um autovalor igual a zero. Estas funções serão os ramos de equilíbrio de equação 2.3. Os pontos em que $D_{\mathbf{x}}\mathbf{f}_\mu$ possui autovalor zero são pontos de bifurcação da equação 2.3 [79].

Os ciclos-limite também surgem, normalmente, através de bifurcações, as chamadas bifurcações de Hopf. Neste caso, ao ser variado um parâmetro $\mu \in \mathbf{R}$, chega-se a um ponto em que $D_{\mathbf{x}}\mathbf{f}_\mu$ possui um par de autovalores imaginários puros (λ e $\bar{\lambda}$). Se, além disto, $dRe(\lambda(\mu))/d\mu \neq 0$, ou seja, se a variação da parte real destes autovalores com o parâmetro μ for não-nula, então o estado estacionário estável dá origem a um ciclo-limite (que poderá ser estável ou não) [38].

Estas bifurcações são algumas das chamadas bifurcações locais (isto é, a partir de estados estacionários). As bifurcações associadas aos atratores estranhos são bifurcações globais. Um tipo importante de bifurcação associada a atratores

estranhos é conhecida por *bifurcação homoclínica* [38].

Estes problemas podem ser atacados tanto analiticamente, em geral o ponto de partida de qualquer estudo, quanto numericamente. O último enfoque é importante, principalmente, quando se trata de sistemas com um número muito grande de variáveis, ou quando se quer um quadro mais geral, por exemplo, um diagrama de bifurcações no espaço dos parâmetros do sistema.

As rotinas numéricas desenvolvidas nesta tese foram baseadas em algoritmos fundados nos chamados *métodos de continuação* [54, 55, 79]. Estes métodos estão bem estabelecidos e são amplamente empregados em trabalhos da área de bifurcação em sistemas dinâmicos.

Finalmente, vale mencionar o importante problema estudado na teoria de sistemas dinâmicos, chamado problema de *estabilidade estrutural* [71]. Este problema trata, grosso modo, de estabelecer classes de sistemas e características topológicas que se mantêm inalterados sob pequenas perturbações (definidas no espaço de sistemas de equações!). O teorema de Hartman–Grobman (Teorema 5) se encaixa neste enfoque como uma primeira, e mais local, visão do problema.

2.1.3 Estrutura básica das equações associadas à redes de reações químicas

Os sistemas de equações diferenciais ordinárias associadas às redes de reação química possuem uma estrutura especial, da qual se pode tirar partido para se obter informações dificilmente conseguidas para sistemas gerais de mesma magnitude.

A estrutura sobre a qual as diversas teorias estudadas a seguir se baseiam será apresentada adiante.

Um conceito que se mostrou muito importante no estudo de redes de reações foi o de *complexo*.

Seja uma rede de reações com n espécies X_1, \dots, X_n e r reações. Cada

reação da rede tem a forma genérica

$$\sum_{i=1}^n \nu_{r,\alpha}^i \cdot X_i \rightarrow \sum_{i=1}^n \nu_{p,\alpha}^i \cdot X_i$$

onde $\nu_{r,\alpha}^i$ e $\nu_{p,\alpha}^i$, os coeficientes estequiométricos das espécies, são números inteiros, i indica o coeficiente da i -ésima espécie (em uma ordem escolhida), r e p indicam se o coeficiente é relativo a uma espécie reagente ou produto, respectivamente, da reação número α .

Os vetores $\mathbf{y}_{r,\alpha}$ e $\mathbf{y}_{p,\alpha}$, constituídos, respectivamente, dos coeficientes estequiométricos de todos os reagentes e de todos os produtos da reação α , são os vetores de complexos da rede, relativos àquela reação. Note-se que, em princípio, os vetores de complexos podem ser repetidos.

Os índices r, α e p, α podem ser condensados em um só, escolhendo-se uma ordem para estes complexos. Assim, daqui em diante, \mathbf{y}_r e \mathbf{y}_p indicarão vetores de complexos números r e p , respectivamente, em uma ordem qualquer escolhida.

Associando a cada X_i o vetor da base canônica de \mathbb{R}^n , definido da forma usual $\mathbf{e}_i = (\underbrace{0, \dots, 0}_{(i-1)\text{-elementos}}, 1, 0, \dots, 0)^T$ com i -ésima componente um e as demais nulas, tem-se um espaço vetorial $\mathcal{E} = \mathbb{R}^n$, chamado espaço das espécies. O superescrito T denota, como de hábito, a operação de transposição de matrizes (e vetores).

Ao complexo \square é associado o vetor nulo $\mathbf{0}$.

Por exemplo, seja a rede :



com seis reações e seis complexos $A + B$, $2A$, B , C , C e A , correspondendo, no espaço das espécies aos vetores :

$$\mathbf{y}_1 = \begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad \mathbf{y}_2 = \begin{bmatrix} 2 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix} \quad \mathbf{y}_3 = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix}$$

$$\mathbf{y}_4 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} \quad \mathbf{y}_5 = \begin{bmatrix} 0 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} \quad \mathbf{y}_3 = \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ 0 \end{bmatrix}$$

A partir destes complexos podem ser formados os *vetores de reação*. Seja uma reação $\mathbf{y}_r \rightarrow \mathbf{y}_p$, a esta reação é associado o vetor de reação $\mathbf{y}_p - \mathbf{y}_r$. Assim, os seis vetores de reação da rede 2.4 serão :

$$\begin{aligned} \mathbf{y}_2 - \mathbf{y}_1 &= \begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix} & \mathbf{y}_1 - \mathbf{y}_2 &= \begin{bmatrix} -1 \\ 1 \\ 0 \end{bmatrix} & \mathbf{y}_4 - \mathbf{y}_3 &= \begin{bmatrix} 0 \\ -1 \\ 1 \end{bmatrix} \\ \mathbf{y}_3 - \mathbf{y}_4 &= \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \\ -1 \end{bmatrix} & \mathbf{y}_6 - \mathbf{y}_5 &= \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix} & \mathbf{y}_5 - \mathbf{y}_6 &= \begin{bmatrix} -1 \\ 0 \\ 1 \end{bmatrix} \end{aligned}$$

Os r vetores de reação de uma rede formam a matriz N , $n \times r$, chamada *matriz estequiométrica*. Para a reação 2.4 acima a matriz estequiométrica é :

$$\begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 1 & -1 \\ -1 & 1 & -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & -1 & 1 \end{bmatrix} \quad (2.5)$$

Dentre os vetores de reação podem ser obtidos d vetores linearmente independentes, com $d \leq n$ que formam uma base para um subespaço vetorial $S \subseteq \mathcal{E}$, chamado *subespaço estequiométrico*.

No caso da matriz 2.5 acima, os vetores da base do subespaço estequiométrico podem ser obtidos através de procedimentos usuais de álgebra linear, resultando, por exemplo, nos vetores :

$$\begin{bmatrix} 1 \\ -1 \\ 0 \end{bmatrix} \quad \begin{bmatrix} 1 \\ 0 \\ -1 \end{bmatrix}$$

Para cada reação $\mathbf{y}_r \rightarrow \mathbf{y}_p$ existe uma *função taxa* $\mathcal{K}_{r \rightarrow p}(\mathbf{x}) : \mathbb{R}_+^n \rightarrow \mathbb{R}$. A função taxa caracteriza a cinética adotada para a rede. Esta função deve cumprir :

- (i) $\mathcal{K}_{r \rightarrow p}(\mathbf{x})$ é diferenciável com derivada contínua
- (ii) $\mathcal{K}_{r \rightarrow p}(\mathbf{x}) \geq 0$
- (iii) $\mathcal{K}_{r \rightarrow p}(\mathbf{x}) = 0$ se e somente se alguma espécie reagente desta reação tiver concentração nula

A lei de ação de massas é dada por :

$$\mathcal{K}_{r \rightarrow p} = k_{r \rightarrow p} \prod_{i=1}^n X_i^{y_r^i}$$

ou seja, a constante cinética $k_{r \rightarrow p}$ multiplicada pelas concentrações das espécies reagentes elevadas ao seu respectivo coeficiente estequiométrico na reação $r \rightarrow p$.

Para se obter a taxa de variação da concentração de cada espécie devida à reação $r \rightarrow p$ multiplica-se $\mathcal{K}_{r \rightarrow p}$ pelo número de moléculas daquela espécie criada pela reação menos o número destruído na mesma. Fazendo : $\mathbf{x} = (X_1, \dots, X_n)^T$ a equação geral fica :

$$\dot{\mathbf{x}} = \sum_{\mathcal{R}} \mathcal{K}_{r \rightarrow p}(\mathbf{x}) \cdot (\mathbf{y}_p - \mathbf{y}_r) \quad (2.6)$$

onde $\sum_{\mathcal{R}}$ significa soma sobre todas as reações do sistema.

Para sistemas com a lei de ação de massas a equação 2.6 fica :

$$\dot{\mathbf{x}} = \sum_{\mathcal{R}} k_{r \rightarrow p} \prod_{i=1}^n X_i^{y_r^i} \cdot (\mathbf{y}_p - \mathbf{y}_r) \quad (2.7)$$

Nota-se imediatamente que os vetores $\dot{\mathbf{x}}$ pertencem ao subespaço estequiométrico S , pois são combinações lineares de vetores de reação $\mathbf{y}_p - \mathbf{y}_r$. Isto leva à conclusão de que a dinâmica do sistema estará restrita a um subconjunto do espaço das espécies, que será um subespaço afim paralelo ao subespaço estequiométrico S .

Mais tarde será mostrado que, de fato, a dinâmica do sistema está restrita a um subconjunto deste subespaço afim, chamado de *classe de compatibilidade estequiométrica* do sistema [27], que é a interseção do subespaço afim com o ortante positivo \mathbf{R}_+^n .

No caso da rede 2.4 acima, foi visto que o subespaço S admite como base o conjunto de vetores : $\{(1, -1, 0)^T, (1, 0, -1)^T\}$. Na figura 2.1 está representada geometricamente, no espaço das espécies, o subespaço S e uma classe de compatibilidade

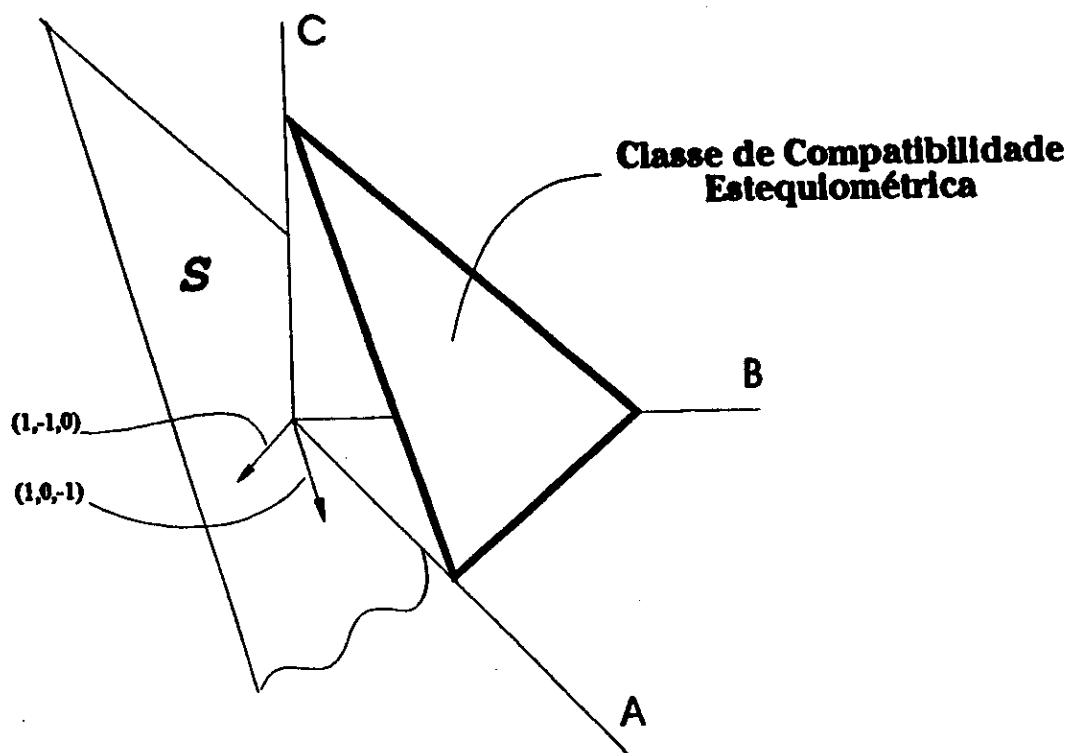


Figura 2.1: Subespaço estequiométrico e uma das classes de compatibilidade estequiométrica para o exemplo acima. Os vetores de reação que geram o subespaço estão indicados.

estequiométrica. Vale ressaltar que este último conceito será fundamental em todo o estudo posterior.

A equação 2.6 pode ser reescrita como :

$$\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{N} \cdot \mathbf{v} \quad (2.8)$$

onde \mathbf{N} é a matriz de estequiométrica, definida anteriormente, e \mathbf{v} é o chamado vetor taxa de reação, definido como :

$$\mathbf{v} = (\text{diag } \mathbf{k}) \cdot \mathbf{u}(\mathbf{x})$$

onde \mathbf{k} é o vetor das constantes cinéticas $k_{i \rightarrow j}$ e $\text{diag } \mathbf{k}$ é uma matriz $r \times r$ definida com \mathbf{k} na diagonal e demais elementos iguais a zero. O vetor $\mathbf{u}(\mathbf{x})$ é obtido a partir

da lei cinética, o que, no caso da lei de ação de massas, fica :

$$u_j(\mathbf{x}) = \prod_{i=1}^n X_i y_i^{y_j^i}$$

donde :

$$v_j(\mathbf{x}) = k_j \prod_{i=1}^n X_i y_i^{y_j^i} \quad (2.9)$$

onde o coeficiente j varre as r reações da rede em questão e os coeficientes de complexos considerados são apenas os de complexos reagentes. De fato, os vetores de complexos reagentes formam uma matriz Y , $n \times r$, chamada de *matriz dos expoentes estequiométricos*.

Usando a notação $\mathbf{x}^{Y_j} = \prod_{i=1}^n X_i y_i^{y_j^i}$ e $\mathbf{x}^Y = (x^{Y_1}, \dots, x^{Y_r})^T$, sendo y_j o vetor do complexo reagente da j -ésima reação, a equação 2.7 pode ser reescrita como :

$$\dot{\mathbf{x}} = N \cdot (\text{diag } \mathbf{k}) \cdot (\text{diag } \mathbf{x}^Y)$$

Em uma rede com r reações, o conjunto de reações entre os complexos pode ser representada pela matriz W , $r \times r$, definida da seguinte maneira : seja a j -ésima reação entre os complexos $y_{r(j)} \rightarrow y_{p(j)}$.

$$W_{ij} = \begin{cases} 1 & \text{se } i = p(j) \\ -1 & \text{se } i = r(j) \\ 0 & \text{de outra maneira} \end{cases}$$

Usando as matrizes Y e W a equação 2.8 fica :

$$\dot{\mathbf{x}} = Y \cdot W \cdot \mathbf{v}$$

As três condições de equilíbrio importantes para um sistema químico são :

- Os estados estacionários, onde $\dot{\mathbf{x}} = 0$.
- Os estados com **balanço de complexos**, onde $W \cdot \mathbf{v} = 0$, o que é suficiente, mas não necessário para a existência de um estado estacionário. Esta condição de balanço de complexos implica em que, globalmente, nenhum complexo está sendo criado ou destruído no sistema.

- Os estados com **balanço detalhado**, onde $\mathcal{K}_{r \rightarrow p} = \mathcal{K}_{p \rightarrow r}$, o que é suficiente, mas não necessário para a existência de um estado estacionário e também suficiente, mas não necessário para a existência de um estado com balanço de complexos. Esta condição é a condição tradicional de equilíbrio químico.

A rede de reações pode ter quantidades conservadas, cuja caracterização fica facilitada com as definições acima. Foi dito que d vetores de reação linearmente independentes formam uma base para o subespaço estequiométrico. Assim, o subespaço estequiométrico terá esta mesma dimensão :

$$\dim S = d$$

Porém, por definição d será também o posto da matriz N , $n \times r$, e, portanto, $d \leq \min\{n, r\}$. Como a rede possui n espécies e d equações linearmente independentes, existem então $n - d$ quantidades conservadas, isto é, equações linearmente dependentes.

Pode ser formada a *matriz de conservação* Γ com $n - d$ linhas linearmente independentes e n colunas, com as seguintes propriedades :

$$\Gamma \cdot \mathbf{x} = \mathbf{c}$$

$$\Gamma \cdot N = \mathbf{0}$$

onde $\mathbf{c} \in \mathbf{R}^{n-d}$ é o vetor de quantidades conservadas.

Para a rede 2.4 $n = 3$, $d = 2$ e, portanto, $n - d = 1$, ou seja, há uma quantidade conservada. A matriz de conservação será :

$$\gamma = (1, 1, 1)$$

o que representa simplesmente $A + B + C = T$, isto é, a soma das concentrações das espécies A, B e C e igual a uma constante T .

Note-se que os elementos da matriz Γ são todos positivos e que cada linha de Γ é ortogonal a todos os vetores de reação (as colunas de N). Assim, cada linha de Γ é ortogonal ao subespaço estequiométrico S . Então, a condição necessária e suficiente para que haja quantidades conservadas é que exista um vetor $\gamma \in \mathbf{R}_+^n$ (uma "linha" da matriz Γ) ortogonal a S .



2.2 Resultados matemáticos preliminares

Aqui são apresentados os primeiros métodos de ataque aos sistemas de equações devidos às redes de reações químicas.

2.2.1 O 1° sistema equivalente

Na seção 2.1.1 foi estabelecido o tipo básico de rede de reações que serão estudadas nesta tese, quais sejam, aquelas com ordem de reação máxima igual a dois, reversíveis, admitindo pseudo-reações e obedecendo a lei de ação de massas.

Foi mostrado por Willamowski [99] que este tipo de rede é equivalente a um tipo de rede denominada μ -molar, isto é, estes dois sistemas apresentam o mesmo comportamento dinâmico. Diversas características gerais destas redes μ -molares já são compreendidas.

A molaridade μ_a de um complexo y_a é igual a soma das componentes do complexo :

$$\begin{aligned}\mu_a &= \sum_{i=1}^n y_a^i \\ \mu_a &= y_a \cdot (1, 1, \dots, 1)^T\end{aligned}\tag{2.10}$$

Uma rede será μ -molar se todos os complexos tiverem molaridade igual a μ .

As redes μ -molares possuem sempre quantidades conservadas. De fato, como os vetores a base do subespaço estequiométrico são da forma $y_p - y_r$, e pela equação 2.10, então o subespaço estequiométrico é ortogonal ao vetor $(1, 1, \dots, 1)^T \in \mathbf{R}_+^n$, que era a condição necessária e suficiente para que houvesse quantidades conservadas. O inverso, porém, não é sempre verdade, como se pode mostrar por contra-exemplos.

O fato importante é que toda rede que não seja μ -molar pode ser associada a uma rede μ -molar através de uma transformação afim [99], mantendo as propriedades dinâmicas do sistema, como número e estabilidade dos estados estacionários, estabilidade dos ciclos-limite e outras características.

O sistema de equações $\dot{x} = f(x)$ de uma rede μ -molar com ordem de reação

máxima igual a dois, reversível, isto é, uma rede 2-molar, é da seguinte forma :

$$f_i = \mathbf{x}^T \cdot \mathbf{P}^i \cdot \mathbf{x} \quad i \in \langle 1, n \rangle = \{1, 2, \dots, n\} \quad (2.11)$$

onde \mathbf{P}^i são n matrizes $n \times n$, cujos coeficientes p_{jk}^i , devido a estar sendo assumida a lei de ação de massas, satisfazem às seguintes condições :

- (i) $p_{jk}^i = p_{kj}^i \quad \forall i, j, k \in \langle 1, n \rangle$
- (ii) $p_{jk}^i \geq 0 \quad \forall j \neq i, k \neq i \in \langle 1, n \rangle$
- (iii) $\sum_{i=1}^n p_{jk}^i = 0 \quad \forall j, k \in \langle 1, n \rangle$
- (iv) $p_{ii}^i \leq 0 \quad \forall i \in \langle 1, n \rangle$
- (v) $p_{il(i)}^i < 0$ para algum $l(i)$
- (vi) $p_{j(i)k(i)}^i > 0$ para algum $j(i) \neq i, k(i) \neq i$

Este sistema se encontra dentro de uma classe mais geral de equações, estudada por Jenks [48, 49, 99, 100], os quais possuem as seguintes propriedades :

- 1) As trajetórias do sistema 2.11 estão restritas às classes de compatibilidade estequiométrica.
- 2) O sistema 2.11 possui, pelo menos, um estado estacionário na classe de compatibilidade estequiométrica.
- 3) Os estados estacionários que eventualmente estejam no contorno das classes de compatibilidade estequiométrica, estarão todos nos vértices das mesmas. Em tais condições, estes estados serão instáveis.
- 4) O Jacobiano do sistema 2.11 nos estados estacionários instáveis terá, ao menos, um autovalor com parte real negativa, isto é, o sistema não admite fontes, sendo todos os estados estacionários hiperbólicos estáveis ou selas generalizadas.

O número máximo de estados estacionários m_{max} de uma rede de ordem dois e posto da matriz de reação igual a d , correspondendo a d equações independentes, em uma classe de compatibilidade estequiométrica será igual a :

$$m_{max} = 2^d \quad (2.12)$$

Este número m_{max} provém do teorema de Bézout [1], de acordo com o qual, o número de zeros simples reais (contando a multiplicidade) de d polinômios independentes em d variáveis com coeficientes reais será, no máximo, igual ao produto dos

graus destes polinômios. Com redes de ordem dois o grau de cada polinômio é menor ou igual a dois, justificando a fórmula 2.12. De fato, em cada caso concreto pode-se obter uma estimativa ainda melhor para este número.

O padrão de estabilidade destes estados estacionários pode ser obtido a partir do teorema de Poincaré–Hopf [35, 39, 100]. Aqui serão considerados somente sistemas com todos os estados estacionários hiperbólicos (os quais, do ponto de vista matemático, constituem a grande “maioria” dos sistemas [71]). Neste caso, os autovalores do Jacobiano do sistema calculado no estado estacionário possui parte real não nula.

Seja π_i o número de autovalores do Jacobiano da função f no estado estacionário i com parte real positiva, e considere-se que o número de estados estacionários no interior das classes de compatibilidade estequiométrica m seja finito. O teorema de Poincaré–Hopf leva a :

$$\sum_{i=1}^m (-1)^{\pi_i} = 1$$

Como $(-1)^{\pi_i} = \pm 1$ segue-se imediatamente que m é ímpar, o que, junto com a equação 2.12 resulta na seguinte desigualdade :

$$m \leq 2^d - 1 \quad (2.13)$$

A tabela 1 a seguir mostra os possíveis padrões de estabilidade para uma, duas ou três espécies independentes ($d = 1, 2$ ou 3) [100]. Neste caso, como o número de autovalores é igual a dimensão do sistema e pela propriedade 4) acima (existe, no mínimo, um autovalor com parte real negativa), conclui-se que $\pi_i \leq d - 1$. Uma das importantes conclusões a tirar da tabela é que para a existência de múltiplos estados estacionários é necessário que haja pelo menos um estado instável.

2.2.2 Análise de deficiência

Nesta seção são apresentados os aspectos essenciais da teoria desenvolvida por Horn, Feinberg e Jackson [25, 26, 43, 44, 45] para tratar de redes complexas de reações químicas, iniciada na década de setenta, mas cujo desenvolvimento ainda

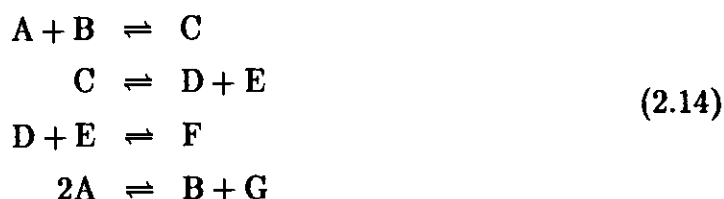
$d = 1(\pi_i \leq 0) \quad (m \leq 1)$									
m	π_1							padrão	
1	0							E	
$d = 2(\pi_i \leq 1) \quad (m \leq 3)$									
m	π_1	π_2	π_3						padrão
1	0						E		
3	0	0	1					2E, 1I	
$d = 3(\pi_i \leq 2) \quad (m \leq 7)$									
m	π_1	π_2	π_3	π_4	π_5	π_6	π_7	padrão	
1	0							E	
1	2							I	
3	0	0	1					2E, 1I	
3	0	2	1					1E, 2I	
3	2	2	1					3I	
5	0	0	0	1	1			3E, 2I	
5	0	0	2	1	1			2E, 3I	
5	0	2	2	1	1			1E, 4I	
5	2	2	2	1	1			5I	
7	0	0	0	0	1	1	1	4E, 3I	
7	0	0	0	2	1	1	1	3E, 4I	
7	0	0	2	2	1	1	1	2E, 5I	
7	0	2	2	2	1	1	1	1E, 6I	
7	2	2	2	2	1	1	1	7E	

Tabela 2.1: Padrões de estabilidade para dimensões $d = 1, 2$ ou 3 . m é o número de estados estacionários. π_i é o número de autovalores do estado estacionário i com parte real positiva. $\pi_i = 0$ implica em estabilidade. $\pi_i > 0$ implica em instabilidade (algum autovalor com parte real positiva).

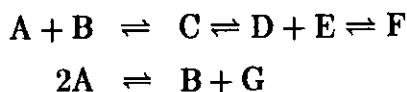
não se esgotou, como se pode ver pelos recentes resultados obtidos por Feinberg [27, 28, 29, 30]. Esta teoria fornece critérios relativamente simples para determinação da estabilidade de estados estacionários.

Um conceito fundamental é o de *deficiência*.

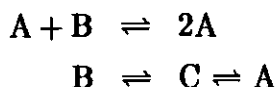
Seja uma rede com y complexos. Agora, deve ser formado o *diagrama padrão de reação*, que consiste em escrever cada complexo uma única vez e desenhar todas as reações entre os complexos. Procedendo desta maneira, se terá um diagrama com uma ou mais peças desconexas. Cada uma destas peças constitui uma *classe de ligação* da rede. A letra l denotará o número de classes de ligação de uma rede. Por exemplo, seja a seguinte rede :



Para a rede 2.14 existem seis complexos, $A+B$, C , $D+E$, F , $2A$ e G , e duas classes de ligação, a saber :



Para a rede apresentada na equação 2.4 vista na seção 2.1.3, o diagrama padrão fica :



A deficiência δ de uma rede com y complexos, l classes de ligação e posto da matriz de reação N igual a d é então dada pela fórmula :

$$\delta = y - l - d \tag{2.15}$$

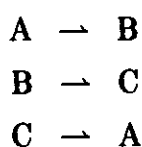
No caso da rede 2.14, o posto da matriz de reação é 4, logo a deficiência da rede será $\delta = 6 - 2 - 4 = 0$. Para a rede 2.4 tem-se $y = 5$ e $d = 2$, como $l = 2$, donde $\delta = 5 - 2 - 2 = 1$.

A deficiência de uma rede será um número inteiro, pois evidentemente y , l e d o são. Mais ainda, a deficiência é sempre um número não-negativo, como se prova a seguir.

Seja uma simplificação da rede na qual cada complexo está ligado ao número mínimo de complexos, de forma a ainda manter as mesmas classes de ligação. Este esquema simplificado possuirá a mesma deficiência da rede original pois y e l são os mesmos, por construção. O posto da matriz de reação (d) será o mesmo, pois qualquer nova reação a ser adicionada que reproduza a rede inicial, será acrescentada dentro de uma classe de ligação já existente e poderá ser obtida por combinações lineares de outras reações presentes na rede simplificada, não alterando, portanto, o posto da matriz N .

No esquema simplificado montado acima, o número de reações é $y - l$. Como o número de reações é maior ou igual a d , então $y - l \geq d$, implicando em $\delta \geq 0$.

O primeiro teorema fundamental demonstrado neste desenvolvimento se aplica a uma classe de redes que engloba a das redes reversíveis, a das chamadas redes *fracamente reversíveis*. Uma rede será fracamente reversível se, dados os complexos y_r e y_p tais que exista um caminho de reação indo de y_r para y_p , existir pelo menos um caminho de reação indo de y_p para y_r . Por exemplo, na rede



nenhuma reação é reversível, mas entre os três complexos existe sempre um caminho entre as reações.

Com estes conceitos pode ser enunciado o **Teorema de deficiência zero** :

Teorema 9 (Teorema de deficiência zero) *Toda rede fracamente reversível, considerando a lei de ação de massas, cuja deficiência δ é zero possui apenas um estado estacionário em cada classe de compatibilidade estequiométrica. Além disto, este estado será assintoticamente estável.*

Este teorema se prova mostrando que a condição de balanço de complexos é suficiente para assegurar a existência de um único estado estacionário por classe de compatibilidade estequiométrica, o qual será assintoticamente estável. As condições de reversibilidade fraca e deficiência zero são então mostradas necessárias e suficientes para que haja balanço de complexos.

Para a rede 2.14, cujo sistema de equações diferenciais é :

$$\begin{aligned}\dot{A} &= -k_1.A.B + k_{-1}.C - k_4.A^2 + k_{-4}.B.G \\ \dot{B} &= -k_1.A.B + k_{-1}.C + k_4.A^2 - k_{-4}.B.G \\ \dot{C} &= k_1.A.B - k_{-1}.C - k_2.C + k_{-2}.D.E \\ \dot{D} &= k_2.C - k_{-2}.D.E - k_3.D.E + k_{-3}.F \\ \dot{E} &= k_2.C - k_{-2}.D.E - k_3.D.E + k_{-3}.F \\ \dot{F} &= k_3.D.E - k_{-3}.F \\ \dot{G} &= k_4.A^2 - k_{-4}.B.G\end{aligned}$$

pode ser afirmado que haverá, para cada conjunto de coeficientes cinéticos k , um único estado estacionário por classe de compatibilidade estequiométrica, assintoticamente estável, pois para esta rede foi visto que $\delta = 0$ e a rede é reversível, em particular, fracamente reversível. O resultado é notável, pois a rede 2.14 apresenta uma grande quantidade de termos não-lineares. De outra maneira, o estudo desta rede seria, possivelmente, bastante difícil.

Definindo δ_i como a deficiência de cada classe de ligação, considerada como uma rede de reação independente, Feinberg [27] anunciou o seguinte teorema :

Teorema 10 (Teorema de deficiência um) *Seja uma rede com lei de ação de massas, fracamente reversível, contendo l classes de ligação. Se entre a deficiência δ da rede como um todo e as deficiências δ_i de cada classe de ligação existirem as relações :*

$$\begin{aligned}(i) \quad \delta_i &\leq 1 & i = 1, \dots, l \\ (ii) \quad \sum_{i=1}^l \delta_i &= \delta\end{aligned}\tag{2.16}$$

então o sistema admite um único estado estacionário por classe de compatibilidade estequiométrica.

Este teorema não se aplica à rede 2.4 pois as duas classes de ligação que constituem o sistema tem deficiência zero. Como se pode ver por este exemplo, apesar de toda a força destes dois teoremas, há ainda várias redes para as quais os resultados destes teoremas são insuficientes para decidir se há ou não estados estacionários instáveis. Há então necessidade de outros métodos para atacar o problema.

2.3 O método da análise de redes estequiométricas

O próximo método é a principal técnica a ser empregado nesta tese. A bem da verdade, todos os resultados apresentados até agora formarão com a análise de redes estequiométricas um todo, do qual este último é o núcleo.

2.3.1 Novos parâmetros

O método da análise de redes estequiométricas, desenvolvido por Clarke [18, 19, 20] permite encontrar uma parametrização que descreve todos os estados estacionários, evitando calcular, para cada conjunto de constantes cinéticas, os estados estacionários associados, o que é quase sempre impossível de forma fechada, mas permitindo uma análise de estabilidade dos mesmos.

Como foi visto na seção 2.1.3 (equação 2.8), a fórmula geral para um sistema químico com n espécies e r reações pode ser escrita como $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{N} \cdot \mathbf{v}$, onde \mathbf{N} é a matriz estequiométrica $n \times r$ e $\mathbf{v} \in \mathbf{R}_+^r$.

No estado estacionário fica $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{0}$, implicando em $\mathbf{N} \cdot \mathbf{v}^\circ = \mathbf{0}$, onde \mathbf{v}° é o vetor \mathbf{v} no estado estacionário. Como \mathbf{N} é uma matriz a coeficientes constantes, para uma dada rede \mathbf{v}° deverá pertencer ao chamado *núcleo à direita* de \mathbf{N} . Este núcleo à direita de \mathbf{N} ($\text{Ker}_D \mathbf{N}$) é um subespaço vetorial de \mathbf{R}^r . Isto pois se $x, y \in \text{Ker}_D \mathbf{N}$, então :

$$\mathbf{N} \cdot (x + y) = \mathbf{N} \cdot x + \mathbf{N} \cdot y = \mathbf{0} \Rightarrow x + y \in \text{Ker}_D \mathbf{N}$$

e

$$\mathbf{N} \cdot (\lambda x) = \lambda \cdot \mathbf{N} \cdot x = \mathbf{0} \Rightarrow \lambda x \in \text{Ker}_D \mathbf{N}$$

Mas $v \in \mathbf{R}_+^r$, logo $v^\circ \in \mathbf{R}_+^r \cap \text{Ker}_D N$. O conjunto de todos os v° forma um cone \mathcal{C}_N contido em \mathbf{R}_+^r .

$$\mathcal{C}_N = \{v^\circ \mid N.v^\circ = 0\}$$

O conjunto \mathcal{C}_N pode ser redefinido usando-se o politopo \mathcal{P}_N . Um politopo é uma generalização para dimensões superiores dos conceitos de polígonos e de poliedros nas dimensões 2 e 3, respectivamente. A definição de \mathcal{P}_N é :

$$\mathcal{P}_N = \{v^\circ \in \overline{\mathbf{R}}_+^r \mid N.v^\circ = 0, e_r^T.v^\circ = 1\}$$

onde $e_r = (1, \dots, 1)^T \in \mathbf{R}^r$

$$\mathcal{C}_N = \{\lambda v^\circ \mid v^\circ \in \mathcal{P}_N, \lambda \geq 0\}$$

Os politopos, assim como os polígonos e poliedros, podem ser representados por combinações convexas de seus vértices

$$\mathcal{P}_N = \{E.j \mid j \in \overline{\mathbf{R}}_+^f, e_f^T.j = 1\}$$

onde E é a matriz $r \times f$ cujas colunas são os f vértices de \mathcal{P}_N e $e_f = (1, \dots, 1)^T \in \mathbf{R}^f$.

Este problema é equivalente ao de se encontrar as soluções básicas viáveis em programação linear [19, 40]. Estas soluções são chamadas de *correntes extremas* por Clarke.

O cone \mathcal{C}_N fica então :

$$\mathcal{C}_N = \{E.j \mid j \in \overline{\mathbf{R}}_+^f\}$$

Para calcular a matriz E , é empregado um algoritmo, descrito a seguir.

Devem ser encontradas todas as soluções básicas viáveis de :

$$V.v = w$$

onde V é uma matriz $(d+1) \times r$ com uma linha de r elementos, todos iguais a um $\overbrace{(1, \dots, 1)}^{r\text{-elementos}}$, abaixo de d linhas linearmente independentes da matriz N e o vetor w é definido como $w = (\overbrace{0, \dots, 0}^{d\text{-elementos}}, 1)^T \in \mathbf{R}^{d+1}$.

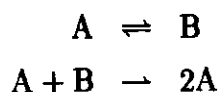
Estas soluções básicas são encontradas resolvendo-se o sistema

$$V' \cdot v' = w \quad (2.17)$$

onde V' são todas as submatrizes $(d+1) \times (d+1)$ de V .

Seja v° uma solução do sistema 2.17. O j -ésimo elemento v° , corresponderá à j -ésima coluna de V' . Esta j -ésima coluna de V' , por sua vez, provirá, por exemplo, da l -ésima coluna de V . Assim, o l -ésimo elemento da solução básica v° será igual ao j -ésimo elemento de v° . Desta forma são calculadas as correntes extremas.

Como exemplo, seja a seguinte rede não reversível :



neste caso, a matriz de reação é :

$$N = \begin{bmatrix} -1 & 1 & 1 \\ 1 & -1 & -1 \end{bmatrix}$$

cujo posto é igual a 1. Uma matriz V possível é :

$$V = \begin{bmatrix} -1 & 1 & 1 \\ 1 & 1 & 1 \end{bmatrix}$$

Os três subsistemas a resolver então são :

$$\begin{bmatrix} -1 & 1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} v'_1 \\ v'_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} -1 & 1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} v'_1 \\ v'_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix}$$

$$\begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 1 \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} v'_1 \\ v'_2 \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} 0 \\ 1 \end{bmatrix}$$

As soluções dos dois primeiros subsistemas são (o último subsistema não tem solução) :

$$\begin{bmatrix} 1/2 \\ 1/2 \end{bmatrix} \text{ e } \begin{bmatrix} 1/2 \\ 1/2 \end{bmatrix}$$

Como no primeiro sistema foram tomadas as colunas 1 e 2 de V, a solução básica correspondente é :

$$\begin{bmatrix} 1/2 \\ 1/2 \\ 0 \end{bmatrix}$$

Para o segundo sistema foram tomadas as colunas 1 e 3, ficando então a solução básica correspondente igual a :

$$\begin{bmatrix} 1/2 \\ 0 \\ 1/2 \end{bmatrix}$$

A matriz de correntes extremas (normalizada) associada à matriz V fica :

$$\begin{bmatrix} 1 & 1 \\ 1 & 0 \\ 0 & 1 \end{bmatrix}$$

O politopo \mathcal{P}_N , neste caso, é tão somente um segmento de reta. O cone \mathcal{C}_N é um setor de plano no espaço \mathbf{R}_+^3 (O espaço de reação é o \mathbf{R}_+^3 , pois são três as reações da rede). Estes objetos estão mostrados na Figura 2.2

Foi visto na seção 2.1.3 (equação 2.9) que :

$$v_r(\mathbf{x}) = k_r \prod_{i=1}^n X_i^{y_r^i}$$

Assim

$$v_r^\circ(\mathbf{x}^\circ) = k_r \prod_{i=1}^n X_i^\circ{}^{y_r^i}$$

donde

$$k_a = v_a^\circ(\mathbf{x}^\circ) \prod_{i=1}^n \left(\frac{1}{X_i^\circ}\right)^{y_a^i}$$

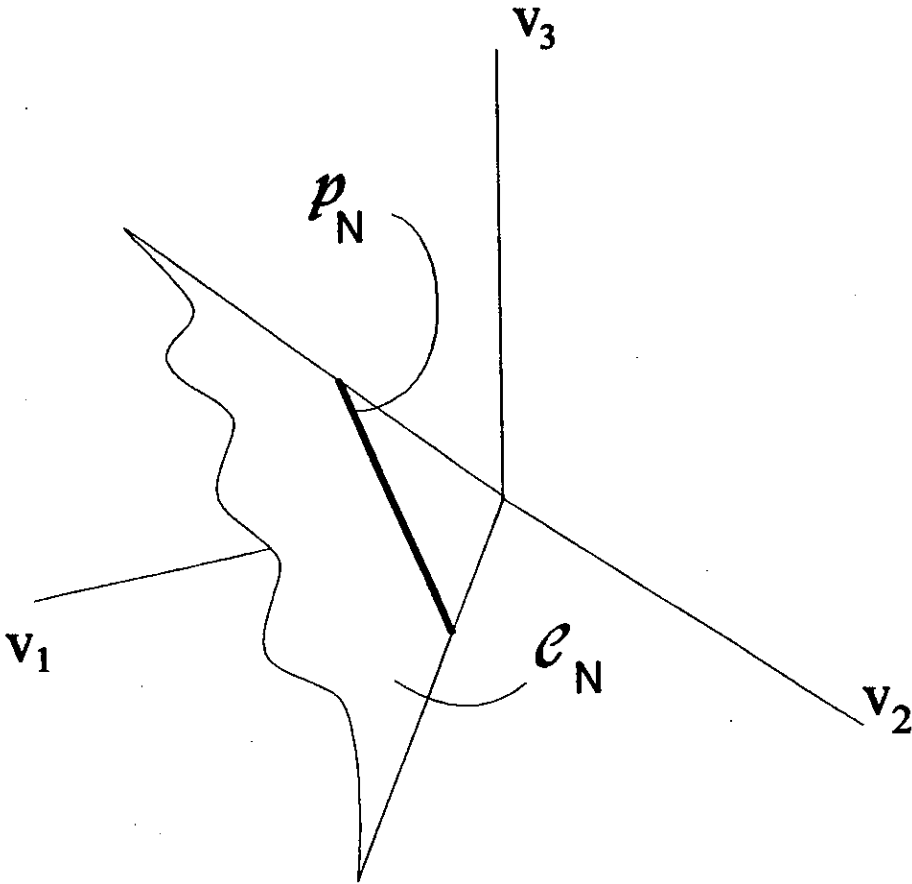


Figura 2.2: Politopo \mathcal{P}_N e cone \mathcal{C}_N para o exemplo acima.

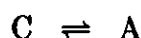
fazendo

$$\frac{1}{X_i^0} = h_i \quad (2.18)$$

como $v_r^0 = (\mathbf{E} \cdot \mathbf{j})_r$, chega-se a :

$$k_r = (\mathbf{E} \cdot \mathbf{j})_r \prod_{i=1}^n h_i^{y_r^i} \quad (2.19)$$

A rede 2.4 da seção 2.2.2 é :



com a matriz de reação :

$$N = \begin{bmatrix} 1 & -1 & 0 & 0 & 1 & -1 \\ -1 & 1 & -1 & 1 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & -1 & -1 & 1 \end{bmatrix}$$

A matriz das correntes extremas associada a esta última matriz é:

$$E = \begin{bmatrix} 1 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 1 & 0 \end{bmatrix}$$

Cada coluna de E representa uma corrente. Estas correntes estão no espaço das reações da rede. Assim, cada elemento de uma corrente representa uma reação química da rede. Desta forma, estas correntes extremas podem ser representadas graficamente, como na figura 2.3. Nesta representação, o número de “flechas” indica a estequiometria dos reagentes e o número de “penas” indica a estequiometria dos produtos.

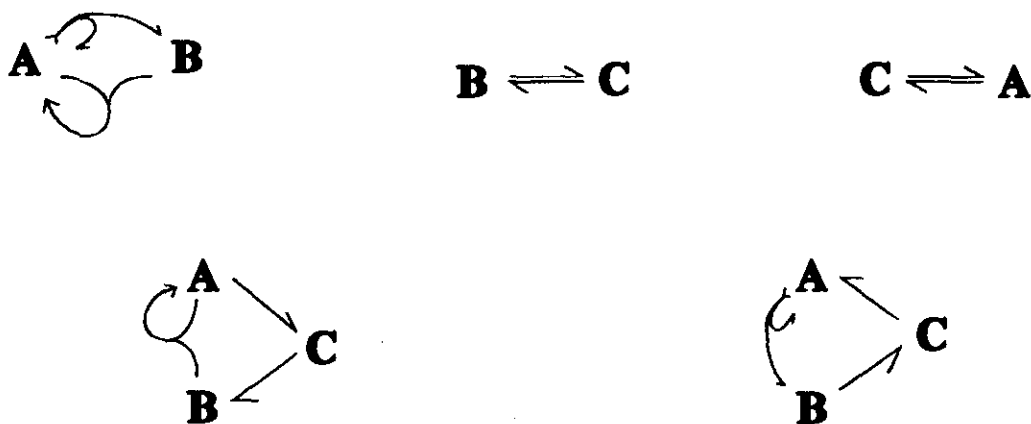


Figura 2.3: Representação gráfica das correntes extremas para a rede 2.4.

Fazendo $\mathbf{j} = (h, i, j, k, l)^T$ e $\mathbf{h} = (a, b, c)^T$ e aplicando a equação 2.19, as constantes cinéticas da rede acima admitem a seguinte parametrização :

$$\begin{aligned}
 k_1 &= (h + k)ab \\
 k_{-1} &= (h + l)a^2 \\
 k_2 &= (i + l)b \\
 k_{-2} &= (i + k)c \\
 k_3 &= (j + l)c \\
 k_{-3} &= (j + k)a
 \end{aligned}$$

As equações 2.18 e 2.19 constituem uma nova parametrização para o sistema. Com esta parametrização, o vetor \mathbf{j} define um estado estacionário, independentemente do valor atribuído a \mathbf{h} , isto é, para qualquer concentração positiva sempre existirá um conjunto de constantes cinéticas que tornam aquele estado um estado estacionário. A principal vantagem desta parametrização, contudo, vem da possibilidade de se estudar a estabilidade de todos os estados estacionários do sistema, como será visto

na próxima seção.

2.3.2 Matriz de linearização parametrizada

Seja \mathbf{x}° um estado estacionário do sistema de EDO $\dot{\mathbf{x}} = \mathbf{f}(\mathbf{x})$. Fazendo $\xi = \mathbf{x} - \mathbf{x}^\circ$, o sistema de EDO, em torno do estado estacionário, é equivalente, pelo teorema de Hartman-Grobman (teorema 5), ao sistema linear :

$$d\xi/dt = \mathbf{M}.\xi$$

onde \mathbf{M} é o Jacobiano de \mathbf{f} .

Para calcular a matriz \mathbf{M} em termos dos parâmetros \mathbf{j} e \mathbf{h} deve-se expandir a equação 2.8 da seção 2.1.3 em série de Taylor em torno de \mathbf{x}° :

$$(\mathbf{N}.\mathbf{v})_i = \sum_{l=1}^r N_{il} [v_l(\mathbf{x}^\circ, \mathbf{k}) + \sum_{m=1}^n \frac{\partial v_l}{\partial X_m^\circ}(\mathbf{x}^\circ, \mathbf{k})(X_m - X_m^\circ) + \dots]$$

mas

$$\frac{\partial v_l}{\partial X_m^\circ} = y_m^l v_l(\mathbf{x}^\circ, \mathbf{k})/X_m^\circ = h_m y_m^l v_l(\mathbf{x}^\circ, \mathbf{k})$$

logo

$$(\mathbf{N}.\mathbf{v})_i = (\mathbf{N}.\mathbf{v}^\circ)_i + \sum_{l=1}^r N_{il} \left[\sum_{m=1}^n h_m y_m^l v_l(\mathbf{x}^\circ, \mathbf{k})(X_m - X_m^\circ) + \dots \right]$$

mas

$$\mathbf{N}.\mathbf{v}^\circ = \mathbf{0}$$

e

$$v_l(\mathbf{x}^\circ, \mathbf{k}) = (\mathbf{E}.\mathbf{j})_l$$

donde, em primeira ordem :

$$\dot{x}_i = \sum_{l=1}^r N_{il} (\mathbf{E}.\mathbf{j})_l \sum_{m=1}^n h_m y_m^l (X_m - X_m^\circ)$$

ou, em forma matricial :

$$\dot{\mathbf{x}} = [\mathbf{N} \cdot (\text{diag } \mathbf{E}.\mathbf{j}) \cdot \mathbf{Y}^T \cdot (\text{diag } \mathbf{h})] \cdot (\mathbf{x} - \mathbf{x}^\circ)$$

donde a matriz M de linearização do sistema é :

$$M = N \cdot (\text{diag } E, \mathbf{j}) \cdot Y^T \cdot (\text{diag } \mathbf{h}) \quad (2.20)$$

Para a rede 2.4 da seção 2.1.3, a matriz de linearização é :

$$\begin{bmatrix} -a(h + j + 2l) & b(h + k) & c(j + l) \\ a(h - k + 2l) & -b(h + i + k + l) & c(i + k) \\ a(j + k) & b(i + l) & -c(i + j + k + l) \end{bmatrix} \quad (2.21)$$

Pode-se mostrar que a matriz M , $n \times n$, possuirá, pelo menos, $n - d$ autovalores nulos, associados às quantidades conservadas, os quais não interferem na dinâmica do sistema [48, 49]. Os demais d autovalores relevantes de M determinam o comportamento do sistema, se nenhum deles possuir parte real nula. Como já foi dito na seção 2.1.2, se, para um dado estado estacionário, todos os autovalores de M possuírem parte real negativa, este estado será assintoticamente estável. Se um dos autovalores tiver parte real positiva, o estado é instável.

Pode-se ver agora a enorme vantagem de trabalhar com os novos parâmetros \mathbf{j} e \mathbf{h}). Desta maneira não é preciso resolver o sistema de d equações algébricas não-lineares (quase sempre impossível de ser feito de forma fechada) para encontrar os estados estacionários e , a partir daí determinar sua estabilidade. Como os vetores \mathbf{j} e \mathbf{h} parametrizam todos os estados estacionários, basta saber se existem valores destes vetores para os quais M possui autovalores com parte real positiva. Se isto for verdade, o sistema apresenta estados estacionários instáveis.

Se puder ser mostrado para todos os valores de \mathbf{j} e \mathbf{h} que todos os autovalores relevantes de M tem parte real negativa, então para todos os conjuntos de constantes cinéticas, os estados estacionários serão assintoticamente estáveis. Em particular, em cada classe de compatibilidade estequiométrica haverá um único estado estacionário, como corolário dos resultados de Willamowski, apresentados na seção 2.2.1.

Aplicando o critério de Routh-Hurwitz à matriz 2.21 acima, é encontrado que a rede correspondente é assintoticamente estável para qualquer valor não nulo das constantes cinéticas.

Pode-se também procurar construir funções de Liapunov que garantam a estabilidade assintótica dos estados estacionários.

As matrizes de linearização da i -ésima corrente extrema são :

$$S_i = -N.(\text{diag} E_i).Y^T$$

assim

$$M = -\sum_{i=1}^f j_i.S_i.(\text{diag} h)$$

Seja a seguinte função de Liapunov :

$$L = \xi^T.B.\xi$$

onde $B = (\text{diag} h)$

Com o teorema 4 da seção 2.1.2, e a função de Liapunov acima tem-se :

$$\begin{aligned} B.M + M^T.B &= \sum_{i=1}^f j_i.[(\text{diag} h).S_i.(\text{diag} h) + (\text{diag} h).S_i^T.(\text{diag} h)] \\ &= 2\sum_{i=1}^f j_i.[(\text{diag} h).S_i^{sym}.(\text{diag} h)] \end{aligned}$$

onde

$$S_i^{sym} = \frac{1}{2}(S_i^T + S_i)$$

A condição suficiente para que a corrente extrema i seja estável é que nenhum autovalor de S_i^{sym} (uma matriz puramente numérica !) tenha parte real positiva. Uma tal corrente extrema será chamada *estável misturável*. Qualquer combinação deste tipo de correntes extremas é estável.

Clarke [19] provou também que se

$$\begin{aligned} S_i.\Gamma^T &= \mathbf{0} \\ \text{posto}(S_i) &= d \end{aligned}$$

então a corrente i é assintoticamente estável misturável. Mostrou também que correntes extremas fracamente reversíveis de deficiência nula são assintoticamente estáveis combináveis. Este último resultado é muito útil pois elimina, sem muito

esforço, uma grande quantidade de correntes extremas como candidatas a fontes de instabilidade.

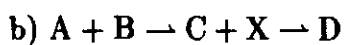
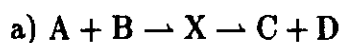
Outro teorema importante provado por Clarke [18] diz respeito a estabilidade de redes topologicamente similares.

Seja uma rede α contendo a reação



com A, B, C e D podendo ser quaisquer espécies, podendo mesmo ser iguais entre si ou à pseudo-espécie \square .

Uma extensão da rede α será uma nova rede com todas as reações iguais às daquela rede, exceto a reação 2.22, que pode se transformar em :



Clarke mostrou que se a rede original possui estados estacionários instáveis, então as extensões a) e b) também possuirão estados estacionários instáveis.

Como poderá ser melhor apreciado adiante, este resultado é extremamente útil. Ele permite analisar, a partir de modelos simples, redes muito complexas, para as quais mesmo os métodos descritos acima são de difícil aplicação, devido às dificuldades computacionais originadas com cálculos algébricos dos determinantes de Routh-Hurwitz.

Capítulo 3

Modelos Não-Lineares para o Transporte Ativo

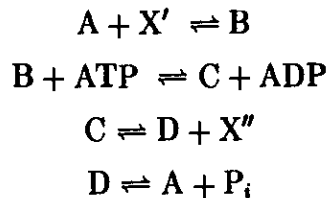
Neste capítulo são apresentadas as motivações existentes para o estudo de diversos modelos adicionais aos modelos usuais de transporte ativo. A necessidade básica de se estudar outros esquemas para o transporte ativo está no fato de os mecanismos já bem compreendidos e estabelecidos do ponto de vista bioquímico não fornecerem elementos para a explicação de fenômenos tais como oscilações, autocontrole, e outros.

Assim, novos esquemas são propostos com base em mecanismos que ainda devem ser confirmados em termos bioquímicos. A validade de tal estudo se baseia na perspectiva de este poder, em princípio, fazer predições que ajudem a apoiar ou rejeitar diferentes propostas de mecanismos de reação.

Também neste capítulo começa a ser ilustrado o poder dos métodos discutidos no capítulo 2. Desta forma, uma classificação de diversos modelos para transporte ativo é iniciada. Nos capítulos 4,5 e 6 alguns dos modelos aqui apresentados serão estudados de forma mais detalhada.

3.1 Modelos Usuais

Como foi visto no capítulo 1, o modelo do acesso alternado traduz o mecanismo básico para o transporte ativo em biomembranas no caso de ATPases tipo P, isto é, aquelas bombas transportadoras de cátions que formam um intermediário fosforilado. Dentre os modelos de acesso alternado, o mais simples, chamado de modelo mínimo de acesso alternado [59], foi apresentado na seção 1.2. As reações associadas ao modelo são :



onde X' representa o íon a ser transportado no meio externo e X'' este íon no meio interno.

As hipóteses principais do modelo são :

- i) Os sítios de ligação são acessíveis, alternadamente, a partir do lado externo da membrana ou do lado voltado para o citoplasma.
- ii) As reações de fosforilação-defosforilação e as transições conformacionais são tratadas como passos elementares.
- iii) Cada bomba transporta apenas um íon por ciclo.
- iv) Não será assumida a simplificação usual de equilíbrio entre os estados com sítios de ligação vazios e cheios [59].
- v) A concentração de íons e as concentrações de ATP, ADP e P_i são consideradas parâmetros externos.

Com pequenas mudanças o modelo poderia ser adaptado para modelos de cotransporte, pela introdução de um segundo ligante nos passos I e III. A Hipótese iii) seria então desnecessária. Para adaptar o modelo ao transporte de mais de um íon por ciclo seria útil considerar que os sítios de ligação estarão sempre ou completamente cheios ou completamente vazios. Outra hipótese assume que as bombas serão fosforiladas ou pelo ATP ou pela reação direta com fosfato inorgânico. Devido à hipótese

v), as concentrações de ATP, ADP, P_i e X, ou mesmo de um segunda substância, são tomadas como parâmetros fixos durante a evolução dinâmica do sistema. Assim, as constantes de reação podem ser substituídas em cada caso pela constante de reação efetiva, dependente de concentrações controladas externamente. Por exemplo, $k_1^{ef} = k_1 \cdot X'$. De fato, pode-se considerar que, neste modelo, cada uma das quatro etapas de reação representa, em realidade, um conjunto de reações complexas, compostas por outras etapas elementares. Convém salientar que tais considerações serão assumidas ao longo de todo o trabalho.

Extensões naturais deste modelo são esquemas compostos por 5, 6 e 8 espécies químicas diferentes. Estes modelos têm sido propostos a partir de diversos resultados experimentais em bioquímica, e servem de base para inúmeros trabalhos teóricos sobre cinética de reação, efeitos de campo elétrico aplicado à membrana, e outros [3, 59, 64].

Alguns esquemas compostos por mais espécies são considerados, por exemplo, ao se estudar efeitos da adição de magnésio, como foi visto no capítulo 1. Embora alguns destes últimos modelos sejam suficientes para explicar o comportamento não-Michaeliano de certas curvas experimentais, todos estes esquemas bem como aqueles derivados do modelo mínimo de acesso alternado apresentam um comportamento dinâmico trivial, isto é, todos estes modelos levam a um único estado estacionário, assintoticamente estável. Isto se vê facilmente aplicando a cada caso o teorema de deficiência zero. De fato, qualquer rede de reações químicas cujos complexos são todos unimoleculares tem um valor de deficiência igual a zero [45].

O comportamento dinâmico trivial torna estes modelos maus candidatos para processos de controle quando, por exemplo, é necessária uma operação de transporte em dois níveis de fluxo de íons com ordens de grandeza bem diferentes ou quando é necessária a passagem de um regime com fluxo de íons constante para outra, com fluxo de íons oscilatório.

Além de possuírem comportamento dinâmico trivial, estes modelos são incapazes de fornecer curvas ajustáveis a alguns dados experimentais de fluxo de íons versus concentração de proteínas transportadoras [52, 53].

3.2 Etapa Autocatalítica

Reações autocatalíticas são há muito tempo conhecidas em química e biologia. Com os trabalhos de Lotka e Volterra [69], alguns efeitos interessantes da adição de etapas autocatalíticas em redes de reações químicas (e modelos de dinâmica populacional) ficaram conhecidos. Com os trabalhos da escola de Bruxelas [69], liderada por Prigogine, ficou bem estabelecida a relevância deste tipo de processo para a formação das chamadas estruturas dissipativas, às quais estão intimamente associadas vários fenômenos biológicos, entre outros.

A reação autocatalítica mais simples é $A + B \rightarrow 2A$. O papel desta etapa em sistemas de transporte ativo tem sido mostrado em artigos publicados na literatura [92, 93, 98].

No caso de transporte ativo, a reação autocatalítica é introduzida para simular uma cooperatividade dinâmica. Para entender este processo de cooperatividade é importante lembrar que as bombas se difundem rapidamente nas membranas celulares e intracelulares [74, 98], e que a concentração de bombas de um mesmo tipo atinge valores elevados em certos casos [5], permitindo uma forte interação entre as mesmas.

Já em um modelo de quatro etapas de transporte (ciclo de transporte irreversível) com uma etapa autocatalítica adicional pode ser observada uma curva sigmoideal para fluxo de íons versus concentração de bombas, o que não ocorreria se o modelo não possuísse a etapa autocatalítica. O modelo está representado na figura 3.1.

Fazendo todas as constantes cinéticas iguais a um o sistema de equações diferenciais ordinárias associado a este modelo fica :

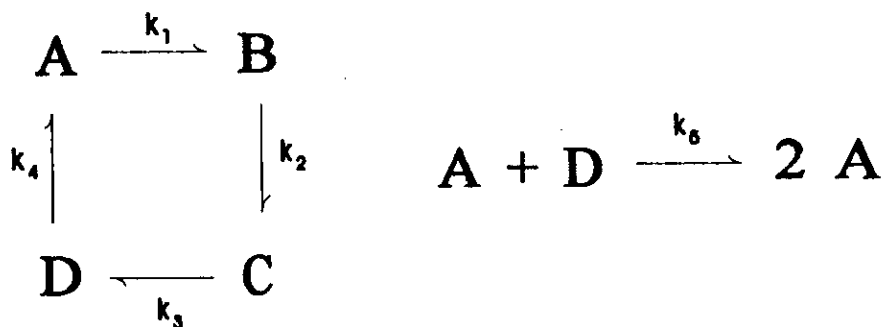


Figura 3.1: Modelo 1

$$\dot{A} = D - A + A.D$$

$$\dot{B} = A - B$$

$$\dot{C} = B - C$$

$$\dot{D} = C - D - A.D$$

$$T = A + B + C + D$$

onde T é a concentração total de bombas. O estado estacionário do sistema pode ser obtido analiticamente. Pode também ser provado ser este um estado estacionário assintoticamente estável. Para o modelo 1 acima a equação de fluxo de íons por bomba ($\Phi = k_2.B/T$) no estado estacionário fica :

$$\Phi = T - 4 + (T^2 + 4T + 16)^{1/2}/6T$$

Na figura 3.2 pode ser observado o comportamento sigmoidal do fluxo de íons por bomba versus concentração de bombas.

Uma extensão simples do modelo 1 é considerar todas as reações como sendo reversíveis. O modelo 2 está mostrado na figura 3.3.

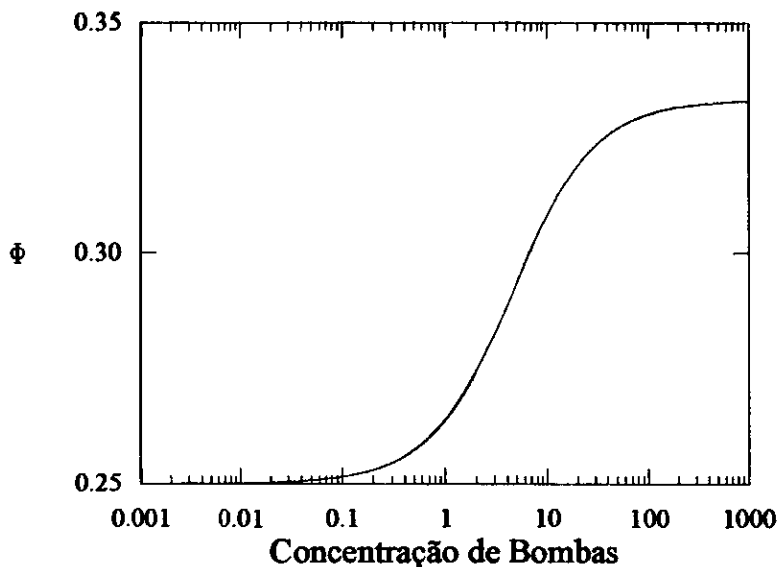


Figura 3.2: Curva de fluxo de íons por bomba versus concentração de bombas

O sistema de equações associado é :

$$\dot{A} = -k_1.A + k_{-1}.B + k_4.D - k_{-4}.A + k_5.A.D - k_{-5}.A^2$$

$$\dot{B} = k_1.A - k_{-1}.B - k_2.B + k_{-2}.C$$

$$\dot{C} = k_2.B - k_{-2}.C - k_3.C + k_{-3}.D$$

$$\dot{D} = k_3.C - k_{-3}.D - k_4.D + k_{-4}.A - k_5.A.D + k_{-5}.A^2$$

$$T = A + B + C + D$$

Este sistema possui duas equações de grau dois, as demais equações sendo de grau um. Como o número de bombas se conserva, pode ser eliminada uma das equações. Se for eliminada uma das equações de grau dois o sistema passa a contar com uma única equação de grau dois, sendo as demais de grau um. Assim, aplicando os teoremas de Bézout e de Willamowski [1, 99, 100] (ver capítulo 2, seção 2.2.1) se mostra que o sistema possui um único estado estacionário físico. Pode ser também calculada a deficiência do sistema, cujo valor é um. Assim, o teorema de deficiência zero não se aplica neste caso. O teorema de deficiência um também não se aplica pois as classes de ligação possuem deficiência zero. Assim, em princípio, o estado estacionário encontrado poderia ser instável.

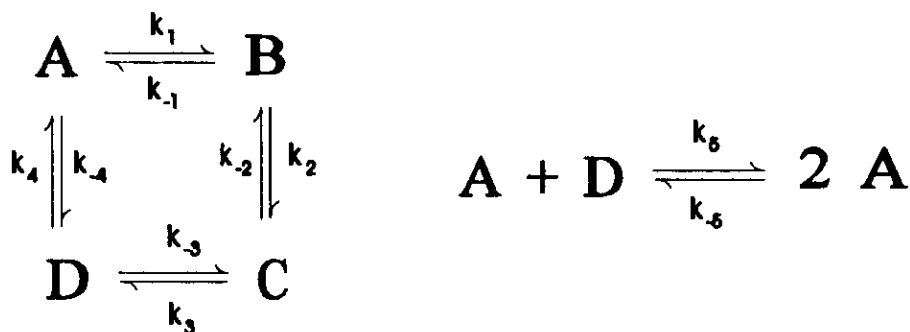


Figura 3.3: Modelo 2

O próximo passo, neste caso, é aplicar o método de análise de redes estequiométricas para estudar a estabilidade do estado estacionário associado ao modelo 2. O cálculo (exato) das correntes extremas foi feito por um programa desenvolvido durante esta tese, escrito em linguagem Pascal. Os cálculos algébrico posteriores foram feitos usando programas de computação algébrica DERIVE e MATHEMATICA. A matriz de correntes extremas para o modelo 2 é :

$$\begin{pmatrix}
 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 1 & 0 \\
 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\
 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\
 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\
 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\
 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\
 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\
 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1
 \end{pmatrix}$$

Os diagramas de correntes extremas associados a esta matriz são apresentados na figura 3.4.

As correntes 1 a 7 são de deficiência zero. Desta forma elas são assintoticamente estáveis misturáveis, ou seja, qualquer combinação entre estas correntes

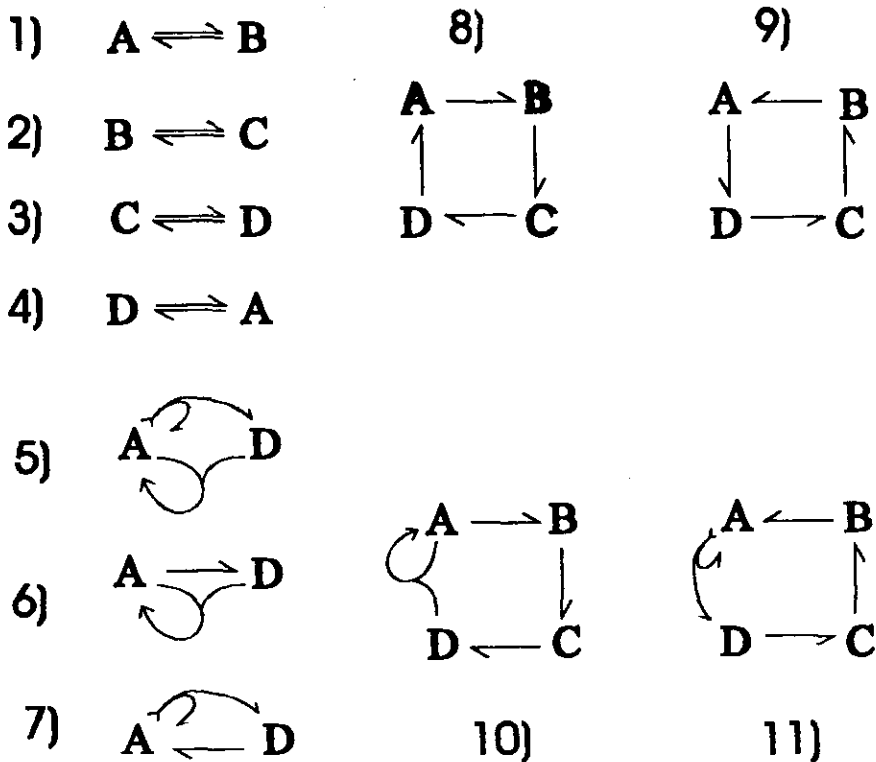


Figura 3.4: Correntes extremas do modelo 2

extrema fornece uma rede de reações com um único estado estacionário, o qual é assintoticamente estável. Aplicando o critério de Routh-Hurwitz [19, 34]) (ver capítulo 2, teorema 6) pode ser mostrado que as correntes 8 a 11 são assintoticamente estáveis. Pode ser mostrado também que combinações destas correntes extremas duas a duas são assintoticamente estáveis. Assim, o estado estacionário associado ao modelo 2 parece ser assintoticamente estável em qualquer condição. A combinação de todas as correntes não pôde ser feita devido à dificuldade computacional envolvida.

Como já foi dito, o modelo de quatro etapas para transporte ativo é o modelo mínimo para o mecanismo de acesso alternado. Uma vez que o modelo 2 possui um único estado estacionário, o qual parece ser assintoticamente estável para qualquer valor das constantes cinéticas, a pergunta é : *Modelos de 5, 6 e 8 etapas com uma etapa autocatalítica também possuem um único estado estacionário ? Este(s)*

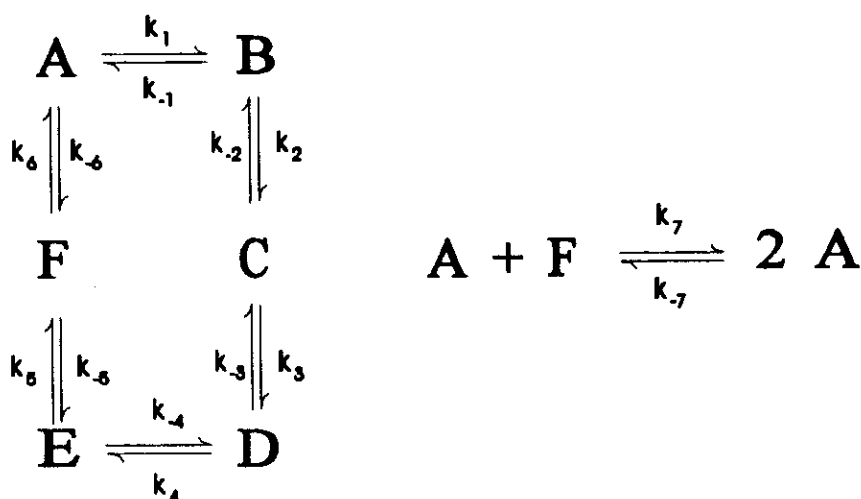


Figura 3.5: Modelo 3

estado(s) é (são) estável(is) ?

As respostas a estas perguntas são sim e não, respectivamente. Isto é, todos estes modelos possuem um único estado estacionário, mas este estado será instável para uma escolha adequada de constantes cinéticas.

O modelo 3 aqui estudado inclui seis estados da proteína transportadora além de uma reação autocatalítica, como pode ser visto na figura 3.5.

Assim como o modelo 2, este modelo possui um único estado estacionário físico. A rede de reações associada também é de deficiência um. No próximo capítulo será mostrado que este modelo apresenta comportamento oscilatório em regiões no espaço de constantes cinéticas. Será visto que apenas uma corrente extrema do modelo é a fonte de instabilidade. Esta corrente está mostrada na figura 3.6.

Esta rede de reações merece, portanto, um estudo a parte. Em realidade, uma rede semelhante com cinco estados já é capaz de levar o sistema a apresentar ciclos limites. Este será então o modelo 4 (ver figura 3.7).

Como foi mostrado acima (modelo 2), uma rede semelhante ao modelo 4 com quatro estados não apresenta instabilidade. Assim, o modelo 4 é o mais simples, associado ao transporte ativo, no qual se observa a existência de ciclos-limite. No próximo capítulo será determinado todo o conjunto de bifurcação de Hopf deste sistema.

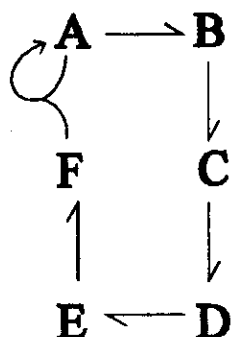


Figura 3.6: Corrente extrema instável do modelo 3

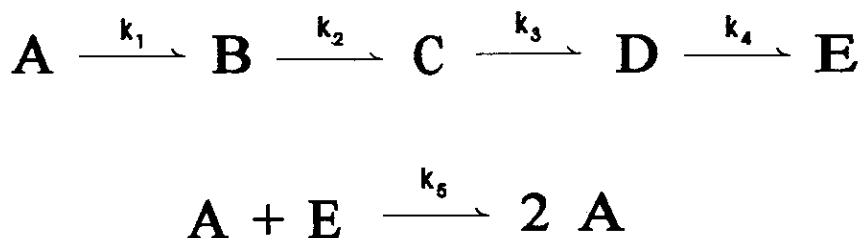


Figura 3.7: Modelo 4

3.3 Formação de complexos entre as proteínas transportadoras e outras macromoléculas

Nos sistemas biológicos é bem comum a associação entre as diversas espécies químicas para a execução de diversas tarefas. As bombas de transporte ativo não fogem a esta regra. Além da possível oligomerização entre as bombas para a realização do processo, a formação de complexos com outras moléculas, por exemplo com a calmodulina, já foi discutida no capítulo 1.

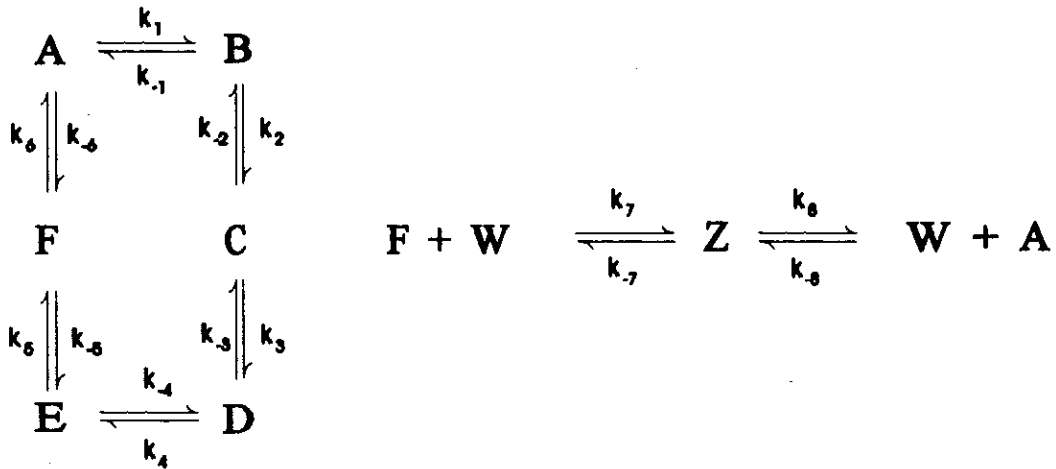


Figura 3.8: Modelo 5

A calmodulina influencia alguns processos de transporte. Nestes casos, o seu papel parece ser o de ativar a reação [52, 53]. Porém, as etapas de reação nas quais a calmodulina aparece associada às bombas ainda não estão bem estabelecidas.

A suposição mais simples envolvendo a formação de complexos é assumir sua formação a partir de dois estados distintos da bomba. Como será visto adiante, tal hipótese não significará que sistemas mais completos deixarão de apresentar o tipo de comportamento de suas versões simplificadas. Ao contrário, sistemas mais completos são ainda melhores candidatos a apresentar dinâmica não trivial.

O primeiro modelo envolvendo formação de complexos é o modelo 5 apresentado na figura 3.8.

Para estudar este modelo será útil (para fins matemáticos) considerar que o estado A está associado a um reservatório de bombas, todas elas neste mesmo estado. Acrescenta-se deste modo ao modelo 5 a reação $\square \rightleftharpoons \text{A}$. Aplicando o método de análise de redes estequiométricas para este modelo é possível calcular a sua matriz de linearização no estado estacionário. Esta matriz será chamada daqui para frente de matriz M_{\square} . Todos os elementos de M_{\square} têm sinal definido, sendo todos os elementos na diagonal negativos. Isto permite a aplicação direta do teorema de Daoyi [21]

(capítulo 2, Teorema 8). Pode ser assim provado que todos os autovalores de M_{\square} têm parte real negativa.

Como as constantes cinéticas da reação $\square \rightleftharpoons A$ podem ser tomadas tão pequenas quanto se queira, a matriz de linearização associada ao modelo 5 pode ser colocada tao próxima quanto se queira de M_{\square} [71]. Assim, os autovalores da matriz de linearização associada ao modelo 5 deverão estar na vizinhança dos autovalores de M_{\square} . Como estes últimos possuem parte real sempre negativa, os autovalores associados aos pontos estacionários do modelo 5 não podem possuir parte real positiva. Isto prova que o modelo 5 possui um único estado estacionário hiperbólico, o qual é sempre estável.

Um modelo no qual se associa a formação de complexos de moléculas externas com as bombas de transporte ativo e uma etapa de reação autocatalítica já foi discutido na literatura [98]. Naquele modelo foi mostrado o surgimento de estados estacionários múltiplos. Foi também discutido como estes estados múltiplos podem ser ligados a processos de auto-regulação do transporte ativo. Aquele modelo, porém, não envolve todo o ciclo de transporte via monômeros [97].

No modelo 6 a seguir é considerado, além de um ciclo completo de seis estados, a formação de complexos de dois estados diferentes da bomba transportadora com moléculas externas, e uma etapa autocatalítica (ver figura 3.9).

No capítulo 5 será mostrado que este modelo apresenta, além de estados estacionários múltiplos, comportamento de fluxo oscilatório.

3.4 Formação de dímeros

Entre as diversas questões não totalmente resolvidas associadas ao transporte ativo se encontra a seguinte : *Qual é o número de unidades de proteína necessário para realizar o processo ?*

Embora para muitos sistemas tal pergunta pareça estar respondida, há diversos outros para os quais esta é ainda uma área de pesquisas [5, 47, 52, 53, 76].

Dos diversos trabalhos nesta linha vale realçar o de Kosck-Kosica e colabo-

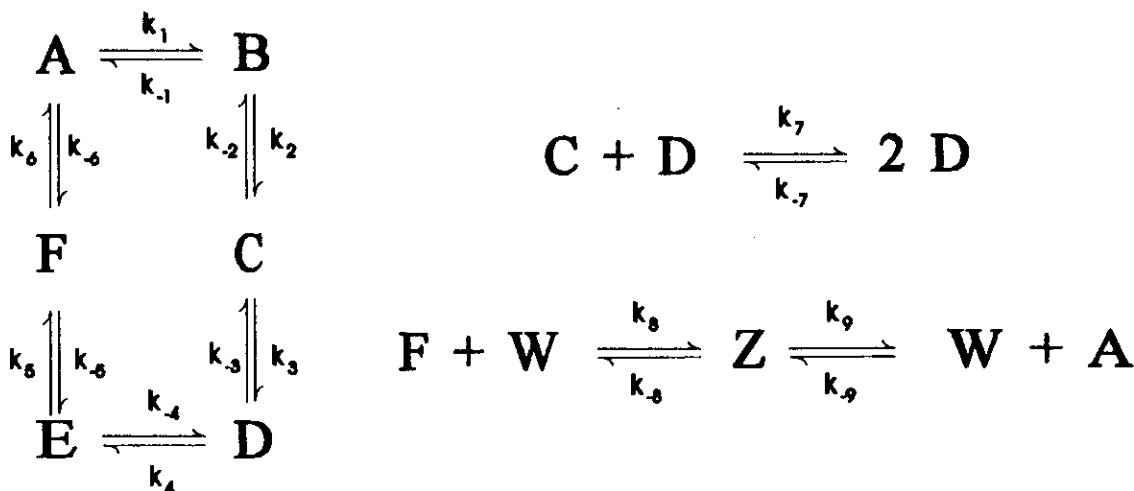


Figura 3.9: Modelo 6

radores [52, 53], indicando para a bomba de cálcio da membrana celular do eritrócito a existência de duas vias básicas para a ativação do processo de transporte. Uma das vias seria através da ativação de monômeros por calmodulina. A outra seria através da formação de dímeros entre as bombas. Todavia, estes tipos de mecanismos têm sido objeto de poucos estudos teóricos.

A existência de um ciclo completo de transporte via dímeros é então uma possibilidade. Uma outra possibilidade é considerar a formação de dímeros apenas como uma rota mais rápida dentro de um ciclo via monômeros.

Estas duas hipóteses, isoladamente, também levam a uma dinâmica trivial. Existe, porém, um outro aspecto a ser levado em consideração, isto é, a dinâmica de reação destes dímeros, ou seja, sua contínua formação e dissociação. Nesta linha, serão estudados dois modelos com formação de dímeros.

Um primeiro modelo inclui um ciclo completo de seis estados de monômeros e um ciclo completo de oito estados de dímeros, existindo competitivamente. Ao lado destes dois ciclos são incluídas duas etapas de formação e dissociação de dímeros (ver figura 3.10).

Este modelo apresenta comportamento oscilatório, como será visto no capítulo

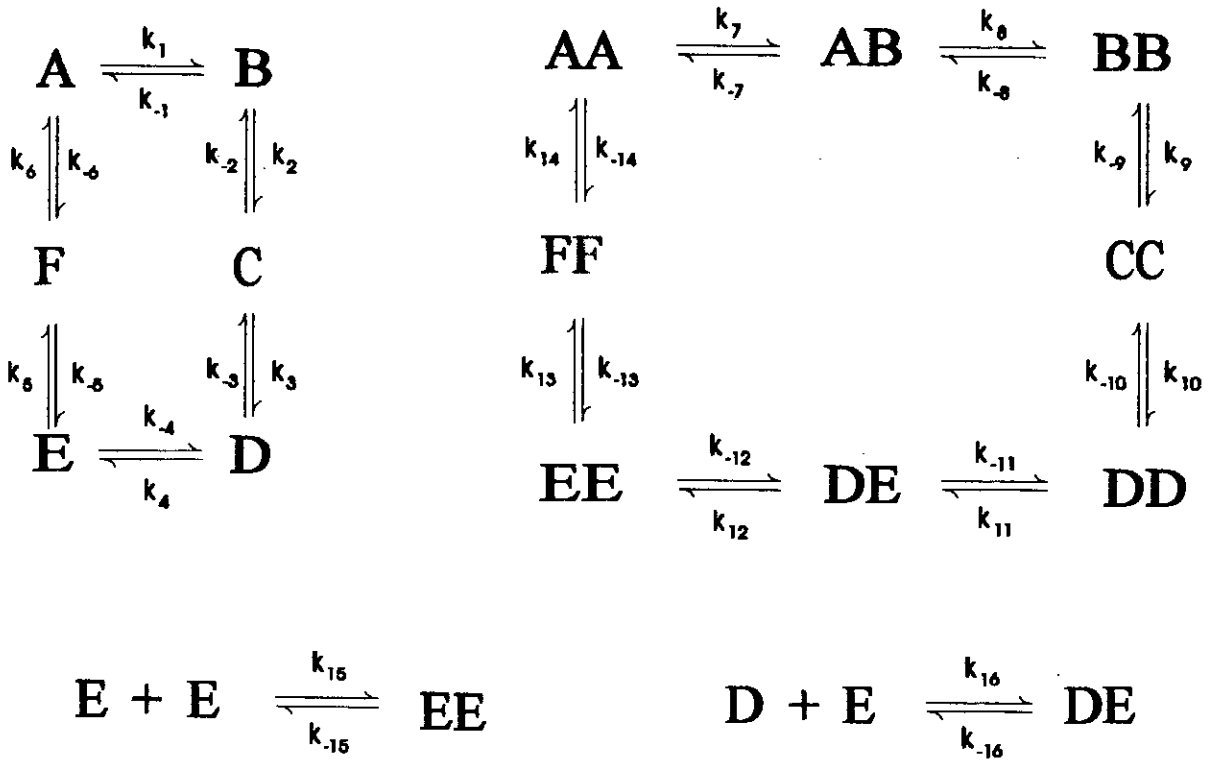


Figura 3.10: Modelo 7

5. Será mostrado que a escolha arbitrária dos tipos de dímeros a serem formados dinamicamente não implicará em um comportamento a desaparecer quando do estudo de um modelo completo. Pelo contrário, um modelo com formação dinâmica de todos os dímeros apresentará ainda mais facilmente o tipo de comportamento não trivial associado ao modelo 7 acima.

Um segundo modelo inclui a formação de dímeros como uma etapa cineticamente mais rápida dentro do ciclo de transporte. Este modelo incluirá também uma outra rota cineticamente favorável através da formação de complexos ativados com calmodulina, cuja concentração neste caso será tomada como constante (hipótese

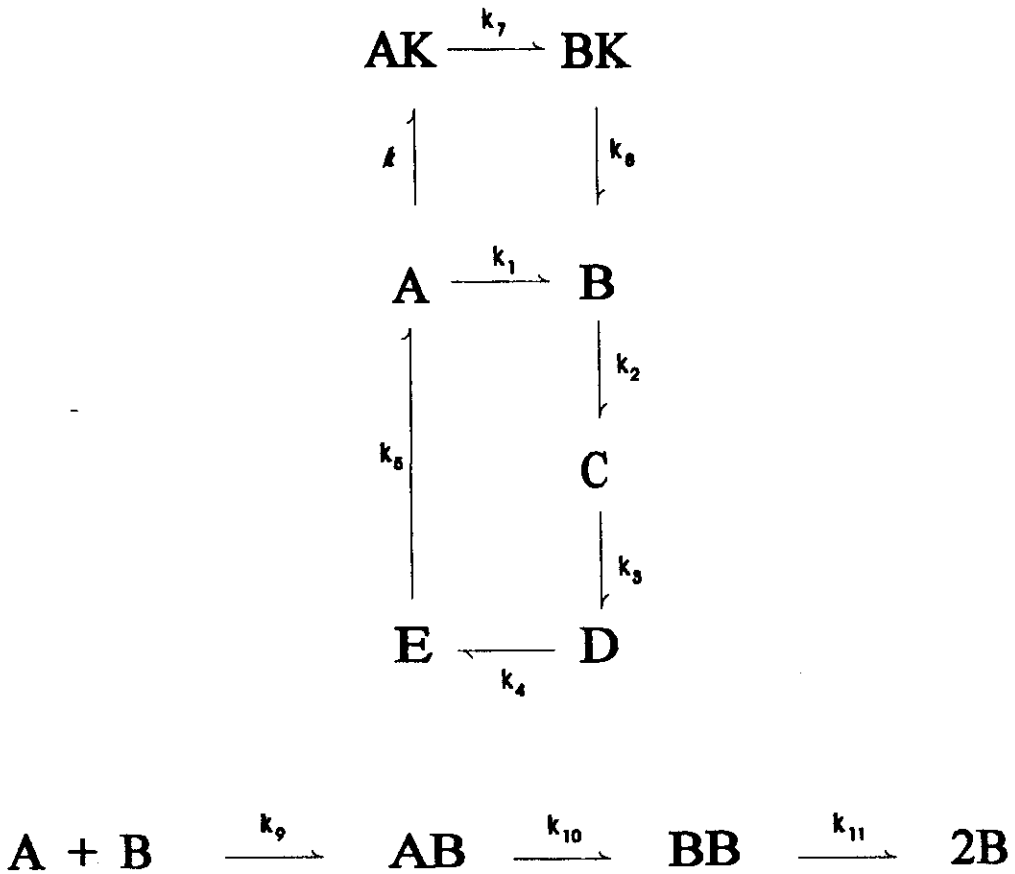


Figura 3.11: Modelo 8

razoável sabendo-se que a concentração de calmodulina é usualmente bem superior à das bombas). Neste caso, o ciclo básico de monômeros foi tomado como tendo cinco estados. Além disto, as transformações entre estas etapas foram assumidas como sendo irreversíveis. Estas duas ultimas hipóteses foram usadas por outros autores ao estudar o ciclo de transporte de cálcio na membrana do eritrócito [2, 3]. O modelo é esquematizado na figura 3.11.

Este modelo também apresenta comportamento oscilatório. Além disto, leva a curvas de fluxo de íons versus concentração de bombas semelhantes àqueles encontrados experimentalmente por Kosck-Kosica e colaboradores. Como já foi dito,

tal tipo de curva (sigmoidal) não aparece em modelos que consideram somente ciclos de monômeros.

Capítulo 4

Reação Autocatalítica

Como foi visto no capítulo anterior, a introdução de uma etapa autocatalítica produz efeitos não usuais na dinâmica de modelos para transporte ativo. Neste capítulo são estudadas em maior detalhe as conseqüências advindas da presença desta nova etapa nos modelos de transporte ativo. Aqui é feito também um estudo completo da bifurcação de Hopf no modelo 4, o mais simples associado com transporte ativo capaz de levar o sistema a um estado de auto-oscilações.

4.1 Oscilações em um modelo com autocatálise

Na figura 3.5 do capítulo 3 foi apresentada a rede de reações representando um modelo de transporte ativo com seis etapas de reação e um passo autocatalítico. O sistema de equações associado a este modelo é :

$$\begin{aligned}
\dot{A} &= -k_1.A + k_{-1}.B + k_6.F - k_{-6}.A + k_7.A.F - k_{-8}.A^2 \\
\dot{B} &= k_1.A - k_{-1}.B - k_2.B + k_{-2}.C \\
\dot{C} &= k_2.B - k_{-2}.C - k_3.C + k_{-3}.D \\
\dot{D} &= k_3.C - k_{-3}.D - k_4.D + k_{-4}.E \\
\dot{E} &= k_4.D - k_{-4}.E - k_5.E + k_{-5}.F \\
\dot{F} &= k_5.E - k_{-5}.F - k_6.F + k_{-6}.A - k_7.A.F + k_{-8}.A^2 \\
T &= A + B + C + D + E + F
\end{aligned}$$

Este sistema é composto por duas equações de grau dois e as demais de grau um. Como o número total de bombas é conservado, pode ser eliminada uma equação linearmente dependente. Eliminando uma equação de grau dois, o sistema passa a possuir somente uma equação de segunda ordem. Aplicando os teoremas de Bézout e de Willamowski [1, 99, 100] (ver capítulo 2) se mostra que o sistema possui um único estado estacionário físico, tal como o modelo 2. Pode ser mostrado também que a deficiência do sistema é um, e, portanto, o teorema de deficiência zero não se aplica. O teorema de deficiência um também não se aplica, pois as duas classes de ligação do modelo também apresentam deficiência nula, como é fácil verificar. Assim, em princípio, o estado estacionário encontrado pode ser instável.

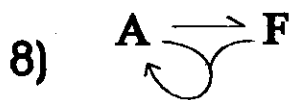
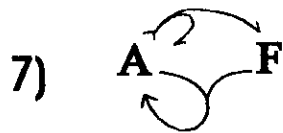
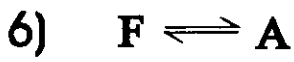
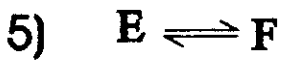
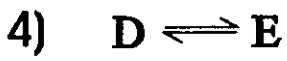
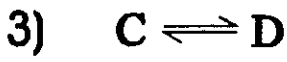
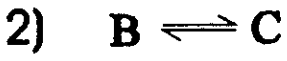
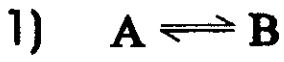
A matriz de correntes extremas para este modelo é :

$$\begin{pmatrix} 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 & 1 & 0 & 0 & 0 & 1 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 & 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1 \end{pmatrix}$$

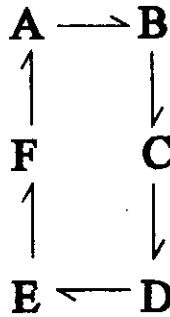
Os diagramas de correntes extremas do modelo são apresentados na figura 4.1.

Pode-se ver que as correntes 1 a 6 são equivalentes às correntes 1 a 4 do modelo 2, as correntes 7 a 9 são equivalentes as correntes 5 a 7 e as correntes 10 e 11 são equivalentes às correntes 8 e 9 do modelo 2. Todas estas correntes são assintoticamente estáveis. As correntes 12 e 13 são *semelhantes* às correntes 10 e 11, respectivamente. Pode ser mostrado que a corrente 13 do modelo 3 é assintoticamente estável.

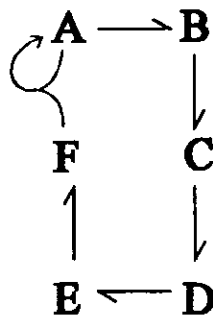
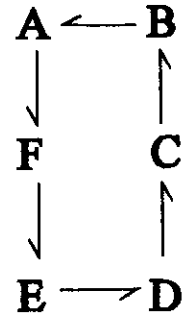
Porém, aplicando-se o critério de Routh-Hurwitz à corrente 12 conclui-se que esta é instável, sendo então uma fonte de instabilidade para o sistema como um todo. De fato, quando esta corrente tem um peso suficiente, e para vetores h bem definidos, o estado estacionário do modelo 3 é instável. O sistema passa então por uma bifurcação de Hopf, em outras palavras, possui um ciclo limite. Do ponto de vista de transporte ativo, isto implica na existência de regimes para os quais o fluxo de íons transportados é oscilante. No caso da corrente 12 acima é difícil realizar uma análise sistemática do conjunto de bifurcação de Hopf, como será feito adiante



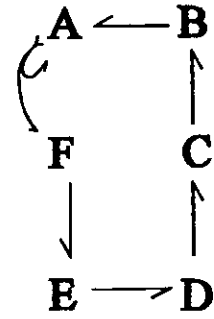
10)



11)



12)



13)

Figura 4.1: Correntes extremas do modelo 3

para uma rede equivalente com 5 estados. No entanto, não é muito complicado achar pontos para os quais a rede 12 é instável.

Como já foi dito, a hipótese de uma reação autocatalítica associada ao transporte ativo se baseia principalmente no fato de haver situações nas quais há uma grande possibilidade de interação entre as proteínas de transporte [5, 8, 98]. Por outro lado, como será visto mais adiante, uma reação autocatalítica pode ser vista como um versão simplificada de um processo de formação de dímeros. Esta última reação aparece sugerida para diversos sistemas de transporte ativo [5, 51, 52, 53, 76]. Assim, apenas por esta razão, o estudo da reação autocatalítica já se justificaria.

Fora as questões levantadas no último parágrafo, a existência de bifurcação de Hopf neste sistema já o torna digno de preocupação. Embora o transporte ativo esteja envolvido em diversos modelos levando à estruturas espaço-temporais, seu papel tem sido quase sempre auxiliar e a estrutura de reações estudada envolve, em geral, cinética cooperativa [36], e não as etapas elementares de transporte.

Entretanto, resultados experimentais recentes [85] mostram oscilações de cálcio no citoplasma acompanhadas por pulsos discretos de extrusão de cálcio no meio extracelular, via bombas de transporte ativo. Os autores concluem que a extrusão via bombas de Ca^{2+} da membrana tem um papel importante no caso de oscilações transientes. Pergunta-se então se, em alguns casos, a cinética de transporte ativo isoladamente poderia ser responsável por um tal processo. Foi também sugerido que oscilações de Ca^{2+} no *Physarum plasmodium* [89, 103] poderiam estar relacionadas com o transporte ativo em mitocôndrias. Este último problema tem sido estudado por diversos autores, por ser um sistema capaz de fornecer diversas respostas acerca dos mecanismos de movimento muscular. Por tudo isto, o estudo de modelos teóricos capazes de levar à oscilações parece estar amplamente justificado.

As constantes cinéticas do modelo 3 são parametrizadas por :

$$\begin{array}{ll}
k_1 = a.(c_1 + c_{10} + c_{12}) & k_{-1} = b.(c_1 + c_{11} + c_{13}) \\
k_2 = b.(c_2 + c_{10} + c_{12}) & k_{-2} = c.(c_2 + c_{11} + c_{13}) \\
k_3 = c.(c_3 + c_{10} + c_{12}) & k_{-3} = d.(c_3 + c_{11} + c_{13}) \\
k_4 = d.(c_4 + c_{10} + c_{12}) & k_{-4} = e.(c_4 + c_{11} + c_{13}) \\
k_5 = e.(c_5 + c_{10} + c_{12}) & k_{-5} = f.(c_5 + c_{11} + c_{13}) \\
k_6 = f.(c_6 + c_8 + c_{10}) & k_{-6} = a.(c_6 + c_8 + c_{11}) \\
k_7 = a.f.(c_7 + c_8 + c_{12}) & k_{-7} = a^2.(c_7 + c_9 + c_{13})
\end{array}$$

onde $\mathbf{j} = (c_1, \dots, c_{13})^T$ e $\mathbf{h} = (a, b, c, d, e, f)^T$ são os parâmetros da análise de redes estequiométricas.

Por exemplo, para o vetor $\mathbf{h} = (40, 1, 1, 1, 1, 0.05)^T$, a matriz de linearização da corrente 12 possui os seguintes autovalores relevantes :

$$(0.02 + 1.5i, 0.02 - 1.5i, -1.15 + 0.9i, -1.15 - 0.9i, -1.8)$$

Como há um par de autovalores conjugados com parte real positiva, o estado estacionário da corrente 12 para este vetor \mathbf{h} será instável. Mais ainda, há uma indicação da ocorrência de uma bifurcação de Hopf, o que de fato será verificado mais a frente.

Para comprovar ser esta uma bifurcação de Hopf basta acompanhar a evolução da parte real dos autovalores responsáveis pela instabilidade contra a variação de uma das constantes cinéticas. Desta maneira, é possível verificar que a parte real destes autovalores não apresenta derivada nula com relação à constante escolhida [38].

Pode ser feita uma análise de bifurcação a partir destes valores básicos, deixando livres, por exemplo, as constantes k_1 e k_{-1} . Esta análise, para a equação em questão, só pode ser feita numericamente. Os algoritmos empregados em tal análise estão descritos na literatura [55, 79]. O programa usado para realizar a análise de bifurcações foi desenvolvido em linguagem Pascal.

Dando um peso alto para a corrente 12, por exemplo, $c_{12} = 100$, e pesos pequeno para as demais correntes, zero em muitos casos, suficientes apenas para

parâmetro	valor	parâmetro	valor
k_2	100	k_{-2}	0.01
k_3	100	k_{-3}	0.01
k_4	100	k_{-4}	0.01
k_5	100	k_{-5}	0.0005
k_6	0.0005	k_{-6}	0.4
k_7	200	k_{-7}	16
T	24.025		

Tabela 4.1: Constantes cinéticas para o modelo 3. As unidades das constantes são arbitrárias.

fazer com que nenhuma constante cinética seja nula, o modelo 3 possuirá então um estado estacionário instável. Pode ser escolhido, por exemplo :

$$\mathbf{j} = (0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0, 0.01, 0, 0.01, 100, 0)^T$$

Com os valores de \mathbf{h} e \mathbf{j} escolhidos ficam definidos os valores das constantes cinéticas, apresentados na tabela 4.1. Os valores aqui empregados possuem um caráter tão somente demonstrativo. Nesta tabela estão todos os valores das constantes cinéticas empregados para fazer a análise de bifurcação, com exceção dos valores de k_1 e k_{-1} , que são deixados livres. O valor de T é obtido somando-se os inversos das componentes do vetor \mathbf{h} . Na figura 4.2 está mostrado a dinâmica oscilatória do modelo 3 (calculado numericamente com os parâmetros da tabela 4.1) após um transiente de uma unidade de tempo. Os valores de k_1 e k_{-1} estão indicados na figura 4.3, que mostra a curva dos pontos de bifurcação de Hopf no espaço das constantes cinéticas $k_1 \times k_{-1}$.

A determinação de diagramas de bifurcação pode ser muito útil para comparações com dados experimentais. Desta forma, modelos e constantes cinéticas propostos para um determinado sistema poderiam ser acompanhados em uma determinada faixa na qual se espera a ocorrência de uma bifurcação de Hopf. Uma boa coincidência entre os resultados seria um forte indicativo favorável ao modelo.

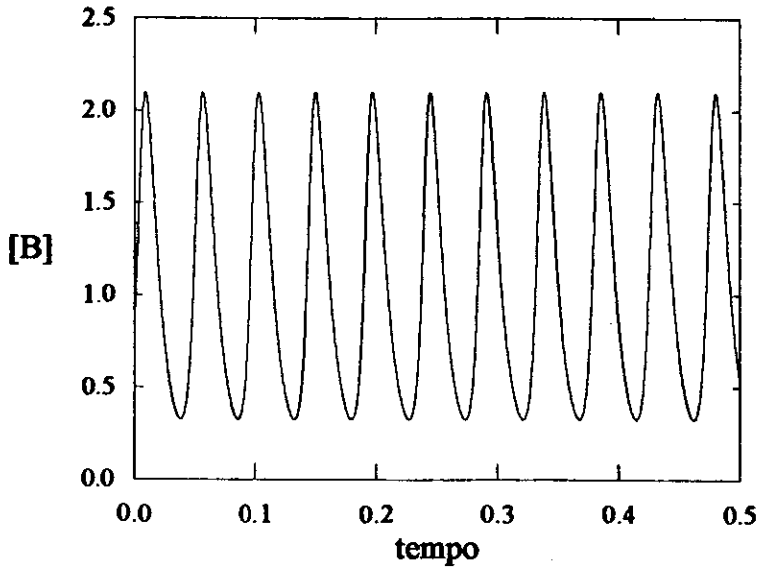


Figura 4.2: Oscilações no modelo 3. $k_1 = 4000$ e $k_{-1} = 0.05$. Os demais parâmetros estão dados na tabela 4.1.

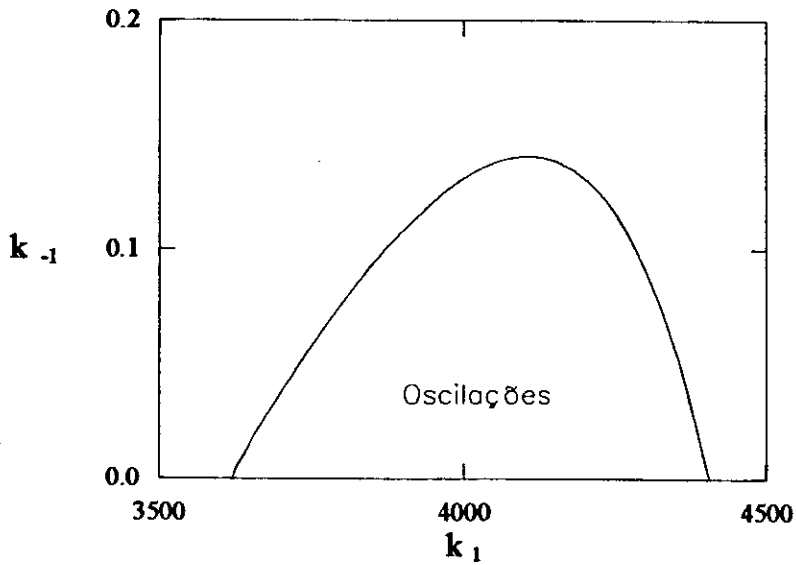


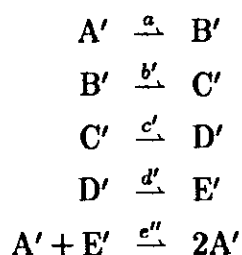
Figura 4.3: Diagrama de bifurcação para o modelo 3

Voltando à origem da instabilidade do modelo 3, isto é, à corrente extrema 12, deve-se notar a presença da reação autocatalítica $A + F \rightarrow 2A$. Cabe, porém, ressaltar que nada de especial há nas espécies A e F capaz de originar tal instabilidade. Esta é uma característica oriunda da topologia da rede de reações. De fato, qualquer corrente extrema equivalente à corrente 12 acima, com uma reação autocatalítica semelhante entre outras espécies, levaria à mesma instabilidade. Mais ainda, se todas estas reações fossem consideradas simultaneamente o sistema poderia, ainda com um leque maior de opções, passar por uma bifurcação de Hopf.

4.2 Determinação completa do conjunto de bifurcação de Hopf para o modelo 4

Nesta seção é investigada a bifurcação de Hopf para a rede de reação anel com cinco espécies e uma etapa autocatalítica. Será mostrado que a hipersuperfície de bifurcação no espaço das constantes cinéticas é a fronteira de um conjunto simplesmente conexo. Esta hipersuperfície é calculada através de métodos numéricos.

A rede de reação anel com cinco espécies e uma etapa autocatalítica, o modelo 4 deste trabalho, possui as seguintes reações :



onde A' , B' , C' , D' , e E' são as espécies químicas e as letras sobre as setas indicam as constantes cinéticas de cada reação.

Esta rede pode ser vista melhor graficamente na figura 4.4.

Este tipo de rede de reações foi chamada de rede de reação anel autocatalítica [19, 94].

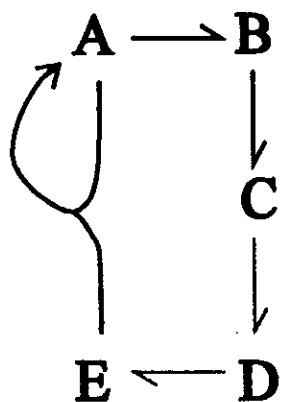


Figura 4.4: Modelo 4

O sistema de equações diferenciais associado a esta rede é :

$$\begin{aligned}
 \dot{A} &= -a.A' + e''.A'.E' \\
 \dot{B} &= a.A' - b'.B' \\
 \dot{C} &= b'.B' - c'.C' \\
 \dot{D} &= c'.C' - d'.D' \\
 \dot{E} &= d'.D' - e''.A'.E'
 \end{aligned} \tag{4.1}$$

onde $A', B', C', D',$ e E' são as concentrações das respectivas espécies. (A variável de tempo nesta equação é assumida como sendo igual a t').

As diferentes espécies representam diferentes estados de um único tipo de bomba, cuja concentração total é constante, ou seja, $T' = A' + B' + C' + D' + E'$, onde T' é a concentração total de bombas.

O sistema 4.1 pode ser transformado fazendo :

$$b = b'/a, c = c'/a, d = d'/a, e' = e''/a, t = t'/a$$

Esta é uma simples mudança de escala de tempo e não altera as características fundamentais do sistema.

A equação 4.1 fica :

$$\begin{aligned}\dot{A} &= -A' + e'.A'.E' \\ \dot{B} &= A' - b.B' \\ \dot{C} &= b.B' - c.C' \\ \dot{D} &= c.C' - d.D' \\ \dot{E} &= d.D' - e'.A'.E'\end{aligned}$$

Este sistema possui dois estados estacionários :

$$\text{ee1 ')} A'_o = B'_o = C'_o = D'_o = 0 \quad E'_o = T'$$

e

$$\text{ee2 ')} \left\{ \begin{array}{l} A'_o = (T' - E'_o)/(1 + (1/b' + 1/c' + 1/d')) \\ B'_o = A'_o/b \\ C'_o = A'_o/c \\ D'_o = A'_o/d \\ E'_o = 1/e' \end{array} \right.$$

O estado estacionário ee2') terá significado físico se e somente se $T' > 1/e'$.

Esta condição aparecerá naturalmente no que se segue.

A estabilidade dos estados estacionários é dada pelos autovalores da matriz Jacobiana do sistema de equações diferenciais calculada no estado estacionário.

Pode ser mostrado que o estado ee1' será sempre instável. Este estado, portanto, não gera nenhuma bifurcação de Hopf.

O Jacobiano calculado em ee2' é igual a :

$$\begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & e'.A'_o \\ 1 & -b & 0 & 0 & 0 \\ 0 & b & -c & 0 & 0 \\ 0 & 0 & c & -d & 0 \\ -1 & 0 & 0 & d & -e'.A'_o \end{bmatrix}$$

Pode-se notar que sistemas com valores iguais para b, c, d e $(e'.A'_o)$ apresentarão o mesmo padrão de estabilidade, pois possuirão os mesmos autovalores. Isto

induz a seguinte mudança de coordenadas :

$$A = A'/A'_0, B = B'/A'_0, C = C'/A'_0, D = D'/A'_0, E = E'/A'_0, T = T'/A'_0, e = e'.A'_0$$

Agora o sistema de equações está adimensionalizado. Sobre este sistema de equações será feito o estudo a seguir. O sistema é :

$$\begin{aligned}\dot{A} &= -A + e.A.E \\ \dot{B} &= A - b.B \\ \dot{C} &= b.B - c.C \\ \dot{D} &= c.C - d.D \\ \dot{E} &= d.D - e.A.E\end{aligned}\tag{4.2}$$

com a condição de conservação : $T = 1 + 1/b + 1/c + 1/d + 1/e$.

Para este sistema o estado estacionário importante é :

$$ee2) \left\{ \begin{array}{l} A_0 = 1 \\ B_0 = 1/b \\ C_0 = 1/c \\ D_0 = 1/d \\ E_0 = 1/e \end{array} \right.\tag{4.3}$$

O Jacobiano \mathbf{J} calculado no estado estacionário ee2 (4.3) é :

$$\begin{bmatrix} 0 & 0 & 0 & 0 & e \\ 1 & -b & 0 & 0 & 0 \\ 0 & b & -c & 0 & 0 \\ 0 & 0 & c & -d & 0 \\ -1 & 0 & 0 & d & -e \end{bmatrix}\tag{4.4}$$

O polinômio característico associado à matriz 4.4 ($\text{Det} [\mathbf{J} - \mathbf{x}.\mathbf{I}] = 0$, onde \mathbf{I} é a matriz identidade 5×5) é :

$$\begin{aligned}x^5 + x^4(b + c + d + e) + x^3(bc + bd + cd + e + be + ce + de) + \\ x^2(bcd + be + ce + bce + de + bde + cde) + x(bce + bde + cde + bcde) = 0\end{aligned}$$

Este polinômio possui uma raiz trivial devido à condição de conservação. Esta raiz indica tão somente que o sistema está restrito a um hiperplano associado à esta grandeza conservada.

Assim, a estabilidade do sistema dinâmico será dada pelo sinal das partes reais das soluções de :

$$x^4 + a_1 x^3 + a_2 x^2 + a_3 x + a_4 = 0 \quad (4.5)$$

onde :

$$\begin{aligned} a_1 &= b + c + d + e, \\ a_2 &= bc + bd + cd + e + be + ce + de, \\ a_3 &= bcd + be + ce + bce + de + bde + cde, \\ a_4 &= bce + bde + cde + bcde \end{aligned}$$

O critério de Routh-Hurwitz pode ser aplicado para se estudar a estabilidade do estado estacionário ee2 4.3.

Sejam R_3 e R_2 os dois determinantes de Routh-Hurwitz da equação 4.5

$$R_3 = \begin{vmatrix} a_1 & a_3 & 0 \\ 1 & a_2 & a_4 \\ 0 & a_1 & a_3 \end{vmatrix}$$

e

$$R_2 = \begin{vmatrix} a_1 & a_3 \\ 1 & a_2 \end{vmatrix}$$

Como $a_1, a_2, a_3, e a_4 > 0$ e $R_2 > 0 \quad \forall b, c, d, e > 0$, o estado estacionário ee2 (4.3) será instável se e somente se $R_3 < 0$. Neste ponto vale lembrar que uma rede semelhante com quatro espécies é sempre assintoticamente estável como foi dito na seção 3.2. Isto porque, para aquela rede, os determinantes de Routh-Hurwitz são sempre positivos.

Foi mostrado que as condições necessárias e suficientes para uma bifurcação de Hopf podem ser escritas em termos de determinantes de Routh-Hurwitz [23, 83].

Seja $\mathbf{P} = \mathbf{P}(b, c, d, e) = R_3$ [apêndice, eq. a)]. Para o sistema 4.2 as condições necessárias e suficientes para a existência de uma bifurcação de Hopf se reduzem a :

$$\begin{aligned} \text{A) } \mathbf{P} &= 0 \\ \text{B) } \partial\mathbf{P}/\partial b &\neq 0, \partial\mathbf{P}/\partial c \neq 0, \partial\mathbf{P}/\partial d \neq 0 \text{ ou } \partial\mathbf{P}/\partial e \neq 0 \end{aligned} \quad (4.6)$$

As condições que envolvem derivadas parciais são condições de transversalidade. Sabe-se, do teorema de transversalidade de Thom [38] que estas condições são satisfeitas genericamente. Matematicamente, um subconjunto é genérico no conjunto que o contém se for aberto e denso no mesmo. Do ponto de vista físico, condições genéricas são aquelas que levam uma determinada propriedade (genérica) a ser válida mesmo sob pequenas perturbações. Mais adiante será mostrado que o conjunto de valores para os quais a condição B) não é válida forma um conjunto de medida nula no espaço de parâmetros.

O primeiro objetivo desta seção é determinar o conjunto no qual a condição A) acima é válida.

Sejam :

$$\begin{aligned} \mathcal{P} &= \{(b, c, d, e); b, c, d, e \in \mathbf{R}_+\} \\ \mathcal{N} &= \{(b, c, d, e) \in \mathcal{P}; \mathbf{P}(b, c, d, e) < 0\} \\ \mathcal{Z} &= \{(b, c, d, e) \in \mathcal{P}; \mathbf{P}(b, c, d, e) = 0\} \end{aligned}$$

Como \mathbf{P} é uma função contínua, \mathcal{Z} é a fronteira de \mathcal{N} .

Na próxima seção será provado que o conjunto \mathcal{N} é simplesmente conexo. Na seção seguinte serão usados métodos de continuação para calcular o conjunto \mathcal{Z} . Será também discutida a questão das condições de transversalidade. Desta forma, será obtida uma descrição completa da bifurcação de Hopf para a equação 4.2.

4.2.1 O conjunto \mathcal{N}

Pode-se verificar facilmente que o polinômio \mathbf{P} é invariante sob quaisquer permutações entre as variáveis b, c, e, d . Primeiramente será investigado o quadrante (b, c) , isto é, serão considerados fixos os valores de d e e e será vista a restrição de

\mathcal{N} ao primeiro quadrante ($b > 0, c > 0$) do plano (b, c) . De fato, pela invariância de \mathbf{P} sob permutações, as mesmas conclusões serão válidas para os quadrantes (b, d) e (c, d) .

O plano $(b-c)$

Seja $c = r.b$. Para valores fixos de r pode-se estudar as variações de sinal de \mathbf{P} ao longo de um raio vindo da origem no quadrante (b, c) . O polinômio \mathbf{P} fica :

$$\mathbf{P} = \alpha.b^5 + \beta.b^4 + \gamma.b^3 + \delta.b^2 + \epsilon.b + \zeta$$

onde $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta$ são funções de d, e, r [apêndice, eq. b)]

O número máximo de zeros reais positivos para um polinômio em uma variável é dado pela regra de sinais de Descartes [14]. Esta regra diz que tal número é igual a variação de sinais dos coeficientes do polinômio, arranjados na ordem decrescente do grau correspondente das variáveis.

Neste caso, $\alpha, \beta, \epsilon, \zeta > 0 \quad \forall d, e, r > 0$. Como apenas γ and δ podem ser negativos, e aplicando a regra de sinais de Descartes, pode ser provado que o \mathbf{P} possuirá, no máximo, dois zeros para $b > 0$. Assim, \mathbf{P} será negativo, no máximo, em um único segmento de reta ao longo de raios do primeiro quadrante do plano (b, c) (ver fig. 4.5).

Agora seja $c = h/b$. Para valores fixos de h pode ser estudada a variação de sinais de \mathbf{P} ao longo de hipérbolas no primeiro quadrante do plano (b, c) . Multiplicando \mathbf{P} por b^3 (o que não altera o sinal de \mathbf{P} pois $b > 0$) fica :

$$b^3.\mathbf{P} = \alpha.b^6 + \beta.b^5 + \gamma.b^4 + \delta.b^3 + \epsilon.b^2 + \zeta.b + \eta$$

onde $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta, \eta$ são funções de d, e, r [apêndice, eq. c)].

Neste caso $\alpha, \beta, \zeta, \eta > 0 \quad \forall d, e, h > 0$.

Novamente aplicando a regra de sinais de Descartes, uma vez que apenas γ, δ e ϵ podem assumir valores negativos, mostra-se que \mathbf{P} será negativo, no máximo, em duas regiões disjuntas em hipérbolas do primeiro quadrante do plano (b, c) .

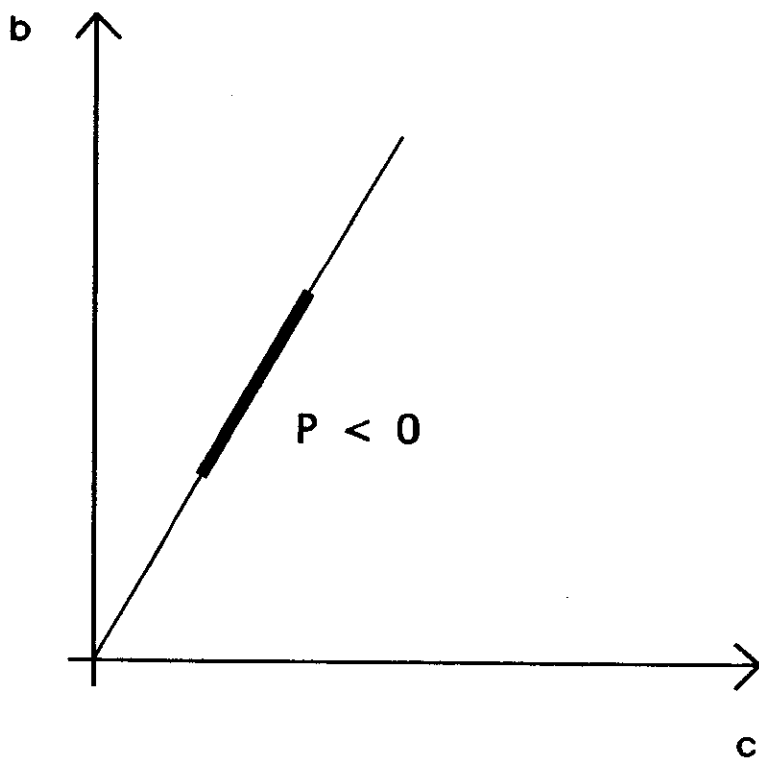


Figura 4.5: Sinal de \mathbf{P} ao longo de um raio no plano (b, c)

Como \mathbf{P} é invariante sob permutações entre b e c , se $\mathbf{P}(b_0, c_0) < 0$ então $\mathbf{P}(b_0, c_0) = \mathbf{P}(c_0, b_0) < 0$.

Será mostrado agora que $\mathbf{P}(\sqrt{b_0 \cdot c_0}, \sqrt{b_0 \cdot c_0}) < \mathbf{P}(b_0, c_0)$.

O polinômio \mathbf{P} pode ser escrito como :

$$\mathbf{P} = \sum a_{ij} b^i c^j$$

onde $a_{ij} = a_{ij}(e, d)$ e $a_{ij} = a_{ji}$.

Assim,

$$\mathbf{P}(b_0, c_0) - \mathbf{P}(\sqrt{b_0 \cdot c_0}, \sqrt{b_0 \cdot c_0}) = \sum (a_{ij}/2)(b_0^i c_0^j + b_0^j c_0^i - 2(b_0 c_0)^{(i+j)/2}) =$$

$$\sum (a_{ij}/2)(b_0 c_0)^j (b_0^{i-j} + c_0^{i-j} - 2(b_0 c_0)^{(i-j)/2}) =$$

$$\sum (a_{ij}/2)(b_0 c_0)^j (b_0^{(i-j)/2} - c_0^{(i-j)/2})^2 \geq 0$$

Donde,

$$\mathbf{P}(b_0, c_0) \geq \mathbf{P}(\sqrt{b_0 \cdot c_0}, \sqrt{b_0 \cdot c_0})$$

Com a mudança de coordenadas $c = h/b$ os pontos $(\sqrt{b_0 \cdot c_0}, \sqrt{b_0 \cdot c_0})$ e (b_0, c_0) pertencem a uma mesma hipérbole. Porém, não pode haver três regiões disjuntas nesta hipérbole para as quais \mathbf{P} é negativo (ver fig. 4.6). Assim, conclui-se que a região negativa em hipérboles no primeiro quadrante do plano (b, c) será única, e, além disto, passa necessariamente pela bissetriz do quadrante.

A bissetriz é um raio especial (aquele tal que $r = 1$). Ao longo deste raio existe, no máximo, um segmento de reta para o qual $\mathbf{P} < 0$. Assim, fica provado que nos primeiros quadrantes dos planos (b, c) , (b, d) , (c, d) existe, no máximo, uma única região, simplesmente conexa, na qual $\mathbf{P} < 0$, para todo ponto do conjunto \mathcal{P} .

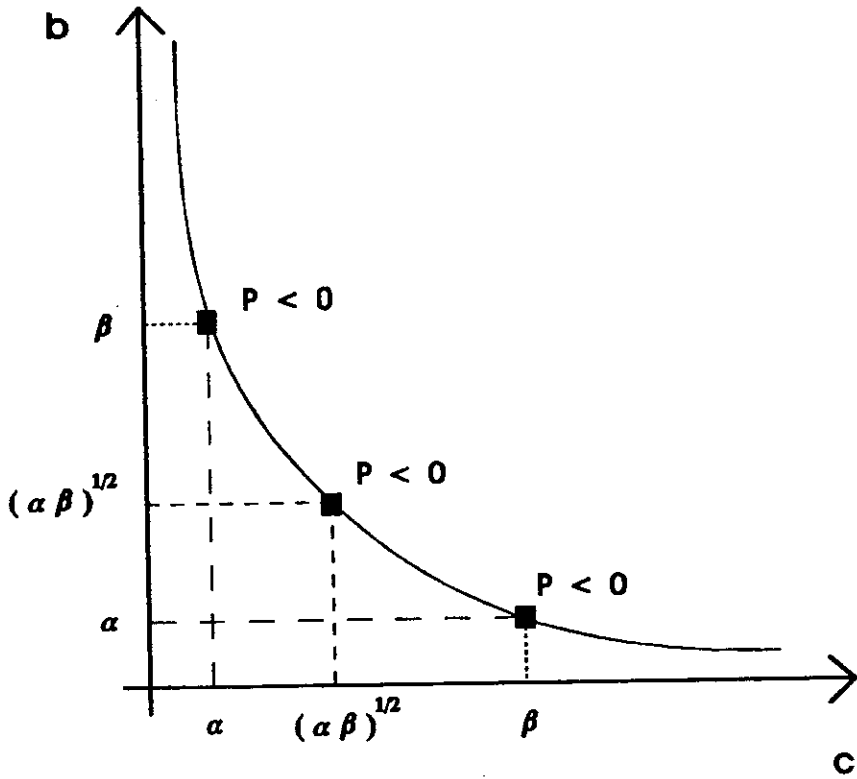


Figura 4.6: Sinal de P ao longo de uma hipérbole no plano (b, c)

O ortante (b-c-d)

Seja $\mathbf{P}(b, c, d) < 0$ para um dado valor de e , com $b > c > d$. Pela invariância sob permutações, \mathbf{P} assumirá os mesmos valores, no mínimo, nos pontos (b, c, d) , (b, d, c) , (c, b, d) , (c, d, b) , (d, b, c) , (d, c, b) . Além disto, existem caminhos ligando estes pontos através dos primeiros quadrantes dos planos (b, c) , (b, d) , (c, d) , ao longo dos quais \mathbf{P} assume somente valores negativos, a saber :

- (b, c, d) para (c, b, d) pelo plano (b, c)
- (c, b, d) para (d, b, c) pelo plano (b, d)
- (d, b, c) para (d, c, b) pelo plano (c, d)
- (d, c, b) para (c, d, b) pelo plano (b, c)
- (c, d, b) para (b, d, c) pelo plano (b, d)
- (b, d, c) para (b, c, d) pelo plano (c, d)

Seja \mathcal{N}_{bcd} a restrição do conjunto \mathcal{N} ao ortante (b, c, d) . Pelo que foi visto acima conclui-se que tal conjunto será um sólido tridimensional em torno da reta $(b = c = d)$.

De fato, o conjunto \mathcal{N}_{bcd} deve se encontrar com a reta $(b = c = d)$. Suponha, por absurdo, que \mathcal{N}_{bcd} não se encontre com a reta $(b = c = d)$. Então existe um cilindro K em torno desta reta que também não se encontra com o conjunto \mathcal{N}_{bcd} (\mathcal{N}_{bcd} é um conjunto aberto, por definição). Agora, seja o primeiro quadrante de um plano (b, c) , tal que o cilindro K corte este quadrante. Desta maneira, o conjunto \mathcal{N} restrito ao quadrante (b, c) tomado não será um conjunto simplesmente conexo, o que é absurdo. Assim, \mathcal{N}_{bcd} deve se encontrar com a reta $(b = c = d)$.

Agora seja $c = b$ e $d = b$. O polinômio \mathbf{P} fica :

$$\mathbf{P} = \alpha.b^6 + \beta.b^5 + \gamma.b^4 + \delta.b^3 + \epsilon.b^2 + \zeta.b + \eta$$

onde $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon, \zeta, \eta$ são funções de e [apêndice, eq. d)].

Como $\alpha, \beta, \delta, \epsilon, \zeta, \eta > 0 \forall e > 0$, pela regra de sinais de Descartes, \mathbf{P} será negativo somente para um segmento de reta se $b > 0$.

Pode ser então concluído que o conjunto \mathcal{N}_{bcd} é simplesmente conexo.

O eixo "e"

O conjunto \mathcal{N} não será simplesmente conexo se e somente se houver dois subconjuntos disjuntos do conjunto $E = \{e; e > 0\}$ para os quais \mathcal{N}_{bcd} não seja o conjunto vazio.

Como \mathcal{N}_{bcd} sempre corta a reta ($b = c = d$), é suficiente verificar se existem dois subconjunto disjuntos de E para os quais a interseção de \mathcal{N}_{bcd} e a reta ($b = c = d$) não seja o conjunto vazio.

Seja $b = c = d = l$. Neste caso bastará estudar o conjunto \mathcal{N} restrito ao primeiro quadrante do plano (l, e) .

O polinômio \mathbf{P} fica :

$$\mathbf{P} = 8l^6 + 24l^5e + 24l^4e^2 - 3l^4e + 8l^3e^3 + 10l^3e^2 + 9l^2e^3 + 3le^3 \quad (4.7)$$

Se $l = e = 0$ então $\mathbf{P} = 0$. Pode ser aplicado o método do polígono de Newton [90] para estudar os ramos das soluções da equação $\mathbf{P} = 0$ próximo à origem. O polígono de Newton associado à equation 4.7 está mostrado na figura 4.7. O ponto (4,1) é o único correspondendo a um coeficiente negativo na equação 4.7. Como ele é um vértice inferior do polígono, então ele leva a ramos de soluções de $\mathbf{P} = 0$ a partir da origem.

Existem dois ramos : $e = l^{3/2}$ e $e = \frac{8}{3}l^2$. Próximo à origem, estes ramos são as fronteiras de uma região na qual \mathbf{P} é negativo (esta região será denotada por N) (ver fig. 4.8).

Se for provado que N é o único subconjunto do primeiro quadrante do plano (l, e) , e que, além disto, este é um conjunto simplesmente conexo, então fica provado que \mathcal{N} é simplesmente conexo, como era desejado.

Seja um ponto (l_2, e_2) fora de N. Tome um outro ponto (l_1, e_1) no interior de N tal que $l_1 < l_2, e_1 < e_2$. Existem $k, n > 0$ tais que $l_1 = k.e_1^n, l_2 = k.e_2^n$. ($n = \log(e_2/e_1)/\log(l_2/l_1)$). Agora sejam dois números naturais o e m com as condições $m < n < o, o - m = 1$. Se forem feitas as substituições $l = k.e^o$ ou $l = k.e^m$ no polinômio \mathbf{P} , este continuará com, no máximo, um único coeficiente negativo.

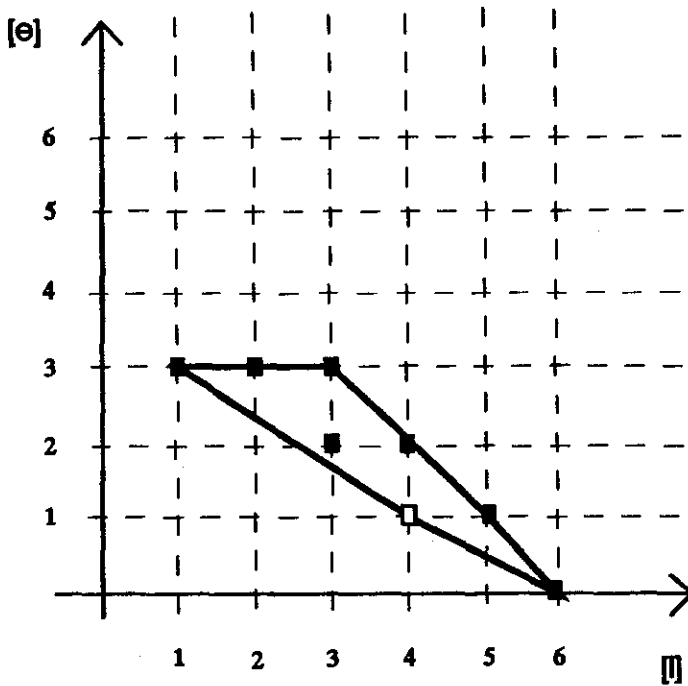


Figura 4.7: Polígono de Newton associado à equação 4.7. Os eixos definem os valores dos expoentes de l e e , respectivamente, para cada monômio da equação. O quadrado em branco marca o único monômio com coeficiente negativo

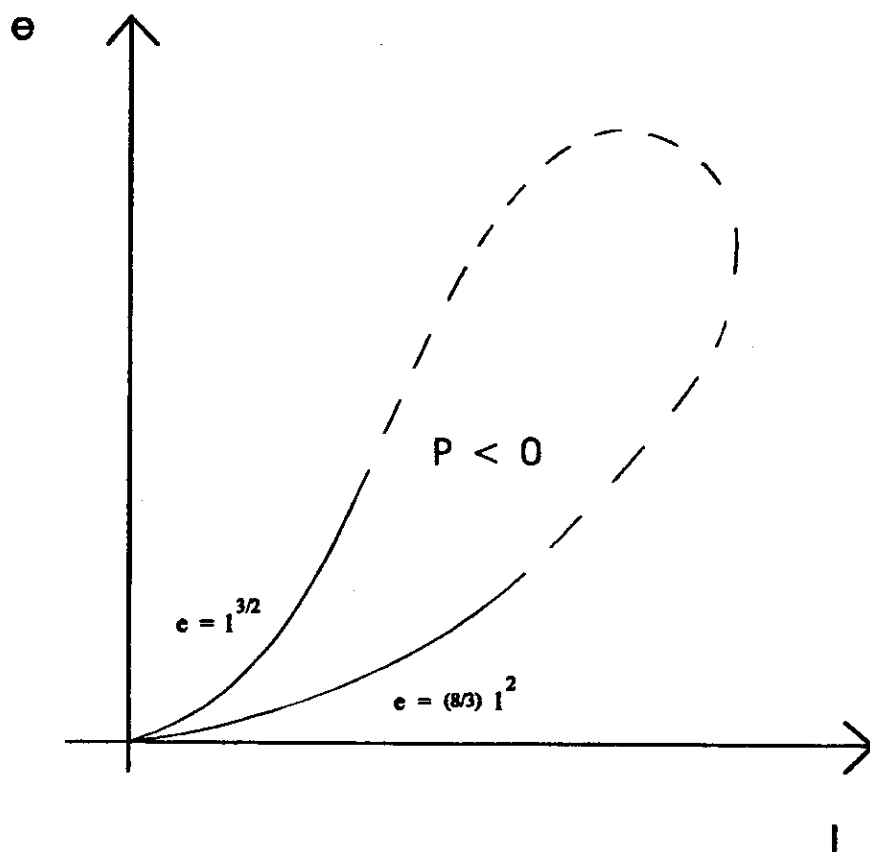


Figura 4.8: Região N no plano (l, e)

Uma vez mais, pela regra de sinais de Descartes, mostra-se que \mathbf{P} será negativo, no máximo, para um único segmento de reta no conjunto E ($e > 0$). Se for feita a substituição $l = k.e^n$, então \mathbf{P} deve estar em uma posição intermediária àquela dos casos em que foram feitas as substituições $l = k.e^o$, e $l = k.e^m$. O mesmo vale para a derivada de \mathbf{P} em relação ao parâmetro e .

Assim, fica provado que $\mathbf{P}((l_2, e_2)$ não é negativo, ou seja, N é o único subconjunto do primeiro quadrante do plano (l, e) para o qual \mathbf{P} é negativo. Além disto, N é simplesmente conexo, pois não pode haver buracos em seu interior.

Fica provado que o conjunto \mathcal{N} é simplesmente conexo.

4.2.2 A hipersuperfície \mathcal{Z}

Como já foi dito, o conjunto \mathcal{Z} é a fronteira de \mathcal{N} . Foi mostrado que \mathcal{N} é simplesmente conexo. Pode-se mostrar que \mathcal{N} é limitado, pois para valores dos parâmetros b, c, d e e suficientemente grandes há um termo do polinômio \mathbf{P} dominante, o qual é positivo. Então \mathcal{Z} uma hipersuperfície fechada.

Os pontos de \mathcal{Z} tais que :

$$\partial\mathbf{P}/\partial b = 0 \quad , \quad \partial\mathbf{P}/\partial c = 0 \quad , \quad \partial\mathbf{P}/\partial d = 0 \quad \text{e} \quad \partial\mathbf{P}/\partial e = 0 \quad (4.8)$$

são aqueles para os quais não há bifurcação de Hopf.

Cada uma destas condições é, de fato, uma hipersuperfície em \mathbf{R}^4 . Como \mathbf{P} é um polinômio, então estas hipersuperfícies são analíticas. Isto fica mais evidente quando se pensa em \mathcal{Z} restrito a um plano, (b, c) por exemplo. Neste caso, existem termos de ordem máxima 3, ou seja, é possível mesmo conseguir uma expressão algébrica para a curva que representa \mathcal{Z} restrito ao plano (b, c) .

Porém, curvas analíticas se cruzam em pontos constituindo um conjunto de medida nula nas mesmas.

Para perceber isto, sejam duas funções analíticas f e g . Tome agora a função $f - g$. A única função analítica a se anular em um conjunto de medida não nula é a função identicamente zero. Este caso só ocorrerá se $f = g$. Como as funções

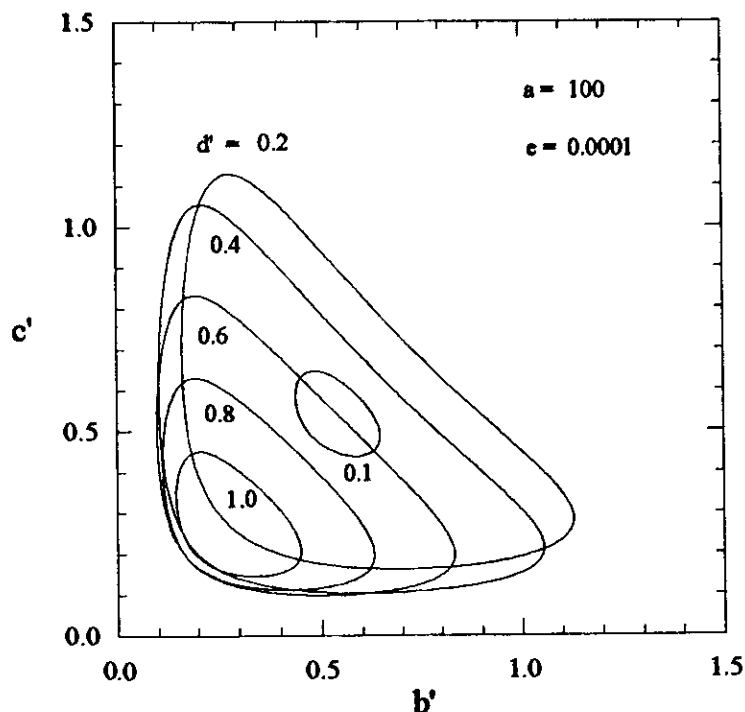


Figura 4.9: Cortes do conjunto \mathcal{Z} .

definidas a partir das condições 4.8 não são idênticas, pode-se concluir que as mesmas se encontrarão em um conjunto de medida nula.

Em outras palavras, “quase todo” ponto da hipersuperfície \mathcal{Z} é um ponto de bifurcação de Hopf para algum dos parâmetros b, c, d ou e .

Alguns cortes do conjunto \mathcal{Z} estão mostrados na figura 4.9. Estes cortes foram obtidos numericamente, por métodos de continuação [55, 79], embora não seja muito mais difícil obtê-los analiticamente.

4.3 Discussão

Os modelos apresentados neste capítulo cumprem algumas funções. Talvez a mais evidente seja a de apresentar modelos, cujo ponto de partida é o transporte ativo em membranas, para os quais há comportamento oscilatório para um conjunto

adequado de constantes cinéticas.

No capítulo seguinte serão apresentados modelos com formação de dímeros, para os quais os modelos deste capítulo servem de base. Assim, a possibilidade de tais modelos representarem, ao menos, uma aproximação de sistemas reais será discutida posteriormente.

De qualquer maneira, o estudo de fenômenos em modelos simplificados sempre foi útil para o entendimento de sistemas mais complexos. Assim, no sentido em que os modelos aqui discutidos são os mais simples de sua classe, seu estudo se torna necessário.

As constantes cinéticas usadas e os diagramas de bifurcação obtidos tiveram como objetivo maior uma compreensão qualitativa dos fenômenos observados. Além do mais, fornecem uma visão das possibilidades de tratamento dos modelos.

O tratamento ainda mais detalhado para o modelo 4 se encaixa na idéia de um entendimento máximo possível sobre sistemas mais simples. Como consequência deste tratamento pode ser percebido o grau de dificuldade envolvido no estudo de modelos mais completos. Isto pode ser melhor apreciado pelo tamanho do polinômio relativo ao determinante de Routh-Hurwitz do modelo (ver apêndice). Polinômios muito maiores são encontrados para os outros modelos.

Assim, ainda que os programas de computação algébrica se tornem cada vez mais sofisticados e poderosos, há sempre uma limitação em termos de memória de máquina. Além disto, mesmo que este último empecilho possa ser também cada vez menos relevante, é questionável que um estudo compreensivo possa ser feito em todos os modelos. Será certamente mais proveitoso mostrar em que razão os tipos de simetrias encontradas em modelos simplificados, como o modelo 4, são preservados em suas extensões.

Resta ainda, pelo menos, uma pergunta a ser feita sobre a equação 4.2 : *O sistema pode se tornar caótico para algum conjunto de parâmetros ?*

Capítulo 5

Formação de Dímeros e de Complexos

Neste capítulo serão apresentados os resultados relativos a modelos nos quais são introduzidas etapas com formação de dímeros entre as proteínas transportadoras. São também apresentados mais resultados relativos a formação de complexos entre as proteínas transportadoras e outras moléculas do ambiente celular.

Estes dois tipos de modelos são interessantes, entre outras razões, por possuírem uma motivação experimental mais forte do que a da etapa autocatalítica, estudada no capítulo anterior.

Não obstante, será mostrado neste capítulo em qual sentido a reação autocatalítica pode ser encarada como uma etapa que “resume” modelos mais completos envolvendo formação de dímeros. Isto dá à reação autocatalítica uma relevância maior, pois seu estudo ajuda a compreender sistemas cuja complexidade dificulta a obtenção de informações mais detalhadas.

Na última seção do capítulo é apresentado um modelo simples envolvendo simultaneamente formação de dímeros e de complexos.

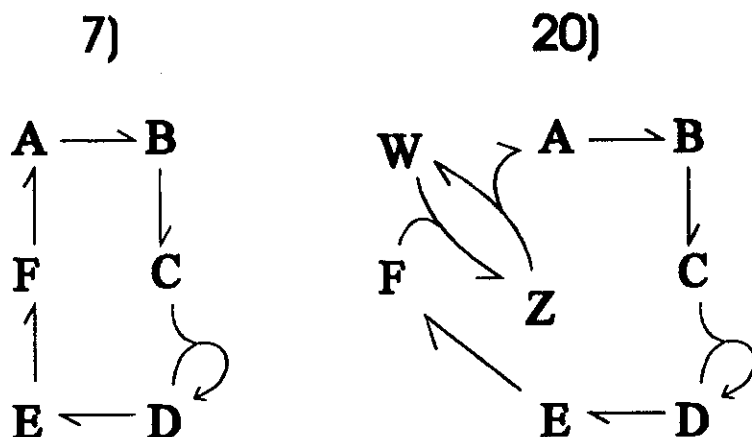


Figura 5.1: Algumas correntes extremas do modelo 6.

5.1 Formação de complexos entre as macromoléculas

Foi mostrado no capítulo 3 que a simples adição de reações com formação de complexos em um modelo para transporte ativo com seis etapas (modelo 5) não altera o comportamento dinâmico trivial do sistema.

O modelo 6 introduzido no capítulo 3 envolve não apenas um ciclo de transporte com seis etapas, mas também duas reações reversíveis com formação de complexos e uma etapa autocatalítica.

Estudos feitos anteriormente [97] já mostravam ser possível obter regimes de transporte com múltiplos estados estacionários a partir de modelos com formação de complexos e uma etapa autocatalítica para transporte ativo. Aqueles estudos, porém, não levavam em conta um ciclo completo de transporte via monômeros.

Para poder analisar o comportamento dinâmico do modelo 6 é necessário empregar a análise de redes estequiométricas. Desta forma, são obtidas as correntes extremas associadas ao modelo. Algumas correntes extremas significativas estão mostradas na figura 5.1.

A maioria das correntes deste modelo são equivalentes àquelas analisadas quando do estudo do modelo 3. Foi mostrado que a maioria de tais correntes, iso-

ladamente, levam a um comportamento dinâmico trivial. Por outro lado, a corrente 7 do modelo 6 é equivalente à corrente 12 do modelo 3, a qual, como se viu, é a corrente responsável pelo aparecimento de comportamento oscilatório para diversos modelos. Assim, o modelo 6 também apresentará comportamento oscilatório [92, 93], pelo menos, se forem escolhidos valores suficientemente pequenos para as constantes das reações não pertencentes à corrente 7.

O método da análise de redes estequiométricas permite também a determinação das reações responsáveis pelo surgimento de estados estacionários múltiplos. Uma condição necessária para a existência de um ponto de bifurcação para estados múltiplos é a anulação do determinante da matriz de linearização. Pode-se mostrar que este determinante se anulará apenas quando combinadas algumas correntes extremas. De fato, a corrente essencial para a anulação de tal determinante é a corrente 20. Desta forma, estados múltiplos serão encontrados quando a componente associada a esta corrente possuir um “peso” suficientemente grande no vetor \mathbf{j} e para uma escolha adequada do vetor \mathbf{h} .

Na tabela 5.1 são apresentados os valores escolhidos para as constantes cinéticas empregados na determinação de um diagrama de bifurcação do modelo 6. Também neste caso os valores empregados têm caráter demonstrativo. Os coeficientes k_i são as constantes cinéticas, T é a concentração total de bombas mais a concentração do complexo Z e P é igual a concentração do complexo Z mais a concentração da molécula W .

Na figura 5.2 está mostrada a dependência da concentração da espécie C no estado estacionário com a constante k_{-3} . Neste gráfico ficam evidentes o aparecimento de estados estacionários múltiplos e o comportamento assintótico da concentração C para valores mais elevados da constante k_{-3} .

Na figura 5.3 estão mostradas (no plano $k_3 \times k_{-3}$) as regiões para as quais o modelo 6 possui 1 ou 3 estados estacionários, usando os valores da tabela 5.1. O diagrama resultante é o padrão para este tipo de bifurcação [79].

<i>constante</i>	<i>valor</i>	<i>constante</i>	<i>valor</i>
k_1	40	k_{-1}	4
k_2	8.3	k_{-2}	0.065
k_4	18.8	k_{-4}	6.16
k_5	10.6	k_{-5}	12
k_6	0.00002	k_{-6}	12
k_7	0.3	k_{-7}	0.00007
k_8	0.00004	k_{-8}	3.8
k_9	30	k_{-9}	0.000006
T	68	P	2.5

Tabela 5.1: Parâmetros para estudo de bifurcação no modelo 6. As unidades empregadas são arbitrárias.

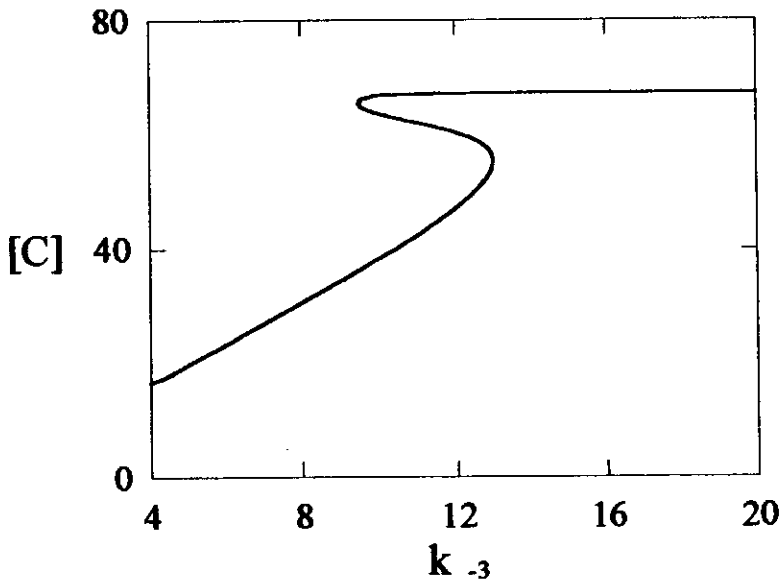


Figura 5.2: Variação da concentração da espécie C no estado estacionário em relação a constante cinética k_{-3} .

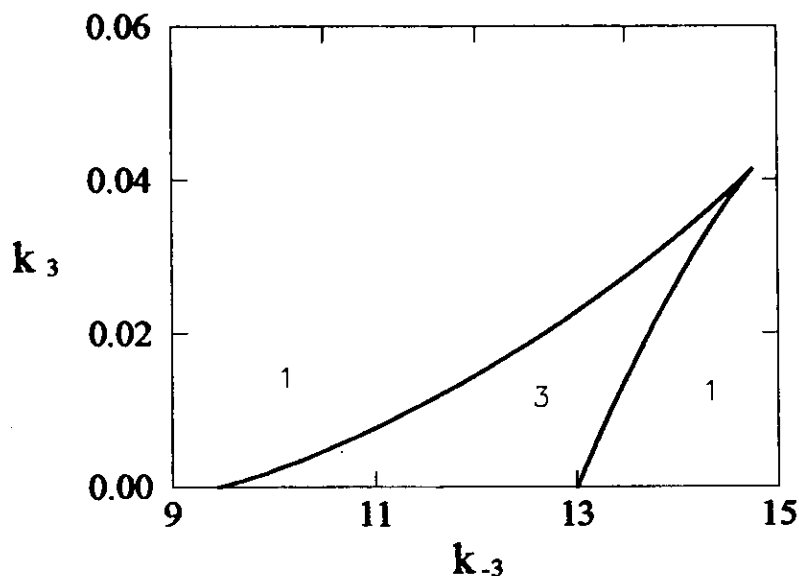


Figura 5.3: Diagrama de bifurcação para o modelo 6 no plano $k_3 \times k_{-3}$. Os valores no interior da figura indicam o número de estados estacionários em cada região

5.2 Formação de dímeros entre as proteínas transportadoras

O modelo 7 introduzido no capítulo 3 é constituído por dois ciclos de transporte, um via monômeros e outro via dímeros [92, 93]. Além disto, são introduzidos dois passos com a transformação de monômeros em dímeros e vice-versa. O objetivo deste modelo é saber que tipo de dinâmica pode ser gerada se for possível a oligomerização das bombas de transporte [5, 47, 51, 52, 53, 76].

Embora não sejam consideradas todas as possíveis rotas de formação de dímeros, o modelo possui uma complexidade razoável, resultando em um sistema de equações diferenciais com treze equações acopladas, linearmente independentes, sendo várias destas equações não-lineares. Além disto, ficará claro mais adiante que a introdução de outras etapas de formação de dímeros não irá alterar os resultados básicos obtidos.

Apesar de tal complexidade, o método da análise de redes estequiométricas

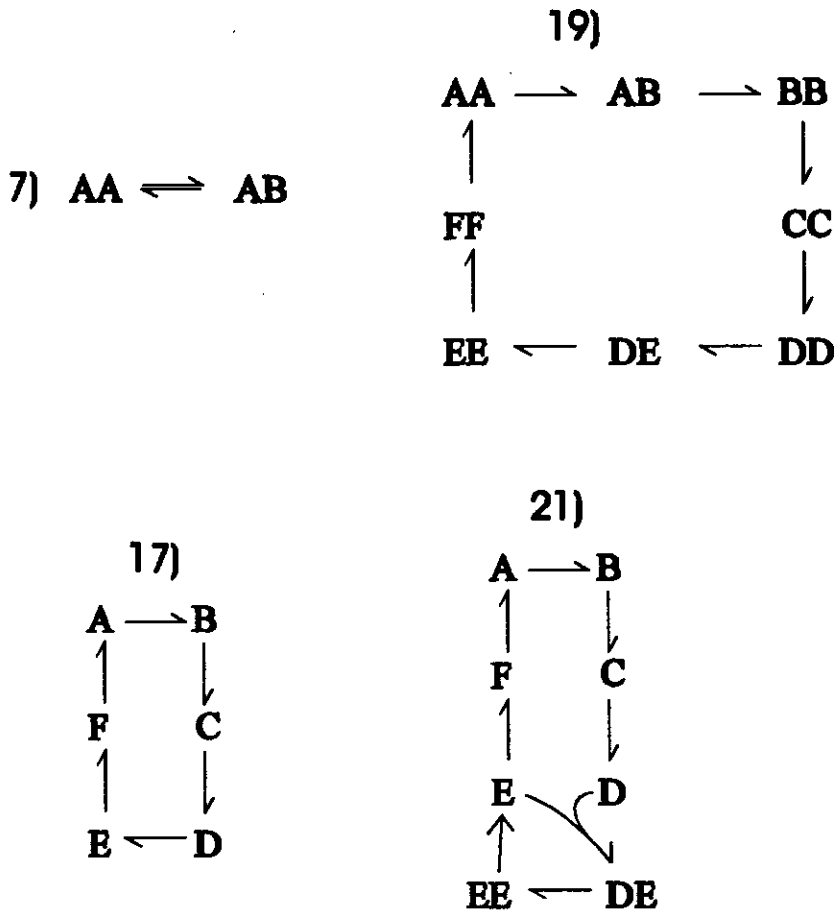


Figura 5.4: Algumas correntes extremas do modelo 7.

permite a determinação de condições para a instabilidade do sistema. As correntes extremas do modelo 7 estão mostradas na figura 5.4

Como se pode ver na figura 5.4, a corrente 21 é uma extensão da corrente 12 do modelo 3. Assim, pelo teorema de redes topologicamente semelhantes [18] (ver capítulo 2, seção 2.3.2), estas redes também são capazes de gerar instabilidades. Um outro aspecto importante, não descrito pelo teorema de redes topologicamente semelhantes, é a possibilidade de se obter indicações sobre as regiões de instabilidade para redes estendidas a partir do conhecimento das regiões de instabilidade de suas reduzidas. Isto justificou um estudo mais aprofundado para o modelo 4, o qual, em última análise, é a base de vários outros modelos aqui estudados.

constante	valor	constante	valor	constante	valor
k_{-1}	0.00007	k_3	3	k_{-3}	0.000007
k_4	0.000007	k_{-4}	0.018	k_5	881
k_{-5}	0.00006	k_6	3	k_{-6}	0.00085
k_7	0.001	k_{-7}	0.0001	k_8	0.001
k_{-8}	0.0001	k_9	0.001	k_{-9}	0.0001
k_{10}	0.001	k_{-10}	0.0001	k_{11}	0.001
k_{-11}	0.0001	k_{12}	546	k_{-12}	0.0003
k_{13}	0.0014	k_{-13}	0.0001	k_{14}	0.001
k_{-14}	0.0001	k_{15}	0.003	k_{-15}	709
k_{16}	5.8	k_{-16}	0.0001	T	200

Tabela 5.2: Parâmetros usados para análise de bifurcação do modelo 7. As unidades empregadas são arbitrárias.

Na tabela 5.2 estão apresentados os valores das constantes cinéticas empregadas para um estudo de bifurcação do modelo 7, novamente com caráter demonstrativo. Os k_i são as constantes cinéticas e T é igual à concentração total de monômeros mais duas vezes a concentração total de dímeros. Alguns diagramas de bifurcação obtidos com os parâmetros desta tabela estão mostrados na figura 5.5.

Na tabela 5.2, o valor relativamente mais elevado para as constantes cinéticas k_{12} , k_{-15} e k_{16} é revelador. Isto implica em que o comportamento oscilatório tende a ocorrer quando as etapas de formação do dímero no estado **DE** passando para o dímero no estado **EE** e sua posterior dissociação em dois monômeros no estado **E**, devem ser significativamente mais rápidas do que as demais etapas. Desta forma, além de ser uma extensão da corrente 12 do modelo 3, a corrente 21 leva o modelo 7 a uma situação de instabilidade, com comportamento oscilatório, quando as etapas controladoras da mesma são justamente aquelas da corrente 12.

Outra questão que fica clara é a do papel das etapas de formação de dímeros. Se outras destas etapas fossem consideradas no modelo, outras correntes extremas semelhantes à corrente 21 iriam aparecer. Isto daria ao modelo assim estendido uma flexibilidade ainda maior para possuir uma solução oscilatória.

Capítulo 5

Formação de Dímeros e de Complexos

Neste capítulo serão apresentados os resultados relativos a modelos nos quais são introduzidas etapas com formação de dímeros entre as proteínas transportadoras. São também apresentados mais resultados relativos a formação de complexos entre as proteínas transportadoras e outras moléculas do ambiente celular.

Estes dois tipos de modelos são interessantes, entre outras razões, por possuírem uma motivação experimental mais forte do que a da etapa autocatalítica, estudada no capítulo anterior.

Não obstante, será mostrado neste capítulo em qual sentido a reação autocatalítica pode ser encarada como uma etapa que “resume” modelos mais completos envolvendo formação de dímeros. Isto dá à reação autocatalítica uma relevância maior, pois seu estudo ajuda a compreender sistemas cuja complexidade dificulta a obtenção de informações mais detalhadas.

Na última seção do capítulo é apresentado um modelo simples envolvendo simultaneamente formação de dímeros e de complexos.

<i>constante</i>	<i>valor</i>	<i>constante</i>	<i>valor</i>
k_1	0.1 s^{-1}	k_2	1000 s^{-1}
k_3	50 s^{-1}	k_4	50 s^{-1}
k_5	50 s^{-1}	k_7	1000 s^{-1}
k_8	1000 s^{-1}	k_9	$1000 \text{ n}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$
k_{10}	1000 s^{-1}	k_{11}	1000 s^{-1}

Tabela 5.3: Constantes cinéticas para o modelo 8. As unidades usadas são : $s =$ segundo e $n =$ unidade de concentração (arbitrária).

A função Φ vem dada em unidades de ciclos por unidade de tempo. Em outras palavras, Φ indica o número de ciclos completos de transporte ocorrendo em uma determinada quantidade de tempo, quando o sistema atinge o estado estacionário.

A tabela de constantes cinéticas 5.3 foi construída, em parte, baseada na ordem de grandeza de valores empregados na literatura [2]. Estes dados foram usados para o ajuste de resultados experimentais para um modelo de reação considerado bastante simples, com um ciclo de monômeros irreversível de cinco etapas. Os demais parâmetros permitem obter valores para Φ compatíveis com a ordem de grandeza verificada usualmente (menor do que 100 ciclos por segundo [59]). Além disto, possibilitam obter uma curva do tipo sigmoideal para a função $\Phi \times$ concentração de bombas (T). Para isto, tanto a etapa de formação de dímeros quanto a de formação de complexos devem ser etapas cineticamente favorecidas.

Na tabela 5.3 não está indicado um valor fixo para o parâmetro κ . Este parâmetro é uma função linear da concentração da molécula formadora de complexos. Assim, podem ser obtidos diferentes curvas $\Phi \times T$ variando-se o valor de κ . Quando $\kappa = 0$ não há formação de complexos, e o modelo se resume a um ciclo de monômeros com uma etapa de formação de dímeros. Na figura 5.6 são apresentadas duas curvas de $\Phi \times T$, com $\kappa = 0$ e $\kappa = 10$.

As curvas mostradas na figura 5.6 são, qualitativamente, iguais às obtidas experimentalmente por Kosck-Kosica e colaboradores [52, 53]. Naquele trabalho foi in-

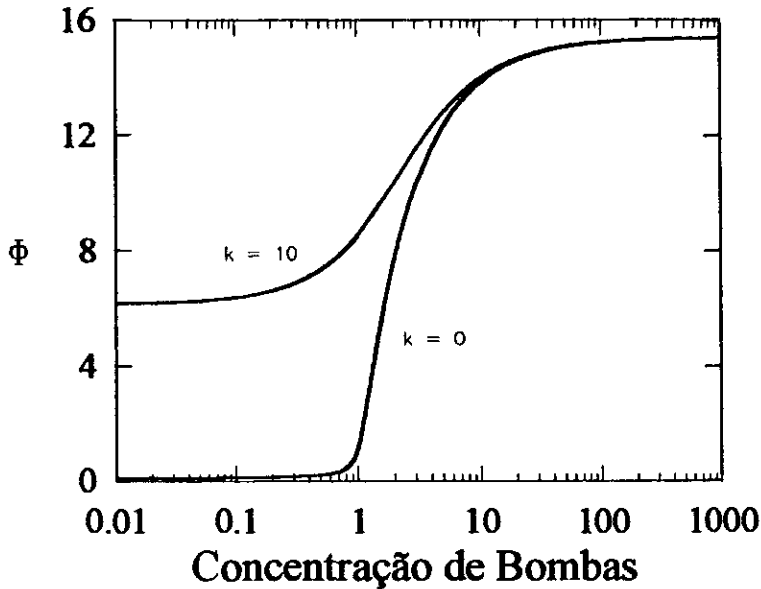


Figura 5.6: Curva $\Phi \times T$ para o modelo 8, com $\kappa = 0$ e $\kappa = 10$.

vestigada a Ca^{2+} -ATPase do eritrócito em micelas reconstituídas. Em tais condições, o comportamento experimental foi explicado considerando como unidades ativadas os dímeros formados entre as proteínas transportadoras e complexos destas bombas com a calmodulina. O modelo reduzido com formação de dímeros e complexos aqui apresentado serve como contrapartida teórica à esta proposta.

Aplicando o método da análise de redes estequiométricas ao modelo 8 pode ser mostrado que o mesmo também deve apresentar estados estacionários instáveis. Como o modelo 8 só possui um estado estacionário, pode ser presumida a existência de bifurcação de Hopf no modelo. De fato, com os parâmetros da tabela 5.4 é obtido um comportamento oscilatório, mostrado na figura 5.7. Os parâmetros da tabela 5.4 também foram gerados a partir de ordens de grandeza de dados experimentais.

5.4 Discussão

A relevância dos modelos apresentados nesta seção com respeito a sistemas biológicos está no fato de haver indicação experimental da formação de dímeros e com-

<i>constante</i>	<i>valor</i>	<i>constante</i>	<i>valor</i>
k_1	0.0001 s^{-1}	k_2	2000 s^{-1}
k_3	10 s^{-1}	k_4	10 s^{-1}
k_5	10 s^{-1}	κ	10^{-6} s^{-1}
k_7	10^{-6} s^{-1}	k_8	10^{-6} s^{-1}
k_9	$100 \text{ n}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$	k_{10}	5000 s^{-1}
k_{11}	5000 s^{-1}	T	23 n

Tabela 5.4: Constantes cinéticas para comportamento oscilatório no modelo 8. As unidades usadas são : s = segundo e n = unidade de concentração (arbitrária).

plexos durante o ciclo de transporte. A partir deste fato torna-se relevante averiguar as possibilidades intrínsecas de modelos com estas hipóteses.

O modelo 8 estudado acima permitiu um ajuste qualitativo com curvas encontradas na literatura. Este resultado teórico se encaixa com a proposta de Kosk-Kosica e colaboradores para o transporte ativo de cálcio na membrana celular do eritrócito [52, 53]. Nesta formulação, o transporte ocorre via ativação por calmodulina ou via formação de dímeros. O modelo 8 parece ser dos mais simples possíveis, compatíveis com tais suposições.

Neste contexto, o aparecimento de oscilações nos modelos 7 e 8 vem como uma consequência adicional. O significado deste resultado está na possibilidade de o transporte ativo poder ser um mecanismo autônomo na geração de oscilações.

Fenômenos oscilatórios associados ao transporte são bem conhecidos. Porém, sua existência se liga, usualmente, a processos envolvendo canais e outros elementos [36, 77, 80]. Por outro lado, a existência de um mecanismo autônomo de oscilações via transporte ativo pode ser importante para uma melhor compreensão deste e de outros fenômenos oscilatórios.

Recentemente, Tepikin e colaboradores, estudando o transporte de cálcio na membrana de células pancreáticas [85], encontraram um sistema no qual fenômenos oscilatórios e transporte ativo parecem estar mais fortemente associados. Os resultados obtidos naquele estudo, de fato, não permitem concluir pela existência de um

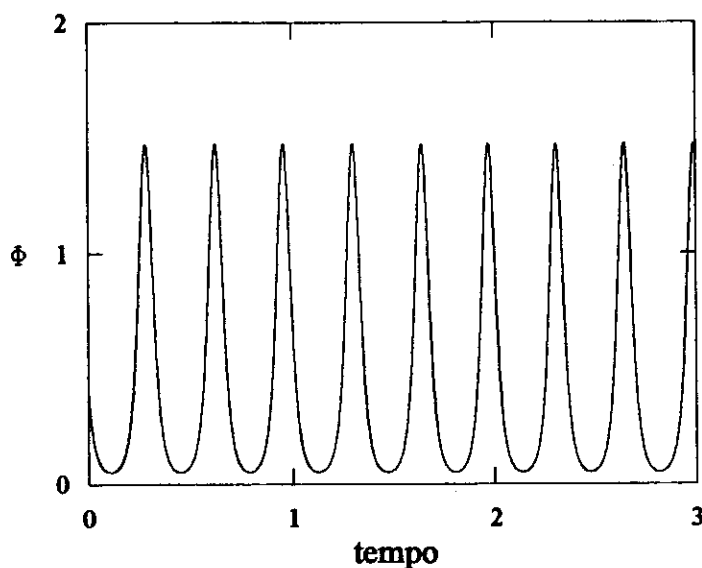


Figura 5.7: Evolução temporal do fluxo de íons por bomba no modelo 8.

mecanismo autônomo de oscilações via transporte ativo. Porém, o papel do transporte ativo na extrusão repetida de cálcio do interior do citoplasma, neste caso, parece ser mais relevante do que usualmente admitido. Esta extrusão repetida via transporte ativo torna sugestiva a idéia de um tal mecanismo autônomo de oscilações.

De toda forma, sendo confirmada a existência de sistemas de transporte ativo nos quais há formação de dímeros, fica levantada a possibilidade da ocorrência de oscilações. Este fenômeno tenderá a ocorrer apenas em situações particulares, e o estudo de tais situações poderá servir para refinar modelos propostos para os sistemas em questão. Neste momento, a utilização ou não de tal mecanismo em processos biológicos poderá merecer alguma reflexão.

Capítulo 6

Sistemas de Reação-Difusão e Autômatos Celulares

Até agora têm sido considerados sistemas homogeneamente distribuídos espacialmente, isto é, a concentração de cada espécie química é assumida constante em todo o espaço. Porém, sistemas físicos e biológicos comumente apresentam distribuição espacial não uniforme. Neste caso, as equações dinâmicas devem levar em conta as inhomogeneidades do sistema.

Matematicamente isto significa (tradicionalmente) trabalhar com sistemas de equações a derivadas parciais, nas quais são levadas em conta derivadas de concentração em relação ao tempo e ao espaço.

A complexidade de sistemas de equações diferenciais parciais pode ser bem apreendida considerando que tais sistemas são equivalentes a sistemas de equações diferenciais ordinárias de dimensão infinita.

Por outro lado, em anos recentes, um enfoque diferente vem sendo adotado por um número cada vez maior de pesquisadores. Este caminho é o da aplicação dos chamados *Autômatos Celulares*. Nesta linha têm sido tratados problemas de dinâmica de fluidos [24], solidificação [24], fenômenos de transporte [17, 24], sistemas químicos de reação-difusão [9, 91, 95, 102], modelos de população [22] e sistemas biológicos [22, 57, 58, 91] para citar os casos mais freqüentes.

Alguns pesquisadores chegam a afirmar que os autômatos celulares podem ser uma alternativa às teorias físicas usuais e não apenas uma aproximação das mesmas [86]. Neste aspecto está também a questão de o próprio espaço-tempo poder ser uma variável discreta, como argumentado na literatura [61, 62].

6.1 Autômatos Celulares

A origem e a história dos autômatos celulares (AC's) pode ser encontrada em outras fontes [101]. Embora na origem os AC's não tivessem a intenção de substituir os sistemas de equações diferenciais parciais, esta tem sido uma de suas principais aplicações.

Em sua forma mais simples, um autômato celular (AC) é constituído por uma rede finita de sítios (ou células), regular e uniforme, com condições de contorno periódicas ou fixas, em uma ou mais dimensões. Cada sítio da rede pode assumir um número finito de estados discretos. O estado de todos os sítios é atualizado simultaneamente em passos discretos de tempo. A atualização da rede se dá através de uma regra fixa válida para todos os sítios. Por estas regras, o valor de cada sítio é mudado dependendo dos valores assumidos pelos sítios de sua vizinhança. Esta vizinhança pode ser definida de diversas maneiras. Finalmente, a regra pode ser probabilística ou determinística, isto é, a atualização dos sítios pode depender ou não de variáveis estocásticas.

Em termos formais a regra de atualização da rede fica :

$$a_i^{t+1} = F(a_{i-r}^t, \dots, a_i^t, \dots, a_{i+s}^t; \{R\})$$

onde, a_i^t é o valor do sítio i no tempo t , a_{i-r}^t e a_{i+s}^t são os sítios de fronteira da vizinhança definida, $\{R\}$ indica um conjunto de variáveis estocásticas, que podem ou não ser consideradas pela regra em questão, e F representa esta regra de atualização.

No caso de sistemas de reação-difusão, como aquele a ser apresentado mais adiante, geralmente são empregados AC's probabilísticos[95, 102]. Os valores de cada sítio representam uma das espécies químicas envolvidas, sendo geralmente atribuído

um valor nulo a sítios vazios. As reações do tipo $A \rightarrow B$ são associadas às probabilidades de transição p_{AB} . Assim, em cada passo de tempo, um sítio que se encontra no estado relativo à espécie A passará ao estado relativo à espécie B com probabilidade p_{AB} . Reações mais complexas do tipo $A+B \rightarrow C$ ou $A+B \rightarrow 2A$ podem ser realizadas de diferentes maneiras.

Nestes sistemas, outro elemento essencial é a mobilidade dos seus constituintes, isto é, a difusão dos elementos envolvidos. A difusão das espécies também pode ser feita por diferentes métodos. O método aqui empregado se deve a Margolus, e foi desenvolvido com o objetivo de construir um AC bidimensional com difusão a partir de uma regra determinística [87]. Todavia, tal algoritmo também se presta a modelos com regras probabilísticas.

No esquema de Margolus (probabilístico) uma rede bidimensional quadrada com $L \times L$ sítios é dividida em blocos 2×2 . A cada passo de tempo todos os $L^2/4$ blocos sofrem rotações de $0, \pi/2, \pi$ ou $3\pi/2$ radianos, com base em uma variável aleatória. No passo de tempo seguinte a rede é novamente particionada, estabelecendo, porém, vizinhanças diferentes daquelas do passo anterior. A alternância entre duas partições de rede diferentes gera difusão. O processo de particionamento está exemplificado para uma rede 4×4 na figura 6.1.

6.2 Modelando o Transporte Ativo com Autômato

Na seção 4.2 foi estudado um modelo para transporte ativo, o qual é o menor possível capaz de levar o sistema a apresentar auto-oscilações. Este modelo é constituído pelas seguintes reações :



Uma pergunta a ser ainda respondida é : *Qual o efeito de se considerar difusão em um tal sistema ?*

De fato, pode-se mesmo perguntar se a difusão teria algum efeito em outros

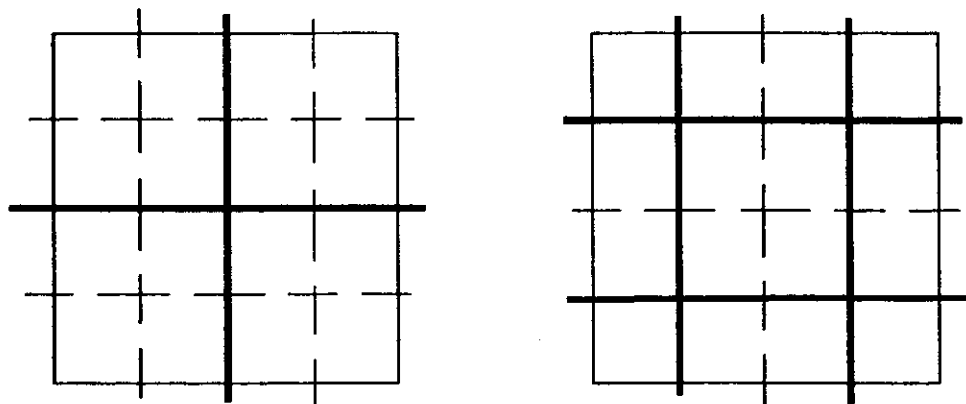


Figura 6.1: Difusão de Margolus. As duas partições alternativas para uma rede 4×4 são apresentadas.

modelos cuja dinâmica, no caso de não haver difusão, é trivial. Diversos trabalhos [56, 65, 70, 81, 88] têm mostrado que a simples existência de difusão pode alterar radicalmente o comportamento de sistemas que, de outra maneira, teriam uma dinâmica mais simples. Aqui serão investigados basicamente o modelo 6.1 e, numa última seção deste capítulo, a reação $A+B \rightarrow 2A$ em uma dimensão.

Será visto que o modelo 4 com difusão, modelado por um AC, apresenta auto-oscilações, propagação de ondas químicas e formação de estruturas espaço-temporais. Será esboçado, no espaço das probabilidades de transição, um diagrama de fases para os estados oscilatório e não-oscilatório do modelo [91].

Será visto também que no limite termodinâmico as oscilações globais desaparecem, devido à desincronização entre subsistemas, os quais ainda apresentam dinâmica não-trivial. Recentemente tem surgido na literatura uma discussão acerca da possibilidade de AC's apresentarem oscilações no limite termodinâmico [15, 32, 33, 37, 41]. Apesar de haver exemplos de AC's com este tipo de comportamento, ainda não há uma teoria plenamente satisfatória para o fenômeno [10, 42, 73]. Dentro desta

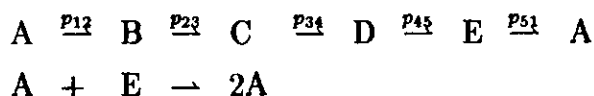
questão, os resultados aqui apresentados parecem indicar tão somente que AC's probabilísticos não são bons candidatos a exemplos de autômatos oscilatórios no limite termodinâmico.

No AC estudado a seguir, além das reações mostradas em 6.1, é considerada a seguinte reação :



Esta reação é empregada tão somente para evitar extinção do processo, e não altera o comportamento do sistema, fora evitar o seu término precipitado. Para tal, a probabilidade de transição do estado E para o estado A é tomada muito pequena.

O esquema final da reação está fica :



As espécies A, B, C, D e E são associadas, respectivamente, aos estados 1, 2, 3, 4 e 5. O estado 0 indica ausência de "proteína" no sítio. As probabilidades associadas as reações $i \rightarrow j$ estão limitadas por $0 \leq p_{ij} \leq 1$. A difusão, como já foi dito, será feita segundo o algoritmo de Margolus probabilístico. Em cada passo de tempo a rede é dividida em blocos 2×2 chamados de *Vizinhanças de Margolus*. A reação $A+E \rightarrow 2A$ ocorre quando sítios nos estados 1 e 5 estão em uma mesma vizinhança de Margolus. Nesta circunstância, os sítios no estado 5 passam ao estado 1.

Em cada passo de tempo repete-se em cada vizinhança de Margolus (VM) os seguintes passos :

- i) Se existe ao menos um sítio na VM no estado 1, então faça AUTOCATALISE = sim. Em outro caso faça AUTOCATALISE = não.
- ii) Para cada sítio na VM, em um estado diferente de 0 é gerada uma variável aleatória R , com $0 \leq R \leq 1$. Seja i o estado do sítio em questão. Se $R \leq p_{ij}$, então o sítio passa para o estado j . ($j = i + 1$ se $i = 1, 2, 3$ ou 4 e $j = 1$ se $i = 5$).
- iii) Se AUTOCATALISE = sim e existem sítios na VM no estado 5 então estes sítios vão para o estado 1. Este passo simula a reação autocatalítica.
- iv) Rode a VM por $0, \pi/2, \pi$ ou $3\pi/2$ de acordo com uma variável aleatória.

Note-se que os passos i) e iii) são independentes dos demais, o mesmo valendo para o passo ii) e para o passo iv). Controlando a frequência relativa do passo iv) em relação aos demais podem ser obtidas velocidades de difusão diferentes.

6.3 Comportamento do Autômato

Para o autômato celular descrito na seção 6.2 foram encontrados dois regimes fundamentais de funcionamento.

Em um regime, as concentrações das espécies atingem um estado estacionário após um certo transiente. Observa-se tão somente flutuações nestas concentrações, as quais diminuem com o aumento do tamanho da rede. A distribuição das espécies na rede não apresenta qualquer padrão. Por concentração de uma dada espécie entende-se a razão entre o número total de sítios no estado correspondente e o número total de sítios ocupados da rede. A concentração da espécie relativa ao estado i será denotada por C_i .

No outro regime, as concentrações das espécies apresentam um comportamento manifestamente oscilatório, o qual se pode comprovar através da transformada de Fourier das séries temporais obtidas. Além disto, a distribuição dos estados na rede mostra padrões espaciais, caracterizados por “ondas químicas”.

A ocorrência de um ou outro regime depende do conjunto de probabilidades p_{ij} escolhido. Mais adiante será apresentado um esboço de diagrama de transição de fase no espaço de probabilidades p_{ij} .

Como condições iniciais para o AC foram tomadas, salvo explicitamente dito, condições aleatórias, isto é, uma distribuição espacial aleatória das espécies. De fato, foram feitas diversas simulações com condições iniciais especiais, mas nenhuma destas situações levou a um comportamento distinto, ou teve uma influência qualquer no comportamento final do AC após um certo período transiente.

Para ilustrar o comportamento do AC, na figura 6.2 está apresentado o comportamento do mesmo com $L = 60$ e $p_{12} = 0.7$ em diferentes passos de tempo após um transiente de 1000 passos. As demais probabilidades empregadas foram

$p_{23} = p_{34} = p_{45} = 0.1$ e $p_{51} = 0.0001$. O passo de tempo relativo a cada imagem e o código de cores usado estão indicados na figura.

A evolução temporal do AC pode ser estudada através de dados de concentração de uma espécie contra o tempo. Na figura 6.3(a) está mostrada a evolução de C_2 com o tempo para o mesmo conjunto de probabilidades empregado ao se obter a figura 6.2. Os dados foram obtidos após um transiente de 2000 passos. O comportamento oscilatório fica ainda mais evidenciado pelo espectro de potência mostrado na figura 6.3(b).

Na figura 6.4(a) está mostrada a evolução temporal de C_2 para a probabilidade $p_{12} = 0.1$. As demais probabilidades são as mesmas empregadas nas figuras 6.2 e 6.3. Neste caso, a concentração do estado 2 flutua em torno de um valor estacionário, o que fica ainda mais evidenciado no espectro de potência dos dados, apresentado na figura 6.4(b).

Como já foi dito no capítulo 1, as proteínas de transporte não ocupam toda a superfície das membranas, embora em alguns casos possam ocupar uma fração apreciável das mesmas. Desta forma, foi investigado o efeito da introdução de sítios vazios na rede do AC. Como se pode ver pelas figuras 6.5(a) e 6.5(b), a introdução de sítios tende evidentemente a diminuir a interação entre os estados reagentes, levando concomitantemente a uma diminuição do efeito de oscilação. Uma situação a ser considerada é a de aumentar a difusividade das espécies. Isto poderia levar a comportamentos interessantes no caso da introdução de sítios vazios.

O aparecimento de oscilações no AC se mostrou, neste caso, acompanhado do surgimento de padrões espaciais. Estes padrões se caracterizam pela existência de ondas químicas e pela aglomeração espacial de bombas no mesmo estado. Para medir esta aglomeração é definido um parâmetro A_i , o qual mede a aglomeração dos sítios

Figura 6.2: Autômato Celular em diferentes passos de tempo. $p_{12} = 0.7$, $p_{23} = p_{34} = p_{45} = 0.1$ e $p_{51} = 0.0001$. O código de cores e o passo de tempo correspondente a cada imagem estão indicados na figura. Páginas seguintes.

1000

[Extremely faint and illegible text block]

1
3
5

1004

[Extremely faint and illegible text block]

1008

[Extremely faint and illegible text block]

1012

[Extremely faint and illegible text block]

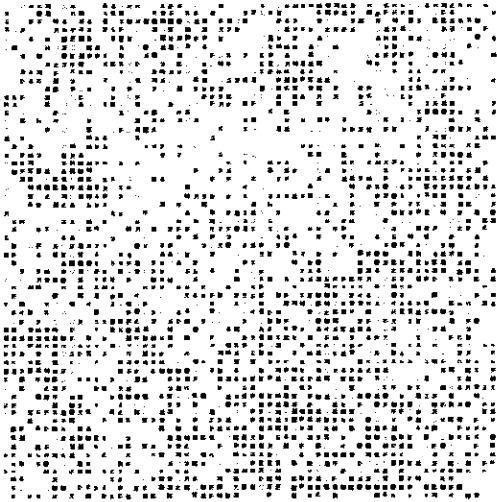
1016

[Extremely faint and illegible text block]

1020

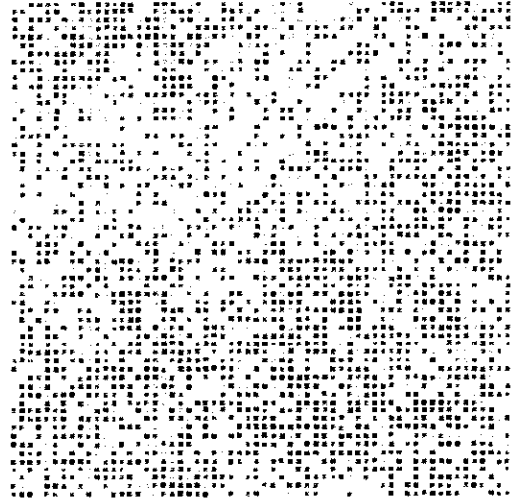
[Extremely faint and illegible text block]

1024

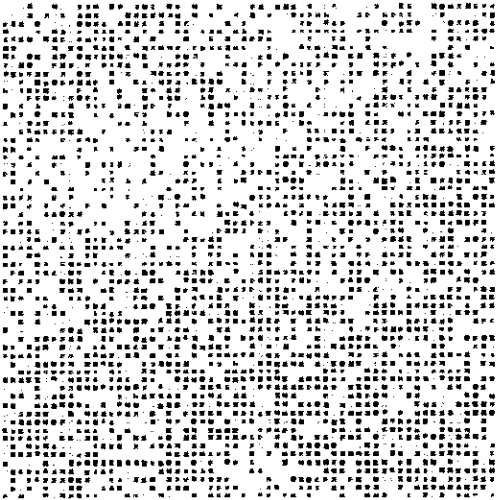


1
3
5

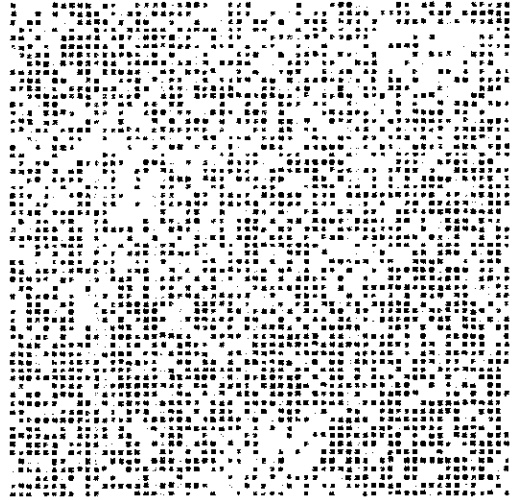
1028



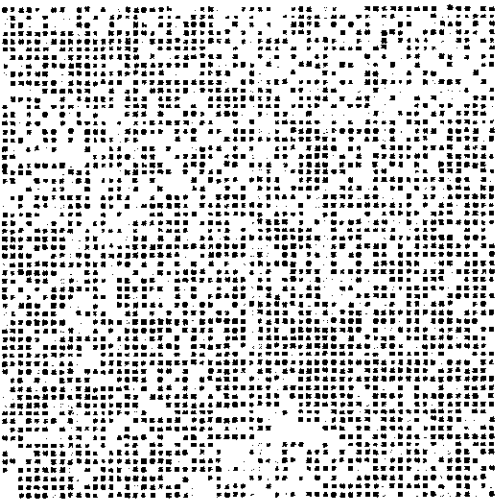
1032



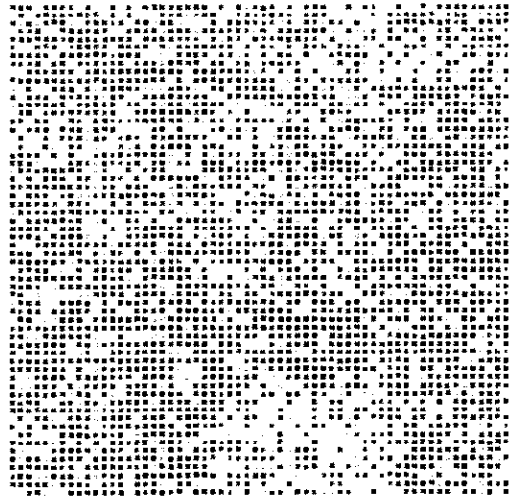
1036



1040



1044



1048

[Extremely faint and illegible text block]

1
3
5

1052

[Extremely faint and illegible text block]

1056

[Extremely faint and illegible text block]

1060

[Extremely faint and illegible text block]

1064

[Extremely faint and illegible text block]

1068

[Extremely faint and illegible text block]

1072

[Illegible text block]

1
3
5

1076

[Illegible text block]

1080

[Illegible text block]

1084

[Illegible text block]

1088

[Illegible text block]

1092

[Illegible text block]

1096

[Extremely faint and illegible text block]

1
3
5

1100

[Extremely faint and illegible text block]

1104

[Extremely faint and illegible text block]

1108

[Extremely faint and illegible text block]

1112

[Extremely faint and illegible text block]

1116

[Extremely faint and illegible text block]

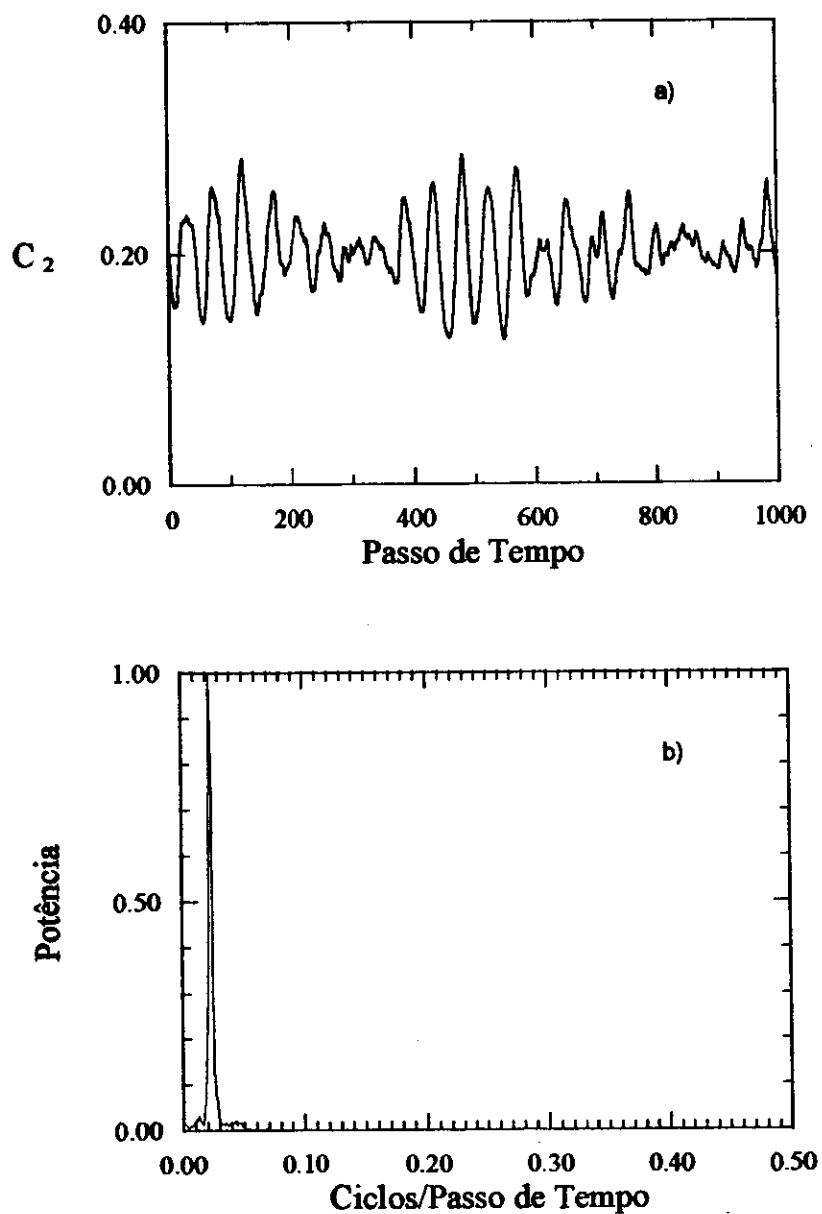


Figura 6.3: (a) Evolução temporal da concentração do estado 2. $p_{12} = 0.7$. Com $p_{23} = p_{34} = p_{45} = 0.1$ e $p_{51} = 0.0001$. $L = 100$. Sem vazios. Transiente de 2000 passos de tempo. (b) Transformada de Fourier da figura anterior.

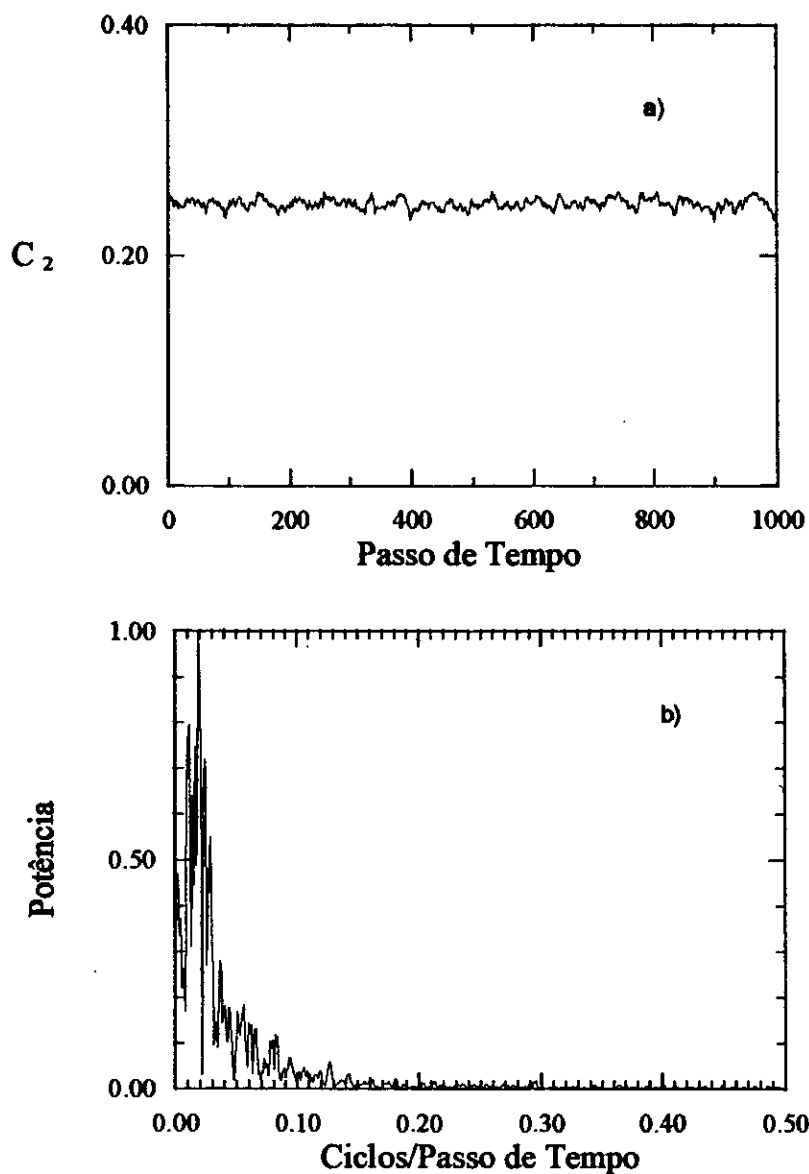


Figura 6.4: (a) Evolução temporal da concentração do estado 2 para $p_{12} = 0.1$. Com $p_{23} = p_{34} = p_{45} = 0.1$ e $p_{51} = 0.0001$. $L = 100$. Sem vazios. Transiente de 2000 passos de tempo. (b) Transformada de Fourier da figura anterior.

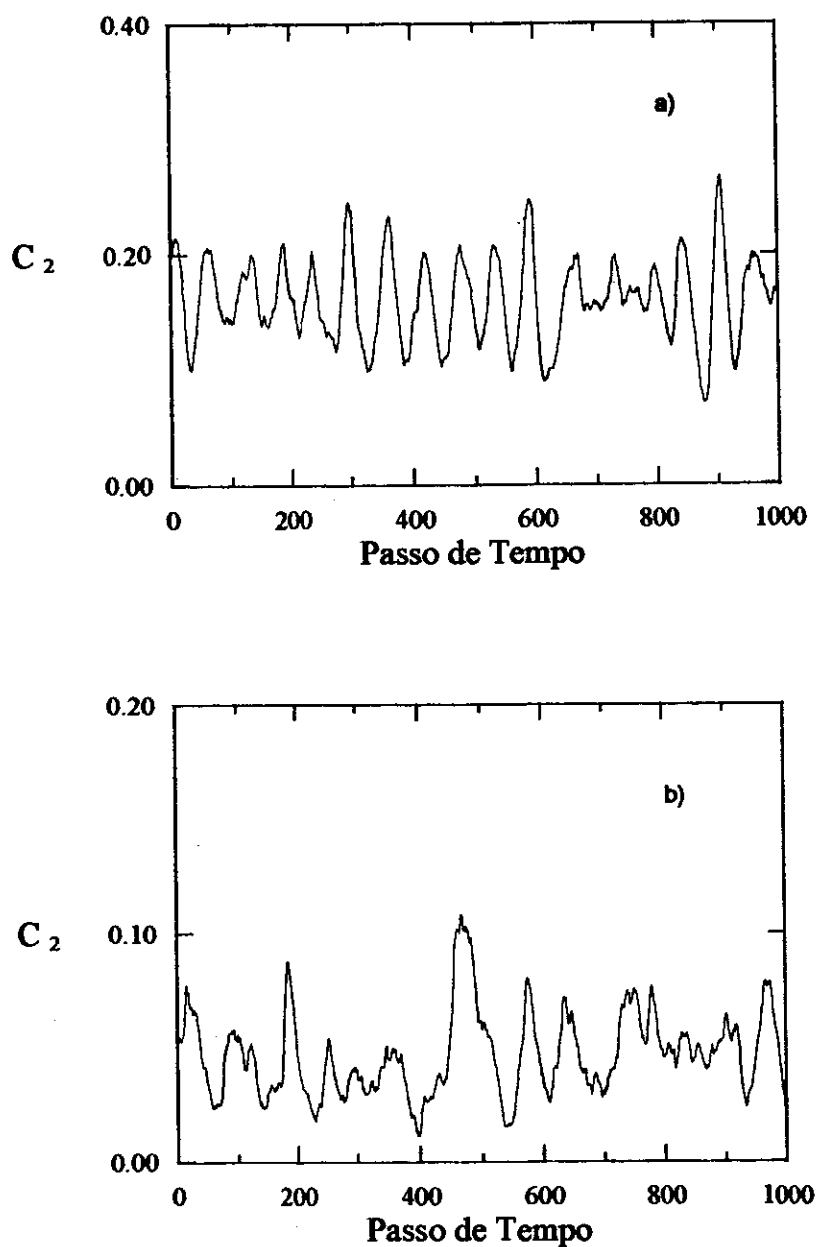


Figura 6.5: Evolução temporal de C_2 em um AC com (a) 20 % de sítios vazios. (b) 50 % de sítios vazios. Os demais parâmetros são os mesmos da figura 6.3.

no estado i em um certo instante de tempo. Este parâmetro é definido pela seguinte equação :

$$A_i = d_i^o - \bar{d}_i$$

onde \bar{d}_i é a distância média entre primeiros vizinhos da espécie i calculada em um determinado passo de tempo do AC e d_i^o é o valor esperado para a distância entre primeiros vizinhos no caso de uma distribuição aleatória para a mesma concentração da espécie i no passo de tempo considerado. Os dados de d_i^o para diferentes concentrações foram obtidos através de simulações nas quais apenas a etapa de difusão para o AC foi considerada. O valor de A_i para cada conjunto de probabilidades é o valor médio obtido durante uma certa quantidade de passos de tempo, após um período transiente.

Na figura 6.6 está mostrada a dependência de A_2 com a probabilidade p_{12} . As barras de erro dão uma indicação da vinculação (neste caso) entre aglomeração e oscilação. Assim, o aumento da aglomeração está associado ao início de oscilações, as quais levam a uma maior dispersão nas medidas de aglomeração.

Para os parâmetros empregados na figura 6.6 o início de uma aglomeração marcante e de oscilações está associado ao valor $p_{12} \approx 0.6$. O período de oscilação de, aproximadamente, 40 passos de tempo por ciclo (ver figura 6.3) é quase independente do valor de p_{12} , quando p_{12} é maior do que 0.6. Este período depende ligeiramente de p_{23} , p_{34} e p_{45} . Estas informações também podem ser obtidas por uma análise dos espectros de Fourier relativos às séries temporais. Com estas observações é possível esboçar um diagrama mostrando a região de oscilação-aglomeração no espaço das probabilidades $p_{12} \times p_{23}$ (com $p_{34} = p_{45} = p_{23}$). Este diagrama está mostrado na figura 6.7.

Os efeitos de tamanho de rede finito foram estudados através da medida do desvio-padrão em torno da concentração média durante a evolução temporal do sistema. Os dados para dois valores diferentes de p_{12} estão mostrados na figura 6.8. Neste gráfico os valores de desvio-padrão (com as barras de erro correspondentes) estão na ordenada e o inverso do tamanho linear da rede correspondente estão na

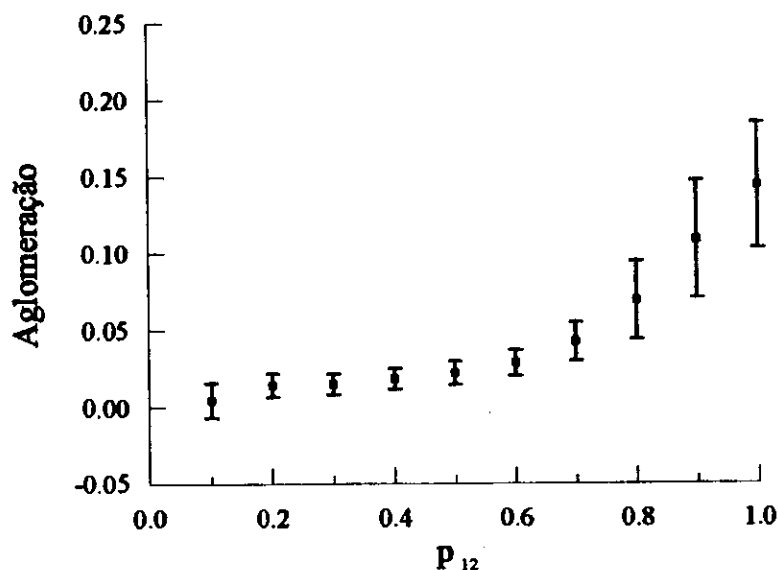


Figura 6.6: Aglomeração \mathcal{A}_2 para diferentes valores da probabilidade p_{12} . $p_{23} = p_{34} = p_{45} = 0.2$ e $p_{51} = 0.0001$. $L = 100$. Sem vazios. Valor médio para 1000 passos de tempo, após 1000 passos de transiente.

abscissa.

O comportamento linear em ambos os casos indica um decaimento do tipo $1/\sqrt{N}$, onde N é o número de sítios da rede. Este comportamento pode ser visto como uma simples consequência do teorema central do limite. Para $p_{12} = 0.1$ o sistema apresenta comportamento oscilatório em redes finitas. Assim, o desvio-padrão tendendo a zero no limite de uma rede infinita indica ausência de oscilações globais para redes suficientemente grandes. Em outras palavras, no limite termodinâmico o AC não apresenta oscilações globais.

Neste ponto cabe ressaltar que, em redes de todos os tamanhos finitos investigados, subsistemas com um tamanho fixo qualquer apresentaram oscilações de mesma amplitude e frequência. Esta é também a amplitude e frequência de uma rede com o mesmo tamanho linear e condições de contorno periódicas. Juntamente com a conclusão do parágrafo anterior, isto significa que, no limite termodinâmico, embora oscilações globais estejam ausentes, haverá oscilações locais em subsistemas

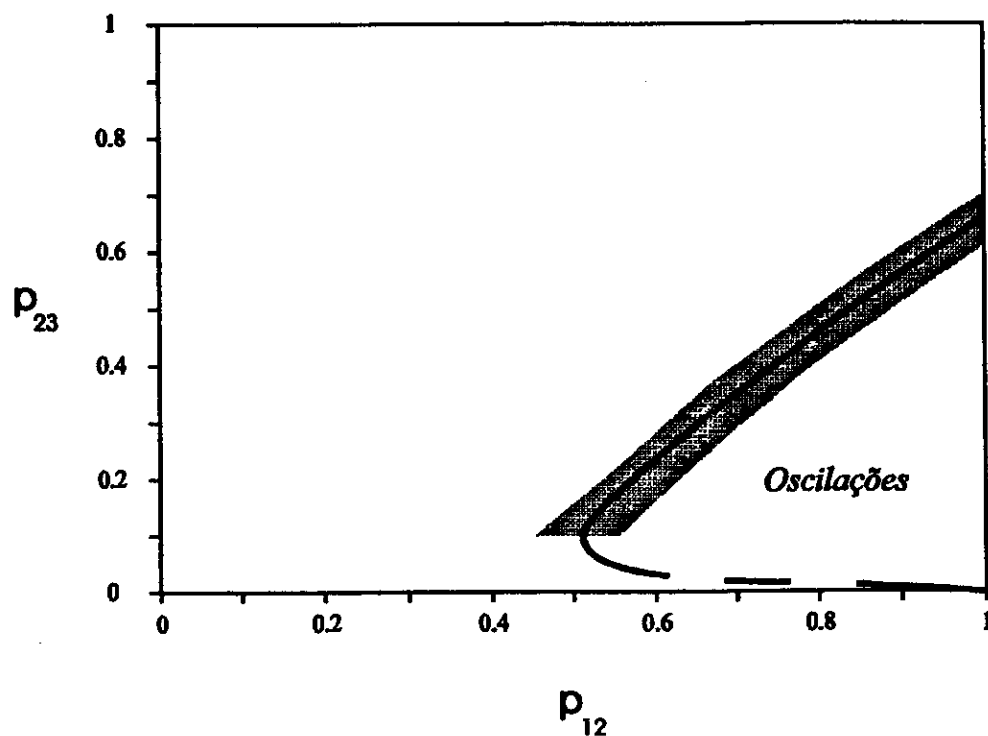


Figura 6.7: Esboço do diagrama de transição para a região de oscilação-aglomeração no espaço de probabilidades $p_{12} \times p_{23}$ ($p_{34} = p_{45} = p_{23}$). A área hachurada indica a transição da fase não-oscilatória para a fase oscilatória. A linha tracejada indica a transição esperada para pequenos valores de p_{23} .

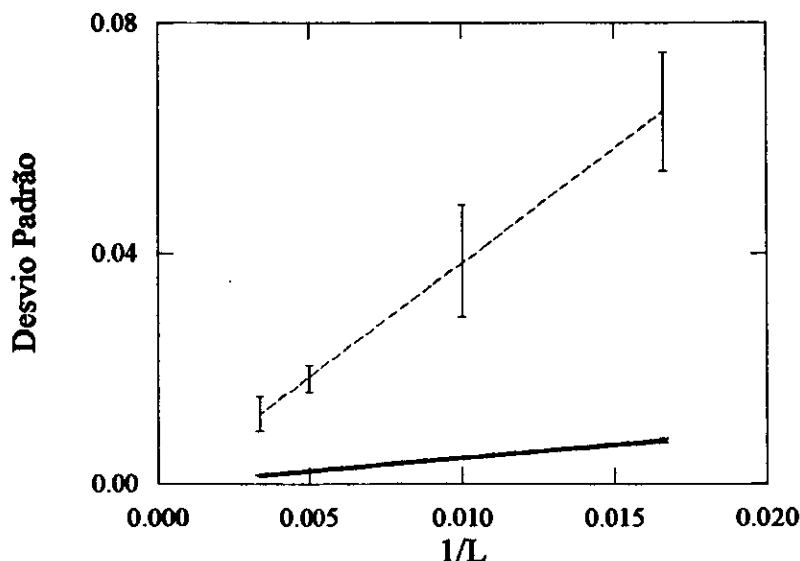


Figura 6.8: Desvio-padrão contra inverso do tamanho de rede para para os valores de probabilidades $p_{12} = 0.7$ (linha tracejada) e $p_{12} = 0.1$ (linha cheia) após um período transiente de 1000 passos e evolução de 1000 passos de tempo.

de tamanho finito.

6.4 A Reação Autocatalítica $A+B \rightarrow 2A$

A reação autocatalítica $A+B \rightarrow 2A$, com difusão, em uma dimensão foi investigada através de simulação computacional.

Tal estudo foi motivado pelo papel central desempenhado pela reação autocatalítica nos modelos estudados anteriormente. Além disto, diversos trabalhos publicados recentemente revelaram ser possível em reações muito simples com difusão, observar comportamento diferente do esperado por um cálculo de campo médio [56, 65, 70, 81, 88], no caso presente, a solução de uma equação diferencial ordinária. Nestes modelos são investigados, usualmente, a evolução assintótica das espécies e, em alguns casos, a distribuição espacial das mesmas.

O modelo simulado é muito simples. Em uma rede unidimensional são dis-

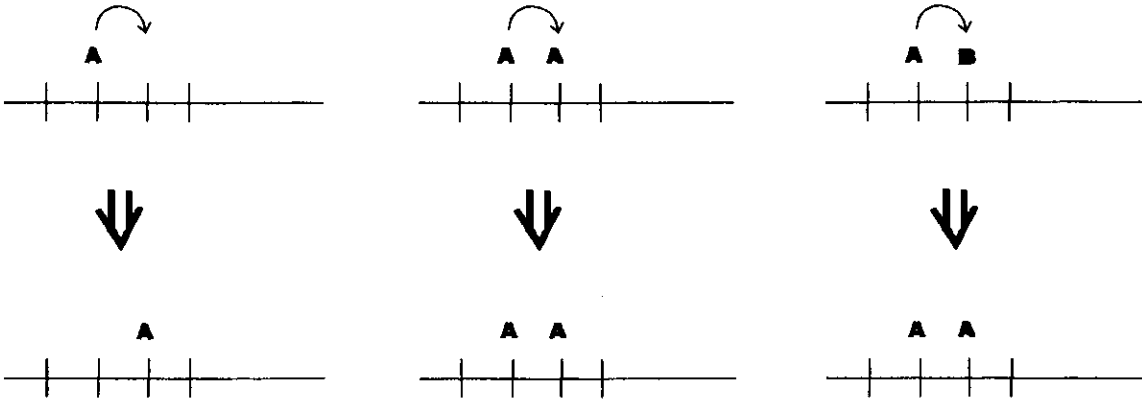


Figura 6.9: Esquema do modelo para a reação $A + B \rightarrow 2A$

tribuídos aleatoriamente os estados A e B, deixando um número pré-definido de sítios vazios. Em cada passo de tempo é sorteado um número de sítios igual ao total de sítios ocupados por A e B. Para cada sítio sorteado, é escolhido se o mesmo irá se mover um sítio a direita ou um sítio a esquerda. Se o sítio escolhido estiver vazio ocorre o movimento. Se o sítio escolhido estiver ocupado e se os dois sítios em questão estiverem em estados diferentes, o sítio cujo estado é B passa para o estado A. Se os dois sítios em questão estiverem no mesmo estado nada acontece. O modelo está representado na figura 6.9.

Pela solução de campo médio do sistema (solução da equação diferencial associada) é esperada uma evolução do tipo $B = \exp^{-t}$. Na figura 6.10 está apresentado o resultado da simulação numérica. A simulação indica um comportamento do tipo $B = \exp^{-t^{1/2}}$. Este resultado é coerente com estudos realizados sobre reações semelhantes [81].

6.5 Discussão

O comportamento oscilatório das concentrações das espécies observado para o modelo 6.1 está relacionado à aglomeração das espécies e propagação de frentes de onda. A reação autocatalítica $A + E \rightarrow 2A$ é uma etapa fundamental no processo. De

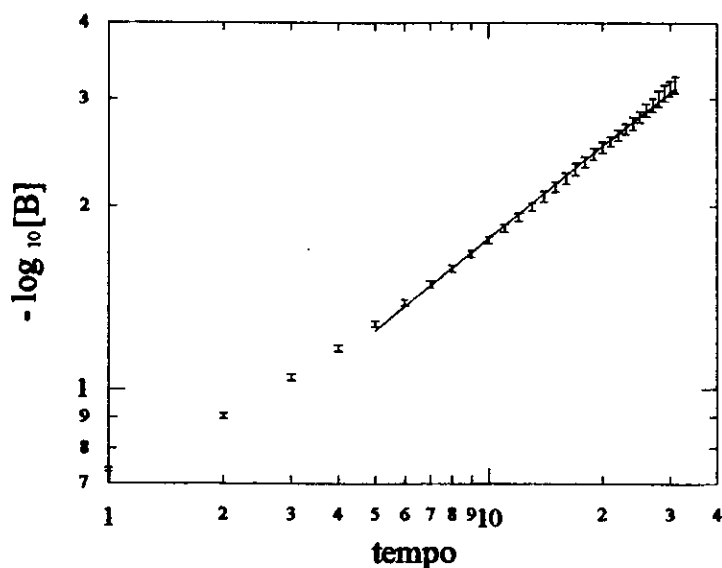


Figura 6.10: Evolução da concentração da espécie B com o tempo.

fato, como discutido na seção 6.4, esta reação, mesmo em uma dimensão, apresenta aspectos não triviais.

Para a ocorrência de oscilações o processo básico parece ser o da transformação do “mar” de sítios no estado 5 em uma mistura de estados 2, 3, 4 e 5 pela propagação de uma frente de onda no estado 1. O decaimento do estado 1 deixa um rastro de estados 2, 3 e 4. Os encontros entre as diferentes frentes de onda extingüem o processo de propagação, com os sítios nos estados 2, 3 e 4 “blindando” a reação autocatalítica $1 + 5 \rightarrow 1 + 1$.

A relação entre as velocidade da reação autocatalítica e do decaimento do estado 1 e a eficiência da blindagem pelos estados 2, 3 e 4 podem explicar a dependência do aparecimento de oscilações em relação às probabilidades de transição. As oscilações surgem para uma transição $1 \rightarrow 2$ suficientemente rápida, permitindo a regeneração de regiões no estado 5. Por outro lado, embora a blindagem pelos estados 2, 3 e 4 deva ser eficiente, para evitar o consumo contínuo dos sítios no estado 5, o decaimento dos estados 2, 3 e 4 deve ser suficientemente rápido para permitir a regeneração de regiões no estado 5.

Outro aspecto essencial a ser observado é a **ausência** de oscilações em um modelo semelhante com três estados. Para um modelo semelhante com três estados foi mostrado não haver comportamento oscilatório, se a difusividade das espécies não for muito diferente [56]. Para o modelo com quatro estados foi encontrado apenas um regime oscilatório incipiente e mal definido em regiões extremas do espaço de probabilidades. Isto reforça a idéia de que a passagem por um certo número de estados deve ser essencial no processo.

Como foi visto no capítulo 4, o modelo de cinco estados com uma etapa autocatalítica é o modelo mínimo para o aparecimento de oscilações para sistemas com ciclo de reações, em se tratando de equações diferenciais. Neste caso, a relação entre autômatos celulares e equações diferenciais parece bem estreita, o que não deixa de ser surpreendente. Por outro lado, mesmo a simples reação $A+B \rightarrow 2A$ em uma dimensão apresenta aspectos diferentes quando levada em conta a distribuição espacial. Além disto, o AC mostra a formação de estruturas espaciais e permite um melhor entendimento do mecanismo subjacente ao fenômeno oscilatório.

O fato de, no limite termodinâmico, não haver oscilação global no AC, embora relevante do ponto de vista da discussão geral em torno do problema, não é tão significativo para sistemas de tamanho finito. Nos seres vivos, as membranas de cada compartimento possuem, tipicamente, uma área da ordem de grandeza do μm^2 . Em sistemas com alta densidade de bombas o número das mesmas é da ordem de $30.000/\mu\text{m}^2$ [5]. Assim, torna-se relevante saber, para este tipo de sistema, que resultados podem advir da dinâmica de um número finito de unidades.

Conclusões

Nesta tese foram estudadas diversas propostas não-lineares para o transporte ativo em biomembranas. A necessidade de se estudar tais modelos provém de várias fontes. Dentre estas poderia ser destacada a incapacidade de sistemas lineares em explicar alguns comportamentos encontrados experimentalmente ou de prover o mecanismo de transporte com possibilidades importantes do ponto de vista biológico, tais como oscilações e auto-controle.

O resultado principal foi demonstrar a existência de comportamento oscilatório em modelos de reação baseados no transporte ativo em biomembranas.

O modelo mais simples apresentando tal comportamento se baseia em um ciclo de transporte com cinco etapas acoplado a uma reação autocatalítica. Foi determinada toda a estrutura do conjunto de bifurcação de Hopf para este modelo, isto é, todos os pontos do espaço das constantes cinéticas para os quais o sistema passa a apresentar oscilações.

Esquemas mais complexos foram estudados a partir de processos cuja existência em sistemas de transporte ativo possui uma forte motivação experimental. Estes processos foram a formação de complexos das bombas transportadora com outras moléculas e a formação de dímeros entre as bombas. Em tais condições, foi mostrado o surgimento de comportamento oscilatório. Este fenômeno pode ser observado em um modelo reduzido com formação de dímeros e complexos, usando um conjunto de constantes cinéticas na mesma ordem de grandeza de constantes empregadas em estudos experimentais por outros autores [2, 3]. A correspondência dos

resultados para curvas de fluxo de íons por bomba versus concentração de bombas entre este modelo reduzido e resultados experimentais [52, 53] é, no mínimo, sugestiva.

Embora a existência de oscilações autônomas em sistemas de transporte ativo ainda não tenha sido verificada experimentalmente, os resultados existentes permitem supor que tal fenômeno seja possível. De toda maneira, a existência de oscilações em modelos simples para transporte ativo levanta a questão de saber em que condições tais propostas poderiam modelar sistemas biológicos experimentais ou situações *in vivo*. Fica também a questão de saber em que condições estes modelos poderiam ser uma alternativa a explicações tradicionais para fenômenos oscilatórios conhecidos.

As técnicas matemáticas aqui empregadas mostraram ser alternativas viáveis para o tratamento analítico de equações diferenciais associadas a redes complexas de reações químicas. Além do valor operacional estas técnicas são também úteis na análise dos fenômenos.

A partir da aplicação da análise de redes estequiométricas foi possível determinar em que sentido os modelos mais simples se encontram na origem do comportamento oscilatório de modelos mais complexos. Tal fato se baseia na existência de correntes extremas dos sistemas mais simples cujas extensões são correntes extremas de modelos mais complexos. Esta foi a chave que permitiu estudar redes mais completas.

Após este estudo ficou claro o papel central desempenhado pela reação autocatalítica em todos estes processos, seja na forma direta, seja indiretamente, por extensões desta reação, através da formação de dímeros entre as bombas transportadoras.

Na última parte do trabalho o modelo com cinco etapas e uma reação autocatalítica voltou a ser estudado, sendo considerada agora a difusão das proteínas transportadoras lateralmente na membrana. Para analisar o sistema foi usada a técnica de modelagem via autômatos celulares. Foi mostrada a existência de oscilações neste autômato. Além disto o sistema apresentava a evolução de "ondas químicas" e a formação de estruturas espaciais, caracterizada por uma aglomeração

de bombas no mesmo estado.

Estes resultados fornecem um mecanismo mais evidente para a ocorrência de oscilações. Pode ser presumido que outros autômatos (simulando a formação de dímeros, por exemplo) possuirão o mesmo comportamento em situações adequadas. Finalmente, é clara a analogia possível com processos conhecidos de evolução de “ondas químicas” em biomembranas [67]

As possibilidades de continuação do trabalho são muito grandes. Seja aplicando as técnicas e programas desenvolvidos em outras redes de reação, seja aprimorando os modelos e procurando uma aplicação a sistemas biológicos específicos.

Como caminho mais evidente está a busca de uma melhor correlação entre um modelo com formação de dímeros e complexos e os resultados experimentais. Para isto seria necessário, entre outras coisas, encontrar o conjunto mais adequado de constantes cinéticas e uma definição melhor dos mecanismos envolvidos.

Do lado dos autômatos, como já foi dito, é de se esperar a ocorrência dos mesmos fenômenos aqui encontrados no AC para uma rede de monômeros quando for considerado um AC com formação de dímeros.

Apêndice

a)

$$\begin{aligned}
 \mathbf{P}(b, c, d, e) = & c^3 d^2 e + c^2 d^3 e + c^3 e^2 + c^2 d e^2 + c^3 d e^2 + c d^2 e^2 + 2c^2 d^2 e^2 + d^3 e^2 + c d^3 e^2 + \\
 & c e^3 + c^2 e^3 + d e^3 + 2c d e^3 + c^2 d e^3 + d^2 e^3 + c d^2 e^3 + b^3 (c^2 d + c d^2 + c^2 e + \\
 & 2c d e + d^2 e + e^2 + c e^2 + d e^2) + b^2 (c^3 d + 2c^2 d^2 + c d^3 + c^3 e - c d e + 4c^2 d e + \\
 & 4c d^2 e + d^3 e + c e^2 + 2c^2 e^2 + d e^2 + 4c d e^2 + 2d^2 e^2 + e^3 + c e^3 + d e^3) + \\
 & b (c^3 d^2 c^2 + d^3 - c^2 d e + 2c^3 d e - c d^2 e + 4c^2 d^2 e + 2c d^3 e + c^2 e^2 + \\
 & c^3 e^2 + c d e^2 + 4c^2 d e^2 + d^2 e^2 + 4c d^2 e^2 + d^3 e^2 + e^3 + 2c e^3 + c^2 e^3 + \\
 & 2d e^3 + 2c d e^3 + d^2 e^3)
 \end{aligned}$$

b)

$$\begin{aligned}
 \mathbf{P}(b, d, e, r) = & b^5 (r^2 d + r^3 d + r^2 e + r^3 e) + \\
 & b^4 (r d^2 + 2r^2 d^2 + r^3 d^2 + 2r d e + 4r^2 d e + 2r^3 d e + r e^2 + \\
 & 2r^2 e^2 + r^3 e^2) + b^3 (r d^3 + r^2 d^3 - r d e - r^2 d e + d^2 e + 4r d^2 e + 4r^2 d^2 e + \\
 & r^3 d^2 e + e^2 + r e^2 + r^2 e^2 + r^3 e^2 + d e^2 + 4r d e^2 + 4r^2 d e^2 + r^3 d e^2 + \\
 & r e^3 + r^2 e^3) + b^2 (-(r d^2 e) + d^3 e + 2r d^3 e + r^2 d^3 e + d e^2 + r d e^2 + r^2 d e^2 + \\
 & 2d^2 e^2 + 4r d^2 e^2 + 2r^2 d^2 e^2 + e^3 + 2r e^3 + r^2 e^3 + d e^3 + 2r d e^3 + r^2 d e^3) + \\
 & b (d^2 e^2 + r d^2 e^2 + d^3 e^2 + r d^3 e^2 + e^3 + r e^3 + 2d e^3 + 2r d e^3 + \\
 & d^2 e^3 + r d^2 e^3) + d^3 e^2 + d e^3 + d^2 e^3
 \end{aligned}$$

c)

$$\begin{aligned}
\mathbf{b}^3 \cdot \mathbf{P}(\mathbf{b}, d, e, h) = & \mathbf{b}^6(d^2e + e^2 + de^2) + \mathbf{b}^5(hd^2 + 2hde + d^3e + he^2 + de^2 + 2d^2e^2 + \\
& e^3 + de^3) + \mathbf{b}^4(h^2d + hd^3 + h^2e - hde + 4hd^2e + he^2 + 4hde^2 + d^2e^2 + \\
& d^3e^2 + e^3 + he^3 + 2de^3 + d^2e^3) + \\
& \mathbf{b}^3(2h^2d^2 + 4h^2de - hd^2e + 2hd^3e + \\
& 2h^2e^2 + hde^2 + 4hd^2e^2 + d^3e^2 + 2he^3 + de^3 + 2hde^3 + d^2e^3) + \\
& \mathbf{b}^2(h^3d + h^2d^3 + h^3e - h^2de + 4h^2d^2e + h^2e^2 + 4h^2de^2 + hd^2e^2 + \\
& hd^3e^2 + he^3 + h^2e^3 + 2hde^3 + hd^2e^3) + \\
& \mathbf{b}(h^3d^2 + 2h^3de + h^2d^3e + h^3e^2 + h^2de^2 + 2h^2d^2e^2 + h^2e^3 + h^2de^3) + \\
& h^3d^2e + h^3e^2 + h^3de^2
\end{aligned}$$

d)

$$\mathbf{P} = 8b^6 + 24b^5e + 24b^4e^2 - 3b^4e + 8b^3e^3 + 10b^3e^2 + 9b^2e^3 + 3be^3$$

Bibliografia

- [1] Abhyankar, S. S., ALGEBRAIC GEOMETRY FOR SCIENTISTS AND ENGINEERS, AMS, Providence, Rhode-Island, [1990].
- [2] Adamo, H. P., Rega, F. A. & Garrahan, P. J., *J. Biol. Chem.*, **263**, [1988], 17548-17554.
- [3] Adamo, H. P., Rega, F. A. & Garrahan, P. J., *J. Biol. Chem.*, **265**, [1990], 3789-3792.
- [4] Alberts, B., Bray, D., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K. & Watson, J. D., MOLECULAR BIOLOGY OF THE CELL, Garland publishing, New York, [1989].
- [5] Andersen, J. P., *Biochim. Biophys. Acta*, **988**, [1989], 47-72.
- [6] Arnold, V., EQUAÇÕES DIFERENCIAIS ORDINÁRIAS, Mir, Moscou, [1985].
- [7] Barnett, S. & Storey, C., MATRIX METHODS IN STABILITY THEORY, Nelson, Londres, [1970].
- [8] Betts, G. F. & Srivastava, D. K., *J. Theor. Biol.*, **151**, [1991], 155-167.
- [9] Berryman, H. S. & Franceschetti, D. R., *Phys. Lett. A*, **136**, [1989], 348-352.
- [10] Binder, P.-M. & Privman, V., *Mod. Phys. Lett. B*, **6**, [1992], 1835-1841.
- [11] Bloom, M. & Mouritsen, O. G., *Can. J. Chem.*, **66**, [1988], 706-712.
- [12] Brooker, R. J. & Slayman, C. W., *J. Biol. Chem.*, **258**, [1983], 8833-8838.

- [13] Caillé, A., Pink, D., de Verteuil, F. & Zuckermann, M. J., *Can. J. Phys.*, **58**, [1980], 581-611.
- [14] Cajori, F., *AN INTRODUCTION TO THE THEORY OF EQUATIONS*, Dover, New York, [1969].
- [15] Chaté, H. & Manneville, P., *Europhys. Lett.*, **14**, [1991], 409-413.
- [16] Cheung, W. A., *Sci. Am.*, **246**, [1982], 62-70.
- [17] Chopard, B., Droz, M. & Kolb, M., *J. Phys. A : Math. Gen.*, **22**, [1989], 1609-1619.
- [18] Clarke, B. L., *J. Chem. Phys.*, **62** (9), [1975], 3726-3738.
- [19] Clarke, B. L., *Adv. Chem. Phys.*, **43**, [1980], 1-213.
- [20] Clarke, B. L., *J. Chem. Phys.*, **75** (10), [1981], 4970-4979.
- [21] Daoyi, X., *Int. J. of Control*, **41** (1), [1985], 289-295.
- [22] Ermentrout, G. B. & Edelstein-Keshet, L., *J. Theor. Biol.*, **160**, 97-133.
- [23] Farkas, H. & Simon, P. L., *J. Math. Chem.*, **9**, [1992], 323-339.
- [24] Farmer, D., Toffoli, T., & Wolfram, S., eds., *CELLULAR AUTOMATA, Physica D* (Amsterdam), **10**, vols. 1 & 2, [1984].
- [25] Feinberg, M., *Arch. Rational Mech. Anal.*, **49**, [1972], 187-194.
- [26] Feinberg, M. & Horn, F. J., *Arch. Rational Mech. Anal.*, **66**, [1979], 83-97.
- [27] Feinberg, M., *Chem. Engng. Sci.*, **42** (10), [1987], 2229-2268.
- [28] Feinberg, M., *Chem. Engng. Sci.*, **43** (1), [1988], 1-25.
- [29] Feinberg, M. & Rumschitzki, D., *Chem. Engng. Sci.*, **43** (2), [1988], 329-337.

- [44] Horn, F. J., *Arch. Rational Mech. Anal.*, **49**, [1972], 172-186.
- [45] Horn, F. J., *Proc. R. Soc.*, **A334**, [1973], 299-330.
- [46] Hirsh, M. W. & Smale, S., **DIFFERENTIAL EQUATIONS, DYNAMICAL SYSTEMS, AND LINEAR ALGEBRA**, Academic Press, Nova York, [1974].
- [47] Ikemoto, N. & Nelson, R. W., *J. Biol. Chem.*, **259**, [1984], 11790-11797.
- [48] Jenks, R. D., *J. Diff. Eqs.*, **4**, [1968], 549-565.
- [49] Jenks, R. D., *J. Diff. Eqs.*, **5**, [1969], 497-514.
- [50] Jørgensen, P. L. & Andersen, J. P., *J. Membrane Biol.*, **103**, [1988], 95-120.
- [51] Klingenberg, M., *Nature*, **290**, [1981], 449-454.
- [52] Kosk-Kosicka, D. & Bzdega, T., *J. Biol. Chem.*, **263**, [1988], 18184-18189.
- [53] Kosk-Kosicka, D. & Bzdega, T., *Biochem.*, **29**, [1990], 3772-3776.
- [54] Kubíček, M., *ACM Trans. Math. Soft.*, **2**, [1976], 98-107.
- [55] Kubíček, M. & Marek, M., **COMPUTATIONAL METHODS IN BIFURCATION THEORY AND DISSIPATIVE STRUCTURES**, Springer-Verlag, New York, [1983].
- [56] Kuzovkov, V. & Kotomin, E., *Rep. Prog. Phys.*, **51**, [1988], 1479-1523.
- [57] Langton, C., *Physica D*, **10**, [1984], 135-144.
- [58] Langton, C., *Physica D*, **22**, [1986], 120-149.
- [59] Läuger, P., *Biochim. Biophys. Acta*, **779**, [1984], 307-341.
- [60] Lechleiter, J., Girard, S., Peralta, E. & Clapham, D., *Science*, **252**, [1991], 123-126.
- [61] Lee, T. D., *Phys. Lett. B*, **122**, [1983], 217-220.

- [62] Lee, T. D., in LESSONS OF QUANTUM THEORY, ed. J. de Boer, E. Dal & O. Ulfbeck, Elsevier, New York, [1986].
- [63] Lehninger, A. L., PRINCÍPIOS DE BIOQUÍMICA, Ediciones Omega, Barcelona, [1984].
- [64] Lemieux, D. R. & Koosey, J. M., *J. Theor. Biol.*, **150**, [1991], 73-91.
- [65] Leyvraz, F. & Redner, S., *Phys. Rev. A*, **46**, [1992], 3132-3147.
- [66] Lorenz, E. N., *J. Atmos. Sci.*, **20**, [1963], 130-141.
- [67] Mayer, E. A., Konder, A., Sun, X. P., Wilkes, J., Scott, D. & Sachs, G., *J. Membrane Biol.*, **125**, [1992], 107-118.
- [68] Nagle, J. F. & Mille, M., *J. Chem. Phys.*, **74**, [1981], 1367-1372.
- [69] Nicolis, G. & Prigogine, I., SELF-ORGANIZATION IN NON-EQUILIBRIUM SYSTEMS, Wiley, Nova York, [1977].
- [70] Ovchinnikov, A. A. & Zeldovich, Ya. B., *Chem. Phys.*, **28**, [1978], 215-218.
- [71] Palis, J. & Melo, W., INTRODUÇÃO AOS SISTEMAS DINÂMICOS, Projeto Euclides (CNPq), Brasília, [1978].
- [72] Petersen, O. H. & Wakui, *J. Membrane Biol.*, **118**, [1990], 93-105.
- [73] Pomeau, Y., *J. Stat. Phys.*, **70**, [1993], 1379-1382.
- [74] Quinn, P. J., THE MOLECULAR BIOLOGY OF CELL MEMBRANES, MacMillan, London, [1982].
- [75] Raven, J. A. & Smith, F. A., *J. Theor. Biol.*, **57**, [1976], 301-312.
- [76] Repke, K.R.H., *Biochim. Biophys. Acta*, **864**, [1986], 195-212.
- [77] Saleet Jafri, M., Vajda, S., Pasik, P. & Gillo, B., *Biophys. J.*, **63**, [1992], 235-246.

- [78] Serrano, R., *Biochim. Biophys. Acta*, **947**, [1988], 1-28.
- [79] Seydel, R., FROM EQUILIBRIUM TO CHAOS. PRATICAL BIFURCATION AND STABILITY ANALYSIS , Elsevier, New York, [1988].
- [80] Smith, D. A. & Saldana, R., *Biophys. J.*, **61**, [1992], 368-380.
- [81] Song, S. & Poland, D., *J. Phys. A : Math. Gen.*, **25**, [1992], 3913-3928.
- [82] Sotomayor, J., LIÇÕES DE EQUAÇÕES DIFERENCIAIS, Projeto Euclides (CNPq), Brasília, [1979].
- [83] Swart, J. H., *Quaestiones Mathematicae*, **13**, [1990], 17-29.
- [84] Tanford, C., *Ann. Rev. Biochem.*, **52**, [1983], 379-409.
- [85] Tepikin, A. T., Voronina, S.G., Gallacher, D. V. & Petersen, O. H., *J. Biol. Chem.*, **267**, [1992], 14073-14076.
- [86] Toffoli, T., *Physica D*, **10**, [1984], 117-127.
- [87] Toffoli, T. & Margolus, N., CELLULAR AUTOMATA MACHINES, MIT Press, Cambridge, [1987].
- [88] Toussaint, D. & Wilczek, F., *J. Chem. Phys.*, **78**, [1983], 2642-2647.
- [89] Ueda, T., Matsumoto, K., Akitaya, T. & Kobatake, Y., *Exp. Cell Res.*, **162**, [1986], 486-494.
- [90] Vainberg, M. M., & Trenogin, V. A., THEORY OF BRANCHING OF SOLUTIONS OF NON-LINEAR EQUATIONS, Noordhoof, Leyden, [1974].
- [91] Vieira, F. de M. C. & Bisch, P. M., *Physica A*, **199**, [1993], 40-54.
- [92] Vieira, F. de M. C. & Bisch, P. M., *Notas de Física 16/92*, CBPF, Rio de Janeiro [1992], preprint.

- [93] Vieira, F. de M. C. & Bisch, P. M., *Eur. Biophys. J.*, [1993], submetido.
- [94] Vieira, F. de M. C. & Bisch, P. M., em fase de conclusão.
- [95] Vlachos, D. G., Schüth, F., Aris, R. & Schmidt, L. D., *Physica A*, **188**, [1992], 302-321.
- [96] Volkenshtein, M. V., *BIOFÍSICA*, Mir, Moscou, [1985].
- [97] Weissmüller, G., TESE DE MESTRADO, CBPF, Rio de Janeiro, [1989].
- [98] Weissmüller, G. & Bisch, P. M., *Eur. Biophys. J.*, **22**, [1993], 63-70.
- [99] Willamowski, K.-D., *Z. Naturforsch.*, **33a**, [1978], 983-988.
- [100] Willamowski, K.-D., *Z. Naturforsch.*, **33a**, [1978], 989-992.
- [101] Wolfram, S., *THEORY AND APPLICATIONS OF CELLULAR AUTOMATA*, World Scientific, Singapore, [1986].
- [102] Wu, X.-G. & Kapral, R., *Physica A*, **188**, [1992], 284-301.
- [103] Yoshimoto, Y. & Kamiya, N., *Protoplasma*, **110**, [1982], 63-65.

"ESTUDOS DE MODELOS NÃO-LINEARES PARA O TRANSPORTE ATIVO EM
BIOMEMBRANAS"

FERNANDO DE MAGALHÃES COUTINHO VIEIRA

Tese de Doutorado apresentada no Cen-
tro Brasileiro de Pesquisas Físicas,
do Conselho Nacional de Desenvolvi-
mento Científico e Tecnológico, fa-
zendo parte da banca examinadora os
seguintes professores:



Paulo Mascarello Bisch - Presidente



Héctor Barrabin



Tania Thomé Martins de Castro



Constantino Tsallis



Eliane Wajnberg