

Atractores caóticos en rutas metabólicas

Chaotic attractors in metabolic pathways

Alejandro Pliego Prenda

Grado en Física



Trabajo fin de grado

Tutora: María del Carmen Lemos Fernández

Departamento de Física de la Materia Condensada

Junio del 2020

Índice

1. Introducción	2
2. Metabolismo celular	4
2.1. Enzimas	4
2.2. Rutas metabólicas	5
3. Modelización de reacciones enzimáticas	8
3.1. Ley de acción de masas	8
3.2. Cinética de Michaelis-Menten	9
3.2.1. Reacciones reversibles	12
3.2.2. Inhibición	15
3.2.3. Reacciones bisustrato	15
3.3. Función de Hill	19
3.4. Modelo de Monod-Wyman-Changeux	22
4. Modelización de rutas metabólicas	34
4.1. Modelo para la parte alta de la glucólisis	34
4.2. Modelo de Decroly y Goldbeter	41
5. Conclusiones	47
Referencias	48
Anexos:	51
A. Reacciones con inhibición	51
A.1. Inhibición competitiva	51
A.2. Inhibición acompetitiva	54
A.3. Inhibición no competitiva	57
B. Códigos de MatLab utilizados para realizar algunas simulaciones	62

Resumen

En este trabajo se aborda el estudio de las rutas metabólicas mediante el análisis de las enzimas que las componen, poniendo especial énfasis en la fase inicial de la glucólisis.

Primero, se introducirá el concepto de enzima y se presentarán las rutas como un conjunto de reacciones químicas cuya cinética se caracteriza por los tipos de enzimas que actúen en ella como catalizador. Bajo esta premisa, se estudiarán distintos modelos capaces de explicar el comportamiento de los diferentes tipos de enzimas.

Por último, con las herramientas anteriormente mencionadas, se construirá un modelo para la simulación de la parte alta de la glucólisis y se buscarán los diferentes comportamientos que puedan darse en tal sistema.

Abstract

In this bachelor thesis, we will tackle the study of metabolic pathways through analysis of the enzymes that make them up, focusing mainly in the preparatory phase of glycolysis.

First, we will introduce the concept of enzyme, and present pathways as chemical reactions whose kinetics are characterized by the types of enzymes that act as catalyst. Under this premise, we will study several models capable of explaining the behaviour of different types of enzymes.

Finally, using the aforementioned tools, we will construct a model to simulate the upper part of glycolysis, and find the different processes that can take place within the system.

1. Introducción

La biología es la rama de la ciencia que estudia aquellos fenómenos naturales en los que interviene algún organismo vivo. Tanto en la definición clásica de ser vivo, en la que se considera como tal a aquellos organismos capaces de realizar las funciones de nutrición, relación y reproducción, como en la definición más moderna de Matuna y Valera [1], quienes entienden que un ser vivo es cualquier sistema de moléculas que posee una estructura organizada capaz de autorreplicarse y de cambiar su morfología y composición para adaptarse al medio externo, el concepto de ser vivo implica un continuo intercambio y modificación de la materia y la energía que lo compone. La suma de los cambios de materia y energía que realiza un ser vivo con el medio externo o entre distintas partes del mismo organismo se denomina metabolismo.

Los estudios más tempranos sobre el metabolismo de los que se tienen constancia, fueron realizados en el siglo XIII por el médico árabe Ibn al-Nafis, quien una vez dijo que *tanto el cuerpo humano como sus partes se encuentran en un estado continuo de disolución y nutrición, por lo que inevitablemente están sometidos a un cambio permanente* [2]. Sin embargo, no fue hasta el Renacimiento con la publicación de *Ars de statica medicina*, de la mano del médico italiano Santorio Santorio, cuando se empezó a dotar a la disciplina médica de cierto procedimiento experimental controlado y preciso [3]. Ya en el siglo XVIII, el químico francés Antoine-Laurent de Lavoisier, inspirado por los experimentos con plantas de Joseph Priestley, investigó sobre el intercambio de gases entre los seres vivos y el medio, llegando a la conclusión de que la respiración es una forma de combustión [4].

Posteriormente, unos de los descubrimientos más relevantes en el área de la biología fueron los realizados sobre la fermentación por Louis Pasteur, quien descubrió que este proceso es causado por microorganismos e ideó un método para destruir los microbios presentes en alimentos sin alterar su composición (pasteurización) [5]. También destacan los estudios llevados a cabo por Friedrich Wöhler, quien logró la síntesis de la urea a partir de moléculas inorgánicas [6], y los elaborados por Edward Buchner, quien consiguió realizar el proceso de fermentación alcohólica prescindiendo de células vivas [7], trabajos que supusieron un importante cambio de paradigma en el campo de la química

ca orgánica al invalidar la teoría vitalista [8]. No fue hasta el año 1940 cuando Gustav Embden, Otto Meyerhof y Jacob Parnas lograron la caracterización completa de la ruta glucolítica [9], lo que supuso un avance significativo para la investigación del metabolismo.

Estos y otros muchos descubrimientos posteriores nos han dado la posibilidad, por un lado, de mejorar nuestra comprensión del mundo que nos rodea, y por otro, de lograr importantes progresos tanto en nutrición, permitiéndonos crear productos alimenticios cada vez más variados y específicos, como en medicina, donde ha servido para detectar más enfermedades así como para aumentar y mejorar los tratamientos contra ellas [10], y en la industria farmacéutica, permitiéndonos crear productos cada vez más eficaces, lo que nos permite disfrutar actualmente de una vida más duradera y de mejor calidad.

En este trabajo se presenta un estudio cinético de las reacciones metabólicas. Tras definir brevemente los conceptos de enzima y ruta metabólica (capítulo 2), se introducirá la modelización de la cinética enzimática en el capítulo 3, donde se obtendrán los modelos para distintos tipos de enzimas desde las más simples, modelo de Michaelis-Menten, hasta las enzimas alostéricas, modelo de Monod-Wyman-Changeux (MWC). Como aplicación de los conceptos introducidos, en el capítulo 4 se analizarán dos modelos propuestos para explicar la aparición de comportamientos oscilatorios complejos en las rutas metabólicas: el modelo de la parte alta de la glucólisis y el modelo de Decroly y Goldbeter. Finalmente, tras la sección de conclusiones, se incluye un anexo en el que se deduce la cinética para distintos tipos de enzimas susceptibles a procesos de inhibición, procesos que si bien no se dan en las rutas estudiadas en el presente trabajo, son muy comunes en la naturaleza.

2. Metabolismo celular

Se conoce por metabolismo al conjunto de procesos de carácter fisicoquímico que tiene lugar en los seres vivos gracias a los cuales, estos organismos son capaces de realizar determinadas funciones vitales [11].

En general, dichas funciones requieren, por un lado, de la síntesis de biomoléculas que realiza el organismo para poder renovar, cambiar o producir partes del mismo, y por otro lado, de la obtención de materia y energía del medio externo.

Tanto la formación de biomoléculas complejas como la producción de energía, son procesos que habitualmente dependen de una serie de reacciones químicas concretas, que ocurren de forma eficiente en los organismos vivos, y que se han ido optimizando por selección natural durante miles de millones de años de evolución [12].

2.1. Enzimas

Se denominan enzimas a aquellas proteínas que actúan como catalizadores en ciertas reacciones químicas que tienen lugar en las células [13]. Estas moléculas están constituidas por una o varias cadenas polipeptídicas, es decir, secuencias de aminoácidos unidos mediante enlaces peptídicos (apoenzima), aunque a veces contienen además un grupo no protéico (grupo prostético o cofactor) que puede ser un catión metálico o una molécula orgánica (coenzima) [14].

Para que una reacción química tenga lugar, primero los sustratos deben alcanzar el estado de activación, un estado de transición energética en el cual algunos de sus enlaces químicos son lo suficientemente débiles como para que, posteriormente, se puedan formar unos enlaces distintos cambiando así la naturaleza de los reactivos y dando lugar a los productos. La energía necesaria para que los sustratos alcancen el estado de transición se denomina energía de activación.

El papel de las enzimas consiste en disminuir la energía de activación de determinadas reacciones (figura 1) aumentando así la velocidad a la que estas ocurren y, en ocasiones, logrando que dichas reacciones puedan ocurrir finalmente. Aunque muchas de las reacciones químicas que tienen lugar en las células pueden darse también en ambientes extracelulares con idénticas condiciones de presión y temperatura, la acción enzimática es capaz de aumentar la velocidad de estos procesos en hasta 17 órdenes de magnitud [15].

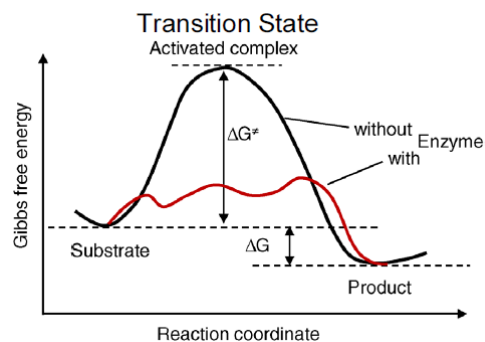


Figura 1: Representación del cambio de energía libre (ΔG) en el curso de una reacción, en la que se establece la diferencia entre el balance energético de una reacción química con (curva roja) y sin (curva negra) la intervención de catalizadores. Como puede observarse, la actuación de la enzima consigue disminuir la energía de activación, favoreciendo así la reacción química. Imagen tomada de [16].

Cada reacción catalizada es regulada por una enzima específica. La especificidad de las enzimas se debe a su compleja estructura proteica, por la cual las enzimas presentan al menos una zona (centro activo o de unión) con la estructura concreta para acoplarse a un sustrato determinado y así alcanzar el estado de transición.

2.2. Rutas metabólicas

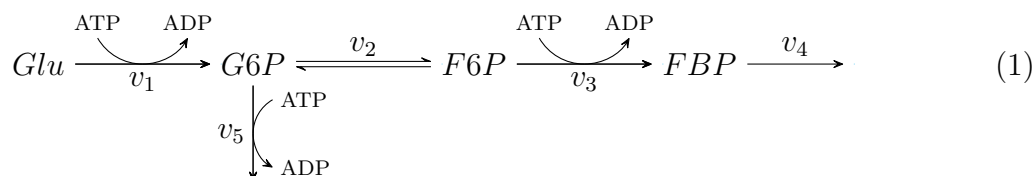
Se puede definir una ruta metabólica como una secuencia de reacciones enzimáticas encadenadas en las que el producto de una reacción es, a su vez, el sustrato de la siguiente. Gracias a las rutas metabólicas, unas moléculas iniciales pueden dar lugar a otras moléculas más complejas y útiles para el organismo (anabolismo), o bien, pueden producir otras moléculas más simples liberando energía en el proceso (catabolismo).

Como ejemplo de una de estas rutas, en el transcurso del presente trabajo se estudiará la ruta glucolítica, más concretamente aquella que se da en la levadura y el músculo esquelético. Esta ruta es una de las más estudiadas debido a su universalidad (ya que

es realizada por casi todos los seres vivos) y por ser precursora de diferentes procesos fisiológicos imprescindibles para la vida.

Se cree que la ruta glicolítica es una de las rutas metabólicas más antiguas que se conocen, puesto que esta puede darse perfectamente en un ambiente anaerobio (sin oxígeno) como el que existía en la atmósfera primitiva [17]. La glucólisis tiene lugar en el interior celular, concretamente en el citoplasma, y consta de diez reacciones químicas en las que la glucosa *Glu* es el sustrato inicial que se descompone finalmente en dos moléculas de piruvato *Pyr*, consumiendo en el transcurso dos moléculas de adenosín trifosfato o ATP en la parte alta del proceso, pero produciendo otras cuatro moléculas de ATP en su parte baja. En suma, por cada molécula de glucosa que se consume en la célula se generan dos nuevas moléculas de ATP, las cuales almacenan en sus enlaces gran cantidad de energía que puede ser consumida para llevar a cabo otros muchos procesos metabólicos.

La parte alta de la glucólisis (1) consiste en la activación de la glucosa para obtener energía de ella posteriormente. Esta parte consta de cuatro reacciones químicas catalizadas por diferentes enzimas.



- En primer lugar, la enzima hexoquinasa fosforila a la glucosa para producir glucosa-6-fosfato (*G6P*), añadiendo un grupo fosfato al sexto carbono de la glucosa proveniente de la descomposición de una molécula de ATP en una molécula de adenosín difosfato o ADP.
- Luego, parte de la glucosa-6-fosfato (*G6P*) se puede consumir en otras rutas, pero otra parte continuará la ruta glicolítica sufriendo un proceso de isomerización regulado por la enzima fosfoglucoisomerasa, que convertirá la glucosa-6-fosfato en fructosa-6-fosfato (*F6P*), molécula que contiene los mismos elementos que su predecesora pero formando distintos enlaces.
- La tercera reacción es una nueva fosforilación, esta vez llevada a cabo por la enzima

fosfofructoquinasa, la cual consume una molécula de fructosa-6-fosfato (*F6P*) junto a una molécula de ATP y produce ADP junto a fructosa-1,6-bisfosfato (*FBP*).

- El último paso de la parte alta de la glucólisis es regulado por la enzima aldolasa, la cual se encarga de dividir la molécula de fructosa-1,6-bisfosfato (*FBP*) en dos triosas: gliceraldehido-3-fosfato y dihidroxiacetona. Ambas continuarán, tras este paso, el resto de la ruta metabólica que desembocará en la producción de una molécula de piruvato y dos de ATP por cada una de estas triosas.

Junto a la parte alta de la glucólisis conviene estudiar otros procesos químicos que ocurren en el mismo entorno, como la fosforilación de ADP produciendo ATP (2), que se dará fundamentalmente en la parte baja de la glucólisis, el consumo de ATP en otras rutas metabólicas (3) y la reacción de transferencia del grupo fosfato (4), llevada a cabo por la adenilato quinasa, consumiendo una molécula de adenosín monofosfato (AMP).



3. Modelización de reacciones enzimáticas

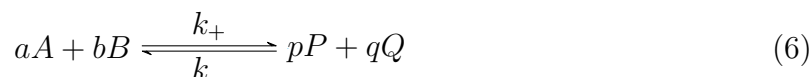
Se define la concentración de una sustancia $[S]$ como el número de moléculas n de dicha sustancia S presente en un determinado volumen V . A su vez, se define la velocidad o tasa de reacción $v(t) = v([S](t))$ como el cambio en la concentración de una sustancia producto de dicha reacción respecto al tiempo, es decir, la derivada temporal de la concentración de producto $[P]$ [17].

$$v \equiv \frac{d[P]}{dt} \quad (5)$$

Para simplificar, se asumirá en todo momento que existe homogeneidad espacial para todas las concentraciones involucradas en las reacciones químicas que se van a tratar y que, además, la temperatura a la que estas ocurren será siempre constante.

3.1. Ley de acción de masas

La ley de acción de masas, enunciada originalmente por Guldberg y Waage, establece que la velocidad de una reacción es proporcional a la probabilidad de colisión de los reactivos implicados en ella [18]. De este modo, para una reacción reversible cualquiera (6) donde a , b , p y q son los coeficientes estequiométricos de las especies involucradas A , B , P y Q respectivamente, la velocidad de reacción v vendrá dada por la ecuación (7), donde k_+ y k_- son las constantes cinéticas para cada sentido de la reacción. Estas constantes son distintas para cada reacción y dependen de la afinidad y forma de los sustratos, así como de la temperatura a la que ocurre el proceso [19].



$$v = k_+[A]^a[B]^b - k_-[P]^p[Q]^q \quad (7)$$

Un caso más restringido de la ley de acción de masas puede obtenerse a partir de la ecuación (7). Si tenemos una reacción irreversible en lugar de una reversible, la constante de velocidad asociada al sentido inverso k_- de la reacción puede tomarse como nula y la velocidad de reacción dependerá únicamente de las concentraciones de los sustratos (8).

$$v = k_+[A]^a[B]^b \quad (8)$$

De forma general, para una reacción reversible en la que N sustratos diferentes ($S_i \forall i = 1, \dots, N$) dan lugar a M productos diferentes ($P_j \forall j = 1, \dots, M$), la velocidad de reacción vendrá dada por la ecuación (9), donde c_i es el coeficiente estequiométrico asociado al i -ésimo sustrato y c_j lo propio con el j -ésimo producto [20].

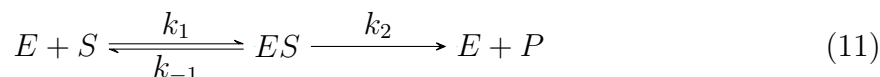
$$v = k_+ \prod_{i=1}^N [S]_i^{c_i} - k_- \prod_{j=1}^M [P]_j^{c_j} \quad (9)$$

Se dice que una reacción química se encuentra en equilibrio cuando la velocidad de reacción es nula. Puede definirse, a partir de la ecuación (9), una constante de equilibrio K_{eq} o constante de unión K_B para cualquier reacción reversible (10), y del mismo modo se puede definir la constante de disociación K_D como la inversa de esta.

$$K_{eq} \equiv \frac{k_+}{k_-} = \frac{\prod_{j=1}^M [P]_j^{c_j}}{\prod_{i=1}^N [S]_i^{c_i}} \quad (10)$$

3.2. Cinética de Michaelis-Menten

El modelo más simple de reacción química catalizada por una enzima E es el modelo de Michaelis-Menten, en el que un sólo sustrato S produce de forma irreversible un único producto P .



- La primera etapa de la reacción corresponde a la formación del complejo enzima-sustrato ES , un proceso reversible en la que el sustrato se une al centro activo de la enzima. De acuerdo con la ecuación de velocidad para una reacción reversible (7), la velocidad v_1 característica de esta etapa vendrá dada por (12).

$$v_1 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] \quad (12)$$

- La segunda de etapa de la reacción es un proceso irreversible en el que el complejo enzima-sustrato supera el umbral de transición, dando como resultado la obtención del producto junto a la enzima original. La velocidad v_2 a la que ocurre esta etapa vendrá dada por (13), como se dedujo en el apartado anterior (8).

$$v_2 = k_2[ES] \quad (13)$$

Conocidas de las velocidades a las que ocurre cada etapa, se puede calcular la producción de las distintas especies que participan en la reacción:

$$\frac{d[S]}{dt} = -v_1 = k_{-1}[ES] - k_1[E][S] \quad (14)$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = v_1 - v_2 = k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (15)$$

$$\frac{d[E]}{dt} = -v_1 + v_2 = (k_{-1} + k_2)[ES] - k_1[E][S] \quad (16)$$

$$\frac{d[P]}{dt} = v_2 = k_2[ES] \quad (17)$$

De esta forma se obtiene un sistema de ecuaciones analíticamente irresoluble. Para resolver dicho sistema será necesario tomar dos aproximaciones:

- Se asume que la primera etapa de la reacción ocurre mucho más rápida que la segunda. Lo que en términos de constantes se traduce como $k_1, k_{-1} \gg k_2$.
- Pasado un tiempo, la concentración de complejo enzima-sustrato será constante, alcanzado un estado estacionario parcial o cuasiestacionario [21].

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \quad (18)$$

Volviendo a la ecuación (15) y aplicando la aproximación cuasiestacionaria (18), se llega a la siguiente fórmula:

$$k_1[E][S] - (k_{-1} + k_2)[ES] = 0 \quad (19)$$

Donde, reordenando términos, se llega a:

$$\left(\frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \right) [ES] = [E][S] \quad (20)$$

Si se tiene en cuenta que la cantidad de enzima libre E es la cantidad total de enzimas E_{total} que no está formando parte del complejo enzima-sustrato, se obtiene la siguiente expresión:

$$[E] = [E_{total}] - [ES] \quad (21)$$

Multiplicando la ecuación (21) por la concentración de sustrato $[S]$ y sustituyendo luego el primer término de la igualdad por su equivalente en (20), se llega a una expresión independiente de $[E]$.

$$\left(\frac{k_{-1} + k_2}{k_1}\right) [ES] = [E_{total}][S] - [ES][S] \quad (22)$$

De donde se puede despejar la concentración de complejo enzima-sustrato.

$$[ES] = \frac{[E_{total}][S]}{\left(\frac{k_{-1} + k_2}{k_1}\right) + [S]} \quad (23)$$

Finalmente, sustituyendo el valor de $[ES]$ en (17), se obtiene el valor de la velocidad de producción de producto que, de acuerdo con (5), es la velocidad de reacción.

$$v = \frac{k_2[E_{total}][S]}{\left(\frac{k_{-1} + k_2}{k_1}\right) + [S]} \quad (24)$$

Esta ecuación presenta una forma más simple:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]} \quad (25)$$

Donde $V_{max} = k_2[E_{total}]$ corresponde con la velocidad máxima que puede alcanzar la segunda etapa de la reacción (figura 2) y K_M es la constante de Michaelis-Menten, que se define como aquella concentración de sustrato para la cual la velocidad alcanza la mitad de su valor máximo [22]. Además, esta constante se puede expresar en función de las constantes cinéticas de la reacción:

$$K_M = \frac{k_{-1} + k_2}{k_1} \quad (26)$$

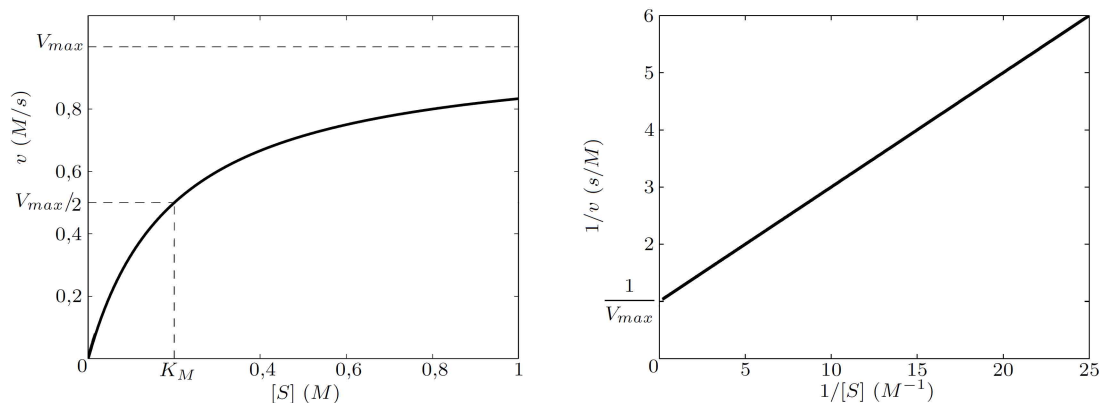
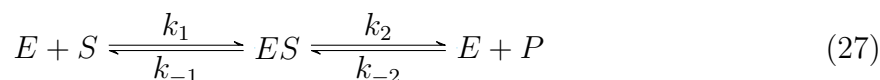


Figura 2: En la gráfica de la izquierda se representa la velocidad de reacción en función de la concentración de sustrato. Puede observarse que la dependencia de la velocidad para valores bajos de concentración es aproximadamente lineal; sin embargo, existe un límite para la velocidad V_{max} que se alcanza cuando hay saturación de sustrato. En la gráfica de la derecha se representa la inversa de la velocidad frente a la inversa de la concentración de sustrato; la característica del sistema es, en este caso, una línea recta donde la pendiente es la constante de Michaelis-Menten dividida entre la velocidad máxima y la ordenada en el origen es la inversa de la velocidad máxima. A este tipo de representación se le da el nombre de diagrama de Lineweaver-Burk. El dato para la constante de Michaelis-Menten usado en esta representación es $K_M = 0,2 M$. La velocidad y la concentración de sustrato se presentan normalizadas.

3.2.1. Reacciones reversibles

En ocasiones una enzima puede catalizar una reacción en las dos direcciones, es decir, puede transformar tanto el sustrato en producto como el producto en sustrato en una reacción reversible.



En este caso, las velocidades de cada etapa son:

$$v_1 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] \quad (28)$$

$$v_2 = k_2[ES] - k_{-2}[E][P] \quad (29)$$

Donde v_2 es la velocidad a la que se genera el producto y, por tanto, la velocidad de la reacción ($v_2 = v$).

De acuerdo con el esquema (27) la concentración de complejo enzima-sustrato crece con velocidad v_1 y disminuye con velocidad v_2 .

$$\frac{d[ES]}{dt} = v_1 - v_2 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] + k_{-2}[E][P] \quad (30)$$

De nuevo, es posible aplicar la condición de estado cuasiestacionario (18).

$$(k_1[S] + k_{-2}[P])[E] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (31)$$

A continuación, sustituyendo la concentración de enzima libre por su equivalente mostrado en (21) en las ecuaciones (29) y (31), se obtienen (32) y (33) respectivamente.

$$v = (k_2 + k_{-2}[P])[ES] - k_{-2}[E_{total}][P] \quad (32)$$

$$(k_1[S] + k_{-2}[P])[E_{total}] - (k_1[S] + k_{-2}[P])[ES] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (33)$$

De esta última expresión, se puede despejar la concentración de complejo enzima sustrato.

$$[ES] = \frac{(k_1[S] + k_{-2}[P])[E_{total}]}{k_{-1} + k_2 + k_1[S] + k_{-2}[P]} \quad (34)$$

Ahora ya puede sustituirse $[ES]$ en (32).

$$v = \frac{(k_2 + k_{-2}[P])(k_1[S] + k_{-2}[P])[E_{total}]}{k_{-1} + k_2 + k_1[S] + k_{-2}[P]} - \frac{k_{-2}[P](k_{-1} + k_2 + k_1[S] + k_{-2}[P])[E_{total}]}{k_{-1} + k_2 + k_1[S] + k_{-2}[P]} \quad (35)$$

Lo que es equivalente a:

$$v = [E_{total}] \frac{k_2 k_1 [S] - k_{-2} k_{-1} [P]}{k_{-1} + k_2 + k_1 [S] + k_{-2} [P]} \quad (36)$$

Esta es la ecuación cinética para el caso reversible según Michaelis-Menten, pero su expresión puede reducirse más dividiendo tanto el numerador como el denominador por la cantidad $k_{-1} + k_2$.

$$v = [E_{total}] \frac{k_2 \left(\frac{k_1}{k_{-1} + k_2} \right) [S] - k_{-1} \left(\frac{k_{-2}}{k_{-1} + k_2} \right) [P]}{1 + \left(\frac{k_1}{k_{-1} + k_2} \right) [S] + \left(\frac{k_{-2}}{k_{-1} + k_2} \right) [P]} \quad (37)$$

Recurriendo a la constante de Michaelis-Menten (26), y definiendo una nueva constante K_{-M} análoga a la anterior (38), finalmente se alcanza la fórmula (39).

$$K_{-M} = \frac{k_{-1} + k_2}{k_{-2}} \quad (38)$$

$$v = [E_{total}] \frac{\frac{k_2}{K_M} [S] - \frac{k_{-1}}{K_{-M}} [P]}{1 + \frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}}} \quad (39)$$

Para simplificar aún más esta ecuación, se puede recurrir a la velocidad máxima V_{max} , que se alcanzará cuando la concentración de producto sea nula o la constante k_{-2} sea despreciable respecto a las demás, con lo que K_{-M} tendería a infinito y la ecuación de velocidad sería equivalente a la ecuación cinética del caso Michaelis-Menten irreversible (25), es decir, $V_{max} = k_2[E_{total}]$. De igual modo, existirá una velocidad mínima V_{min} que se alcanzará cuando el sustrato sea nulo o si la constante k_1 fuera despreciable, de este modo, tendríamos $V_{min} = k_{-1}[E_{total}]$, lo cual es el equivalente a la velocidad máxima en una ecuación cinética tipo Michaelis-Menten que ocurre en sentido opuesto.

$$v = \frac{\frac{V_{max}}{K_M} [S] - \frac{V_{min}}{K_{-M}} [P]}{1 + \frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}}} \quad (40)$$

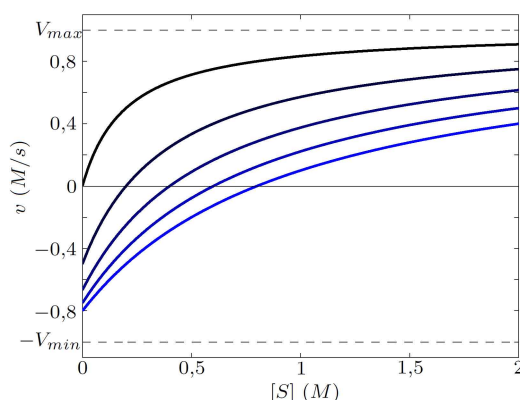


Figura 3: En esta gráfica se muestra la velocidad de reacción (en sentido de la producción de producto) frente a la concentración de sustrato. Las líneas más azules indican una mayor concentración de producto respecto a la constante K_{-M} , en concreto, las cantidades de $[P]/K_{-M}$ aquí representadas son 0, 0,1, 0,5, 1,5 y 3. Puede observarse que cuando la cantidad de producto es mayor, para bajas concentraciones de sustrato, la velocidad es negativa, esto es, que la reacción ocurre en sentido opuesto consumiendo producto para producir sustrato. En esta representación, la constante K_M toma el valor $0,2 M$.

3.2.2. Inhibición

Existen unas moléculas llamadas efectores, las cuales pueden influir en la acción enzimática alterando la cinética del proceso ya sea activando o, más comúnmente, inhibiendo a la enzima.

Los inhibidores enzimáticos reprimen la producción de una enzima cambiando sustancialmente su cinética. En el anexo A de este documento se estudian en detalle los tres casos más comunes de procesos de inhibición (inhibición competitiva, acompetitiva y no competitiva), deduciendo la ecuación cinética para cada caso y representando algunos ejemplos de dichos comportamientos en función de las concentraciones de sustrato e inhibidor presentes en el sistema.

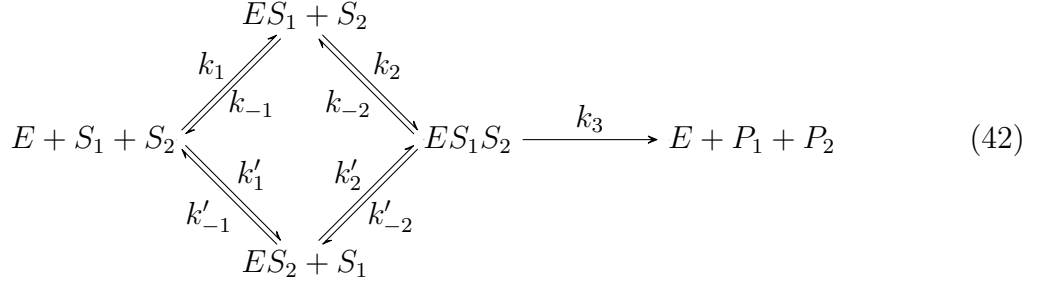
Un ejemplo de inhibición se encuentra en algunos tipos de hexoquinasa, como la hay en el tejido de la corteza cerebral donde existe una hexoquinasa capaz de ser inhibida por su propio producto, la glucosa-6-fosfato (*G6P*) [23].

3.2.3. Reacciones bisustrato

Existen enzimas con dos centros catalíticos en las que cada uno de estos centros es específico para una especie química diferente. Las reacciones reguladas por este tipo de enzimas se denominan reacciones bisustrato, y suelen escribirse de la siguiente forma:



Al tratarse de una enzima con dos centros de unión diferentes, existen dos caminos que la enzima puede tomar para unirse a los sustratos y dar lugar a los productos: unirse en primer lugar al sustrato S_1 para formar el complejo enzimático ES_1 y luego unirse al otro sustrato S_2 o, por el contrario, formar el complejo enzimático ES_2 en primer lugar y luego de eso unirse al sustrato S_1 [24].



Al igual que en los casos anteriores, en primer lugar se calculan las velocidades para cada uno de los tramos.

$$v_1 = k_1[E][S_1] - k_{-1}[ES_1] \quad (43)$$

$$v_2 = k_2[ES_1][S_2] - k_{-2}[ES_1S_2] \quad (44)$$

$$v'_1 = k'_1[E][S_2] - k'_{-1}[ES_2] \quad (45)$$

$$v'_2 = k'_2[ES_2][S_1] - k'_{-2}[ES_1S_2] \quad (46)$$

$$v = v_3 = k_3[ES_1S_2] \quad (47)$$

En esta ocasión, v_3 se considera la velocidad de la reacción, pues es la que marca la tasa de producción.

Aplicando la condición cuasiestacionaria a los distintos complejos enzimáticos, se tienen las siguientes relaciones entre velocidades:

$$\frac{d[ES_1]}{dt} = v_1[S_2] - v_2 = 0 \rightarrow k_1[E][S_1][S_2] + k_{-2}[ES_1S_2] = (k_{-1} + k_2)[ES_1][S_2] \quad (48)$$

$$\frac{d[ES_2]}{dt} = v'_1[S_1] - v'_2 = 0 \rightarrow k'_1[E][S_1][S_2] + k'_{-2}[ES_1S_2] = (k'_{-1} + k'_2)[ES_2][S_1] \quad (49)$$

$$\frac{d[ES_1S_2]}{dt} = v_2 + v'_2 - v_3 \rightarrow k_2[ES_1][S_2] + k'_2[ES_2][S_1] = (k_{-2} + k'_{-2} + k_3)[ES_1S_2] \quad (50)$$

A continuación, puede despejarse la concentración del complejo enzima-sustrato ES_1 en la ecuación (48) y la concentración del complejo ES_2 en la ecuación (49):

$$[ES_1] = \frac{k_1[S_1][S_2][E] + k_{-2}[ES_1S_2]}{(k_{-1} + k_2)[S_2]} \quad (51)$$

$$[ES_2] = \frac{k'_1[S_1][S_2][E] + k'_{-2}[ES_1S_2]}{(k'_{-1} + k'_2)[S_1]} \quad (52)$$

Sustituyendo $[ES_1]$ (51) y $[ES_2]$ (52) en (50), se tiene una expresión de $[E]$ y $[ES_1S_2]$.

$$\begin{aligned} k_2(k'_{-1} + k'_2)(k_1[S_1][S_2][E] + k_{-2}[ES_1S_2]) + k'_2(k_{-1} + k_2)(k'_1[S_1][S_2][E] + k'_{-2}[ES_1S_2]) = \\ = (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2)(k_{-2} + k'_{-2} + k_3)[ES_1S_2] \end{aligned} \quad (53)$$

Despejando la cantidad $[E]$, se encuentra la concentración de enzima libre en función de la concentración del complejo enzimático ES_1S_2 .

$$[E] = \frac{k_{-1}k_{-2}(k'_{-1} + k'_2) + k'_{-1}k'_{-2}(k_{-1} + k_2) + (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2)k_3}{k_1k_2(k'_{-1} + k'_2)[S_1][S_2] + k'_1k'_2(k_{-1} + k_2)[S_1][S_2]} [ES_1S_2] \quad (54)$$

Asumiendo que la cantidad total de enzima involucrada en la reacción permanece constante, la concentración de enzima total $[E_{total}]$ puede expresarse como la suma de la concentración de enzima en estado libre $[E]$ más la concentración de enzima que forma parte de algún complejo enzimático $[ES_1]$, $[ES_2]$ y $[ES_1S_2]$:

$$[E_{total}] = [E] + [ES_1] + [ES_2] + [ES_1S_2] \quad (55)$$

En esta fórmula se pueden sustituir ahora los valores de $[ES_1]$ y $[ES_2]$ obtenidos en (51) y (52) respectivamente.

$$\begin{aligned} (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2)[S_1][S_2][E_{total}] = (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2)[S_1][S_2][E] + \\ + k_1(k'_{-1} + k'_2)[S_1]^2[S_2][E] + k_{-2}(k'_{-1} + k'_2)[S_1][ES_1S_2] + k'_1(k_{-1} + k_2)[S_1][S_2]^2[E] + \\ + k'_{-2}(k_{-1} + k_2)[S_2][ES_1S_2] + (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2)[S_1][S_2][ES_1S_2] \end{aligned} \quad (56)$$

Y para eliminar la dependencia de $[E]$, puede sustituirse esta por la ecuación (54).

$$\begin{aligned}
& (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2)(k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)) [S_1]^2 [S_2]^2 [E_{total}] = \\
& = (k_{-1} k_{-2} (k'_{-1} + k'_2) + k'_{-1} k'_{-2} (k_{-1} + k_2) + (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2) k_3) (k_{-1} + k_2) (k'_{-1} + k'_2) [S_1] [S_2] [ES_1 S_2] + \\
& + (k_{-1} k_{-2} (k'_{-1} + k'_2) + k'_{-1} k'_{-2} (k_{-1} + k_2) + (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2) k_3) k_1 (k'_{-1} + k'_2) [S_1]^2 [S_2] [ES_1 S_2] + \\
& + (k_{-1} k_{-2} (k'_{-1} + k'_2) + k'_{-1} k'_{-2} (k_{-1} + k_2) + (k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2) k_3) k'_1 (k_{-1} + k_2) [S_1] [S_2]^2 [ES_1 S_2] + \\
& \quad + (k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)) k_{-2} (k'_{-1} + k'_2) [S_1]^2 [S_2] [ES_1 S_2] + \\
& \quad + (k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)) k'_{-2} (k_{-1} + k_2) [S_1] [S_2]^2 [ES_1 S_2] + \\
& \quad + (k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)) (k_{-1} + k_2) (k'_{-1} + k'_2) [S_1]^2 [S_2]^2 [ES_1 S_2] \quad (57)
\end{aligned}$$

Donde reordenando términos y dividiendo ambos lados de la ecuación por la cantidad $(k_{-1} + k_2)(k'_{-1} + k'_2)[S_1][S_2]$, se tiene:

$$\begin{aligned}
& (k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)) [S_1] [S_2] [E_{total}] = \\
& = (k_{-1} k_{-2} (k'_{-1} + k'_2) + k'_{-1} k'_{-2} (k_{-1} + k_2)) [ES_1 S_2] + (k_{-1} + k_2) (k'_{-1} + k'_2) k_3 [ES_1 S_2] + \\
& \quad + (k_1 k'_{-1} (k_{-2} + k'_{-2}) + k_{-2} k'_2 (k_1 + k'_1)) [S_1] [ES_1 S_2] + (k'_{-1} + k'_2) k_1 k_3 [S_1] [ES_1 S_2] \\
& \quad + (k_{-1} k'_1 (k_{-2} + k'_{-2}) + k_2 k'_{-2} (k_1 + k'_1)) [S_2] [ES_1 S_2] + (k_{-1} + k_2) k'_1 k_3 [S_2] [ES_1 S_2] \\
& \quad + (k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)) [S_1] [S_2] [ES_1 S_2] \quad (58)
\end{aligned}$$

De esta ecuación puede despejarse $[ES_1 S_2]$ en función de la concentración total de enzima $[E_{total}]$. Se llega así a la expresión:

$$[ES_1 S_2] = \frac{[E_{total}] [S_1] [S_2]}{K_{II} + K_{S_1} [S_1] + K_{S_2} [S_2] + [S_1] [S_2]} \quad (59)$$

Donde las constantes K_{S_1} , K_{S_2} y K_{II} se definen como:

$$K_{S_1} = \frac{(k_1 k'_{-1} (k_{-2} + k'_{-2}) + k_{-2} k'_2 (k_1 + k'_1)) + (k'_{-1} + k'_2) k_1 k_3}{k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)} \quad (60)$$

$$K_{S_2} = \frac{(k_{-1} k'_1 (k_{-2} + k'_{-2}) + k_2 k'_{-2} (k_1 + k'_1)) + (k_{-1} + k_2) k'_1 k_3}{k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)} \quad (61)$$

$$K_{II} = \frac{k_{-1} k_{-2} (k'_{-1} + k'_2) + k'_{-1} k'_{-2} (k_{-1} + k_2) + (k_{-1} + k_2) (k'_{-1} + k'_2) k_3}{k_1 k_2 (k'_{-1} + k'_2) + k'_1 k'_2 (k_{-1} + k_2)} \quad (62)$$

Volviendo ahora a la expresión para la velocidad (47), la fórmula cinética puede expresarse como:

$$v = \frac{V_{max}[S_1][S_2]}{K_{II} + K_{S_1}[S_1] + K_{S_2}[S_2] + [S_1][S_2]} \quad (63)$$

Donde la velocidad máxima en este caso es $V_{max} = k_3[E_{total}]$.

3.3. Función de Hill

Existen enzimas, con más de un centro activo, cuya cinética no puede explicarse utilizando los métodos hasta ahora descritos; estas enzimas se denominan enzimas alostéricas. Uno de los primeros intentos de entender el comportamiento de este tipo de proteínas fue llevado a cabo por Archibald Vivian Hill a principios del siglo XX [25].

Se dice ligando a cualquier molécula que pueda unirse temporalmente a una proteína. Se distinguen dos grupos de proteínas en función de cuántos ligandos pueda albergar: los monómeros, que pueden unirse a un sólo ligando, y los oligómeros (dímeros, trímeros, tetrameros...), que poseen varios protómeros (o sitios de unión en el caso de las enzimas).

Un ejemplo de tetramero es la hemoglobina, la cual no es una enzima. Esta proteína se une con varias moléculas de oxígeno o de monóxido de carbono para transportarlas a través del flujo sanguíneo [26].

En la sección dedicada a la cinética de Michaelis-Menten se estudió el caso de un monómero que admitía unirse a un sólo sustrato por vez (11).



De acuerdo con la ley de acción de masas, la constante de unión vendrá dada por:

$$K_B = \frac{k_1}{k_{-1}} = \left(\frac{[ES]}{[E][S]} \right)_{eq} = K_D^{-1} \quad (65)$$

Se define, además, la fracción de saturación Y de una enzima como la cantidad de centros ocupados dividida entre la cantidad total de centros de todas las enzimas de la misma especie. En el caso de la reacción catalizada de Michaelis-Menten, sería:

$$Y = \frac{[ES]}{[E_{total}]} = \frac{[ES]}{[ES] + [E]} = \frac{K_B[S]}{K_B[S] + 1} = \frac{[S]}{[S] + K_D} \quad (66)$$

Cuando se estudió el modelo cinético de Michaelis-Menten, se asumió que $k_1, k_{-1} \gg k_2$, por lo tanto, es posible aproximar la constante de disociación a la constante de Michaelis-Menten $K_D \approx K_M$. De esta forma, la fórmula para la fracción de saturación queda como:

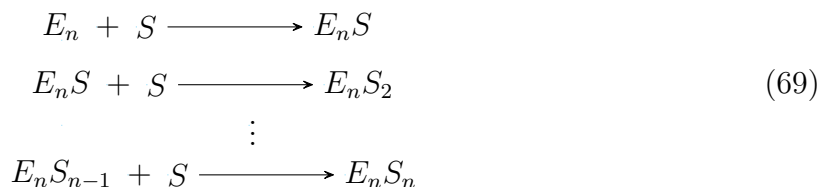
$$Y = \frac{[S]}{[S] + K_M} \quad (67)$$

Y comparando esta expresión para Y con la ecuación cinética (25), es posible encontrar una fórmula que relacione la velocidad con la fracción de saturación.

$$Y = \frac{v}{V_{max}} \quad (68)$$

Si la enzima tiene varios centros de unión, entonces ocurre un fenómeno de cooperación. La cooperación se da cuando un ligando se une a la enzima y eso influye (positiva o negativamente) en la futura unión de la enzima a otros ligandos.

Para una enzima E_n , con n centros de unión, se pueden dar las siguientes reacciones químicas:



En este caso, la enzima tiene un único ligando unido a ella en el complejo $E_n S$, pero dos ligandos en el complejo $E_n S_2$, hasta llegar a los n ligandos en el complejo enzimático $E_n S_n$, por lo que la fracción de saturación para esta reacción será:

$$Y = \frac{[E_n S] + 2[E_n S_2] + \dots + n[E_n S_n]}{n[E_{total}]} = \frac{[E_n S] + 2[E_n S_2] + \dots + n[E_n S_n]}{n([E_n] + [E_n S] + \dots + [E_n S_n])} \quad (70)$$

Si la afinidad del ligando con una enzima es mayor cuanto más sustratos estén unidos a esta (cooperación positiva), entonces se puede asumir que cada complejo enzima-sustrato reaccionará con un nuevo sustrato en cuanto este se forme y que, por tanto, la concentración de los complejos enzimáticos intermedios puede suponerse nula ($[E_n S_i] \approx 0 \forall i = 1, \dots, n - 1$) [27]. Teniendo esto en cuenta, el conjunto de reacciones químicas (69) se reduce a sólo una.



Donde la constante de unión es:

$$K_B = \left(\frac{[E_n S_n]}{[E_n][S]^n} \right)_{eq} \quad (72)$$

Y la fracción de saturación, teniendo en cuenta la aproximación queda como:

$$Y = \frac{[E_n S_n]}{[E_n] + [E_n S_n]} = \frac{K_B [S]^n}{1 + K_B [S]^n} \quad (73)$$

Recurriendo a la relación entre la velocidad y la fracción de saturación (68), puede obtenerse la ecuación cinética.

$$v = \frac{V_{max} [S]^n}{K_D + [S]^n} \quad (74)$$

Donde n es denominado coeficiente de Hill.

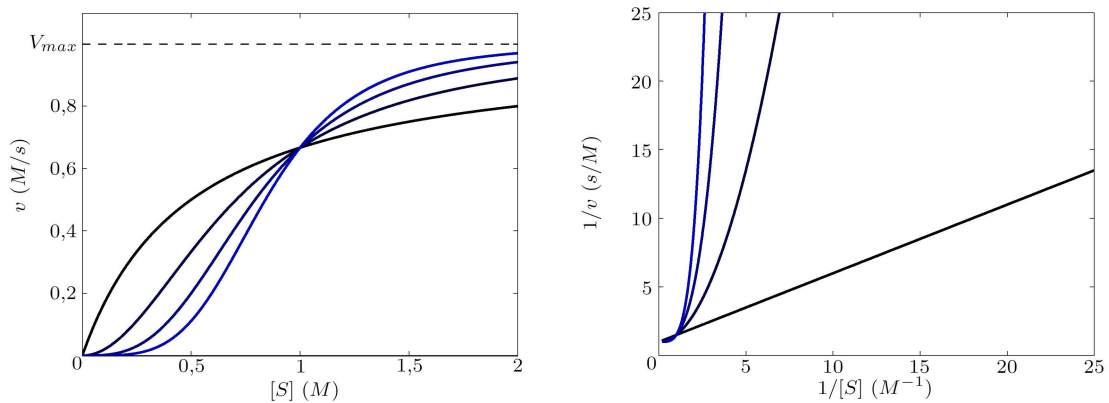


Figura 4: La gráfica de la izquierda muestra la velocidad de reacción frente a la concentración de sustrato para coeficientes de Hill con valores 1 (curva negra), 2, 3 y 4 (curva más azul). La segunda gráfica muestra el diagrama de Lineweaver-Burk correspondiente. Puede observarse cómo para coeficientes de Hill mayores que $n = 1$ la curva toma forma sigmoidea. Para esta representación se ha tomado $K_D = 0,5 M$.

3.4. Modelo de Monod-Wyman-Changeux

El modelo de Hill supuso un importante paso para explicar los mecanismos que rigen el comportamiento de las enzimas alostéricas. No obstante, con el tiempo ha sido necesario desarrollar otros modelos más precisos. Uno de estos, es el modelo MWC o modelo de Monod-Wyman-Changeux [28].

Este modelo supone que las enzimas alostéricas están compuestas por varias subunidades en las que existen un sitio activo, al que puede unirse el sustrato, y un centro de regulación, al que puede unirse una molécula llamada efector o modulador enzimático. Cuando un efector se une a la enzima, esta sufre cambios conformacionales capaces de alterar significativamente la actividad enzimática [29].

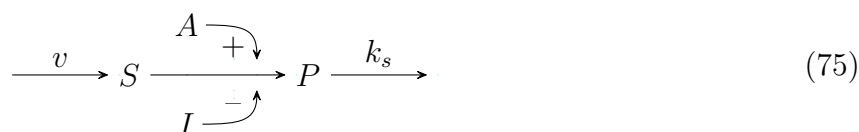
La unión de un determinado efector a un centro de regulación puede facilitar la unión de un sustrato con el centro activo de la subunidad correspondiente. El efector puede ser un activador A , si cuando este se une a la enzima se produce un fenómeno de cooperación positiva, o un inhibidor I , si la unión del efector al centro de regulación dificulta que otros ligandos puedan acoplarse al sitio activo.

Además de lo ya mencionado, el modelo MWC se basa en las siguientes suposiciones:

- Cada enzima posee n subunidades idénticas entre sí.
- Cada subunidad puede presentar una forma activa R o una forma inactiva T , que poseen distinta afinidad con el sustrato. En general, cada una de estas formas (activas e inactivas) comprenden un centro activo, al que puede acoplarse un sustrato, y uno o varios centros alostéricos o reguladores, a los que pueden unirse un efector.
- Se asume que todas las subunidades de una misma enzima cambian de forma simultáneamente y sólo en ausencia de efectores ligados.
- La relación de equilibrio entre las formas activas e inactivas viene dada por la constante alostérica L .

Este modelo fue propuesto originalmente para explicar la cinética de la enzima fosfofructoquinasa, encargada de la fosforilación de la fructosa-6-fosfato ($F6P$). En este caso, la enzima es inhibida por uno de sus sustratos, el adenosín trifosfato (ATP), y a la vez puede ser activada por las moléculas de adenosín monofosfato (AMP) presentes en el entorno.

En el modelo se asume que el sistema forma parte de un entorno abierto en el que el sustrato es suministrado a una velocidad v y que el producto es consumido con una constante cinética k_s .



A continuación, se demostrará la ecuación que describe la cinética de las enzimas alostéricas de acuerdo al modelo MWC:

Se supone un sistema formado por un grupo de enzimas alostéricas de la misma especie E_{total} , donde cada una de estas enzimas posee n subunidades idénticas, que coexisten en un mismo ambiente junto a ciertas cantidades de efectores de ambas clases, activadores e inhibidores.

En la fórmula (76), se muestra el conjunto de reacciones químicas que tienen lugar en el sistema. En dicha fórmula, se representan los distintos estados activos R_{ij} e inactivos T_{ij} que pueden tomar las enzimas, donde i y j son respectivamente el número de sustratos S y efectores ligados a la enzima. Las formas activas sólo podrán ligarse a sustratos y a moléculas activadoras, mientras que las formas inactivas podrán ligarse únicamente con sustratos e inhibidores.

Las constantes de velocidad que determinan la conversión de sustrato S en producto P son k para la forma activa y k' para la inactiva. También ha de tenerse en cuenta las constantes cinéticas para la acepción a_1 y pérdida d_1 de sustrato por parte de una subunidad en forma activa, y la acepción a'_1 y pérdida d'_1 de sustrato por una subunidad inactiva. Del mismo modo, existen otras constantes que determinan la acepción a_2 y pérdida d_2 de activador por parte de una enzima en forma activa, y la acepción a'_2 y pérdida d'_2 de inhibidor por la enzima en su forma inactiva.

$$\begin{array}{c}
\begin{array}{c}
T_{0n} \xrightarrow[S]{a'_1} \cdots \xrightarrow[S]{a'_1} T_{nn} \xrightarrow[k']{P} T_{(n-1)n} \\
\uparrow \downarrow \\
I \xrightarrow{a'_2} \downarrow \xrightarrow{d'_2} I \\
\vdots \\
T_{0j} \xrightarrow[S]{a'_1} \cdots \xrightarrow[S]{a'_1} T_{ij} \xrightarrow[S]{a'_1} \cdots \xrightarrow[S]{a'_1} T_{nj} \\
\uparrow \downarrow \\
I \xrightarrow{a'_2} \downarrow \xrightarrow{d'_2} I \\
\vdots \\
T_{00} \xrightarrow[S]{a'_1} \cdots \xrightarrow[S]{a'_1} T_{i0} \xrightarrow[S]{a'_1} \cdots \xrightarrow[S]{a'_1} T_{n0} \\
\uparrow \downarrow \\
k_1 \downarrow \downarrow k_2 \\
R_{00} \xrightarrow[S]{a_1} \cdots \xrightarrow[S]{a_1} R_{i0} \xrightarrow[S]{a_1} \cdots \xrightarrow[S]{a_1} R_{n0} \\
\uparrow \downarrow \\
A \xrightarrow{d_2} \downarrow \xrightarrow{a_2} A \\
\vdots \\
R_{0j} \xrightarrow[S]{a_1} \cdots \xrightarrow[S]{a_1} R_{ij} \xrightarrow[S]{a_1} \cdots \xrightarrow[S]{a_1} R_{nj} \\
\uparrow \downarrow \\
A \xrightarrow{d_2} \downarrow \xrightarrow{a_2} A \\
\vdots \\
R_{0n} \xrightarrow[S]{a_1} \cdots \xrightarrow[S]{a_1} R_{nn} \xrightarrow[k]{P} R_{(n-1)n}
\end{array}
\end{array}
\tag{76}$$

De la fórmula (76), y haciendo uso de la ley de acción de masas, puede deducirse el conjunto de ecuaciones diferenciales que definen al sistema mediante las derivadas temporales de las concentraciones de producto y de enzimas en cualquiera de sus formas.

De este modo, las ecuaciones para las formas activas son:

$$\frac{d[R_{00}]}{dt} = d_2[R_{01}] - na_2[A][R_{00}] - na_1[S][R_{00}] + (d_1 + k)[R_{10}] + k_2[T_{00}] - k_1[R_{00}] \quad (77)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[R_{0j}]}{dt} = & (j + 1)d_2[R_{0(j+1)}] - (n - j)a_2[A][R_{0j}] - na_1[S][R_{0j}] + \\ & + (d_1 + k)[R_{1j}] + (n - j + 1)a_2[A][R_{0(j-1)}] - jd_2[R_{0j}] \quad \forall j = 1, \dots, n - 1 \end{aligned} \quad (78)$$

$$\frac{d[R_{0n}]}{dt} = -na_1[S][R_{0n}] + (d_1 + k)[R_{1n}] + a_2[A][R_{0(n-1)}] - nd_2[R_{0n}] \quad (79)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[R_{ij}]}{dt} = & -(n - i)a_1[S][R_{ij}] + (i + 1)(d_1 + k)[R_{(i+1)j}] - \\ & - i(d_1 + k)[R_{ij}] + (n - i + 1)a_1[S][R_{(i-1)j}] \quad \forall i = 1, \dots, n - 1; \forall j = 1, \dots, n \end{aligned} \quad (80)$$

$$\frac{d[R_{nj}]}{dt} = -n(d_1 + k)[R_{nj}] + a_1[S][R_{(n-1)j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (81)$$

Y las ecuaciones para las formas inactivas son:

$$\frac{d[T_{00}]}{dt} = d'_2[T_{01}] - na'_2[I][T_{00}] - na'_1[S][T_{00}] + (d'_1 + k')[T_{10}] - k_2[T_{00}] + k_1[R_{00}] \quad (82)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[T_{0j}]}{dt} = & (j + 1)d'_2[T_{0(j+1)}] - (n - j)a'_2[I][T_{0j}] - na'_1[S][T_{0j}] + \\ & + (d'_1 + k')[T_{1j}] + (n - j + 1)a'_2[I][T_{0(j-1)}] - jd'_2[T_{0j}] \quad \forall j = 1, \dots, n - 1 \end{aligned} \quad (83)$$

$$\frac{d[T_{0n}]}{dt} = -na'_1[S][T_{0n}] + (d'_1 + k')[T_{1n}] + a'_2[I][T_{0(n-1)}] - nd'_2[T_{0n}] \quad (84)$$

$$\begin{aligned} \frac{d[T_{ij}]}{dt} = & -(n-i)a'_1[S][T_{ij}] + (i+1)(d'_1 + k')[T_{(i+1)j}] - \\ & - i(d'_1 + k')[T_{ij}] + (n-i+1)a'_1[S][T_{(i-1)j}] \quad \forall i = 1, \dots, n-1; \forall j = 1, \dots, n \end{aligned} \quad (85)$$

$$\frac{d[T_{nj}]}{dt} = -n(d'_1 + k')[T_{nj}] + a'_1[S][T_{(n-1)j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (86)$$

A estas ecuaciones hay que añadir la ecuación de velocidad del sistema, que vendrá determinada por la velocidad de generación de la sustancia producto.

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k \sum_{i=0}^n i[\Lambda_i] + k' \sum_{i=0}^n i[\Gamma_i] \quad (87)$$

Donde $[\Lambda_i]$ se define como la concentración de todas aquellas enzimas con i moléculas de sustrato acopladas a sitios en forma activa R , y $[\Gamma_i]$ es la concentración de complejos enzimáticos formados por una enzima en forma inactiva T e i moléculas de sustrato.

$$[\Lambda_i] \equiv \sum_{j=0}^n [R_{ij}] \quad [\Gamma_i] \equiv \sum_{j=0}^n [T_{ij}] \quad (88)$$

Además, a estas ecuaciones hay que añadir la condición de que el número de total de enzimas permanece constante e igual a la cantidad inicial durante el transcurso de la reacción.

$$[E_{total}] = \sum_{i=0}^n ([\Lambda_i] + [\Gamma_i]) \quad (89)$$

Al igual que en los modelos anteriores, es necesario asumir que las enzimas, ya sea en forma activa o inactiva, cumplen la condición cuasiestacionaria, es decir:

$$\frac{d[R_{ij}]}{dt} = \frac{d[T_{ij}]}{dt} = 0 \quad \forall i, j = 0, \dots, n \quad (90)$$

Anulando la derivada temporal de la concentración de enzima en forma activa con n centros activos ocupados por moléculas de sustrato y j centros alostéricos ocupados por moléculas de activador (81), es posible despejar la concentración de dicha enzima $[R_{nj}]$ en función de la concentración de enzima en forma activa que llevan acopladas $n - 1$ moléculas de sustrato y la misma cantidad de activadores $[R_{(n-1)j}]$.

$$[R_{nj}] = \frac{a_1[S]}{n(d_1 + k)} [R_{(n-1)j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (91)$$

La cantidad $[R_{(n-1)j}]$ puede expresarse a su vez en función de $[R_{(n-2)j}]$ aplicando la condición cuasiestacionaria a la ecuación (80) para $i = n - 1$ y sustituyendo el valor de $[R_{nj}]$ obtenido en (91).

$$[R_{(n-1)j}] = \frac{2a_1[S]}{(n-1)(d_1 + k)} [R_{(n-2)j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (92)$$

Del mismo modo, $[R_{(n-2)j}]$ puede expresarse en función de $[R_{(n-3)j}]$.

$$[R_{(n-2)j}] = \frac{3a_1[S]}{(n-2)(d_1 + k)} [R_{(n-3)j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (93)$$

Entonces, para la l -ésima ecuación, correspondiente a la unión de un sustrato a $n - l$ sitios activos, se tiene:

$$[R_{(n-l)j}] = \frac{(l+1)a_1[S]}{(n-l)(d_1 + k)} [R_{(n-l-1)j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (94)$$

Mediante el cambio de variable $i = n - l$, se extrae un resultado general para $[R_{ij}]$.

$$[R_{ij}] = \frac{(n-i+1)a_1[S]}{i(d_1 + k)} [R_{(i-1)j}] \quad \forall i = 1, \dots, n \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (95)$$

Para el valor $i = 1$, se halla la expresión para $[R_{1j}]$ en función de $[R_{0j}]$.

$$[R_{1j}] = \frac{na_1[S]}{d_1 + k} [R_{0j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (96)$$

Y tomando $j = n$ en esta ecuación, se puede obtener la concentración de enzima con un único sustrato ligado y todos sus centros alostéricos ocupados por moléculas de activador $[R_{1n}]$, en función de la concentración de enzima que también está completamente ocupada por activador, pero libre de sustrato $[R_{0n}]$.

$$[R_{1n}] = \frac{na_1[S]}{d_1 + k} [R_{0n}] \quad (97)$$

Para obtener una expresión para la cantidad $[R_{0n}]$ es necesario aplicar la condición cuasiestacionaria a la ecuación (79), usando también la ecuación (97).

$$[R_{0n}] = \frac{a_2[A]}{nd_2}[R_{0(n-1)}] \quad (98)$$

Aplicando ahora la condición cuasiestacionaria a (78) y tomando ahora $j = n - 1$, se tiene la expresión para $[R_{0(n-1)}]$.

$$[R_{0(n-1)}] = \frac{2a_2[A]}{(n-1)d_2}[R_{0(n-2)}] \quad (99)$$

Del mismo modo, es posible hallar $[R_{0(n-2)}]$ en función de $[R_{0(n-3)}]$ y generalizar para $[R_{0j}]$ en función de $[R_{0(j-1)}]$.

$$[R_{0(n-2)}] = \frac{3a_2[A]}{(n-2)d_2}[R_{0(n-3)}] \quad (100)$$

$$[R_{0j}] = \frac{(n-j+1)a_2[A]}{jd_2}[R_{0(j-1)}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (101)$$

Llegados a este punto, interesa poner todas las concentraciones de enzimas en sus distintas formas activas en función de la concentración de enzima libre activa $[R_{00}]$. Esto puede demostrarse por recurrencia en la ecuación (101), eliminando el subíndice j .

$$[R_{0j}] = \frac{n!}{(n-j)!j!} \left(\frac{a_2[A]}{d_2} \right)^j [R_{00}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (102)$$

También por recurrencia, puede mostrarse $[R_{ij}]$ en función de $[R_{0j}]$, eliminando el subíndice i en (95).

$$[R_{ij}] = \frac{n!}{(n-i)!i!} \left(\frac{a_1[S]}{d_1+k} \right)^i [R_{0j}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (103)$$

Donde $[R_{0j}]$ ya es conocido (102). Así:

$$[R_{ij}] = \frac{n!}{(n-i)!i!} \left(\frac{a_1[S]}{d_1+k} \right)^i \frac{n!}{(n-j)!j!} \left(\frac{a_2[A]}{d_2} \right)^j [R_{00}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (104)$$

Este mismo procedimiento puede aplicarse a las enzimas en forma inactiva, con lo que se obtiene un resultado similar al anterior dada la simetría del problema:

$$[T_{ij}] = \frac{n!}{(n-i)!i!} \left(\frac{a'_1[S]}{d'_1+k'} \right)^i \frac{n!}{(n-j)!j!} \left(\frac{a'_2[I]}{d'_2} \right)^j [T_{00}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (105)$$

En este punto, de acuerdo con (76), la concentración de enzima libre en forma inactiva $[T_{00}]$ se puede relacionar con la concentración de enzima libre en forma activa $[R_{00}]$ mediante las constantes cinéticas k_1 y k_2 .

$$[T_{00}] = \frac{k_1}{k_2} [R_{00}] \quad (106)$$

Se tiene entonces que:

$$[T_{ij}] = \frac{n!}{(n-i)! i!} \left(\frac{a'_1[S]}{d'_1 + k'} \right)^i \frac{n!}{(n-j)! j!} \left(\frac{a'_2[I]}{d'_2} \right)^j \frac{k_1}{k_2} [R_{00}] \quad \forall j = 1, \dots, n \quad (107)$$

Recordando ahora las definiciones (88) y teniendo en cuenta tanto (104) como (107), las expresiones que toman $[\Lambda_i]$ y $[\Gamma_i]$ son:

$$[\Lambda_i] = \frac{n!}{(n-i)! i!} \left(\frac{a_1[S]}{d_1 + k} \right)^i \sum_{j=0}^n \frac{n!}{(n-j)! j!} \left(\frac{a_2[A]}{d_2} \right)^j [R_{00}] \quad (108)$$

$$[\Gamma_i] = \frac{n!}{(n-i)! i!} \left(\frac{a'_1[S]}{d'_1 + k'} \right)^i \sum_{j=0}^n \frac{n!}{(n-j)! j!} \left(\frac{a'_2[I]}{d'_2} \right)^j \frac{k_1}{k_2} [R_{00}] \quad (109)$$

Para simplificar estas ecuaciones, resulta útil introducir el teorema del binomio:

$$(y + x)^n = \sum_{i=0}^n \frac{n!}{(n-i)! i!} y^{n-i} x^i \quad (110)$$

Usando este teorema, cuando $y = 1$ se obtiene una relación entre los factoriales similar a las ya obtenidas en (108) y en (109).

$$\sum_{i=0}^n \frac{n!}{(n-i)! i!} x^i = (1 + x)^n \quad (111)$$

Luego:

$$[\Lambda_i] = \frac{n!}{(n-i)! i!} \left(\frac{a_1[S]}{d_1 + k} \right)^i \left(1 + \frac{a_2[A]}{d_2} \right)^n [R_{00}] \quad \forall i = 0, \dots, n \quad (112)$$

$$[\Gamma_i] = \frac{n!}{(n-i)! i!} \left(\frac{a'_1[S]}{d'_1 + k'} \right)^i \left(1 + \frac{a'_2[I]}{d'_2} \right)^n \frac{k_1}{k_2} [R_{00}] \quad \forall i = 0, \dots, n \quad (113)$$

Para simplificar estas ecuaciones, conviene realizar algunos cambios de variables:

$$K_R \equiv \frac{d_1}{a_1} \quad \alpha \equiv \frac{[S]}{K_R} \quad \epsilon \equiv \frac{k}{d_1} \quad e \equiv \frac{1}{1 + \epsilon} \quad (114)$$

A partir de estas definiciones, se puede demostrar la siguiente igualdad a la que se recurrirá más adelante.

$$\frac{a_1[S]}{d_1 + k} = \frac{a_1[S]}{d_1} \frac{d_1}{d_1 + k} = \alpha \frac{1}{1 + \epsilon} = \alpha e \quad (115)$$

Otros cambios de variables que se tomarán son:

$$K_T \equiv \frac{d'_1}{a'_1} \quad c \equiv \frac{K_R}{K_T} \quad \epsilon' \equiv \frac{k'}{d'_1} \quad e' \equiv \frac{1}{1 + \epsilon'} \quad (116)$$

Con los que se puede demostrar otra expresión que se usará a continuación.

$$\frac{a'_1[S]}{d'_1 + k'} = \frac{a'_1[S]}{d'_1} \frac{d'_1}{d'_1 + k'} = \frac{[S]}{K_T} \frac{1}{1 + \epsilon'} = c \frac{[S]}{K_R} e' = c \alpha e' \quad (117)$$

Hay dos constantes más que también ayudarán a simplificar estas ecuaciones: la constante de disociación del activador K_A y del inhibidor K_I .

$$K_A \equiv \frac{d_2}{a_2} \quad K_I \equiv \frac{d'_2}{a'_2} \quad (118)$$

Sustituyendo por las constantes que se acaban de definir en (112) y (113), y teniendo en cuenta las equivalencias (115) y (117):

$$[\Lambda_i] = \frac{n!}{(n-i)! i!} (\alpha e)^i \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n [R_{00}] \quad \forall i = 0, \dots, n \quad (119)$$

$$[\Gamma_i] = \frac{n!}{(n-i)! i!} (c \alpha e')^i \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n L [R_{00}] \quad \forall i = 0, \dots, n \quad (120)$$

Donde $L \equiv k_1/k_2$ es la ya nombrada constante alostérica, e indica la relación de proporcionalidad que se da entre la forma activa e inactiva de la enzima libre.

Se busca ahora expresar estas cantidades en función de la concentración total de enzima $[E_{total}]$ disponible en el sistema. Para ello, en primer lugar, se sustituyen las expresiones obtenidas en (89).

$$[E_{total}] = \sum_{i=0}^n \frac{n!(\alpha e)^i}{(n-i)!i!} \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n [R_{00}] + \sum_{i=0}^n \frac{n!(c\alpha e')^i}{(n-i)!i!} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n L[R_{00}] \quad (121)$$

Y usando de nuevo la ecuación hallada a partir del teorema del binomio (111):

$$[E_{total}] = (1 + \alpha e)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n [R_{00}] + (1 + c\alpha e')^n \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n L[R_{00}] \quad (122)$$

Ahora puede despejarse $[R_{00}]$ en función de $[E_{total}]$.

$$[R_{00}] = \frac{[E_{total}]}{L(1 + c\alpha e')^n \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n + (1 + \alpha e)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n} \quad (123)$$

Volviendo a la ecuación de velocidad (87):

$$v = k \sum_{i=0}^n i[\Lambda_i] + \frac{k'}{k} k \sum_{i=0}^n i[\Gamma_i] \quad (124)$$

Es posible sustituir los valores de $[\Gamma_i]$ y $[\Lambda_i]$ obtenidos en (120) y (119) respectivamente.

$$v = k \sum_{i=0}^n \frac{in!(\alpha e)^i}{(n-i)!i!} \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n [R_{00}] + \theta k \sum_{i=0}^n \frac{in!(c\alpha e')^i}{(n-i)!i!} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n L[R_{00}] \quad (125)$$

Donde $\theta \equiv k'/k$ se define como una proporción entre las constantes cinéticas para la generación de producto con la subunidad en forma activa e inactiva.

Para eliminar los sumatorios de estas ecuaciones, se puede recurrir una vez más al teorema del binomio, derivando respecto a x la fórmula (111).

$$n(1+x)^{n-1} = \sum_{i=0}^n \frac{in!}{(n-i)!i!} x^{i-1} \quad (126)$$

Y posteriormente, multiplicando por x ambos términos de la igualdad, obteniendo así la siguiente fórmula:

$$\sum_{i=0}^n \frac{in!}{(n-i)!i!} x^i = nx(1+x)^{n-1} \quad (127)$$

Sustituyendo la expresión del sumatorio (127) en (125), puede expresarse la velocidad de producción del sistema sin necesidad de sumatorios.

$$v = kn\alpha e(1 + \alpha e)^{n-1} \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n [R_{00}] + \theta kn c\alpha e'(1 + c\alpha e')^{n-1} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n L[R_{00}] \quad (128)$$

Así, se halla finalmente la ecuación cinética, que es posible expresar en función de la cantidad total de enzima gracias a (123).

$$v = nk[E_{total}] \frac{\alpha e(1 + \alpha e)^{n-1} \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n + \theta L c\alpha e'(1 + c\alpha e')^{n-1} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n}{L(1 + c\alpha e')^n \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n + (1 + \alpha e)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n} \quad (129)$$

Para obtenerse la expresión simplificada con la que suele expresarse esta ecuación, es necesario definir la velocidad normalizada $\nu \equiv \frac{v}{K_R}$. Así:

$$v = K_R \sigma \phi \quad (130)$$

Donde σ es una cantidad constante distinta para cada tipo de enzima.

$$\sigma = \frac{nk[E_{total}]}{K_R} \quad (131)$$

Y ϕ depende de las concentraciones de las distintas sustancias implicadas en el proceso.

$$\phi = \frac{\alpha e(1 + \alpha e)^{n-1} \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n + \theta L c\alpha e'(1 + c\alpha e')^{n-1} \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n}{L(1 + c\alpha e')^n \left(1 + \frac{[I]}{K_I}\right)^n + (1 + \alpha e)^n \left(1 + \frac{[A]}{K_A}\right)^n} \quad (132)$$

Las ecuaciones que explican la cinética alostérica de acuerdo al modelo MWC, suelen expresarse mediante el siguiente sistema normalizado de ecuaciones:

$$\begin{cases} \dot{\alpha} = \nu - \sigma \phi \\ \dot{\gamma} = q\sigma \phi - k_s \gamma \end{cases} \quad (133)$$

Donde α es la concentración de sustrato $[S]$ dividida entre la constante de disociación de los complejos en forma activa K_R , γ es la concentración de producto $[P]$ dividida entre la constante de disociación de los complejos en forma inactiva K_P , $\nu = v/K_R$ es la velocidad normalizada y $q = K_R/K_P$ es una constante de normalización. Lo que es igual al siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{cases} \frac{[\dot{S}]}{K_R} = \frac{v}{K_R} - \sigma\phi \\ \frac{[\dot{P}]}{K_P} = \frac{K_R}{K_P}\sigma\phi - k_s\frac{[P]}{K_P} \end{cases} \quad (134)$$

La constante e indica la preferencia de una subunidad activa por desprenderse del sustrato ($e \approx 1$) frente a transformarlo en producto ($e \approx 0$), y la constante e' indica lo mismo para la forma inactiva. Aparece además la constante θ que determina la razón entre la constante cinética para la forma inactiva y activa, y que normalmente adquirirá un valor pequeño ($\theta \ll 1$).

El modelo MWC ofrece respuestas para el comportamiento de enzimas alostéricas susceptibles al efecto de distintas moléculas activadoras e inhibidoras de la acción enzimática, por lo que suele ser muy usado para la modelización de rutas metabólicas. Un ejemplo de esto puede encontrarse en los experimentos de Markus y Hess [30], quienes construyen un modelo simplificado para la ruta glucolítica considerando únicamente dos reacciones enzimáticas: la fosforilación de la fructosa-6-fosfato ($F6P$) realizada por la enzima fosfofructoquinasa y la transferencia de un grupo fosfato del fosfoenolpiruvato (PEP) al ADP realizada por la enzima piruvato quinasa. En este modelo cíclico se suponen constantes las cantidades de ADP y ATP del sistema y se controla la entrada tanto de la fructosa-6-fosfato ($F6P$) como del fosfoenolpiruvato (PEP), siendo los productos finales de la reacción la fructosa-1,6-bisfosfato (FBP) y piruvato (Pyr).

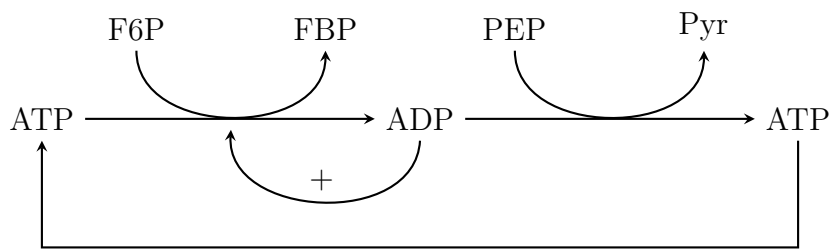


Figura 5: Modelo simplificado para la glucólisis propuesto por Markus y Hess.

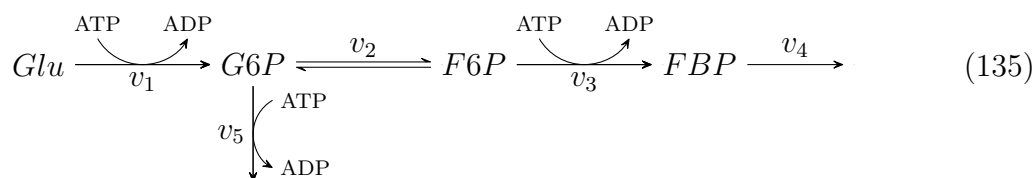
Markus y Hess proponen el modelo mostrado en la figura 5 para explicar el comportamiento caótico observado en sus experimentos con extractos libres de *Saccharomyces cerevisiae* (levadura de la cerveza), bajo un suministro periódico de glucosa [31].

4. Modelización de rutas metabólicas

En la presente sección se construirán y analizarán distintos modelos matemáticos que describen la cinética enzimática de acuerdo a las ecuaciones obtenidas previamente.

4.1. Modelo para la parte alta de la glucólisis

Para formar el modelo cinético de la parte alta de la glucólisis es necesario, en primer lugar, describir las reacciones principales de la ruta glicolítica, mediante las cuales la glucosa se convierte finalmente en dos triosas (135), y en segundo lugar, añadir las ecuaciones correspondientes a aquellas reacciones químicas que ocurren en el mismo entorno y que poseen la capacidad de alterar las concentraciones de los reactivos que intervienen en la ruta principal. En este caso, estas reacciones adicionales son la fosforilación de las moléculas de ADP (136), el intercambio de grupos fosfato entre nucleótidos (138) y el consumo de energía expresado como la pérdida de grupos fosfato en las moléculas de ATP, que puede expresarse como una sola reacción (137).



El sistema de ecuaciones diferenciales de primer orden que constituyen el sistema enzimático, y que describen la evolución temporal de las concentraciones de las distintas sustancias en función de las velocidades a las que se producen cada una de las reacciones que tienen lugar en el medio es:

$$\frac{d[\text{G6P}]}{dt} = v_1 - v_2 - v_5 \quad (139)$$

$$\frac{d[F6P]}{dt} = v_2 - v_3 \quad (140)$$

$$\frac{d[FBP]}{dt} = v_3 - v_4 \quad (141)$$

$$\frac{d[ATP]}{dt} = -v_1 - v_3 - v_5 + v_6 - v_7 - v_8 \quad (142)$$

$$\frac{d[ADP]}{dt} = v_1 + v_3 + v_5 - v_6 + v_7 + 2v_8 \quad (143)$$

$$\frac{d[AMP]}{dt} = -v_8 \quad (144)$$

Las velocidades de reacción v_4 , v_5 , v_6 , v_7 y v_8 que aparecen en el sistema, se obtienen mediante la aplicación directa de la ley de acción de masas para reacciones irreversibles en los primeros casos (8) y para reacciones reversibles en el último de los casos (7).

$$v_4 = k_4[FBP] \quad (145)$$

$$v_5 = k_5[G6P][ATP] \quad (146)$$

$$v_6 = k_6[ADP] \quad (147)$$

$$v_7 = k_7[ATP] \quad (148)$$

$$v_8 = k_8[ATP][AMP] - k_{-8}[ADP]^2 \quad (149)$$

Sin embargo, el resto de velocidades adquieren expresiones más complicadas al tratarse de reacciones catalizadas por enzimas específicas.

La enzima que regula la primera reacción de la ruta glucolítica es la hexoquinasa. Esta proteína posee dos centros activos diferentes, uno específico para la glucosa y otro para el ATP. Cuando una molécula de glucosa y otra de ATP se unen a esta enzima, inducen en ella un cambio conformacional que propicia el proceso de fosforilación, dando como

resultado una molécula de glucosa-6-fosfato ($G6P$) y otra de ADP.

Se deduce entonces que la reacción que regula la hexoquinasa es una reacción bisustrato cuya velocidad vendría dada por la ecuación (63).

$$v_1 = \frac{V_{1max}[Glu][ATP]}{K_{II} + K_{Glu}[Glu] + K_{ATP}[ATP] + [Glu][ATP]} \quad (150)$$

La segunda reacción de la ruta es regulada por la fosfoglucoisomerasa, una enzima que es capaz de alterar la estructura molecular de la glucosa-6-fosfato ($G6P$) para transformarla en fructosa-6-fosfato ($F6P$), pero también puede de realizar el procedimiento en sentido opuesto, partiendo de la $F6P$ y obteniendo $G6P$ como producto.

Se trata, entonces, de un ejemplo de cinética de tipo Michaelis-Menten reversible (40).

$$v_2 = \frac{\frac{V_{2max}}{K_{G6P}}[G6P] - \frac{V_{2min}}{K_{F6P}}[F6P]}{1 + \frac{[G6P]}{K_{G6P}} + \frac{[F6P]}{K_{F6P}}} \quad (151)$$

Por último, el paso de fructosa-6-fosfato ($F6P$) a fructosa-1,6-bisfosfato (FBP) es regulado por la fosfofructoquinasa, una enzima alostérica que posee dos subunidades idénticas. Cada una de estas subunidades cuenta con un centro activo al que se puede unir el sustrato y un centro alostérico al que se puede ligar un efector. Si la enzima se encuentra en su forma activa, el AMP, que actúa como activador, puede unirse al sitio alostérico propiciando la formación de producto. Si por el contrario, la enzima se encuentra en su forma inactiva, es el ATP lo que puede acoplarse a su centro alostérico, pero este dificultará la formación de producto, pues se trata de un inhibidor enzimático.

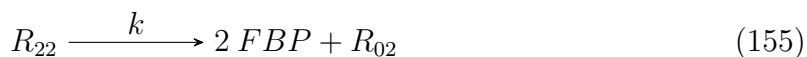
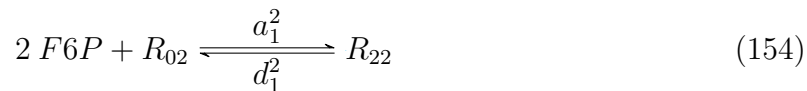
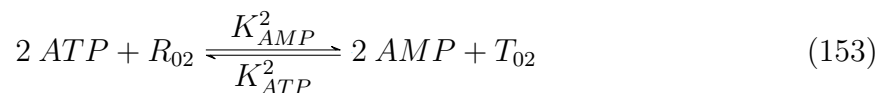
Para encontrar la ecuación de velocidad v_3 que describe la cinética de esta enzima se puede recurrir al modelo de Monod-Wyman-Changeux, teniendo en cuenta que la enzima tiene dos subunidades y que, en este caso, el centro catalítico sólo está disponible en la forma activa de la enzima, lo que en términos del modelo MWC se traduce como $n = 2$ y $c = 0$. La función ϕ de la enzima será:

$$\phi = \frac{\alpha e(1 + \alpha e)}{L \left(\frac{1 + \frac{[I]}{K_I}}{1 + \frac{[A]}{K_A}} \right)^2 + (1 + \alpha e)^2} \quad (152)$$

Entonces, la velocidad v_3 podría expresarse de acuerdo a la ecuación cinética (130).

No obstante, cuando se tratan sistemas enzimáticos en los que el sustrato es capaz de unirse únicamente a la forma activa de la enzima, la curva experimental para la velocidad de reacción respecto a la concentración de sustrato suele adquirir una forma sigmoidea. Esta curva se puede ajustar, en la mayoría de los casos, a lo que se denomina la forma de Hill de la ecuación cinética [32].

Para encontrar la forma de Hill de la ecuación v_3 hay que suponer que la enzima es capaz de unirse a sus ligandos (efectores y sustratos) en un solo paso, como se mostró en el esquema (71) del capítulo 3. De este modo, las únicas reacciones químicas que deben considerarse son: el cambio reversible de la enzima de su forma activa R_{02} a su forma inactiva T_{02} (153), la captación y liberación de sustrato por la forma activa de la enzima (154) y la formación de producto (155).



Aplicando la ley de acción de masas (9) a las reacciones que se acaban de mostrar y suponiendo que las dos primeras se encuentran en equilibrio, puede obtenerse el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{cases} K_{AMP}^2 [ATP]^2 [R_{02}] = K_{ATP}^2 [AMP]^2 [T_{02}] \\ K_R^2 [R_{22}] = [F6P]^2 [R_{02}] \\ v_3 = k [R_{22}] \end{cases} \quad (156)$$

Donde $K_R \equiv \frac{d_1}{a_1}$ se definió en (114).

Entonces, la enzima fosfofructoquinasa (PFK) sólo puede darse en tres formas diferentes: en su forma activa libre de sustrato R_{02} , en su forma activa colmada de sustrato R_{22} y en su forma inactiva T_{02} . Por tanto, la concentración total de encima es:

$$[PFK] = [R_{02}] + [R_{22}] + [T_{02}] \quad (157)$$

Despejando $[T_{02}]$ y $[R_{22}]$ de la primera y segunda ecuación del sistema (156) respectivamente y luego sustituyendo estas expresiones en (157), se tiene:

$$[PFK] = [R_{02}] + \frac{[F6P]^2}{K_R^2}[R_{02}] + \kappa \frac{[ATP]^2}{[AMP]^2}[R_{02}] \quad (158)$$

Donde $\kappa \equiv \frac{K_{AMP}^2}{K_{ATP}^2}$.

Puede despejarse la cantidad $[R_{02}]$ de la ecuación (158).

$$[R_{02}] = \frac{[PFK]}{1 + \kappa \frac{[ATP]^2}{[AMP]^2} + \frac{[F6P]^2}{K_R^2}} \quad (159)$$

Así, volviendo al sistema de ecuaciones (156) es posible obtener una expresión para $[R_{22}]$ de la segunda ecuación y sustituir su valor en la tercera ecuación del sistema para obtener la velocidad v_3 en función de $[R_{02}]$.

$$v_3 = \frac{k[F6P]^2}{K_R^2}[R_{02}] \quad (160)$$

Por último, sustituyendo la fórmula (159) en (160), se obtiene finalmente la ecuación cinética para la reacción alostérica regulada por la fosfofructoquinasa (161).

$$v_3 = \frac{V_{3max}[F6P]^2}{K_R^2 \left(1 + \kappa \left(\frac{[ATP]}{[AMP]} \right)^2 \right) + [F6P]^2} \quad (161)$$

Donde la velocidad máxima $V_{3max} = k[PFK]$ viene dada como la constante cinética multiplicada por la cantidad total de enzima.

Integrando el sistema de ecuaciones diferenciales (139)-(144) mediante el método de Runge-Kutta de 4^o orden (función *ode45* en *MatLab*), se obtienen las evoluciones temporales de las concentraciones de las sustancias que intervienen en el modelo glicolítico analizado. Puede observarse que para un suministro constante de glucosa en la célula $[Glu] = 12,8174 \text{ mM}$, el sistema tiende a alcanzar un estado estacionario estable en el que las concentraciones se hacen constantes en el tiempo (figura 6).

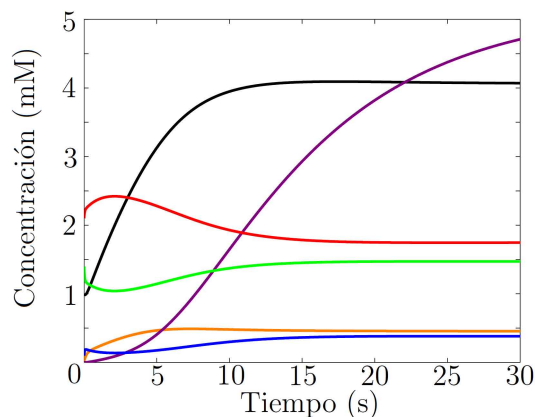


Figura 6: Evolución temporal de las concentraciones de *G6P* (en negro), *F6P* (en naranja), *FBP* (en morado), *ATP* (en rojo), *ADP* (en verde) y *AMP* (en azul). Las condiciones iniciales tomadas para las concentraciones de estas sustancias fueron: $[G6P]_0 = 1 \text{ mM}$, $[F6P]_0 = 0 \text{ mM}$, $[FBP]_0 = 0 \text{ mM}$, $[ATP]_0 = 2,1 \text{ mM}$, $[ADP]_0 = 1,4 \text{ mM}$, $[AMP]_0 = 0,1 \text{ mM}$.

Las constantes necesarias para llevar a cabo la simulación fueron obtenidas de la bibliografía [33] y adquieren los siguientes valores: $V_{1max} = 0,8621 \text{ mM/s}$, $K_{ATP} = 0,37 \text{ mM}$, $K_{Glu} = 0,1 \text{ mM}$, $K_{II} = 0,037 \text{ mM}^2$, $V_{2max} = 2,338 \text{ mM/s}$, $V_{2min} = 2,338 \text{ mM/s}$, $K_{G6P} = 0,8 \text{ mM}$, $K_{F6P} = 0,15 \text{ mM}$, $V_{3max} = 0,7455 \text{ mM/s}$, $K_R = 0,145 \text{ mM}$, $\kappa = 0,15$, $k_4 = 0,1008 \text{ s}^{-1}$, $k_5 = 0,0377 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$, $k_6 = 1,1413 \text{ s}^{-1}$, $k_7 = 0,0535 \text{ s}^{-1}$, $k_8 = 7,215 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$, $k_{-8} = 2,222 \text{ s}^{-1} \text{ mM}^{-1}$.

Sin embargo, si la entrada de glucosa en el sistema es de tipo sinusoidal, la evolución temporal de las concentraciones puede seguir un comportamiento de oscilaciones periódicas simples (con un sólo máximo) para ciertos valores de los parámetros que caracterizan la entrada periódica al sistema, esto es, la amplitud y la frecuencia de la perturbación sinusoidal impuesta. Estos comportamientos pueden observarse en la figura 7.

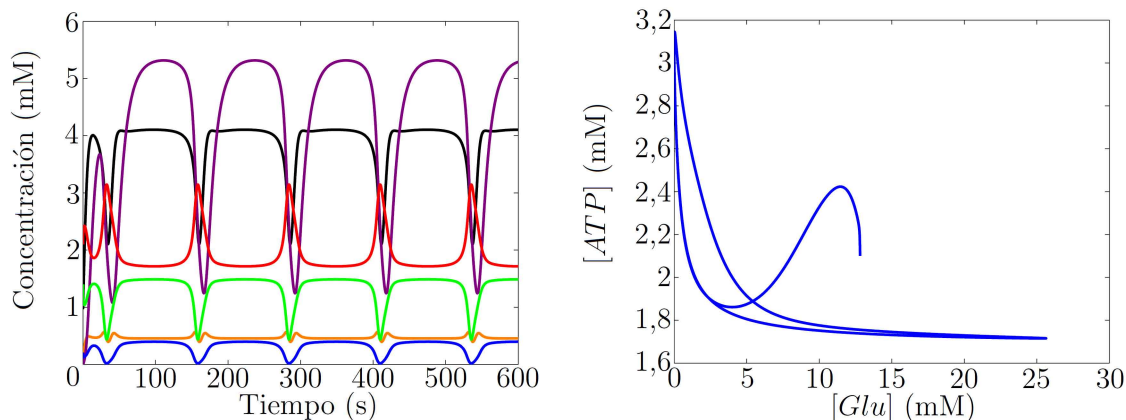


Figura 7: A la izquierda se muestra la evolución temporal de las concentraciones de *G6P* (en negro), *F6P* (en naranja), *FBP* (en morado), *ATP* (en rojo), *ADP* (en verde) y *AMP* (en azul). A la derecha, aparece una representación de $[ATP]$ frente a $[Glu]$ en el espacio de fases, donde puede apreciarse un ciclo límite. En este caso, la entrada de glucosa sigue una función sinusoidal $[Glu] = [Glu]_0(1 - \text{sen } \omega t)$ con una frecuencia angular $\omega = 0,05 \text{ rad/s}$ y con una concentración $[Glu]_0 = 6,4087 \text{ mM}$, mientras que el resto de parámetros usados son los mismos que en la figura 6

La constante k_6 está asociada a la fosforilación del ADP, un tipo de reacción que ocurre en dos etapas diferentes de la parte baja de la ruta glucolítica. Estas reacciones pueden darse en mayor o menor medida dependiendo de la cantidad de fosfoenolpiruvato (*PEP*) presente en la reacción. Escogiendo una constante cinética k_6 diferente a las anteriores y modificando las condiciones iniciales, es posible hallar en el sistema comportamientos aperiódicos asociados al caos.

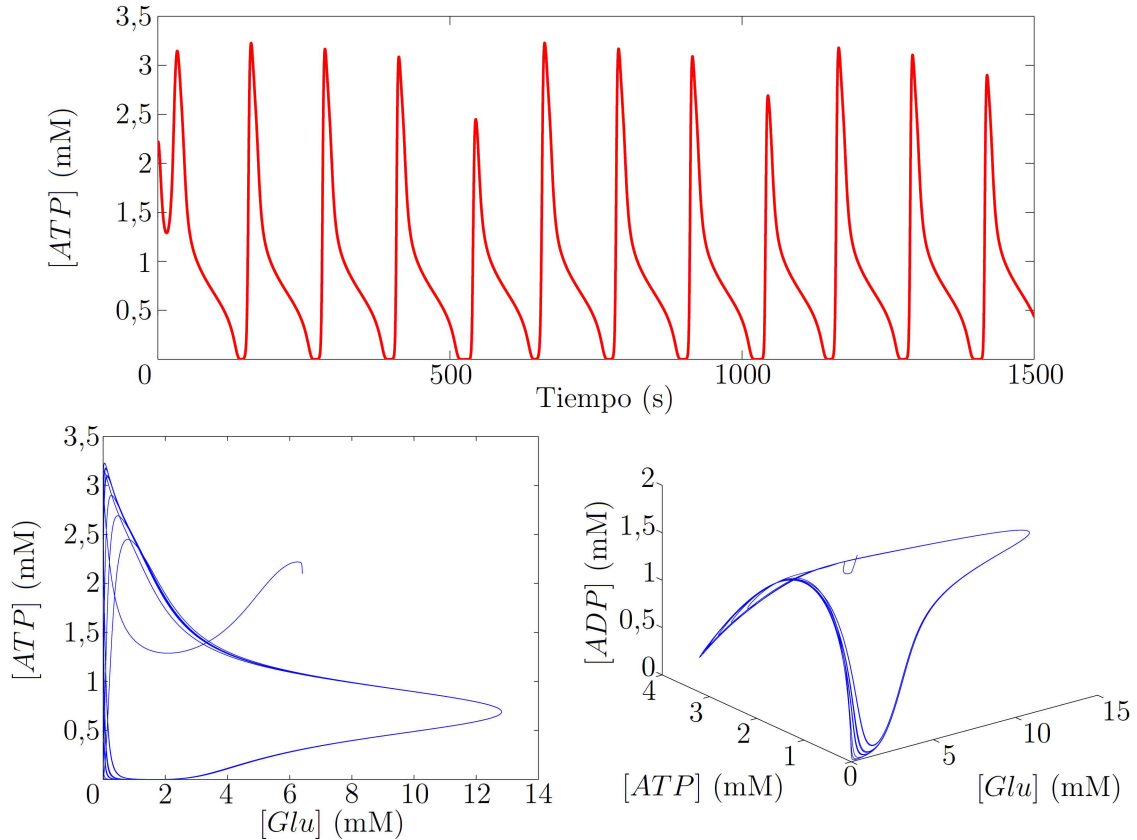


Figura 8: La gráfica de arriba muestra la evolución temporal de la concentración de ATP en el sistema, mientras que abajo se representan diferentes espacios de fases en los que puede advertirse la presencia de un atractor extraño. Las condiciones iniciales tomadas para las concentraciones de estas sustancias fueron las mismas que se tomaron para las representaciones anteriores, salvo por la concentración de AMP, que en este caso es de $0,09994199 \text{ mM}$. La señal de entrada de glucosa sigue siendo una función sinusoidal $[Glu] = [Glu]_0(1 - \text{sen } \omega t)$ con una frecuencia de angular $\omega = 0,05 \text{ rad/s}$ y $[Glu]_0 = 6,4087 \text{ mM}$. En este caso los parámetros del sistema son los mismos que para la figura 6 salvo por la constante k_6 , que en esta ocasión toma el valor $0,8828 \text{ s}^{-1}$.

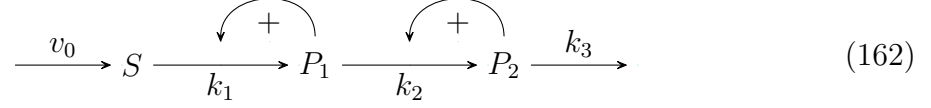
4.2. Modelo de Decroly y Goldbeter

El modelo de Decroly y Goldbeter es uno de los modelos teóricos más simples en los que se puede observar un comportamiento caótico del sistema, incluso sin que sea necesario introducir una perturbación periódica a los parámetros de entrada [34].

Se trata de un sistema formado por dos enzimas alostéricas secuenciadas en el que ambas obedecen la cinética del modelo MWC. Estas enzimas son autocatalíticas, una propiedad que se atribuye a aquellas enzimas cuyo producto actúa también como un efector inhibiendo o activando la producción enzimática. En el caso concreto de este modelo, el producto P_1 de la primera reacción catalizada por una enzima alostérica es a la vez un activador para dicha enzima y un sustrato para la siguiente reacción, donde P_2 es el

producto y también el activador de la segunda reacción.

El esquema para el modelo de Decroly y Goldbeter es el siguiente:



De acuerdo con el modelo, se supone que la velocidad a la que entra sustrato en el sistema v_0 es constante, y que la velocidad a la que se consume el último producto P_2 es directamente proporcional al valor de la constante cinética de la reacción k_3 , como indica la ley de acción de masas.

Las velocidades para cada etapa de la reacción son:

$$\begin{cases} v_0 \\ v_1 = K_{R1}\sigma_1\phi_1 \\ v_2 = K_{R2}\sigma_2\phi_2 \\ v_3 = k_3[P_2] \end{cases} \quad (163)$$

Donde v_1 y v_2 siguen la dinámica del modelo MWV para enzimas alostéricas con dos subunidades idénticas $n = 2$ sin inhibición $[I] = 0$. Adicionalmente se asume que, en ambas reacciones, la producción es casi nula si las enzimas no se encuentran en su forma activa ($c = 0$) y se incorpora el parámetro e en la normalización de la concentración de sustrato.

Teniendo todo esto en cuenta, los valores de σ (131) y ϕ (132) adquieren la siguientes expresiones. Para la primera enzima:

$$\sigma_1 = \frac{2k_1[E_{total1}]}{K_{R1}} \quad \phi_1 = \frac{\alpha(1+\alpha)(1+\gamma_1)^2}{L_1 + (1+\alpha)^2(1+\gamma_1)^2} \quad (164)$$

Y para la segunda enzima:

$$\sigma_2 = \frac{2k_2[E_{total2}]}{K_{R2}} \quad \phi_2 = \frac{d\gamma_1(1+d\gamma_1)(1+\gamma_2)^2}{L_2 + (1+d\gamma_1)^2(1+\gamma_2)^2} \quad (165)$$

Donde $\alpha = \frac{[S]}{K_{R1}}$ es la concentración de sustrato S normalizada, $\gamma_1 = \frac{[P_1]}{K_{A1}}$ es la concentración normalizada del producto P_1 y $\gamma_2 = \frac{[P_2]}{K_{A2}}$ es la concentración normalizada del producto final P_2 .

Como puede observarse existe un factor d multiplicando a γ_1 en la fórmula para ϕ_2 . Esta d es la constante de disociación del activador en la primera reacción K_{A1} dividida entre la constante de disociación de la segunda reacción K_{R2} , y aparece para mostrar la cantidad $\frac{[P_1]}{K_{R2}}$ como un factor de la normalización del producto de la primera reacción γ_1 .

$$\frac{[P_1]}{K_{R2}} = \frac{K_{A1}}{K_{R2}} \frac{[P_1]}{K_{A1}} = d\gamma_1 \quad (166)$$

El sistema de ecuaciones diferenciales que muestra las derivadas temporales de las concentraciones de los reactivos implicados en el modelo es:

$$\begin{cases} [\dot{S}] = v_0 - K_{R1}\sigma_1\phi_1 \\ [\dot{P}_1] = K_{R1}\sigma_1\phi_1 - K_{R2}\sigma_2\phi_2 \\ [\dot{P}_2] = K_{R2}\sigma_2\phi_2 - k_3[P_2] \end{cases} \quad (167)$$

Este sistema puede expresarse en función de las concentraciones normalizadas dividiendo entre K_{R1} la primera ecuación, entre K_{A1} la segunda y entre K_{A2} la tercera de las ecuaciones.

$$\begin{cases} \frac{[\dot{S}]}{K_{R1}} = \frac{v_0}{K_{R1}} - \sigma_1\phi_1 \\ \frac{[\dot{P}_1]}{K_{A1}} = \frac{K_{R1}}{K_{A1}}\sigma_1\phi_1 - \frac{K_{R2}}{K_{A1}}\sigma_2\phi_2 \\ \frac{[\dot{P}_2]}{K_{A2}} = \frac{K_{R2}}{K_{A2}}\sigma_2\phi_2 - k_3\frac{[P_2]}{K_{A2}} \end{cases} \quad (168)$$

Sustituyendo ahora σ_1 , σ_2 , ϕ_1 y ϕ_2 por sus equivalentes en (164) y (165), se halla finalmente la expresión original para el sistema de ecuaciones diferenciales del modelo de Decroly y Goldbeter.

$$\begin{cases} \dot{\alpha} = \nu_0 - \sigma_1 \frac{\alpha(1+\alpha)(1+\gamma_1)^2}{L_1+(1+\alpha)^2(1+\gamma_1)^2} \\ \dot{\gamma}_1 = q_1 \sigma_1 \frac{\alpha(1+\alpha)(1+\gamma_1)^2}{L_1+(1+\alpha)^2(1+\gamma_1)^2} - \sigma_2 \frac{\gamma_1(1+d\gamma_1)(1+\gamma_2)^2}{L_2+(1+d\gamma_1)^2(1+\gamma_2)^2} \\ \dot{\gamma}_2 = q_2 \sigma_2 \frac{\gamma_1(1+d\gamma_1)(1+\gamma_2)^2}{L_2+(1+d\gamma_1)^2(1+\gamma_2)^2} - k_3 \gamma_2 \end{cases} \quad (169)$$

Donde $q_1 = \frac{K_{R1}}{K_{A1}}$, $q_2 = \frac{K_{R2}}{K_{A2}}$ y $d = \frac{K_{A1}}{K_{R2}}$ son constantes de normalización y $\nu_0 = \frac{v_0}{K_{R1}}$ es proporcional a la velocidad de sustrato que se suministra al sistema.

Dando valores a los parámetros del modelo, puede observarse la dinámica del sistema. Para las representaciones mostradas en las figuras 9, 10 y 11, se han usado las siguientes constantes: $v_0 = 1 \text{ mM/s}$, $K_{R1} = 2 \text{ mM}$, $\sigma_1 = \sigma_2 = 10 \text{ s}^{-1}$, $L_1 = 5 \cdot 10^8$, $L_2 = 100$, $q_1 = 50$, $q_2 = 0,02$, $d = 10^{-4}$, y unas condiciones iniciales de concentración nula para todos los reactivos $[S]_0 = [P_1]_0 = [P_2]_0 = 0$.

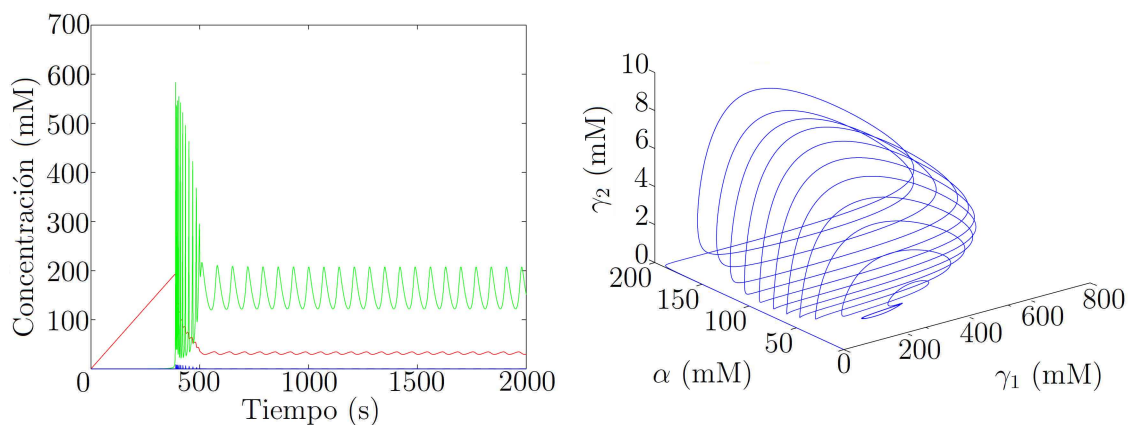


Figura 9: La gráfica de la izquierda muestra la evolución temporal de las concentraciones normalizadas α (en rojo), γ_1 (en verde) y γ_2 (en azul). La gráfica de la derecha es una representación en el espacio de fases de las concentraciones de las distintas sustancias que componen el sistema: En este caso, la constante cinética k_3 adquiere el valor 2 s^{-1} .

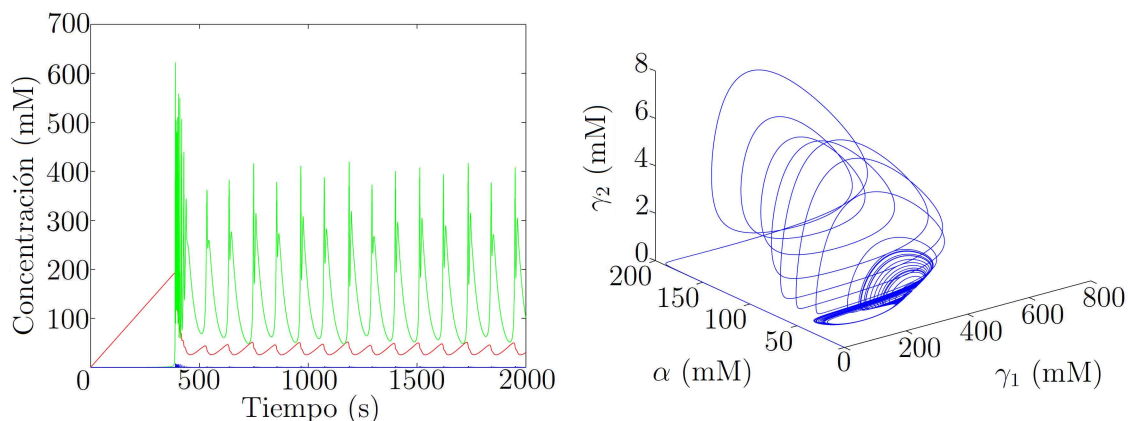


Figura 10: La gráfica de la izquierda muestra la evolución temporal de las concentraciones normalizadas α (en rojo), γ_1 (en verde) y γ_2 (en azul). La gráfica de la derecha es una representación en el espacio de fases de las concentraciones de las distintas sustancias que componen el sistema: En este caso, la constante cinética k_3 adquiere el valor $2,5 \text{ s}^{-1}$.

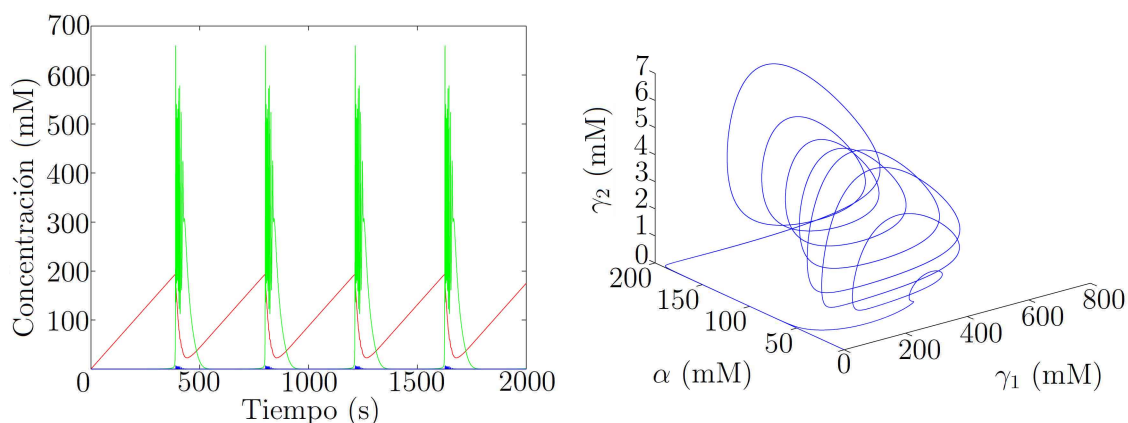


Figura 11: La gráfica de la izquierda muestra la evolución temporal de las concentraciones normalizadas α (en rojo), γ_1 (en verde) y γ_2 (en azul). La gráfica de la derecha es una representación en el espacio de fases de las concentraciones de las distintas sustancias que componen el sistema: En este caso, la constante cinética k_3 adquiere el valor 3 s^{-1} .

Como puede observarse, el sistema es muy sensible al cambio de k_3 , constante asociada a la demanda de producto P_2 por parte de otras rutas, mostrando patrones de comportamiento totalmente diferentes. En concreto, para una baja demanda de producto, el sistema tiende a un ciclo límite donde la concentración de reactivos varía con oscilaciones periódicas simples (figura 9), mientras que si la demanda de producto es alta, el sistema seguirá realizando oscilaciones periódicas en las que los estados que este alcanza se repiten en el tiempo, pero siguiendo un patrón mucho más complejo que en el caso anterior (figura 11). Sin embargo, existen ciertos valores intermedios de k_3 para los cuales el sistema muestra un comportamiento caótico, pudiendo observarse en algunos casos la formación de un atractor extraño (figura 10).

En la siguiente imagen se muestran con más detalle el ciclo límite y el atractor extraño que se obtienen para los valores de $k_3 = 2 \text{ s}^{-1}$ y $k_3 = 2,5 \text{ s}^{-1}$ respectivamente.

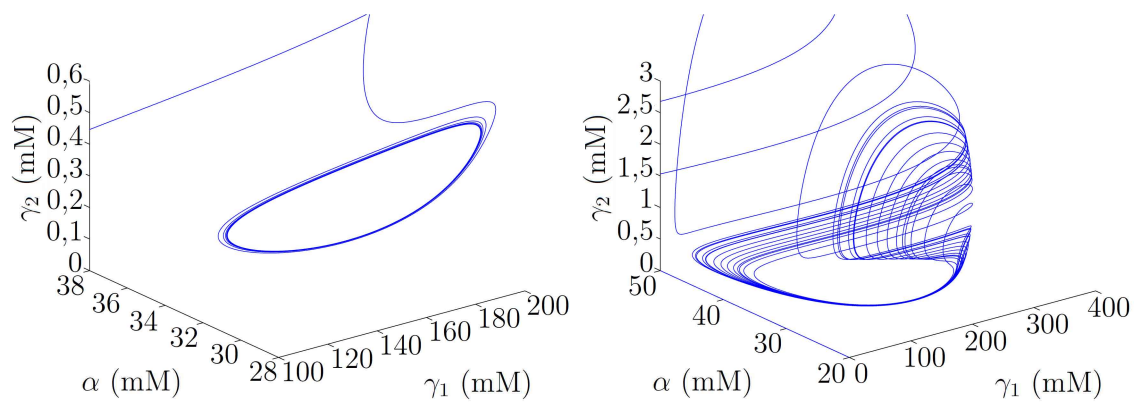


Figura 12: En la imagen de la izquierda se muestra un ciclo límite en el espacio de fases (ampliación de la figura 9), fruto de realizar la simulación con el valor de la constante cinética $k_3 = 2 \text{ s}^{-1}$. En la imagen de la derecha se muestra el atractor caótico en el espacio de fases (ampliación de la figura 10), que se obtiene con el valor $k_3 = 2,5 \text{ s}^{-1}$.

5. Conclusiones

El presente trabajo constituye una introducción al desarrollo de modelos matemáticos capaces de explicar la cinética enzimática de las rutas metabólicas. Para ello, se ha escogido la parte alta de la ruta glicolítica como hilo conductor de este estudio, analizando la misma con herramientas de la física pero sin olvidar los aspectos relativos a la bioquímica.

En primer lugar, se han expuesto los conceptos teóricos bioquímicos necesarios para este estudio, explicando con especial interés la función y el comportamiento de aquellas enzimas implicadas en la ruta metabólica que es objeto de análisis.

Posteriormente, se han deducido las ecuaciones que dictan la cinética de distintos tipos de enzimas partiendo como base de la ley de acción de masas. De este modo, se han hallado las ecuaciones para reacciones catalizadas por enzimas con un sólo centro de unión, estudiadas por primera vez por Menten y Michaelis, y para las reacciones catalizadas por enzimas que admiten dos sustratos diferentes.

Además, el estudio de reacciones enzimáticas se ha completado comentando la función de Hill como propuesta para explicar los mecanismos alostéricos de algunas enzimas y, seguidamente, obteniendo una ecuación general para aquellas enzimas alostéricas que son susceptibles a la acción de inhibidores y activadores, de acuerdo con el modelo expuesto por Monod, Wyman y Changeux.

Por último, se ha construido y simulado un modelo para la parte alta de la ruta glucolítica, en el que se ha hallado, bajo un flujo de suministro de sustrato periódico, un comportamiento asociado al caos. También se ha presentado el modelo de Decroly y Goldbeter, en el que se pueden observar atractores caóticos bajo un flujo de entrada constante de sustrato.

Referencias

- [1] Humberto Maturana y Francisco Varela. *De Maquinas y Seres Vivos*. Editorial Universitaria, 1 edition, 2003.
- [2] Richard Johnston and Max E. Valentinuzzi. Metabolism: The physiological power-generating process: A history of methods to test human beings' "vital capacity". *IEEE pulse*, 7(3):50–57, 2016.
- [3] Garabed Eknoyan. Santorio Sanctorius (1561–1636)—founding father of metabolic balance studies. *American journal of nephrology*, 19(2):226–233, 1999.
- [4] Charles A. Culotta. Respiration and the lavoisier tradition: theory and modification, 1777-1850. *Transactions of the American Philosophical Society*, 62(3):3–41, 1972.
- [5] Keith L. Manchester. Louis Pasteur (1822–1895)—chance and the prepared mind. *Trends in biotechnology*, 13(12):511–515, 1995.
- [6] E. Kinne-Saffran and R. K. H. Kinne. Vitalism and synthesis of urea. *American journal of nephrology*, 19(2):290–294, 1999.
- [7] Edward Buchner. Alcoholic fermentation without yeast cells. *Cornish-Bowden (1997)*, pages 25–31, 1997.
- [8] Donald Voet and Judith G. Voet. *Biochemistry*. Wiley, 4th edition, 2010.
- [9] Byung Hong Kim and Geoffrey Michael Gadd. *Bacterial Physiology and Metabolism*. Cambridge University Press, 1 edition, 2008.
- [10] Paul N. Lithaw. *Glycolysis: Regulation, Processes and Diseases*. 2009.
- [11] P. Farreras Valentí y Ciril Rozman. *Medicina Interna. Metabolismo y Nutrición Endocrinología*. Elsevier, 17 edition, 2014.
- [12] Nicolas Glansdorff, Ying Xu and Bernard Labedan. The last universal common ancestor: emergence, constitution and genetic legacy of an elusive forerunner. *Biology direct*, 3(1):29, 2008.
- [13] Alejandro G. Marangoni. *Enzyme Kinetics: A Modern Approach*. Wiley-Interscience, 1 edition, 2002.

- [14] David L. Nelson, Michael M. Cox y Albert L. Lehninger. *Lehninger: Principios de Bioquímica*. Omega, 5a edition, 2009.
- [15] Jeremy M. Berg, John L. Tymoczko y Lubert Stryer. *Bioquímica*. Reverté, 6a edition, 2008.
- [16] Edda Klipp, Axel Kowald, Wolfram Liebermeister and Christoph Wierling. *Systems biology : a textbook*. Wiley-VCH, 2nd edition, 2016.
- [17] Edda Klipp, Ralf Herwig, Axel Kowald, Christoph Wierling and Hans Lehrach. *Systems Biology in Practice: Concepts, Implementation and Application*. Wiley-VCH, 1 edition, 2005.
- [18] E. W. Lund. Guldberg and Waage and the Law of Mass Action. *Journal of Chemical Education*, 42(10):548, 1965.
- [19] Franklin C. McLean. Application of the law of chemical equilibrium (law of mass action) to biological problems. *Physiological Reviews*, 18(4):495–523, 1938.
- [20] Reinhart Heinrich and Stefan Schuster. *The Regulation of Cellular Systems*. Springer US, 1 edition, 1996.
- [21] S. C. Kou, Binny J. Cherayil, Wei Min, Brian P. English and X. Sunney Xie. Single-molecule Michaelis-Menten equations. 2005.
- [22] Hans Lineweaver and Dean Burk. The determination of enzyme dissociation constants. *Journal of the American chemical society*, 56(3):658–666, 1934.
- [23] E. A. Newsholme, F. S. Rolleston and Kay Taylor. Factors affecting the glucose 6-phosphate inhibition of hexokinase from cerebral cortex tissue of the guinea pig. *Biochemical Journal*, 106(1):193–201, 1968.
- [24] Ross L. Stein. *Kinetics of Enzyme Action: Essential Principles for Drug Hunters*. Wiley, 1 edition, 2011.
- [25] Rudolf Gesztelyi, Judit Zsuga, Adam Kemeny-Beke, Balazs Varga, Bela Juhasz and Arpad Tosaki. The hill equation and the origin of quantitative pharmacology. *Archive for history of exact sciences*, 66(4):427–438, 2012.

- [26] Archibald Vivian Hill. The combinations of haemoglobin with oxygen and carbon monoxide, and the effects of acid and carbon dioxide. *Biochemical Journal*, 15(5):577, 1921.
- [27] Edda Klipp, Wolfram Liebermeister, Christoph Wierling, Axel Kowald, Hans Lehrach and Ralf Herwig. *Systems Biology*. Wiley-Blackwell, 1 edition, 2009.
- [28] Jacque Monod, Jeffries Wyman and Jean-Pierre Changeux. On the nature of allosteric transitions: A plausible model. *J. Mol. Biol*, 12:88–118, 1965.
- [29] Albert Goldbeter. *Biochemical Oscillations and Cellular Rhythms: The Molecular Bases of Periodic and Chaotic Behaviour*. Cambridge University Press, 1997.
- [30] Mario Markus and Benno Hess. Control of metabolic oscillations: unpredictability, critical slowing down, optimal stability and hysteresis. In *Control of Metabolic Processes*, pages 303–313. Springer, 1990.
- [31] Mario Markus, Dietrich Kuschmitz and Benno Hess. Chaotic dynamics in yeast glycolysis under periodic substrate input flux. *FEBS letters*, 172(2):235–238, 1984.
- [32] Yves Termonia and John Ross. Oscillations and control features in glycolysis: numerical analysis of a comprehensive model. *proceedings of the national academy of sciences*, 78(5):2952–2956, 1981.
- [33] Finn Hynne, Sune Danø and Preben G. Sørensen. Full-scale model of glycolysis in *saccharomyces cerevisiae*. *Biophysical chemistry*, 94(1-2):121–163, 2001.
- [34] Francisco Montero y Federico Morán. *Biofísica: Procesos de autoorganización en Biología*. Eudema, 1992.
- [35] Javier Buceta Fernández, Elka Radoslavova Koroutcheva y Juan Manuel Pastor Ruiz. *Temas de biofísica*. Editorial UNED, 2012.

Anexos:

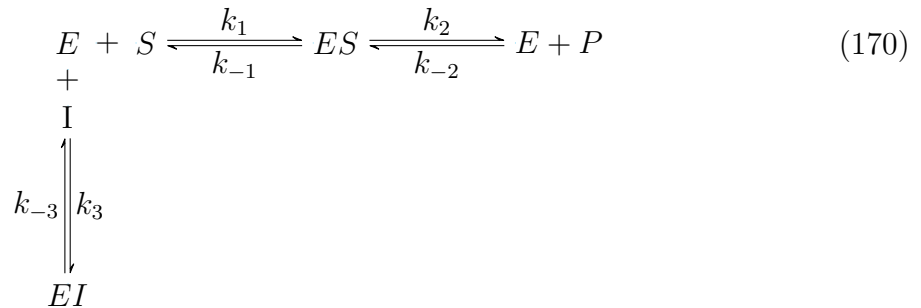
A. Reacciones con inhibición

En esta sección se amplía el estudio para las enzimas analizando tres tipos diferentes de procesos de inhibición enzimática: la inhibición competitiva, la acompetitiva y la no competitiva.

A.1. Inhibición competitiva

Un inhibidor competitivo es aquel que compite con el sustrato por ocupar el centro catalítico de la enzima. Si la enzima se liga al inhibidor, esta ya no puede ligarse al sustrato para dar lugar al producto hasta que quede liberada.

Un ejemplo de este tipo de inhibición se encuentra en la enzima asparaginasa, la cual reacciona con la glutamina para producir glutamato y con el ácido asparagánico produciendo aspartato [35].



En este caso las velocidades de cada etapa son:

$$v_1 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] \quad (171)$$

$$v = v_2 = k_2[ES] - k_{-2}[E][P] \quad (172)$$

$$v_3 = k_3[E][I] - k_{-3}[EI] \quad (173)$$

De acuerdo con la fórmula (27) la concentración de complejo enzima-sustrato crece con velocidad v_1 y disminuye con velocidad v_2 .

$$\frac{d[ES]}{dt} = v_1 - v_2 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] - k_2[ES] + k_{-2}[E][P] \quad (174)$$

De nuevo, se puede aplicar la condición de estado cuasiestacionario (18).

$$(k_1[S] + k_{-2}[P])[E] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (175)$$

Del mismo modo, puede asumirse que la reacción de formación del complejo enzima-inhibidor alcanza también un estado cuasiestacionario.

$$\frac{d[EI]}{dt} = 0 \quad (176)$$

Lo que equivale a decir que la velocidad (173) es nula y además:

$$k_3[E][I] = k_{-3}[EI] \quad (177)$$

Para reducir el número de constantes, se define la constante de disociación del inhibidor K_{I3} como:

$$K_{I3} = \frac{k_{-3}}{k_3} \quad (178)$$

Haciendo uso de la definición anterior y de la ecuación (177), la expresión para la concentración de enzima inhibida queda de la siguiente forma:

$$[EI] = \frac{[E][I]}{K_{I3}} \quad (179)$$

En este caso, la cantidad total de enzima será la suma de la enzima libre más la que está formando parte de un complejo enzimático, ya sea unida a un sustrato o a un inhibidor. Despejando la cantidad de enzima libre se tiene:

$$[E] = [E_{total}] - [ES] - [EI] \quad (180)$$

Donde la cantidad $[EI]$ viene dada por (179)

$$[E] = [E_{total}] - [ES] - \frac{[E][I]}{K_{I3}} \quad (181)$$

Así, despejando $[E]$:

$$[E] = \frac{[E_{total}] - [ES]}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}} \quad (182)$$

Ahora es posible sustituir los términos de concentración de enzima libre tanto en la ecuación de velocidad (172) como en la ecuación (175) sustituyendo $[E]$ por su expresión obtenida en (182).

$$v = k_2[ES] - \frac{k_{-2}}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}}[E_{total}][P] + \frac{k_{-2}}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}}[ES][P] \quad (183)$$

$$\frac{k_1[S][E_{total}]}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}} + \frac{k_{-2}[P][E_{total}]}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}} - \frac{k_{-2}[P][ES]}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}} - \frac{k_1[S][ES]}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}} = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (184)$$

De la última fórmula puede despejarse $[ES]$:

$$[ES] = \frac{k_1[S][E]_{total} + k_{-2}[P][E]_{total}}{(k_{-1} + k_2) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}}\right) + k_1[S] + k_{-2}[P]} \quad (185)$$

Sustituyendo este valor en la ecuación (183) se obtiene finalmente la ecuación cinética.

$$v = \frac{k_2k_1[S][E_{total}] + k_2k_{-2}[P][E_{total}] + \frac{k_{-2}k_1}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}}[P][S][E_{total}] + \frac{k_{-2}^2}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}}[P]^2[E_{total}]}{(k_{-1} + k_2) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}}\right) + k_1[S] + k_{-2}[P]} - \frac{k_{-2}k_{-1}[P][E_{total}] + k_2k_{-2}[P][E_{total}] + \frac{k_{-2}k_1}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}}[P][S][E_{total}] + \frac{k_{-2}^2}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}}}[P]^2[E_{total}]}{(k_{-1} + k_2) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}}\right) + k_1[S] + k_{-2}[P]} \quad (186)$$

Esta ecuación se puede simplificar hasta obtener lo siguiente:

$$v = [E_{total}] \frac{k_2k_1[S] - k_{-2}k_{-1}[P]}{(k_{-1} + k_2) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}}\right) + k_1[S] + k_{-2}[P]} \quad (187)$$

Pero para hallar la forma más simple de esta ecuación será necesario, en primer lugar, dividir el numerador y el denominador por la cantidad $k_{-1} + k_2$ y luego, aplicar las definiciones K_M (26), K_{-M} (38), V_{max} y V_{min} introducidas en el capítulo 3.

$$v = \frac{\frac{V_{max}}{K_M}[S] - \frac{V_{min}}{K_{-M}}[P]}{1 + \frac{[I]}{K_{I3}} + \frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}}} \quad (188)$$

Como caso particular de esta ecuación, cuando la reacción 2 del esquema (170) es irreversible, el valor de k_{-2} es nulo y por tanto K_{-M} , que es la única constante que

$$v_1 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] \quad (191)$$

$$v_2 = k_2[ES] - k_{-2}[E][P] \quad (192)$$

$$v_3 = k_4[ES][I] - k_{-4}[ESI] \quad (193)$$

En este caso, la concentración de complejo enzima-sustrato crece con velocidad v_1 , pero decrece con velocidad v_2 y v_4 .

$$\frac{d[ES]}{dt} = v_1 - v_2 - v_4 = 0 \quad (194)$$

Esta derivada se puede tomar nula de acuerdo con la hipótesis cuasiestacionaria (18).

$$(k_1[S] + k_{-2}[P])[E] = (k_{-1} + k_2 + k_4[I])[ES] - k_{-4}[ESI] \quad (195)$$

Del mismo modo, la condición cuasiestacionaria puede aplicarse al complejo enzima-sustrato-inhibidor ESI , lo que equivale a tomar como nula la velocidad v_4 .

$$k_4[ES][I] = k_{-4}[ESI] \quad (196)$$

Para reducir el número de constantes, se define K_{I4} como la constante de disociación del inhibidor.

$$K_{I4} = \frac{k_{-4}}{k_4} \quad (197)$$

Usando la definición anterior (197), y volviendo a la ecuación (196), la expresión para la concentración de enzima inhibida adquiere la siguiente forma:

$$[ESI] = \frac{k_4}{k_{-4}}[ES][I] = \frac{[ES][I]}{K_{I4}} \quad (198)$$

Esta cantidad, puede sustituirse en (195) para eliminar la dependencia de esta ecuación respecto a la concentración del complejo enzimático ESI .

$$(k_1[S] + k_{-2}[P])[E] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (199)$$

En este caso, la cantidad total de enzima es la suma de la enzima libre más la enzima que forma parte de algún complejo enzimático ES o ESI . Por lo que una posible expresión para la cantidad de enzima libre es:

$$[E] = [E_{total}] - [ES] - [ESI] \quad (200)$$

Donde la concentración de complejo enzimático inhibido puede sustituirse por su valor obtenido en (198).

$$[E] = [E_{total}] - \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right) [ES] \quad (201)$$

Ahora es posible sustituir la expresión para la enzima libre en la ecuación para la velocidad de reacción (192) y en (199):

$$v = k_2[ES] - k_{-2}[E_{total}][P] + k_{-2} \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right) [ES][P] \quad (202)$$

$$(k_1[S] + k_{-2}[P])[E_{total}] - (k_1[S] + k_{-2}[P]) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right) [ES] = (k_{-1} + k_2)[ES] \quad (203)$$

De esta última fórmula puede despejarse $[ES]$:

$$[ES] = \frac{k_1[S] + k_{-2}[P]}{k_{-1} + k_2 + (k_1[S] + k_{-2}[P]) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)} [E_{total}] \quad (204)$$

Sustituyendo a continuación (204) en (202), se obtiene finalmente la ecuación cinética.

$$v = \frac{k_1k_2[S] + k_{-2}k_2[P] - k_{-1}k_{-2}[P] - k_{-2}k_2[P] - k_1k_{-2}[S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)}{k_{-1} + k_2 + (k_1[S] + k_{-2}[P]) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)} [E_{total}] + \frac{-k_{-2}^2[P]^2 \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right) + k_1k_{-2}[S][P] \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right) + k_{-2}^2[P]^2 \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)}{k_{-1} + k_2 + (k_1[S] + k_{-2}[P]) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)} [E_{total}] \quad (205)$$

Esta ecuación puede simplificarse eliminando términos hasta obtener (206).

$$v = \frac{k_1k_2[S] - k_{-1}k_{-2}[P]}{k_{-1} + k_2 + (k_1[S] + k_{-2}[P]) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)} [E_{total}] \quad (206)$$

Es posible obtener una forma más simple para esta ecuación, para ello es necesario dividir el numerador y el denominador por la cantidad $k_{-1} + k_2$ y, posteriormente, aplicar las definiciones K_M (26), K_{-M} (38), V_{max} y V_{min} introducidas en el capítulo 3.

$$v = \frac{\frac{V_{max}}{K_M}[S] - \frac{V_{min}}{K_{-M}}[P]}{1 + \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}}\right) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)} \quad (207)$$

Un caso particular de especial interés es aquel en el que la constante k_{-2} es nula, pues representa el caso irreversible. En tal caso, la expresión para la ecuación cinética puede reducirse si se tiene en cuenta que k_{-M} alcanza un valor próximo a infinito.

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}}\right)} \quad (208)$$

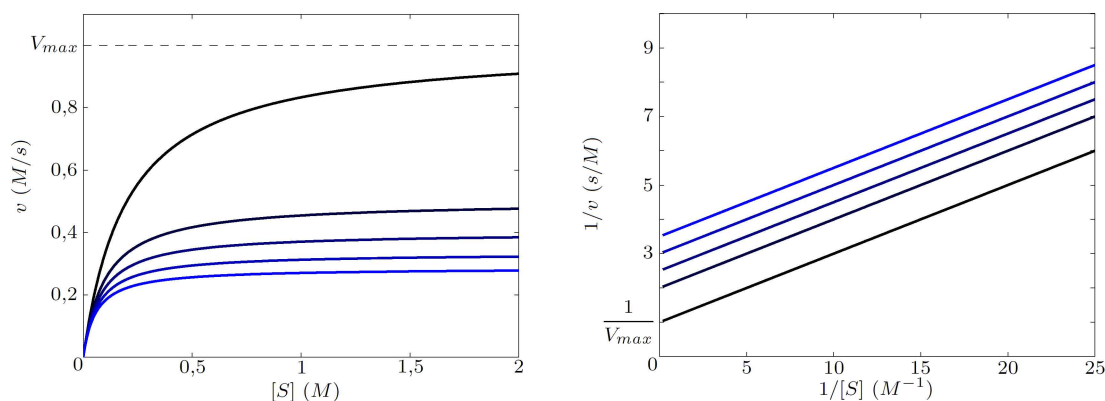


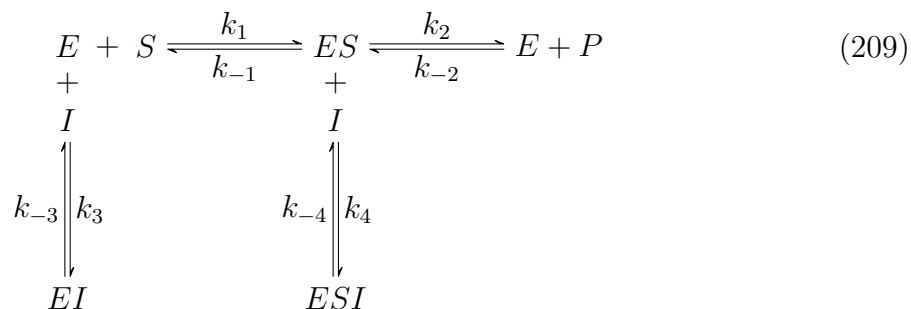
Figura 14: La gráfica de la izquierda muestra la velocidad de reacción v frente a la concentración de sustrato $[S]$ para distintas concentraciones de sustancia inhibidora. Las líneas más azules (más hacia abajo) indican mayor concentración de inhibidor respecto a la constante de inhibición K_{I4} . Los valores que toma $[I]/K_{I4}$ en esta gráfica son 0, 1, 1,5, 2 y 2,5. La gráfica de la derecha, muestra el diagrama de Lineweaver-Burk correspondiente. Puede observarse que la velocidad máxima que puede alcanzar el sistema decrece cuando la cantidad de inhibidor es mayor. De nuevo $K_M = 0,2 M$.

A.3. Inhibición no competitiva

Se habla de inhibición no competitiva cuando el inhibidor puede unirse a la enzima ocupando un sitio diferente al centro activo y provocando así que dicha enzima no pueda adquirir o desprenderse de sustrato.

La fórmula para este caso de inhibición es una combinación de las fórmulas que describían los casos de inhibición competitiva y acompetitiva, pues en esta situación, el in-

hibidor puede unirse a la enzima independientemente de si esta está ligada a un sustrato o no.



Las velocidades de las reacciones que se muestran en el esquema (209) son:

$$v_1 = k_1[E][S] - k_{-1}[ES] \quad (210)$$

$$v = v_2 = k_2[ES] - k_{-2}[E][P] \quad (211)$$

$$v_3 = k_3[E][I] - k_{-3}[EI] \quad (212)$$

$$v_4 = k_4[ES][I] - k_{-4}[ESI] \quad (213)$$

Al igual que en los casos anteriores, para formar el sistema de ecuaciones, será necesario suponer el estado cuasiestacionario (18) para todos los complejos enzimáticos.

$$\frac{d[ES]}{dt} = v_1[I] - v_2[I] - v_4 = 0 \rightarrow k_1[E][S][I] + k_{-2}[E][P][I] + k_{-4}[ESI] = (k_{-1} + k_2 + k_4)[ES][I] \quad (214)$$

$$\frac{d[EI]}{dt} = v_3 = 0 \rightarrow k_3[E][I] = k_{-3}[EI] \quad (215)$$

$$\frac{d[ESI]}{dt} = v_4 = 0 \rightarrow k_4[ES][I] = k_{-4}[ESI] \quad (216)$$

Recordando las definiciones de las constantes de inhibición K_{I3} (178) y K_{I4} (197) dadas en las secciones anteriores, las ecuaciones (215) y (216) pueden escribirse así:

$$[EI] = \frac{[E][I]}{K_{I3}} \quad (217)$$

$$[ESI] = \frac{[ES][I]}{K_{I4}} \quad (218)$$

A continuación, puede sustituirse el valor de $[ESI]$ en la ecuación (214).

$$k_1[E][S][I] + k_{-2}[E][P][I] = (k_{-1} + k_2)[ES][I] \quad (219)$$

Donde despejando $[E]$ y recuperando las definiciones de K_M (26) y K_{-M} (38) se tiene:

$$[E] = \frac{[ES]}{\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}}} \quad (220)$$

Sustituyendo ahora dicho valor en (217), puede expresarse la concentración $[EI]$ en función de la cantidad $[ES]$.

$$[EI] = \frac{[ES][I]}{K_{I3} \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right)} \quad (221)$$

La cantidad total de enzima E_{total} es la suma de la cantidad de enzima libre E más la de aquellas enzimas que se encuentran formando algún complejo enzimático, es decir:

$$[E_{total}] = [E] + [ES] + [EI] + [ESI] \quad (222)$$

Si se sustituyen en esta ecuación los valores para $[E]$, $[EI]$ y $[ESI]$ obtenidos respectivamente en (220), (221) y (218), se obtiene una expresión que relaciona la concentración de complejo enzima-sustrato con la concentración de enzima en el sistema $[E_{total}]$.

$$[E_{total}] = \frac{[ES]}{\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}}} + [ES] + \frac{[ES][I]}{K_{I3} \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right)} + \frac{[ES][I]}{K_{I4}} \quad (223)$$

Donde puede despejarse el valor de $[ES]$:

$$[ES] = \frac{\left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right) [E_{total}]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}} \right) + \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}} \right)} \quad (224)$$

Sustituyendo a continuación el valor obtenido de $[ES]$ en (220), se puede hallar el valor de $[E]$ en función de $[E_{total}]$.

$$[E] = \frac{[E_{total}]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}} \right) + \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}} \right)} \quad (225)$$

Volviendo a la ecuación que define la velocidad del producción (211), mediante (224) y (225), puede obtenerse la ecuación cinética para el caso no competitivo:

$$v = \frac{k_2 \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right) - k_{-2}[P]}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}} \right) + \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}} \right)} [E_{total}] \quad (226)$$

Que puede reescribirse teniendo en cuenta las definiciones para las constantes V_{max} y V_{min} introducidas en el capítulo 3.

$$v = \frac{V_{max} \frac{[S]}{K_M} - V_{min} \frac{[P]}{K_{-M}}}{\left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}} \right) + \left(\frac{[S]}{K_M} + \frac{[P]}{K_{-M}} \right) \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}} \right)} \quad (227)$$

Si la constante k_{-2} es nula, entonces K_{-M} tiende a infinito. Este sería el caso irreversible de la ecuación cinética, que se escribe como:

$$v = \frac{V_{max}[S]}{K_M \left(1 + \frac{[I]}{K_{I3}} \right) + [S] \left(1 + \frac{[I]}{K_{I4}} \right)} \quad (228)$$

Un caso concreto bastante común de este tipo de inhibición se tiene cuando la unión del sustrato a la enzima no provoca cambios conformacionales significativos en esta y, por tanto, la sustancia inhibidora tendría la misma afinidad con la enzima E que con el complejo enzimático ES , esto es, que existe una sola constante de inhibición $K_I = K_{I3} = K_{I4}$.

Si esto ocurre puede definirse una velocidad aparente V_{ap} para poder expresar la ecuación cinética (228) de forma similar a la ecuación sin inhibidores (25).

$$V_{ap} = \frac{V_{max}}{1 + \frac{[I]}{K_I}} \quad (229)$$

$$v = \frac{V_{ap}[S]}{K_M + [S]} \quad (230)$$

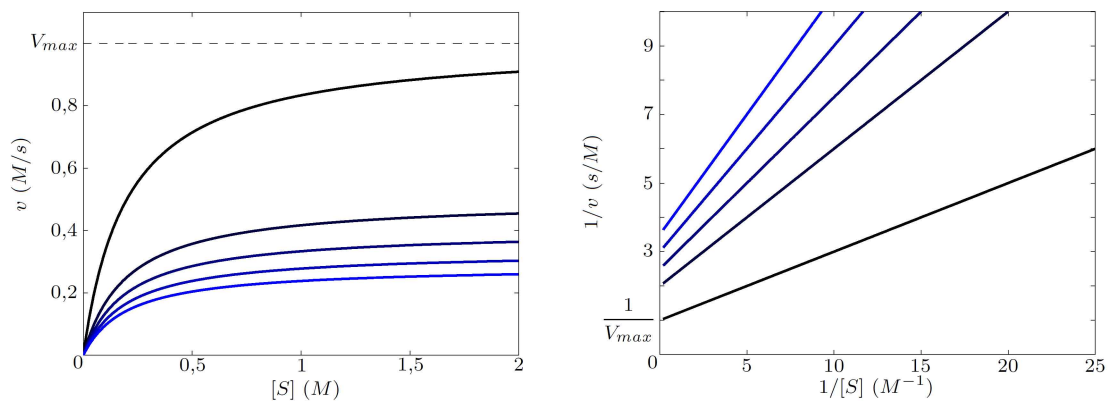


Figura 15: La gráfica de la izquierda muestra la velocidad de reacción v frente a la concentración de sustrato $[S]$ para distintas concentraciones de sustancia inhibidora. Las líneas más azules (más hacia abajo) indican mayor concentración de inhibidor respecto a la constante de inhibición. En concreto se ha recurrido a los valores 0, 1, 1,5, 2 y 2,5 para $[I]/K_I$. La gráfica de la derecha muestra el diagrama de Lineweaver-Burk correspondiente. En este caso se observa tanto la influencia de la cantidad de inhibidor en la velocidad a niveles bajos de concentración de sustrato presente en la inhibición competitiva, como la disminución de la velocidad máxima en condiciones de saturación de sustrato que se observaba en la inhibición acompetitiva. $K_M = 0,2 M$

B. Códigos de MatLab utilizados para realizar algunas simulaciones

En esta sección se muestran los códigos para *MatLab* con los que se han obtenido los atractores extraños de las figuras 8 y 12.

Simulación para la parte alta de la ruta glicolítica:

```
1 %% Parte alta de la glucólisis.
2 % Modelo cinético para la parte alta de la glucólisis.
3 clear all;
4 close all;
5 clc;
6
7 %% Parámetros:
8 %Constantes:
9
10 %Concentración de glucosa en el medio:
11 Glu0=6.4087; %mM. Amplitud de señal y mínima concentración de glucosa.
12 w=0.05; %Frecuencia de oscilación de la entrada de glucosa en el
    sistema.
13
14 %Hexoquinasa:
15 V1max=0.8621; %mM/s. Velocidad máxima de la reacción.
16 KATP=0.37; %mM
17 KGlu=0.10; %mM
18 KII=0.037; %mM
19
20 %Fosfoglucoisomerasa:
21 V2max=2.338; %mM/s Velocidad máxima a la que se puede generar producto.
22 V2min=2.338; %mM/s Velocidad máxima a la que se puede generar sustrato.
23 KG6P=0.8; %mM
24 KF6P=0.15; %mM
25
26 %Fosfofructoquinasa:
27 V3max=0.74548; %mM/s. Velocidad máxima de la reacción.
28 K_R=0.145; %mM.
29 k=0.15;
30
```

```

31 %Otras reacciones que tienen lugar en el entorno:
32 k4=0.1008; %1/s
33 k5=0.0377; %1/s*mM
34 %k6=1.1413; %1/s
35 k6=0.8828; %1/s
36 k7=0.0535; %1/s
37 k8=7.215; %1/s*mM
38 k_8=2.222; %1/s*mM
39
40 %Variables iniciales:
41 G6P0=1; %mM. %Cantidad inicial de glucosa-6-fosfato.
42 F6P0=0; %mM.%Cantidad inicial de fructosa-6-fosfato.
43 FBP0=0; %mM. %Cantidad inicial de fructosa-1,6-bisfosfato.
44 ATP0=2.1; %mM. %Cantidad inicial de ATP.
45 ADP0=1.4; %mM. %Cantidad inicial de ADP.
46 % AMP0=0.1; %mM. %Cantidad inicial de AMP.
47 AMP0=0.09994199; %mM. %Cantidad inicial de AMP.
48
49 R0=[G6P0, F6P0, FBP0, ATP0, ADP0, AMP0]; %Vector de reactivos iniciales.
50
51 %Intervalo temporal:
52 tspan=[0,1500]; %s
53
54 %% Solución del sistema:
55 options=odeset('AbsTol',1e-12,'RelTol',1e-12);
56 Der=@(t,R) odeGluco(t,R,Glu0,w,V1max,KATP,KGlu,KII,V2max,V2min,KG6P,
    KF6P,V3max,K_R,k,k4,k5,k6,k7,k8,k_8);
57 [t,R]=ode45(Der,tspan,R0,options);
58 G6P=R(:,1); %Glucosa-6-fosfato.
59 F6P=R(:,2); %Fructosa-6-fosfato.
60 FBP=R(:,3); %Fructosa-1,6-bisfosfato.
61 ATP=R(:,4);
62 ADP=R(:,5);
63 AMP=R(:,6);
64
65 %% Representación temporal de la concentración de glucosa.
66 figure('Name','Glucosa');
67 Glucosa=Glu0-Glu0*sin(w*t);
68 plot(t,Glucosa,'LineWidth',2,'Color',[1,0.5,0]);

```

```

69
70 %% Representación temporal de las concentraciones:
71 figure('Name','Representación temporal');
72 plot(t,ATP,'r','LineWidth',2);
73 axis([0 1500 0 3.5]);
74 title('Representación temporal.');
```

75 xlabel('Tiempo (s)');

76 ylabel('Concentración (mM)');

77

```

78 %% Representación en el espacio de fases:
79 figure('Name','Espacio de fases');
```

80 plot(Glucosa,ATP); %Concentración de sustrato frente a concentración de
producto.

81 axis([0 14 0 3.5]);

82 title('Espacio de fases.');

83 xlabel('[Glu] (mM)');

84 ylabel('[ATP] (mM)');

85

```

86 %% Representación en el espacio de fases completo:
87 figure('Name','Espacio de fases completo');
```

88 plot3(Glucosa,ATP,ADP); %Concentración de sustrato frente a
concentración de producto.

89 axis([0 15 0 4 0 2]);

90 title('Espacio de fases completo.');

91 xlabel('[Glu] (mM)');

92 ylabel('[ATP] (mM)');

93 zlabel('[ADP] (mM)');

Donde la función *odeGluco* es:

```

1 function [dRdt]=odeGluco(t,R,Glu0,w,V1max,KATP,KGlu,KII,V2max,V2min,
   KG6P,KF6P,V3max,K_R,k,k4,k5,k6,k7,k8,k_8)
2 % Función para el script que modela la cinética de la parte alta de la
   glucólisis.
3
4 %Variables del sistema:
5 G6P=R(1);
6 F6P=R(2);
7 FBP=R(3);
8 ATP=R(4);
```

```

9 ADP=R(5);
10 AMP=R(6);
11
12 %Entrada de Glucosa:
13 Glu=Glu0-Glu0*sin(w*t);
14
15 %Velocidades de reacción:
16 v1=V1max*ATP*Glu/(KII+KGlu*Glu+KATP*ATP+Glu*ATP); %Hexoquinasa.
    Reacción bisustrato con inhibición no competitiva.
17 v2=(V2max*G6P/KG6P-V2min*F6P/KF6P)/(1+G6P/KG6P+F6P/KF6P); %
    Fosfoglucoisomerasa. Reacción tipo Michaelis-Menten reversible.
18 v3=V3max*F6P^2/(K_R^2*(1+k*(ATP/AMP)^2)+F6P^2); %Fosfofructoquinasa.
19 v4=k4*FBP; %Pérdida de fructosa-1,6-bisfosfato.
20 v5=k5*G6P*ATP; %Uso de glucosa-6-phosfato en otras rutas.
21 v6=k6*ADP; %Generación de ATP a partir de ADP.
22 v7=k7*ATP; %Generación de ADP a partir de ATP.
23 v8=k8*ATP*AMP-k_8*ADP^2; %Adenilato quinasa.
24
25 %Sistema de ecuaciones diferenciales:
26 dG6Pdt=v1-v2-v5;
27 dF6Pdt=v2-v3;
28 dFBPdt=v3-v4;
29 dATPdt=-v1-v3-v5+v6-v7-v8;
30 dADPdt=v1+v3+v5-v6+v7+2*v8;
31 dAMPdt=-v8;
32
33 %Incremento de las concentraciones de reactivo:
34 dRdt=[dG6Pdt;dF6Pdt;dFBPdt;dATPdt;dADPdt;dAMPdt];
35 end

```

Simulación para el modelo de Decroly y Goldbeter:

```

1 %% Oscilador de Decroly y Goldbeter.
2 % Modelo cinético de Decroly y Goldbeter de acuerdo a la cinética de
    MWC.
3 clear all;
4 close all;
5 clc;
6
7 %% Parámetros iniciales:

```

```

8 v0=1; %Velocidad de entrada de sustrato (->S).
9 KR1=2; %Constante de acción de Michaelis-Menten de la ecuación 1 (S->P)
.
10 sigma1=10;
11 sigma2=10;
12 L1=5*10^8; %Constante alostética.
13 L2=100;
14 q1=50;
15 q2=0.02;
16 d=0.0001;
17 %k3=2; %1/s.
18 k3=2.5; %1/s.
19 %k3=3; %1/s.
20 tspan=[0,2000]; %Intervalo de definición.
21 S0=0; %Concentración inicial de sustrato.
22 P10=0; %Concentración inicial de producto 1.
23 P20=0; %Concentración inicial de producto 2.
24 R0=[S0,P10,P20]; %Vector de reactivos iniciales.
25
26 %% Solución del sistema:
27 options=odeset('AbsTol',1e-5,'RelTol',1e-5);
28 Der=@(t,R) odeOsciladorDG(t,R,v0,KR1,sigma1,sigma2,L1,L2,q1,q2,d,k3);
29 [t,R]=ode45(Der,tspan,R0,options);
30 alpha=R(:,1);
31 gamma1=R(:,2);
32 gamma2=R(:,3);
33
34 %% Representación temporal de las concentraciones:
35 figure('Name','Representación temporal');
36 plot(t,alpha,'r'); %Concentración de sustrato frente al tiempo.
37 title('Representación temporal.');
```

```

46 figure('Name','Espacio de fases');
47 plot(gamma1,alpha); %Concentración de sustrato frente a concentración
    de producto.
48 title('Espacio de fases.');
```

49 xlabel('\gamma_1');

50 ylabel('\alpha');

51

52 %% Representación en el espacio de fases completo:

```

53 figure('Name','Espacio de fases completo');
```

54 plot3(gamma1,alpha,gamma2); %Concentración de sustrato frente a
 concentración de producto.

55 title('Espacio de fases completo.');

56 xlabel('\gamma_1');

57 ylabel('\alpha');

58 zlabel('\gamma_2');

Donde la función *odeOsciladorDG* es:

```

1 function [dRdt]=odeOsciladorDG(t,R,v0,KR1,sigma1,sigma2,L1,L2,q1,q2,d,
    k3)
2 % Función para el script que modela la cinética del modelo de Decroly y
    Goldbeter.
3
4 %Variables del sistema:
5 alpha=R(1); %Concentración de sustrato.
6 gamma1=R(2); %Concentración de producto 1.
7 gamma2=R(3); %Concentración de producto 1.
8
9 %Sistema de ecuaciones diferenciales:
10 dSdt=v0/KR1-sigma1*alpha*(1+alpha)*(1+gamma1)^2/(L1+(1+alpha)^2*(1+
    gamma1)^2); %Producción de sustrato normalizada.
11 dP1dt=q1*sigma1*alpha*(1+alpha)*(1+gamma1)^2/(L1+(1+alpha)^2*(1+gamma1)
    ^2)-sigma2*gamma1*(1+d*gamma1)*(1+gamma2)^2/(L2+(1+d*gamma1)^2*(1+
    gamma2)^2); %Producción de producto 1 normalizada.
12 dP2dt=q2*sigma2*gamma1*(1+d*gamma1)*(1+gamma2)^2/(L2+(1+d*gamma1)^2*(1+
    gamma2)^2)-k3*gamma2; %Producción de producto 2 normalizada.
13
14 %Incremento de las concentraciones de reactivo:
15 dRdt=[dSdt;dP1dt;dP2dt];
16 end
```