

María Romero Cuesta

Propuesta de modelo y análisis del
espacio de soluciones del metabolismo
central de *Plasmodium falciparum*

Model proposition and space design analysis
applied to the central metabolism of *Plasmodium
falciparum*

Trabajo Fin de Grado
Grado en Matemáticas
La Laguna, Julio de 2021

DIRIGIDO POR
Carlos González Alcón
Guido Santos Rosales

Carlos González Alcón

*Departamento de Matemáticas,
Estadística e Investigación
Operativa*

*Universidad de La Laguna
38200 La Laguna, Tenerife*

Guido Santos Rosales

*Departamento de Bioquímica,
Microbiología, Biología Celular y
Genética*

*Universidad de La Laguna
38200 La Laguna, Tenerife*

Agradecimientos

A mis tutores, Carlos González Alcón y Guido Santos Rosales, por su dedicación y tiempo para realizar este trabajo.

A todos los profesores que me han formado durante la época universitaria. Un agradecimiento especial a Juan Carlos Peral Alonso, quien hizo crecer mi interés por las matemáticas hasta el punto de impulsarme a estudiar este grado y ha estado siempre disponible para ayudarme.

A mis compañeros de clase por hacer de estos años una experiencia inolvidable; a Ainhoa, Carmen, Pablo, Sara y Luis, en particular, por ser un apoyo constante e incondicional.

A los amigos y familiares que me han acompañado a lo largo de esta etapa en los buenos momentos y en los tiempos difíciles.

A mis padres, Ana y Eusebio, a los cuales les debo quien soy y todos los logros que he alcanzado.

María Romero Cuesta
La Laguna, 6 de julio de 2021

Resumen · Abstract

Resumen

La malaria es una enfermedad mortal que afecta a gran parte de la población en países subdesarrollados. Esta enfermedad está causada por varias especies de protozoos del género Plasmodium, siendo Plasmodium falciparum el más frecuente y letal de ellos en humanos. El conocimiento incompleto de las rutas metabólicas de P. falciparum se ha identificado como el impedimento principal para el desarrollo de estrategias efectivas contra su supervivencia.

La modelización matemática y el enfoque computacional pueden resultar de gran utilidad para analizar el comportamiento y la tolerancia del sistema bajo diferentes circunstancias con el fin de obtener una mayor comprensión de la biología del parásito. En este trabajo se propone un modelo matemático del metabolismo central de P. falciparum para la fase asexual utilizando el formalismo GMA. El estudio se centra en los procesos que transcurren desde que el parásito invade un glóbulo rojo hasta que degrada toda la hemoglobina disponible para aumentar su biomasa y disponer de energía con el fin de dividirse y comenzar otro ciclo de invasión.

La simulación computacional del modelo y el análisis temporal de las soluciones han permitido establecer relaciones entre la energía disponible en el parásito para dividirse y colonizar nuevos eritrocitos y la velocidad de la reacción de conversión de piruvato a acetyl-CoA y la velocidad de incorporación de piruvato a biomasa. Estos resultados indican que la molécula de piruvato juega un papel decisivo en el metabolismo de P. falciparum para la obtención de energía.

Palabras clave: *Modelización – Generalized-Mass-Action (GMA) – Malaria – Plasmodium falciparum – Red metabólica*

Abstract

Malaria is a dreadful disease that affects most of underdeveloped countries' population. This disease is caused by many species of protozoa from the Plasmodium gender being Plasmodium falciparum the most frequent and deathly of all in humans. The incomplete knowledge of the metabolic pathways of P. falciparum has been identified as a major issue for the achievement of effective strategies to overcome its survival.

Mathematical modelling and computational methods might be of most use to analyse the behaviour and tolerance of the system under different circumstances so as to obtain a better understanding of the biology of the parasite. In the present work, a mathematical model of the central metabolism of P. falciparum is proposed for its asexual cycle using the GMA formalism. This study is focused on the processes that occur from invasion of a red blood cell until degradation of all the available hemoglobin to increase its biomass and have energy in order to multiply and start a new invasion cycle.

The computational simulation of the model and the space design analysis enabled us to establish relations between the available energy in the parasite to multiply and colonize new red blood cells and the reaction rates of the conversion from pyruvate to acetyl-CoA and of the incorporation of pyruvate to its biomass. These results suggest that the pyruvate molecule plays a key role in the metabolism of P. falciparum for energy supply.

Keywords: *Modelization – Generalized-Mass-Action (GMA) – Malaria – Plasmodium falciparum – Metabolic network*

Contenido

Agradecimientos	III
Resumen/Abstract	V
Introducción	IX
1. Modelización matemática	1
1.1. Modelización matemática de sistemas	2
1.1.1. Modelos matemáticos de fenómenos biológicos	4
2. Sistema biológico en estudio	7
2.1. Malaria: una enfermedad mortal	7
2.2. Ciclo de vida de <i>Plasmodium falciparum</i>	8
2.3. Degradación de la hemoglobina por <i>Plasmodium falciparum</i>	10
2.3.1. Modelo conceptual	10
3. Sistema GMA	13
3.1. Antecedentes	14
3.2. Representación canónica no-lineal	15
4. Interés científico del trabajo	17
4.1. Objetivos	17
5. Metodología	19
5.1. Construcción del modelo matemático	19
5.2. Programación computacional	23
5.3. Optimización de parámetros	23
5.4. Simulación del modelo	24
5.5. Tratamiento de datos	25

6. Análisis del espacio de soluciones	27
6.1. Variabilidad del espacio de soluciones	27
6.2. Aleatoriedad de las constantes cinéticas	29
6.3. Correlación de constantes cinéticas y disponibilidad de energía ...	31
6.3.1. Constante cinética γ_1	33
6.3.2. Constante cinética γ_5	33
6.3.3. Constante cinética γ_h	34
7. Conclusiones	37
A. Apéndice	39
A.1. Modelo conceptual	39
A.2. Modelo matemático	41
Bibliografía	43
Lista de símbolos y abreviaciones	47
Poster	49

Introducción

Este trabajo se centra en la modelización matemática de un proceso de interés biológico como es el metabolismo central del parásito de la malaria *P. falciparum* y el análisis del espacio de soluciones del modelo diseñado.

El capítulo 1 comienza con una breve introducción sobre la historia de la modelización matemática y se explican las fases principales del proceso de modelización en la sección 1.1. A continuación, se comentan algunos modelos matemáticos clásicos aplicados a la biología y se destaca la aplicación en aumento de técnicas de modelización a sistemas biológicos.

En el capítulo 2 se contextualiza el trabajo desde un punto de vista biológico. En la sección 2.1 se habla sobre la enfermedad de la malaria, el cuadro clínico típico y los parásitos causantes de la enfermedad. En la sección 2.2 se describe el ciclo de vida de *Plasmodium falciparum* haciendo especial mención a las fases intraeritrocitarias en las que se basa este trabajo. Por último, se detalla el proceso de degradación de hemoglobina que lleva a cabo el parásito (sección 2.3) y se presenta un modelo conceptual que recoge los aspectos más relevantes que se toman en cuenta a la hora de desarrollar el modelo matemático.

En el capítulo 3 se define el formalismo de GMA mediante el cual se describe el modelo matemático que proponemos. Sin embargo, antes de centrarnos en la metodología (capítulo 5), se justifica el interés científico del trabajo realizado y se enuncian claramente los objetivos en el capítulo 4.

El capítulo 5 comienza explicando detalladamente la construcción del modelo matemático (sección 5.1). En la sección 5.2 se encuentran algunas especificaciones técnicas relacionadas con el programa computacional. En la sección 5.3 se detallan los valores de los diferentes parámetros del sistema, el tiempo de simulación y el muestreo realizado. En la sección 5.5 se informa al lector de la metodología aplicada para el análisis del espacio de soluciones.

El análisis del espacio de soluciones se lleva a cabo en el capítulo 6. Primeramente, en la sección 6.1, se analiza la variabilidad de las soluciones y se seleccionan las variables ad y at como aquellas que aportan variabilidad al conjunto de resultados obtenido tras la simulación del modelo. A continuación, en la sección 6.2, se explica la disminución de aleatoriedad en los parámetros cinéticos al aplicar un filtro a las soluciones en función de la energía disponible (variable at) en el parásito al término de la simulación. Por último se buscan correlaciones entre las constante cinéticas del sistema GMA y la variable at (sección 6.3).

Las correlaciones significativas identificadas entre los parámetros cinéticos de las ecuaciones de conversión de piruvato a acetyl-CoA, de incorporación de piruvato a biomasa y de la velocidad de incorporación del aminoácido histidina al metabolismo central a nivel de α -cetoglutarato con la variable at se discuten también dentro de la sección 6.3.

Para finalizar, en el capítulo 7, se exponen las conclusiones obtenidas mediante la realización de este trabajo.

Modelización matemática

En el siglo XVII las matemáticas experimentaron un rápido desarrollo debido a la creación y maduración de algunas de sus distintas ramas. Mayormente, en este siglo, cabe destacar la conclusión del desarrollo del álgebra simbólica (François Viète, 1540 – 1603), el renacimiento de la teoría de números (Pierre de Fermat, 1601 – 1665), y la creación del cálculo de probabilidades (Blaise Pascal, 1623 – 1662, y Fermat), de la geometría analítica (René Descartes, 1596 – 1650), y del cálculo infinitesimal (Gottfried Wilhelm Leibniz, 1646 – 1716, e Isaac Newton, 1643 – 1727) [13].

Estos hechos hicieron que se ampliara extraordinariamente el campo de acción de las matemáticas e intervinieran en otras ciencias con mayor fuerza. De esta manera, se comenzaron a aplicar progresivamente a distintas ramas alterando la naturaleza de la actividad científica.

Galileo Galilei (1564 – 1642) era un fiel defensor de que el mundo actuaba de acuerdo a leyes matemáticas simples e inmutables. En una perspectiva muy general, esta visión matemática no surge con la revolución científica del siglo XVII, sino que hunde sus raíces en una larga tradición con orígenes pitagóricos [13]. Desde este punto de vista, las estructuras del mundo están representadas por números y complicadas redes de armonías y asociaciones.

El pensamiento de Galileo se puede resumir con su célebre frase escrita en 1623: ‘el universo está escrito en lenguaje matemático’ [13]. Tomando como base esta línea de razonamiento y tras varios siglos de arduo trabajo, ha sido posible el desarrollo de métodos para el estudio de sistemas basados en las matemáticas y la informática. Estos métodos se dividen en tres grandes bloques: modelización matemática del sistema, análisis y simulación del modelo y, por último, control o intervención sobre los sistemas.

En el presente trabajo, se selecciona un sistema biológico de interés social para su modelización matemática, simulación computacional y correspondiente análisis de resultados.

1.1. Modelización matemática de sistemas

Un modelo matemático es una representación simplificada de la realidad que sirve para entender y cuantificar un sistema pero no puede recoger todos los factores que intervienen en él. A la hora de construir un modelo se tienen que identificar las cualidades más relevantes del sistema que se trata de representar de forma que, en su sencillez, el modelo obtenido sea un reflejo válido de aquel aspecto de la realidad en el que estamos interesados. En última instancia, un modelo debe servir como medio para sistematizar el conocimiento disponible, facilitar la comprensión del fenómeno en estudio y analizar los hechos que lo conciernen.

Conceptualización

El primer reto a abordar en el proceso de modelización es la conceptualización del problema. Se debe formular una hipótesis explicatoria del fenómeno en estudio partiendo de las observaciones realizadas de éste. Un modelo viene definido por la pregunta específica que pretende responder. Desarrollar un modelo que explique todos los fenómenos de un determinado sistema es prácticamente imposible. Sin embargo, un modelo con un objetivo limitado no solo es factible sino que también resulta más simple a la hora de analizarlo y manipularlo. En esta fase del modelado, debemos utilizar categorías como el espacio, el tiempo, las sustancias (componentes de materiales, elementos, ...), la calidad, la cantidad y otras relaciones para ordenar la complejidad que percibimos del mundo real [29]. El sentido del proceso de modelización se sustenta en el proceso científico; a partir de observaciones del mundo real surgen cuestiones que se pretenden resolver mediante el estudio del modelo planteado.

Partiendo de la información disponible y del conjunto de hipótesis planteadas, se construye una primera versión del modelo, el modelo conceptual, con las variables seleccionadas y los procesos y las interacciones que se consideran relevantes. La selección de las cualidades relevantes y la omisión de las características irrelevantes del sistema real requiere una percepción selectiva que no puede ser descrita mediante algoritmos. En esta fase existe una cierta arbitrariedad y subjetividad ya que distintos investigadores igualmente formados pueden plantear modelos diferentes. Sin embargo, esta fase es crítica ya que las decisiones tomadas influyen directamente en el modelo final a desarrollar. El especialista debe adoptar un pensamiento integrado para ser capaz de trasladar de manera explícita su conocimiento y explicarlo en los términos más precisos posibles [30].

Formalización matemática

Una vez tenemos el modelo conceptual, hay que traducirlo al lenguaje matemático, optimizar los valores de los parámetros que acompañan a las variables en estudio y validar el modelo para realizar simulaciones y predicciones con él.

La siguiente cuestión que afrontamos inmediatamente después de desarrollar el modelo conceptual es la **elección del formalismo matemático** que mejor se adecue para la representación del sistema en estudio. Existen numerosos enfoques de modelado basados en ecuaciones diferenciales (ecuaciones bayesianas, sistemas estocásticos, modelado basado en agentes, ...) cada uno con sus ventajas y limitaciones [5]. La elección del modelo matemático teórico depende en gran parte de la naturaleza del modelo conceptual. Este aspecto se trata con mayor profundidad en el capítulo 3.

La **estimación de los parámetros** o la calibración del modelo es un problema recurrente en el proceso de modelado que también se debe tener en cuenta. Es necesario determinar los valores numéricos que caracterizan la representación matemática de un sistema dado partiendo de datos experimentales. Además, la calidad del modelo también debe ser analizada mediante alguna prueba de calidad numérica. Tampoco se debe olvidar que los parámetros y la estructura de los sistemas reales es cambiante. Un modelo dado puede resultar satisfactorio en un momento determinado o bajo unas condiciones dadas y perder su efectividad en otro momento de tiempo o sujeto a otras condiciones [29].

Una vez tenemos el modelo matemático planteado, debemos **implementarlo** para poder realizar simulaciones. El programa informático es la traslación del modelo matemático a otro lenguaje válido para fines computacionales. Hay infinidad de lenguajes de programación y plataformas para programar modelos matemáticos; los grandes avances en análisis numérico computacional han hecho posible la obtención de soluciones rápidas y precisas a partir de sistemas complicados.

En consonancia con las ideas expuestas anteriormente, el modelo programado se somete a procesos de **simulación y validación** para evitar extraer conclusiones erróneas de la explotación de éste. La validación hace referencia a la correspondencia entre el sistema real y el modelo matemático. Un modelo se puede considerar útil solo si sus predicciones bajo unas determinadas condiciones están en consonancia con las observaciones experimentales obtenidas bajo las mismas circunstancias en el sistema real. Existen varios procedimientos para llevar a cabo un proceso de validación [29]. En algunos casos, una técnica útil es alterar los distintos parámetros del modelo en un rango biológico plausible y observar cómo el sistema responde en relación a su comportamiento natural.

Optimización e interpretación

A partir de la primera simulación del modelo matemático obtenida, se analizan los resultados y se optimizan de nuevo los parámetros con el fin de refinar el modelo hasta que sea lo más preciso posible. En muchos casos habrá que recorrer continuamente el camino de ida y vuelta entre la modelización y los datos experimentales, hasta llegar a obtener un modelo suficientemente satisfactorio. Cuando se logra una versión matemática representativa del sistema real se procede a su interpretación. En esta fase, existe la oportunidad de debatir y criticar la validez de los resultados.

Un modelo cumple con su objetivo si es útil para el fin con el que se desarrolla. Es importante tener en cuenta que la calidad de un modelo depende directamente de la calidad de la información en la que está basado y a partir de la cual se ha desarrollado. En conclusión, la interpretación del modelo mediante el uso de las herramientas matemáticas que permiten la descripción y el análisis de sistemas complicados puede ampliar el conocimiento de la estructura, propiedades, y comportamientos dinámicos del fenómeno en estudio.

1.1.1. Modelos matemáticos de fenómenos biológicos

Aunque la modelización matemática ya era posible en el siglo XVII, ha sido gracias a las técnicas disponibles hoy en día cuando se ha extendido mayormente su aplicación a las biociencias [13]. Existen numerosos ejemplos que evidencian el valor y la utilidad de los procesos de modelaje para resolver problemas relevantes en esta área entre los que cabe destacar el modelo de Michaelis-Menten para describir la dinámica de las reacciones catalizadas por enzimas [10], el modelo de Hodgkin-Huxley para analizar los potenciales de acción de las neuronas [9], y el modelo de Lotka-Volterra para el estudio de la interacción entre especies [31]. Aunque la aparición y la extensión del reconocimiento del papel y la importancia de los modelos matemáticos dinámicos en biología es un fenómeno reciente, se han convertido en una herramienta frecuente en esta ciencia.

A la hora de analizar el porqué del desarrollo tardío de la modelización matemática en biología, se encuentra una simple explicación. Los sistemas biológicos, por naturaleza, son refractarios a la precisión cuantitativa y la descripción matemática; están compuesto por numerosos elementos estrechamente conectados mediante procesos e interacciones que suceden en diferentes niveles de organización (molecular, celular, tisular, a nivel de organismo o ecosistema) [29]. Gracias al desarrollo del poder computacional requerido para la gestión y el cálculo de grandes cantidades de información, la construcción y resolución de modelos matemáticos para sistemas biológicos se ha hecho factible en las últimas décadas [30].

Además, la aparición de tecnologías de alto rendimiento y las ciencias “ómicas” han generado un inmenso volumen de datos dinámicos sobre la estructura y el comportamiento de los sistemas biológicos. De hecho, esta información se ha hecho más fácil y barata de adquirir, procesar y almacenar que nunca antes.

Todo lo anteriormente explicado ha contribuido a la creación de la **Biología de Sistemas** centrada en la organización y la funcionalidad biológica. La investigación en esta área evita el enfoque individual y trata las relaciones que existen entre los componentes estructurales de los sistemas biológicos y su función, y las características de las interacciones que se dan entre diferentes subsistemas [29]. La Biología de Sistemas se encarga de reconstruir e integrar la información biológica disponible, es por ello que la modelización es fundamental en esta rama. Esta metodología permite la detección de niveles superiores emergentes de organización estructural y funcional.

La modelización en general, y la modelización matemática en particular, especialmente en biología, es la única forma de alcanzar una gran comprensión y un control cuantitativo del sistema. Es por ello que la modelización matemática debería ser una parte esencial e inseparable de cualquier empeño científico en los tiempos actuales. En la bibliografía se ha recogido extensamente que la madurez de un área científica se correlaciona positivamente con la frecuencia con la que se desarrollan y utilizan modelos matemáticos para entender y controlar los sistemas reales presentes en ella [2, 8]. Los métodos de análisis con modelos matemáticos pueden revelar complejos detalles del comportamiento de los sistemas en estudio como la presencia de oscilaciones que normalmente no se pueden apreciar con enfoques puramente biológicos.

Sistema biológico en estudio

Un modelo matemático no solo ayuda a comprender los complejos procesos que integran los sistemas biológicos, también permite estudiar los efectos que pueden provocar pequeños cambios en algunas de sus componentes o de condiciones ambientales en el comportamiento del sistema; es decir, un modelo matemático permite el control y la optimización de un sistema biológico.

La resistencia de los parásitos a los medicamentos es una amenaza para la salud de la humanidad, y es un área donde los modelos matemáticos pueden ser muy útiles, aportando pautas para recoger y analizar datos que luego permitan fabricar medicamentos más eficaces. Dentro de la investigación biológica, la modelización matemática de la fisiología y la patología de órganos o de procesos del cuerpo humano es el sector más difícil de caracterizar en cuanto a los métodos y contenidos [13]. Es aquí donde aparece de forma nítida la idea de analogía entre el sistema biológico real y el modelo matemático propuesto.

2.1. Malaria: una enfermedad mortal

Aunque en las últimas décadas se ha llevado a cabo un progreso formidable en la terapia de enfermedades infecciosas, una inmensa parte de la población de países subdesarrollados continúa sufriendo la lacra de las enfermedades parasitarias debido a la falta de tratamientos eficaces. Un claro ejemplo de este hecho es la malaria. Esta enfermedad está causada por varias especies de protozoos intracelulares obligados (parásitos que no pueden reproducirse fuera de la célula huésped) del género *Plasmodium*, siendo *Plasmodium falciparum* el más frecuente y letal de ellos en humanos.

La mayor parte de los casos y defunciones por malaria se concentran en África y afectan especialmente a niños y mujeres embarazadas [15]. Entre los síntomas más generales de la malaria destacan la fiebre, las cefaleas y los vómitos, que normalmente aparecen de 10 a 15 días después del contagio.

Si no se trata rápidamente, la malaria puede poner en peligro la vida del paciente en poco tiempo ya que altera el aporte de sangre a órganos vitales.

Más en concreto, la parasitemia por *P. falciparum* engloba una amplia variedad de manifestaciones clínicas que pueden variar desde portadores asintomáticos a complicaciones mortales. El coma y la anemia han sido reconocidas durante décadas como complicaciones frecuentes de la malaria severa. No obstante, la malaria severa se manifiesta con cuadros clínicos diferentes en niños y adultos. El cuadro común en niños incluye anemia severa, coma e hiperlactatemia mientras que en adultos las complicaciones mortales más comunes son fallo renal, edema pulmonar, coma e hiperlactatemia [27].

Según el último informe de la OMS, se estima que en el año 2020 hubo alrededor de 200 000 muertes por malaria, siendo una de las causas principales de mortalidad en países subdesarrollados [17]. Aunque existen tratamientos contra la malaria, su eficacia a largo plazo es deficiente debido a la resistencia que desarrollan los parásitos *Plasmodium*. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de nuevas estrategias para la prevención y el tratamiento de esta enfermedad.

2.2. Ciclo de vida de *Plasmodium falciparum*

El *P. falciparum* se transmite a humanos por medio de hembras infectadas de la especie de mosquitos *Anopheles spp.* Estos mosquitos transportan el parásito en sus glándulas salivales y lo inyectan en humanos a través de su picadura al alimentarse de la sangre de éstos.

Una vez los protozoos se depositan en la piel, entran en el torrente sanguíneo en forma de esporozoítos y viajan hasta el hígado donde infectan hepatocitos, se multiplican y maduran a merozoítos. El parásito se multiplica en los hepatocitos durante un periodo que varía entre 1 ó 2 semanas mediante esquizogonia, reproducción asexual que consiste en la división del núcleo celular en un gran número de núcleos secundarios[4]. Durante esta fase, la cual es asintomática, una única célula hepática infectada por esporozoítos produce entre 10 000 y 30 000 merozoítos invasivos los cuales se liberan al torrente sanguíneo para infectar exclusivamente eritrocitos [27].

El ciclo eritrocitario asexual del *Plasmodium*, que será el principal objeto de este trabajo, comienza cuando un merozoito invade un eritrocito hospedador. Una vez el parásito alcanza el glóbulo rojo reside dentro de él en una vacuola protectora derivada de la membrana plasmática del eritrocito. Desde el espacio protegido del interior de la vacuola, el parásito elabora orgánulos y un aparato secretor para su crecimiento, desarrollo y replicación. En esta etapa se han definido tres fases morfológicas [14]:

- Cuando el merozoito entra en el glóbulo rojo se forma una nueva forma joven del parásito intraeritrocitario con forma de anillo. Esta fase inicial de anillo dura aproximadamente 24 horas, cerca de la mitad del total del ciclo intraeritrocitario.
- A continuación, tenemos el estado de troponozoito, un periodo muy activo durante el cual se consume la mayoría del citoplasma del eritrocito infectado.
- Finalmente, durante la fase de esquizonte, el parásito lleva a cabo varias rondas de división binaria que dan lugar de 10 a 30 nuevos merozoítos. Es en este punto cuando revienta el glóbulo rojo infectado y se liberan al torrente sanguíneo los nuevos merozoítos con el fin de iniciar otro ciclo de infección intraeritrocitaria. La ruptura de los eritrocitos conlleva la aparición de las manifestaciones clínicas de la malaria.

Menos del 1% de los merozoítos se desarrollan sexualmente dentro de los eritrocitos en gametocitos y son absorbidos de nuevo por el mosquito *Anopheles* [4].

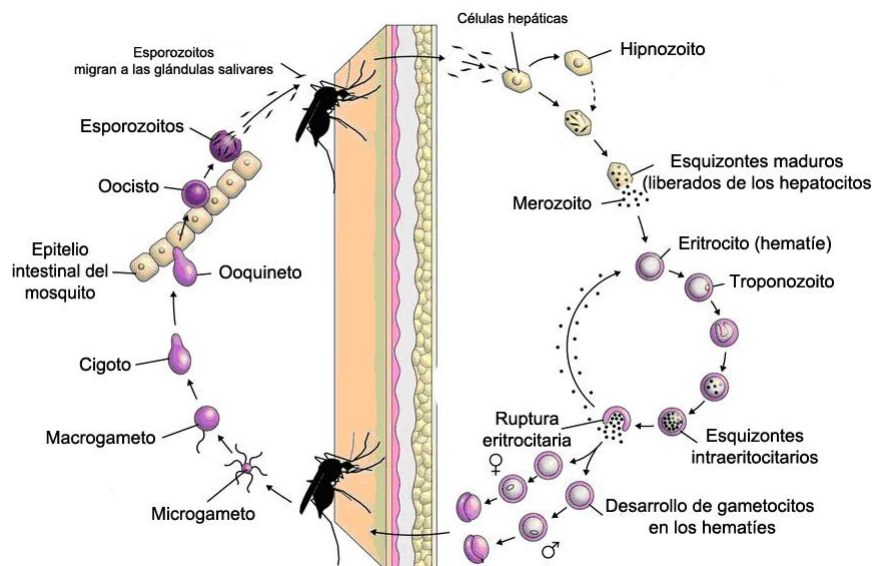


Figura 2.1: Esquema del ciclo de vida del *Plasmodium falciparum* [14].

2.3. Degradación de la hemoglobina por *Plasmodium falciparum*

La hemoglobina supone el 95 % de las proteínas citosólicas de los glóbulos de rojos y se estima que hay de 27 a 31 pg de hemoglobina en un eritrocito [27]. Como ya hemos comentado anteriormente, el citoplasma de la célula hospedera se consume durante el ciclo intraeritrocitario y se degrada en torno a un 60–80 % de la hemoglobina presente en éste [7]. La proteólisis de la hemoglobina libera el grupo hemo y genera aminoácidos:

- El *Plasmodium* no metaboliza ni recicla el grupo hemo sino que lo almacena como un polímero inerte. Este pigmento malárico se conoce con el nombre de hemozoína.
- Los aminoácidos derivados de la hidrólisis de la globina se incorporan a las proteínas del protozoo y también se metabolizan para la obtención de energía.

Existen estudios que, mediante la utilización de inhibidores de proteasas, han demostrado la necesidad de la degradación de la hemoglobina para la supervivencia del *Plasmodium*. Además, se ha probado que existe degradación de la hemoglobina desde la fase inicial de anillo y, a medida que el protozoo intraeritrocitario madura, ingiere un mayor volumen de hemoglobina a través de un sistema citostomal que se forma mediante invaginaciones de la membrana vacuolar y de la membrana plasmática del parásito [7]. Las vesículas provenientes del citostoma transportan la hemoglobina a la vacuola digestiva del protozoo intraeritrocitario maduro, donde se da la degradación de la mayor parte de la hemoglobina.

2.3.1. Modelo conceptual

P. falciparum ha desarrollado resistencia a todas las medicaciones anti-maláricas creadas hasta la actualidad. Gracias a cambios genéticos y alteraciones metabólicas, el parásito es capaz de evadir los efectos de los fármacos. A pesar de tener constancia de estos hechos, todavía se desconocen los procesos mediante los cuales este patógeno es inmune a los tratamientos diseñados. El conocimiento incompleto de las rutas metabólicas de *P. falciparum* se ha identificado como un impedimento principal para el desarrollo de estrategias efectivas contra su supervivencia. Por lo tanto, existe la necesidad de intensificar las investigaciones con el fin de obtener una mayor comprensión a cerca de la biología del parásito. La modelización matemática y el enfoque computacional pueden resultar de gran utilidad para analizar el comportamiento y la tolerancia del sistema bajo diferentes circunstancias.

En este trabajo se propone la modelización matemática de la ruta metabólica de la degradación de la hemoglobina por *P. falciparum* dentro de los eritrocitos de humanos. Para la construcción del modelo conceptual, se asume que el *Plasmodium* hidroliza la hemoglobina hasta obtener un grupo hemo, que no entra en su metabolismo, y los distintos aminoácidos que componen esta proteína. Una vez el *Plasmodium* dispone de los aminoácidos, los incorpora a su metabolismo ya sea degradándolos con el fin de obtener energía o incorporándolos a su biomasa como se muestra en la figura 2.2.

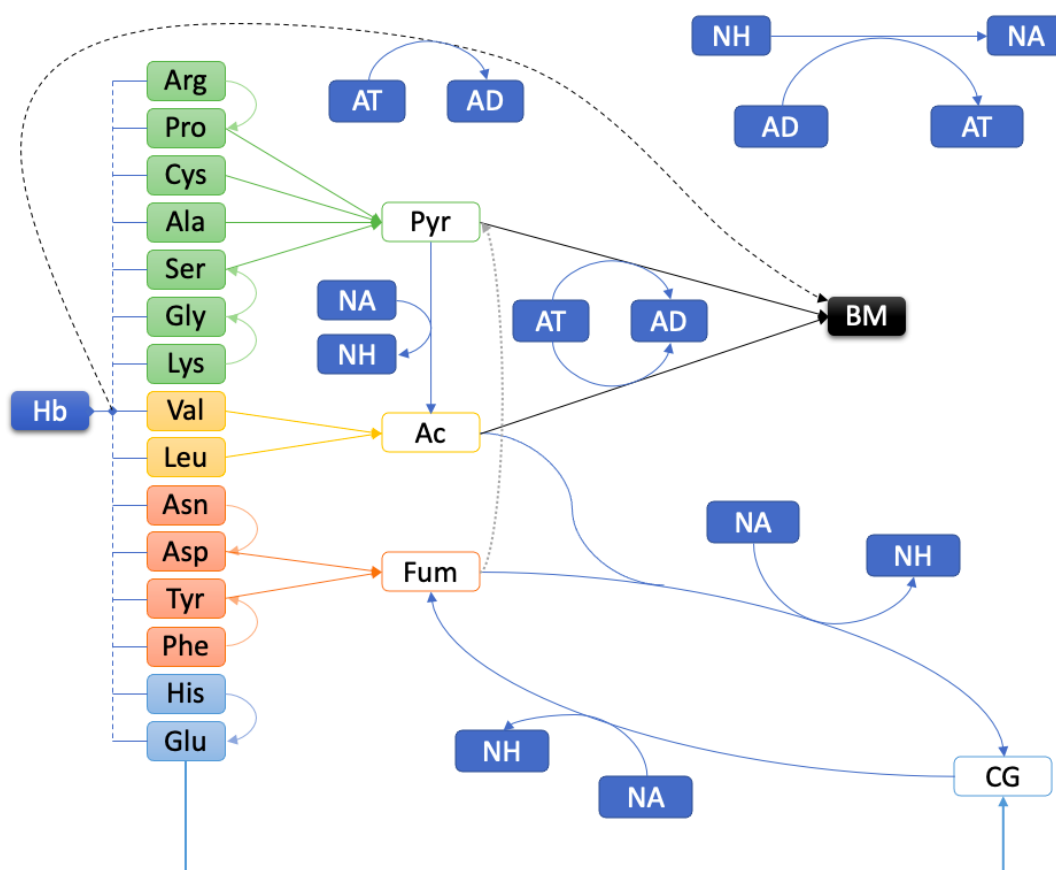


Figura 2.2: Modelo conceptual del metabolismo implicado en la degradación de la hemoglobina en *P. falciparum*. El flujo de incorporación directa de cada aminoácido a biomasa se representa con una única línea negra discontinua para simplificar la visualización del modelo conceptual.

En el apéndice A.1 se dan más detalles sobre el modelo conceptual.

Sistema GMA

Como ya hemos comentado con anterioridad, la aparición de tecnologías de alto rendimiento y las ciencias ‘ómicas’ han generado un inmenso volumen de datos dinámicos sobre la estructura y el comportamiento de los sistemas biológicos. Desde la introducción de la secuenciación génica [22] a la irrupción de técnicas de secuenciación de nueva generación [25], se ha dado una revolución tecnológica que ha generado una inundación de información genómica y proteómica. Sin embargo, aún queda por resolver la cuestión principal: relacionar los genotipos conocidos con los fenotipos. En los sistemas bioquímicos se plantea un problema similar: establecer conexiones entre los datos genotípicos disponibles y el comportamiento de los sistemas es un proceso complicado.

El primer paso es representar la información genotípica que se conoce mediante un modelo conceptual como se ha explicado en el capítulo 1.1. A continuación, asumiendo que existe un modelo conceptual adecuado como el planteado en la sección 2.3.1, se deben caracterizar las respuestas fenotípicas asociadas a éste. Para ello, hay que elegir el formalismo matemático que mejor represente el modelo conceptual del sistema en estudio. El proceso de desarrollar una formulación matemática a partir del modelo conceptual obliga al investigador a describir el sistema con simplicidad.

Las ecuaciones de por sí no contribuyen demasiado a la comprensión del sistema; es necesario resolver las ecuaciones planteadas para valores representativos de los parámetros. Debido a que los parámetros del modelo normalmente varían con cambios medioambientales o su valor es incierto, un planteamiento directo válido consiste en muestrear empíricamente varias combinaciones de parámetros y observar el comportamiento resultante del modelo.

El enfoque general de la formulación matemática normalmente incluye la definición de las variables clave y la expresión de su relación funcional con las otras variables del sistema. Después se desarrollan las ecuaciones a partir de la relación matemática establecida entre las variables.

3.1. Antecedentes

La falta de caracterización experimental detallada de los componentes del sistema es un factor limitante importante a la hora de construir el modelo matemático. La dificultad que supone recabar información experimental fehaciente aumenta cuando el sistema en estudio es un modelo conceptual de una situación compleja. En este caso, muchas de las reacciones incluidas en el modelo corresponden a procesos agregados y el uso de estrategias tradicionales de modelización basadas en cinética bioquímica clásica no es recomendable [26].

Cuando dentro de los procesos involucrados en el modelo se incluyen algunos no-lineales como cinética de saturación y señales regulatorias moduladoras, se necesitan estrategias más sistemáticas que proporcionen herramientas para explorar las propiedades del sistema. Es recomendable que se puedan analizar diferentes hipótesis sobre las variables y los parámetros en estudio a partir del modelo planteado. El formalismo de ley potencial, *power-law formalism*, es una herramienta de modelización que permite alcanzar este objetivo.

La estrategia de ley potencial se basa en aproximaciones espacio logarítmicas de la serie de Taylor. Su representación permite modelar las propiedades cinéticas de los componentes del sistema en estudio [26]. Las características especiales de este enfoque hacen posible la representación de una amplia variedad de procesos cinéticos mediante el uso de la misma función matemática. Como cualquier proceso de modelización, el formalismo de ley potencial incorpora la posibilidad de estudiar el comportamiento dinámico del sistema.

3.2. Representación canónica no-lineal

El formalismo de la ley potencial combina elementos no lineales con una estructura muy específica (productos de ley potencial) con un operador lineal (diferenciación) para crear un conjunto de ecuaciones diferenciales ordinarias capaz de representar cualquier función adecuadamente diferenciable y no-lineal [24].

Los elementos del formalismo de ley potencial son funciones no lineales de productos simples de las variables del sistema elevadas a una potencia:

$$v_i(\mathbf{X}) = \alpha_i X_1^{g_{i1}} X_2^{g_{i2}} X_3^{g_{i3}} \dots X_n^{g_{in}} \quad (3.1)$$

Existen dos tipos de parámetros en este formalismo, los parámetros multiplicativos o constantes cinéticas (α_i) y los parámetros exponenciales (g_{ij}). Los parámetros cinéticos son números reales no negativos, los parámetros exponenciales son números reales y las variables del sistema son números reales positivos.

Las dos representaciones más comunes dentro del formalismo de ley potencial son el **sistema GMA** (*generalized-mass-action system* o *GMA systems*)

$$dX_i/dt = \sum_{k=1}^{P_i} \alpha_{ik} \prod_{j=1}^Q X_j^{g_{ijk}} - \sum_{k=1}^{N_i} \beta_{ik} \prod_{j=1}^Q X_j^{h_{ijk}}, \quad i = 1, \dots, M \quad (3.2)$$

y los **sistemas S** (*synergistic systems* o *S-systems*)

$$dX_i/dt = \alpha_{ip} \prod_{j=1}^Q X_j^{g_{ijp}} - \beta_{in} \prod_{j=1}^Q X_j^{h_{ijn}}, \quad i = 1, \dots, M. \quad (3.3)$$

Las derivadas de las variables del sistema con respecto al tiempo vienen dadas por dX_i/dt ; estas ecuaciones diferenciales ordinarias no-lineales describen las variaciones de concentración en la variable de interés X_i . Los parámetros α y g de las ecuaciones 3.2 y 3.3 se definen igual que los de la ecuación 3.1 y se utilizan para caracterizar los términos positivos de éstas. Los términos β y h se definen de manera similar pero se utilizan para caracterizar los términos negativos.

En el caso del GMA, la ecuación i -ésima tiene P_i términos positivos, que modelizan otros tantos procesos en los que se está formando la variable X_i , y N_i términos negativos para los procesos que degradan la variable X_i . En general, hay M ecuaciones correspondientes a las M variables dependientes, y un total de Q variables, de las cuales $Q - M$ pueden variar independientemente.

En el caso del sistema dominante S, p y n son los índices del término positivo y negativo dominante, respectivamente, del balance de masas de la variable X_i .

Desde el punto de vista de la representación natural de elementos postulados como fundamentales en diversos campos, el formalismo de ley potencial se puede considerar una representación canónica no-lineal. En todo campo existe un número dado de representaciones consideradas descripciones fundamentales de entidades básicas. Por ejemplo, cuatro representaciones extensamente utilizadas en química, biología de poblaciones y fisiología son la ley de acción de masas, Volterra-Lotka [31], Michaelis-Menten [10] y representaciones lineales. Todos estos modelos son casos especiales de la representación de sistemas GMA.

Toda función no-lineal o conjunto de ecuaciones diferenciales que está compuesta por funciones elementales puede ser transformada en un formalismo de tipo exponencial mediante un proceso de reformulación conocido como *recasting*[24]. Aunque la cinética bioquímica se describe típicamente mediante funciones racionales, como en el caso de Michaelis-Menten, se ha visto que, mediante un proceso de reformulación, estos sistemas se pueden representar exactamente con un GMA equivalente [6]. Es así que el formalismo de ley potencial se puede considerar como una representación canónica no-lineal en casi todos los casos de interés físico.

En definitiva, con el formalismo GMA se pueden representar la mayoría de modelos de interés [6]. En este trabajo se construye un modelo matemático representativo del modelo conceptual planteado en el apartado 2.3.1 sobre el metabolismo de la degradación de la hemoglobina en el parásito *P. falciparum* utilizando el formalismo GMA.

Interés científico del trabajo

La malaria continua siendo una enfermedad mortal que afecta a gran parte de la población de países subdesarrollados. El desconocimiento parcial o total de las rutas metabólicas del parásito causante de esta enfermedad dificulta el diseño de fármacos eficaces. Una mayor comprensión de los procesos bioquímicos implicados en la degradación de la hemoglobina humana por parte de *Plasmodium falciparum* es vital para el avance de la investigación.

En este estudio se plantea la modelización matemática de este sistema biológico y el análisis del espacio de soluciones desde que el parásito invade un glóbulo rojo humano hasta que degrada toda la hemoglobina disponible y se prepara para dividirse e infectar otros glóbulos rojos. Esta ventana de tiempo coincide, además, con las manifestaciones clínicas de la enfermedad.

4.1. Objetivos

El objetivo de este trabajo es modelizar matemáticamente el sistema biológico en estudio, implementar dicho modelo mediante programación computacional y analizar el conjunto de soluciones de las simulaciones realizadas.

Más en concreto, se quieren analizar las constantes cinéticas y las velocidades de las reacciones del modelo con respecto a variables fisiológicas de relevancia de *Plasmodium falciparum*.

Metodología

5.1. Construcción del modelo matemático

A partir del modelo conceptual propuesto (figura 2.2), se construye el modelo matemático correspondiente siguiendo las estrategias del sistema GMA descritas en el capítulo 3.

Para comenzar, se define la ecuación que representa la velocidad de entrada de la hemoglobina en el parásito

$$v = hb \cdot bm^{2/3} \cdot te \quad (5.1)$$

siendo **hb** la cantidad de hemoglobina total disponible, es decir, la hemoglobina presente en el glóbulo rojo humano infectado; **bm** la biomasa del *P. falciparum* y **te** una tasa de entrada fija definida en función de las propiedades de la membrana a través de la cual se produce el flujo.

Es lógico considerar que la velocidad de entrada de la hemoglobina en el parásito depende de la cantidad de hemoglobina disponible y del área que ocupa el parásito ya que representa la superficie por donde se da dicha entrada. Para el cálculo del área superficial de *P. falciparum* se recurre a la ley cuadrática-cúbica (Galileo, 1638). De este modo, se asume que el área superficial del parásito es proporcional a la raíz cúbica del cuadrado de su biomasa, es decir, $area \equiv bm^{2/3}$.

A continuación, se describen las ecuaciones que estiman la velocidad de conversión de la hemoglobina a cada aminoácido mediante la fórmula general

$$v_{xx} = \mu_x \cdot v \quad (5.2)$$

donde $x \in AAs = \{R, P, C, A, S, G, K, V, L, N, D, Y, F, H, E\}$ representa un aminoácido cualquiera y μ_x es el número de moles de cada aminoácido x presentes en un gramo de hemoglobina.

Después, se elaboran las ecuaciones de la velocidad de incorporación de los aminoácidos al metabolismo

$$v_x = \gamma_x \cdot x^{g_{x,x}} \quad (5.3)$$

y las ecuaciones de velocidad de incorporación de los aminoácidos directamente a la biomasa de *P. falciparum*

$$v_{xb} = \gamma_{xb} \cdot x^{g_{xb,x}} \cdot at^{g_{xb,at}} \quad (5.4)$$

donde $x \in AAs$ representa a un aminoácido cualquiera en las ecuaciones 5.3 y 5.4.

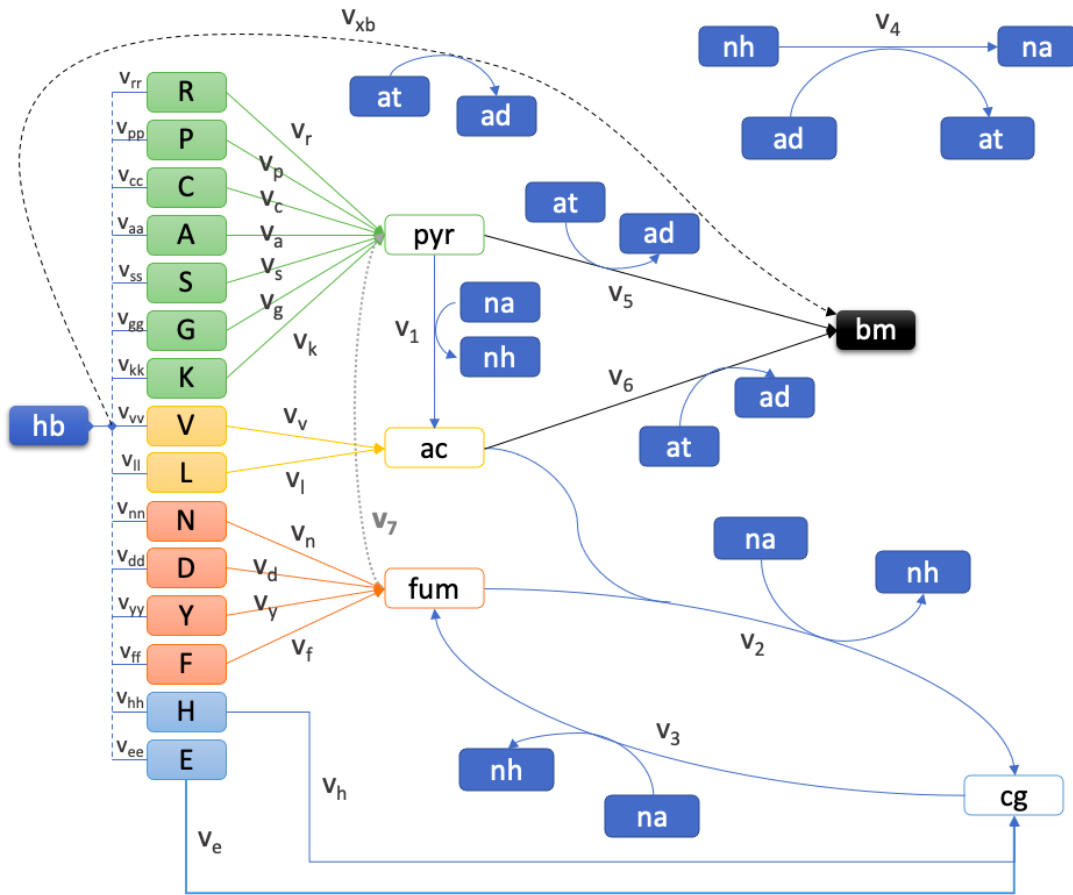


Figura 5.1: Esquema del modelo matemático del metabolismo implicado en la degradación de la hemoglobina en *P. falciparum*. El flujo de incorporación directa de cada aminoácido x a biomasa se representa con una única línea negra discontinua para simplificar la visualización del modelo conceptual cuya ecuación viene descrita por v_{xb} con $x \in AAs$.

En cuanto al metabolismo central, la velocidad de conversión de piruvato (*pyr*) a acetil-CoA (*ac*) se define como

$$v_1 = \gamma_1 \cdot pyr^{g_1, pyr} \cdot na^{g_1, na} \quad (5.5)$$

la primera reacción conglomerada del ciclo de Krebs planteado viene dada por la ecuación

$$v_2 = \gamma_2 \cdot ac^{g_2, ac} \cdot fum^{g_2, fum} \cdot na^{g_2, na} \quad (5.6)$$

mientras que la velocidad de la segunda reacción propuesta del ciclo de Krebs se describe mediante

$$v_3 = \gamma_3 \cdot cg^{g_3, cg} \cdot na^{g_3, na} \quad (5.7)$$

y la velocidad de la reacción que sintetiza los procesos de la cadena transportadora de electrones se asume que es

$$v_4 = \gamma_4 \cdot ad^{g_4, ad} \cdot nh^{g_4, nh} \quad (5.8)$$

Además, en el modelo conceptual se propone la existencia de un flujo desde determinadas moléculas del metabolismo central a la producción de biomasa del parásito. Así, tenemos la velocidad de incorporación de piruvato a biomasa recogida por la ecuación

$$v_5 = \gamma_5 \cdot pyr^{g_5, pyr} \cdot at^{g_5, at} \quad (5.9)$$

la velocidad de incorporación de acetil-CoA a biomasa recogida por la ecuación

$$v_6 = \gamma_6 \cdot ac^{g_6, ac} \cdot at^{g_6, at} \quad (5.10)$$

y la posibilidad de incorporación de fumarato (*fum*) a biomasa mediante su conversión a piruvato recogida por la ecuación

$$v_7 = \gamma_7 \cdot fum^{g_7, fum} \quad (5.11)$$

Como ya ha sido descrito en el capítulo 3, los exponentes g corresponden los órdenes cinéticos de las reacciones mientras que los parámetros γ son constantes cinéticas de velocidad.

Una vez hemos definido las funciones no lineales de productos simples de las variables del sistema elevadas a una potencia, como se explica en 3.1, planteamos el balance de masas de nuestro sistema mediante ecuaciones diferenciales ordinarias no-lineales de manera similar al formalismo expuesto en 3.2.

$$d\mathbf{pyr}/dt = v_r + v_p + v_c + v_a + v_s + v_g + v_k - v_1 - v_5 + v_7 \quad (5.12)$$

$$d\mathbf{ac}/dt = v_v + v_l + v_1 - v_2 - v_6 \quad (5.13)$$

$$d\mathbf{fum}/dt = v_n + v_d + v_f + v_y + v_3 - v_2 - v_7 \quad (5.14)$$

$$d\mathbf{cg}/dt = v_h + v_e + v_2 - v_3 \quad (5.15)$$

$$d\mathbf{na}/dt = v_4 - v_1 - 2 \cdot v_2 - 2 \cdot v_3 \quad (5.16)$$

$$d\mathbf{na}/dt = (d\mathbf{na}/dt)/(\mathbf{na} + \mathbf{nh}) \quad (5.17)$$

$$d\mathbf{nh}/dt = v_1 + 2 \cdot v_2 + 2 \cdot v_3 - v_4 \quad (5.18)$$

$$d\mathbf{nh}/dt = (d\mathbf{nh}/dt)/(\mathbf{na} + \mathbf{nh}) \quad (5.19)$$

$$d\mathbf{ad}/dt = -3 \cdot v_4 + 9 \cdot v_5 + 4,4 \cdot v_6 + \sum_{x \in AAs} \tau_x \cdot v_{xb} \quad (5.20)$$

$$d\mathbf{ad}/dt = (d\mathbf{ad}/dt)/(\mathbf{ad} + \mathbf{at}) \quad (5.21)$$

$$d\mathbf{at}/dt = 3 \cdot v_4 - 9 \cdot v_5 - 4,4 \cdot v_6 - \sum_{x \in AAs} \tau_x \cdot v_{xb} \quad (5.22)$$

$$d\mathbf{at}/dt = (d\mathbf{at}/dt)/(\mathbf{ad} + \mathbf{at}) \quad (5.23)$$

$$d\mathbf{bm}/dt = 88,06 \cdot v_5 + 43,045 \cdot v_6 + \sum_{x \in AAs} pm_x \cdot v_{xb} \quad (5.24)$$

$$d\mathbf{r}/dt = v_{rr} - v_r - v_{rb} \quad (5.25)$$

$$d\mathbf{p}/dt = v_{pp} - v_p - v_{pb} \quad (5.26)$$

$$d\mathbf{c}/dt = v_{cc} - v_c - v_{cb} \quad (5.27)$$

$$d\mathbf{a}/dt = v_{aa} - v_a - v_{ab} \quad (5.28)$$

$$d\mathbf{s}/dt = v_{ss} - v_s - v_{sb} \quad (5.29)$$

$$d\mathbf{g}/dt = v_{gg} - v_g - v_{gb} \quad (5.30)$$

$$d\mathbf{k}/dt = v_{kk} - v_k - v_{kb} \quad (5.31)$$

$$d\mathbf{v}/dt = v_{vv} - v_v - v_{vb} \quad (5.32)$$

$$d\mathbf{l}/dt = v_{ll} - v_l - v_{lb} \quad (5.33)$$

$$d\mathbf{n}/dt = v_{nn} - v_n - v_{nb} \quad (5.34)$$

$$d\mathbf{d}/dt = v_{dd} - v_d - v_{db} \quad (5.35)$$

$$d\mathbf{f}/dt = v_{ff} - v_f - v_{fb} \quad (5.36)$$

$$d\mathbf{y}/dt = v_{yy} - v_y - v_{yb} \quad (5.37)$$

$$d\mathbf{h}/dt = v_{hh} - v_h - v_{hb} \quad (5.38)$$

$$d\mathbf{e}/dt = v_{ee} - v_e - v_{eb} \quad (5.39)$$

$$d\mathbf{hb}/dt = -v \quad (5.40)$$

τ_x representa los moles de ATP necesarios para convertir un mol del aminoácido x a biomasa; pm_x se refiere al peso molecular de un determinado aminoácido x .

Los coeficientes que acompañan a las velocidades en las ecuaciones del balance de masas corresponden a la estequiometría de cada reacción. En el apéndice [A.2](#) se dan más detalles sobre el modelo matemático.

5.2. Programación computacional

Para la implementación del modelo matemático se utilizó la plataforma de Google Colaboratory (Colab), un entorno gratuito de Jupyter Notebook que no requiere configuración y que se ejecuta completamente en la nube. Este entorno interactivo permite desarrollar y ejecutar código Python de manera dinámica a través de la nube de Google, con la posibilidad de hacer uso de su GPU.

El modelo matemático desarrollado en [5.1](#) se puede consultar en el siguiente enlace: [programa computacional](#).

5.3. Optimización de parámetros

Un merozoíto es una estructura que se asemeja a un ovoide cuyas proporciones medias se aproximan a 1 micrómetro de ancho y 1,6 micrómetros de largo [1]. La densidad de los merozoítos se estima en $\rho = 1,3$ gramos/mililitro [16]. Tomando estos datos como referencia, se puede aproximar la biomasa inicial del merozoíto en nuestro sistema. Se toma como valor inicial de biomasa $1,089 \cdot 10^{-12}$ gramos y se estandariza dicho número para la simulación computacional.

La cantidad de hemoglobina inicial en el sistema es conocida ya que corresponde a la hemoglobina presente en un glóbulo rojo. Por lo general, se sabe que hay entre 27 y 31 picogramos de hemoglobina por glóbulo rojo en humanos [27]. En la simulación del modelo se toma como valor inicial de hemoglobina $2,9 \cdot 10^{-11}$ gramos y se divide entre la biomasa inicial del merozoíto.

La tasa de entrada de la hemoglobina en *P. falciparum* se define como un número real que refleja las propiedades de la membrana a través de la cual se da la entrada de hemoglobina en el parásito. En este caso, se fija un valor de $te = 0,03$ para la simulación del sistema en estudio.

Las variables na , nh , ad y at se estandarizan de tal forma que su concentración siempre varíe entre 0 y 1. Los valores de las variables pyr , ac , cg y fum representan la cantidad de moles de éstas por lo que se manejarán cantidades de órdenes menores.

Los exponentes g corresponden al orden cinético de las reacciones. Un valor 1 representaría una cinética michaeliana tradicional. En este trabajo se analizará el modelo con valores de g entre 0,8 y 1,2.

Los parámetros γ son constantes multiplicativas relacionadas con la velocidad de la reacción. Para aproximar su valor se comienza el análisis permitiendo que varíen en un amplio rango de valores que se irá acotando paulativamente. El intervalo escogido para la aproximación inicial es de 1 a 10.

En lo que respecta al muestreo de la simulación, se diseña una malla espacial con 144 muestras y el tiempo de la simulación varía entre 24 y 72. Este intervalo de tiempo, en horas, corresponde al periodo entre que el parásito comienza a degradar la hemoglobina y se reproduce.

De manera adicional, se implementa una función en el código computacional que selecciona únicamente como resultados válidos aquellos para los cuales la biomasa se multiplica, como mínimo, por 16 al finalizar la simulación. Esto se debe a que, como se explica en la sección 2.2, una vez el merozoíto entra en el glóbulo rojo, las divisiones binarias que realiza tras consumir la hemoglobina y justo antes de explotar el eritrocito dan lugar de 10 a 30 nuevos merozoítos siendo 16 la cifra más comúnmente reconocida [27].

5.4. Simulación del modelo

Una vez se ha programado el modelo matemático propuesto en la sección 5.1 con los parámetros optimizados y la restricciones deseadas impuestas, se procede a su simulación. En la figura 5.2 se muestran gráficamente los resultados obtenidos a partir del modelo matemático implementado.

Atendiendo al objetivo de este trabajo y con el fin de poder obtener conclusiones robustas, el programa se diseña con un bucle de 1 000 simulaciones.

Por cada iteración, siempre que el valor final de la biomasa haya aumentado más de 16 veces, se guarda la información de:

- los valores finales de las variables del modelo, es decir, los valores de las variables para $t = 144$. Estas variables son: pyr , ac , fum , cg , na , nh , ad , at , bm , r , p , c , a , s , g , k , z , l , n , d , f , y , h , e y hb .
- los parámetros generados aleatoriamente que corresponden a las constantes multiplicativas y exponenciales de las ecuaciones del modelo (sección 5.1).
- la evolución respecto al tiempo de simulación de las variables bm , na , nh , ad y at .

A partir del conjunto de soluciones obtenidas, se procede al análisis de éstas en el siguiente capítulo (6).

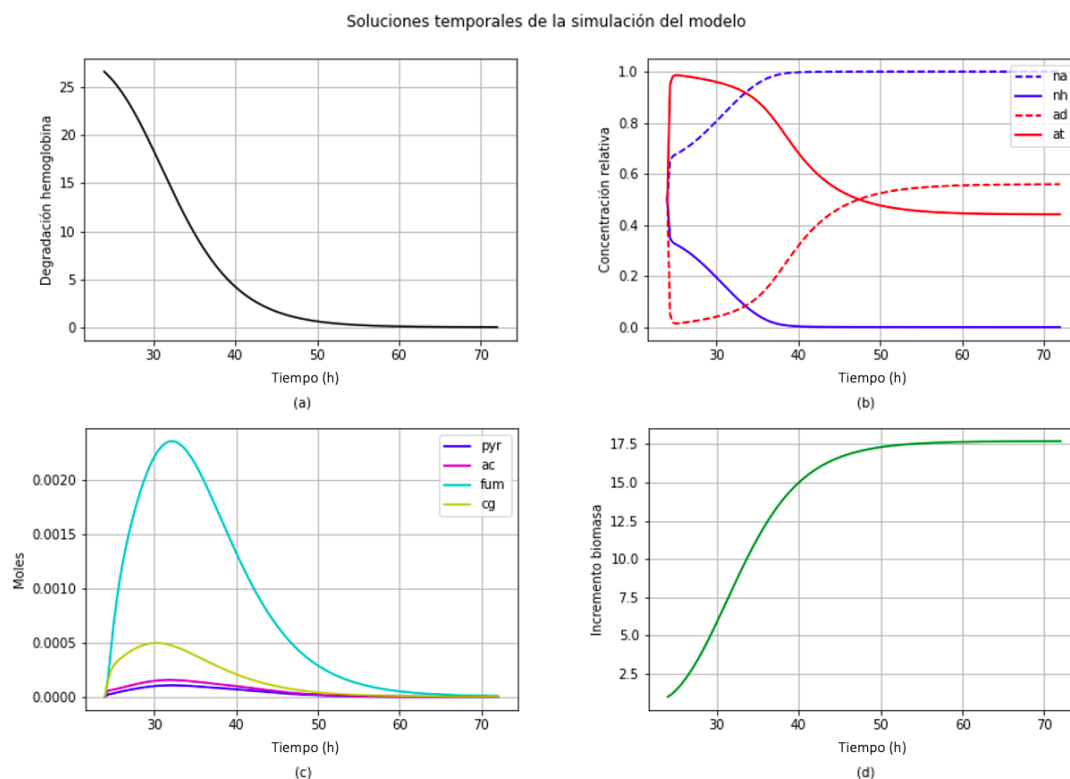


Figura 5.2: Representación gráfica de la evolución de las variables del modelo respecto al tiempo (en horas) durante la simulación computacional para un conjunto aleatorio de los parámetros cinéticos y exponenciales que varían en los intervalos indicados en la sección 5.3. El tiempo al que se degrada por completo la hemoglobina (a) coincide con la estabilización del aumento de la biomasa del parásito (d) y de la concentración del poder reductor y energía (b). Las moléculas centrales del metabolismo (c) aumentan su concentración mientras se genera biomasa y se degradan una vez se alcanza el equilibrio del sistema ya que son meros intermediarios en la generación de biomasa y energía a partir de hemoglobina.

5.5. Tratamiento de datos

El programa computacional diseñado en Google Colaboratory guarda automáticamente el conjunto de soluciones en archivos *.csv* en el Drive del usuario que ejecuta el código. Para el tratamiento de datos de estos archivos se utiliza el software de estadística computacional R (versión 3.6.1) [21]. Se fija el valor $\alpha = 10^{-4}$ como discriminante por debajo del cual se asume que un resultado es significativo.

Análisis del espacio de soluciones

Para contextualizar el análisis del espacio de soluciones de cualquier modelo matemático es necesario tener en cuenta las restricciones aplicadas. En nuestro caso, se trabaja con un conjunto de 954 soluciones que cumplen que la biomasa ha aumentado, como mínimo, 16 veces al finalizar la simulación.

6.1. Variabilidad del espacio de soluciones

Se procede al estudio de la variabilidad de los resultados. En las soluciones gráficas obtenidas a partir de la primera simulación (figura 5.2) se observa que el sistema alcanza el equilibrio. El hecho de ejecutar la simulación un número elevado de veces nos va a permitir analizar si dicho equilibrio es variable o, por el contrario, existe un único equilibrio para el modelo planteado que tiende al mismo estado estacionario siempre, independientemente de los valores aleatorios generados para los parámetros de las ecuaciones diseñadas.

En la figura 6.1 se muestra un diagrama de caja con los valores finales de las variables de interés del modelo donde podemos observar que existe variabilidad en las soluciones finales en lo que respecta a la concentración final de ADP (ad) y ATP (at). Esta representación nos da información sobre el flujo de masa de las variables del metabolismo central para las combinaciones de soluciones que hemos seleccionado al forzar que la biomasa se multiplique, al menos, 16 veces al finalizar el tiempo de la simulación.

En este caso particular, observamos que el poder reductor NADH (nh) tiende a agotarse. Este hecho únicamente implica que, bajo estas condiciones, el parásito almacena la molécula en su forma oxidada NAD^+ (na). No podemos concluir si esta situación también se daría con otras combinaciones de parámetros y soluciones que no permitan crecer tanto al *Plasmodium*.

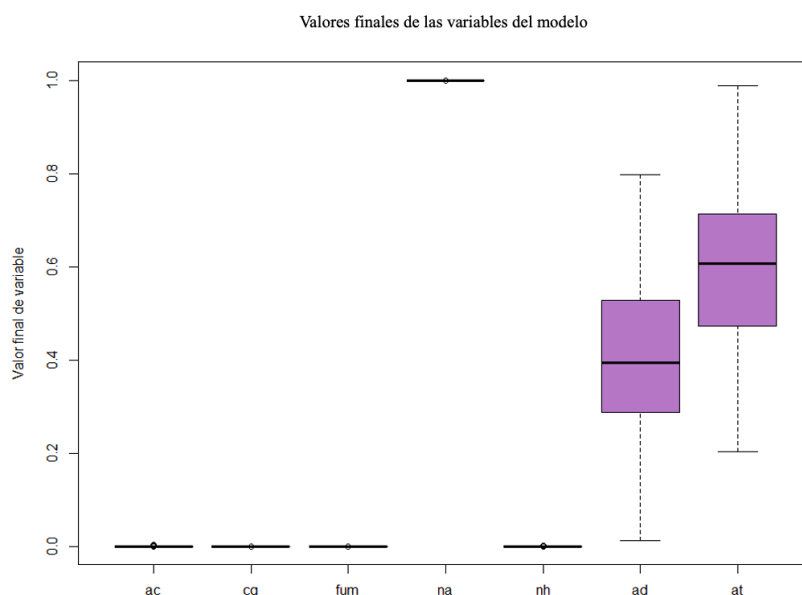


Figura 6.1: Diagrama de caja con los valores finales de las variables de interés del modelo. Se representan las 954 soluciones obtenidas en la simulación.

En relación a las moléculas del metabolismo central, como ya hemos observado en la figura 5.2 (c), aumentan su concentración mientras se genera biomasa y se degradan una vez se alcanza el equilibrio del sistema ya que son meros intermediarios en la generación de biomasa y energía por medio de la degradación hemoglobina. Por lo tanto, no se esperaba que éstas aportaran variabilidad al conjunto de soluciones como se recoge en la figura 6.1.

Por otro lado, analizando los datos de biomasa final del conjunto de soluciones que hemos obtenido a partir de las simulaciones, vemos que el valor mínimo del incremento de biomasa es 16,007 mientras que el valor máximo es 21,383. La media del incremento final de biomasa del parásito tras la simulación es de 18,358 con desviación típica 1,135. Estos resultados no se representaron gráficamente en la figura 6.1 ya que enmascaraban la variación detectada en las variables *ad* y *at* debido a las diferentes magnitudes de los datos. En definitiva, la variable *bm* tampoco genera variabilidad en el conjunto de soluciones.

Por lo tanto, a partir de los resultados analizados y discutidos de la figura 6.1, se selecciona la variable *at* como criterio de variabilidad sobre las soluciones. Las soluciones obtenidas cumplen que la biomasa incremente 16 veces y la hemoglobina disminuya hasta degradarse casi por completo. Esto lleva a pensar que la variabilidad en los valores finales de *at* puede estar explicada por los valores aleatorios que se atribuyen a las constantes cinéticas y los parámetros exponenciales.

Como ya se ha explicado en el capítulo 3, los parámetros exponenciales están directamente relacionados con las constantes cinéticas de las reacciones. Es decir, los parámetros exponenciales representan la cinética que ésta sigue. Los valores aleatorios que se han atribuido a los parámetros exponenciales han variado entre 0,8 y 1,2. Teniendo en cuenta que el significado biológico que implica controlar estos parámetros es muy complicado y que el rango de éstas constantes ya estaba relativamente acotado, centraremos nuestro estudio en las constantes cinéticas de la ecuaciones.

6.2. Aleatoriedad de las constantes cinéticas

En nuestro modelo, las constantes cinéticas γ tomaban valores aleatorios entre 0 y 10 como se muestra en el diagrama de cajas de la figura 6.2. Recordemos que las constantes cinéticas están principalmente relacionadas con concentraciones enzimáticas, siendo más modificables que las constantes exponenciales. En esta figura se observa que los valores que toman las variables cinéticas a lo largo de las simulaciones realizadas son totalmente aleatorios.

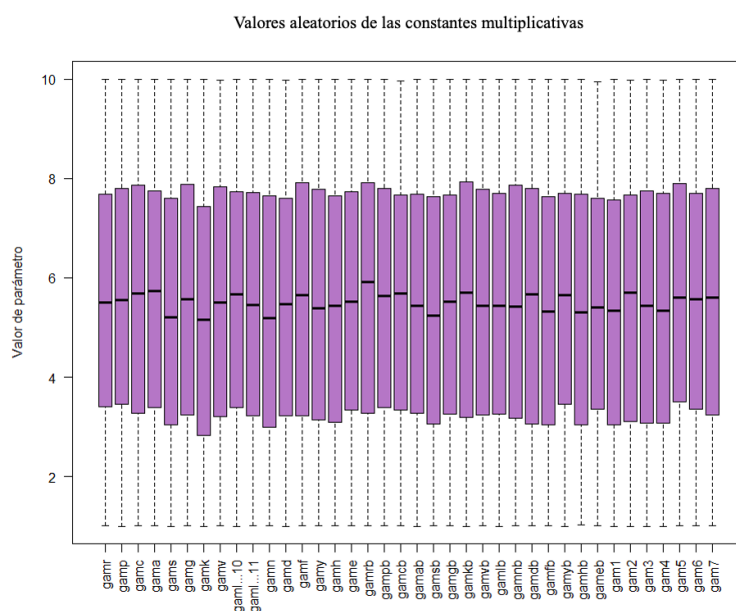


Figura 6.2: Diagrama de caja con los valores aleatorios que toman las 38 variables cinéticas del modelo para las 954 soluciones obtenidas a partir de las simulaciones realizadas.

Observando los resultados, y desde un punto de vista biológico, se espera que el parásito almacene energía en forma de ATP (variable at en el modelo propuesto) para los procesos que tiene que afrontar una vez se divide y reviente el glóbulo rojo en el que se hospeda. Se toma como una solución biológicamente válida que $at > 0,65$. A continuación se muestra un diagrama de caja de los valores que toman las constantes cinéticas en las soluciones que cumplen este criterio (figura 6.3).

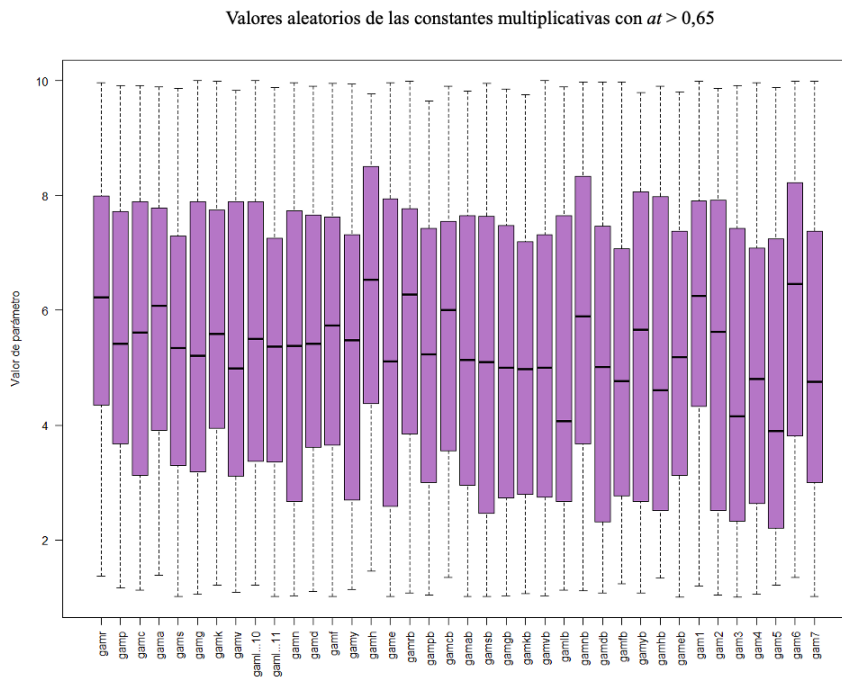


Figura 6.3: Diagrama de caja con los valores aleatorios que toman las 38 variables cinéticas del modelo para las soluciones finales que cumplen $at > 0,65$.

En esta nuevo gráfico (6.3) se intuye una disminución de la aleatoriedad en los valores asignados a las constantes cinéticas. Este hecho puede significar que los valores de los parámetros γ influyen directamente en la cantidad final de energía disponible en *P. falciparum* por lo que continuamos con el análisis de los resultados.

6.3. Correlación de constantes cinéticas y disponibilidad de energía

Para analizar la influencia que pueden tener las constantes cinéticas en la concentración final de ATP, se lleva a cabo un análisis de la correlación de Pearson entre ellos. En la figura 6.4 se puede observar una matriz de los p-valores con la corrección de Bonferroni correspondientes a la correlación de Pearson entre los parámetros γ y la variable at en escala logarítmica en base 10.

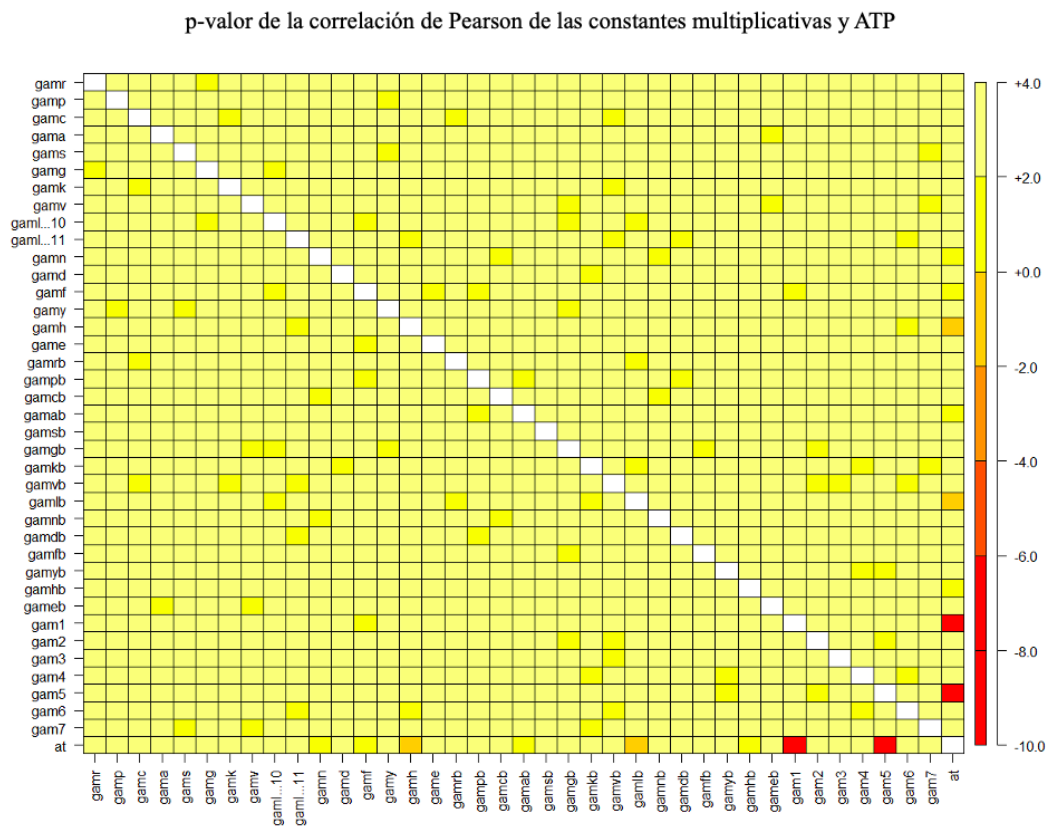


Figura 6.4: Matriz de los p-valores con corrección de Bonferroni de la correlación de Pearson entre las constantes cinéticas γ y la variable at . Los resultados aparecen en escala logarítmica en base 10.

Los cuadrantes que aparecen resaltados en rojo en la matriz 6.4 corresponden a p-valores corregidos de orden inferior a 10^{-4} e indican una correlación significativa entre los elementos en cuestión:

- correlación positiva entre el parámetro γ_1 y la variable at ,
- correlación negativa entre el parámetro γ_5 y la variable at .

Además, en esta misma figura 6.4, hay dos valores anaranjados que tenemos que analizar ya que los p-valores pueden ser significativos. Se sabe que el p-valor correspondiente a la correlación entre γ_{lb} y la variable at es 0,9; luego, la correlación no es significativa. Sin embargo, la correlación entre γ_h y at , con un p-valor de $1,25 \cdot 10^{-4}$, sí lo es.

En definitiva, se comprueba que existe una correlación significativa entre la variable at y las constantes cinéticas γ_1 , γ_5 y γ_h . La tendencia de esta correlación significativa y los coeficientes de correlación entre los parámetros y la variable se especifican en la figura 6.5.

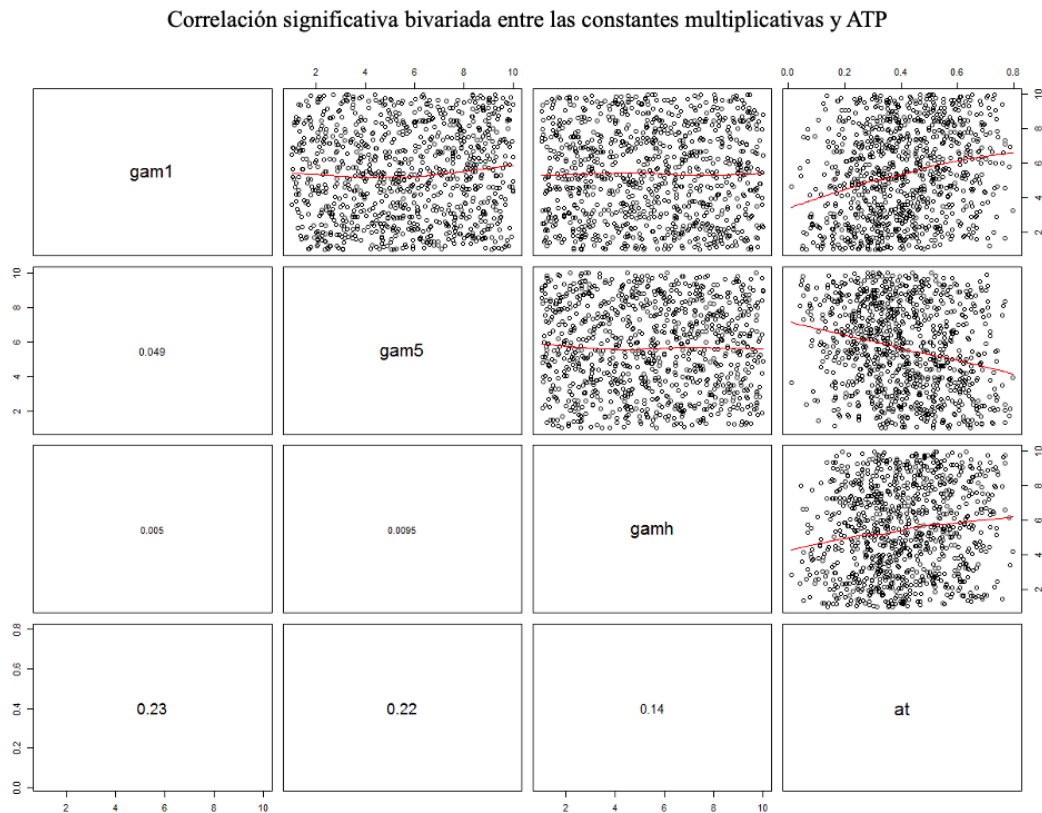


Figura 6.5: Correlación bivariada entre las constantes cinéticas γ_1 , γ_5 , γ_h y la variable at . En la diagonal superior se observa la tendencia de la correlación y en la diagonal inferior se especifica el coeficiente de correlación.

Cabe destacar que el objetivo de esta correlación no es predecir los niveles de la variable at en función de los parámetros γ_1 , γ_5 y γ_h ; el fin de este análisis es saber si un aumento de las constantes cinéticas implica un aumento de la energía disponible para *P. falciparum* una vez finalizada la fase de degradación de hemoglobina.

Los parámetros γ asociados a cada proceso considerado en el modelo matemático se especifican en la sección 5.1. Aunque se detallan de nuevo a continuación las ecuaciones en las que participan las constantes cinéticas correlacionadas con la variable at , la discusión de estos resultados se centra principalmente en el diagrama del modelo matemático diseñado en este trabajo: figura 5.1.

6.3.1. Constante cinética γ_1

El parámetro γ_1 modula la velocidad de conversión de piruvato (pyr) a acetil-CoA (ac) que se ha definido como

$$v_1 = \gamma_1 \cdot pyr^{g_{1,pyr}} \cdot na^{g_{1,na}}$$

en la sección 5.1, ecuación 5.5.

Se ha comprobado estadísticamente que existe una correlación positiva entre el parámetro γ_1 y la variable at . El aumento de esta constante implica un aumento de la energía disponible para el parásito al término del ciclo intraeritrocitario.

Este resultado es lógico ya que la reacción que representa la ecuación 5.5 corresponde a la unión metabólica de las rutas de la glicólisis y el ciclo de Krebs, que son los procesos por excelencia para la obtención de energía en los seres vivos.

Esta reacción está catalizada por una única enzima llamada piruvato deshidrogenasa y conlleva la formación de poder reductor en forma de NADH que genera la formación directa de ATP en una proporción molecular 1:3 a través de la cadena transportadora de electrones (reacción v_4 de la figura 5.1).

Por lo tanto, es lógico suponer que un aumento de la constante cinética de la ecuación 5.5 genera un aumento de la cantidad final de la variable at del modelo planteado en este trabajo y estos resultados tienen robustez biológica.

6.3.2. Constante cinética γ_5

La constante cinética γ_5 modula la velocidad de incorporación de piruvato a biomasa, recogida por la ecuación 5.9:

$$v_5 = \gamma_5 \cdot pyr^{g_{5,pyr}} \cdot at^{g_{5,at}}$$

Se ha comprobado estadísticamente que existe una correlación negativa entre el parámetro γ_5 y la variable at . El aumento de esta constante cinética genera una disminución de la energía final disponible para el *Plasmodium falciparum* en el momento de dividirse y explotar el glóbulo rojo que lo alberga.

El proceso que describe la ecuación 5.9 ha sido altamente simplificado ya que intervienen un gran número de enzimas y co-sustratos para la incorporación final a biomasa de la molécula piruvato.

Este resultado tiene sentido desde un punto de vista biológico ya que es preferible que el parásito aumente su biomasa a partir de acetil-CoA antes que de piruvato.

Es necesario tener en cuenta que la conversión de un mol de piruvato a un mol de acetil-CoA genera también un mol de NADH que da lugar a tres moles de ATP, molécula que representa la energía dentro de la célula, como se ha explicado en el caso anterior.

Además, la correlación negativa del parámetro γ_5 y la variable at está en consonancia con la correlación positiva que muestra el parámetro γ_1 y la variable at . Interpretando ambos resultados en conjunto, se podría decir que la obtención de piruvato y su conversión a acetil-CoA es la clave para el aumento de biomasa exponencial del *Plasmodium* gracias al cual consigue dividirse en más de 16 nuevos merozoítos. Esta estrategia podría ser la razón de su exitosa invasión de nuevos glóbulos rojos.

6.3.3. Constante cinética γ_h

Por otra parte nos encontramos con la constante cinética γ_h que modula la velocidad de incorporación del aminoácido histidina al metabolismo central por medio de α -cetoglutarato como se recoge en la ecuación 5.3:

$$v_h = \gamma_h \cdot h^{g_{h,h}}$$

A partir de los resultados obtenidos existe una correlación positiva significativa entre este parámetro y la variable at pero no se ha encontrado una explicación biológica razonable. La histidina se incorpora al metabolismo central por medio de α -cetoglutarato junto con el aminoácido glutámico. Por lo tanto, si la constante cinética γ_h influye sobre el nivel final de energía en el parásito, también esperaríamos que lo hiciera la constante cinética γ_e .

En la figura 6.6 se muestra la ausencia de correlación significativa entre el parámetro γ_e y la variable at . El coeficiente de correlación teórico estimado es de 0,051 y tampoco se aprecia ninguna tendencia en la representación gráfica.

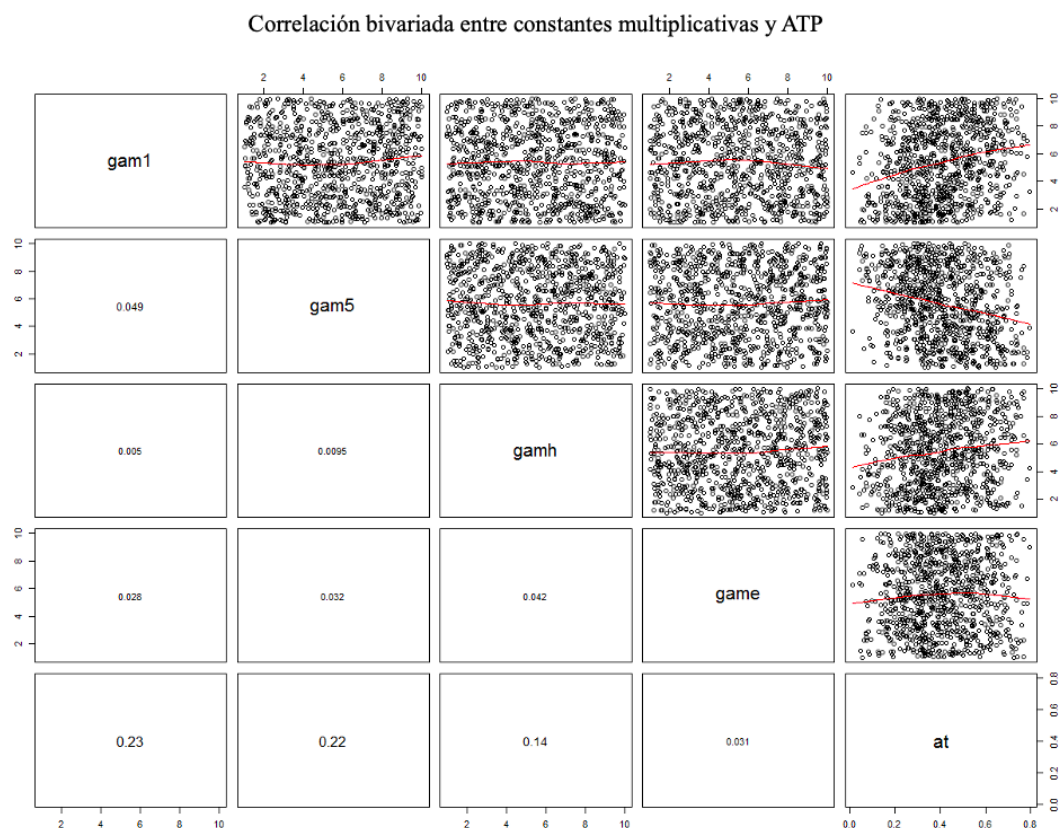


Figura 6.6: Correlación bivariada entre las constantes cinética γ_1 , γ_5 , γ_h , γ_e y la variable at . En la diagonal superior se observa la tendencia de la correlación y en la diagonal inferior se especifica el coeficiente de correlación.

Una posible explicación de la ausencia de correlación entre γ_e y at frente a la correlación significativa de γ_h y at podría ser la frecuencia en la que están presentes en la hemoglobina (tabla A.1). La histidina representa el 6,6% de la masa aminoacídica de la hemoglobina mientras que el glutámico representa el 4,2%. Esta diferencia del 2,4% podría ser el motivo de estos resultados que, a primera vista, pueden resultar incongruentes.

Conclusiones

En este trabajo se ha modelizado el metabolismo central del *Plasmodium falciparum* durante la fase asexual. Se ha propuesto un modelo en el que se asume que el parásito obtiene toda su energía y biomasa de la degradación de la hemoglobina dentro de los eritrocitos humanos.

Gracias a la programación computacional del modelo matemático diseñado, se han ejecutado varias simulaciones en bucle para obtener una base de datos de gran dimensión y analizar la variabilidad del espacio de soluciones.

En este trabajo se concluye que el incremento final de biomasa del parásito no es una variable crítica respecto a la variabilidad del conjunto de soluciones. Los valores finales de NAD^+ y NADH tampoco permiten discriminar las soluciones en función de los parámetros cinéticos y exponenciales aleatorios del sistema propuesto mediante el formalismo GMA.

La variable crítica que aporta variabilidad al espacio de soluciones es la energía final disponible en *Plasmodium falciparum*. Esta energía, representada en nuestro modelo por las moléculas ADP y ATP, está relacionada con los valores de las constantes cinéticas que regulan la velocidad de las reacciones de conversión de piruvato a acetil-CoA y la incorporación de piruvato a la biomasa final del parásito.

Concretamente, se comprueba que existe una correlación positiva entre el parámetro cinético de la reacción de conversión de piruvato a acetil-CoA y la concentración de ATP en el parásito una vez se ha consumido la hemoglobina del eritrocito humano y el *Plasmodium* está listo para multiplicarse y reventar el glóbulo rojo para expandirse por el huésped. Análogamente, se establece una correlación negativa entre el parámetro cinético del proceso de incorporación de piruvato a biomasa y la concentración de ATP bajo las mismas condiciones fisiológicas del organismo en estudio.

A

Apéndice

A.1. Modelo conceptual

En el capítulo 2.3.1 se ha explicado que, para la construcción del modelo conceptual, se asume que el *Plasmodium* hidroliza la hemoglobina hasta obtener un grupo hemo, que no entra en su metabolismo, y los distintos aminoácidos que componen esta proteína. Una vez el *Plasmodium* dispone de los aminoácidos libres, los incorpora a su metabolismo ya sea degradándolos con el fin de obtener energía o incorporándolos a su biomasa como se muestra en la figura 2.2.

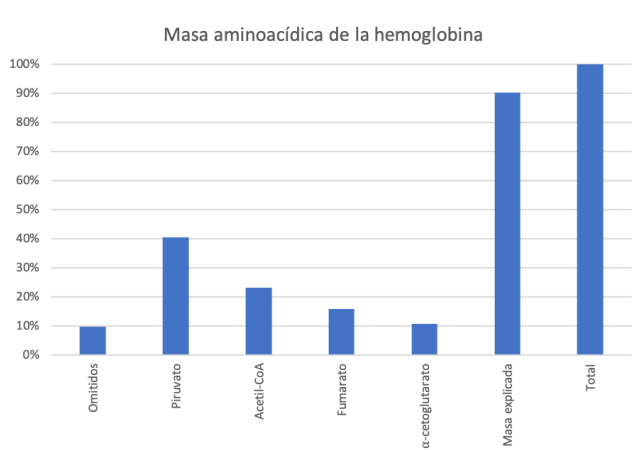
La incorporación de los aminoácidos treonina, metionina, glutamina y triptófano al metabolismo del protozoo se ha omitido debido a motivos biológicos de diversa naturaleza. Principalmente, este hecho se ha debido a que o bien no existían suficientes evidencias científicas para afirmar por medio de qué moléculas se incorporaban estos aminoácidos al metabolismo de *P. falciparum* en concreto o bien está recogido en la bibliografía que estos aminoácidos no se degradan en los organismos con el fin de obtener energía [11].

La secuencia aminoacídica de la hemoglobina se obtuvo de la base de datos **UniProtKB** [28]. Se asumió que la hemoglobina humana está compuesta por dos subunidades α y dos subunidades β cuyos códigos de referencia en esta base de datos son P69905 y P68871, respectivamente. Los aminoácidos despreciados en el modelo planteado suponen el 9,6% del total de la hemoglobina. Por lo tanto, el modelo en estudio explica el 90,4% del contenido aminoacídico de la hemoglobina. Esta información se detalla en la figura A.1.

En relación a los aminoácidos considerados en el modelo y su incorporación en el metabolismo central por medio de las moléculas piruvato, Acetil-CoA, α -cetoglutarato y fumarato, estas decisiones se han tomado en función a la información recogida en la bibliografía y bases de datos, siendo **Kegg Pathway Database** la principal fuente de referencia de rutas metabólicas para este trabajo [11].

Aminoácido	Frecuencia	Porcentaje
Isoleucina	0	0,0%
Triptófano	6	1,0%
Cisteína	6	1,0%
Glutamina	8	1,4%
Metionina	10	1,7%
Tirosina	12	2,1%
Arginina	12	2,1%
Asparagina	20	3,5%
Glutámico	24	4,2%
Prolina	28	4,8%
Fenilalanina	30	5,2%
Aspártico	30	5,2%
Treonina	32	5,5%
Serina	32	5,5%
Histidina	38	6,6%
Glicina	40	6,9%
Lisina	44	7,6%
Valina	62	10,7%
Leucina	72	12,5%
Alanina	72	12,5%
Suma	578	100,0%

(a)



(b)

Figura A.1: (a) Información detallada de la presencia de los distintos aminoácidos en la hemoglobina humana. (b) Gráfico del porcentaje acumulado de los aminoácidos presentes en la hemoglobina humana no incluidos en el modelo matemático (omitidos) y detalle de los porcentajes de los aminoácidos que se incorporan a nivel metabólico de piruvato, acetil-CoA, fumarato o α -cetoglutarato. La condición de *masa explicada* corresponde a la suma del porcentaje que representan los aminoácidos incluidos en el modelado del sistema biológico con respecto al contenido aminoacídico total de la hemoglobina.

Ha habido casos en los que, aunque la presencia de determinadas enzimas en *P. falciparum* no haya sido directamente demostrada, se ha asumido este hecho bien debido a la existencia de enzimas anteriores y posteriores en rutas metabólicas lineales de este organismo o debido a evidencias científicas que han probado la actividad de dichas enzimas en organismo similares [11].

Por otro lado, las rutas metabólicas han sido simplificadas omitiendo intermediarios cuyo balance de masas no sufriera alteraciones. Así, el ciclo de Krebs, por ejemplo, ha sido descrito únicamente con los compuestos acetil-CoA, α -cetoglutarato y fumarato, además del poder reductor y la formación de FADH_2 se ha equiparado a la de NADH.

A.2. Modelo matemático

En la sección 5.1 se presenta el modelo matemático diseñado para el estudio del metabolismo de la degradación de la hemoglobina por *P. falciparum* en los eritrocitos humanos.

Al plantear las ecuaciones del balance de masas de las variables del sistema, se menciona que los coeficientes que acompañan a las velocidades corresponden a la estequiometría de cada reacción. A continuación, justificaremos en detalle los coeficientes impuestos cuando son distintos de uno.

En las reacciones conglomeradas definidas por v_2 y v_3 , se ha determinado la generación de dos moles de poder reductor (NADH) por cada mol del resto de los elementos químicos que entran en la reacción [12]. Así, en la ecuación del balance de masas del NADH, dnh/dt , deben aparecer los términos v_2 y v_3 multiplicados por +2 ya que en el transcurso de estos procesos se generan 3 moléculas de NADH. Análogamente, en la ecuación del balance de masas del NAD^+ , dna/dt , deben aparecer los términos v_2 y v_3 multiplicados por -2 ya que en el transcurso de v_2 y v_3 se degradan 2 moléculas de NAD^+ .

Para la reacción v_4 , que representa el balance entre el poder reductor y energía de la cadena transportadora de electrones, sabemos que $NADH + 3ADP \rightarrow NAD^+ + 3ATP$ [12]. Por lo tanto, en la ecuación del balance de masas del ATP, dat/dt , debe aparecer el término v_4 multiplicado por +3 ya que en el transcurso de v_4 se generan 3 moléculas de ATP. Análogamente, en la ecuación del balance de masas del ADP, dad/dt , debe aparecer el término v_4 multiplicado por -3 ya que en el transcurso de v_4 se degradan 3 moléculas de ADP.

Para las ecuaciones que representan la incorporación de las diferentes moléculas bioquímicas a biomasa, se ha tomado como base que la degradación de 1 mol de ATP en levadura produce 9,8 gramos de biomasa [19]. Combinando esta información con el peso molecular de las moléculas de nuestro modelo, datos extensamente recogidos en la bibliografía [3, 12], se obtiene la estequiometría de todas las reacciones que tienen como destino la incorporación de la materia a la biomasa del parásito. Cabe remarcar que el peso molecular de una molécula se expresa en daltons(Da) y esta unidad equivale a 1 gramo / mol.

Así, cada mol de una determinada molécula bioquímica hace un aporte de su peso molecular en unidades de gramo a la biomasa de *P. falciparum*, degradándose en el proceso los moles de ATP correspondientes a la división del valor del peso molecular de la molécula en cuestión entre 9,8.

Bibliografía

- [1] Bannister, L. H., Hopkins, J. M., Fowler, R. E., Krishna, S., y Mitchell, G. H. (2000). A Brief Illustrated Guide to the Ultrastructure of *Plasmodium falciparum* Asexual Blood Stages. *Parasitology Today*, 16 (10), 427-433.
- [2] Brauer, F., y Castillo-Chavez, C. (2010). *Mathematical Models in Population Biology and Epidemiology*. Springer.
- [3] Berg, J. M., Tymoczko, J. L., y Stryer, L. (2012). *Biochemistry (7th ed)*. W.H. Freeman.
- [4] Egan, E. S. (2018). Beyond Hemoglobin: Screening for Malaria Host Factors. *Trends in Genetics*, 34 (2), 133-141.
- [5] ElKalaawy, N., y Wassal, A. (2015). Methodologies for the modeling and simulation of biochemical networks, illustrated for signal transduction pathways: A primer. *Biosystems*, 129 (1), 1-18.
- [6] Fasani, R. A., y Savageau, M. A. (2010). Automated construction and analysis of the design space for biochemical systems. *Bioinformatics*, 26 (20), 2601-2609.
- [7] Francis, S. E., Sullivan, D. J., y Goldberg, D. E. (1997). Hemoglobin metabolism in the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Annual Review of Microbiology*, 51 (1), 97-123.
- [8] Gunawardena, J. (2012). Some lessons about models from Michaelis and Menten. *Molecular Biology of the Cell*, 23 (4), 517-519.
- [9] Hodgkin, A. L., y Huxley, A. F. (1952). A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve. *The Journal of Physiology*, 117 (4), 500-544.
- [10] Johnson, K. A., y Goody, R. S. (2011). The Original Michaelis Constant: Translation of the 1913 Michaelis–Menten Paper. *Biochemistry*, 50 (39), 8264-8269.
- [11] *KEGG: Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes* (1995). Kanehisa Laboratories. <https://www.genome.jp/kegg/>
- [12] Lehninger, A. L., Nelson, D. L., y Cox, M. M. (2008). *Lehninger: principles of biochemistry (5th ed)*. W.H. Freeman.

- [13] Lezaun-Iturralde, M. (2019). *Introducción a la modelización matemática*. UPV-EHU.
- [14] López Tricas, J. M. (2012). Ciclo vital del parásito de la malaria. *INFO-FARMACIA*. Disponible en: <http://www.info-farmacia.com/microbiologia/ciclo-vital-del-parasito-de-la-malaria>
- [15] Masch, A., y Kunick, C. (2015). Selective inhibitors of Plasmodium falciparum glycogen synthase-3 (PfGSK-3): New antimalarial agents? *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1854 (10), 1644-1649.
- [16] Neurohr, G. E., and Amon, A. (2020). Relevance and Regulation of Cell Density. *Trends in Cell Biology*, 30 (3), 213-225.
- [17] Organización Mundial de la Salud. Disponible en: <https://www.who.int>
- [18] Oyelade, J., Isewon, I., Aromolaran, O., Uwoghiren, E., Dokunmu, T., Rotimi, S., Aworunse, O., Obembe, O., y Adebisi, E. (2019). Computational Identification of Metabolic Pathways of Plasmodium falciparum using the k-Shortest Path Algorithm. *International Journal of Genomics*, 2019 (1), 1-13.
- [19] Queiroz, H., Uribelarrea, J. L., and Pareilleux, A. (1993). Estimation of the energetic biomass yield and efficiency of oxidative phosphorylation in cell-recycle cultures of *Schizosaccharomyces pombe*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 39 (1), 609-614.
- [20] Qureshi, A. A., Suades, A., Matsuoka, R., Brock, J., McComas, S. E., Nji, E., Orellana, L., Claesson, M., Delemotte, L., y Drew, D. (2020). The molecular basis for sugar import in malaria parasites. *Nature*, 578 (7794), 321-325.
- [21] R Core Team (2020). *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponible en: <https://www.R-project.org/>
- [22] Sanger, F., Nicklen, S., y Coulson, A. R. (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 74 (12), 5463-5467.
- [23] Savageau, M. A. (1977). *Biochemical Systems Analysis: A Study of Function and Design in Molecular Biology*. Longman Higher Education.
- [24] Savageau, M. A. (2001). Design principles for elementary gene circuits: Elements, methods, and examples. *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Non-linear Science*, 11 (1), 142-159. <https://doi.org/10.1063/1.1349892>
- [25] Shendure, J., and Ji, H. (2008). Next-generation DNA sequencing. *Nature*, 26 (10), 1135-1145.
- [26] Sorribas, A., and Gonzalez, A. (1999). The Power-law Formalism as a Tool for Modeling Hormonal Systems. *Journal of Theoretical Medicine*, 2 (1), 19-38.
- [27] Sullivan, D. J., y Krishna, S. (2005). *Malaria: Drugs, disease, and post-genomic biology*. Springer.

- [28] The UniProt Consortium, (2018). UniProt: the universal protein knowledgebase. *Nucleic Acids Research*, 46 (5), 2699.
- [29] Torres, N. V., y Santos, G. (2015). The (Mathematical) Modeling Process in Biosciences. *Frontiers in Genetics*, 6 (354) ,1-6.
- [30] Voit, E. O. (2000). *Computational Analysis of Biochemical Systems*. Cambridge University Press.
- [31] Volterra, V. (1926). Variazioni e Fluttuazioni del Numero d'Individui in Specie Animali Conventi. *Memoria della Reale Accademia Nazionale dei Lincei*, 1 (2), 31-113.

Lista de símbolos y abreviaciones

A	Arginina, Arg
AAs	Aminoácidos
Ac	Acetil-CoA
AD	ADP
AT	ATP
BM	Biomasa
C	Cisteína, Cys
CG	α -cetoglutarato
D	Aspártico, Asp
E	Glutámico, Glu
F	fenilalanina, Phe
Fum	Fumarato
G	Glicina, Gly
H	Histidina, His
Hb	Hemoglobina
K	Lisina, Lys
L	Leucina, Leu
N	Asparagina, Asn
NA	NAD ⁺
NH	NADH
P	Prolina, Pro
pm	Peso molecular
Pyr	Piruvato
R	Arginina, Arg
S	Serina, Ser
V	Valina, Val
Y	Tirosina, Tyr

Model proposition and space design analysis applied to the central metabolism of



Plasmodium falciparum

María Romero Cuesta

Facultad de Ciencias · Sección de Matemáticas
Universidad de La Laguna
alu0101452722@ull.edu.es

Abstract

Malaria is a deadly disease most frequently caused by *Plasmodium falciparum* in humans. In order to obtain a better understanding of the parasite's behaviour to design effective treatments against it, mathematical modelling is applied to its central metabolism during invasion of a red blood cell until degradation of all the available hemoglobin in it. A correlation between the reaction rates of the conversion from pyruvate to acetyl-CoA and of the incorporation of pyruvate to its biomass and the available energy in *P. falciparum* to multiply and colonize new red blood cells was established by conducting an space design analysis to the solutions of the proposed system.

Methodology

This study is focused in the understanding of the metabolic pathways of *P. falciparum* during its asexual cycle inside the red blood cells. In this timespan during which the parasite infects an erythrocyte, once the *Plasmodium* has consumed all the hemoglobin available in order to obtain energy and increase its biomass, it divides itself resulting in around 16 new parasites, the red blood cell is bursted and new others are to be invaded.

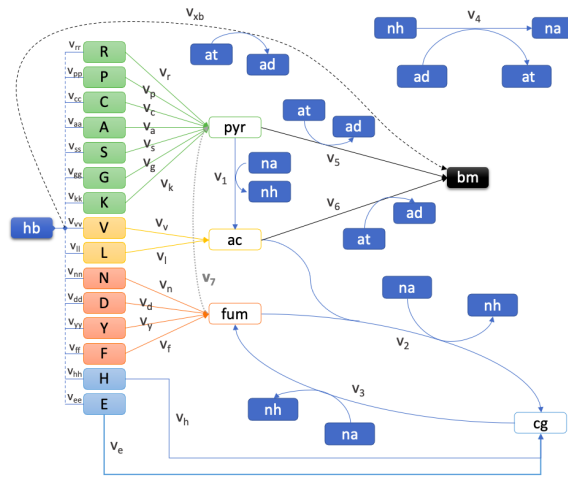


Figure 1: Mathematical model diagram of the hemoglobin degradation metabolism in *P. falciparum*. The process of direct incorporation of every single x aminoacid to the parasite's biomass is represented by a single dotted black line to simplify the figure.

In the present work, the GMA formalism was used to model the variables and processes schematized in figure 1 following the general equation:

$$dX_i/dt = \sum_{k=1}^{P_i} \alpha_{ik} \prod_{j=1}^Q X_j^{g_{ijk}} - \sum_{k=1}^{N_i} \beta_{ik} \prod_{j=1}^Q X_j^{h_{ijk}}, \quad i = 1, \dots, M$$

After computational programming and running over a thousand simulations in Google Colaboratory, the solution database was analyzed with the R software.

Results

All solutions reached an equilibrium state so the solution database was analyzed to check whether it existed a single equilibrium for the proposed system or the equilibrium states varied (figure 2).

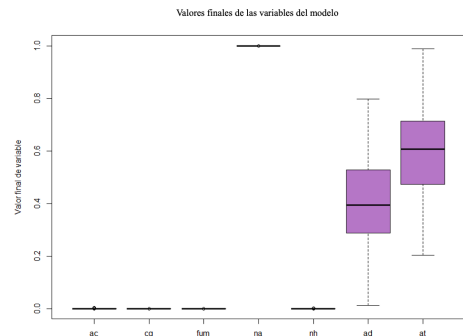


Figure 2: Boxplot showing that the energy related variables *ad* and *at* are responsible for the variability present in the solution database.

In the proposed GMA model, the kinetic parameters assigned to each equation were randomly fixed in a range varying from 1 and 10. The correlation between these parameters and the variable *at* was studied. The significant correlations found are detailed in table 1.

	γ_1	γ_5	γ_h
<i>at</i>	+0.23	-0.22	+0.14

Table 1: Correlation coefficients assigned to the variable *at* and the kinetic parameters of the reactions v_1, v_5, v_h .

Conclusions

The available energy in *P. falciparum* to multiply and colonize new red blood cells is:

- positively correlated with the reaction rate of the conversion from pyruvate to acetyl-CoA,
- negatively correlated with the reaction rate of the incorporation of pyruvate to its biomass,
- weakly correlated with the kinetic parameter of the incorporation of histidine to the central metabolism since its p-value is slightly lower than the α selected. Moreover, the biological meaning and implications of this result are unclear so will not be taken as conclusive.

Therefore, the obtained results suggest that the pyruvate molecule plays a key role in the metabolism of *P. falciparum* for energy supply. The biomass increase did not appear to be a critical variable regarding the variability in the solution database.

References

- [1] Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2008). *Lehninger: principles of biochemistry (5th ed)*. W.H. Freeman.
- [2] Voit, E. O. (2000). *Computational Analysis of Biochemical Systems*. Cambridge University Press.