
4. MODELITZACIÓ MATEMÀTICA DE VIES METABÒLIQUES: UTILITAT DE LES REPRESENTACIONS APROXIMADES

Albert Sorribas*

La modelització matemàtica és una eina fonamental per a poder caracteritzar sistemes complexos. El seu ús dins dels estudis metabòlics és cada dia més important, si bé la complexitat dels sistemes a estudiar demana la definició d'estratègies específiques perquè el model sigui útil. En aquest sentit, la representació *S-system* és particularment indicada tant per a referir-se a qüestions teòriques com per a desenvolupar models numèrics de vies metabòliques. En aquesta contribució, revisarem els fonaments d'aquesta tècnica i discutirem els seus aspectes d'aplicació més importants per tal de mostrar la utilitat dels models *S-system* en estudis del metabolisme.

4.1. INTRODUCCIÓ

L'estudi dels processos metabòlics, ja sigui a nivell cel·lular o a nivell d'organisme complet, presenta nombroses dificultats tant experimentals com d'anàlisi de dades. Les característiques del material biològic fan que la mesura dels seus components sigui difícil i que els resultats estiguin sotmesos a molta variabilitat, bé perquè la mesura en qüestió variï d'un individu a un altre, bé perquè es fa un error experimental important atesa la dificultat de realització pràctica de la mesura. Addicionalment, hom ha de tenir en compte certes limitacions associades al plantejament conceptual de la recerca en aquest camp. Tradicionalment, hom ha emprat una aproximació

* Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques. Universitat de Lleida.

reduccionista al problema, en el sentit que la recerca s'ha centrat en l'estudi dels diferents components aïllats, amb la confiança que la reconstrucció del sistema global i la consideració de la informació sobre les propietats dels diferents elements ens portarà a una comprensió de la complexitat del procés en qüestió. Malauradament, això no és així (Savageau, 1992a). L'estudi dels elements aïllats destrueix l'estructura del sistema, i determina que moltes observacions no tinguin sentit. Tot i que hom tingui cura del procés, l'aïllament d'un component no garanteix que el seu comportament, malgrat mantenir-ne l'entorn el més proper possible a l'original, sigui similar al que s'esdevé *in vivo*. La destrucció de l'estructura trenca una de les característiques fonamentals dels sistemes metabòlics: la riquesa de les interaccions entre els seus components. Aquesta riquesa és, juntament amb les propietats no lineals dels processos implicats, la responsable del comportament integrat d'una via metabòlica. Per tant, és evident la necessitat d'aproximar-se a l'estudi dels processos metabòlics mitjançant l'observació del sistema intacte i considerar un canvi tant en l'àmbit conceptual i d'interpretació de resultats com en l'àmbit d'aproximació experimental al problema.

En aquest canvi de plantejament, atesa la complexitat pròpia d'una via metabòlica, caracteritzada per elements amb comportament no lineal i per l'existència de nombrosos senyals d'autoregulació, es fa necessari l'ús de tècniques d'anàlisi que permetin de treure l'entrellat de les diferents mesures experimentals. En aquest sentit, l'ús d'una representació matemàtica adient hi té un paper fonamental, entenent que la tècnica de representació matemàtica que s'utilitzi ha de complir un seguit de requisits perquè es pugui considerar útil com a eina complementària dels estudis metabòlics. Per identificar aquests requisits, i per entendre l'elecció d'una representació matemàtica particular, a continuació considerarem breument els objectius que, generalment, es volen assolir en estudiar una via metabòlica.

4.2. MODELS PER A FER QUÈ?: QUÈ VOLEM ENTENDRE EN ESTUDIAR UNA VIA METABÒLICA?

Com a primer pas per a discutir l'ús de models matemàtics en estudis de metabolisme, cal demanar-nos quins són els nostres objectius pel que fa a entendre una determinada via metabòlica. Així, i

depenent de la visió particular de cadascun de nosaltres (vegeu per exemple Atkinson [1990]), podem identificar diferents interessos, com ara:

- Determinar l'enzim (o enzims) responsable de la regulació de la via en les condicions d'interès.
- Predir les variacions del flux en resposta a una variació de l'entorn.
- Determinar quins senyals de regulació, dels identificats en experiments *in vitro*, són rellevants *in vivo*?
- Esbrinar si l'estructura i propietats d'una determinada via són òptimes pel que fa a d'altres possibilitats alternatives per a la mateixa via?
- Descobrir els *principis de disseny* del metabolisme.

Clarament, hi ha un nivell creixent d'ambició en els objectius exposats. El primer objectiu respon a la caracterització del sistema en unes condicions particulars, i demana l'establiment de quin enzim (o quins) és el responsable de la regulació del flux a través de la via. En certa manera, aquest objectiu és el més concret de tots, en el sentit que no es refereix a una qüestió teòrica sinó que es planteja un problema específic sobre el sistema en unes condicions ben determinades. La resposta a aquesta pregunta demana, doncs, un formalisme capaç de caracteritzar la via en aquestes condicions i d'emetre una opinió objectiva sobre la influència dels diferents enzims en la regulació del seu funcionament. Evidentment, això demana també que el formalisme sigui capaç de relacionar l'anàlisi de la regulació amb les dades que hom pot obtenir sobre el sistema. Amb això, hom podria també assolir l'objectiu d'esbrinar quins senyals de regulació tenen sentit en el sistema intacte amb relació a la caracterització *in vitro* dels diferents components del sistema.

La predicció del comportament del flux en resposta a variacions de l'entorn demana disposar d'una tècnica capaç de fer prediccions dinàmiques. En general, això vol dir emprar equacions diferencials i simulació numèrica per tal de predir la resposta del sistema a variacions en el seu entorn. En aquest sentit, hi ha un ampli ventall de possibilitats quant a representar el sistema. Des d'una representació molt detallada dels diferents elements, fins a l'ús de repre-

sentacions aproximades, aquest objectiu es pot assolir de maneres ben diferents. La qüestió, però, serà determinar el formalisme que ens permeti assolir conjuntament els diferents objectius.

El darrer objectiu és, amb molt, el més ambiciós. Descobrir els principis de disseny implica ésser capaç d'entendre *per què* un determinat problema es resol amb una estructura determinada. Un exemple relativament senzill seria entendre per què una via de síntesi es regula per *feedback* pel producte final i no per qualsevol dels altres dissenys possibles (Savageau, 1975, 1976). Exemples més complicats serien el plantejament del disseny de la regulació de circuits de regulació de l'expressió gènica (Savageau, 1972, 1976), o bé la interpretació de les diferents interaccions entre tipus cel·lulars en el sistema immune i la seva relació amb les característiques de la resposta immune (Irvine i Savageau, 1985a, b). A més, ens podem plantejar preguntes relacionades directament amb l'evolució de vies metabòliques. En aquest sentit, un voldria entendre com es relaciona la funció d'una via amb la seva estructura i amb l'organització de les diferents reaccions (Meléndez-Hevia i Isidoro, 1985). L'acompliment d'aquests objectius demana una eina que sigui capaç de resoldre qüestions generals des d'un punt de vista teòric i, per tant, reclama una representació matemàtica que permeti l'anàlisi i generalització de les propietats del sistema. Idealment, aquesta tècnica ha de permetre lligar les propietats dels elements amb les del sistema d'una manera entenedora.

Com es pot veure, en uns casos hom intenta entendre una situació molt concreta, com és caracteritzar una situació metabòlica en unes condicions ben establertes, i en uns altres casos el que hom intenta és comprendre el perquè d'allò que té al davant. En general, hom entén la modelització matemàtica com una eina per a reproduir una situació experimental en termes quantitativs. Veiem, però, que hi ha d'altres objectius que reclamen l'ús de la modelització matemàtica i que en darrer terme determinaran quin tipus de representació és més adient.

Tradicionalment, l'eina bàsica de la modelització de vies metabòliques han estat els sistemes d'equacions diferencials basats en la descripció cinètica de cada un dels elements dinàmics del sistema (Segel, 1980; Murray, 1990). Aquests models es construeixen a partir de la caracterització *in vitro* de cada una de les reaccions enzimàtiques, extrapolant-ne els paràmetres obtinguts amb la con-

fiança que aproximïn suficientment la situació *in vivo*. Molt sovint, aquests models són resultat d'experiments realitzats en condicions prou diferents i, encara, en materials biològics diversos. Això fa que, com a mínim, aquests models hagin de ser vistos amb certa precaució pel que fa a la seva utilitat real. En descàrrec, cal dir que l'estudi *in vivo* del metabolisme requereix, com hem comentat anteriorment, mesures difícils d'obtenir.

D'altra banda, encara que l'extrapolació de la situació *in vitro* reproduïxi raonablement les condicions del sistema *in vivo*, el model obtingut serà, en general, de poca utilitat davant els objectius plantejats en l'apartat anterior. Així, els models resultants són inabordable analíticament i, per tant, no seran de gran ajuda per a comprendre les propietats del sistema objecte d'estudi. A més, el gran nombre de reaccions i les interaccions entre els diferents elements compliquen força la tasca d'interpretar-ne la seva complexitat. L'anàlisi d'aquesta mena de models queda restringit, en tot cas, a l'ús de la simulació numèrica (Wright *et al.*, 1992). D'altra banda, en el benentès que el model indicat fos correcte pel que fa a la representació cinètica, és evident que la caracterització dels diferents paràmetres per mesures *in vivo* és un objectiu difícilment abastable.

La definició de models matemàtics fonamentats en equacions cinètiques reflecteix el punt de vista reduccionista dominant en molts àmbits de la ciència actual, on el coneixement detallat dels diferents components és el paradigma fonamental. En contra d'aquesta visió, és evident que les propietats dels sistemes complexos, és a dir, compostos per gran nombre d'elements que interaccionen i transfereixen tant matèria com informació, resulten de quelcom més que de la simple superposició de propietats individuals (Bertalanfy, 1968). Això és ben clar quan hom intenta entendre la dinàmica i l'evolució d'ecosistemes, el funcionament d'un organisme, o la gènesi d'aquest mateix organisme.

Cal preguntar-se, per tant, si el llenguatge que és útil per descriure el comportament dels diferents elements que componen una via metabòlica és adient per representar i estudiar el sistema com un tot integrat. Potser, com s'ha fet en molts altres camps científics, caldria desenvolupar un llenguatge particular que s'adrecés directament a la representació del sistema com un tot, i que permetés assolir, el millor possible, la mena d'objectius comentats en l'apartat anterior.

4.3. REQUISITS IDEALS PER A LA REPRESENTACIÓ MATEMÀTICA DE VIES METABÒLIQUES

D'acord amb la discussió que hem plantejat en les seccions anteriors, és evident que la tria d'un determinat formalisme per a representar matemàticament una via metabòlica ha de complir un seguit de requisits si volem que, ultra ésser matemàticament correcte, sigui d'utilitat per a resoldre el seguit de qüestions que hem reconegut com a *interessants* des del punt de vista de la recerca en metabolisme. Breument, indicarem els següents punts com a fonamentals:

1. *Facilitat per a modelar el sistema a partir d'informació qualitativa.* En molts casos, la informació disponible sobre un determinat sistema és purament qualitativa, i és difícil la caracterització completa de tots els elements. En aquest sentit, l'eina d'elecció per a la modelització de vies metabòliques ha de permetre la definició del model a partir d'informació incompleta. En aquest sentit, en molts casos cal descartar la utilització de models cinètics clàssics.

2. *Bona representació de les propietats no lineals dels components del sistema.* En qualsevol cas, la representació escollida ha de ser capaç de representar les propietats no lineals característiques dels diferents components del sistema. En aquest sentit, l'ús de models lineals queda descartada.

3. *Possibilitat d'anàlisi matemàtica.* La tècnica d'elecció ha de permetre el treball d'anàlisi, en el sentit que hom ha de poder deduir les propietats del sistema a partir de la representació. En particular, cal que la representació permeti la definició i el càlcul de mesures de *performance* del sistema com ara: *sensibilitat a canvis dels paràmetres, resposta a pertorbacions externes*, etc.

4. *Generalitzable i sistematitzable.* Una de les finalitats de l'ús de models matemàtics és la generalització dels resultats a sistemes que pertanyen a la mateixa *classe matemàtica*. Una propietat desitjable per als models matemàtics de sistemes metabòlics és la possibilitat que diferents sistemes puguin ésser comparats des d'un mateix punt de vista. En aquest sentit, hom preferirà una representació matemàtica sistemàtica i ben estructurada abans que models *ad hoc* per a cada sistema en particular.

5. *Els paràmetres s'han de poder obtenir experimentalment.* En qualsevol cas, la representació escollida ha d'incloure paràmetres que tinguin una interpretació experimental clara i que, per tant, es

puguin mesurar en condicions adients. Idealment, fóra desitjable que els diferents paràmetres es poguessin mesurar *in vivo*.

6. *Propietats telescòpiques*. En molts casos, hom està interessat en un mateix problema des de diferents punts de vista. Això vol dir que en molts casos estudiarem un mateix problema des de diferents nivells de complexitat. En aquest sentit, la possibilitat que la representació matemàtica emprada sigui aplicable a qualsevol d'ells és una propietat desitjable que facilita la comprensió de problemes complexos.

4.4. EL CONCEPTE DE *POWER-LAW*: SACRIFICAR EL DETALL, GUANYAR TRACTABILITAT

La figura 1 presenta la forma general de la dependència entre la concentració de substrat (S) i la velocitat inicial d'una reacció enzimàtica. Aquesta dependència presenta diferents característiques: 1) és no lineal, 2) té saturació, i 3) en general té una forma hiperbòlica (cas no cooperatiu) o sigmoïdal (cas cooperatiu). Les

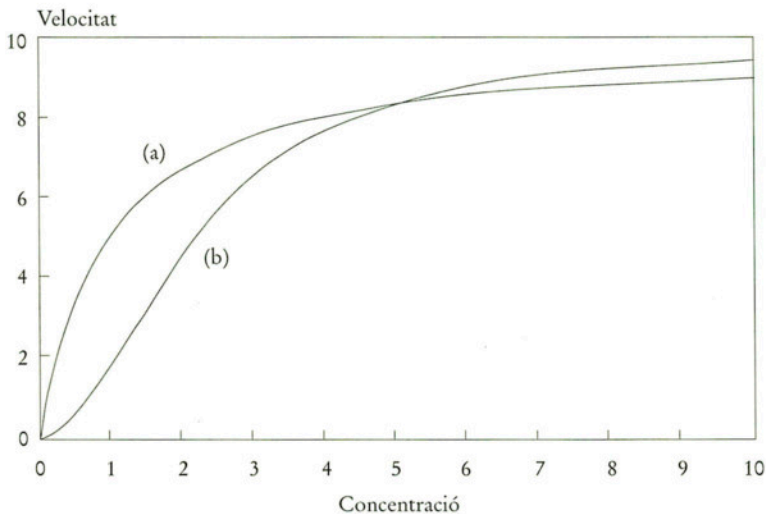


FIGURA 1. Exemple de la dependència entre la velocitat de reacció i la concentració de substrat en reaccions enzimàtiques monosubstrat. (a) cinètica hiperbòlica, (b) cinètica cooperativa.

funcions que, pel cas d'un substrat, representen aquest comportament es dedueixen a partir del mecanisme de reacció i són de la forma coneguda:

$$[1] \quad v = \frac{v_m S}{K_m + S} \quad \text{Sense cooperativitat}$$

$$v = \frac{v_m S^n}{K_m + S^n} \quad \text{Amb cooperativitat}$$

En general, si tenim en compte una reacció amb més d'un substrat, inhibidors, cofactors, etc., la dependència entre la velocitat de la reacció i els diferents efectors ve donada per una expressió de velocitat amb gran nombre de termes (Cleland, 1967). Des d'un punt de vista general, aquesta dependència es pot expressar de la forma:

$$[2] \quad v_i = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$$

on $f(X_1, X_2, \dots, X_n)$ és, generalment, una funció racional (Savageau, 1969a, b). La qüestió és pensar si hi ha un camí alternatiu entre la complexitat associada al màxim detall en la descripció (equació [1]) i l'ambigüitat expressada per l'equació [2]. Veurem que el formalisme conegut com a *power-law* ens permet aquesta alternativa.

Si representem l'equació [2] en coordenades logarítmiques, obtenim:

$$[3] \quad \log(v_i) = g[\log(X_1), \log(X_2), \dots, \log(X_n)]$$

on g serà una funció diferent de la funció original f .

Expandint l'equació [3] mitjançant una sèrie de Taylor trunca-da en el terme lineal, obtenim:

$$[4] \quad \log(v_i) \approx \log(v_i)_0 + \sum_{j=1}^n \left(\frac{\partial \log(v_i)}{\partial \log(X_j)} \right)_0 \cdot (\log(X_j) - \log(X_j)_0)$$

Si definim:

$$[5] \quad g_{ij} = \left(\frac{\partial \log(v_i)}{\partial \log(X_j)} \right)_0$$

$$[6] \quad \log (X_j) = y_j$$

l'equació [4] es pot escriure com:

$$[7] \quad \log (v_i) \approx \log (v_{i_0}) - \sum_{j=1}^n g_{ij} y_{j_0} + \sum_{j=1}^n g_{ij} y_j$$

que és equivalent a:

$$[8] \quad v_i \approx \alpha_i \prod_{j=1}^n X_j^{g_{ij}}$$

on el paràmetre $\alpha_i = \frac{v_{i_0}}{\prod_{j=1}^n X_{j_0}^{g_{ij}}}$.

El paràmetre g_{ij} rep el nom d'ordre cinètic, i α_i s'anomena constant de velocitat (vegeu Sorribas i Savageau, 1989a, b; Sorribas *et al.*, 1995a, per a una discussió més completa d'aquests termes i per a exemples). L'equació [8] es coneix com a aproximació *power-law* a l'equació original (equació [2]) (Savageau, 1969a, b, 1976). El significat de l'expansió en sèries de Taylor garanteix la validesa d'aquesta representació en l'entorn del punt considerat.

Les figures 2 i 3 mostren l'aproximació de les equacions [1] mitjançant aquesta tècnica. Hom pot apreciar que al voltant del punt operacional, l'aproximació és bona. Quan intentem representar la funció original lluny del punt operacional, apareixen problemes d'exactitud. D'altra banda, depenent del punt operacional escollit, la representació *power-law* és més o menys similar, en termes qualitius, a la funció original.

És clar que aquesta aproximació no pot representar la funció original per a qualsevol valor de les variables implicades, però es pot considerar suficient si el marge de valors d'interès és més o menys restringit (figura 4). Aquest és el cas de moltes situacions d'interès en la modelització de sistemes biològics, on per causa de mecanismes d'homeòstasi aquest rang és controlat en uns estrets marges.

Per tant, una possible estratègia per a representar la dependència de la velocitat respecte de les diferents variables és utilitzar l'aproximació *power-law* en la confiança que representarà la funció buscada en un determinat camp de valors. És important indicar que

Modelització macroscòpica en ciències experimentals

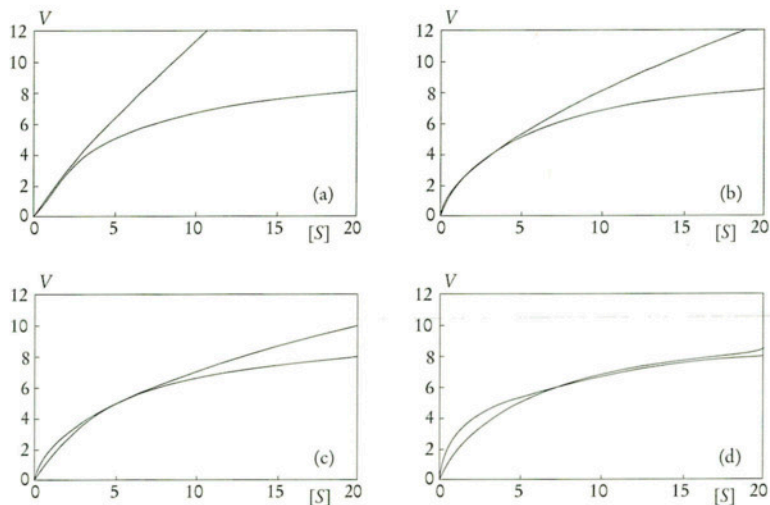


FIGURA 2. Aproximació *power-law* de l'equació de Michaelis-Menten per a la cinètica monosubstrat. Els punts operacionals són: (a) $S=1$, (b) $S=3$, (c) $S=5$, (d) $S=10$.

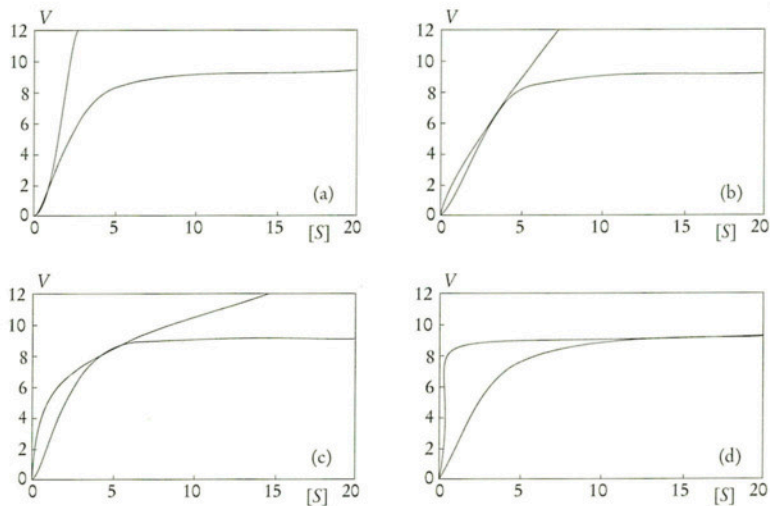


FIGURA 3. Aproximació *power-law* de l'equació de Hill per a la cinètica monosubstrat i $n=2$. Els punts operacionals són: (a) $S=1$; (b) $S=3$; (c) $S=5$; (d) $S=15$.

aquesta representació *no serà* una alternativa a l'equació original en el sentit d'estudiar *in vitro* el comportament aïllat d'una determinada reacció. L'aproximació *power-law* serà fonamental per a derivar una representació útil del sistema complet.

Podem copsar els avantatges de la representació *power-law* amb el següent exemple. Considerem l'esquema de la figura 5. En aquest cas, la síntesi de X_1 depèn de X_5 (el substrat de la reacció) i de X_4 (un regulador que actua com a inhibidor). D'acord amb l'equació [8], la representació *power-law* d'aquest procés seria:

$$[9] \quad v_1^+ = \alpha_1 X_4^{g_{14}} X_5^{g_{15}}$$

Si volguéssim incloure un senyal d'inhibició per *feedback* del producte final X_2 , tot el que cal fer és afegir un terme a l'equació anterior. Així, tindriem:

$$[10] \quad v_1^+ = \alpha_1 X_2^{g_{12}} X_4^{g_{14}} X_5^{g_{15}}$$

Per tant, la representació *power-law* permet incorporar sense dificultat noves variables a la representació d'un procés, sense sortir de la mateixa forma funcional. Aquesta propietat permet un modelat sistemàtic (punt 4.4.) i, com veurem més endavant, pot aprofitar informació qualitativa del sistema (punt 4.1.). A més, com indiquen els resultats de les figures 2 i 3, la representació captura les propietats no lineals essencials del procés considerat (punt 2). El

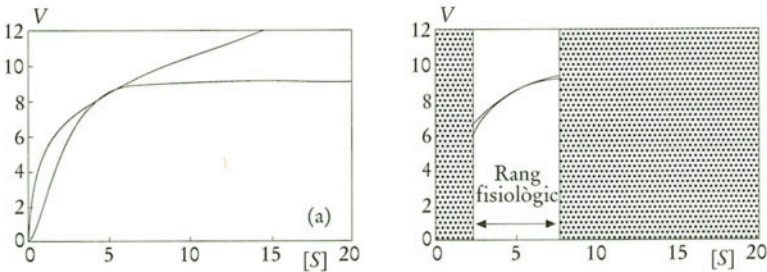


FIGURA 4. La representació *power-law* és vàlida en l'entorn del punt operacional, mentre que es fa inexacta si ens allunyem d'aquest punt. L'interès de la representació *power-law* rau en el fet que el rang de variació fisiològic de moltes variables d'interès és relativament limitat. En aquesta situació, l'error que es fa utilitzant aquesta aproximació és petit.

l'equació [11] podem obtenir una solució explícita per a les equacions d'estat estacionari del sistema (Sorribas i Savageau, 1989a, b; Savageau, 1992a, b; Sorribas *et al.*, 1995a, b, c). Si definim:

$$[12] \quad a_{ij} = g_{ij} - b_{ij}$$

$$b_i = \log \left(\frac{\beta_i}{\alpha_i} \right)$$

les equacions d'estat estacionari es poden obtenir igualant l'esquema [11] a zero. És a dir, en forma matricial:

$$[13] \quad \begin{pmatrix} -b_{11} & 0 & 0 & g_{14} \\ g_{21} & -b_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -b_{33} & 0 \\ 0 & 0 & g_{43} & -b_{44} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ y_3 \\ y_4 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} g_{15} & 0 \\ 0 & 0 \\ 0 & g_{36} \\ 0 & 0 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} y_3 \\ y_4 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \\ b_3 \\ b_4 \end{pmatrix}$$

que indicarem com:

$$[14] \quad [A]_D y]_D + [A]_I y]_I = b]$$

Si la matriu $[A]_D$ té inversa, la solució s'obté de la forma:

$$[15] \quad y]_D = -[A]_D^{-1} [A]_I y]_I + [A]_D^{-1} b]$$

Aquesta equació ens relaciona cada un dels paràmetres del sistema amb el comportament de l'estat estacionari. Com veurem, la caracterització de l'estat estacionari es pot obtenir immediatament a partir de l'equació [15].

4.6. ANÀLISI DE L'ESTAT ESTACIONARI

El fet de disposar d'una solució explícita per a les equacions de l'estat estacionari (equació [15]), ens permet caracteritzar aquest estat. Així, l'efecte sobre les variables dependents (X_{i_j} , $i = 1, \dots, n$) d'una variació en una variable independent (X_{k_j} , $k = (n+1), \dots, (n+m)$) es pot obtenir per derivació de l'equació [15] i es coneix com *guany logarítmic*:

$$[16] \quad L(X_i, X_k) = \left(\frac{\partial y_i}{\partial y_k} \right)_0 = \left(\frac{\partial X_i}{\partial X_k} \right) \cdot \frac{X_{k_0}}{X_{i_0}}$$

En notació matricial, obtenim:

$$[17] \quad [L] = -[A]_D^{-1}[A]_I$$

És important notar que mitjançant aquesta definició podem relacionar les propietats dels diferents components del sistema (indicats pels corresponents ordres cinètics que componen les matrius $[A]_D$ i $[A]_I$) amb una propietat *sistèmica* (el guany logarítmic). Seguint el mateix procediment, podem calcular la sensibilitat de l'estat estacionari respecte a canvis en els diferents paràmetres implicats (Sorribas i Savageau, 1989a; Savageau i Sorribas, 1989; Sorribas *et al.*, 1995a, b, c). Així, definim les *sensibilitats* com:

$$[18] \quad S(X_j, \alpha_j) = \left(\frac{\partial X_i}{\partial \alpha_j} \right)_0 \cdot \frac{\alpha_j}{X_{i_0}} \quad j = 1, \dots, n$$

$$S(X_p, g_s) = \left(\frac{\partial X_i}{\partial g_s} \right)_0 \cdot \frac{g_s}{X_{i_0}} \quad r = 1, \dots, n; \quad s = 1, \dots, n + m$$

Finalment, de la mateixa manera podem traslladar aquests conceptes als fluxos, si tenim en compte la definició de l'equació [8] (Sorribas i Savageau, 1989a; Savageau i Sorribas, 1989).

En aquest punt, és important esmentar que l'equació [15] indica una dependència lineal, en espai logarítmic, entre les variables dependents i les independents, la qual cosa és, a primer cop d'ull, una simplificació de la situació *real*. Això no obstant, en observar el comportament de sistemes experimentals, hom a trobat moltes situacions en què aquesta linealitat es manté per un camp de variació de les variables independents prou ample (Savageau, 1976; Sorribas i Savageau, 1989a). La figura 6 ens mostra un exemple d'aquest fet. Així, ens trobem que tot i ser un concepte simplificat, l'equació [15] representa prou acuradament situacions d'interès en bioquímica. Per tant, encara que treballem amb una aproximació, la representació del sistema és prou bona i justifica l'ús del concepte de *power-law* en bastir un model útil del sistema. Veurem més endavant què es pot fer amb aquesta eina.

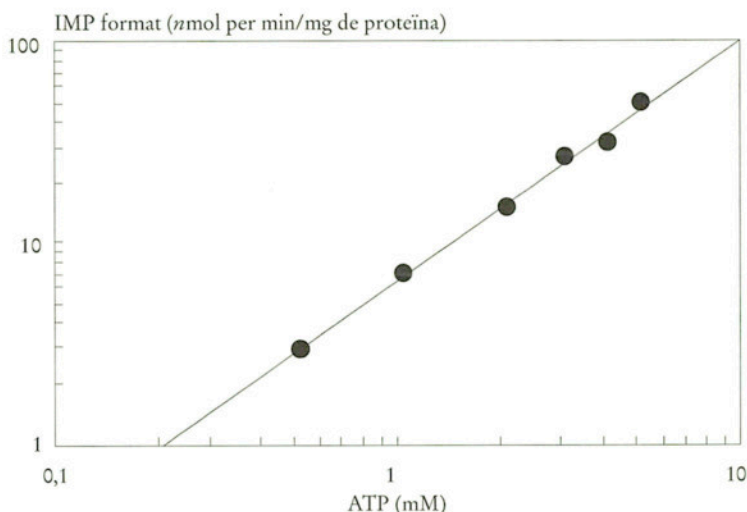


FIGURA 6. Influència de l'ATP en l'activitat AMP desaminasa. Es pot veure que la dependència lineal en espai logarímic es manté per una variació important de la concentració d'ATP. El pendent d'aquesta recta seria el guany logarímic. (Adaptat de Bontemps *et al.* [1983]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 20, 2829-2833.)

4.7. DINÀMICA I ESTABILITAT

L'estructura de *S-system* és molt favorable per a desenvolupar un algorisme específic d'integració que tregui avantatge de la forma matemàtica especial d'aquestes equacions. Així, es disposa d'un programa (ESSYNS) específic per a simular el comportament dels models *S-system*, amb un algorisme de grau variable 1-32 (Irvine i Savageau, 1990; Voit *et al.*, 1991*b*). Aquest programa utilitza com a dades les matrius de paràmetres de l'*S-system* (ordres cinètics i constants de velocitat) i els valors de les variables independents. Com a sortida, produeix l'evolució del sistema en l'interval d'interès així com un ampli ventall de gràfics i càlculs complementaris. Aquest programa es pot utilitzar sense cap problema en un ordinador PC amb memòria convencional. Per tant, l'estudi numèric de qualsevol model és un problema molt senzill si utilitzem un model *S-system* i disposem del programa ESSYNS.

En particular, ESSYNS incorpora el càlcul dels valors propis corresponents a l'equació característica del sistema obtingut per linealització de l'*S-system* original. Amb això, podem avaluar l'estabilitat de l'estat estacionari i tenir una idea aproximada de les constants de temps implicades en els diferents processos (vegeu Shira-ishi i Savageau, 1992a, b, c, d, per a aplicacions d'aquesta idea). L'anàlisi de l'estabilitat local es pot fer també des d'un punt de vista analític per determinar-ne els elements crítics. Per exemple, Savageau (1972, 1975, 1976) explora l'efecte d'un senyal de regulació per *feedback* en l'estabilitat d'una via metabòlica. Així mateix, un estat estacionari estable és requisit necessari perquè un determinat disseny tingui sentit metabòlic. Aquesta condició s'ha fet servir com a condició de contorn per a interpretar els avantatges associats a diferents dissenys alternatius (Savageau, 1972; Savageau i Sands, 1990). La possibilitat de dur a terme una anàlisi d'estabilitat no es troba en models més complicats com podrien ser els definits a partir d'equacions cinètiques. La facilitat amb què la representació *S-system* ens permet abordar aquest problema és un altre avantatge al seu favor.

4.8. COM PODEM FER SERVIR LA TÈCNICA *S-SYSTEM* EN ESTUDIS METABÒLICS?

4.8.1. La representació *S-system* com a eina de modelització

El primer avantatge clar de la representació *S-system* és la facilitat amb què es pot construir un model matemàtic de qualsevol procés metabòlic. El protocol discutit en l'apartat 4.6. ens dóna la pauta d'aplicació. De fet, tot el què cal conèixer per a bastir un model *S-system* és l'estructura del sistema, tant en termes de flux de material com d'informació. Un cop l'esquema del sistema està definit, el procés és molt senzill. Per tal d'esquematzar aquest punt, considerem la figura 7, on es mostra, de manera esquemàtica, el que es coneix com a circuit clàssic de regulació genètica (p.e. l'operó *Lac.* en *E. coli*). Podem apreciar que en aquest cas cada un dels processos, lluny de representar una reacció aïllada, correspon al conjunt de diferents passos que es consideren conjuntament. En aquest esquema, X_1 representa el *mARN*, X_2 l'enzim producte del gen (X_6), i X_3 un metabòlit. X_5 és un regulador de la transcripció. X_7

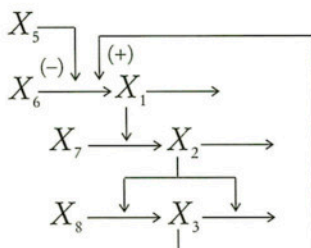


FIGURA 7. Esquema simplificat del circuit de regulació clàssic d'un operó. L'exemple podria correspondre a l'operó *Lac* en *E. coli* (vegeu el text per a més detalls).

representa els aminoàcids precursors del producte X_2 . A partir d'aquest esquema, és immediat construir un model *S-system*:

$$\begin{aligned}
 [19] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{13}} X_5^{g_{15}} X_6^{g_{16}} - \beta_1 X_1^{b_{11}} \\
 \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{21}} X_7^{g_{27}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{32}} X_8^{g_{38}} - \beta_3 X_3^{b_{33}}
 \end{aligned}$$

Aquest model es pot analitzar qualitativament per a establir de què depèn, per exemple, el guany en X_3 com a resposta a un increment del seu regulador (equació [17]). Així, obtenim:

$$[20] \quad L(X_3, X_5) = L_{35} = \frac{g_{15} g_{21} (g_{32} - b_{32})}{b_{11} b_{22} b_{33} - g_{13} g_{21} (g_{32} - b_{32})}$$

Mitjançant aquesta expressió, podem discutir de quina manera es veu afectada aquesta propietat per canvis en els paràmetres locals (ordres cinètics) del sistema.

Si estem interessats a simular la resposta dinàmica d'aquest model, cal escollir un conjunt de paràmetres representatius. Savageau i Sands (1990) discuteixen els possibles valors en el cas de l'operó *Lac* en *E. coli*. Així, per exemple, atès que el *mARN* corresponent a *Lac* es degrada en un procés de primer ordre, sembla raonable un valor $b_{11} = 1$. L'avantatge de la representació *power-law* és que hom pot discutir aquests valors qualitativament. Així, un procés prop de la saturació tindrà un ordre cinètic proper a 0, mentre que processos que presentin cooperativitat respecte a la variable considerada

tindran ordres cinètics per sobre d'1 respecte d'aquesta variable. En determinats casos, no es podrà especificar un valor numèric per al paràmetre, però es podrà indicar si és positiu (activació) o negatiu (si la variable actua com a inhibidor). Aquesta informació és, en molts casos, suficient per a discutir les propietats generals d'un determinat disseny.

Cal fer esment que en la construcció del model que representa l'esquema de la figura 7, no podem emprar equacions cinètiques, atès que cada procés és un compendi de reaccions i influències que no corresponen a una sola reacció. Per tant, cal especificar una funció que representi de la millor manera possible cada un dels processos globals considerats en aquest exemple. Aquí és on el concepte de *power-law* pren sentit, en poder especificar sense dificultat una funció amb les propietats esmentades anteriorment.

La utilitat de la representació *S-system* com a eina de modelatge inclou la possibilitat de validar el model, atès que es disposa de la manera de calcular les sensibilitats respecte dels diferents paràmetres. Aquesta possibilitat és fonamental per a poder determinar fins a quin punt la informació sobre la qual es basteix el model és consistent. L'aplicació d'aquesta tècnica ha permès de determinar els problemes associats als models definits a partir d'equacions cinètiques (Shira-ishi i Savageau, 1992a, b, c, d; Sorribas *et al.*, 1995a, b, c).

Com a limitació de l'ús del concepte de *power-law*, hom pot indicar la impossibilitat de representar un procés en tot el seu detall. Així, no queda gaire clar que es pugui simular la resposta a una variable externa que varia de manera oscil·latòria o, per exemple, caòtica. A més, sembla un contrasentit emprar una aproximació en els casos en què hom està segur de la forma funcional que representa un determinat procés. Veurem a continuació que aquestes dificultats es poden superar mitjançant la tècnica coneguda com a *recasting*.

4.8.2. *El concepte de recasting*

Considerem, per exemple, que el procés de degradació de X_1 en l'esquema de la figura 7 és

$$[21] \quad v_1^- = \frac{v_m X_1}{K_m + X_1}$$

i que tenim una bona estimació del valor dels paràmetres cinètics. Davant d'això, sembla millor emprar l'equació [21] en comptes de l'aproximació *power-law* corresponent. Amb això, la representació del sistema quedaria:

$$\begin{aligned}
 [22] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{31}} X_5^{g_{51}} X_6^{g_{61}} - \frac{v_{m_1} X_1}{K_{m_1} + X_1} \\
 \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{12}} X_7^{g_{72}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{23}} X_8^{g_{83}} - \beta_3 X_2^{b_{32}} X_3^{b_{33}}
 \end{aligned}$$

És evident que, tot i que ara el procés de degradació de X_1 està millor representat, l'equació [22] perd l'estructura de *S-system*. Això és un desavantatge tant pel que fa al tractament matemàtic, com per al tractament numèric del model. Així, seria interessant determinar si l'equació [22] es pot posar en forma *S-system* sense perdre el detall en la descripció de v_1 .

El procediment per a fer això es coneix com a *recasting*, i consisteix a redefinir les variables del sistema per tal de poder obtenir un *S-system* que representi *exactament* el model desitjat. Així, si en l'equació [22] definim:

$$[23] \quad X_4 = K_{m_1} + X_1$$

tindrem que:

$$\dot{X}_4 = \dot{X}_1$$

Substituint en l'equació, obtindrem:

$$\begin{aligned}
 [25] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{31}} X_5^{g_{51}} X_6^{g_{61}} - v_{m_1} X_1 X_4^{-1} \\
 \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{12}} X_7^{g_{72}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{23}} X_8^{g_{83}} - \beta_3 X_2^{b_{32}} X_3^{b_{33}} \\
 \dot{X}_4 &= \alpha_1 X_3^{g_{31}} X_5^{g_{51}} X_6^{g_{61}} - v_{m_1} X_1 X_4^{-1}
 \end{aligned}$$

que és en forma *S-system*, tenint en compte que la condició inicial per a la variable auxiliar X_4 serà $K_{m_1} + X_1(0)$. La integració d'aquest sistema d'equacions ens dona un comportament exactament igual al de l'equació [22], amb l'avantatge d'estar en la forma *S-system*.

Aquest mètode, per tant, aconsegueix expressar un sistema d'equacions qualsevol en forma *S-system*, independentment de la forma original. El preu a pagar és l'augment en el nombre de variables, cosa que no és particularment limitadora (Voit i Savageau, 1986; Voit i Rust, 1992).

Considerem ara que hom vol incorporar la representació de la variació de X_5 expressada com:

$$[26] \quad X_5(t) = k e^{-kt}$$

Si considerem

$$[27] \quad \dot{X}_5 = -k^2 e^{-kt} = -k^2 X_6$$

$$\dot{X}_6 = -k e^{-kt} = -k X_6$$

podem ampliar l'*S-system* de l'equació [25] per a obtenir:

$$[28] \quad \begin{aligned} \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{11}} X_5^{g_{15}} X_6^{g_{16}} - \nu_{m_1} X_1 X_4^{-1} \\ \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{21}} X_7^{g_{27}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\ \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{32}} X_8^{g_{38}} - \beta_3 X_2^{b_{32}} X_3^{b_{33}} \\ \dot{X}_4 &= \alpha_1 X_3^{g_{41}} X_5^{g_{45}} X_6^{g_{46}} - \nu_{m_1} X_1 X_4^{-1} \\ \dot{X}_5 &= -k^2 X_6 \\ \dot{X}_6 &= -k X_6 \end{aligned}$$

Amb la qual cosa obtenim un *S-system* que incorpora una variació en X_5 d'acord amb la forma indicada per l'equació [26].

Seguint aquesta estratègia, és possible generar qualsevol tipus de comportament per a una variable determinada. Això és molt interessant pel que fa a modelitzar la resposta observada d'un sistema. Aquesta és l'estratègia començada per Morrison (1990) per a desenvolupar un catàleg de mòduls per a dissenyar *S-systems* amb propietats particulars. Per exemple, si considerem les equacions corresponents a l'oscil·lador de Van der Pol, tenim (Morrison, 1990):

$$[29] \quad \ddot{Z} - \frac{g_2}{C} \left(3Z^2 - \frac{g_1}{g_2} \right) \dot{Z} + \frac{1}{CL} Z = 0$$

L'equació [29] es pot transformar en un sistema de dues equacions mitjançant la transformació de Lienard:

$$\begin{aligned}
 [30] \quad \dot{Z} &= \frac{Y}{C} + \frac{g_1 Z}{C} - \frac{g_2 Z^3}{C} \\
 \dot{Y} &= -\frac{1}{L} Z
 \end{aligned}$$

Finalment, l'equació [30] es pot representar mitjançant el següent *S-system*

$$\begin{aligned}
 [31] \quad \dot{X}_1 &= \frac{1}{C} X_2 X_3 - g_2 X_1^2 X_2^2 \\
 \dot{X}_2 &= \frac{\mu}{C} X_2 - \frac{3g_2 a_1}{C} X_1 \\
 \dot{X}_3 &= \frac{a_1}{L} - \frac{1}{L} X_1 X_2^{-1}
 \end{aligned}$$

fent servir les transformacions:

$$\begin{aligned}
 [32] \quad Y &= X_3 - a_2 \\
 Z &= X_1 X_2^{-1} - a_1
 \end{aligned}$$

A la figura 8 es mostra un resultat d'integrar l'equació [31] i recuperar la variable original Z segons s'indica a l'equació [32]. Els paràmetres són: $\alpha_1 = 2,5$; $\alpha_2 = 13,125$; $\alpha_3 = 1$; $\beta_1 = 5/6$; $\beta_2 = 6,25$; $\beta_3 = 0,4$ (Morrison, 1990). És interessant notar el fet que l'equació original de l'oscil·lador de Van der Pol és totalment equivalent, pel que fa a comportament, a les equacions [31]-[32]. En aquest sentit, la forma *S-system* es pot considerar com una forma canònica per a representar equacions diferencials no lineals. Un tema de recerca de molt futur es podria iniciar considerant si aquest fet es pot emprar com a punt de sortida per a una teoria general que permeti la solu-

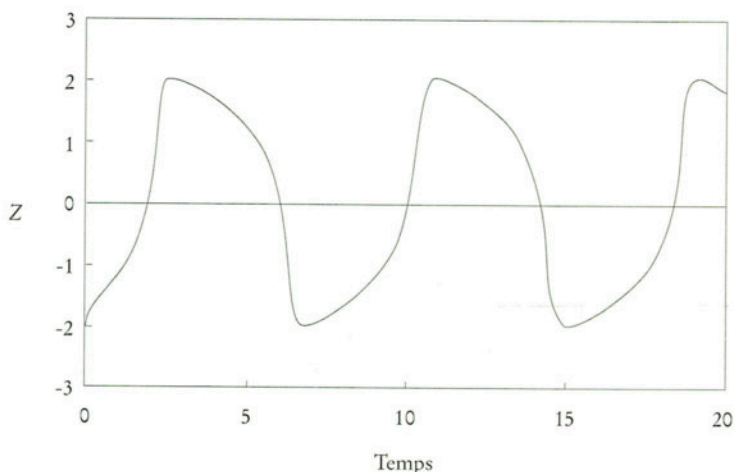


FIGURA 8. Oscil·lador de Van der Pool. La trajectòria s'ha obtingut per integració numèrica de les equacions *S-system* resultants del *recasting* de les equacions originals. Aquesta trajectòria és la mateixa que s'obté per integració de les equacions originals.

ció de sistemes d'equacions no lineals mitjançant l'ús de *S-systems*. Malauradament, encara no es disposa d'experiència suficient per a abordar aquest problema en profunditat (vegeu però Voit i Rust, 1992).

La tècnica de *recasting* és una eina molt interessant tant pel que fa a la modelització com a la classificació de funcions. Així, per exemple, s'ha demostrat que les diferents lleis de creixement que hom utilitza, derivades empíricament, són casos particulars d'un *S-system* de la forma (Voit, 1990)

$$[33] \quad \begin{aligned} \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_1^{g_{11}} X_2^{g_{12}} \\ \dot{X}_2 &= -X_2^{b_{22}} \end{aligned}$$

on els diferents valors dels paràmetres g_{11} , g_{12} i b_{22} produeixen les diferents lleis de creixement empíriques (figura 9).

Per a finalitzar aquest apartat, cal esmentar l'ús del *recasting* en la representació exacta de funcions de distribució estadística (Voit i Rust, 1990, 1992). Seguint una estratègia similar, s'ha definit el concepte de distribució *S*, que permet de calcular qualsevol distribució i les seves propietats mitjançant l'ús de *S-systems* (Voit, 1992).

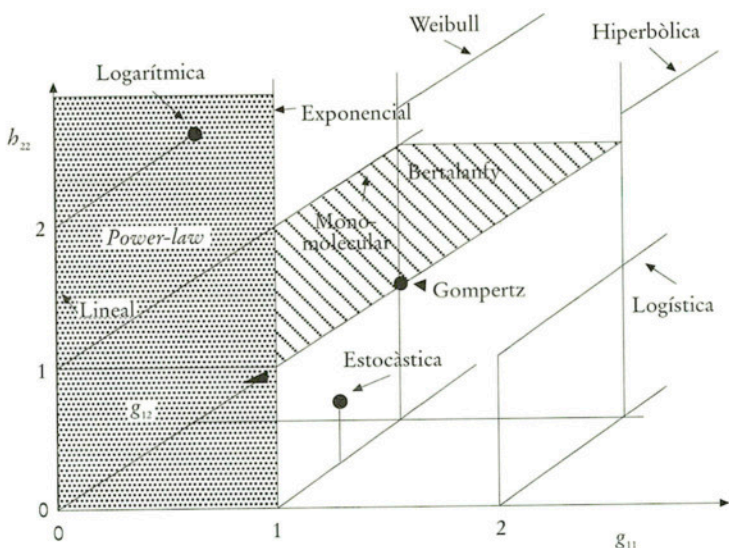


FIGURA 9. Classificació de les lleis de creixement clàssiques d'acord amb el valor dels paràmetres en la seva forma *S-system*. Podeu observar que les lleis obtingudes fins ara no ocupen tot l'espai disponible.

4.8.3. Comparació de dissenys

Un dels objectius fonamentals que hem reconegut pel que fa a l'estudi de vies metabòliques és la possibilitat de deduir propietats generals dels sistemes objecte d'estudi que ens portin a elaborar un cos teòric per a entendre l'organització de les vies metabòliques. Això implica, fonamentalment, entendre els principis de disseny que expliquen la seva estructura amb relació a la funció que duu a terme. El coneixement d'aquests principis de disseny és fonamental per a planificar modificacions que portin, per exemple, a optimitzar el rendiment d'un procés metabòlic. En aquest sentit, ens aproximariem a un coneixement semblant al que permet dissenyar un aparell electrònic a partir d'elements amb comportaments ben establerts. Aquest tema ha estat ampliament desenvolupat a partir de la representació *S-system*, tot i aprofitant les seves propietats. Així, s'han estudiat els avantatges funcionals lligats a la inhibició per producte final (Savageau, 1972, 1975), el disseny òptim de la regulació de punts de bifurcació en vies de síntesi (Savageau, 1976),

diferents aspectes del disseny òptim dels circuits de regulació genètica (Savageau, 1976) i l'estructura de la resposta immune (Irvine i Savageau, 1985*a, b*). El mètode es coneix com a *comparacions de control* i es correspon amb el que hom fa en dissenyar un experiment en el laboratori, és a dir: controlar les variables que poden afectar l'experiment per tal de poder-ne treure una conclusió correcta i generalitzable.

Per tal de comprendre la utilitat d'aquesta tècnica, comentarem breument els resultats publicats per Irvine (1991) (vegeu també Irvine i Savageau, 1985*a, b*) referents al sistema immune. Sense entrar en gaires detalls, la figura 10 mostra dos possibles esquemes que representen l'entrallat de relacions entre els diferents elements implicats en aquesta resposta (antígens, limfòcits efectors i supressors, etc.). Aquests esquemes porten als *S-systems* següents:

$$\begin{aligned}
 [34] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_0^{g_{10}} X_1^{g_{11}} - \beta_1 X_1^{b_{11}} X_3^{b_{13}} & \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_0^{g_{10}} X_1^{g_{11}} - \beta_1 X_1^{b_{11}} X_3^{b_{13}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3^a X_2^{g_{32}} X_1^{g_{31}} X_5^{g_{35}} - \beta_3 X_3^{b_{33}} & \dot{X}_3 &= \alpha_3^b X_2^{g_{32}} X_1^{g_{31}} - \beta_3 X_3^{b_{33}} \\
 \dot{X}_5 &= \alpha_5 X_4^{g_{54}} X_3^{g_{53}} - \beta_5 X_5^{b_{55}} & \dot{X}_5 &= \alpha_5 X_4^{g_{54}} X_3^{g_{53}} - \beta_5 X_5^{b_{55}}
 \end{aligned}$$

Hom pot notar que la diferència entre aquests dos models es troba en la síntesi de X_3 (limfòcits efectors), en el sentit que en el *sistema a* es considera la supressió d'aquesta síntesi per part de X_5 (limfòcits supressors), mentre que el *sistema b* no inclou aquest efecte. La qüestió és determinar quin dels dos dissenys és més adient atesa la funció del sistema immunitari. Per a avaluar aquest fet, cal considerar primer què s'entén per efectivitat en aquest cas. D'acord amb Irvine i Savageau, cal considerar: *capacitat per a reduir*

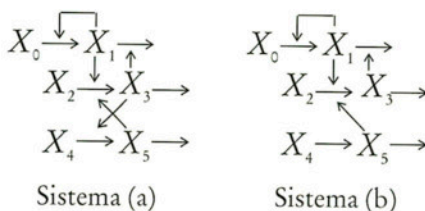


FIGURA 10. Esquemes alternatius per a la regulació de la resposta immune (vegeu el text per a més detalls): (a) els limfòcits efectors (X_3) inhibeixen la proliferació de limfòcits supressors (X_5), (b) els limfòcits efectors no inhibeixen la proliferació de supressors.

el nivell basal d'antigen, capacitat per a mantenir baix el nivell de limfòcits efectors durant la resposta del sistema, bon comportament dinàmic, disseny robust davant de canvis en els paràmetres, etc.

Amb tot, la comparació entre dos possibles dissenys ha de fer-se, com ja hem comentat, tenint en compte una situació basal de referència. En aquest cas, per exemple, imposarem les condicions:

$$\begin{aligned}
 [35] \quad L_{10}^a &= L_{10}^b \\
 X_1^a &= X_1^b \\
 X_3^a &= X_3^b
 \end{aligned}$$

amb això, assegurem que els sistemes que estem avaluant són comparables. L'objectiu és esbrinar si un d'ells presenta avantatges sobre l'altre, un cop establert que ambdós sistemes fan la mateixa funció en condicions bassals. La idea és esbrinar si hi ha un sistema que, tot i comportar-se aparentment igual que l'altre, resulta ser més robust, més estable, respon millor dinàmicament, etc.

Amb això, podem establir quin disseny és més adient des d'un punt de vista d'optimització de les propietats considerades. L'equació [35] ens porta a la condició:

$$[36] \quad g_{31}^b = \frac{g_{31}^a b_{33} b_{55}}{(b_{33} b_{55} - g_{35}^a g_{53})}$$

És a dir, cal que els paràmetres dels sistemes considerats compleixin aquesta relació perquè l'equació [35], pel que fa a la igualtat de guanys, sigui certa. La condició d'igualtat de nivells en l'equació [35] ens porta a unes equivalències similars pel que fa a la resta de paràmetres. Amb això, la comparació entre les propietats dels sistemes *a* i *b* es mostra a la taula 1. Podem observar que el sistema que inclou supressió és clarament superior en el conjunt d'aspectes considerats; per tant, podem fer la hipòtesi que des d'un punt de vista evolutiu serà preferit a un sistema sense supressió.

Aquest mètode d'anàlisi permet, un cop definits els criteris d'efectivitat corresponents, avaluar diferents dissenys en sistemes metabòlics i desenvolupar un cos teòric pel que fa a l'estructura òptima d'aquests sistemes. Tot i que l'aplicació d'aquesta tècnica encara ha estat molt restringida a casos relativament senzills, els resultats obtinguts permeten indicar la seva utilitat en el sentit esmentat anteriorment.

TAULA I

Resultats de comparar els sistemes a i b mitjançant el mètode de les comparacions de control (adaptat d'Irvine [1991]).

<i>Criteri</i>	<i>Sistema a</i> <i>Amb supressió</i>	<i>Sistema b</i> <i>Sense supressió</i>
Nivells bassals	=	=
Guany d'antigen	=	=
Guany d'efector	=	=
Nivell dinàmic d'antigen	+	-
Nivell dinàmic d'efectors	+	-
Sensibilitat paramètrica	+	-
TOTAL	+	-

El signe = indica que ambdós sistemes són comparables respecte al criteri considerat. Un signe + indica que el sistema és superior, mentre que un signe - indica que el sistema té desavantatges pel que fa al criteri considerat.

4.8.4. *Estimació de paràmetres*

Per tal de finalitzar aquest apartat, comentarem breument la problemàtica de l'estimació dels paràmetres dels models *S-system*. Cal esmentar, però, que l'aplicació més important d'aquests models es troba en l'anàlisi teòrica de sistemes, en el sentit discutit en els apartats anteriors. En aquests casos, el que cal és conèixer l'estructura general del sistema i el sentit de les interaccions dels diferents elements. Així, en molts casos en tindrem prou de considerar que un determinat senyal és una inhibició, i que per tant l'ordre cinètic associat és negatiu.

Amb tot, però, és evident la necessitat de disposar de mètodes experimentals per a mesurar els paràmetres *in situ*. En general, la millor estratègia és mesurar els guanys logarítmics, i posteriorment calcular les matrius d'ordres cinètics. Això demana, però, disposar d'una informació correcta pel que fa a l'estructura del sistema. Quan això no és així, trobarem que una mateixa informació experimental serà compatible amb diferents conjunts de paràmetres (Sorribas i Cascante, 1993, 1994). En aquest punt, caldrà emprar una estratègia particular per esbrinar l'estructura de regulació del sistema (Sorribas i Cascante, 1994).

D'entre els diferents mètodes disponibles, l'observació de la dinàmica del sistema és particularment interessant ja que permet definir un procediment molt senzill per a calcular els ordres cinètics. Aquest mètode es pot trobar a Sorribas *et al.* (1995a, b, c) i no es comentarà en detall aquí. Alternativament, es pot intentar l'estimació dels paràmetres de la representació *S-system* directament sobre la resposta dinàmica del sistema. Aquest mètode presenta certs problemes d'aplicació a la pràctica, si bé es pot dissenyar alguna alternativa d'interès per a casos especials (Voit i Savageau, 1982; Torsella i Bin Razali, 1991).

El problema de l'estimació dels paràmetres en models *S-system* és, en general, força dependent del sistema considerat. Així, si es disposa de la possibilitat de manipular diferents variables externes del sistema, el problema pot ésser relativament simple. No ho serà quan el sistema sigui relativament autònom. Es poden trobar exemples a Groen (1984), Sorribas i Savageau (1989a), Sorribas i Cascan-te (1993, 1994), Sorribas *et al.* (1995a, b, c), i Shira-ishi i Savageau (1992a, b, c, d).

4.9. CONCLUSIONS

L'estudi de processos metabòlics requereix diverses aproximacions, que inclouen: manipulació genètica, tècniques de biologia molecular, microscòpia, enzimologia, etc. Cada una d'aquestes tècniques proveeix d'un tipus de coneixement que permet avançar en la comprensió del metabolisme, entès com el conjunt de processos que fan que un organisme es mantingui viu. A totes aquestes tècniques cal afegir la utilització de models matemàtics com a tècnica que permet de posar en comú gran quantitat d'informació i extreure'n les característiques fonamentals.

En aquesta contribució ens hem centrat en un tipus molt particular de models bastits a partir del que es coneix com a representació *S-system*. Al nostre entendre, aquesta tècnica és de les més adients per analitzar processos metabòlics, i permet una modelització sistemàtica i a la vegada rigorosa. És evident que hem deixat fora tot un conjunt de tècniques més sofisticades. Per exemple, en cap moment hem fet referència a problemes on la difusió tingui un paper important. En aquests casos, cal fer ús de derivades parcials, la qual cosa queda fora de l'abast actual de la tècnica *S-system*.

La utilització de la representació *S-system* com a tècnica de modelatge és clarament avantatjosa davant d'altres alternatives i, en particular, permet una modelització qualitativa molt interessant amb vista a estudiar *classes* de problemes des d'un punt de vista teòric. Al nostre entendre, aquesta possibilitat és la més interessant pel que fa a aquesta metodologia. Així, hom pot esbrinar l'existència de *principis de disseny* en determinades situacions d'interès que porten a una millor comprensió de l'organització de les vies metabòliques.

La representació *S-system* té l'avantatge addicional de permetre una integració numèrica molt eficient, la qual cosa és important en models amb moltes variables. L'estructura sistemàtica dels sistemes d'equacions diferencials en forma *S-system* permet el desenvolupament d'algorismes específics que aprofiten aquest fet. Addicionalment, mitjançant la tècnica coneguda com a *recasting*, els *S-systems* apareixen com una forma canònica per a classificar i representar qualsevol tipus de funció o sistema d'equacions diferencials. Aquesta possibilitat obre perspectives molt importants per a l'aplicació dels *S-systems*.

Finalment, l'establiment de la representació *S-system* com a eina de recerca en estudis metabòlics permet posar l'atenció en l'estudi de vies metabòliques *in situ*, en oposició al seu estudi a partir de la reconstrucció d'informació obtinguda *in vitro*. Al nostre entendre, la possibilitat de processar dades obtingudes *in situ* sobre el sistema intacte és una de les propietats més interessants de la representació *S-system*. En aquest sentit, s'està fent un esforç important per a definir protocols experimentals que defineixin quin tipus de mesures són les més informatives des del punt de vista de reconstruir l'estructura i propietats del sistema. L'exploració i anàlisi de models experimentals adients és una de les tasques més interessants a curt termini per demostrar la potencialitat de la tècnica.

AGRAÏMENTS

Aquest treball ha estat possible gràcies a un ajut de recerca de l'Ajuntament de Lleida (1992) i als projectes DGYCIT PB92-0582 i CIRIT: QFN91-4203.

REFERÈNCIES

- D. E. ATKINSON (1990). «What should a theory of metabolic control offer to the experimenter?». A: A. CORNISH-BOWDEN i M. L. CÁRDENAS [eds.]. *Control of metabolic processes*. Nova York i Londres: Plenum Press.
- L. VON BERTALANFY (1968). *General systems theory*. Nova York: George Braziller.
- M. CASCANTE, A. SORRIBAS, R. FRANCO i E. I. CANELA (1991). Biochemical systems theory: increasing predictive power bu using second order derivatives measurements. *J. Theor. Biol.*, **149**, 521-535.
- W. W. CLELAND (1967). «Enzyme kinetics». *Ann. Rev. Biochem.*, **36**, 77-112.
- A. K. GROEN (1984). *Ph. D. Thesis*. Universitat d'Amsterdam.
- D. H. IRVINE (1991). «The method of controlled mathematical comparisons». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical nonlinear modeling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold.
- D. H. IRVINE i M. A. SAVAGEAU (1985a). «Network regulation of the immune response: alternative control points for suppressor modulation of effector lymphocytes». *J. Immunol.*, **134**, 2100-2116.
- (1985b). «Network regulation of the immune response: modulation of suppressor lymphocytes by alternative signals including contrasuppression». *J. Immunol.*, **134**, 2117-2130.
- (1990). «Efficient solution of nonlinear ordinary differential equations expressed in canonical S-system form». *SIAM J. Numerical Anal.*, **27**, 704-735.
- T. JOHNSON (1988). «Estimation and simulation of S-Systems». *Mathem. Comput. Modelling*, **11**, 134-139.
- (1991). «Estimating parameters of S-Systems». A: E. O. VOIT [ed.], *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold, cap. 11.
- E. MELÉNDEZ-HEVIA i A. ISIDORO (1985). «The game of the pentoses phosphate cycle». *J. Theor. Biol.*, **117**, 251-263.
- M. S. MORRISON (1990). «Recasting as a modeling tool». A: E. O. VOIT [ed.], *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold, cap. 11.

- J. D. MURRAY (1990). *Mathematical biology*. Biomathematics Text. Berlín: Springer Verlag.
- M. A. SAVAGEAU (1969a). «Biochemical systems analysis I. Some mathematical properties of the rate law for component enzymatic reactions». *J. Theor. Biol.*, **25**, 365-369.
- (1969b). «Biochemical systems analysis II. Steady state solutions for an n-poll system using a power-law approximation». *J. Theor. Biol.*, **25**, 370-379.
- (1972). «The behaviour of intact biochemical control systems». *Curr. Tops. Cell. Reg.*, **6**, 63-130.
- (1975). «Optimal design of feedback control by inhibition: Dynamic considerations». *J. Mol. Evol.*, **5**, 199-222.
- (1976). *Biochemical Systems Analysis: A study of function and design in molecular biology*. Reading (Mass.): Addison-Wesley.
- (1979). «Feedforward inhibition in biosynthetic pathways: Inhibition of the aminoacyl-tRNA synthetase by the penultimate product». *J. Theor. Biol.*, **77**, 385-404.
- (1991). «Biochemical Systems Theory: operational differences among variant representations and their significance». *J. Theor. Biol.*, **151**, 509-530.
- (1992a). «Critique of the enzymologists test tube». A: E. E. BITTAR [ed.]. *Foundations of Medical Cell Biology*. Greenwich, CT: Jai Press. Vol. 3 A, pp. 45-108.
- (1992b). «Dominance according to metabolic control analysis: major achievement or house of cards?». *J. Theor. Biol.*, **154**, 131-136.
- M. A. SAVAGEAU, E. O. VOIT i D. H. IRVINE (1987a). «Biochemical systems theory and metabolic control theory 1. Fundamental similarities and differences». *Math. Biosc.*, **86**, 127-145.
- (1987b). Biochemical systems theory and metabolic control theory 1. Flux oriented and metabolic control theories». *Math. Biosc.*, **86**, 147-169.
- M. A. SAVAGEAU i P. SANDS (1990). «Completely uncoupled or perfectly coupled circuits for inducible gene regulation». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical nonlinear modeling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold, cap. 8.
- M. A. SAVAGEAU i A. SORRIBAS (1989). «Constraints among molecular and systemic properties: implications for physiological genetics». *J. Theor. Biol.*, **141**, 93-115.

- L. A. SEGEL [ed.] (1980). *Mathematical models in molecular and cell biology*. Cambridge (Mass.), Cambridge University Press.
- F. SHIRA-ISHI i M. A. SAVAGEAU (1992a). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* I. Formulation of alternative kinetic representations». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22926-22933.
- (1992b). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* II. Evaluation of model consistency and robustness». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22912-22918.
- (1992c). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* III. Analysis of steady-state and dynamic behavior». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22919-22925.
- (1992d). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* IV. Resolution of discrepancies between alternative methods of analysis». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22934-22943.
- A. SORRIBAS i M. A. SAVAGEAU (1989a). «A comparison of variant theories of intact biochemical systems 1: Enzyme-enzyme interactions and biochemical systems theory». *Math. Biosc.*, **94**, 161-193.
- (1989b). «A comparison of variant theories of intact biochemical systems 2: Flux oriented and metabolic control theories». *Math. Biosc.*, **94**, 195-238.
- (1989c). «Strategies for representing metabolic pathway within biochemical systems theory. Reversible pathways». *Math. Biosc.*, **94**, 239-269.
- A. SORRIBAS, S. SAMITIER, E. I. CANELA i M. CASCANTE (1993). «Metabolic pathway characterization from transient response data obtained *in situ*: Parameter estimation in S-system models». *J. Theor. Biol.*, **162**, 81-102.
- A. SORRIBAS i M. CASCANTE (1993). «Steady-state measurements and identifiability of regulatory patterns in metabolic studies». A: S. SCHUSTER, M. RIGOLET, R. OUHABI i J. P. MAZAT [eds.], *Modern trends in biothermokinetics*. Nova York, Plenum Press., 125-132.
- (1994). «Structure identifiability in metabolic pathways: parameter estimation in models based on the power-law formalism». *Biochem. J.*, **298**, 303-311.
- A. SORRIBAS, R. CURTO i M. CASCANTE (1995a). «Comparative characterization of the fermentation pathway of *Saccharomyces cerevisiae* by using the Biochemical Systems Theory and the Metabolic Control Analysis: Model definition and nomenclature». *Math. Biosc.*, **130**, 25-50.

- (1995b). «Comparative characterization of the fermentation pathway of *Saccharomyces cerevisiae* by using the Biochemical Systems Theory and the Metabolic Control Analysis: Steady-state characterization». *Math. Biosc.*, **130**, 51-69.
- (1995c). «Comparative characterization of the fermentation pathway of *Saccharomyces cerevisiae* by using the Biochemical Systems Theory and the Metabolic Control Analysis: Model validation and dynamic behavior». *Math. Biosc.*, **130**, 71-84.
- J. A. TORSELLA i A. M. BIN RAZALI (1991). «An analysis of forestry data». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York, Van Nostrand Reinhold.
- E. O. VOIT (1990). «Canonical nonlinear forms». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York, Van Nostrand Reinhold, cap. 12.
- E. O. VOIT [ed.] (1991). *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York. Van Nostrand Reinhold.
- E. O. VOIT, i P. F. RUST (1990). «Evaluation of the non central t distribution with S-systems». *Biometrical J.*, **32**, 681-685.
- (1992). «Invited tutorial: S-system analysis of continuous univariate probability distributions». *J. Stat. Comp. Simul.*, **42**, 187-249.
- E. O. VOIT i M. A. SAVAGEAU (1982). «Power-law approach to modelling biological systems, III. Methods of analysis». *J. Ferment. Technol.*, **60**, 233-241.
- (1986). «Equivalence between S-systems and Volterra systems». *Math. Biosc.*, **78**, 47-55.
- (1987). «Accuracy of alternative representations for integrated biochemical systems». *Biochem.*, **26**, 6869-6880.
- E. O. VOIT, M. A. SAVAGEAU i D. H. IRVINE (1991a). «Introduction to S-Systems». A: E. O. VOIT [ed.], *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York, Van Nostrand Reinhold, cap. 2.
- (1991b). *The users guide to ESSYNS*. Medical University of South Carolina Press.
- B. E. WRIGHT, M. H. BUTLER i K. R. ALBE (1992). «System analysis of the TCA cycle in *Dyctiostellium discoideum*: the basis for model construction». *J. Biol. Chem.*, **267**, 3101-3105.